



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201414729 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：102141345

(22)申請日：中華民國 96 (2007) 年 07 月 26 日

(51)Int. Cl.：

C07D403/12 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

A61K31/517 (2006.01)

C07D405/08 (2006.01)

A61P3/10 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2006/07/28

美國

60/834,235

2007/03/21

美國

60/896,026

2007/07/25

美國

11/782,742

(71)申請人：必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
美國

(72)發明人：卡特 珀希 H CARTER, PERCY H. (US)；當希亞 約翰 V DUNCIA, JOHN V. (US)；瑪卓克 玻嘉斯洛 M MUDRYK, BOGUSLAW M. (US)；藍道佐 麥可 E RANDAZZO, MICHAEL E. (US)；肖自力 XIAO, ZILI (CN)；楊 麥可 G YANG, MICHAEL G. (US)；趙儒林 ZHAO, RULIN (CA)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：27 共 182 頁

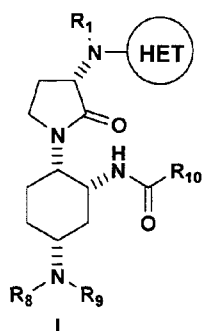
(54)名稱

趨化因子受體活性調節劑、結晶型及方法

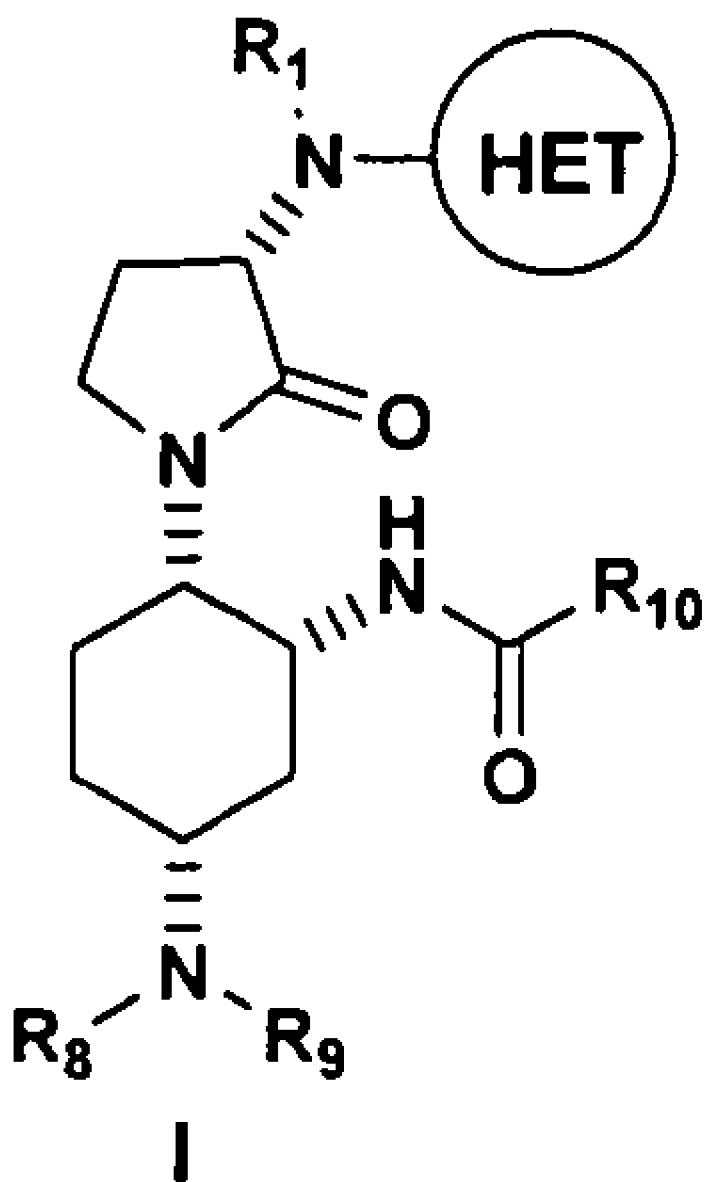
MODULATORS OF CHEMOKINE RECEPTOR ACTIVITY, CRYSTALLINE FORMS AND PROCESS

(57)摘要

本發明係提供 MCP-1 受體活性之新穎拮抗劑或部份催動劑/拮抗劑：N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎症疾病、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本揭示內容亦提供製備式(I)化合物之方法，該化合物包括 N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：



其中 R^1, R^8, R^9, R^{10} 及 $\textcircled{\text{HET}}$ 均如本文中所述。本文亦提供一些化合物，其係為此方法之有用中間物。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201414729 A

(43)公開日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：102141345

(22)申請日：中華民國 96 (2007) 年 07 月 26 日

(51)Int. Cl.：

C07D403/12 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

A61K31/517 (2006.01)

C07D405/08 (2006.01)

A61P3/10 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2006/07/28

美國

60/834,235

2007/03/21

美國

60/896,026

2007/07/25

美國

11/782,742

(71)申請人：必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
美國

(72)發明人：卡特 珀希 H CARTER, PERCY H. (US)；當希亞 約翰 V DUNCIA, JOHN V. (US)；瑪卓克 玻嘉斯洛 M MUDRYK, BOGUSLAW M. (US)；藍道佐 麥可 E RANDAZZO, MICHAEL E. (US)；肖自力 XIAO, ZILI (CN)；楊 麥可 G YANG, MICHAEL G. (US)；趙儒林 ZHAO, RULIN (CA)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：27 共 182 頁

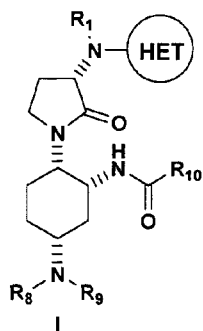
(54)名稱

趨化因子受體活性調節劑、結晶型及方法

MODULATORS OF CHEMOKINE RECEPTOR ACTIVITY, CRYSTALLINE FORMS AND PROCESS

(57)摘要

本發明係提供 MCP-1 受體活性之新穎拮抗劑或部份催動劑/拮抗劑：N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎症疾病、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本揭示內容亦提供製備式(I)化合物之方法，該化合物包括 N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：



發明摘要

※ 申請案號：102141345 (由96127304分案)

※ 申請日：96.7.26

※IPC 分類：C07D 403/12 (2006.01)
 A61K 31/506 (2006.01)
 A61K 31/517 (2006.01)
 C07D 405/08 (2006.01)
 A61P 3/10 (2006.01)
 A61P 9/10 (2006.01)
 A61P 37/00 (2006.01)

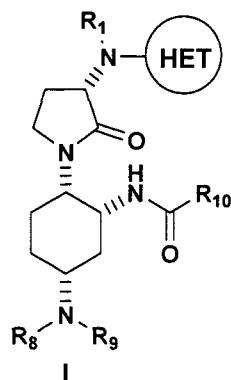
【發明名稱】

趨化因子受體活性調節劑、結晶型及方法

MODULATORS OF CHEMOKINE RECEPTOR ACTIVITY,
 CRYSTALLINE FORMS AND PROCESS

【中文】

本發明係提供MCP-1受體活性之新穎拮抗劑或部份催動劑/拮抗劑：N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎性疾病、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本揭示內容亦提供製備式(I)化合物之方法，該化合物包括N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：

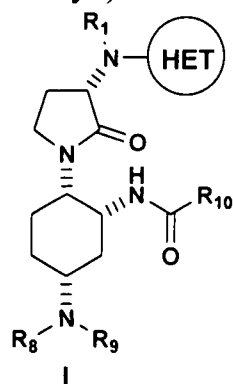


其中R¹, R⁸, R⁹, R¹⁰及  均如本文中所述。本文亦提供一些化合

物，其係為此方法之有用中間物。

【英文】

The present invention provides a novel antagonist or partial agonists/antagonist of MCP-1 receptor activity: N-((1R,2S,5R)-5-(*tert*-butylamino)-2-((S)-2-oxo-3-(6-(trifluoromethyl)quinazolin-4-ylamino)pyrrolidin-1-yl)cyclohexyl)acetamide, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or prodrug, thereof, having an unexpected combination of desirable pharmacological characteristics. Crystalline forms of the present invention are also provided. Pharmaceutical compositions containing the same and methods of using the same as agents for the treatment of inflammatory diseases, allergic, autoimmune, metabolic, cancer and/or cardiovascular diseases is also an objective of this invention. The present disclosure also provides a process for preparing compounds of Formula (I), including N-((1R,2S,5R)-5-(*tert*-butylamino)-2-((S)-2-oxo-3-(6-(trifluoromethyl)quinazolin-4-ylamino)pyrrolidin-1-yl)cyclohexyl)acetamide:



wherein R^1 , R^8 , R^9 , R^{10} , and  are as described herein. Compounds that are useful intermediates of the process are also provided herein.

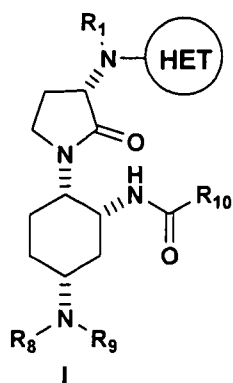
【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

趨化因子受體活性調節劑、結晶型及方法

MODULATORS OF CHEMOKINE RECEPTOR ACTIVITY,
CRYSTALLINE FORMS AND PROCESS

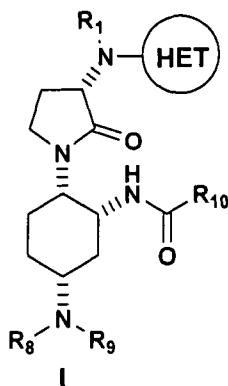
本申請案係主張個別得自2006年7月28日與2007年3月21日提出申請之美國臨時申請案號60/834,235與60/896,026之優先權，此兩案之揭示內容均併於本文供參考。

【技術領域】

本發明係提供N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，其具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。

含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本發明亦提供製備式(I)化合物之方法，

該化合物包括N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：



其中R¹, R⁸, R⁹, R¹⁰及  均如本文中所述。本文亦提供一些化合

物，其係為此方法之有用中間物。

【先前技術】

趨化因子為分子量6-15 kDa之趨化性細胞活素，其係藉由極多種細胞釋出，以在其他細胞類型中，特別吸引及活化巨噬細胞、T與B淋巴細胞、嗜伊紅細胞、嗜鹼細胞及嗜中性白血球(回顧於：Charo與Rasonhoff, *New Eng. J. Med.* **2006**, 354, 610-621；Luster, *New Eng. J. Med.* **1998**, 338, 436-445；及Rollins, *Blood* **1997**, 90, 909-928中)。有兩種主要趨化因子種類，CXC與CC，依在胺基酸順序中之最初兩個半胱胺酸是被單一胺基酸分隔(CXC)或者為相鄰(CC)而定。CXC趨化因子，譬如間白血球活素-8 (IL-8)、嗜中性白血球活化蛋白質-2 (NAP-2)及黑色素瘤生長刺激活性蛋白質(MGSA)，主要是對嗜中性白血球與T淋巴球具趨化性，而CC趨化因子，譬如RANTES、MIP-1 α 、MIP-1 β 、單細胞趨化性蛋白質(MCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4及MCP-5)及嗜塔新素(eotaxin)(-1與-2)，在其他細胞類型中，特別是對巨噬細胞、T淋巴球、嗜伊紅細胞、樹突細胞及嗜鹼細胞具趨化性。亦有趨化因子，趨淋巴素-1、趨淋巴素-2 (兩者均為C趨化因子)及富來客托活素(fractalkine) (CX₃C趨化因子)存在，其並未落在任一種主要趨化因子亞族群中。

此等趨化因子係結合至歸屬於G-蛋白質偶合之七跨膜功能部位蛋白質族群之專一細胞表面受體(回顧於：Horuk, *Trends Pharm. Sci.* **1994**, 15, 159-165中)，其係被稱為"趨化因子受體"。在結合其同系配位體時，趨化因子受體會轉導胞內訊息，經過所締合之三聚G蛋白質，而在其他回應中，特別造成胞內鈣濃度之快速增加，細胞形狀上之改變，增加細胞黏連分子之表現，去顆粒化作用及細胞潛移之促進作用。有至少十種人類趨化因子受體會對CC趨化因子結合或回應，其具有下列特徵型式：(回顧於Zlotnik與Oshie *Immunity* **2000**, 12,

121) : CCR-1 (或"CKR-1"或"CC-CKR-1") [MIP-1 α 、MCP-3、MCP-4、RANTES] (Ben-Barruch等人, *Cell* **1993**, 72, 415-425, 與Luster, *New Eng. J. Med.* **1998**, 338, 436-445); CCR-2A與CCR-2B (或"CKR-2A"/"CKR-2B"或"CC-CKR-2A"/"CC-CKR-2B") [MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MCP-5] (Charo等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 2752-2756, 與Luster, *New Eng. J. Med.* **1998**, 338, 436-445); CCR-3 (或"CKR-3"或"CC-CKR-3") [曙塔新素-1, 曙塔新素-2, RANTES, MCP-3, MCP-4] (Combadiere等人, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 16491-16494, 與Luster, *New Eng. J. Med.* **1998**, 338, 436-445); CCR-4 (或"CKR-4"或"CC-CKR-4") [TARC, MDC] (Power等人, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 19495-19500, 與Luster, *New Eng. J. Med.* **1998**, 338, 436-445); CCR-5 (或"CKR-5"或"CC-CKR-5") [MIP- α , RANTES, MIP-1 β] (Sanson等人, *Biochemistry* **1996**, 35, 3362-3367); CCR-6 (或"CKR-6"或"CC-CKR-6") [LARC] (Baba等人, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 14893-14898); CCR-7 (或"CKR-7"或"CC-CKR-7") [ELC] (Yoshie等人, *J. Leukoc. Biol.* **1997**, 62, 634-644); CCR-8 (或"CKR-8"或"CC-CKR-8") [I-309] (Napolitano等人, *J. Immunol.*, **1996**, 157, 2759-2763); CCR-10 (或"CKR-10"或"CC-CKR-10") [MCP-1, MCP-3] (Bonini等人, *DNA and Cell Biol.* **1997**, 16, 1249-1256); 及CCR-11 [MCP-1, MCP-2及MCP-4] (Schweickert等人, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 90550)。

除了哺乳動物趨化因子受體以外，已証實哺乳動物巨細胞病毒、疱疹病毒及痘病毒，會在受感染細胞中表現蛋白質，而具有趨化因子受體之結合性質(回顧於：Wells與Schwartz, *Curr. Opin. Biotech.* **1997**, 8, 741-748)。人類CC趨化因子，譬如RANTES與MCP-3，可造成鈣經由此等經病毒編碼受體之快速移動。受體表現可經由使正常免疫系統監督及對感染之回應遭到破壞，而隨意感染。此外，人類趨化

因子受體，譬如CXCR4、CCR2、CCR3、CCR5及CCR8，可充作哺乳動物細胞被微生物(與例如人類免疫不全病毒(HIV)一樣)感染之共受體。

趨化因子及其同源受體，係牽涉作為炎性、感染性及免疫調節病症與疾病之重要介體，包括氣喘與過敏性疾病，以及自身免疫病理學疾病，譬如風濕性關節炎與多發性硬化；及代謝疾病，譬如動脈粥瘤硬化與糖尿病(回顧於：Charo與Rasonhoff, *New Eng. J. Med.* **2006**, 354, 610-621；Z. Gao與W. A. Metz, *Chem. Rev.* 2003, **103**, 3733；P. H. Carter, *化學生物學上之現行見解* **2002**, 6, 510；Trivedi等人, *Ann. Reports Med. Chem.* **2000**, 35, 191；Saunders與Tarby, *Drug Disc. Today* **1999**, 4, 80；Premack與Schall, *Nature Medicine* **1996**, 2, 1174中)。例如，趨化因子單細胞化學吸引劑-1 (MCP-1)及其受體CC趨化因子受體2 (CCR-2)，係在吸引白血球至發炎位置及在接著活化此等細胞上，扮演樞軸角色。當趨化因子MCP-1結合至CCR-2時，其會引致胞內鈣濃度之快速增加，增加細胞黏連分子之表現，及白血球潛移之促進作用。MCP-1/CCR-2交互作用之重要性之實例說明，已藉由使用以基因方式變性老鼠之實驗提供。MCP-1^{-/-}老鼠在數種不同類型之免疫激發後，不能夠添補單細胞至發炎位置(Bao Lu等人, *J. Exp. Med.* **1998**, 187, 601)。同樣地，當以各種外源劑激發時，CCR-2^{-/-}老鼠不能夠添補單細胞或產生干擾素- γ ；再者，無CCR-2老鼠之白血球不會回應MCP-1而潛移(Landin Boring等人, *J. Clin. Invest.* **1997**, 100, 2552)，於是証實MCP-1/CCR-2交互作用之專一性。兩個其他集團已獨立報告使用不同品系之CCR-2^{-/-}老鼠之相當結果(William A. Kuziel等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 12053，與Takao Kurihara等人, *J. Exp. Med.* **1997**, 186, 1757)。MCP-1^{-/-}與CCR-2^{-/-}動物之存活力與一般正常健康狀況是值得注意的，因為MCP-1/CCR-2交互作用之瓦解不會引

致生理驟變。一起採用此等資料，導致之結論是，會阻斷MCP-1/CCR2作用之分子將可用於治療多種炎性與自身免疫病症(回顧於：M. Feria與F. Diaz-Gonzalez, *Exp. Opin. Ther. Patents* **2006**, 16, 49；與J. Dawson, W. Miltz及C. Wiessner, *C. Exp. Opin. Ther. Targets* **2003**, 7, 35)。此項假說目前已在多種不同動物疾病模式中被確認，如下文所述。

已知MCP-1係在患有風濕性關節炎之病患中被向上調節(Alisa Koch等人, *J. Clin. Invest.* **1992**, 90, 772-779)。再者，數項臨証前研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療風濕性關節炎上之潛在治療價值。使MCP-1編碼之DNA疫苗最近已証實會改善大白鼠中之慢性多佐劑所引致之關節炎(Sawsan Youssef等人, *J. Clin. Invest.* **2000**, 106, 361)。同樣地，疾病徵候可經由對具有膠原所引致關節炎(Hiroomi Ogata等人, *J. Pathol.* **1997**, 182, 106)或鏈球菌細胞壁所引致關節炎(Ralph C. Schimmer等人, *J. Immunol.* **1998**, 160, 1466)之大白鼠直接投予MCP-1用之抗體而加以控制。可能最顯著的是，MCP-1、MCP-1 (9-76)之一種肽拮抗劑，經証實在關節炎之MRL-1pr老鼠模式中，會防止疾病開始及降低疾病徵候(依投藥時間而定) (Jiang-Hong Gong等人, *J. Exp. Med.* **1997**, 186, 131)。再者，已証實小分子CCR2拮抗劑之投藥，會在關節炎之齧齒動物模式中，降低臨床評分(C. M. Brodmerkel等人, *J. Immunol.* **2005**, 175, 5370；與M. Xia等人, 美國專利申請案0069123, 2006)。抗CCR2抗體之投藥對老鼠CIA具有不同作用，依投藥時間而定(H. Bruhl等人, *J. Immunol.* **2004**, 172, 890)。使用CCR2-/-老鼠之最近研究，已指出CCR2之缺失可在特定實驗情況中使齧齒動物關節炎模式更為惡化(M. P. Quinones等人, *J. Clin. Invest.* **2004**, 113, 856；M. P. Quinones等人, *J. Mol. Med.* **2006**, 84, 503)。

已知MCP-1係在動脈粥瘤硬化性損害中被向上調節，且已証實

MCP-1之循環含量係經由以治療劑治療而被降低(Abdolreza Rezaie-Majd等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2002**, 22, 1194-1199)。數項關鍵研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療動脈粥瘤硬化上之潛在治療價值。例如，當MCP-1 $-/-$ 老鼠與缺乏LDL受體之老鼠雜交時，發現主動脈脂質沉積上之83%降低(Long Gu等人, *Mol. Cell* **1998**, 2, 275)。同樣地，當MCP-1以基因方式自己過度表現人類載脂蛋白B之老鼠中切除時，相對於MCP-1 $+/+$ apoB對照老鼠，所形成之老鼠係被保護而免於動脈粥瘤硬化性損害形成(Jennifa Gosling等人, *J. Clin. Invest.* **1999**, 103, 773)。同樣地，當CCR-2 $-/-$ 老鼠與載脂蛋白E $-/-$ 老鼠雜交時，發現顯著降低動脈粥瘤硬化性損害之發生率(Landin Boring等人, *Nature* **1998**, 394, 894；T.C. Dawson等人 *動脈粥瘤硬化* **1999**, 143, 205)。最後，當載脂蛋白E $-/-$ 老鼠被投予一種使CCR2之肽拮抗劑編碼之基因時，則損傷大小係被降低，且斑點安定性係被增加(W. Ni等人 *Circulation* **2001**, 103, 2096-2101)。得自CCR2 $-/-$ 老鼠之骨髓移植至ApoE3-Leiden老鼠中，會抑制早期致粥瘤性(J. Guo等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2003**, 23, 447)，但對已發展之損傷係具有最小作用(J. Guo等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2005**, 25, 1014)。

患有第2型糖尿病之病患典型上係顯示胰島素抗藥性，作為該疾病之正字標記特徵之一。胰島素抗藥性亦與稱為"代謝徵候簇"或"徵候簇X"之異常族群有關聯，該族群包括肥胖、動脈粥瘤硬化、高血壓及脂血症障礙(回顧於：Eckel等人, *Lancet* **2005**, 365, 1415中)。充分明瞭的是，發炎係在使第2型糖尿病與"徵候簇X"病理學疾病中之疾病過程更為惡化上扮演一項角色(回顧於：Chen, *藥理學研究* **2006**, 53, 469；Neels與Olefsky, *J. Clin. Invest.* **2006**, 116, 33；Danadona與Aljada, *Am J Cardiol.* **2002** 90, 27G-33G；Pickup與

Crook, *Diabetologia* **1998**, *41*, 1241中)。MCP-1係被認定為在肥胖引致之胰島素抗藥性上扮演一項角色。在培養物中，人類前脂肪細胞係於構成上表現MCP-1 (Gerhardt, *Mol. Cell. Endocrinology* **2001**, *175*, 81)。CCR2係被表現於脂肪細胞上；於活體外，添加MCP-1至經分化之脂肪細胞中，會降低經胰島素刺激之葡萄糖吸收與數種脂肪生成基因(LpL, adipsin, GLU-4)、 α P2、 β 3-腎上腺素能受體及PPAR γ 之表現(P. Sartipy與D. Loskutoff, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1999**, *96*, 6902)。患有第2型糖尿病之病患具有比非糖尿病對照組較大含量之循環MCP-1 (S. Nomura等人, *Clin. Exp. Immunol.* **2000**, *121*, 437)，且MCP-1自脂肪組織之釋出可經由以抗糖尿病治療劑譬如二甲雙胍(metformin)或噻唑啉二酮之治療而被降低(J. M. Bruun等人*J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2005**, *90*, 2282)。同樣地，MCP-1亦被過度表現於肥胖之老鼠實驗模式中，且主要係藉由脂肪組織產生(Sartipy與Loskutoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 7265)。在肥胖老鼠中，MCP-1之表現既在胰島素抗藥性開始之前，又與其同時地發生(H. Xu等人, *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 1821)。另一項研究証實MCP-1之表現係與老鼠生殖腺周圍脂肪組織中之身體質量有正關聯性(Weisberg等人*J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 1796)。與此等數據一致，胰島素抗藥性在db/db老鼠中之發展係無論是經由MCP-1之基因缺失，或藉由顯性負肽之基因所引致表現而被改善(H. Kanda等人*J. Clin. Invest.* **2006**, *116*, 1494)。邏輯倒轉亦可被証實：MCP-1在脂肪組織中之過度表現會促進胰島素抗藥性(N. Kamei等人, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 26602)。証實MCP-1之基因缺失不會在db/db老鼠中達成胰島素抗藥性之一項衝突結果亦已出現(F. Y. Chow等人, *Diabetologia* **2007**, *50*, 471)。與關於MCP-1之數據一致，使用CCR2 (MCP-1受體)之直接研究已証實其在肥胖之形成與肥胖所引致之胰島素抗藥性上扮演一項角色。高脂肪膳食之維持

會在野生型(C. L. Tsou等人, *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 902)與ApoE^{-/-}老鼠(F. Tacke等人, *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 185)兩者中增加循環CCR2⁺炎性單細胞之數目。CCR2之基因缺失會減少老鼠脂肪組織中之經活化巨噬細胞之數目(C. N. Lumeng等人, *糖尿病***2007**, *56*, 16), 但不會影響被認為會保持"纖瘦"狀態之M2脂肪巨噬細胞之個體群(C. N. Lumeng等人, *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 175)。CCR2之基因缺失會在飲食引致之肥胖模式中, 降低飲食引致之肥胖, 且改善胰島素敏感性(S. P. Weisberg等人, *J. Clin. Invest.* **2006**, *116*, 115; P Cornelius, RP Gladue, RS Sebastian, WO專利2006/013427 A2, 2006), 依實驗條件而定(A. Chen等人, *Obes. Res.* **2005**, *13*, 1311)。小分子CCR2拮抗劑之投藥亦會在此相同模式中改善胰島素敏感性(S. P. Weisberg等人, *J. Clin. Invest.* **2006**, *116*, 115)。

兩項研究係描述CCR2在高血壓引致之血管發炎、改造及肥大上之重要角色(E Bush等人, *Hypertension* **2000**, *36*, 360; M Ishibashi等人, *Circ. Res.* **2004**, *94*, 1203)。

已知MCP-1係在人類多發性硬化中被向上調節, 且已証實使用干擾素β-1b之有效療法會降低末梢血液單核細胞中之MCP-1表現, 這指出MCP-1係在疾病進展上扮演一項角色(Carla Iarlori等人, *J. Neuroimmunol.* **2002**, *123*, 170-179)。其他研究已証實MCP-1/CCR-2交互作用之拮抗作用, 在治療多發性硬化上之潛在治療價值; 所有此等研究已在實驗性自身免疫腦脊髓炎(EAE)中被証實, 其係為多發性硬化之習用動物模式。對MCP-1之抗體, 投予具有EAE之動物, 係顯著地減少疾病復發(K. J. Kennedy等人, *J. Neuroimmunol.* **1998**, *92*, 98)。再者, 兩份報告已証實CCR-2^{-/-}老鼠對於EAE具抵抗性(B. T. Fife等人, *J. Exp. Med.* **2000**, *192*, 899; L. Izikson等人, *J. Exp. Med.* **2000**, *192*, 1075)。後續報告係藉由檢驗來自不同品系之老鼠中CCR2缺失之

作用，以延伸此等最初觀察(S. Gaupp等人, *Am. J. Pathol.* **2003**, *162*, 139)。值得注意的是，小分子CCR2拮抗劑之投藥亦會在C57BL/6老鼠中使疾病進展變得遲鈍(C. M. Brodmerkel等人, *J. Immunol.* **2005**, *175*, 5370)。

已知MCP-1係在肺臟移植後發展閉塞性細枝氣管炎徵候簇之病患中被向上調節(Martine Reynaud-Gaubert等人, *心臟與肺臟移植期刊*, **2002**, *21*, 721-730；John Belperio等人, *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 547-556)。在閉塞性細枝氣管炎徵候簇之老鼠模式中，對MCP-1之抗體之投藥會導致氣道閉塞之減弱；同樣地，CCR2 ^{-/-}老鼠在此相同模式中對於氣道閉塞具抵抗性(John Belperio等人, *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 547-556)。此等數據指出，MCP-1/CCR2之拮抗作用可有益於治療移植後之器官排斥。此外，研究已証實MCP-1/CCR2軸之瓦解係能夠延長胰島移植之存活(I Lee等人 *J Immunol* **2003**, *171*, 6929；R Abdi等人, *J Immunol* **2004**, *172*, 767)。在大白鼠移植模式中，CCR2與MCP-1係經証實在發展移植植物脈管病之移植植物中被向上調節(K Horiguchi等人, *J Heart Lung Transplant.* **2002**, *21*, 1090)。在另一項研究中，抗-MCP-1基因療法會減弱移植植物脈管病(A Saiura等人, *Artheroscler Thromb Vasc Biol* **2004**, *24*, 1886)。一項研究係描述藉由MCP-1之阻斷，抑制實驗靜脈移植植物新血管內膜形成(H Tatewaki等人, *J Vasc Surg.* **2007**, *45*, 1236)。

其他研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療氣喘上之潛在治療價值。在卵清蛋白激發之老鼠中，MCP-1與中和抗體之多價螯合作用，會造成枝氣管高回應性與發炎之顯著降低(Jose-Angel Gonzalo等人, *J. Exp. Med.* **1998**, *188*, 157)。已証實可以經過對MCP-1之抗體之投藥，在曼氏裂體吸蟲(*Schistosoma mansoni*)卵激發之老鼠中降低過敏性氣道發炎(Nicholas W. Lukacs等人, *J. Immunol.* **1997**,

158, 4398)。與此一致，MCP-1 $-/-$ 老鼠顯示降低對於以曼氏裂體吸蟲卵激發之回應(Bao Lu等人, *J. Exp. Med.* **1998**, 187, 601)。

其他研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療腎臟疾病上之潛在治療價值。在絲球體性腎炎之老鼠模式中，MCP-1用抗體之投藥，會造成顯著降低血管球新月體形成及第I型膠原之沉積(Clare M. Lloyd等人, *J. Exp. Med.* **1997**, 185, 371)。此外，具有經引致之毒腎血清腎炎之MCP-1 $-/-$ 老鼠，比其MCP-1 $+/+$ 相對物，顯示顯著較少之管狀傷害(Gregory H. Tesch等人, *J. Clin. Invest.* **1999**, 103, 73)。

數項研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療系統紅斑狼瘡上之潛在治療價值。CCR2 $^{-/-}$ 老鼠係在系統性紅斑狼瘡之老鼠模式中，相對於其WT相對物，顯示延長之存活期與降低之腎病(G. Perez de Lema等人*J. Am. Soc. Neph.* **2005**, 16, 3592)。此等數據係與關於MCP-1基因缺失之最近研究中所發現改善疾病之活性(S. Shimizu等人*Rheumatology (Oxford)* **2004**, 43, 1121；Gregory H. Tesch等人, *J. Exp. Med.* **1999**, 190, 1813)，或在狼瘡之齧齒動物模式中CCR2拮抗劑之投藥(H. Hasegawa等人, *關節炎與風濕病*, **2003**, 48, 2555)一致。

相對於未患病之迴腸，CCR2 $^{+}$ 固有層淋巴細胞之顯著30倍增加係被發現於得自克隆氏病患之小腸中(S. J. Connor等人*Gut* **2004**, 53, 1287)。亦應注意的是，相對於對照組，在患有活性克隆氏病之病患中，於循環CCR2 $^{+}$ /CD14 $^{+}$ /CD56 $^{+}$ 單細胞之子集中有擴大現象。數項齧齒動物研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療克隆氏病/結腸炎上之潛在治療價值。CCR-2 $-/-$ 老鼠係被保護而免於葡聚糖硫酸鈉所引致結腸炎之作用(Pietro G. Andres等人, *J. Immunol.* **2000**, 164, 6303)。CCR2、CCR5及CXCR3之小分子拮抗劑(老鼠結合親和力個別= 24, 236及369 nM)之投藥亦會保護抵抗葡聚糖硫酸鈉引致之結

腸炎(H. Tokuyama等人*Int. Immunol.* **2005**, *17*, 1023)。最後，MCP-1/-/-老鼠係在結腸炎之附著素所引致模式中顯示實質上降低之結腸傷害(巨觀與組織學兩者)(W. I. Khan等人, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2006**, *291*, G803)。

兩份報告描述MCP-1在患有炎性腸疾病之病患之腸上皮細胞與腸黏膜中之過度表現(H. C. Reinecker等人, *Gastroenterology* **1995**, *108*, 40，與Michael C. Grimm等人, *J. Leukoc. Biol.* **1996**, *59*, 804)。

一項研究係描述MCP-1基因中之啟動子多晶型現象與硬皮病(系統硬化)之締合作用(S Karrer等人, *J Invest Dermatol.* **2005**, *124*, 92)。在組織纖維變性之相關模式中，CCR2/MCP-1軸之抑制會降低在皮膚(T Yamamoto與K Nishioka, *J Invest Dermatol*, **2003**, *121*, 510；AM Ferreira等人, *J Invest Dermatol.* **2006**, *126*, 1900)、肺臟(T Okuma等人, *J Pathol.* **2004**, *204*, 594；M Gharaee-Kermani等人, *細胞活素* **2003**, *24*, 266)、腎臟(K Kitagawa等人, *Am J Pathol.* **2004**, *165*, 237；T Wada等人, *J Am Soc Nephrol* **2004**, *15*, 940)、心臟(S Hayashidani等人, *Circulation* **2003**, *108*, 2134)及肝臟(S Tsuruta等人, *Int J Mol Med.* **2004**, *14*, 837)中之纖維變性。

一項研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療肺肺炎上之潛在治療價值。當具有IgA免疫複合肺臟傷害之大白鼠，以靜脈內方式使用經培養以抵抗大白鼠MCP-1 (JE)之抗體治療時，肺肺炎之徵候係被部份減輕(Michael L. Jones等人, *J. Immunol.* **1992**, *149*, 2147)。

數項研究已証實MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療癌症上之潛在治療價值(回顧於：M. J. Craig與R. D. Loberg, *Cancer Metastasis Rev.* **2006**, *25*, 611；I. Conti與B. Rollins, *癌症生物學討論會* **2004**, *14*, 149；R. Giles與R. D. Loberg, *Curr. Cancer Drug Targets*

2006, 6, 659中)。當帶有人類乳房癌細胞之免疫不全老鼠係以抗-MCP-1抗體治療時，發現肺臟微轉移之抑制與存活期之增加(Rosalba Salcedo等人, *Blood* **2000**, 96, 34-40)。使用人類臨床腫瘤試樣，CCR2表現係與前列腺癌症進展有關聯(Y. Lu等人, *J. Cell. Biochem.* **2007**, 101, 676)。於活體外，MCP-1表現已被証實會媒介前列腺癌細胞生長與侵入(Y. Lu等人, *Prostate* **2006**, 66, 1311)；再者，藉由前列腺癌細胞表現之MCP-1，會引致關於骨質耗損之人類骨髓原始粒子(Y. Lu等人, *Cancer Res.* **2007**, 67, 3646)。

多項研究已描述MCP-1/CCR2交互作用之拮抗作用，在治療再狹窄上之潛在治療價值。在人類中，MCP-1含量係直接地與再狹窄之危險產生關聯(F. Cipollone等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2001**, 21, 327)。缺乏CCR2或MCP-1之老鼠係顯示動脈損傷後之血管內膜面積與血管內膜/媒質比例之降低(相對於野生型小動物夥伴)(Merce Roque等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2002**, 22, 554；A. Schober等人, *Circ. Res.* **2004**, 95, 1125；W. J. Kim等人, *Biochem Biophys Res Commun.* **2003**, 310, 936)。在老鼠中，MCP-1之顯性負抑制劑在骨骼肌中之轉移感染(K. Egashira等人, *Circ. Res.* **2002**, 90, 1167)亦會降低動脈損傷後之血管內膜增生。CCR2使用中和抗體之抑制會於放置支架在靈長類動物中之後，降低新血管內膜增生(C. Horvath等人, *Circ. Res.* **2002**, 90, 488)。

兩份報告描述具有經引致腦部創傷之MCP-1大白鼠之過度表現(J. S. King等人, *J. Neuroimmunol.* **1994**, 56, 127，與Joan W. Berman等人, *J. Immunol.* **1996**, 156, 3017)。此外，研究已証實CCR2^{-/-}(O. B. Dimitrijevic等人, *Stroke* **2007**, 38, 1345)與MCP-1^{-/-}兩種老鼠(P. M. Hughes等人, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2002**, 22, 308)係被部份保護而免於絕血/再灌注損傷。

已知單細胞/巨噬細胞係在神經病原性疼痛之發展上扮演一項重要角色(Liu T, van Rooijen N, Tracey DJ, *Pain* **2000**, 86, 25)。與此概念一致，關於CCR2在治療炎性與神經病原性兩種疼痛上之潛在角色，已於最近經描述。CCR2^{-/-}老鼠，相對於其WT相對物，係顯示對炎性疼痛之改變回應，包括足底內福馬林注射後之降低疼痛行為，與足底內CFA注射後之稍微降低機械感覺異常(C. Abbadie等人, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **2003**, 100, 7947)。此外，CCR2^{-/-}老鼠並未於坐骨神經損傷後展示顯著之機械感覺異常。同樣地，小分子CCR2拮抗劑會在口服投藥後，降低機械感覺異常至損傷前程度之~80% (C. Abbadie, J. A. Lindia及H. Wang, WO PCT 110376, 2004)。

一項研究描述MCP-1在絕血性心肌病上之關鍵角色(N. G. rangogiannis等人, *Circulation***2007**, 115, 584)。另一項研究描述在MCP-1之抑制後，實驗心臟衰竭之減弱(S Hayashidani等人, *Circulation***2003**, 108, 2134)。

其他研究已提供MCP-1在未於上文提及之各種疾病狀態中被過度表現之證據。此等報告係提供相關證據顯示MCP-1拮抗劑可為此種疾病之有用治療劑。另一項研究已証實MCP-1在齧齒動物心臟同種移植動物中之過度表現，這指出MCP-1在移植物動脈硬化之發病原理上之角色(Mary E. Russell等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 6086)。MCP-1之過度表現，已被發現於患有自發性肺纖維變性病患之肺臟內皮細胞中(Harry N. Antoniades等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5371)。同樣地，MCP-1之過度表現已被發現於患有牛皮癬病患之皮膚中(M. Deleuran等人, *J. Dermatol. Sci.* **1996**, 13, 228，與R. Gillitzer等人, *J. Invest. Dermatol.* **1993**, 101, 127)。與CCR2+細胞之優勢有相互關係之發現亦已被報告(C. Vestergaard等人, *Acta Derm. Venerol.* **2004**, 84, 353)。最後，最近之報告已証實MCP-1係被過度表

現於患有 HIV-1 有關聯癡呆症病患之腦部與腦脊髓液中 (Alfredo Garzino-Demo, WO 99/46991)。

此外，CCR2 多晶型現象已被証實至少在病患之一個子集中與肉狀瘤病有關聯 (P. Spagnolo 等人, *Am J Respir Crit Care Med.* **2003**, *168*, 1162)。

亦應注意的是，CCR-2 已牽連作為一些 HIV 菌種之共受體 (B. J. Doranz 等人, *Cell* **1996**, *85*, 1149)。亦已測定出利用 CCR-2 作為 HIV 共受體，可與疾病進展產生關聯 (Ruth I. Connor 等人, *J. Exp. Med.* **1997**, *185*, 621)。此項發現係與最近之發現一致，後述發現係為 CCR-2 突變種 CCR2-64I 之存在，係與 HIV 在人類個體群中之延遲展開有正關聯性 (Michael W. Smith 等人, *Science* **1997**, *277*, 959)。雖然 MCP-1 未曾牽涉此等過程，但可能的情况是，經由結合至 CCR-2 而發生作用之 MCP-1 拮抗劑，

可具有在 HIV 感染之病患中，延遲此疾病進展至 AIDS 之有利治療作用。

應注意的是，CCR2 亦為人類趨化因子 MCP-2、MCP-3 及 MCP-4 之受體 (Luster *New Eng. J. Med.* **1998**, *338*, 436-445)。由於本文中所述之新穎式 (I) 化合物會藉由結合至 CCR-2 受體，而拮抗 MCP-1，故此等式 (I) 化合物亦可為 MCP-2、MCP-3 及 MCP-4 被 CCR-2 所媒介作用之有效拮抗劑。因此，當於本文中指稱 "MCP-1 之拮抗作用" 時，係假定其係相當於 "CCR-2 之趨化因子刺激之拮抗作用"。因此，會調節趨化因子活性之化合物可証實在治療炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病上之廣範圍利用性。專利申請案公報 WO2005021500 A1 (併於本文供參考，且歸屬於本案申請人) 係揭示經由 CCR2 調節 MCP-1、MCP-2、MCP-3 及 MCP-4 活性之化合物。此參考資料亦揭示製備此等化合物之各種方法，包括多步驟合成，其包括保護基之引進

與後續移除。

一般期望發現具有經改良藥理學特性之新穎化合物，與已知趨化因子調節劑作比較。例如，一般期望發現具有經改良CCR-2抑制活性與對CCR-2相對於其他G蛋白質-偶合受體(意即5HT_{2A}受體)之選擇性之新穎化合物。一般亦期望發現具有一或多種下述種類中之有利與經改良特性之化合物：

(a)醫藥性質(意即溶解度、滲透性、對持續釋出配方之可順從性)；

(b)劑量需要量(例如較低劑量及/或每日一次服藥)；

(c)會降低血液濃度峰頂至峰谷特性之因素(意即清除率及/或分佈之體積)；

(d)會增加活性藥物對受體之濃度之因素(意即蛋白質結合、分佈之體積)；

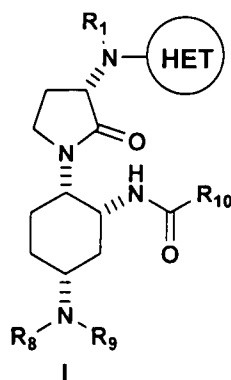
(e)會降低臨床藥物-藥物交互作用傾向之因素(細胞色素P450酵素抑制或誘發，譬如CYP 2D6抑制，參閱G.K. Dresser, J.D. Spence, D.G. Bailey, *Clin. Pharmacokinet.* **2000**, 38, 41-57，其係據此併於本文供參考)；

(f)會降低不利副作用可能性之因素(例如除了G蛋白質-偶合受體以外之藥理學選擇性、潛在化學或代謝反應性、受到限制之CNS穿透及/或離子通道選擇性)。特別期望發現具有所要前述藥理學特性組合之化合物。

於此項技藝中一般亦期望提供製備此種化合物之新穎及/或經改良方法。此等方法之特徵可為(並非限制) a)容易修改成較大規模生產，譬如試驗工廠或製造規模；b)能夠改良純度(包括對掌性純度)、安定性及/或中間物及/或最後化合物之容易處理性之處理步驟及/或技術；及/或c)較少處理步驟。

【發明內容】

本發明係提供MCP-1受體活性之新穎拮抗劑或部份催動劑/拮抗劑：N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹唑啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎症性疾病、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本揭示內容亦提供製備式(I)化合物之方法，該化合物包括N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹唑啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：



其中R¹, R⁸, R⁹, R¹⁰及  均如本文中所述。本文亦提供一些化合物，其係為此方法之有用中間物。

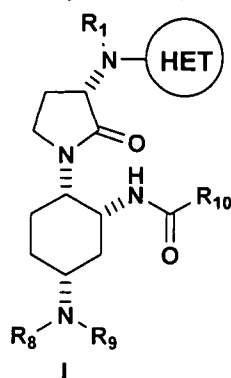
本發明揭示內容亦提供N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹唑啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺或藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物於藥劑製造上之用途，該藥劑係用於治療炎症性疾病、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病。

詳細說明

本發明係提供MCP-1受體活性之新穎拮抗劑或部份催動劑/拮抗

劑：N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽、溶劑合物或前體藥物，具有所要藥理學特性之令人意外組合。亦提供本發明之結晶型。

含有彼等之醫藥組合物，及使用彼等作為藥劑以治療炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，亦為本發明之目的。本發明亦提供製備式(I)化合物之方法，該化合物包括N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺：



其中R¹, R⁸, R⁹, R¹⁰及  均如本文所述。本文亦提供一些化合物，其係為此方法之有用中間物。

N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺係令人意外地証實所要藥理學特性之組合，包括令人驚訝之高度口服生物利用率及高度地有效且具有優越安全性標準之適應徵之組合。

証實足夠程度之細胞膜滲透性(口服生物利用率之一項重要因素)之已知CCR2受體調節劑，譬如在2005年3月10日公告之專利公報WO2005021500 (2007年1月16日頒予，歸屬於本案申請人之美國專利7,163,937)中所揭示者，當藉由其CCR2-結合能力(功效之一種度量方式)度量時，其係不充分有效，及/或當藉由hERG與Na⁺離子通道研究

度量時，其缺少如藉由離子通道選擇性所指示之適當安全性標準。

對照上而言，如本文中藉由下文標題為"比較藥理學特性"之段落中所提出之數據所示，相對較極性分子，N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，係証實令人驚訝之高度細胞膜滲透性，而仍保持有效CCR2結合能力，伴隨著優越離子通道選擇性。

因此，本發明係提供具有經改良藥理學特性之新穎趨化因子調節劑，預期其可用於治療炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病。

具體實施例

於一項具體實施例中，揭示內容係針對N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，及其藥學上可接受之鹽。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，其中結晶型包括N-2型式。

另一項具體實施例為N-2型式，其特徵為(或具有)實質上等於下列之單位晶胞參數：

晶胞尺寸：

$$a = 18.7240(4)$$

$$b = 8.0171(2)$$

$$c = 19.6568(5)$$

$$\alpha = 90$$

$$\beta = 114.935(2)$$

$$\gamma = 90$$

$$V(\text{\AA}^3) = 2675.7(1)$$

空間群 $P2_12_12_1$

分子/單位晶胞 2

其中該晶體係在約+22°C (RT)之溫度下。

另一項具體實施例為N-2型式，其特徵為(或具有)包含三個或更多個2 θ 值($\text{CuK}\alpha\lambda = 1.5418\text{\AA}$)之粉末x-射線繞射圖樣，該2 θ 值係選自5.5, 9.1, 12.1, 14.0及19.2，在約22°C之溫度下。

另一項具體實施例為N-2型式，其特徵為(或具有)進一步包含四個或更多個2 θ 值($\text{CuK}\alpha\lambda = 1.5418\text{\AA}$)之粉末x-射線繞射圖樣，該2 θ 值係選自包括5.5, 9.1, 12.1, 14.0及19.2，在約22°C之溫度下。

另一項具體實施例為N-2型式，其特徵為(或具有)實質上如列示於表3中之部份原子座標。

另一項具體實施例為N-2型式，其特徵為(或具有)實質上根據圖2之粉末x射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，包括形式H1.75-5 (1.75莫耳水)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2 θ 值($\text{CuK}\alpha\lambda = 1.5418\text{\AA}$)；實質上如列示於表4中之部分原子座標，及/或實質上根據圖3之粉末x-射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，包括型式H0.5-4 (半水合物)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2 θ 值($\text{CuK}\alpha\lambda =$

1.5418Å)；實質上如列示於表2中之部份原子座標，及/或實質上根據圖1之粉末x-射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，包括型式E-1 (單-乙醇溶劑合物)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2θ值($\text{CuK}\alpha\lambda=1.5418\text{\AA}$)；實質上如列示於表5中之部份原子座標，及/或實質上根據圖4之粉末x-射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，包括型式HAC-1 (單-醋酸溶劑合物)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2θ值($\text{CuK}\alpha\lambda=1.5418\text{\AA}$)；實質上如列示於表6中之部份原子座標，及/或實質上根據圖5之粉末x-射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型圖樣，包括型式IPA-1 (單-異丙醇溶劑合物)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2θ值($\text{CuK}\alpha\lambda=1.5418\text{\AA}$)；及/或實質上如列示於表7中之部份原子座標。

另一項具體實施例為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之結晶型，包括型式RPG-3 (單-R-丙二醇溶劑合物)，其特徵為於表1中所發現之單位晶胞參數；3或4或更多個選自表9之2θ值($\text{CuK}\alpha\lambda=1.5418\text{\AA}$)；實質上如列示於表8中之部份原子座標，及/或實質上根據圖6之粉末x-射線繞射圖樣。

另一項具體實施例為一種醫藥組合物，包含藥學上可接受之載

劑與實例之化合物。

另一項具體實施例為一種調節趨化因子或趨化因子受體活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種調節CCR-2受體活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種調節藉由CCR2受體所媒介之MCP-1、MCP-2、MCP-3與MCP-4及MCP-5活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種調節MCP-1活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種抑制CCR2與CCR5活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療病症之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物，該病症係選自糖尿病、肥胖、代謝徵候簇、中風、神經病原性疼痛、絕血性心肌病、牛皮癬、高血壓、硬皮病、骨關節炎、動脈瘤、發熱、心血管疾病、克隆氏病、鬱血性心衰竭、自身免疫疾病、HIV感染、與HIV有關聯之癡呆症、牛皮癬、自發性肺纖維變性、移植物動脈硬化、物理上或化學上引致之腦部創傷、炎性腸疾病、肺肺炎、結腸炎、系統性紅斑狼瘡、毒腎血清腎炎、絲球體性腎炎、氣喘、多發性硬化、動脈粥瘤硬化、脈管炎、易受傷害斑、風濕性關節炎、再狹窄、靜脈新血管內膜增生、透析-移植物新血管內膜增生、動脈-靜脈旁路血管內膜增生、器官移植、慢性同種移植腎病及癌症。

另一項具體實施例為一種治療病症之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物，其中該病症係選自糖尿病、肥胖、克隆氏病、牛皮癬、自發性肺纖維變性、移植物動脈硬化、物理

上或化學上引致之腦部創傷、炎性腸疾病、肺肺炎、結腸炎、系統性紅斑狼瘡、毒腎血清腎炎、絲球體性腎炎、氣喘、多發性硬化、動脈粥瘤硬化與風濕性關節炎、再狹窄、器官移植及癌症。

另一項具體實施例為一種治療病症之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物，其中該病症係選自糖尿病、肥胖、克隆氏病、系統性紅斑狼瘡、絲球體性腎炎、多發性硬化、動脈粥瘤硬化、再狹窄及器官移植。

另一項具體實施例為一種治療病症之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物，其中該病症係選自多發性硬化、動脈粥瘤硬化、克隆氏病及糖尿病。

另一項具體實施例為一種治療病症之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物，其中該病症係選自再狹窄、器官移植及癌症。

另一項具體實施例為一種治療糖尿病之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療克隆氏病之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療多發性硬化之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療動脈粥瘤硬化之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療再狹窄之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療器官移植之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療癌症之方法，其包括對有需要之

病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療癌症之方法，其中癌症係選自乳癌、肝癌、前列腺癌及黑色素瘤。

另一項具體實施例為一種治療炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種治療至少部份藉由CCR-2所媒介之炎性、過敏性、自身免疫、代謝、癌症及/或心血管疾病之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種調節CCR2活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為一種調節藉由CCR5受體所媒介之MIP-1 β 與RANTES活性之方法，其包括對有需要之病患投予治療上有效量之實例化合物。

另一項具體實施例為實例之化合物，用於製備藥劑以治療糖尿病、肥胖、代謝徵候簇、中風、神經病原性疼痛、絕血性心肌病、牛皮癬、高血壓、硬皮病、骨關節炎、動脈瘤、發熱、心血管疾病、克隆氏病、鬱血性心衰竭、自身免疫疾病、HIV感染、與HIV有關聯之癡呆症、牛皮癬、自發性肺纖維變性、移植物動脈硬化、物理上或化學上引致之腦部創傷、炎性腸疾病、肺肺炎、結腸炎、系統性紅斑狼瘡、毒腎血清腎炎、絲球體性腎炎、氣喘、多發性硬化、動脈粥瘤硬化、脈管炎、易受傷害斑、風濕性關節炎、再狹窄、靜脈新血管內膜增生、滲析-移植物新血管內膜增生、動脈-靜脈旁路血管內膜增生、器官移植、慢性同種移植腎病及癌症。

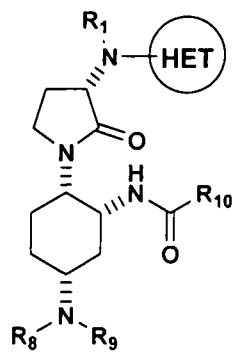
另一項具體實施例為實例之化合物，供使用於治療上。

本發明可在未偏離其精神或基本特質下，以其他特定形式具體

表現。本發明亦涵蓋本文所指出本發明之替代方面與具體實施例之所有組合。應明瞭的是，任何且所有具體實施例，均可搭配任何其他具體實施例，以描述本發明之其他具體實施例。再者，一項具體實施例之任何構件(包括較佳方面)，係意欲與來自任何具體實施例之任何與其他構件合併，以描述其他具體實施例。

方法具體實施例

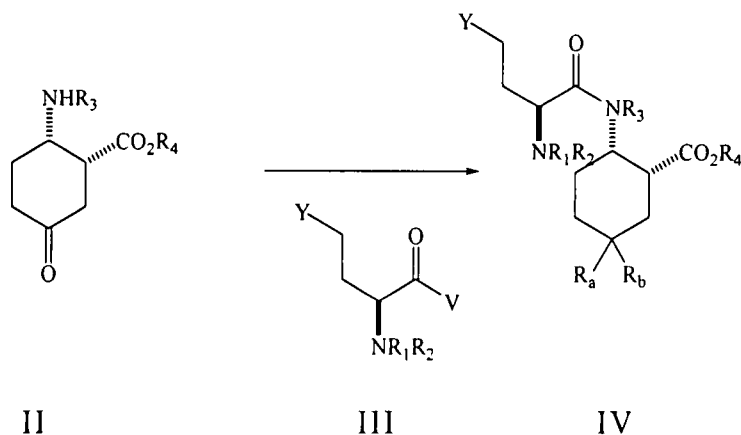
本發明揭示內容亦提供製造式I化合物之新穎方法：



包括 N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基氨基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基氨基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，或其藥學上可接受之鹽。

於第1項具體實施例中，本發明揭示內容係提供製備式IV化合物之新穎方法，此方法包括：

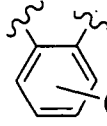
使結構III之胺基酸衍生物或其鹽，與式II環己酮或其鹽偶合(參閱WO2005021500中之製備)，而得具有經取代之醯胺側鏈之結構IV化合物或其鹽



其中：

R_a 與 R_b 係獨立為 C_{1-6} 烷氧基；

或 R_a 與 R_b 和彼等均連接之碳一起合併，以形成羰基、硫代羰基、環狀縮醛或環狀硫代縮醛，其中環狀縮醛或環狀硫代縮醛係選

自-O-Z-O-與-S-Z-S-，Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或 $(T_3)_{0-4}$ ，且 T_1 ， T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(T_1 ， T_2 及 T_3 較佳係各為氫)；

R_1 、 R_2 及 R_3 係獨立為氫或胺-保護基；

R_4 為低碳 C_{1-6} 烷基或視情況經取代之苄基；

Y為鹵素、SMe、 $S(Me)^+R_{12}$ 或 OSO_2R_{13} ；

V為OH、鹵素或 OSO_2R_{13} ；

R_{12} 為氫、 C_{1-6} 烷基、 $-(CH_2)C(O)OC_{1-6}$ 烷基或 $-(CH_2)C(O)OC_{1-6}$ 烷基；且

R_{13} 在每一存在處係為 C_{1-6} 烷基。

較佳胺-保護基係為可經由水解作用或氫解作用，在標準條件下被移除之基團。此種基團係包括但不限於苄氧羰基(Cbz)、第三-丁氧羰基(BOC)、苄基甲基氧基羰基(FMOC)、苄基(Bn)或對-甲氧基苄基(PMB)。更佳為Cbz、BOC或Bn基團(尤其是Cbz與Bn)。

於第2項具體實施例中，本發明揭示內容係提供新穎方法

其中：

R_a 與 R_b 和彼等均連接之碳一起合併，以形成羰基或1,3-二氧伍圓(尤其是1,3-二氧伍圓)；

R_1 為氫；

R_2 為Cbz；

R_3 爲氫；

R_4 爲 C_{1-6} 烷基；

Y 爲 S(Me)；且

V 爲 OH。

於第3項具體實施例中，其中Y爲-SMe，揭示內容係提供一種方法，其進一步包括使式IV化合物以基團 $R_{12}X$ 烷基化，其中X爲鹵素，以形成其銹鹽。烷基化劑較佳爲碘化甲烷。

於第4項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中式IV環己酮爲甲苯磺酸鹽。

於第5項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中式IV化合物爲銹鹽。

於第6項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中偶合係在惰性大氣下，譬如氮或氬(較佳爲氮)，於非質子性溶劑中進行，譬如丙腈、醋酸異丙酯、醋酸正-丁酯、第三-丁基醋酸鹽或乙腈(尤其是乙腈及/或醋酸乙酯)。

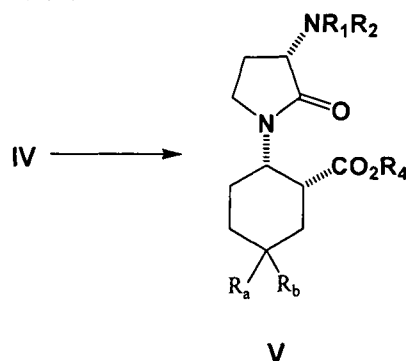
於第7項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中偶合可經由使式II化合物與二醯亞胺偶合試劑，於活化劑與三級胺鹼存在下接觸而達成。二醯亞胺偶合試劑包括例如EDAC之試劑。活化劑之實例包括HOBt (該術語包括其水合物)與N',N'-4-二甲胺基-吡啶。三級胺鹼包括例如三乙胺、N-N-二異丙基-N-乙胺及三-正-丙基胺。

於第8項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中二醯亞胺偶合試劑爲EDAC，活化劑爲HOBt (該術語包括其水合物)，而三級胺鹼爲三乙胺。

於第9項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中式II化合物對二醯亞胺偶合試劑對活化劑對三級胺之莫耳比，係個別爲約一對約0.090-1.50對約0.95-1.50對約2.00至3.00。該莫耳比較佳係個別爲

一對約0.095-1.05對約0.95-1.10及對約2.10至2.20。

於第10項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備具有酯部份基團之式V化合物之新穎方法：



此方法包括：

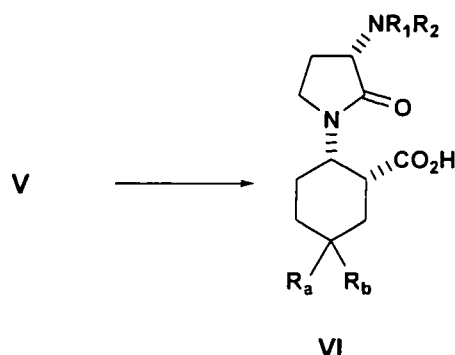
使式IV化合物之胺基酸衍生物或其鹽之側鏈環化，而得具有酯部份基團之式V化合物。

於第11項具體實施例中，其中 R_a 與 R_b 係獨立為 C_{1-6} 烷氧基，或 R_a 與 R_b 和彼等均連接之碳一起合併，以形成硫代羰基、環狀縮醛或環狀硫代縮醛，揭示內容係提供一種方法，其係視情況進一步包括使 R_a 與 R_b 基團水解之步驟，以致使 R_a 與 R_b 和彼等均連接之碳一起合併，形成羰基。水解可在溶劑譬如丙酮、丁酮、乙腈及異丙醇或其水溶液中進行，且較佳係在丙酮水溶液中進行。水解步驟較佳係跟隨在環化步驟之後。

於第12項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中環化作用係經由使式IV化合物或其鹽，與鹼，於溶劑存在下合併而進行。此種鹼可為例如但不限於碳酸鈉、重碳酸鈉、碳酸鉀、第三-丁醇鈉、六甲基二矽氮化鈉，且較佳為碳酸鈉。

於第13項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中環化作用係在惰性大氣下，譬如氮或氬(較佳為氮)，於溶劑中進行，包括例如但不限於DMSO、DMF、DMA、N-甲基四氫吡咯酮、環丁砜(尤其是DMSO及/或DMF)。

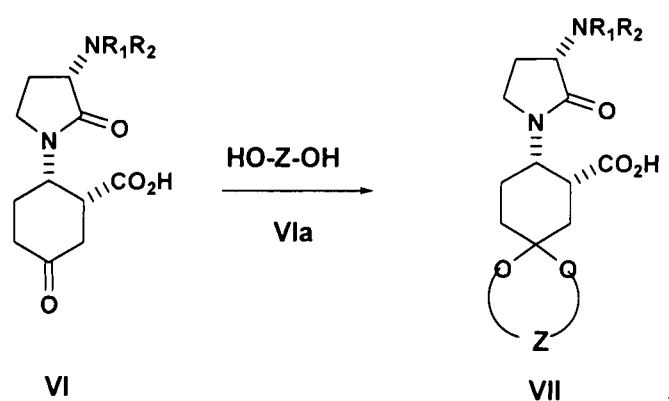
於第14項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式VI化合物之方法：



此方法包括：

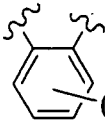
以水解劑，使式V化合物之酯部份基團在約-5至約5°C之溫度下水解，以形成化合物VI之酸。酯水解劑係為熟諳此藝者所習知，且包括鹼金屬氫氧化物，MOH，其中M為Li、Na或K，水解劑較佳為NaOH水溶液。水解步驟較佳係在兩相條件下進行，使用部份可溶混於水中之有機溶劑。較佳有機溶劑為非環狀或環狀醚類，包括THF、2-甲基THF、1,2-二甲氧基乙烷、1,4-二氧陸園，尤其是THF。

或者，於第15項具體實施例中，其中R_a與R_b和彼等均連接之原子一起合併，以形成羰基，揭示內容係提供一種製備式VII化合物之方法：



此方法包括：

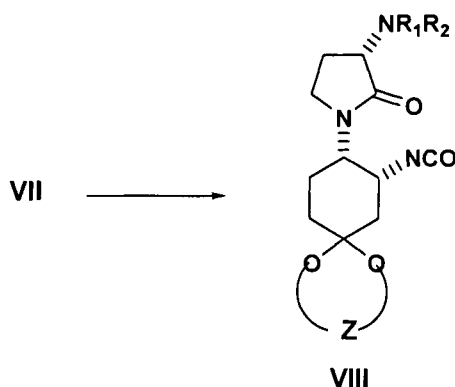
使式VIa化合物，HO-Z-OH，與式IV化合物(視情況當場)於酸觸媒存在下反應，獲得式VII化合物，

其中Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(T_1 、 T_2 及 T_3 較佳係各為氫)。

較佳情況是，式VIa化合物為乙二醇，且酸觸媒為對-甲苯磺酸或其水合物。

於第16項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式VIII化合物之方法：



此方法包括：

使式VII縮酮轉變成式VIII之中間物異氰酸酯。此轉變較佳係經由Curtius重排進行。

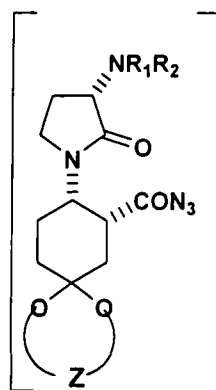
於第17項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中轉變步驟係經由Curtius重排進行，包括以下步驟：

a)將式VII之實質上無水溶液與鹼(鹼係為例如但不限於烷基胺，尤其是三級胺，較佳為三乙胺)混合；

b)將鹵基甲酸酯(例如氯甲酸酯，較佳為 $i\text{-BuO}_2\text{CCl}$)在約 -10°C 至約 0°C 之溫度下添加至溶液中，以形成式VII酸之混合酐；

c)將混合酐以疊氮化物試劑(較佳為 NaN_3)，於相轉移觸媒(較佳為四烷基銨鹽，譬如四丁基溴化銨，在約5莫耳%下)存在下，在約-

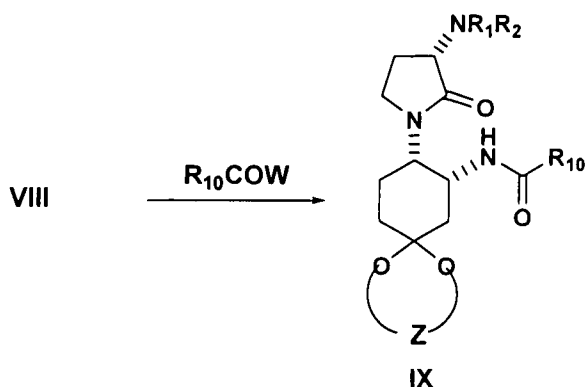
10°C 至約0°C 之溫度下處理，以形成式VIIa 醯基疊氮化物：



VIIa ; 及

d)將式VIIa 醯基疊氮化物之實質上無水溶液加熱，以形成相應之式VIII 異氰酸酯。醯基疊氮化物之實質上無水溶液較佳係於分子篩上乾燥。

於第18項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備具有縮酮部份基團之式IX 化合物之方法：



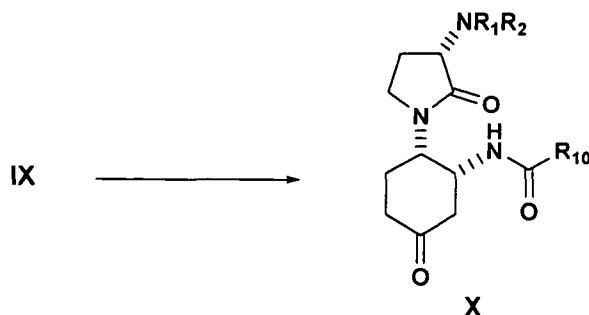
此方法包括：

使式VIII 異氰酸酯(視情況當場)與式R₁₀COW 化合物(例如醋酸)，於其相應之酸酐(意即(R₁₀CO)₂O)存在下接觸，以形成式IX 醯胺，其中：

R₁₀為C₁₋₆烷基(R₁₀較佳為甲基)；且

W為OH或OC₁₋₆烷基。

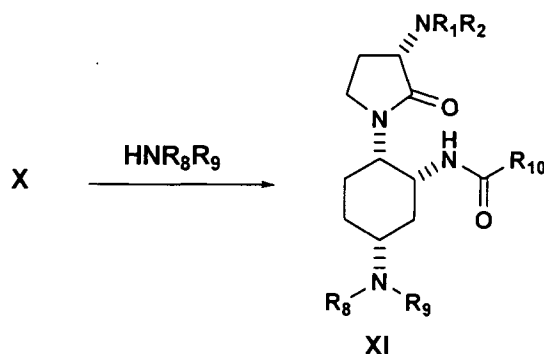
於第19項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式X 化合物之方法：



此方法包括：

使式IX醯胺之縮酮部份基團水解，以形成式X化合物。縮酮水解條件與試劑係為熟諳此藝者所習知。水解作用較佳係藉由將具有縮酮部份基團之化合物IX在有機溶劑(例如丙酮)與鹽酸(約1N)中之溶液，於約45°C至約55°C下加熱，進行約2-4小時。

於第20項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式XI化合物之方法：



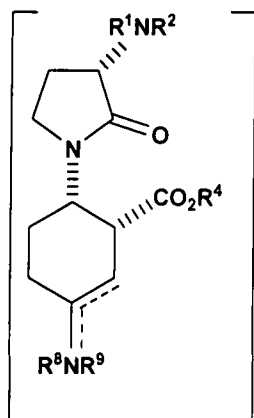
此方法包括：

以還原方式使式X化合物以式HNR₈R₉胺，於路易士酸，接著於還原劑存在下胺化，以形成具有四氫吡咯酮胺部份基團之式XI化合物。

於第21項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中以還原方式胺化係包括以下步驟：

a)將路易士酸(較佳為鈦試劑，包括但不限於TiCl₂(O-異丙基)₂)，添加至化合物X與具有式HNR₈R₉之胺在非質子性溶劑中之溶液內，

以形成式Xa之亞胺-烯胺：



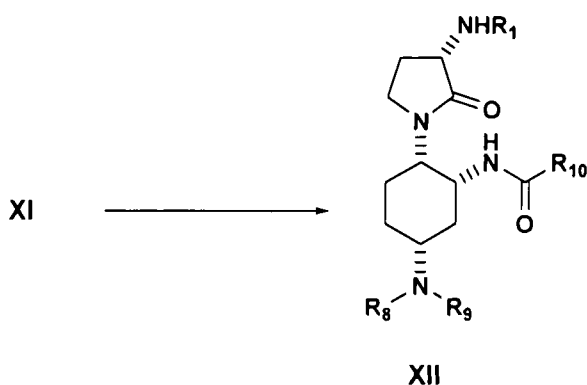
；及

b)將式Xa之亞胺-烯胺以還原劑(較佳為硼烷硫化二甲烷)處理，而得具有四氫吡咯酮胺部份基團之式XI化合物。

在前文步驟中，非質子性溶劑可為例如但不限於二氯甲烷、乙腈、DMSO、DMF及N-甲基-四氫吡咯酮(較佳為二氯甲烷)。

於第22項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中式HN(R₈)(R₉)之胺較佳為第三-丁基胺。

於第23項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式XII化合物之方法：



此方法包括：

使式XI四氫吡咯酮胺去除保護，以形成式XII化合物。

於第24項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中去除保護步驟係經由使式XII化合物之溶液，於觸媒譬如鈀存在下氫化而進行。氫化作用較佳係在約20至約40 psig下，於溶劑中，包括但不限

於甲醇，在5% Pd/C觸媒上，於約25℃下進行約二至約六小時。

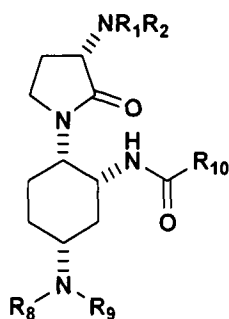
於第25項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式I化合物之方法，其包括使式XII化合物與式  化合物偶合，而得式I化合物，其中：

HET為3-14員雜芳基環，具有一至四個選自N、O或S之雜原子(較佳為一至三個雜原子，尤其是一至兩個氮原子)在至少一個環中(HET較佳為6-取代之喹啉-4-基，更佳為6-三氟甲基-喹啉-4-基)；且

LG為脫離基，選自鹵素或OSO₂R₁₆，其中R₁₆為苯基，5-至7-員雜芳基，具有一或多個選自N、S或O之原子，C₁₋₆烷基或3-至7-員環烷基，其全部均視情況被一至三個選自鹵素、CF₃及C₁₋₆烷基之基團取代(LG較佳為鹵素，尤其是氯)。

於本文中使用的脫離基係包括但不限於譬如鹵素、甲烷磺酸鹽、九氟烷磺酸鹽、磺酸鹽、甲苯磺酸鹽及三氟甲烷磺酸鹽之基團。較佳脫離基為鹵素或OSO₂R₁₆，其中R₁₆為苯基，5-至7-員雜芳基，具有一或多個選自N、S或O之原子，C₁₋₆烷基或3-至7-員環烷基，其全部均視情況被一至三個選自鹵素、CF₃及C₁₋₆烷基之基團取代。在最佳具體實施例中，LG為鹵素，尤其是氯。

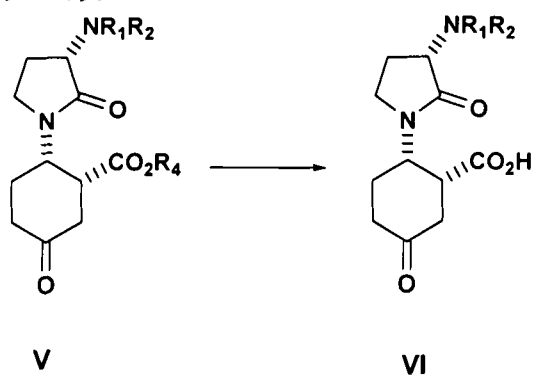
於第26項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式X化合物之方法：



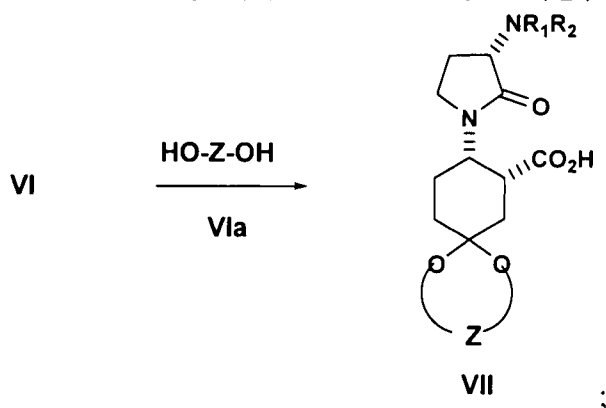
XI

其包括以下步驟：

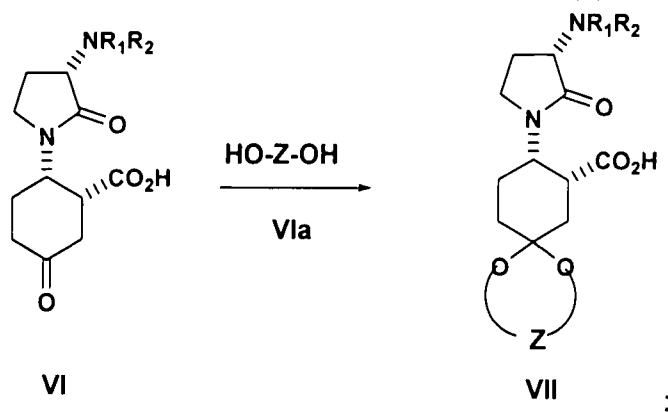
以水解劑，使式V化合物之酯部份基團在約-5至約5℃之溫度下水解，以形成化合物VI酸：



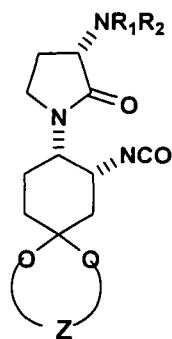
使式VIa化合物，HO-Z-OH，與式IV化合物(視情況當場)於酸觸媒存在下反應，獲得具有羧酸部份基團之式VII化合物：



使式VIa化合物，HO-Z-OH (較佳為烷二醇，尤其是乙二醇)，與式IV化合物(視情況當場)，於酸觸媒(較佳為對-甲苯磺酸或其水合物)存在下反應，獲得具有羧酸部份基團之式VII化合物：

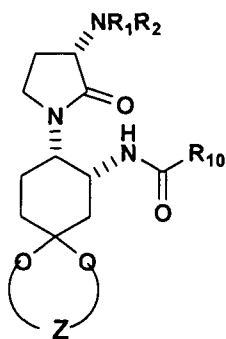


使式VII縮酮之羧酸部份基團轉變成式VIII之相應中間物異氰酸酯：



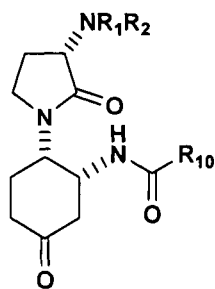
VIII;

使式VIII異氰酸酯(視情況當場)與式 $R_{10}COW$ 化合物(例如醋酸), 於其相應之酸酐(意即 $(R_{10}CO)_2O$)存在下接觸, 以形成具有縮酮部份基團之式IX醯胺:



IX; 及

使式IX醯胺之縮酮部份基團水解, 以形成式X化合物:



X;

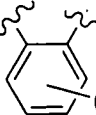
其中:

R_1 與 R_2 係獨立為氫或胺-保護基;

R_4 與 R_{10} 係獨立為 C_{1-6} 烷基或視情況經取代之苄基;

R_8 與 R_9 係獨立為氫或 C_{1-6} 烷基;

W為OH或 OC_{1-6} 烷基;

Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基。

於第27項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式XI化合物之方法，其中：

式VII化合物為(7R,8S)-8-((3S)-3-(((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1,4-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸或其鹽；

式VIIa化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-(疊氮基羰基)-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

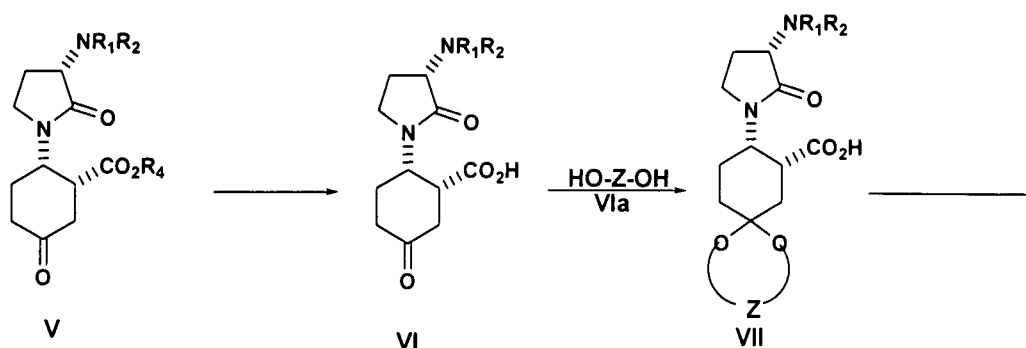
式VIII化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-異氰酸基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

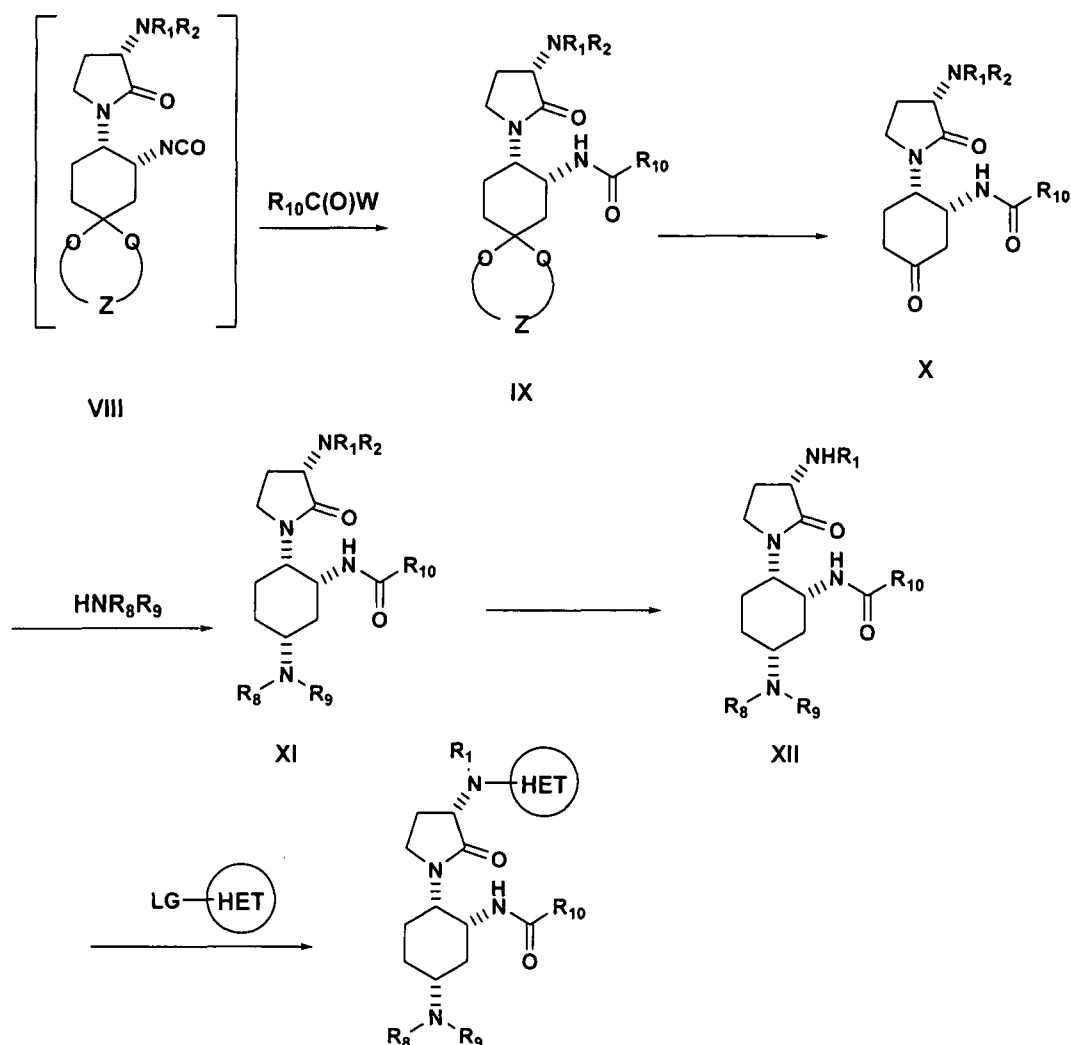
式IX化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

式X化合物為((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；且

式XI化合物為((3S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第28項具體實施例中，揭示內容係提供一種製備式I化合物之方法：





此方法包括：

以水解劑(較佳為鹼金屬氫氧化物，尤其是氫氧化鈉)，使式V化合物之酯部份基團水解，以形成式VI化合物；

使式Va化合物，HO-Z-OH，與式VI化合物，視情況當場於酸觸媒(較佳為對-甲苯磺酸或其水合物)存在下反應，而得具有羧酸部份基團之式VII化合物；

使式VII縮酮之羧酸部份基團轉變，以形成相應之式VIII中間物異氰酸酯；

使式VIII異氰酸酯，視情況當場與式R₁₀COW化合物(較佳為醋酸)，於其相應之酸酐(R₁₀CO)₂O (較佳為醋酸酐)存在下接觸，以形成具有縮酮部份基團之式IX醯胺；

使式IX醯胺之縮酮部份基團水解，以形成式X化合物；及

以還原方式使式X化合物以式 HNR_8R_9 胺(較佳為第三-丁基胺)，於路易士酸(較佳為鈦試劑，譬如 $\text{TiCl}_2(\text{O-異丙基})_2$)存在下胺化，以形成具有四氫吡咯酮胺部份基團之式XI化合物；

使式XI四氫吡咯基胺去除保護，以形成式XII化合物；及

使式XII化合物與式  化合物偶合，而得式I化合物；

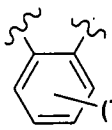
其中：

R_1 與 R_2 係獨立為氫或胺-保護基；

R_4 與 R_{10} 係獨立為 C_{1-6} 烷基或視情況經取代之苄基；

R_8 與 R_9 係獨立為氫或 C_{1-6} 烷基；

W為OH或 OC_{1-6} 烷基；

Z為 $-(\text{CT}_1\text{T}_2)_2-$ 、 $-(\text{CT}_1\text{T}_2)_3-$ 或  $(\text{T}_3)_{0-4}$ ；

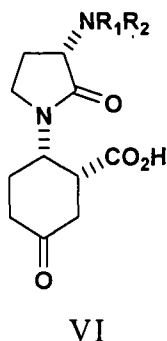
T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(\text{CH}_2)_2-$)；

HET為3-14員雜芳基環，具有一至四個選自N、O或S之雜原子(較佳為一至三個雜原子，尤其是一至兩個氮原子)在至少一個環中(HET較佳為6-取代之喹啉-4-基，更佳為6-三氟甲基-喹啉-4-基)；且

LG為脫離基，選自鹵素或 $\text{OSO}_2\text{R}_{16}$ ，其中 R_{16} 為苯基，5-至7-員雜芳基，具有一或多個選自N、S或O之原子， C_{1-6} 烷基或3-至7-員環烷基，其全部均視情況被一至三個選自鹵素、 CF_3 及 C_{1-6} 烷基之基團取代(LG較佳為鹵素，尤其是氯)。

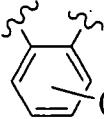
於第29項具體實施例中，揭示內容係提供式VI化合物，或其

鹽：



其中：

R_1 與 R_2 係獨立選自氫，與胺-保護基，選自BOC、Cbz及苄基(較佳情況是 R_1 為氫，且 R_2 為Cbz)；

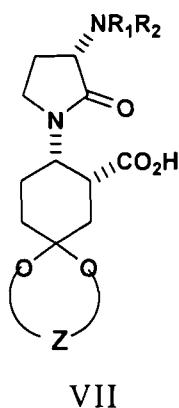
Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(CH_2)_2-$)。

較佳式VI化合物為(1R,2S)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-酮基環己烷羧酸或其鹽。

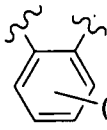
於第30項具體實施例中，揭示內容係提供式VI化合物，其係為(1R,2S)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-酮基環己烷羧酸或其鹽。

於第31項具體實施例中，揭示內容係提供新穎式VII化合物，或其鹽：



其中：

R_1 與 R_2 係獨立選自氫，與胺-保護基，選自BOC、Cbz及苄基(較佳情況是 R_1 為氫，且 R_2 為Cbz)；

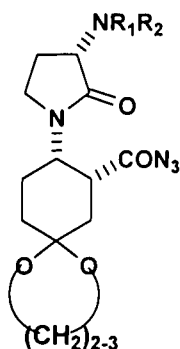
Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(CH_2)_2-$)。

較佳式VII化合物為(7R,8S)-8-((3S)-3-(((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸。

於第32項具體實施例中，揭示內容係提供式VII化合物，其係為(7R,8S)-8-((3S)-3-(((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸或其鹽。

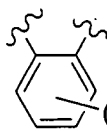
於第33項具體實施例中，揭示內容係提供新穎式VIIa化合物，或其鹽：



VIIa

其中：

R_1 與 R_2 係獨立選自氫，與胺-保護基，選自BOC、Cbz及苄基(較佳情況是 R_1 為氫，且 R_2 為Cbz)；

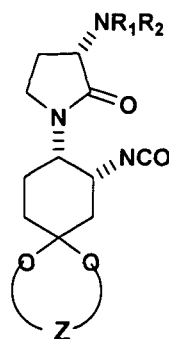
Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(CH_2)_2-$)。

較佳式VIIa化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-(疊氮基羰基)-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。

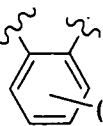
於第34項具體實施例中，揭示內容係提供式VIIa化合物，其係為((3S)-1-((7R,8S)-7-(疊氮基羰基)-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第35項具體實施例中，揭示內容係提供式VIII化合物，或其鹽：



其中：

R_1 與 R_2 係獨立選自氫，與胺-保護基，選自BOC、Cbz或苄基(較佳情況是 R_1 為氫，且 R_2 為Cbz)；

Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；且

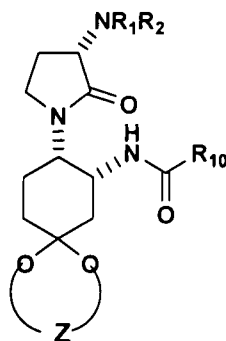
T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(CH_2)_2-$)。

較佳式VIII化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-異氰酸基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。

於第36項具體實施例中，揭示內容係提供式VIII化合物，其係為

((3S)-1-((7R,8S)-7-異氰酸基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

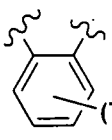
於第37項具體實施例中，揭示內容係提供式IX化合物，或其鹽：



IX

其中：

R_1 與 R_2 係獨立選自氫，與胺-保護基，選自BOC、Cbz或苄基(較佳情況是 R_1 為氫，且 R_2 為Cbz)；

Z為 $-(CT_1T_2)_2-$ 、 $-(CT_1T_2)_3-$ 或  $(T_3)_{0-4}$ ；

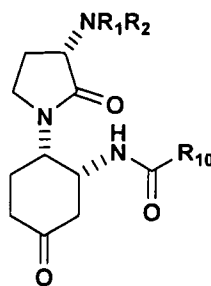
T_1 、 T_2 及 T_3 ，在每一存在處，係獨立選自氫、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、 CF_3 、 OC_{1-4} 烷基、 OCF_3 及 $C(=O)C_{1-4}$ 烷基(Z較佳為 $-(CH_2)_2-$)；且

R_{10} 為 C_{1-6} 烷基(較佳為甲基)。

較佳式IX化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。

於第38項具體實施例中，揭示內容係提供式IX化合物，其係為((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第39項具體實施例中，揭示內容係提供式X化合物，或其鹽：



X

其中：

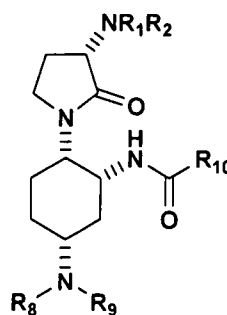
R_1 與 R_2 係獨立為氫，或胺-保護基，選自BOC、Cbz及苄基；且

R_{10} 為 C_{1-6} 烷基。

較佳情況是， R_1 為氫， R_2 為Cbz，且 R_{10} 為甲基。較佳式X化合物為((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。

於第40項具體實施例中，揭示內容係提供式X化合物，其係為((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第40項具體實施例中，揭示內容係提供式XI化合物，或其鹽：



XI

其中：

R_1 與 R_2 係獨立為氫，或胺-保護基，選自BOC、Cbz及苄基；

R_8 與 R_9 係獨立為氫或 C_{1-6} 烷基；且

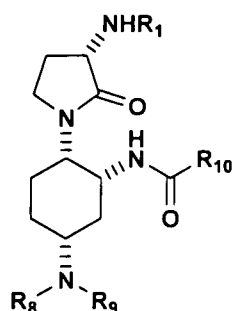
R_{10} 為 C_{1-6} 烷基。

較佳情況是， R_1 為氫， R_2 為Cbz， R_8 為氫， R_9 為第三-丁基，且

R_{10} 為甲基。較佳式 XI 化合物為 ((3S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。

於第 41 項具體實施例中，揭示內容係提供式 XI 化合物，其係為 ((3S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第 42 項具體實施例中，揭示內容係提供式 XII 化合物，或其鹽：



XII

其中：

R_1 為氫，或胺-保護基，選自 BOC、Cbz 及苄基；

R_8 與 R_9 係獨立為氫或 C_{1-6} 烷基；且

R_{10} 為 C_{1-6} 烷基。

較佳情況是， R_1 為氫， R_8 為氫， R_9 為第三-丁基，且 R_{10} 為甲基。

較佳式 XII 化合物為 N-((1R,2S,5R)-2-((3S)-3-胺基-2-酮基-1-四氫吡咯基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺。

於第 43 項具體實施例中，揭示內容係提供式 XII 化合物，其係為 N-((1R,2S,5R)-2-((3S)-3-胺基-2-酮基-1-四氫吡咯基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺或其鹽。

於第 44 項具體實施例中，揭示內容係提供選自以下之化合物：

(7R,8S)-8-((3S)-3-(((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸或其鹽；

((3S)-1-((7R,8S)-7-(疊氮基羰基)-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

((3S)-1-((7R,8S)-7-異氰酸基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；及

((3S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於45項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中：

式VII化合物為(7R,8S)-8-((3S)-3-((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸或其鹽；

式VIIa化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-(疊氮基羰基)-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

式VIII化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-異氰酸基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

式IX化合物為((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；

式X化合物為((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽；且

式XI化合物為((3S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯或其鹽。

於第46項具體實施例中，揭示內容係提供一種方法，其中式I化合物為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺或其鹽。

本發明可在未偏離其精神或基本特質下，以其他特定形式具體表現。因此，上述具體實施例不應被認為是限制。本發明之任何與所有具體實施例，均可搭配任何其他一或多項具體實施例，以描述其他具體實施例。具體實施例之各個別構件(包括較佳方面)係為其自有獨立具體實施例。再者，一項具體實施例之任何構件，係意欲與來自任何具體實施例之任何與所有其他構件合併，以描述其他具體實施例。此外，本發明係涵蓋本文所指出本發明之不同具體實施例、部份具體實施例、定義、說明例及實例之組合。

定義

下文係為本專利說明書與隨文所附請求項中所使用術語之定義。對本文中基團或術語所提供之最初定義，在整個本專利說明書與請求項中係適用於該基團或術語，個別地或作為另一種基團之一部份，除非另有指出。

"烷基"一詞係指直鏈或分枝鏈烴基，具有1至12個碳原子，較佳為1至6個碳原子。當數目以下標出現在符號"C"之後時，該下標係更明確地界定特定基團可含有之碳原子數。例如，"C₁₋₆烷基"係指具有一至六個碳原子之直鏈與分枝鏈烷基，譬如甲基、乙基、正-丙基、異丙基、正-丁基、第三-丁基、正-戊基等等。下標"0"係指一個鍵結。因此，羥基(C₀₋₂)烷基或(C₀₋₂)羥烷基術語係包括羥基、羥甲基及羥乙基。烷基可被一至三個基團取代，取代基選自(C₁₋₆)烷基、(C₂₋₆)烯基、羥基、鹵素、氰基、硝基、CF₃、O(C₁₋₆烷基)、OCF₃、C(=O)H、C(=O)(C₁₋₆烷基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₆烷基)、NHCO₂(C₁₋₆烷基)、-S(C₁₋₆烷基)、NH₂、NH(C₁₋₆烷基)、N(C₁₋₆烷基)₂、N(CH₃)₃⁺、SO₂(C₁₋₆烷基)、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH₂、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH(烷基)、C(=O)(C₁₋₄次烷基)N(C₁₋₄烷基)₂、C₃₋₇環烷基、苯基、苄基、苯基乙基、苯基氧基、苄氧基、萘基、四-至七-員雜環基及/或五-至六-

員雜芳基。當經取代之烷基係被芳基、雜環基、環烷基或雜芳基取代時，該環狀系統均如下文定義，且因此可具有零、一、二或三個取代基，亦如下文定義。

當"烷基"一詞係與另一種基團一起使用時，譬如在"芳烷基"中，此搭配係更明確地定義經取代烷基將含有之取代基之一。例如，"芳烷基"係指如上文定義之經取代烷基，其中至少一個取代基為芳基，譬如苄基。因此，芳基(C_{0-4})烷基一詞包括具有至少一個芳基取代基之經取代低碳烷基，且亦包括直接結合至另一個基團之芳基，意即芳基(C_0)烷基。

"烯基"一詞係指直鏈或分枝鏈烴基，具有2至12個碳原子及至少一個雙鍵。2至6個碳原子且具有一個雙鍵之烯基為最佳。烯基可如上文關於烷基所述經取代。

"炔基"一詞係指直鏈或分枝鏈烴基，具有2至12個碳原子及至少一個參鍵。2至6個碳原子且具有一個參鍵之炔基為最佳。炔基可如上文關於烷基所述經取代。

"次烷基"一詞係指二價直鏈或分枝鏈烴基，具有1至12個碳原子，較佳為1至8個碳原子，例如 $\{-CH_2-\}_n$ ，其中 n 為1至12，較佳為1-8。低碳次烷基，意即1至2個碳原子之次烷基，係為最佳。"次烯基"與"次炔基"術語係個別指如上文定義烯基與炔基之二價基團。次烯基可如上文關於烷基所述經取代。

"烷氧基"一詞係指被如本文所定義之烷基取代之氧原子。例如，"烷氧基"一詞包括基團 $-O-C_{1-6}$ 烷基。

當下標係關於烷氧基、硫基烷基或胺基烷基使用時，下標係指該基團除了雜原子以外可含有之碳原子數。

應明瞭的是，對於所有基團之選擇，包括例如烷氧基、硫基烷基及胺基烷基，將由熟諳此領域者施行，以提供安定化合物。

"羰基"一詞係指二價羰基-C(=O)-。

"醯基"一詞係指羰基，經連結至有機基團，更特別是基團C(=O)R_e，以及二價基團-C(=O)R_e-，其係被連結至有機基團。基團R_e可選自如本文定義之烷基、烯基、炔基、環烷基、雜環基、芳基或雜芳基，或當合適時，為其相應之二價基團，例如次烷基。

"環烷基"一詞係指3至9個，較佳為3至7個碳原子之完全飽和與部份不飽和烴環(因此包括"環烯基環")。"環烷基"一詞包括具有零、一、二或三個取代基之環，取代基選自(C₁₋₄)烷基、(C₂₋₄)烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、CF₃、O(C₁₋₄烷基)、OCF₃、C(=O)H、C(=O)(C₁₋₄烷基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄烷基)、NHCO₂(C₁₋₄烷基)、S(C₁₋₄烷基)、NH₂、NH(C₁₋₄烷基)、N(C₁₋₄烷基)₂、N(C₁₋₄烷基)₃⁺、SO₂(C₁₋₄烷基)、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH₂、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH(烷基)及/或C(=O)(C₁₋₄次烷基)N(C₁₋₄烷基)₂。"環烷基"一詞亦包括具有第二個環經稠合至其上(例如包括苯并、雜環基或雜芳基環)或具有3至4個碳原子之碳-碳橋基之環。

"鹵基"或"鹵素"術語係指氟基、溴基、氯基及碘基。

"鹵烷基"一詞係意謂經取代之烷基，具有一或多個鹵基取代基。例如，"鹵烷基"包括單、雙及三氟甲基。

"鹵烷氧基"一詞係意謂具有一或多個鹵基取代基之烷氧基。例如，"鹵烷氧基"包括OCF₃。

"雜原子"一詞係包括氧、硫及氮。

"芳基"一詞係指苯基、聯苯基、萘基、1-萘基及2-萘基。"芳基"一詞包括具有零、一、二或三個取代基之環，取代基選自(C₁₋₄)烷基、(C₂₋₄)烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、CF₃、O(C₁₋₄烷基)、OCF₃、C(=O)H、C(=O)(C₁₋₄烷基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄烷基)、NHCO₂(C₁₋₄烷基)、S(C₁₋₄烷基)、NH₂、NH(C₁₋₄烷基)、N(C₁₋₄烷

基)₂、N(C₁₋₄ 烷基)₃⁺、SO₂(C₁₋₄ 烷基)、C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)NH₂、C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)NH(烷基)及/或C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)N(C₁₋₄ 烷基)₂。

"雜環基"或"雜環族"術語係指經取代與未經取代之非芳族(其可為部份或完全飽和) 3-至15-員環，具有一至四個雜原子。此種環可為3-至7-員單環狀基團、7-至11-員雙環狀基團及10-至15-員三環狀基團。含有雜原子之雜環基之各環可含有一或兩個氧或硫原子及/或一至四個氮原子，其條件是各環中雜原子之總數為四或較少，及進一步條件是該環含有至少一個碳原子。完成雙環狀與三環狀基團之稠合環可僅含有碳原子，且可為飽和、部份飽和或不飽和。氮與硫原子可視情況被氧化，且氮原子可視情況被四級化。雜環基可被連接在任何可採用之氮或碳原子上。雜環基環可含有零、一、二或三個取代基，選自(C₁₋₄)烷基、(C₂₋₄)烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、CF₃、O(C₁₋₄ 烷基)、OCF₃、C(=O)H、C(=O)(C₁₋₄ 烷基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄ 烷基)、NHCO₂(C₁₋₄ 烷基)、S(C₁₋₄ 烷基)、NH₂、NH(C₁₋₄ 烷基)、N(C₁₋₄ 烷基)₂、N(C₁₋₄ 烷基)₃⁺、SO₂(C₁₋₄ 烷基)、C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)NH₂、C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)NH(烷基)及/或C(=O)(C₁₋₄ 次烷基)N(C₁₋₄ 烷基)₂。舉例之雜環族基團包括一氮四圓基、四氫吡咯基、環氧丙烷基、二氫咪唑基、四氫嘧啶基、異二氫嘧啶基、噻唑啉基、異噻唑啉基、四氫呋喃基、六氫吡啶基、六氫吡嗪基、2-酮基六氫吡嗪基、2-酮基六氫吡啶基、2-酮基四氫吡咯基、2-氧一氮七圓烯基、一氮七圓烯基、4-六氫吡啶酮基、四氫吡喃基、嗎福啉基、硫基嗎福啉基、硫基嗎福啉基亞砷、硫基嗎福啉基砷、1,3-二氧伍圓、吡啶基及四氫-1,1-二酮基噻吩基等。

"雜芳基"一詞係指經取代與未經取代之芳族3-至14-員環，具有一至四個選自O、S或N之雜原子在至少一個環中。

該環可為5-或6-員單環狀基團、9-或10-員雙環狀基團及11-至14-員三

環狀基團。含有雜原子之雜芳基之各環可含有一或兩個氧或硫原子及/或一至四個氮原子，其條件是各環中雜原子之總數為四或較少，且各環具有至少一個碳原子。完成雙環狀與三環狀基團之稠合環可僅含有碳原子，且可為飽和、部份飽和或不飽和。氮與硫原子可視情況被氧化，且氮原子可視情況被四級化。為雙環狀或三環狀之雜芳基必須包含至少一個全芳族環，但一個或多個其他稠合環可為芳族或非芳族。雜芳基可被連接在任何環之任何可採用氮或碳原子上。雜芳基環系統可含有零、一、二或三個取代基，選自(C₁₋₄)烷基、(C₂₋₄)烯基、鹵素、羥基、氰基、硝基、CF₃、O(C₁₋₄烷基)、OCF₃、C(=O)H、C(=O)(C₁₋₄烷基)、CO₂H、CO₂(C₁₋₄烷基)、NHCO₂(C₁₋₄烷基)、S(C₁₋₄烷基)、NH₂、NH(C₁₋₄烷基)、N(C₁₋₄烷基)₂、N(C₁₋₄烷基)₃⁺、SO₂(C₁₋₄烷基)、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH₂、C(=O)(C₁₋₄次烷基)NH(烷基)及/或C(=O)(C₁₋₄次烷基)N(C₁₋₄烷基)₂。

舉例之雜芳基包括吡咯基、吡啶基、二氫吡啶基、咪唑基、嘧啶基、異嘧啶基、噻唑基、噻二唑基、異噻唑基、呋喃基、噻吩基、嘧啶二唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、嗒嗪基、三嗪基、吡啶基、苯并噻唑基、苯并二氧伍圓烯基、苯并嘧啶基、苯并噻吩基、喹啉基、四氫異喹啉基、異喹啉基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、吡嗪基、苯并呋喃基、色酮基、香豆基、苯并呋喃基、嘧啶基、喹啉基、吡啶基、吡咯并吡啶基、呋喃并吡啶基、二氫異吡啶基、四氫喹啉基等。特定雜芳基包括例如6-取代之噻唑啉-4-基與6-三氟甲基-噻唑啉-4-基。

在基團被指稱為"視情況經取代"之情況中，此術語在本文中係被定義為包括經取代與未經取代之基團兩者。

此處所描述之化合物可具有不對稱中心。含有不對稱取代原子之本發明化合物，可以光學活性或外消旋形式單離。此項技藝中習知

如何製備光學活性形式，譬如藉由外消旋形式之解析，或藉由光學活性起始物質之合成而得。烯烴、C=N雙鍵等之許多幾何異構物，亦可存在於本文所述之化合物中，且所有此種安定異構物均意欲涵蓋在本發明中。本發明化合物之順式與反式幾何異構物係經描述，並可被分離成異構物之混合物，或成為經分離之異構物形式。一種結構之所有對掌性、非對映異構物、外消旋形式及所有幾何異構形式，均為所意欲的，除非明確指示特定立體化學或異構物形式。

本文中所揭示化合物之一種對掌異構物，與另一種比較，可顯示優越活性。因此，所有立體化學物質係被認為是本發明之一部份。當需要時，外消旋物質之分離可藉由HPLC，使用對掌性管柱，或藉由解析，使用解析劑譬如氯化樟腦磺醯達成，如Steven D. Young等人，*抗微生物劑與化學療法*, 1995, 2602-2605。

於本文中採用之"藥學上可接受"之措辭，係指在安全可靠醫學判斷之範圍內，適用於與人類及動物之組織接觸，而不會有過度毒性、刺激性、過敏性回應或其他問題或併發症，伴隨著合理利益/風險比之化合物、物質、組合物及/或劑型。

於本文中使用之"藥學上可接受之鹽"係指所揭示化合物之衍生物，其中母體化合物係經由製造其酸或鹼鹽而被改質。藥學上可接受鹽之實例，包括但不限於鹼性殘基譬如胺類之磺酸或有機酸鹽；酸性殘基譬如羧酸類之鹼或有機鹽；及其類似物。藥學上可接受之鹽，包括母體化合物之習用無毒性鹽或四級銨鹽，例如製自無毒性無機或有機酸。例如，此種習用無毒性鹽包括衍生自無機酸者，無機酸譬如鹽酸、氫溴酸、硫酸、胺基磺酸、磷酸、硝酸等；及製自有機酸之鹽，有機酸譬如醋酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、雙羥萆酸、順丁烯二酸、羥基順丁烯二酸、苯基醋酸、麩胺酸、苯甲酸、柳酸、磺胺酸、2-乙醯氧基苯甲

酸、反丁烯二酸、甲苯磺酸、甲烷磺酸、乙烷二磺酸、草酸、羥乙磺酸等。

本發明藥學上可接受之鹽，可自含有鹼性或酸性部份之母體化合物，藉習用化學方法合成而得。一般而言，此種鹽可經由使此等化合物之自由態酸或鹼形式，與化學計量之適當鹼或酸，在水中，或在有機溶劑中，或在此兩者之混合物中反應而製成；一般而言，非水性媒質，例如醚、醋酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈，係為較佳的。適當鹽之清單可參閱 *Remington 氏醫藥科學*，第 17 版，Mack 出版公司，Easton, PA, 1985，第 1418 頁，其揭示內容係併於本文供參考。

由於已知前體藥物會提高許多想要之醫藥品質(例如溶解度、生物利用率、製造等...)，故本發明化合物可以前體藥物形式傳輸。因此，本發明係意欲涵蓋目前所請求化合物之前體藥物，其傳輸方法及含有彼等之組合物。"前體藥物"係意欲包括任何共價結合之載體，當此種前體藥物被投予哺乳動物病患時，其會在活體內釋出本發明之活性母體藥物。本發明中之前體藥物係經由改變存在於化合物中之官能基而製成，其方式是致使此等改變，無論是在例行操作中或在活體內，分裂成母體化合物。前體藥物包括本發明之化合物，其中羥基、胺基或氫硫基係結合至任何基團，當本發明之前體藥物被投予哺乳動物病患時，其會個別分裂而形成自由態羥基、自由態胺基或自由態氫硫基。前體藥物之實例包括但不限於在本發明化合物中之醇與胺官能基之醋酸酯、甲酸酯及苯甲酸酯衍生物。

"安定化合物"與"安定結構"係意欲表示一種化合物，其足夠強健而自反應混合物中留存著，單離至有用純度，及調配成有效治療劑。本發明係意欲具體化表現安定化合物。

"治療上有效量"係意欲包括單獨本發明化合物之量，或所請求化合物之組合之量，或本發明化合物併用其他活性成份之量，有效抑制

MCP-1或有效治療或預防病症。

於本文中使用的"進行治療"或"治療作業"係涵蓋在哺乳動物中，特別是在人類中之疾病狀態之治療，且包括：(a)預防該疾病狀態發生於哺乳動物中，特別是當此種哺乳動物易罹患該疾病狀態，但尚未被診斷為具有該疾病時；(b)抑制該疾病狀態，意即遏制其發展；及/或(c)減輕該疾病狀態，意即造成該疾病狀態之退化。

於本文中使用的指稱特定型式例如"N-2"之名稱，不應被認為是限制關於具有類似或相同物理與化學特性之任何其他物質，而是應明瞭此等指稱僅只是鑒別符號，其應根據亦於本文中提出之特徵鑒定資訊加以解釋。

本發明係提供N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之自由態鹼之至少部份結晶型，作為一種新穎物質，特別是呈藥學上可接受之型式。於某些較佳具體實施例中，此自由態鹼之結晶型係呈實質純式。此自由態鹼之結晶型之較佳具體實施例係揭示於實例2中，為E-1、HAC-1、IPA-1、N-2、RPG-3、H0.5-4及H1.75-5型式。

於本文中使用的"多晶型物"係指形成晶體之分子、原子及/或離子具有相同化學組成但不同空間排列之結晶型。

於本文中使用的"溶劑合物"係指分子、原子及/或離子之結晶型，其進一步含有被併入晶體結構中之一或多種溶劑之分子。在溶劑合物中之溶劑分子可以規則排列及/或非有序排列存在。溶劑合物可含有無論是化學計量或非化學計量之溶劑分子量。例如，具有非化學計量之溶劑分子量之溶劑合物，可由於溶劑自溶劑合物之部份損失所造成。

於本文中使用的"非晶質"係指不為結晶性之分子、原子及/或離子之固體形式。非晶質固體不會顯示明確之X-射線繞射圖樣。

於本文中使用之"實質上純"，當參考結晶型使用時，係意謂化合物具有純度大於90重量%，包括大於約90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98及99重量%，且亦包括等於約100重量%之化合物I，以化合物重量為基準。其餘物質包括該化合物之其他型式，及/或由於其製備而發生之反應不純物及/或處理不純物。例如，N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之結晶型，當藉由此時已知且此項技藝中一般所接受之方式度量時，可被視為實質上純，因其具有純度大於90重量%，其中其餘小於10重量%之物質係包含N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺(自由態鹼或鹽)之其他型式，及/或反應不純物及/或處理不純物。

結晶型之試樣可具有實質上純相均一性，這顯示有優勢量之單晶型式及視情況具有之少量一或多種其他結晶型存在。超過一種結晶型存在於試樣中，可藉由譬如粉末X-射線繞射(PXRD)或固態核磁共振光譜學(SSNMR)之技術測定。例如，在以實驗方式度量之PXRD圖樣與模擬PXRD圖樣之比較上，額外吸收峰之存在，可表示超過一種結晶型在試樣中。模擬PXRD可計算自單晶X-射線數據。參閱Smith, D.K., "用於計算X-射線粉末繞射圖樣之FORTRAN程式", Lawrence放射實驗室, Livermore, California UCRL-7196 (1963年4月)。

結晶型較佳係具有實質上純相均一性，如藉由在以實驗方式度量之PXRD圖樣中，由於不存在於模擬PXRD圖樣中之額外吸收峰所發生之低於總吸收峰面積之10%，較佳係低於5%，且更佳係低於2%所顯示者。最佳為一種結晶型，其具有實質上純相均一性，在以實驗方式度量之PXRD圖樣中之總吸收峰面積，具有由於不存在於模擬PXRD圖樣中之額外吸收峰所發生之低於1%。

製備結晶型之程序係為此項技藝中已知。結晶型可藉由多種方法製備，包括例如自適當溶劑之結晶化作用或再結晶化作用，昇華作用，自熔融體之生長，自另一相之固態轉變，自超臨界流體之結晶化作用，及噴射噴霧。結晶型來自溶劑混合物之結晶化作用或再結晶化作用之技術，包括例如溶劑之蒸發，降低溶劑混合物之溫度，將分子及/或鹽之過飽和溶劑混合物加入晶種，使溶劑混合物凍乾，及添加反溶劑(反萃溶劑)至溶劑混合物中。

此等型式可使用單晶X-射線繞射作特徵鑒定與區別，其係以一種型式之單晶在固定分析溫度下之單位晶胞與強度度量為基礎。單位晶胞與強度分析之詳細說明係提供於Stout & Jensen, X-射線結構測定：實用指南, Macmillan公司, New York (1968), 第3章中，其係併於本文供參考。或者，原子在結晶格子內空間關係上之獨特排列，可根據所發現之部份原子座標作特徵鑒定。參閱Stout & Jensen參考資料，關於結構分析之部分座標之實驗測定。另一種表現晶體結構特徵之方式係藉由粉末X-射線繞射分析，其中係將實驗或所發現之繞射分佈形態，與代表純粉末物質之模擬分佈形態作比較，兩者均在相同分析溫度下操作，且關於主題型式之度量值係被特徵鑒定為一系列2 θ 值與強度。

於本文中採用之"可忽視之重量損失"一詞，當藉由TGA作特徵鑒定時，係顯示純(未經溶劑化合)結晶型之存在。

於本文中採用之"可忽視之%吸水率"一詞，當藉由水份吸著等溫線作特徵鑒定時，係顯示經測試之型式為非吸濕性。

於本發明之一項具體實施例中，N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之結晶型，係以實質純式提供。此結晶型可被採用於醫藥組合物中，其可視情況包含一或多種其他經選擇之成份，例如來自

包括賦形劑、載劑及其他活性醫藥成份或不同分子結構之活性化學個體之一。

結晶型較佳係具有實質上純相均一性，如藉由在以實驗方式度量之PXRD圖樣中，由於不存在於模擬PXRD圖樣中之額外吸收峰所發生之低於總吸收峰面積之10%，較佳係低於5%，且更佳係低於2%所顯示者。最佳為一種結晶型，其具有實質上純相均一性，在以實驗方式度量之PXRD圖樣中之總吸收峰面積，具有由於不存在於模擬PXRD圖樣中之額外吸收峰所發生之低於1%。

於另一項具體實施例中，係提供一種組合物，其基本上包含N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之結晶型。此項具體實施例之組合物可包含至少90重量%該型式，以其在組合物中之重量為基準。

反應不純物及/或處理不純物之存在可藉由此項技藝中已知之分析技術測定，例如層析、核磁共振光譜學、質量光譜法或紅外線光譜學。

結晶型可藉由多種方法製備，包括例如自適當溶劑之結晶化作用或再結晶化作用，昇華作用，自熔融體之生長，自另一相之固態轉變，自超臨界流體之結晶化作用，及噴射噴霧。結晶型來自溶劑混合物之結晶化作用或再結晶化作用之技術，包括例如溶劑之蒸發，降低溶劑混合物之溫度，將分子及/或鹽之過飽和溶劑混合物加入晶種，使溶劑混合物凍乾，及添加反溶劑(反萃溶劑)至溶劑混合物中。可採用高通過量結晶化作用技術，以製備結晶型，包括多晶型物。

藥物之晶體，包括多晶型物，製備方法，及藥物晶體之特徵鑒定，係討論於藥物之固態化學，S.R. Byrn, R.R. Pfeiffer及J.G. Stowell, 第2版, SSCI, West Lafayette, Indiana (1999)中。

關於採用溶劑之結晶化技術，一或多種溶劑之選擇，典型上係依一或多項因素而定，譬如化合物之溶解度、結晶化技術及溶劑之蒸氣壓。可採用溶劑之組合，例如可使化合物溶解至第一種溶劑中而得溶液，接著添加反溶劑，以降低化合物在溶液中之溶解度，且獲得晶體之形成。"反溶劑"為其中化合物具有低溶解度之溶劑。製備晶體之適當溶劑包括極性與非極性溶劑。

在一種製備晶體之方法中，係使N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺懸浮及/或攪拌於適當溶劑中，而得漿液，可將其加熱以促進溶解。於本文中使用之"漿液"一詞係意謂自由態鹼之飽和溶液，其亦可含有另一數量之化合物，而得於特定溫度下之化合物與溶劑之不均勻混合物。關於此點之適當溶劑包括例如極性非質子性溶劑與極性質子性溶劑，及其中兩種或多種之混合物，如本文中所揭示。

可將種晶添加至任何結晶化作用混合物中，以促進結晶化作用。正如熟練技師將明瞭的，使用晶種係作為一種控制特定結晶型生長之方式，或作為一種控制結晶性產物粒子大小分佈之方式。因此，所需要晶種量之計算，係依可採用晶種之大小與平均產物粒子之所要大小而定，譬如在"批次結晶器之程式化冷卻"，J.W. Mullin與J. Nyvlt, *化學工程科學***1971**, 26, 369-377中所述者。一般而言，係需要小尺寸晶種，以有效地控制晶體在批次中之生長。小尺寸晶種可藉由較大晶體之篩濾、研磨或微粉化，或藉由溶液之微結晶化作用產生。應小心的是晶體之研磨或微粉化不會造成來自所要結晶型之結晶度上之任何改變(意即改變成非晶質或另一種多晶型物)。

經冷卻混合物可於真空下過濾，且可將經單離之固體以適當溶劑洗滌，譬如冷再結晶作用溶劑，並於氮滌氣下乾燥，而得所要之結晶型。經單離之固體可藉由適當光譜或分析技術分析，譬如

SSNMR、DSC、PXRD或其類似方式，以確保產物之較佳結晶型形成。所形成之結晶型典型上係以大於約70重量%經單離產率，但較佳係大於90重量%之量製成，以最初被採用於結晶化作用程序中之N-((1R,2S,5R)-

5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之重量為基準。若必要，此產物可經共研磨或通過網目篩網，以去除產物團塊。

結晶型可直接製自用於製備N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之最後處理步驟之反應媒質。這可例如藉由在最後處理步驟中採用自由態鹼可自其結晶之溶劑或溶劑混合物達成。或者，結晶型可藉蒸發或溶劑添加技術獲得。供此項目的使用之適當溶劑，包括任何本文中所述之溶劑，包括質子性極性溶劑，譬如醇類，及非質子性極性溶劑，譬如酮類。

以下述作為一般指引，可將反應混合物過濾以移除任何不期望之不純物、無機鹽等，接著以反應物或結晶化作用溶劑洗滌。可使所形成之溶液濃縮，以移除過量溶劑或氣態組份。若採用蒸餾，則所收集餾出物之最後量可以改變，依製程因數而定，包括例如容器大小、攪拌能力等。以下述作為一般指引，在進行溶劑置換之前，可使反應溶液蒸餾至原先體積之約1/10。可根據標準製程技術，將反應物取樣與檢測，以測定反應之程度與重量%產物。若需要，可添加或移除其他反應溶劑，以使反應濃度達最佳化。最後濃度較佳係被調整至約50重量%，此時典型上造成漿液。

較佳可直接添加溶劑至反應容器，而無需蒸餾反應混合物。供此項目的使用之較佳溶劑，係為可最後參與結晶格子者，如上文關於溶劑交換所討論者。雖然最後濃度可依所要之純度、回收等而改變，

但自由態鹼在溶液中之最後濃度，較佳為約4%至約7%。可將反應混合物在溶劑添加之後攪拌，且同時溫熱。以下述作為說明，可將反應混合物攪拌約1小時，同時溫熱至約70°C。反應較佳係經熱過濾，並以無論是反應溶劑、所添加之溶劑或其組合洗滌。可添加種晶至任何結晶化作用溶液中，以引發結晶化作用。

本文中所述之各種型式可經由利用一般熟諳此藝者已知之各種分析技術彼此區別。此種技術包括但不限於粉末X-射線繞射(PXRD)及/或熱重分析(TGA)。明確言之，此等型式可使用單晶X-射線繞射作特徵鑒定與區別，其係以一種特定型式之單晶在固定分析溫度下之單位晶胞度量為基礎。單位晶胞之詳細說明係提供於Stout & Jensen, X-射線結構測定：實用指南，Macmillan公司，New York (1968)，第3章中，其係併於本文供參考。或者，原子在結晶格子內於空間關係上之獨特排列，可根據所發現之部份原子座標作特徵鑒定。另一種表現晶體結構特徵之方式係藉由粉末x-射線繞射分析，其中係將繞射分佈形態，與代表純粉末物質之模擬分佈形態比較，兩者均在相同分析溫度下操作，且度量值係關於以一系列 2θ 值(通常為四個或更多個)為特徵之主題型式。

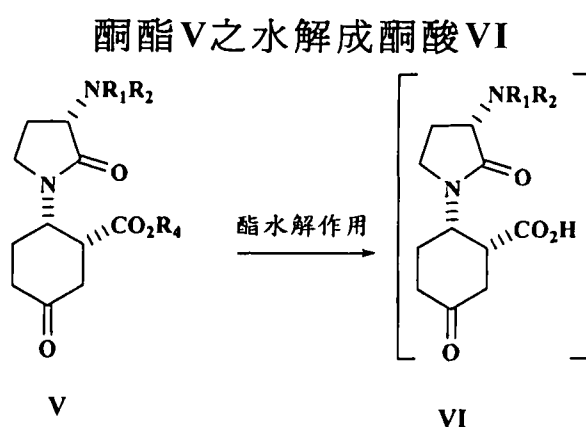
可使用表現此型式特徵之其他方式，譬如固態核磁共振(SSNMR)、示差掃描卡計法(DSC)、熱記錄術及結晶性或非晶質型態學之總體檢查。此等參數亦可合併使用，以表現主題型式之特徵。

一般熟諳此藝者將明瞭X-射線繞射圖樣可被獲得而具有度量誤差，其係依所採用之度量條件而定。特定言之，一般已知X-射線繞射圖樣中之強度可能波動，依所採用之度量條件，及晶體之形狀或型態學而定。應進一步明瞭的是，相對強度亦可依實驗條件而改變，因此正確強度等級不應納入考量。此外，關於習用X-射線繞射圖樣繞射角度之度量誤差，典型上為約 0.2° 或較低，較佳為約 0.1° (如後文所討

論)，且此種程度之度量誤差應被納入考量，譬如關於前文所提及之繞射角度。因此，應明瞭的是，本發明之結晶型並不限於提供X-射線繞射圖樣完全相同於本文所揭示附圖中所描繪X-射線繞射圖樣之結晶型。任何提供X-射線繞射圖樣實質上相同於附圖中所揭示者之結晶型，係落在本發明之範圍內。確定X-射線繞射圖樣實質同一性之能力，係在一般熟諳此藝者之技術範圍內。

合成

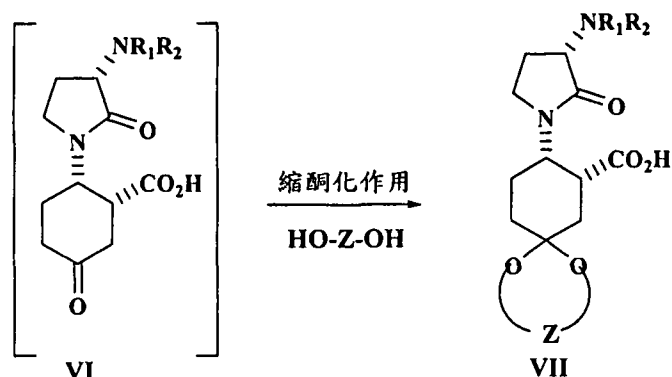
圖式1



使酮酯V水解成其相應之酮酸VI，其方式是使V懸浮於部份可與水溶混之有機溶劑中，譬如非環狀或環狀醚類，包括THF、2-甲基THF、1,2-二甲氧基乙烷、1,4-二氧陸園，THF為較佳，並添加含水鹼，譬如鹼金屬氫氧化物MOH之水溶液，其中M為Li、Na或K，1N NaOH係為較佳鹼，在-5℃至+5℃下。然後，將兩相混合物於≤5℃下攪拌至少一小時。關於鹼添加與反應之低溫係為重要的，以使在鄰近酯基之碳上之差向異構化作用降至最低。接著添加水不可溶混之溶劑，較佳為甲基第三-丁基醚，並分離液層。然後，將產物從水溶液轉移返回有機溶劑，較佳為二氯甲烷，其方式是以酸，較佳為3N HCl，調整pH，並將VI於溶液中使用於下一步驟。

圖式2

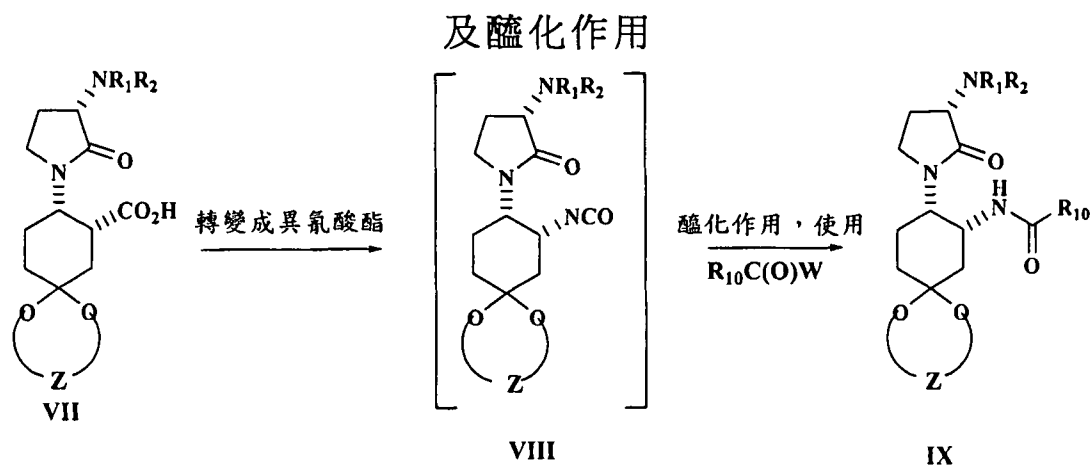
酮酸VI之縮酮化成縮酮酸VII



VI之溶液，較佳係在二氯甲烷中，係經由蒸餾而被交換成非吸濕性較高沸點溶劑，譬如甲苯、三氟甲苯、二甲苯，較高沸點酯類，譬如醋酸正-丁酯或異丁酯，較佳為甲苯。然後，添加式HO-Z-OH之二醇(其中Z係如前文定義)，較佳為乙二醇(1.2當量)，接著為催化量(0.5-2 M%)之酸，較佳為對-甲苯磺酸，並使混合物在大氣壓力下蒸餾，直到化合物VII之形成係完成為止。產物VII係於冷卻至大約70℃後，在添加醋酸乙酯時形成結晶。在進一步冷卻至室溫後，VII係藉過濾及後續乾燥而單離，呈約70%產率(對於HO(CH₂)₂OH，R₁=H，R₂=CBz)。

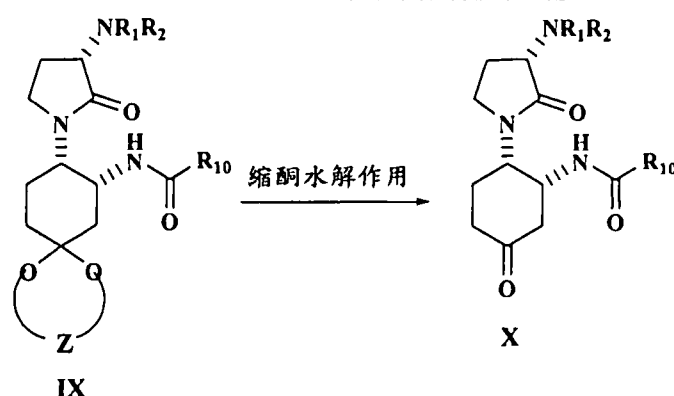
圖式3

縮酮酸VII之轉變成未經單離之縮酮異氰酸酯VIII，
接著轉變成縮酮醯胺IX，經由酸活化作用/疊氮化作用、Curtius重排



首先使酮酸**VII**活化，其方式是將其轉變成其混合酐，使用三級胺類，較佳為三乙胺，與鹵基甲酸酯，較佳為氯甲酸異丁酯，在無水溶劑中，譬如甲苯、三氟甲苯、1,2-二氯乙烷、1-氯基丁烷、二甲苯，較佳為無水甲苯，藉由將鹵基甲酸酯添加至**VII**與三烷基胺之預先冷卻溶液中。關於混合酐形成之較佳溫度為-10℃至0℃。在大約30分鐘後，添加鹼金屬疊氮化物之水溶液，較佳為~30重量%疊氮化鈉，與相轉移觸媒，譬如四烷基銨鹽，較佳為四丁基溴化銨(5莫耳%)，並將兩相混合物在-10℃至0℃下攪拌約1小時。然後，分離有機相，並使所形成之醯基疊氮化物溶液脫水乾燥，4Å分子篩為較佳乾燥劑。異氰酸酯**VIII**當場以羧酸之Curtius重排及共同捕獲，以形成縮酮醯胺**IX**，係以下述方式達成，首先將羧酸，較佳為醋酸，及其相應之酐，較佳為醋酸酐，添加至醯基疊氮化物之無水溶液中，接著，將混合物在80-90℃下加熱1-4小時。酐搭配羧酸之使用係為重要的，以使不純物形成降至最低。在藉由蒸餾部份移除溶劑與羧酸後，產物係於冷卻至室溫時形成結晶。**IX**係藉過濾與乾燥而單離，呈65-78%產率(對於Z = -(CH₂)₂-, R₁=H, R₂=CBz, R₁₀=Me)。

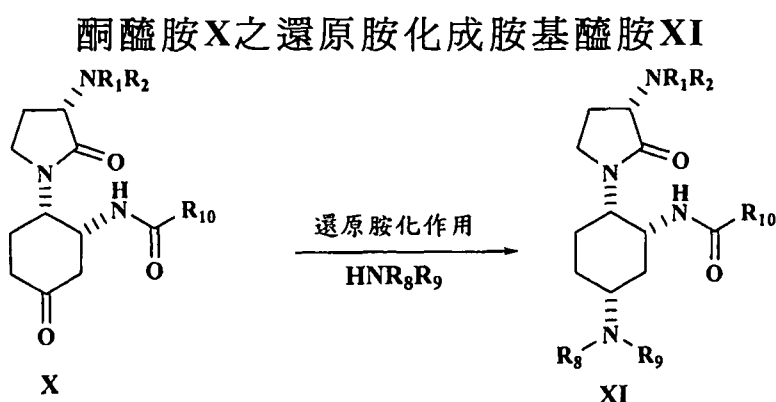
圖式4

縮酮醯胺**IX**之水解成酮醯胺**X**

化合物**IX**之縮酮水解成酮醯胺**X**係經由將**IX**在有機、水可溶混之溶劑(較佳為丙酮)中之溶液，與強酸之水溶液，較佳為1N HCl，加熱

2-4小時而達成。關於水解作用之較佳溫度為45-55℃。在移除丙酮後，將產物萃取至二氯甲烷，其係藉蒸餾交換至醋酸乙酯。產物**X**係自醋酸乙酯，於冷卻至室溫時形成結晶，且係藉過濾與乾燥而單離，呈85-90%產率(對於HO(CH₂)₂OH，R₁=H，R₂=CBz，R₁₀=Me)。

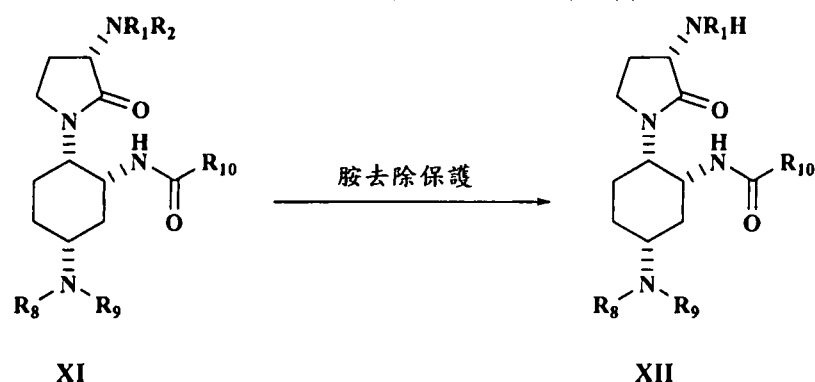
圖式5



於**X**在較佳為二氯甲烷中之無水溶液內，添加一級或二級胺，較佳為第三-丁基胺(5當量)，接著為路易士酸，較佳為TiCl₂(OPr-i)₂(1.2當量)，於-20℃至0℃下。使所形成之亞胺混合物溫熱至10-20℃，並將硼烷(1.1-1.2當量)以與硫化二甲烷或THF(較佳為硫化二甲烷)之複合物添加。將反應混合物攪拌4-6小時，然後，添加以水飽和之醋酸乙酯。鈦鹽係藉過濾移除，且產物**XI**係以其與含水酸(較佳為1N HCl)之鹽，自有機濾液萃取至水。接著，添加二氯甲烷，並將含水鹼，較佳為濃氫氧化銨，添加至經攪拌之兩相混合物中，直到pH經調整至8.0-8.5為止。然後，將富含產物之二氯甲烷液相分離，並以氯化銨水溶液洗滌兩次，以移除不想要之**XI**反式異構物，且最後使用水。二氯甲烷係藉蒸餾交換成醋酸乙酯，且**XI**係自醋酸乙酯，在冷卻及庚烷添加時形成結晶。**XI**係藉過濾與乾燥單離，呈65-70%產率(對於R₁=H，R₂=CBz，R₈=H，R₉=第三-Bu，R₁₀=Me)。

圖式6

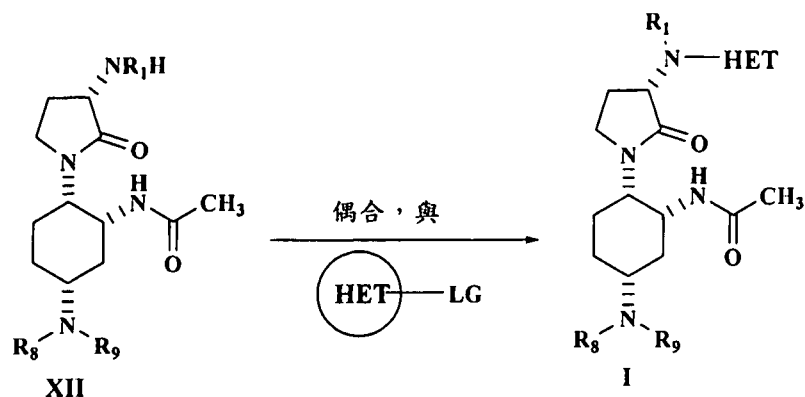
四氫吡咯酮基胺XI之去除保護



胺保護基 R_2 之移除，其中 R_2 為 $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ 或 CH_2Ph ，係經由使XI在醇，較佳為甲醇中之溶液，於Pd觸媒存在下，較佳為5重量% Pd/C，進行氫化數小時而達成。然後，藉過濾移除觸媒，且甲醇係藉蒸餾交換成醋酸乙酯。產物XII，其係自醋酸乙酯在冷卻及庚烷添加時形成結晶，係藉過濾與乾燥而單離，呈90-95%產率(對於 $R_1=\text{H}$ ， $R_2=\text{CBz}$ ， $R_8=\text{H}$ ， $R_9=\text{第三-Bu}$ ， $R_{10}=\text{Me}$)。

圖式7

胺XII與帶有脫離基之雜環HET-LG之偶合



化合物I之合成係經由使四氫吡咯酮基胺XII與帶有脫離基之雜環，於三級胺存在下，較佳為三乙胺，在可相容溶劑中偶合而達成，該溶劑譬如二氯甲烷、異丙醇或乙腈，二氯甲烷為較佳。所有成份係因此被合併，並使溶液在室溫下反應24-48小時。亦可採用先前製成之粗製雜環族成份之溶液。在反應完成後，將二氯甲烷以稀酸，較佳

為5重量%醋酸水溶液洗滌，分離水相，然後，將二氯甲烷藉蒸餾交換成醋酸乙酯。產物I，其係自醋酸乙酯在冷卻及庚烷添加時形成結晶，係藉過濾與乾燥而分離，呈75-80%產率(對於 $R_1=H$ ， $R_8=H$ ， $R_9=$ 第三-Bu， $R_{10}=Me$ ，HET=6-(三氟甲基)喹啉-4-基)。

關於本發明之方法，起始物質係為市購可得或可容易地由一般熟諳此藝者製備。溶劑、溫度、壓力、具有所要基團之起始物質及其他反應條件，可容易地由一般熟諳此藝者按適當方式選擇。此方法可按比例增大，以製備較大量之式I化合物，譬如以商業化生產設備。

【圖式簡單說明】

圖1. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，半水合物，型式H0.5-4之實驗與模擬粉末圖樣。

圖2. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，自由態鹼，型式N-2之實驗與模擬粉末圖樣。

圖3. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，1.75莫耳 H_2O ，型式H1.75-5之實驗與模擬粉末圖樣。

圖4. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-乙醇溶劑合物，型式E-1之實驗與模擬粉末圖樣。

圖5. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-醋酸溶劑合物，型式HAC-1之實驗與模擬粉末圖樣。

圖6. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-R-丙二醇

溶劑合物，型式RPG-3之實驗與模擬粉末圖樣。

圖7. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，半水合物，型式H0.5-4之DSC。

圖8. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，半水合物，型式H0.5-4之TGA。

圖9. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，自由態鹼，型式N-2之DSC。

圖10. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，自由態鹼，型式N-2之TGA。

圖11. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，自由態鹼，型式N-2，於25℃下之蒸氣吸著等溫線。

圖12. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，1.75莫耳H₂O，型式H1.75-5之DSC。

圖13. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，1.75莫耳H₂O，型式H1.75-5之TGA。

圖14. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-醋酸溶劑合物，型式HAC-1之DSC。

圖15. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三

氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-醋酸溶劑合物，型式HAC-1之TGA。

圖16. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-乙醇溶劑合物，型式E-1之DSC。

圖17. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-乙醇溶劑合物，型式E-1之TGA。

圖18. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-R-丙二醇溶劑合物，型式RPG-3之DSC。

圖19. N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺，單-R-丙二醇溶劑合物，型式RPG-3之TGA。

圖20. 在獼猴屬猴子中之皮內激發模式：實例1會抑制單核細胞添補至皮膚。

圖21. 在hCCR2 KI老鼠中之48-小時TG腹膜炎：單細胞/巨噬細胞浸潤至腹膜腔中之實例1抑制。

圖22. hCCR2 KI老鼠EAE (實驗自身免疫腦脊髓炎)：實例1治療會降低臨床評分。

圖23. 實例1之質子NMR光譜，第2個替代製備，步驟3 - 化合物7。

圖24. 實例1之質子NMR光譜，第2個替代製備，步驟4 - 化合物8。

圖25. 實例1之質子NMR光譜，第2個替代製備，步驟4 - 化合物9。

圖26. 實例1之質子NMR光譜，第2個替代製備，步驟4 - 化合物10。

圖27. 實例1之質子NMR光譜，第2個替代製備，步驟5 - 化合物11。

【實施方式】

實例

下述實例係說明本發明化合物與起始物質之具體實施例，而非意欲限制請求項之範圍。

按適當方式，反應係於乾燥氮(或氬)之大氣下進行。關於無水反應，係採用得自EM之Dri-Solv溶劑。關於其他反應，係使用試藥級或HPLC級溶劑。除非另有述及，否則全部市購所得之試劑均以接收時之情況使用。

LC/MS度量值係使用Shimadzu HPLC/Waters ZQ單一四極質譜儀混合系統獲得。關於吾人感興趣吸收峰之數據，係自正模式電噴霧離子化作用報告。NMR (核磁共振)光譜典型上係於Bruker或JEOL 400 MHz與500 MHz儀器上，在所指示之溶劑中獲得。所有化學位移係以距離具有溶劑共振而作為內標準之四甲基矽烷之ppm作報告。¹H-NMR光譜數據典型上係報告如下：化學位移，多重性(s =單重峰，brs =寬廣單峰，d =二重峰，dd =二重峰之二重峰，t =三重峰，q =四重峰，sep =七重峰，m =多重峰，app =表觀)，偶合常數(Hz)及積分。

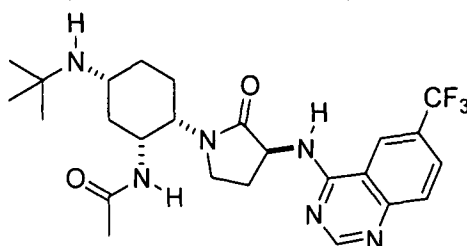
熟諳此藝者將明瞭本文在整個本專利說明書中所使用之標準縮寫。為了易於參考，故縮寫係包括但未必受限於：sat. =飽和，HPLC =高性能液相層析法，AP =面積百分比，KF = Karl-Fischer，RT =室溫，mmol =毫莫耳，HRMS =高解析質量光譜，TBTU =四氟硼酸O-苯并三唑-2-基-N,N,N',N'-四甲基鎂，MTBE = TBME =第三-丁基甲基醚，EDAC = N-(3-二甲胺基丙基)-N'-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽，EDC =

N-(3-二甲胺基丙基)-N'-乙基碳化二亞胺，TEA = 三乙胺，DPPA = 疊氮化二苯基磷醯，IPA = 異丙醇，TFA = 三氟醋酸，DCM = 二氯甲烷，THF = 四氫呋喃，DMF = N,N-二甲基甲醯胺，BOP = 六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)參(二甲胺基)磷，EtOAc = 醋酸乙酯，DMSO = 二甲亞砜， $^{\circ}\text{C}$ = 攝氏度數，eq = 當量或數當量，g = 克或數克，mg = 毫克或數毫克，mL (或 ml) = 毫升或數毫升，h = 小時或數小時，M = 莫耳濃度，N = 當量濃度，min = 分鐘或數分鐘，MHz = 百萬赫茲，TLC = 薄層層析法，v/v = 體積對體積比例，及 ca. = 約。

" α "、" β "、"R"及"S"係為熟諳此藝者所熟悉之立體化學名稱。

實例1

N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺



實例1，步驟1：使(1R,2S,5R)-2-苄氧羰基胺基-7-酮基-6-氮-雙環并[3.2.1]辛烷-6-羧酸第三-丁酯(89.6克，0.24莫耳，參閱：P. H. Carter 等人, PCT申請案WO 2005/021500)溶於醋酸乙酯(1.5升)中，並將所形成之溶液以飽和 NaHCO_3 (2 x 0.45升)與飽和 NaCl (1 x 0.45升)洗滌。使溶液脫水乾燥(Na_2SO_4)，然後直接過濾進入3頸3升圓底燒瓶中。將溶液以直接氮注入滌氣，然後，在氮大氣下裝填10% Pd/C (13.65克)。將燒瓶抽氣，且以氫逆充填；將其再重複兩次。使氫起泡經過此溶液30分鐘，接著，將反應物在1大氣壓 H_2 下攪拌18小時。將燒瓶抽氣，以氮逆充填，及裝填新觸媒(6克10% Pd/C)。使氫起泡經過此溶液30分鐘，然後，將反應物於1大氣壓 H_2 下攪拌18小時。將燒瓶抽氣，並

以氮逆充填。使混合物經過矽藻土過濾；接著，以醋酸乙酯洗滌過濾墊。以乙腈(0.3升)稀釋濾液(~1.6升 EtOAc 體積)，且相繼裝填 L-N-Cbz-甲硫胺酸(68克，0.24莫耳)、TBTU (77克，0.24莫耳)及 N,N-二異丙基乙胺(42毫升，0.24莫耳)。將反應物在室溫下攪拌4小時，於此段時間內，其係從懸浮液改變成透明溶液。藉由添加飽和 NH_4Cl (0.75升)與水(0.15升)使反應淬滅；將混合物以 EtOAc (0.75升)再稀釋。將液相混合，並分離，且將有機相以飽和 Na_2CO_3 (2 x 0.9升)與飽和 NaCl (1 x 0.75升)洗滌。使溶液脫水乾燥(Na_2SO_4)，過濾，及在真空中濃縮，而得(1R,2S,5R)-2-((S)-2-(苄氧羰基胺基)-4-(甲硫基)丁醯胺基)-7-酮基-6-氮-雙環并[3.2.1]辛烷-6-羧酸第三-丁酯，為油狀物，將其帶至下一步驟，無需進一步純化。關於主要吸收峰之 LC/MS： $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+= 406.3$ ； $[\text{M}+\text{Na}]^+= 528.3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_4\text{-MeOH}$)： $\delta 7.36$ (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.2 (m, 1H), 4.0 (m, 1H), 2.5-2.7 (m, 3H), 2.25 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.05 (m, 4H), 1.9 (m, 1H), 1.7 (m, 2H), 1.54 (s, 9H)。亦存在 EtOAc [1.26 (t), 2.03 (s), 4.12 (q)]與 N,N,N,N-四甲基脲[2.83 (s)]。

實例1，步驟2：使(1R,2S,5R)-2-((S)-2-(苄氧羰基胺基)-4-(甲硫基)丁醯胺基)-7-酮基-6-氮-雙環并[3.2.1]辛烷-6-羧酸第三-丁酯之試樣(假定為0.24莫耳；參閱先前程序)溶於碘甲烷(1,250克)中，並在室溫下攪拌48小時。在真空中濃縮反應物。使殘留物溶於二氯甲烷中，及在真空中濃縮。將其再重複兩次。使所形成之泥狀物溶於二氯甲烷(0.4升)中，並倒入正迅速攪拌之 MTBE 溶液(4.0升)中。將所形成之黃色固體經由抽氣過濾收集，且在高真空下乾燥，而得銹鹽(179克)。將此物質帶至下一步驟，無需進一步純化。關於主要吸收峰之 LC/MS： $[\text{M}-\text{Me}_2\text{S}+\text{H}]^+= 458.4$ ； $[\text{M}]^+= 520.4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_4\text{-MeOH}$)： $\delta 7.35$ (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 3.98

(m, 1H), 3.3-3.45 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.78 (m, 1H), 2.0-2.3 (m, 4H), 1.7 (m, 2H), 1.52 (s, 9H). 亦存在MTBE [1.18 (s), 3.2 (s)] 與微量之N,N,N,N-四甲基脲[2.81 (s)]。

實例1，步驟3：使得自前一步驟之全部銹鹽(假定為0.24莫耳)溶於DMSO (2.0升)中。將所形成之溶液於氮氣及室溫下攪拌，並分次裝填碳酸銨(216克)。將此懸浮液於室溫下攪拌3小時，然後過濾，以移除固體。將溶液區分成數份~0.22升，且按下述處理：將反應混合物(~0.22升)以醋酸乙酯(1.5升)稀釋，並以水(3 x 0.5升)與鹽水(1 x 0.3升)連續洗滌。使有機相脫水乾燥(Na_2SO_4)，過濾，及在真空中濃縮。獲得所要之(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-7-酮基-6-氮雙環并[3.2.1]辛烷-6-羧酸第三-丁酯(90.8克，83%)，為微晶性泡沫物，不含四甲基脲不純物質。關於主要吸收峰之LC/MS： $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+= 358.4$ ； $[\text{M}+\text{Na}]^+= 480.4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_4\text{-MeOH}$)： δ 7.35 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 4.35 (m, 2H), 4.2 (m, 1H), 3.6 (m, 1H), 3.3 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.28-2.42 (m, 2H), 2.15 (m, 1H), 1.7-2.0 (m, 5H), 1.55 (s, 9H)。若需要，此物質可藉由溶於MTBE (1體積)中，添加至庚烷(3.3體積)中，及收集所形成之沉澱物，而被單離成固體。

實例1，步驟4：於(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-7-酮基-6-氮雙環并[3.2.1]辛烷-6-羧酸第三-丁酯(108克，0.236莫耳)在THF (1升)中之正在攪拌溶液內，裝填氫氧化鋰單水合物(21.74克，0.519莫耳)。慢慢添加水(0.3升)，以致使溫度不超過20°C。將反應物在室溫下攪拌過夜，且於真空中移除揮發性物質。經由添加1N HCl (450毫升)與 NaH_2PO_4 調整pH值至~4。將所形成之白色沉澱物藉過濾收集，並以水(2 x 1升)洗滌。使固體溶於二氯甲烷(1.5升)與水(~1升)中。使有機層脫水乾燥(Na_2SO_4)，過濾，及在真空中濃縮。使殘留物溶於EtOAc (0.7升)中，

並將所形成之溶液在回流下加熱1小時。於冷卻至室溫後，分離固體，及經由過濾收集。使此等固體於異丙醇中藉再結晶純化，而得所要之(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁氧羰基胺基)環己烷羧酸，為白色固體(104.5克，93%產率)。關於主要吸收峰之LC/MS： $[M-tBu+H]^+=420.2$ ； $[M-Boc+H]^+=376.2$ ； $[M+H]^+=476.2$ 。 1H -NMR (400 MHz, d_4 -MeOH)： δ 7.35 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.35 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 3.45-3.6 (m, 2H), 2.99 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 2.0 (m, 2H), 1.6-1.9 (m, 4H), 1.46 (s, 9H)。

實例1，步驟5：於3升圓底燒瓶中，裝填(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁氧羰基胺基)環己烷羧酸(75.5克，0.158莫耳)、EDC·HCl (33.5克，0.175莫耳)、1-羥基苯并三唑(23.6克，0.175莫耳)及二氯甲烷(1升)。將反應物在室溫下攪拌2小時，於此段時間內，其係從白色懸浮液改變成透明溶液。使氨(氣體)起泡進入溶液中，直到pH值為強鹼性(紙)為止，並將反應物攪拌10分鐘；

重複添加此氨，且將反應物再攪拌10分鐘。添加水。將有機相以飽和 $NaHCO_3$ 、 NaH_2PO_4 及鹽水洗滌，然後在真空中濃縮。將殘留物以乙腈(0.5升)配成漿液，然後濃縮，獲得(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁氧羰基胺基)環己烷羧醯胺，為白色固體(75.9克，~100%)，將其使用於下一步驟，無需進一步純化。關於主要吸收峰之LC/MS： $[M-Boc+H]^+=375.3$ ； $[M+H]^+=475.4$ ； $[M-tBu+H]^+=419.3$ 。 1H -NMR (400 MHz, d_4 -MeOH)： δ 7.35 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.25 (m, 2H), 3.70 (m, 1H), 3.6 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.9-2.05 (m, 2H), 1.65-1.9 (m, 4H), 1.46 (s, 9H)。

實例1，步驟6：將反應以三等份進行，並合併供水溶液處理。

於5升3頸圓底燒瓶中，添加(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁氧羰基胺基)環己烷羧醯胺(25.3克，53毫莫耳)、乙腈(1.9升)及2.6升水/冰。將混合物攪拌，並冷卻至0℃。添加碘苯二醋酸鹽(25.77克，80毫莫耳)，且將反應物攪拌2小時；添加另外0.5當量之碘苯二醋酸鹽。將反應物攪拌9小時(反應溫度<10℃)。於混合物中，添加8當量N,N-二異丙基乙胺與2當量醋酸酐。於接下來之三十分鐘內，每十分鐘添加4當量N,N-二異丙基乙胺與2當量醋酸酐，直到反應已進行至完成(HPLC)為止。在真空中移除乙腈；自殘留物分離出一些固體，及將其藉過濾收集。以二氯甲烷(3升，接著1升)萃取其餘殘留物。相繼以水、飽和NaHCO₃及鹽水洗滌有機相。將所收集之固體，伴隨著活性碳(15克)，添加至有機相中。將混合物於40℃下攪拌30分鐘，然後過濾，及在真空中濃縮。使殘留物溶於EtOAc (1升)中，並將所形成之溶液在75℃下攪拌1小時，然後，使其冷卻至室溫。分離固體，及藉過濾收集。使此固體藉再結晶進一步純化：首先，使其溶於0.5升CH₂Cl₂中，然後在真空中濃縮，接著自1升EtOAc再結晶；將其重複三次。將得自上述母液之固體使用相同方法再結晶三次。使合併之固體自乙腈(0.7升)再結晶兩次，以提供66克(84%) (1R,3R,4S)-3-乙醯胺基-4-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)環己基胺基甲酸第三-丁酯(純度>99.5%，藉HPLC)。關於主要吸收峰之LC/MS：[M+H]⁺= 489.4；[M-tBu+H]⁺= 433.3。 ¹H-NMR (400 MHz, d₄-MeOH)：δ7.3-7.4 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 3.6 (m, 2H), 2.44 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.87-2.05 (m, 4H), 1.87 (s, 3H), 1.55-1.7 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。Hofmann重排之立體化學真實性係經過此化合物之X-射線晶體結構分析確認，如圖1中所示。

實例1，步驟7：於(1R,3R,4S)-3-乙醯胺基-4-((S)-3-(苄氧羰基胺

基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)環己基胺基甲酸第三-丁酯(100克，0.205莫耳)在二氯甲烷(400毫升)中之溶液內，於-20℃下添加TFA (400毫升)。將反應溶液於室溫下攪拌2小時。在減壓下移除溶劑與大部份TFA，並將殘留物以二氯甲烷(2升)與K₂CO₃水溶液(2升)稀釋。以1N HCl調整pH值至10。將水層以二氯甲烷(3 x 1升)萃取。使合併之有機層以Na₂SO₄脫水乾燥，及濃縮，而得(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-胺基環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯，為油狀物(81克，100%產率)。將此胺直接使用於下一步驟，無需進一步純化。

實例1，步驟8：將(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-胺基環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(13.3克，34毫莫耳)與3,5-二-第三-丁基環己-3,5-二烯-1,2-二酮(7.54克，34毫莫耳)在甲醇(160毫升)中之溶液，於室溫下攪拌2小時。使溶液濃縮，並以丙酮(132毫升)與水(33毫升)稀釋，接著添加Dowex-50WX8-200 (33克)。將反應物在室溫下攪拌2小時。藉過濾移除Dowex-50WX8-200，且以二氯甲烷(300毫升)洗滌。使濾液在真空下濃縮，以移除大部份丙酮。將殘留物以二氯甲烷(200毫升)稀釋，並以NaHCO₃水溶液(200毫升)與鹽水(200毫升)洗滌。將合併之水層以二氯甲烷(2 x 100毫升)萃取。使合併之有機萃液以Na₂SO₄脫水乾燥，及濃縮。在EtOAc (100毫升)與己烷(200毫升)中，藉由結晶化作用，獲得產物(S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯，為固體(12克，90%產率)。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆)δppm 7.99 (d, J = 9.35 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.28-7.39 (m, 5H), 5.03 (s, 2H), 4.50 (s, 1H), 4.31 (d, J = 12.10 Hz, 1H), 4.18 (q, J = 8.98 Hz, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.82 (dd, J = 15.12, 5.22 Hz, 1H), 2.52-2.65 (m, 1H), 2.40 (dd, J = 12.92, 4.67 Hz, 1H), 2.15-2.31 (m, 2H), 2.09 (d, J = 15.40 Hz, 1H), 1.90 (m, 1H), 1.81 (s, 3H), 1.68 (m, 1H). m/z : 388.46 [M+H].

實例1，步驟9：於TiCl₄(1M，在二氯甲烷中，36毫升，36毫莫耳)在二氯甲烷(30毫升)中之溶液內，於0℃下添加Ti(OiPr)₄(10.8毫升，36毫莫耳)。然後，將混合物於室溫下攪拌10分鐘。於(S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(23.25克，60毫莫耳)在二氯甲烷(600毫升)中之溶液內，於室溫下添加第三-丁基胺(30毫升，300毫莫耳)，接著，於-50℃下添加TiCl₄/Ti(OiPr)₄溶液。使反應物慢慢溫熱至室溫。2小時後完成反應(反應係於HPLC上監測，其方式是以甲醇中之NaBH₄使HPLC試樣淬滅)。使溶液冷卻至10℃，並添加BH₃·SMe₂(1M，在二氯甲烷中，66毫升，66毫莫耳)。將混合物於室溫下攪拌5小時，然後，以Na₂CO₃水溶液(300毫升)使反應淬滅。濾出沉澱物。分離兩液層，及以二氯甲烷(600毫升)萃取水層。將合併之二氯甲烷層以1N HCl (150毫升與15毫升)萃取兩次(產物與不想要之反式異構物皆在酸性水相中)。使合併之酸性水層以12M NH₄OH水溶液(12毫升)中和至pH~8，並以二氯甲烷(600毫升，450毫升)萃取兩次(產物係在有機相中，而反式異構物仍然在水層中)。將合併之有機層以NH₄Cl水溶液洗滌3次(3 x 200毫升)，直到無反式異構物留在有機層中為止。使有機層以Na₂SO₄脫水乾燥，及濃縮。使殘留物在EtOAc/己烷(200毫升/800毫升)中藉由結晶化作用純化，而得所要之(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(20.80克，78%產率)，為具有99.5%純度之白色固體。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆)δppm 8.76 (s, 1H), 7.27-7.46 (m, 6H), 5.03 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 4.07 (q, J = 8.80 Hz, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.36 (m, 2H), 2.91 (s, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.78 (s, 3H), 1.41-1.74 (m, 7H), 1.04 (s, 9H). m/z : 445.54 [M+H].

實例1，步驟10：於(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基

胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(43.3克，98毫莫耳)在甲醇(400毫升)中之溶液內，添加10%潮濕Pd/C (4.34克)。將混合物抽氣，並使用氫氣瓶以氫逆充填。將混合物於室溫下攪拌5小時。過濾混合物，且以甲醇(500毫升)洗滌，及在真空下濃縮至乾涸。使所獲得之粗產物在減壓下以IPA (2 x 100毫升)蒸餾，獲得產物N-((1R,2S,5R)-2-

((S)-3-胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺，為油狀物(30克，98%產率)。將此胺使用於下一步驟，無需進一步純化。

實例1，步驟11：於N-((1R,2S,5R)-2-((S)-3-胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺(30克，97毫莫耳)在IPA (400毫升)中之溶液內，添加TEA (27毫升，195毫莫耳)與4-氨基-6-(三氟甲基)喹啉(25克，107毫莫耳；參閱P. H. Carter等人，PCT申請案WO 2005/021500)。將混合物於室溫下攪拌過夜，然後在70°C下攪拌1小時。使所形成之溶液在減壓下濃縮至乾涸。使殘留物溶於二氯甲烷(1升)中，並以醋酸溶液I (藉由合併700毫升水與22.6毫升冰醋酸製成)(500毫升，200毫升)萃取兩次。將酸性水層(pH 4-5)以二氯甲烷(2 x 300毫升)萃取。以醋酸溶液II (300毫升；藉由合併300毫升水與4毫升冰醋酸製成)萃取二氯甲烷層。使合併之醋酸層以1M NaOH鹼化至pH > 12，並以二氯甲烷(3 x 700毫升)萃取。使合併之有機層脫水乾燥，及濃縮，而得粗產物，為固體(45.6克，93%產率)。使粗產物自EtOAc (400毫升)/己烷(900毫升)藉再結晶純化，而得42.86克(88%)具有99.7%純度之N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆)δppm 9.71 (1H, 寬廣s.), 9.02 (1H, s), 8.71 (1H, d, J = 7.97 Hz), 8.59 (1H, s), 8.04 (1H, dd, J = 8.66, 1.79 Hz), 7.88 (1H, d, J =

8.52 Hz), 4.91-5.13 (1H, m), 4.30-4.57 (1H, m), 3.86 (1H, dt, $J = 11.89$, 3.71, 3.64 Hz), 3.43-3.57 (1H, m), 3.35-3.45 (1H, m), 3.04 (1H, t, $J = 3.85$ Hz), 2.23-2.40 (1H, m), 2.05-2.22 (1H, m), 1.90-1.98 (1H, m), 1.86-1.93 (3H, m), 1.50-1.78 (5H, m), 0.98-1.15 (9H, m). ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 171.23, 169.35, 159.54, 156.87, 151.17, 128.97, 128.20, 125.76 (1C, q, $J = 30.52$ Hz), 121.55 (1C, 寬廣s.), 124.04 (1C, q, $J = 272.11$ Hz), 114.31, 53.26, 52.39, 50.81, 47.56, 45.70, 42.77, 34.52, 32.17, 29.14 (3C, s), 26.49, 23.29, 20.30. ^{19}F -NMR (471 MHz, DMSO- d_6) δ ppm-60.34 (s). m/z : 507.0 [M+H]. 對 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_2\text{F}_3$ 之分析計算值: C, 59.27; H, 6.56; N, 16.59; F, 11.25實測值: C, 59.44; H, 6.64; N, 16.74; F, 10.99.

實例1之替代製備

實例1，替代製備，步驟1：將烘箱乾燥過之3頸圓底燒瓶裝上乾燥攪拌棒、乾燥回流冷凝管及兩個隔片。在 N_2 下冷卻後，於燒瓶中相繼裝填(1R,2S,5R)-2-((S)-3-(苄氧羰基胺基)-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁氧羰基胺基)環己烷羧酸(60克，126毫莫耳；參閱實例1，步驟4)、乙腈(800毫升)、N-甲基嗎福啉(27.7毫升，252毫莫耳)及疊氮化二苯基磷醯(29.9毫升，139毫莫耳)。將反應物在室溫下攪拌1小時40分鐘，此時，添加2-三甲基矽烷基乙醇(90毫升，631毫莫耳)。將反應設定至加熱，並於30分鐘後達到回流。使其回流1小時，此時，使其逐漸冷卻至 50°C ，然後以外部冷卻，冷卻至 15°C 。藉由添加醋酸(1.734毫升，30.3毫莫耳)使反應淬滅。使反應物在真空中濃縮，接著溶於EtOAc (1.2升)中。將其相繼以水(1 x 0.3升)、飽和 NaHCO_3 (2 x 0.3升)、1N HCl (1 x 0.3升)及鹽水(2 x 0.3升)洗滌。使有機相脫水乾燥(Na_2SO_4)，過濾，及在真空中濃縮。在濃縮過程中，固體極早呈現。在移除揮發性物質後，添加800毫升10% EtOAc/己烷，並將混合

物攪拌過夜。收集固體，及乾燥，而產生(1R,3R,4S)-4-((S)-3-苄氧羰基氨基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-3-((2-三甲基矽烷基)乙氧羰基氨基)環己基氨基甲酸第三-丁酯(60.5克，102毫莫耳，81%產率)。HPLC顯示此物質為72%純，具有兩種12%不純物。將此物質帶至下一步驟無需純化。稍後，使濾液濃縮，而產生另外之4.38克產物。總產量= 64.9克(87%)。

實例1，替代製備，步驟2：將乾燥500毫升圓底燒瓶裝上攪拌棒，並相繼裝填(1R,3R,4S)-4-((S)-3-苄氧羰基氨基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-3-((2-三甲基矽烷基)乙氧羰基氨基)環己基氨基甲酸第三-丁酯(60.5克)、CH₂Cl₂(180毫升)及對-甲苯磺酸單水合物(19.48克，102毫莫耳)在CH₂Cl₂(120毫升)與甲醇(30毫升)中之溶液。將混合物放置在迴轉式蒸發器上，並移除大部份CH₂Cl₂(浴溫約20℃)。當混合物開始起泡時，釋放真空，並使浴溫增加至46℃(溫度係在44與51℃之間改變；其係藉由添加外部冰而被控制)。使混合物在此溫度下旋轉剛好一小時(在整個期間，氣體釋出為可見)，然後以EtOAc (1升)稀釋。將有機相以0.5N NH₄OH (2 x 250毫升)洗滌。合併含水洗液，且放在一旁。將有機相以飽和NH₄Cl (1 x 250毫升)與飽和NaCl (1 x 250毫升)洗滌；拋棄此等含水洗液。將最初合併之NH₄OH洗液以EtOAc (1 x 250毫升)逆萃取，並將此有機萃液以飽和NH₄Cl (1 x 60毫升)與飽和NaCl (1 x 60毫升)洗滌。合併全部有機萃液，脫水乾燥(Na₂SO₄)，過濾，及濃縮。使殘留物藉由溶離經過SiO₂填充柱而純化(13公分寬x 7.5公分高)。第一種溶離劑為純EtOAc (約4升)。第二種溶離劑為1：9 (MeOH中之10% NH₄OH)/CH₂Cl₂(約5升)。將含有所要產物之溶離份匯集在一起，並蒸發，而得所要之(1R,2S,5R)-5-氨基-2-((S)-3-苄氧羰基氨基-2-酮基四氫吡咯-1-基)環己基氨基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(31.6克，64.4毫莫耳，63%產率)。

實例1，替代製備，步驟3：於(1R,2S,5R)-5-胺基-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(400毫克，0.82毫莫耳)在乙腈(3毫升)中之正在攪拌溶液內，相繼裝填二異丙基乙胺(315.8毫克，3當量)與溴基乙腈(109.5毫克，1.1當量)。將混合物在40℃下攪拌30小時。在減壓下移除溶劑，將殘留物藉矽膠管柱層析純化，使用二氯甲烷中之1.5%甲醇作為溶離劑。獲得所要之(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(氰基甲胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯，為白色固體(400毫克，93%)。LC/MS實測值[M+H]⁺= 530.

實例1，替代製備，步驟4：使(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(氰基甲胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(400毫克，0.76毫莫耳)在二氯甲烷(5毫升)中之正在攪拌溶液冷卻至0℃，並分次添加m-CPBA (372.6毫克，2.2當量)。將混合物於室溫下攪拌1.5小時。添加飽和Na₂S₂O₃溶液(3毫升)與飽和NaHCO₃溶液(3毫升)，且將混合物於室溫下攪拌0.5小時。以二氯甲烷(80毫升)稀釋混合物，以飽和NaHCO₃(20毫升)與鹽水(20毫升)洗滌。使溶液以無水Na₂SO₄脫水乾燥，過濾，及在真空中濃縮。使所得之殘留物溶於甲醇(5毫升)中，並於溶液中添加NH₂OH-HCl (262.7毫克，5當量)。將混合物在60℃下攪拌2.5小時。於冷卻至室溫後，以二氯甲烷(80毫升)稀釋混合物，及經過矽藻土墊過濾。將濾液以飽和NaHCO₃(2 x 20毫升)洗滌。以二氯甲烷(30毫升)萃取含水洗液。合併二氯甲烷層，並以鹽水(30毫升)洗滌。使溶液以無水Na₂SO₄脫水乾燥，過濾，及在真空中濃縮，而得(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(羥胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(350毫克，91%)。LC/MS實測值[M+H]⁺= 507.

實例1，替代製備，步驟5：將(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺

基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(羥胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(350毫克，0.69毫莫耳)在丙酮(5毫升)中之溶液於室溫下攪拌16小時。在真空中濃縮混合物。使殘留物溶於無水THF (7毫升)中，並冷卻至0℃。逐滴添加MeMgBr之溶液(1.1毫升，3M，在乙醚中，5當量)。將混合物於室溫下攪拌1.5小時。在0℃下，以水(5毫升)使反應淬滅。將混合物以醋酸乙酯(100毫升)稀釋，且經過矽藻土墊過濾。將濾液以鹽水(30毫升)洗滌。使溶液以無水MgSO₄脫水乾燥，過濾，及在真空中濃縮。使殘留物溶於2毫升乙腈中，並添加1毫升CS₂。將混合物於室溫下攪拌1小時。移除溶劑，且使粗產物藉矽膠管柱層析純化，使用二氯甲烷中之1.5%甲醇作為溶離劑，以提供所要之(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(160毫克，42%)。LC/MS實測值[M+H]⁺= 547.

實例1，替代製備，步驟6：於(1R,2S,5R)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基胺基甲酸2-(三甲基矽烷基)乙酯(100毫克，0.183毫莫耳)在二氯甲烷(3毫升)中之正在攪拌溶液內，裝填三氟醋酸(2毫升)。將反應物在室溫下攪拌2小時，及在真空中濃縮。使殘留物溶於二氯甲烷(50毫升)中，並以飽和NaHCO₃(20毫升)洗滌。將水層以二氯甲烷(3 x 30毫升)萃取。合併二氯甲烷層，並以無水Na₂SO₄脫水乾燥，過濾，及在真空中濃縮，而得(S)-1-((1S,2R,4R)-2-胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(66毫克，90%)。LC/MS實測值[M+H]⁺= 403.

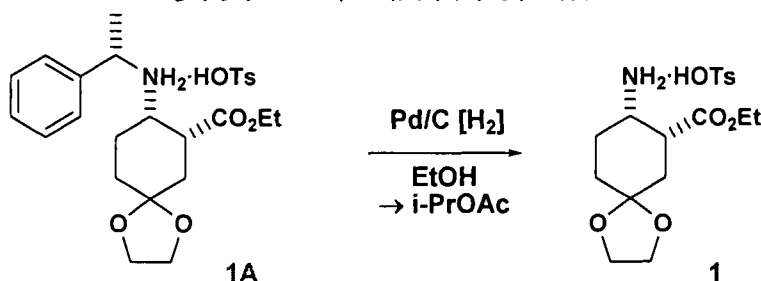
實例1，替代製備，步驟7：於(S)-1-((1S,2R,4R)-2-胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(22毫克，0.055毫莫耳)在二氯甲烷(2毫升)中之溶液內，相繼裝填三乙胺(11.1毫克，2當量)與醋酸酐(6.1毫克，1.1當量)。將反應物在室溫下攪拌1.5小

時，以二氯甲烷(50毫升)稀釋，並以飽和 NaHCO_3 (20毫升)洗滌。使有機相以無水 Na_2SO_4 脫水乾燥，過濾，及在真空中濃縮，而得(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(22毫克，90%)。LC/MS實測值 $[\text{M}+\text{H}]^+=445$ 。

實例1，替代製備，步驟8：於(S)-1-((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基四氫吡咯-3-基胺基甲酸苄酯(22毫克，0.05毫莫耳)在甲醇(2毫升)中之溶液內，添加 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20毫克50%潮濕觸媒)。將燒瓶抽氣，並自氫氣瓶以氫逆充填。將混合物於室溫下攪拌1小時，且藉過濾移除觸媒。使濾液在真空中濃縮，以提供N-((1R,2S,5R)-2-((S)-3-胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺(13毫克，85%)。LC/MS實測值 $[\text{M}+\text{H}]^+=311$ 。

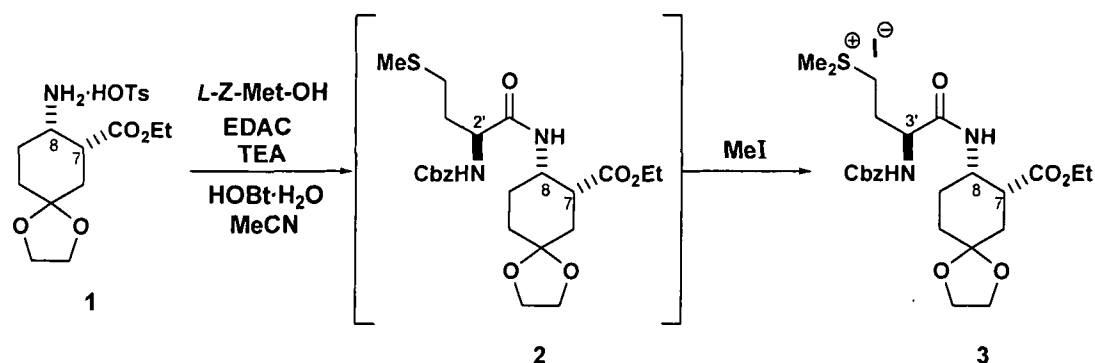
實例1，替代製備，步驟9：於N-((1R,2S,5R)-2-((S)-3-胺基-2-酮基四氫吡咯-1-基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺(70毫克，0.225毫莫耳)在異丙醇(3毫升)中之溶液內，添加4-氨基-6-(三氟甲基)喹啉(63毫克，1.2當量)與三乙胺(56.9毫克，2.5當量)。將混合物於室溫下攪拌1.5小時。於減壓下移除溶劑。使殘留物以預備之HPLC純化，以提供標題化合物，為其雙-TFA鹽(110毫克，67%)。LC/MS實測值 $[\text{M}+\text{H}]^+=507$ 。

實例1之第2個替代製備

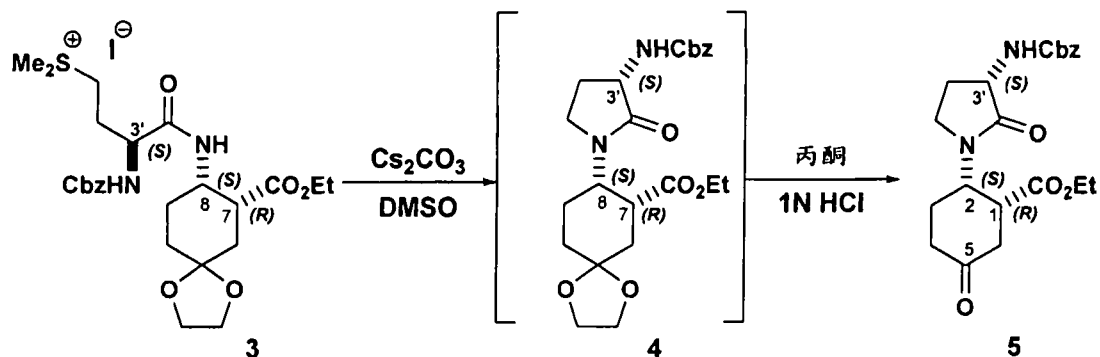


實例1，第2個替代製備，步驟1a：於氫化器中，添加(7R,8S)-8-((S)-1-苯基-乙胺基)-1,4-二氧-螺[4.5]癸烷-7-羧酸乙酯4-甲苯磺酸鹽1A(1417克，2.8毫莫耳，參閱：WO2004098516，類似美國專利6,835,841

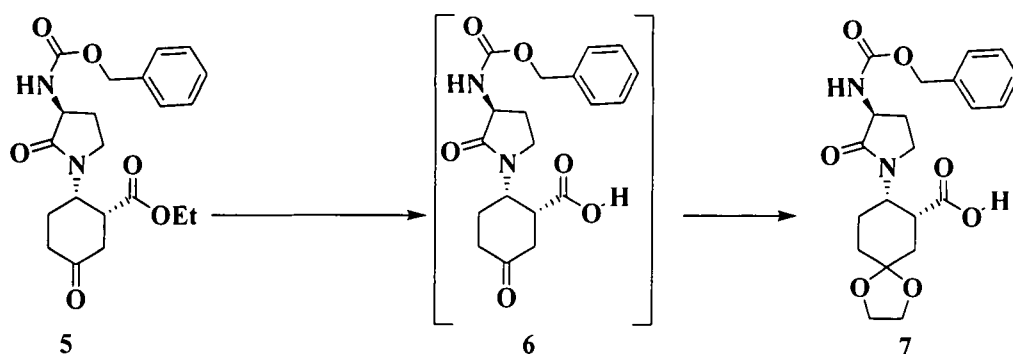
製成)、乙醇(200標準純度, 11.4升)及10% Pd/C觸媒 (50%潮濕, 284克)。將混合物以氮惰性化, 然後, 以氫氣(45 psig)加壓, 及在約40°C下激烈攪拌, 直到起始物質被消耗為止(HPLC)。使此懸浮液冷卻, 以氮氣滌氣, 並趁惰性化時, 藉過濾移除觸媒。將用過之觸媒以乙醇(4.3升)洗滌。合併濾液與洗液, 及在真空下濃縮至體積為2-3升, 同時保持批料在40°C -60°C之間。添加醋酸異丙酯(5升), 並使混合物濃縮至體積為~2升, 直到移除大部份乙醇(<0.5%)為止, 且殘留水份含量為<1,000 ppm。將批料體積藉由添加醋酸異丙酯調整至~7.5升。將混合物加熱至80°C, 直到透明為止, 接著冷卻至65°C-70°C。添加1之種晶(5克), 及使批料冷卻至50°C, 歷經2小時, 然後再冷卻至20°C, 歷經4小時, 並保持~10小時。過濾所形成之漿液, 且以醋酸異丙酯(2升)洗滌濾餅。使產物於真空及~35°C下乾燥, 直到使揮發性物質減至低於~1% (LOD)為止。獲得(7R,8S)-8-胺基-1,4-二氧-螺[4.5]癸烷-7-羧酸乙酯4-甲苯磺酸鹽**1**, 為白色結晶性固體(936克, 83%產率; HPLC純度: 99.8%)。¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃) 8.14-7.89 (brs, 3H), 7.75 (d, J 9.0 Hz, 2H), 7.15 (d, J 8.0 Hz, 2H), 4.22-4.04 (m, 2H), 4.01-3.77 (m, 4H), 3.55-3.43 (m, 1H), 3.20-3.13 (m, 1H), 2.40-2.27 (m, 4H), 2.21-1.94 (m, 2H), 1.81-1.51 (m, 3H), 1.23 (t, J 7.0 Hz, 3H); HPLC: Waters Xterra MS C18 4.6毫米x 150毫米內徑, 3.5微米粒子大小, 0.05% NH₄OH (5% ACN, 95% H₂O, 溶劑A), 至0.05% NH₄OH (95% ACN, 5% H₂O, 溶劑B), 5% B至20% B, 在10分鐘內, 改變至95% B, 在25分鐘內, 然後改變至5% B, 在1分鐘內; 11.1分鐘(胺基酯**1**)。



實例1，第2個替代製備，步驟1b：將(7R,8S)-8-胺基-1,4-二氧-螺[4.5]癸烷-7-羧酸乙酯4-甲苯磺酸鹽**1** (450.1克；已知化合物之還原性去除保護之產物-參閱R. J. Cherney, WO 2004/098516與G. V. Delucca & S.S.Ko, WO 2004/110993)與1-乙基-3-(3-二甲基-胺基-丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(236.3克)、1-羥基苯并三唑水合物(171.9克)、N-苄氧羰基-L-甲硫胺酸(333.4克)及乙腈(3.1升)合併。於此經攪拌混合物中，三乙胺(249.5克)係在低於30℃下添加。於反應完成(HPLC)時，將混合物以醋酸乙酯(8.2升)稀釋，並以25%碳酸氫鉀水溶液(2 x 4.5升)，接著以水(4.5升)洗滌。分離有機相，及在減壓下濃縮，獲得(7R,8S)-8-((S)-2-苄氧羰基胺基-4-甲硫基-丁醯基胺基)-1,4-二氧-螺[4.5]癸烷-7-羧酸乙酯**2**之溶液(1.4升)。添加碘化甲烷(2.39公斤)，使容器隔離光線，並使混合物在緩慢攪拌下保持約24小時。於濃稠黃色沉澱物中，添加甲基第三-丁基醚(2.7升)，且使混合物保持約1小時。藉過濾分離產物，及將濾餅以甲基第三-丁基醚(2 x 1.4升)洗滌，然後在真空下乾燥，產生碘化[(S)-3-苄氧基-羰基胺基-3-((7R,8S)-7-乙氧羰基-1,4-二氧-螺[4.5]癸-8-基胺甲醯基)-丙基]-二甲基鎂**3** (671.4克，~94%產率)，為灰白色固體(HPLC純度99.9%)。

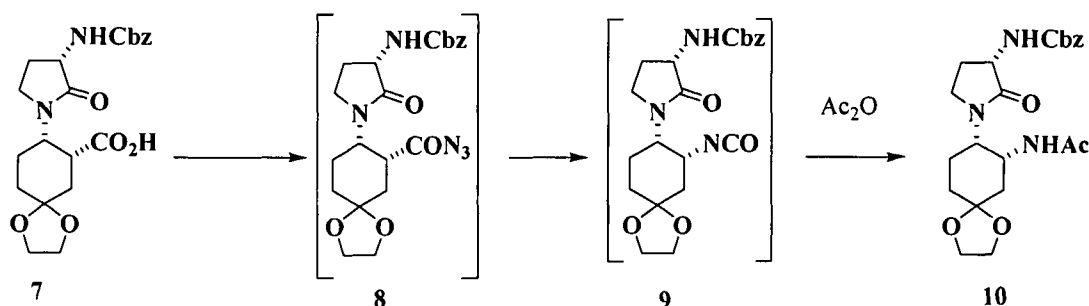


實例1，第2個替代製備，步驟2：將銑鹽3 (619.4克)與碳酸鉀 (416.8克)及無水二甲亞砜(6.2升)在裝有洗氣器之反應器中合併，以中和揮發性硫化物。保持劇烈攪動，直到獲得完全轉化(HPLC)為止。添加醋酸乙酯(12.4升)，接著為20%鹽水(3升)。分離有機相，以鹽水(2 x 3升)洗滌兩次，並蒸發，獲得(7R,8S)-8-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基-四氫吡咯-1-基)-1,4-二氧-螺[4.5]癸烷-7-羧酸乙酯4在醋酸乙酯中之溶液(~0.8升)。添加丙酮(2.55升)，接著為0.5M鹽酸水溶液(2.3升)。伴隨著良好混合，將溶液加熱至50到60℃，直到完成4轉化成(1R,2S)-2-((S)-3-苄氧羰基胺基-2-酮基-四氫吡咯-1-基)-5-酮基-環己烷羧酸乙酯5為止(HPLC)。在低於40℃時，使混合物在減壓下濃縮，冷卻至~30℃，及添加水(4.1升)。使所形成之漿液冷卻至5到10℃，並攪拌~1小時。過濾產物，且以水(2 x 2.5升)洗滌濾餅。在脫液時，使濾餅在真空烘箱中，低於40℃下乾燥至恒重，獲得環己酮5 (272克，70%產率) (HPLC純度98.7%)。



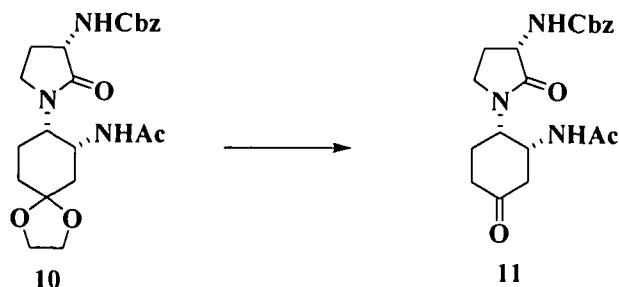
實例1，第2個替代製備，步驟3：使環己酮5 (100克)懸浮於THF (500毫升)中，並冷卻至0℃。在0-5℃下添加1N NaOH (271克)，並將

兩相混合物在 $\leq 5^{\circ}\text{C}$ 下攪拌至少一小時。添加MTBE (500毫升)，且分離液層。將底部水層再一次以MTBE (500毫升)洗滌，並分離液層。將二氯甲烷(500毫升)添加至富含產物之水層中，且使混合物冷卻至 0°C 。保持 $\leq 5^{\circ}\text{C}$ 下添加3N HCl (156克)。在攪拌至少10分鐘後，使混合物溫熱至 $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ ，及分離液層。以二氯甲烷(100毫升)萃取水層。合併有機層，並將溶劑藉蒸餾交換成甲苯。將甲苯溶液體積調整至大約1升，且添加對-甲苯磺酸單水合物(0.24克)。添加乙二醇(16.22克)，並使混合物在大氣壓力下蒸餾，直到化合物7之形成係完成為止，而罐筒體積為大約500-700毫升。使溶液冷卻至大約 70°C ，並保持大約 70°C 下添加醋酸乙酯(500毫升)。使混合物冷卻，且過濾，而得73克(70%產率)化合物7，(7R,8S)-8-((3S)-3-(((苄氧基)羰基)胺基)-2-酮基-1-四氫吡咯基)-1,4-二氧螺[4.5]癸烷-7-羧酸。

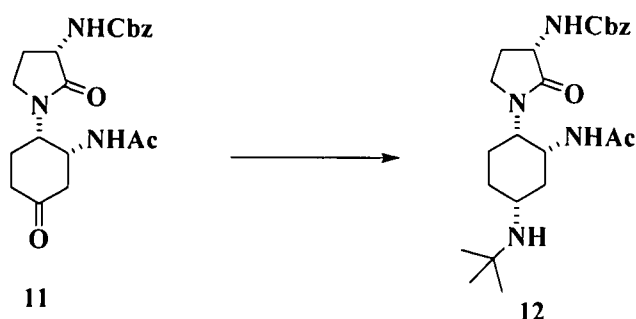


實例1，第2個替代製備，步驟4：於化合物7 (147克)在無水甲苯(370毫升)中之漿液內，於 $15\text{-}25^{\circ}\text{C}$ 下添加三乙胺(32.7克)。在漿液變成溶液後，於 25°C 下攪拌10-15分鐘後，使燒瓶冷卻至 -10°C ，並在 $-10^{\circ}\text{-}0^{\circ}\text{C}$ 下添加氯甲酸異丁酯(44.1克)。將混合物在 $-10^{\circ}\text{-}0^{\circ}\text{C}$ 下攪拌約30分鐘。在 $-10^{\circ}\text{-}0^{\circ}\text{C}$ 下添加疊氮化鈉(42克)與四丁基溴化銨(5.2克)在水(130毫升)中之溶液。將兩相漿液激烈攪拌至少一小時，並添加甲苯(1750毫升)，接著為水(300毫升)。將兩相攪拌至少10分鐘，且分離上方有機層，及以4Å分子篩乾燥。添加醋酸酐(76毫升)與醋酸(28毫升)，並將溶液加熱至 $80\text{-}90^{\circ}\text{C}$ ，歷經1-4小時，直到藉HPLC偵測到 <2

AP之中間物**9**為止。使溶劑在大氣壓下部份蒸餾出，至最初體積之大約三分之二，使溶液冷卻至環境溫度，且將所形成之漿液攪拌16小時。慢慢添加庚烷(350毫升)，並將漿液攪拌1小時。過濾固體，以甲苯/庚烷4：1 (300毫升)洗滌，及乾燥，而得109克(78%產率)化合物**10**，((3S)-1-((7R,8S)-7-乙醯胺基-1,4-二氧螺[4.5]癸-8-基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。



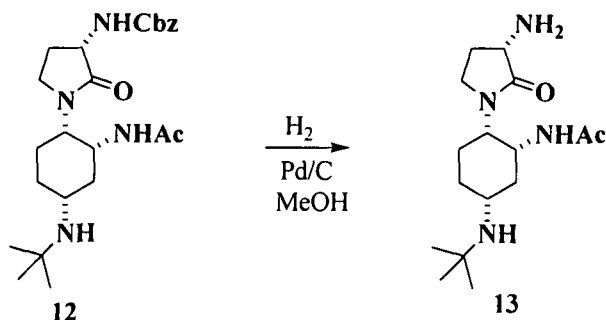
實例1，第2個替代製備，步驟5：於化合物**10** (109克)在丙酮(760毫升)中之溶液內，裝填1N HCl (760毫升)。將混合物加熱至50℃，歷經2.5小時。在減壓下蒸餾出丙酮，並將產物以二氯甲烷1 x 1升與1 x 0.5升萃取兩次。合併二氯甲烷層，且將二氯甲烷藉蒸餾交換成醋酸乙酯，直到鍋上之沸點達到78℃為止，及最後體積為大約10毫升/克化合物**10**輸入量。使醋酸乙酯漿液冷卻至環境溫度，攪拌16小時，並過濾固體，且以醋酸乙酯(400毫升)洗滌。使固體乾燥，而得84克(87%產率)化合物**11**，((3S)-1-((1S,2R)-2-乙醯胺基-4-酮基環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯。



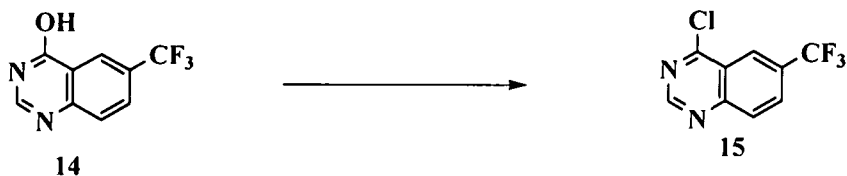
實例1，第2個替代製備，步驟6：TiCl₂(OPrⁱ)₂試劑係藉由將Ti(OⁱPr)₄(11.5毫升)，在5-10℃下，添加至1M TiCl₄在二氯甲烷中之溶

液(39毫升)內，且隨後於環境溫度下攪拌15分鐘而預先形成。使化合物**11** (25克)溶於二氯甲烷(500毫升)中，

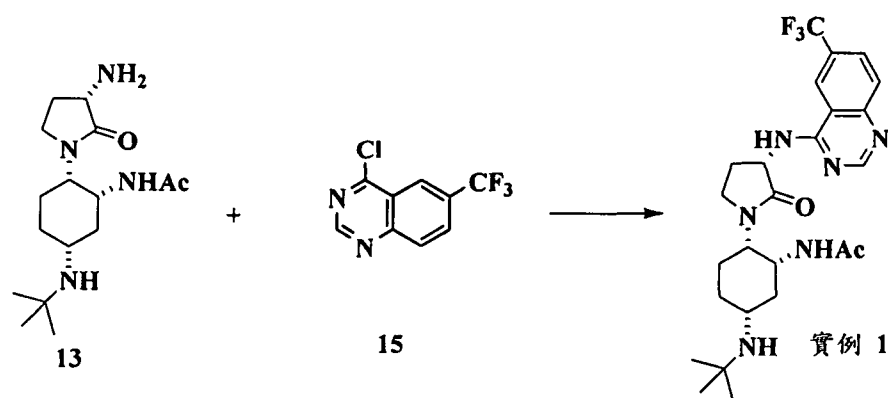
且在室溫下添加第三-丁基胺(34毫升)。10分鐘後，使溶液冷卻至-25到-20℃，及在溫度低於-20℃下添加預先形成之鈦試劑溶液。使混合物溫熱至環境溫度，並將其攪拌1小時。採取試樣，經由以甲醇中之硼氫化鈉之微小淬滅，以確認完成亞胺形成(醇類不存在顯示起始酮**11**之完全消耗)。然後，在0-5℃下添加硼烷硫化二甲烷(7.0毫升)，並使反應混合物溫熱至環境溫度，且攪拌至少5小時。在減壓下部份蒸發二氯甲烷(約一半)，並在30-60分鐘內添加潮濕醋酸乙酯(300毫升，經由將醋酸乙酯與水攪拌而預先形成)。將所形成之漿液攪拌至少4小時，過濾固體，及以二氯甲烷洗滌數次，直到不超過5M %產物留在濾餅中為止。合併濾液與洗液，添加1N HCl (200毫升)，並將兩相混合物攪拌至少30分鐘(~20分鐘後，氣體釋出停止)。分離富含產物之水層(上層相)，並添加二氯甲烷(500毫升)。將濃氫氧化銨添加至經攪拌之兩相混合物中，直到使pH值調整至8-8.5 (~15毫升)為止。分離有機相，且以14重量%氯化銨2 x 100毫升洗滌，以移除不想要之化合物**12**之反式異構物，及最後以水(25毫升)洗滌。將二氯甲烷於常壓下藉蒸餾交換成醋酸乙酯，直到鍋上之沸點達到78℃為止，且最後體積為大約5毫升/克化合物**11**輸入量(~140毫升)。使溶液冷卻至環境溫度。在40-50℃下慢慢添加庚烷(250毫升)，且化合物**12**開始結晶。將漿液在室溫下攪拌3小時，並過濾固體，以庚烷(100毫升)洗滌，及乾燥，而得20.1克(70%產率)化合物**12**，((3S)-1- ((1S,2R,4R)-2-乙醯胺基-4-(第三-丁基胺基)環己基)-2-酮基-3-四氫吡咯基)胺基甲酸苄酯，為白色絨毛狀結晶。



實例1，第2個替代製備，步驟7：使化合物**12** (20克)溶於甲醇(400毫升)中，並添加5% Pd/C觸媒(1.8克，9重量%)。使混合物於25℃與25 psig下氫化3小時。藉過濾移除觸媒，且將甲醇藉連續蒸餾交換成醋酸乙酯。在冷卻時，使產物自醋酸乙酯(160毫升)結晶。於25℃下添加庚烷(160毫升)，將漿液攪拌1小時，及過濾產物，以庚烷洗滌，並乾燥，而得12.8克(94%產率)化合物**13**，N-((1R,2S,5R)-2-((3S)-3-胺基-2-酮基-1-四氫吡咯基)-5-(第三-丁基胺基)環己基)乙醯胺。



實例1，第2個替代製備，步驟8：使6-(三氟甲基)-4-喹啉**14** (5克；參閱P. H. Carter等人, PCT申請案WO 2005/021500)懸浮於二氯甲烷(100毫升)中。添加N,N-二異丙基乙胺(4.2毫升，1.05當量)與DMF(0.4毫升，0.2當量)。然後，於冷卻下，將氯化草醯(3.0毫升，1.5當量)在20-25℃下添加至經攪拌之漿液中(放熱性添加)。將橘色漿液在30-35℃下攪拌2小時。發現穩定氣體釋出，歷經~1.5小時，此時，漿液變成橘色溶液。於冷卻至20℃後，在劇烈攪動下，將反應溶液逐滴添加至20重量% K₂HPO₄水溶液(50毫升)中，及氣體釋出。分離下層有機相，並以20重量% K₂HPO₄水溶液(50毫升)再一次洗滌。在16小時內，將有機溶液以本身使用於下一步驟。



實例1，第2替代製備，步驟8：於15在二氯甲烷中之溶液(22毫升，5.5毫莫耳)內，添加固體13 (1.55克，5毫莫耳)，並將混合物在室溫下攪拌，直到固體溶解為止。添加三乙胺(1.4毫升，11毫莫耳)，且將混合物於環境溫度下攪拌24小時。添加水(10毫升)，將兩相攪拌10分鐘，及分離有機相。將二氯甲烷藉連續蒸餾交換成醋酸乙酯，直到鍋上之沸點達到78°C 為止，及最後體積為大約10毫升/克化合物13輸入量(~15毫升)。使漿液冷卻至環境溫度，慢慢添加庚烷(15毫升)，及將漿液攪拌16小時。過濾固體，以庚烷/醋酸乙酯1：1 (5毫升)洗滌，並乾燥，而得1.83克(72%產率) N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之米黃色結晶(型式N-2，藉XRD)，實例1。

實例2

N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺之結晶型

N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼之各種結晶型，係按下述製備與特徵鑒定。

關於特徵鑒定諸型式之程序

單晶數據

數據係在Bruker-Nonius (BRUKER AXS公司，5465 East Cheryl

Parkway Madison, WI 53711 USA) CAD4序列繞射計上收集。單位晶胞參數係經過25個高角度反射之實驗繞射計設定之最小平方分析獲得。強度係使用Cu K α 放射($\lambda = 1.5418\text{\AA}$)，在恒溫下，以 θ -2 θ 可變掃描技術度量，且僅對Lorentz-極化因數校正。背景計數係在掃描極端處，對一半掃描時間收集。或者，單晶數據係於Bruker-Nonius Kappa CCD 2000系統上，使用Cu K α 放射($\lambda = 1.5418\text{\AA}$)收集。所度量強度數據之轉位與處理係以在收集程式套裝中之HKL2000包裝軟體 (Otwinowski, Z. & Minor, W. (1997) *巨分子結晶學*, Carter, W. C. Jr & Sweet, R. M. 編著 (Academic, NY), 第276卷, 第307-326頁) 進行(收集數據集與處理使用者界面：收集：數據集軟體, R. Hooft, Nonius B. V., 1998)。或者，單晶數據係於Bruker-AXS APEX2 CCD系統上，使用Cu K α 放射($\lambda = 1.5418\text{\AA}$)收集。所度量強度數據之轉位與處理，係以APEX2包裝軟體/程式套裝(APEX2數據收集與處理使用者界面：APEX2使用者手冊, v1.27；**BRUKER AXS**公司, 5465 East Cheryl Parkway Madison, WI 53711 USA)進行。

當需要時，晶體係在數據收集期間，於Oxford低溫系統之冷流中冷卻(Oxford Cryosystems Cryostream冷卻器：J. Cosier與A.M. Glazer, *J. Appl. Cryst.*, 1986, 19, 105)。

結構係藉由直接方法解析，且以所發現之反射為基礎，使用以下之任一種精修，SDP (SDP，結構測定包裝，Enraf-Nonius, Bohemia NY 11716。散射因數，包括 f 與 f' ，在SDP軟體中，係取自"國際結晶學表", Kynoch出版社, Birmingham, England, 1974；第IV卷, 表2.2A與2.3.1)包裝軟體，伴隨著少許局部修正，或結晶學包裝MAXUS (maXus解決與精修軟體套裝：S. Mackay, C. J. Gilmore, C. Edwards, M. Tremayne, N. Stewart, K. Shankland. maXus：關於得自繞射數據或SHELXTL⁴之晶體結構解決與精修之電腦程式。所導出之原子參數(座

標與溫度因數)係經過全矩陣最小平方精修。於精修中被降至最少之函數為 $\sum_w(|F_o| - |F_c|)^2$ 。R係被定義為 $\sum ||F_o| - |F_c||/\sum |F_o|$ ，而 $R_w = [\sum_w(|F_o| - |F_c|)^2/\sum_w |F_o|^2]^{1/2}$ ，其中w為適當加權函數，以所發現強度之誤差為基礎。差異圖係在所有精修階段下檢驗。氫係在理想化位置上，以均向性溫度因數引進，但無氫參數被改變。

X-射線粉末繞射數據(PXRD)

PXRD數據係使用Bruker C2 GADDS獲得。放射為Cu K α (40 KV, 50 mA)。試樣-偵測器距離為15公分。將粉末試樣放置在1毫米或較小直徑之密封玻璃毛細管中；將毛細管在數據收集期間旋轉。數據係對 $3 \leq 2\theta \leq 35^\circ$ 收集，其中試樣曝露時間為至少2000秒。將所形成之二次元繞射弧積分，以產生傳統1-次元PXRD圖樣，具有步階大小為0.02度 2θ ，在3至35度 2θ 之範圍內。

示差掃描卡計法(DSC)

DSC實驗係在TA Instruments™Q1000或2920型中進行。將試樣(約2-6毫克)於鋁淺盤中稱重，且精確地記錄至百分之一毫克，並轉移至DSC。儀器係以氮氣於50毫升/分鐘下滌氣。

於10°C/分鐘加熱速率下，在室溫與300°C之間收集數據。圖形係以吸熱峰向下製成。

熱重分析(TGA)

TGA實驗係在TA Instruments™Q500或2950型中進行。將試樣(約10-30毫克)置於預先稱量皮重之鉑淺盤中。試樣之重量係藉由儀器精確地度量，並記錄至千分之一毫克。將爐子以氮氣在100毫升/分鐘下滌氣。於10°C/分鐘加熱速率下，在室溫與300°C之間收集數據。

型式之製備與分析

關於此等實例之單位晶胞數據及其他性質，係呈現於表1中。單位晶胞參數係得自單晶X-射線結晶學分析。單位晶胞之詳細說明可參

閱 Stout & Jensen, *X-射線結構測定：實用指引*(MacMillan, 1968)之第3章。

關於實例2a、b、c、d、e、f、g及h之部份原子座標，及度量彼等之條件係呈現於表2-9中。

此外，關於實例2a、b、c、d、e及f之特性粉末x-射線繞射吸收峰位置(度 $2\theta \pm 0.1$)@RT，係呈現於表9中，其全部均以高品質圖樣為基礎，以繞射計(Cu K α)收集，使用旋轉毛細管，其中 2θ 係以NIST其他適當標準物作校準。

最後，圖1、2、3、4、5及6係個別呈現關於實例2a、b、c、e、d及f之XRPD圖樣。圖8、10、13、15、17及19係個別揭示實例2a、b、c、d、e及f之TGA，而圖7、9、12、14、16及18係個別揭示實例2a、b、c、d、e及f之DSC。圖11揭示實例2b之蒸氣吸著等溫線。

型式製備，DSC與TGA特徵鑒定

實例2a，型式H0.5-4：使150毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼溶於以水飽和之溫熱醋酸正-丁酯中。添加庚烷，直到發現持續混濁為止。使漿液冷卻至室溫。型式H0.5-4之特徵為每莫耳N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，0.5莫耳水。型式H0.5-4之特徵為DSC熱解曲線，具有寬廣吸熱峰，典型上係在約室溫與約67°C間之範圍內開始，與TGA曲線一致；於較高溫度下，其他事件可因而發生。型式H0.5-4之特徵為TGA熱曲線，具有重量損失典型上從0.6%至約1.4%，直到約100°C。關於型式H0.5-4之理論重量損失為1.7%，但是，對於不安定水合物於乾燥時變得部份脫水，並非不尋常。

實例2b，型式N-2：在77°C下，使1克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁

基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼溶於10毫升不含水之EtOAc中。使溶液冷卻至70℃。添加10毫克N-2晶種。於漿液中，以注射泵添加18毫升正-庚烷，歷經1小時。使漿液從70℃冷卻至20℃，歷經1小時，並於20℃下攪拌過夜。藉過濾單離固體，以3毫升正-庚烷洗滌，在真空烘箱中，於50℃下乾燥過夜。型式N-2為N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，不含溶劑型式(無其他水或溶劑之分子)。型式N-2之特徵為DSC熱解曲線，具有吸熱開始，典型上在約230℃與約232℃之間，作為單一熔解點，未具有其他轉變。型式N-2之特徵為TGA曲線，在達到約200℃時，具有可忽略之重量損失，並與單晶結構一致。

實例2c，型式H1.75-5：將50毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼在1毫升水中之漿液激烈攪拌超過16小時。型式H1.75-5之特徵為每一莫耳N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，1.75莫耳水。型式H1.75-5之特徵為DSC熱解曲線，具有吸熱峰開始，典型上在約室溫與約70℃之間，與TGA曲線一致；於較高溫度下，其他事件可因而發生。型式H1.75-5之特徵為TGA曲線，具有約4.3%至約5.3%之重量損失，在溫度達到約100℃下。理論重量損失為約5.9%，但是，對於不安定水合物於乾燥時變得部份脫水，並非不尋常。

實例2d，HAC-1：使100毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，在80℃下溶於0.1毫升HOAc中。

於其中添加0.2毫升t-BuOAc，並使溶液冷卻至20℃。蒸發溶液至乾涸。將所形成之固體在庚烷中，於50℃下攪拌15小時，接著冷卻至20℃。過濾HAC-1，並於25℃及真空下乾燥過夜。型式HAC-1之特徵為每一莫耳N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，1莫耳醋酸。型式HAC-1之特徵為DSC熱解曲線，具有吸熱開始典型上在約100℃下，

與TGA曲線一致；於較高溫度下，其他事件可因而發生。

型式HAC-1之特徵亦為TGA曲線，具有約15.3%重量損失，直到約200℃時。理論重量損失為約10.5%，但是，關於較少量高沸點溶劑仍然與固體結合，並非不尋常。在類似此種情況中，PXRD為型式之診斷，但對少量偶發溶劑不敏感。

實例2e，型式E-1：使50毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼溶於<1毫升之煮沸乙醇中。使溶液冷卻至室溫，並使其慢慢蒸發。型式E-1之特徵為每一莫耳N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，1莫耳乙醇。型式E-1之特徵為DSC熱解曲線，具有吸熱開始典型上在約100℃下，與TGA曲線一致；於較高溫度下，其他事件可因而發生。型式E-1之特徵為TGA熱曲線，具有約7.1%至約7.6%之重量損失，直到約150℃時。理論重量損失為約8.3%，但是，對於不安定溶劑合物於乾燥時變得部份經去溶劑化，並非不尋常。

實例2f，RPG-3：使30至40毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼溶於2毫升外消旋丙二醇中。添加水，直到發現

混濁爲止。使溶劑慢慢蒸發至乾涸。型式RPG-3之特徵爲每一分子N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，1分子R-丙二醇。型式RPG-3之特徵爲DSC熱解曲線，具有吸熱開始在約70°C下，與TGA曲線一致，於較高溫度下，其他事件可因而發生。型式RPG-3之特徵爲TGA曲線，具有約16.4%之重量損失，直到約110°C時。理論重量損失爲約13.1%，但是，關於較少量高沸點溶劑仍然與固體結合，並非不尋常。在類似此種情況中，PXRD爲型式之診斷，但對少量偶發溶劑不敏感。

實例 2g，型式 IPA-1：將40毫克N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼在<1毫升之異丙醇中配成漿液。

將漿液溫和加熱，以溶解其餘固體。使溶液冷卻至室溫，並使其慢慢蒸發，直到發現結晶爲止。型式IPA-1之特徵爲每一莫耳N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺自由態鹼，1莫耳異丙醇。

表1

單位晶胞參數

化合物	型式	T	a(Å)	b(Å)	c(Å)	α°	β°	γ°	V(Å ³)
實例2a	H0.5-4	-50	17.7845(7)	7.6215(3)	20.9510(9)	90	109.062(3)	90	2684.1(2)
實例2b	N-2	RT	18.7240(4)	8.0171(2)	19.6568(5)	90	114.935(2)	90	2675.7(1)
實例2c	H1.75-5	-70	12.7648(2)	34.3194(7)	12.9659(2)	90	99.053(1)	90	5609.4(2)
實例2d	HAC-1	RT	7.9766(7)	11.058(2)	33.348(4)	90	90	90	2941.4(6)
實例2e	E-1	-50	7.9866(3)	11.2594(6)	32.680(2)	90	90	90	2938.7(2)
實例2f	RPG-3	-50	10.3004(3)	10.5475(4)	15.4784(6)	90.045(3)	102.476(2)	109.083(2)	1547.0(1)
實例2g	IPA-1	RT	8.4487(2)	11.6615(3)	31.3800(9)	90	90	90	3091.7(1)

表1 (續)
單位晶胞參數

化合物	Z'	Vm	sg	dcalc
實例2a	2	671	P2 ₁	1.235
實例2b	2	669	P2 ₁	1.258
實例2c	4	701	P2 ₁	1.274
實例2d	1	735	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	1.279
實例2e	1	735	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	1.249
實例2f	2	774	P1	1.257
實例2g	1	773	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	1.217

於表1中使用之變數係定義於下文：

T =關於結晶學數據之溫度，以攝氏表示(RT為室溫，其係為約+22°C)

V =單位晶胞之體積

Z' =每不對稱單位之藥物分子數目

Vm = V (單位晶胞)/(每晶胞之Z藥物分子)

sg =空間群

dcalc =經計算之晶體密度

表2

關於實例2a，型式H0.5-4之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F1	0.1718	0.5612	0.2388	F138	0.9730	0.9700	0.6210
F2	0.1576	0.4167	0.1518	F139	1.0220	0.7300	0.6430
F3	0.1277	0.6827	0.1463	F140	0.9470	0.7710	0.5532
N7	0.3729	0.0177	-0.0187	O137	0.5289	1.1320	0.2702
N9	0.3967	0.3613	0.0716	H10	0.3464	0.3422	0.0601
N11	0.5034	0.5324	0.1275	H16	0.1889	-0.1347	-0.0192
N12	0.1513	-0.3723	-0.0803	H85	0.2780	0.4332	0.1193
N15	0.2070	-0.0340	-0.0258	H88	0.4895	0.3182	0.0357
N18	0.4944	0.7660	0.2016	H90	0.2688	-0.4938	-0.1162
O23	0.3677	0.2704	-0.0786	H91	0.2791	-0.3427	-0.1635
O25	0.2371	0.2420	0.0154	H93	0.2277	0.1128	-0.0967
C82	0.2630	0.6176	0.1822	H95	0.3290	-0.0521	-0.1140
C83	0.4281	0.4888	0.1165	H99	0.3760	-0.3135	-0.0574
C84	0.3027	0.5269	0.1466	H100	0.3100	-0.3067	-0.0228
C86	0.3810	0.5754	0.1513	H102	0.5234	0.0450	0.0773
C87	0.4447	0.2515	0.0409	H103	0.4804	0.1033	0.1290
C89	0.2647	-0.3681	-0.1237	H105	0.1184	-0.0766	-0.1500
C92	0.2304	-0.0122	-0.0852	H106	0.1831	-0.0821	-0.1859
C94	0.3163	-0.0776	-0.0729	H110	0.3980	0.9063	0.2542
C96	0.4172	0.7161	0.1933	H112	0.4292	-0.1628	0.0516
C97	0.1821	0.5681	0.1800	H113	0.3692	-0.0449	0.0742
C98	0.3221	-0.2755	-0.0632	H115	0.2715	0.8230	0.2452
C101	0.4735	0.0847	0.0816	H117	0.0540	-0.3914	-0.0071
C104	0.1724	-0.1130	-0.1448	H118	0.1047	-0.5613	-0.0042
C107	0.3915	0.1858	-0.0261	H119	0.0122	-0.5664	-0.0392
C108	0.2116	0.0919	0.0195	H121	0.0157	-0.2070	-0.1065
C109	0.3748	0.8103	0.2276	H122	-0.0438	-0.3568	-0.1418
C111	0.4081	-0.0451	0.0507	H123	0.0156	-0.2818	-0.1762
C114	0.2994	0.7605	0.2220	H126	0.1446	-0.3645	-0.1779
C116	0.0592	-0.4960	-0.0309	H128	0.5835	0.7006	0.1755
C120	0.0087	-0.3106	-0.1338	H130	0.2266	0.0448	0.1189
C124	0.0696	-0.4465	-0.0977	H131	0.1603	-0.0732	0.0701
C125	0.1783	-0.3101	-0.1359	H132	0.1430	0.1249	0.0800
C127	0.5309	0.6696	0.1690	H134	0.0091	-0.6633	-0.1497

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C129	0.1827	0.0426	0.0774	H135	0.1005	-0.6984	-0.1175
C133	0.0611	-0.6143	-0.1412	H136	0.0686	-0.5851	-0.1833
F4	0.9541	0.9380	0.5714	H141	0.1830	-0.4440	-0.0580
F5	0.9826	0.6800	0.5759	H14	0.6945	1.0312	0.5339
F6	1.0259	0.8300	0.6655	H21	0.7741	1.5073	0.4379
N8	0.6040	1.3694	0.4758	H28	0.7049	1.4602	0.3064
N13	0.6631	1.0203	0.5573	H29	0.6130	1.4814	0.2902
N17	0.7581	1.7462	0.3780	H32	0.5464	1.0615	0.5430
N19	0.6266	0.8793	0.6383	H34	0.6724	1.6789	0.4661
N20	0.7501	1.4082	0.4350	H35	0.5807	1.7062	0.4509
N22	0.7080	0.6517	0.7080	H38	0.8152	0.9372	0.5749
O24	0.7581	1.1336	0.4774	H41	0.5545	1.4575	0.3823
O26	0.5442	1.1244	0.4164	H44	0.5540	1.3350	0.5873
C27	0.6643	1.5023	0.3242	H45	0.6406	1.2709	0.6290
C30	0.6817	0.9034	0.6081	H48	0.6272	1.8887	0.3818
C31	0.5921	1.1293	0.5402	H49	0.5627	1.7587	0.3377
C33	0.6205	1.6624	0.4324	H52	0.6566	1.2721	0.3752
C36	0.5758	1.2019	0.4701	H55	0.6234	1.5433	0.5534
C37	0.8201	0.8496	0.6069	H56	0.6965	1.4170	0.5619
C39	0.7568	0.8126	0.6288	H58	0.8887	1.9136	0.4290
C40	0.6067	1.4694	0.4172	H59	0.9292	1.8759	0.3743
C42	0.8902	0.7591	0.6317	H60	0.9085	1.7203	0.4146
C43	0.6042	1.2934	0.5840	H62	0.6632	1.7578	0.2922
C46	0.7651	0.6822	0.6794	H64	0.8824	1.3038	0.5620
C47	0.6162	1.7663	0.3697	H65	0.8870	1.4370	0.5064
C50	0.8099	1.8166	0.3410	H66	0.9097	1.2396	0.5019
C51	0.6689	1.3952	0.3877	H69	0.7263	1.9822	0.2803
C53	0.7895	1.2775	0.4740	H70	0.8132	2.0339	0.2846
C54	0.6389	1.4243	0.5469	H71	0.7823	2.0761	0.3450
C57	0.8917	1.8331	0.3947	H73	0.8374	1.5813	0.3078
C61	0.6751	1.6998	0.3362	H74	0.8486	1.7393	0.2638
C63	0.8750	1.3182	0.5148	H75	0.7629	1.6701	0.2558
C67	0.9615	0.8066	0.6143	H77	0.8443	0.5011	0.7349
C68	0.7802	1.9934	0.3099	H79	0.9456	0.5638	0.6960
C72	0.8152	1.6904	0.2872	H81	0.6060	0.7320	0.7067
C76	0.8381	0.5893	0.7029	H142	0.7500	1.8390	0.4090
C78	0.8982	0.6264	0.6799	H143	0.5333	1.1298	0.3123
C80	0.6445	0.7516	0.6862	H144	0.5194	1.0278	0.2538

表3

關於實例2b，基本型式N-2之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
N1	0.7824	1.3195	0.3238	C71	0.9289	1.4591	0.5167
N2	0.1685	0.3056	-0.0178	H72	0.9378	1.4237	0.5668
H3	0.1633	0.1989	-0.0196	H73	0.9764	1.4359	0.5102
N4	0.6223	0.8215	0.1887	C74	0.8719	1.7574	0.6080
N5	0.2627	0.4840	-0.0849	C75	0.6719	1.2862	0.4846
N6	0.6868	0.9765	0.2943	H76	0.6246	1.2933	0.4390
H7	0.7030	0.9877	0.3420	H77	0.6814	1.3914	0.5103
N8	0.4185	0.9718	0.0742	H78	0.6660	1.2009	0.5162
N9	0.0989	0.0258	-0.1003	C79	0.9173	1.6199	0.6639
N10	0.7913	1.3680	0.4754	H80	0.8851	1.5217	0.6541
H11	0.7826	1.4618	0.4918	H81	0.9305	1.6578	0.7142
N12	0.5331	0.6005	0.1813	H82	0.9647	1.5943	0.6584
N13	0.3353	0.7474	0.0475	C83	0.9176	1.9198	0.6225
H14	0.3028	0.6896	0.0583	H84	0.9680	1.8999	0.6220
N15	0.8501	1.6946	0.5311	H85	0.9252	1.9631	0.6707
N16	0.4567	1.1267	0.1887	H86	0.8887	1.9992	0.5842
O17	0.7470	1.1042	0.4435	C87	0.7960	1.7901	0.6131
O18	0.2114	0.7470	-0.1165	H88	0.7660	1.8705	0.5758
O19	0.2229	0.5239	0.0583	H89	0.8064	1.8325	0.6620
O20	0.8588	1.0890	0.3360	H90	0.7667	1.6881	0.6048
F21	0.5881	0.9034	0.4961	C91	0.2069	0.3753	0.0494
F22	0.4828	0.7754	0.4659	C92	0.1886	0.3981	-0.1294
F23	0.5874	0.6500	0.5199	H93	0.1617	0.4641	-0.1751
C24	0.1049	-0.1653	-0.0049	C94	0.1345	0.3960	-0.0889
H25	0.1473	-0.2167	-0.0125	H95	0.1249	0.5115	-0.0787
H26	0.0773	-0.2487	0.0097	C96	0.3636	0.8982	0.1612
H27	0.1257	-0.0826	0.0338	C97	0.0560	0.3169	-0.1396
C28	0.0052	-0.2107	-0.1371	H98	0.0300	0.3865	-0.1836
H29	-0.0334	-0.1565	-0.1806	H99	0.0226	0.3123	-0.1131
H30	-0.0204	-0.2889	-0.1178	C100	0.0655	0.1409	-0.1647
H31	0.0423	-0.2685	-0.1506	H101	0.0138	0.0994	-0.1999
C32	-0.0102	0.0236	-0.0618	C102	0.2651	0.6526	-0.0801
H33	0.0176	0.1111	-0.0276	C103	0.3727	0.8727	0.0930
H34	-0.0371	-0.0447	-0.0399	C104	0.3129	0.8065	0.1831

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
H35	-0.0478	0.0713	-0.1077	H105	0.2826	0.7213	0.1525
C36	0.6347	0.8573	0.2590	C106	0.4090	1.0275	0.2081
C37	0.7956	1.1614	0.3094	C107	0.1998	0.2249	-0.1544
C38	0.5429	0.6399	0.2526	H108	0.2268	0.1548	-0.1108
C39	0.5969	0.8058	0.3661	H109	0.2321	0.2314	-0.1820
H40	0.6303	0.8901	0.3943	C110	0.0479	-0.0823	-0.0781
C41	0.5928	0.7673	0.2949	C111	0.3943	0.5437	-0.0102
C42	0.7174	1.0886	0.2543	H112	0.4319	0.5306	0.0416
H43	0.7243	1.0288	0.2140	H113	0.4226	0.5469	-0.0417
C44	0.8437	1.4188	0.3806	C114	0.1202	0.1477	-0.2041
H45	0.8919	1.4020	0.3733	H115	0.0955	0.2128	-0.2496
C46	0.8266	1.6034	0.3730	H116	0.1283	0.0355	-0.2179
H47	0.7791	1.6255	0.3797	C117	0.3076	0.8411	0.2485
H48	0.8177	1.6396	0.3230	C118	0.2292	0.2619	0.1158
C49	0.5524	0.7201	0.3942	H119	0.2846	0.2720	0.1469
C50	0.6668	1.2414	0.2237	H120	0.2172	0.1487	0.0989
H51	0.6690	1.2785	0.1776	H121	0.2001	0.2924	0.1441
H52	0.6125	1.2182	0.2137	C122	0.3349	0.4024	-0.0337
C53	0.8609	1.3569	0.4595	H123	0.3502	0.3144	-0.0588
H54	0.8773	1.2398	0.4636	H124	0.3290	0.3556	0.0092
C55	0.4991	0.5496	0.2836	C125	0.3458	0.7009	-0.0200
H56	0.4668	0.4624	0.2569	H126	0.3682	0.7937	-0.0371
C57	0.7010	1.3718	0.2841	C127	0.4561	1.0941	0.1233
H58	0.6975	1.4822	0.2628	H128	0.4859	1.1659	0.1085
H59	0.6744	1.3722	0.3171	C129	0.4030	1.0567	0.2762
C60	0.9137	1.6472	0.5099	H130	0.4339	1.1390	0.3084
H61	0.9621	1.7039	0.5438	C131	0.2548	0.7395	0.2713
C62	0.7404	1.2441	0.4666	C132	0.3536	0.9679	0.2955
C63	0.5039	0.5898	0.3526	H133	0.3500	0.9907	0.3403
H64	0.4747	0.5300	0.3726	F134	0.1847	0.7359	0.2156
C65	0.5722	0.6959	0.1556	F135	0.2364	0.8060	0.3220
H66	0.5642	0.6734	0.1065	F136	0.2859	0.5920	0.2960
C67	0.8949	1.7014	0.4308	F137	0.1977	0.8329	0.2710
H68	0.9412	1.6866	0.4211	F138	0.2168	0.6170	0.2301
H69	0.8818	1.8193	0.4256	F139	0.2934	0.6790	0.3395
C70	0.5532	0.7632	0.4678	H140	0.8280	1.7679	0.5060
				H141	0.1330	-0.0400	-0.1062

表4

關於實例2c，基本型式H1.75-5之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C1	0.3942	0.1176	0.2183	C51	0.6094	0.0443	-0.0547
C2	0.2287	0.1174	0.0897	C52	0.6750	0.0382	0.0420
N3	0.1192	0.1293	0.0594	C53	0.9963	0.1572	0.4974
N4	0.1798	0.0501	0.1322	C54	0.7176	-0.0005	0.0684
N5	0.3753	0.0509	0.2822	C55	1.1985	0.0503	0.7049
N6	-0.0927	0.1070	-0.1055	C56	1.1539	0.1133	0.4965
N7	-0.3691	0.1154	-0.3165	C57	1.0229	0.1608	0.6162
N8	-0.2260	0.1440	-0.1970	C58	1.0367	0.1185	0.4572
O9	0.1323	0.1298	-0.1137	C59	0.7341	0.1669	0.3280
O10	0.0301	0.0456	0.0130	C60	1.1829	0.1168	0.6162
C11	0.0785	0.1332	-0.0419	C61	1.1435	0.1563	0.6496
C12	0.2431	0.0735	0.0697	C62	0.5636	0.1744	0.0306
C13	-0.2272	0.0747	-0.2281	C63	0.6973	0.1581	0.4320
C14	0.0812	0.0382	0.0995	C64	0.7972	0.1517	0.5115
C15	0.4135	0.0738	0.2008	C65	1.3015	0.0605	0.7775
C16	0.2774	0.1283	0.2010	C66	1.2257	0.0279	0.6122
C17	0.3592	0.0623	0.0929	C67	1.1287	0.0258	0.7652
C18	-0.3242	0.0799	-0.2978	C68	0.9017	0.0664	0.4282
C19	-0.1859	-0.0329	-0.2601	C69	0.8592	0.0308	0.4749
C20	-0.3192	0.1441	-0.2671	F70	0.7706	-0.0040	0.1659
C21	-0.1804	0.1091	-0.1748	F71	0.7890	-0.0119	0.0101
C22	-0.1842	0.0372	-0.2149	F72	0.6477	-0.0283	0.0583
C23	0.0394	0.1336	0.1281	N73	0.7366	0.2979	0.1640
C24	-0.3330	0.0112	-0.3340	N74	0.9286	0.2769	0.3415
C25	-0.2347	0.0067	-0.2683	N75	0.9490	0.3548	0.4399
C26	0.0308	0.0146	0.1792	N76	0.6679	0.2686	0.0076
C27	-0.3753	0.0465	-0.3473	N77	0.5468	0.3015	-0.1239
C28	-0.0381	0.1410	-0.0545	N78	1.1302	0.3587	0.6021
C29	0.4391	0.0161	0.3216	O79	0.7689	0.2552	0.3756
C30	0.4331	-0.0152	0.2365	O80	0.8000	0.3561	0.3182
C31	-0.0565	0.1490	0.0571	C81	0.6779	0.3005	0.0685
C32	0.5574	0.0267	0.3640	C82	0.8021	0.2636	0.1953
C33	0.3907	0.0006	0.4127	C83	0.6253	0.3363	0.0330
F34	-0.1107	-0.0374	-0.1835	C84	0.8293	0.2641	0.3145
F35	-0.1514	-0.0419	-0.3469	C85	0.9704	0.2829	0.4523

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F36	-0.2560	-0.0605	-0.2519	C86	0.9612	0.3232	0.6101
N37	0.9782	0.0854	0.4895	C87	1.0815	0.3238	0.6395
N38	0.8832	0.1624	0.4564	C88	0.6395	0.3717	0.0871
N39	0.6198	0.1729	0.1273	C89	0.9221	0.3194	0.4932
N40	0.7167	0.1350	0.2533	C90	0.5107	0.3694	-0.1081
N41	0.5429	0.1472	-0.0401	C91	0.5605	0.3350	-0.0649
N42	1.1331	0.0855	0.6708	C92	0.6021	0.2715	-0.0843
O43	0.9140	0.1821	0.2960	C93	0.5266	0.4037	-0.0538
O44	0.8654	0.0771	0.3382	C94	0.9119	0.2659	0.1620
C45	0.8542	0.1720	0.3563	C95	0.5911	0.4051	0.0443
C46	0.5876	0.1117	-0.0112	C96	1.1535	0.3924	0.6738
C47	0.6629	0.1387	0.1561	C97	0.6068	0.4429	0.0984
C48	0.6954	0.0688	0.1114	C98	0.8832	0.3710	0.3595
C49	0.6512	0.1060	0.0865	C99	1.0912	0.2839	0.4757
C50	0.5679	0.0801	-0.0813	C100	1.1264	0.2872	0.5933
C101	0.9810	0.2861	0.2520	O151	0.4292	0.1756	0.7593
C102	0.9190	0.4094	0.3235	O152	0.3473	0.1636	0.8339
C103	1.0516	0.4113	0.6921	H153	0.4310	0.1254	0.2979
C104	1.2130	0.3807	0.7821	H154	0.4349	0.1341	0.1645
C105	1.2167	0.4208	0.6206	H155	0.2779	0.1337	0.0447
F106	0.6836	0.4427	0.1806	H156	0.2164	0.0417	0.2100
F107	0.5186	0.4543	0.1375	H157	0.3714	0.0703	0.3474
F108	0.6281	0.4715	0.0364	H158	-0.0576	0.0785	-0.0868
N109	0.3031	0.2523	0.0895	H159	0.2173	0.0675	-0.0123
N110	0.3202	0.3294	0.1970	H160	0.4992	0.0681	0.2061
N111	0.5022	0.3356	0.3522	H161	0.2372	0.1127	0.2569
N112	0.0946	0.2741	-0.0674	H162	0.2676	0.1594	0.2134
N113	-0.0336	0.2377	-0.1697	H163	0.3639	0.0302	0.0854
N114	-0.2016	0.2650	-0.2433	H164	0.4006	0.0751	0.0350
O115	0.1682	0.3314	0.0829	H165	-0.3534	0.1727	-0.2828
O116	0.1499	0.2237	0.1243	H166	-0.1099	0.0321	-0.1626
C117	0.2052	0.2373	0.0644	H167	0.0215	0.1059	0.1611
C118	0.2992	0.2930	0.2475	H168	0.0659	0.1539	0.1907
C119	-0.0515	0.3401	-0.0764	H169	-0.3750	-0.0142	-0.3730
C120	0.3416	0.2960	0.3644	H170	-0.0484	0.0061	0.1467
C121	-0.1222	0.3701	-0.0923	H171	0.0783	-0.0115	0.2000
C122	0.4698	0.2615	0.2174	H172	0.0297	0.0317	0.2489
C123	-0.1737	0.2997	-0.1931	H173	-0.4526	0.0496	-0.3983
C124	-0.0044	0.2713	-0.1206	H174	-0.0573	0.1673	-0.1021

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C125	-0.2438	0.3311	-0.2090	H175	0.4770	-0.0409	0.2650
C126	-0.0754	0.3040	-0.1278	H176	0.3484	-0.0242	0.2146
C127	0.1701	0.2420	-0.0535	H177	0.4596	-0.0045	0.1679
C128	0.3488	0.2578	0.2007	H178	-0.1282	0.1348	0.0707
C129	0.5097	0.2640	0.3350	H179	-0.0650	0.1804	0.0686
C130	0.4624	0.2986	0.3883	H180	0.5963	-0.0009	0.3924
C131	-0.0968	0.4077	-0.0362	H181	0.5930	0.0381	0.3032
C132	0.3460	0.2683	0.0015	H182	0.5596	0.0461	0.4284
C133	-0.1317	0.2372	-0.2271	H183	0.4332	-0.0251	0.4433
C134	0.5253	0.3677	0.4289	H184	0.3902	0.0220	0.4712
C135	-0.2190	0.3662	-0.1602	H185	0.3084	-0.0081	0.3820
C136	0.2745	0.2511	-0.0941	H186	0.9987	0.0754	0.5691
C137	0.5618	0.4023	0.3689	H187	0.7487	0.1066	0.2786
C138	0.6152	0.3567	0.5186	H188	1.1096	0.0983	0.7400
C139	0.4264	0.3788	0.4754	H189	0.7448	0.0641	0.1858
C140	0.2540	0.3461	0.1186	H190	0.5192	0.0845	-0.1565
C141	0.2900	0.3831	0.0758	H191	0.5930	0.0200	-0.1086
F142	0.0020	0.4176	-0.0257	H192	1.0402	0.1792	0.4633
F143	-0.1497	0.4372	-0.0806	H193	1.1791	0.0849	0.4744
F144	-0.1239	0.4079	0.0550	H194	1.1975	0.1355	0.4619
O145	0.4346	0.1106	0.5123	H195	0.9975	0.1890	0.6409
O146	0.1371	0.2037	0.3256	H196	0.9825	0.1382	0.6530
O147	0.6629	0.2454	0.5702	H197	1.0259	0.1190	0.3726
O148	0.4523	0.2291	0.5970	H198	0.6972	0.1932	0.2915
O149	0.3986	0.3042	0.6776	H199	1.2687	0.1146	0.6366
O150	0.3459	0.1840	0.4326	H200	1.1831	0.1795	0.6123
H201	1.1631	0.1593	0.7328	H251	1.1684	0.4299	0.5453
H202	0.5306	0.2029	0.0082	H252	0.3950	0.3437	0.2241
H203	0.6519	0.1824	0.4545	H253	0.5749	0.3293	0.3230
H204	0.6483	0.1323	0.4245	H254	0.1193	0.3022	-0.0335
H205	0.8029	0.1216	0.5375	H255	0.2147	0.2880	0.2355
H206	0.7957	0.1702	0.5801	H256	0.0233	0.3437	-0.0249
H207	1.3466	0.0340	0.8006	H257	0.3083	0.3215	0.3958
H208	1.3500	0.0795	0.7383	H258	0.3160	0.2703	0.4028
H209	1.2843	0.0747	0.8476	H259	0.5050	0.2366	0.1841
H210	1.2710	0.0024	0.6388	H260	0.4927	0.2878	0.1790
H211	1.1517	0.0185	0.5635	H261	-0.3192	0.3277	-0.2606
H212	1.2687	0.0462	0.5671	H262	0.1323	0.2153	-0.0854
H213	1.1703	-0.0007	0.7926	H263	0.3327	0.2320	0.2439

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
H214	1.1105	0.0421	0.8313	H264	0.4885	0.2372	0.3700
H215	1.0556	0.0182	0.7149	H265	0.5951	0.2670	0.3470
H216	0.7976	0.0176	0.4203	H266	0.4874	0.2957	0.4712
H217	0.9226	0.0100	0.4973	H267	0.3419	0.2998	0.0019
H218	0.8269	0.0390	0.5453	H268	0.4278	0.2594	0.0040
H219	0.7349	0.3217	0.2190	H269	-0.1537	0.2100	-0.2663
H220	1.0259	0.3684	0.4660	H270	-0.2738	0.3905	-0.1734
H221	1.2052	0.3497	0.5802	H271	0.3087	0.2249	-0.1215
H222	0.7595	0.2370	0.1705	H272	0.2609	0.2719	-0.1576
H223	0.9510	0.2576	0.4964	H273	0.5805	0.4266	0.4203
H224	0.9305	0.2994	0.6498	H274	0.6328	0.3938	0.3368
H225	0.9306	0.3505	0.6365	H275	0.5006	0.4101	0.3051
H226	1.1023	0.3226	0.7234	H276	0.6311	0.3804	0.5741
H227	0.6892	0.3732	0.1634	H277	0.5931	0.3310	0.5600
H228	0.8361	0.3164	0.4802	H278	0.6878	0.3500	0.4880
H229	0.4622	0.3687	-0.1842	H279	0.4455	0.4020	0.5307
H230	0.5955	0.2449	-0.1310	H280	0.3644	0.3877	0.4139
H231	0.4887	0.4301	-0.0865	H281	0.4001	0.3535	0.5147
H232	0.9411	0.2373	0.1483	H282	0.2315	0.3935	0.0139
H233	0.9065	0.2830	0.0906	H283	0.3050	0.4046	0.1373
H234	1.1232	0.2576	0.4474	H284	0.3642	0.3778	0.0457
H235	1.1194	0.3088	0.4371	H297	0.5031	0.1166	0.5720
H236	1.2129	0.2887	0.6081	H298	0.4013	0.1383	0.4827
H237	1.1010	0.2618	0.6307	H291	0.1415	0.2116	0.2456
H238	0.9841	0.3173	0.2399	H292	0.0561	0.1944	0.3301
H239	1.0614	0.2747	0.2630	H285	0.7189	0.2533	0.6386
H240	0.8608	0.4208	0.2603	H286	0.7007	0.2488	0.5014
H241	0.9250	0.4304	0.3884	H287	0.4531	0.2087	0.6605
H242	0.9943	0.4069	0.2987	H288	0.5334	0.2354	0.5869
H243	1.0681	0.4363	0.7411	H289	0.4187	0.2763	0.6478
H244	1.0091	0.4217	0.6147	H290	0.4459	0.3091	0.7532
H245	1.0017	0.3911	0.7227	H293	0.3695	0.2054	0.4921
H246	1.2276	0.4062	0.8315	H294	0.2663	0.1913	0.3921
H247	1.1658	0.3601	0.8194	H295	0.4701	0.1653	0.8329
H248	1.2882	0.3671	0.7752	H296	0.4645	0.1639	0.6962
H249	1.2341	0.4465	0.6673	H299	0.2731	0.1523	0.8513
H250	1.2881	0.4078	0.6030	H300	0.4117	0.1542	0.8909

表5

關於實例2e，基本型式E-1之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F18	0.2662	0.4002	0.0274	F23	0.0301	0.3722	0.0039
F19	0.0473	0.4191	0.0033	C18	0.1648	0.3165	0.0297
F20	0.1401	0.2386	0.0059	H31	0.2375	0.5477	0.2387
O2	0.3035	0.7582	0.1985	H41	0.5018	0.4801	0.2585
O28	0.4277	0.5819	0.1087	H42	0.4761	0.3850	0.2161
N1	0.5559	0.6627	0.1978	H51	0.6480	0.5043	0.1733
N6	0.2412	0.4989	0.1766	H52	0.7376	0.5463	0.2204
N8	0.0422	0.3993	0.2139	H61	0.2881	0.5282	0.1472
N10	-0.1606	0.2714	0.1828	H91	-0.1519	0.3157	0.2435
N27	0.6744	0.6813	0.1115	H111	-0.2586	0.1707	0.1140
N29	0.9824	0.8036	0.1064	H121	-0.1207	0.1964	0.0469
C2	0.3877	0.6687	0.2028	H141	0.2343	0.4431	0.0976
C3	0.3235	0.5438	0.2136	H211	0.5921	0.8399	0.1984
C4	0.4822	0.4775	0.2252	H221	0.4827	0.7942	0.1303
C5	0.6231	0.5426	0.2028	H231	0.6846	0.8993	0.0877
C7	0.1130	0.4242	0.1780	H232	0.6444	0.9699	0.1348
C9	-0.0900	0.3261	0.2139	H241	0.9421	0.9813	0.1221
C11	-0.1488	0.2295	0.1107	H251	1.0517	0.8711	0.1826
C12	-0.0761	0.2450	0.0735	H252	0.8644	0.9484	0.1930
C13	0.0600	0.3235	0.0687	H261	0.8551	0.7433	0.2231
C14	0.1243	0.3844	0.1017	H262	0.8872	0.6821	0.1741
C15	-0.0857	0.2914	0.1453	H271	0.8051	0.6804	0.1028
C16	0.0498	0.3680	0.1409	H291	1.0794	0.7695	0.1261
C17	0.1207	0.3503	0.0270	H294	0.7893	0.5312	0.0656
C21	0.6470	0.7650	0.1817	H292	0.6583	0.4189	0.0854
C22	0.6168	0.7817	0.1361	H293	0.5951	0.5011	0.0421
C23	0.7030	0.8953	0.1212	H311	0.9885	0.9169	0.0098
C24	0.8922	0.8952	0.1304	H312	0.8322	0.8277	0.0324
C25	0.9185	0.8727	0.1765	H313	0.8750	0.9701	0.0523
C26	0.8353	0.7590	0.1910	H321	1.2632	0.9515	0.0466
C28	0.5782	0.5936	0.0987	H322	1.1556	1.0063	0.0897
C29	0.6596	0.5024	0.0711	H323	1.2983	0.8878	0.0951
C30	1.0633	0.8393	0.0676	H331	1.1943	0.7459	0.0197
C31	0.9326	0.8931	0.0389	H332	1.2251	0.6857	0.0690

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C32	1.2044	0.9276	0.0745	H333	1.0345	0.6616	0.0430
C33	1.1314	0.7245	0.0492	H971	-0.8355	0.1305	0.1615
O99	-0.4402	0.1232	0.1894	H972	-0.7164	0.0043	0.1747
C97	-0.7313	0.0985	0.1797	H973	-0.7551	0.1157	0.2115
C98	-0.5812	0.1608	0.1676	H981	-0.5951	0.2544	0.1716
F21	0.3052	0.3620	0.0283	H982	-0.5565	0.1430	0.1349
F22	0.1907	0.2403	0.0143	H991	-0.3383	0.1855	0.1847

表6

關於實例2d，基本型式HAC-1之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C1	0.0418	0.3612	0.1413	H32	-0.1504	0.2133	0.0512
N2	-0.1614	0.2566	0.1827	H21	0.2024	0.4361	0.1001
N3	0.5574	0.6476	0.1969	H19	-0.2633	0.1786	0.1141
O4	0.4002	0.5938	0.1104	H15	-0.1260	0.2877	0.2400
N5	0.0480	0.3793	0.2136	H6	0.2703	0.5248	0.1514
N6	0.2349	0.4911	0.1766	H14	0.2507	0.5355	0.2354
N7	0.6581	0.6819	0.1120	H25A	0.5017	0.4595	0.2502
O9	0.3141	0.7518	0.2032	H25B	0.4643	0.3765	0.2131
C10	0.6548	0.7519	0.1823	H22A	0.6302	0.4915	0.1724
C11	0.1091	0.4116	0.1779	H22B	0.7255	0.5203	0.2124
C12	0.6143	0.7805	0.1389	H10	0.6208	0.8184	0.1990
C13	-0.0977	0.2822	0.1453	H12	0.4961	0.7944	0.1361
C14	0.3251	0.5321	0.2128	H31A	0.7369	0.5221	0.0663
C15	-0.0849	0.3037	0.2135	H31B	0.5607	0.5108	0.0459
C16	0.5496	0.5972	0.0993	H31C	0.6086	0.4250	0.0815
C17	0.8422	0.7397	0.1888	H17A	0.8651	0.7215	0.2164
N18	0.9734	0.7976	0.1050	H17B	0.8826	0.6751	0.1722
C19	-0.1674	0.2302	0.1113	H23A	0.6885	0.9061	0.0978
C20	0.0380	0.3268	0.0698	H23B	0.6640	0.9626	0.1405
C21	0.1085	0.3827	0.1029	H28A	0.8869	0.9177	0.1920
C22	0.6188	0.5229	0.1991	H28B	1.0495	0.8473	0.1796
C23	0.7063	0.8942	0.1260	H27	0.9448	0.9635	0.1263
C24	0.3943	0.6572	0.2042	H18	1.0626	0.7570	0.1189
C25	0.4808	0.4583	0.2218	H39A	1.2479	0.9507	0.0498
C27	0.8951	0.8864	0.1321	H39B	1.2853	0.8792	0.0894
C28	0.9305	0.8535	0.1757	H39C	1.1647	0.9911	0.0903

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F29	0.2449	0.4047	0.0277	H38A	0.9706	0.9352	0.0175
C30	1.0501	0.8412	0.0669	H38B	0.8802	0.9740	0.0573
C31	0.6205	0.5052	0.0708	H38C	0.8310	0.8527	0.0360
C32	-0.1018	0.2511	0.0743	H40A	1.1575	0.7492	0.0195
C33	0.1058	0.3467	0.0300	H40B	1.0092	0.6805	0.0403
F36	0.1168	0.2494	0.0085	H40C	1.1861	0.6845	0.0608
F37	0.0041	0.4132	0.0068	H7	0.7708	0.6743	0.1022
C38	0.9217	0.9066	0.0421	H35A	-0.8134	0.1022	0.1656
C39	1.2014	0.9229	0.0747	H35B	-0.7586	0.1045	0.2107
C40	1.1073	0.7290	0.0448	H35C	-0.7035	-0.0029	0.1830
O8	-0.4446	0.1296	0.1963	H8	-0.3548	0.1817	0.1876
C26	-0.5724	0.1491	0.1735				
O34	-0.5673	0.2213	0.1458				
C35	-0.7251	0.0824	0.1840				

表7

關於實例2g，基本型式IPA-1之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F1	0.1519	0.3786	0.0243	H4B	0.8724	0.7912	0.1232
F3	-0.0140	0.2540	-0.0043	H3	0.6171	0.6809	0.1026
F2	0.0260	0.4241	0.0085	H1	0.1162	0.5505	0.1460
N4	0.8062	0.8075	0.1016	H10	0.3362	0.7935	0.1099
N3	0.5159	0.6834	0.1054	H9	0.3991	0.8799	0.1736
N2	0.3481	0.7197	0.1890	H6A	0.4782	0.9618	0.1051
N1	0.0675	0.5440	0.1700	H6B	0.5369	0.8805	0.0686
N5	-0.1311	0.4643	0.2095	H22	0.0665	0.4473	0.0929
N6	-0.2941	0.3121	0.1828	H5	0.7491	0.9735	0.1042
O1	0.1140	0.8031	0.1697	H21	-0.3360	0.1865	0.1167
O2	0.2925	0.5779	0.1031	H12A	0.5507	0.4357	0.0989
C10	0.4463	0.7911	0.1197	H12B	0.6252	0.5211	0.0660
C9	0.4471	0.8051	0.1677	H12C	0.4678	0.4565	0.0549
C4	0.9030	0.8194	0.0629	H8A	0.6698	0.7392	0.1786
C24	-0.0632	0.3232	0.0669	H8B	0.6137	0.8216	0.2153
C19	-0.0909	0.3946	0.1378	H16	0.0302	0.6334	0.2243
C6	0.5348	0.8912	0.0992	H13A	0.4882	0.6277	0.2283
C20	-0.2139	0.3158	0.1454	H13B	0.4421	0.5607	0.1863
C11	0.4342	0.5879	0.0964	H3B	0.9771	0.9859	0.0712

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C22	-0.0159	0.3962	0.0980	H3C	1.0944	0.9144	0.0431
C5	0.7048	0.9021	0.1156	H3D	1.0915	0.8973	0.0926
C17	-0.0508	0.4684	0.1726	H23	-0.2112	0.1922	0.0537
C21	-0.2559	0.2399	0.1123	H18	-0.3052	0.3848	0.2368
C14	0.1869	0.7250	0.1863	H2A	0.7158	0.7853	0.0234
C12	0.5279	0.4917	0.0774	H2B	0.8604	0.8380	-0.0010
C8	0.6155	0.8107	0.1847	H2C	0.7518	0.9169	0.0270
C16	0.1187	0.6161	0.2052	H7A	0.6551	0.9825	0.1718
C13	0.4041	0.6134	0.2080	H7B	0.8129	0.9118	0.1736
C3	1.0281	0.9129	0.0679	H1A	1.0319	0.6803	0.0846
C23	-0.1824	0.2437	0.0749	H1B	1.0662	0.7077	0.0366
C18	-0.2485	0.3861	0.2114	H1C	0.9087	0.6458	0.0495
C2	0.7981	0.8420	0.0246	H15A	0.2542	0.5916	0.2593
C7	0.7045	0.9108	0.1635	H15B	0.2564	0.4841	0.2288
C1	0.9852	0.7023	0.0579	H3A	-0.4990	0.1985	0.1863
C15	0.2577	0.5672	0.2298	H27	-0.6926	0.2734	0.1759
C25	0.0153	0.3263	0.0246	H26A	-0.7745	0.0861	0.1320
F4	0.1640	0.2980	0.0315	H26B	-0.6492	0.1771	0.1173
F5	-0.0739	0.3770	-0.0036	H26C	-0.8259	0.2136	0.1243
F6	0.0440	0.2214	0.0112	H28A	-0.8028	0.1216	0.2237
O3	-0.5666	0.1486	0.1890	H28B	-0.9203	0.1527	0.1868
C27	-0.7093	0.1903	0.1763	H28C	-0.8515	0.2497	0.2160
C26	-0.7420	0.1648	0.1343				
C28	-0.8290	0.1780	0.2024				
C29	-0.8460	0.1070	0.1744				
C30	-0.6990	0.2550	0.1410				

表 8
關於實例 2f，基本型式 RPG-3 之原子座標

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
F1	1.4700	0.5720	0.6614	N2	0.6350	0.3813	0.3765
F7	1.4119	0.5575	0.7000	N6	0.2687	0.8628	0.3992
F2	1.4315	0.5398	0.7741	N4	0.3398	0.7349	0.3149
F8	1.5600	0.5336	0.8131	N1	0.8898	0.3354	0.4598
F3	1.6320	0.5630	0.7860	N5	0.0527	0.9107	0.3489
F9	1.6111	0.5864	0.6960	C12	0.4202	0.2078	0.3911
N9	0.7997	-0.0295	0.8348	O1	0.6129	0.7507	0.2839

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
N8	0.7989	0.1232	0.9974	C10	0.7273	0.4981	0.3447
N11	1.1628	-0.0946	0.6829	C6	0.8597	0.4735	0.3332
N10	1.0937	0.0679	0.7424	C9	0.7661	0.6239	0.4071
N7	0.5331	0.0253	1.0441	C20	0.1173	0.7695	0.2548
N12	1.3802	-0.0414	0.6342	C19	0.0264	0.8385	0.2716
O3	0.8190	0.0931	0.7142	C5	0.9561	0.4627	0.4193
O4	1.0177	0.2159	0.9737	C17	0.2435	0.7914	0.3234
C34	0.7187	0.1296	0.9094	C8	0.8573	0.6109	0.4957
C45	1.3119	0.1383	0.6926	O2	0.4273	0.3887	0.2980
C37	0.6769	0.0002	0.8509	C24	-0.0460	0.6680	0.1174
C30	0.4799	0.0412	0.9508	C16	0.4606	0.7449	0.3864
C42	1.1869	0.0349	0.7058	C22	0.0802	0.6875	0.1776
C31	0.5850	0.1596	0.9161	C14	0.5786	0.7190	0.3544
C49	1.4737	0.3643	0.7029	C7	0.9892	0.5850	0.4828
C33	0.5750	-0.1179	0.8869	C23	-0.1359	0.7367	0.1342
C47	1.3487	0.2751	0.7153	C18	0.1707	0.9200	0.4061
C40	0.8584	0.0198	0.7679	C25	-0.0848	0.5788	0.0372
C32	0.4447	-0.0846	0.8933	C13	0.5736	0.6259	0.4906
C41	0.9773	-0.0327	0.7663	C21	-0.1010	0.8179	0.2096
C39	1.0115	-0.0750	0.8618	C4	0.9438	0.1985	0.3554
C35	0.9405	0.1730	1.0250	C3	0.9469	0.2256	0.4509
C38	0.8681	-0.1166	0.8863	C15	0.4317	0.6466	0.4565
C28	0.4760	0.0765	1.1130	C2	1.0956	0.2572	0.5066
C43	1.2625	-0.1234	0.6483	C11	0.4953	0.3347	0.3508
C44	1.4064	0.0935	0.6556	C1	0.8466	0.1026	0.4843
C46	1.5338	0.1870	0.6430	F4	-0.1040	0.4554	0.0598
C48	1.5649	0.3202	0.6666	F5	0.0211	0.6100	-0.0030
C36	1.0000	0.1703	1.1211	F6	-0.1869	0.5900	-0.0238
C29	0.5552	0.0482	1.2020	F10	-0.2221	0.5070	0.0190
C27	0.3192	0.0052	1.1006	F11	-0.0370	0.4791	0.0400
C26	0.5156	0.2276	1.1108	F12	-0.0360	0.6334	-0.0302
C50	1.5103	0.5068	0.7292	O7	0.3015	0.5242	0.1820
N3	0.6420	0.6560	0.4169	O8	0.5067	0.7155	0.1016
C55	0.4573	0.5719	0.0792	H12C	0.3410	0.1518	0.3473
C56	0.3131	0.5089	0.0936	H10A	0.6770	0.5138	0.2867
C54	0.4592	0.5517	-0.0152	H6A	0.8326	0.3912	0.2958
O5	1.1135	0.3136	0.8309	H6B	0.9113	0.5467	0.3027
O6	0.9224	0.3638	0.6775	H9	0.8236	0.6994	0.3801

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
C52	0.9658	0.4383	0.7607	H95	1.0446	0.4603	0.4067
C53	1.0998	0.4403	0.8150	H8B	0.8035	0.5371	0.5249
C51	0.9706	0.5801	0.7445	H8C	0.8845	0.6928	0.5336
H8	0.7521	0.0843	1.0354	H16	0.4967	0.8363	0.4153
H10	1.1043	0.1515	0.7516	H22	0.1413	0.6448	0.1660
H34	0.7767	0.2034	0.8813	H7A	1.0479	0.6636	0.4601
H37	0.6246	0.0147	0.7931	H77B	1.0425	0.5720	0.5399
H30	0.3926	0.0620	0.9462	H23	-0.2199	0.7261	0.0931
H31A	0.5395	0.1776	0.8580	H18	0.1897	0.9731	0.4584
H31B	0.6110	0.2396	0.9557	H13A	0.6288	0.6865	0.5425
H33A	0.5480	-0.1985	0.8476	H13B	0.5604	0.5340	0.5057
H33B	0.6213	-0.1349	0.9450	H21	-0.1626	0.8605	0.2204
H47	1.2884	0.3066	0.7391	H4A	0.8479	0.1679	0.3217
H32A	0.3953	-0.0742	0.8343	H4B	0.9856	0.1305	0.3502
H32B	0.3818	-0.1587	0.9172	H4C	0.9960	0.2797	0.3330
H41	0.9434	-0.1120	0.7240	H15A	0.3587	0.5626	0.4312
H39A	1.0471	-0.1496	0.8633	H15B	0.4034	0.6838	0.5038
H39B	1.0801	-0.0006	0.9013	H2A	1.1552	0.3410	0.4913
H38A	0.8152	-0.2110	0.8689	H2B	1.1310	0.1867	0.4955
H38B	0.8786	-0.0998	0.9495	H2C	1.0948	0.2640	0.5683
H43	1.2434	-0.2140	0.6327	H1A	0.8496	0.1213	0.5456
H46	1.5955	0.1582	0.6190	H1B	0.8758	0.0261	0.4785
H48	1.6483	0.3822	0.6582	H1C	0.7522	0.0839	0.4497
H36A	1.0650	0.1213	1.1285	H99	0.9009	0.3500	0.5070
H36B	0.9249	0.1270	1.1498	H7	0.3628	0.5029	0.2157
H36C	1.0484	0.2607	1.1471	H8A	0.5335	0.7307	0.1555
H29A	0.5101	-0.0427	1.2144	H55	0.5214	0.5322	0.1164
H29B	0.5546	0.1090	1.2479	H56A	0.2502	0.5475	0.0555
H29C	0.6509	0.0606	1.1995	H56B	0.2814	0.4136	0.0755
H27A	0.2727	0.0063	1.0399	H54A	0.4034	0.5980	-0.0510
H27B	0.2829	0.0501	1.1386	H54B	0.4208	0.4574	-0.0335
H27C	0.3022	-0.0863	1.1155	H54C	0.5546	0.5867	-0.0221
H26A	0.6150	0.2666	1.1142	H5	1.0835	0.2863	0.8748
H26B	0.4925	0.2636	1.1602	H6	0.9213	0.2865	0.6847
H26C	0.4641	0.2486	1.0564	H52	0.8933	0.3997	0.7941
H100	0.5160	-0.0550	1.0510	H53A	1.1740	0.4907	0.7866
H2	0.6741	0.3386	0.4153	H53B	1.1148	0.4884	0.8717
H4	0.3295	0.6914	0.2656	H51A	1.0458	0.6226	0.7158

原子	X	Y	Z	原子	X	Y	Z
H12A	0.3879	0.2319	0.4404	H51B	0.9866	0.6294	0.8002
H12B	0.4843	0.1597	0.4113	H51C	0.8826	0.5788	0.7073

表9

關於實例2a、b、c、d、e、f及g之特性粉末x-射線繞射吸收峰位置(度 $2\theta \pm 0.1$)@RT，以高品質圖樣為基礎，以繞射計(CuK α)收集，使用旋轉毛細管，其中 2θ 係以NIST其他適當標準物校準。

實例2a	實例2b	實例2c	實例2d	實例2e	實例2f	實例2g
5.2	5.5	5.1	5.3	5.4	6.3	6.9
7.9	9.1	6.9	9.6	9.4	9.0	8.7
17.1	12.1	7.4	13.7	11.2	11.7	9.8
17.6	14.0	10.2	14.7	13.7	15.0	10.3
19.6	19.2	18.0	19.5	19.1	17.6	11.8

比較藥理學特性

將實例1與WO2005021500 (相當於美國專利案號7,163,937，歸屬於本案申請人)中所發現化合物之藥理學特性作比較之檢測與數據，係於下文提出。

人類末梢血液單核細胞結合("CCR2結合")

參閱例如Yoshimura等人, *J. Immunol.* **1990**, *145*, 292。人類CCR2結合檢測係以人類末梢血液單核細胞(hPBMC)，使用 ^{125}I -人類MCP-1作為示蹤劑配位體而建立。hPBMC係使用具有Ficoll-Hypaque (Mediatech Cellgro)之標準擬案，單離自人類leukopak (Biological Specialty公司)。將經單離之hPBMC洗滌，並在結合緩衝劑(RPMI-1640, 0.1% BSA, 20 mM Hepes, pH 7.4)中，稀釋至 1×10^7 /毫升。將 ^{125}I -MCP-1 (NEN/Perk Elmer)在結合緩衝劑中稀釋至0.45 nM。將化合物於結合緩衝劑中，在結合檢測中所使用最後濃度之3-倍下稀釋。結合檢測係使用96-井濾板(Millipore)進行。總 ^{125}I -MCP-1結合係按下述評估：於總體積為150微升之各反應物中，添加 5×10^5 個細胞、0.15

nM ^{125}I -MCP-1及化合物，以致使最後濃度範圍為0至100 nM。使板在室溫下培養30分鐘，接著使用真空歧管過濾(Millipore)，以RPMI-1640, 0.1% BSA, 0.4M NaCl, 20 mM Hepes, pH 7.4三次洗滌。於洗滌後，使板在室溫下風乾60分鐘。接著添加25微升Microscint 20至各井中。將板密封，並於Trilux上計數1分鐘。非專一性結合係於300 nM 冷MCP-1 (PeproTech公司)存在下測定。專一 ^{125}I -MCP-1係以全部與非專一性結合間之差異計算。所有條件均重複測試。IC50係被定義為降低專一性結合達50%所需要競爭化合物之濃度。

hERG通量

使安定地表現hERG通道之HEK293細胞於培養器上，在經補充10% Sigma牛胎兒血清、非必須胺基酸、2 mM L-麩醯胺及500微克/毫升G418之Dulbecco氏變性Eagle氏培養基中生長(37°C, 5% CO₂)。使用細胞解離緩衝劑，以自燒瓶萃取細胞，然後將其在每井(20微升) 2×10^4 個細胞之密度下，於10%血清培養基中，覆蓋至384-井Corning聚-D-離胺酸塗覆之黑色/透明板中，並在37°C下，於5% CO₂培養器中培養15-24小時，直到獲得細胞之匯合單層為止。

BTC-AM染料(Molecular Probes, Eugene, OR)之2 mM儲備液係在100% DMSO中製成，然後在檢測當天，以1:1添加至DMSO中之10% (w/v)普洛尼克酸內。接著，將染料在hERG外部EP緩衝劑(140 mM NaCl, 4.0 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 1.0 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, pH 7.3及10 mM葡萄糖；所有緩衝劑成份均得自Sigma化學公司)中稀釋。將此BTC染料混合物(30微升)添加至細胞中，並產生2.5 μM 之最後裝填濃度。使細胞在21°C下培養45分鐘。

將待測化合物以60微升稀釋至10 mM DMSO。然後在1:2比例下，於DMSO中，在384-井板之直行1-10與11-20內，連續性地稀釋此等化合物。預備檢測板係經由從DMSO連續性地經稀釋板點取2.5微升

而產生，其係在Velocity 11 BioCel上製成。含水板係藉由添加48微升EP緩衝劑而產生，然後在FLIPR上讀取檢測之前稀釋30-45分鐘。於染料裝填後，將稀化合物水溶液添加至三個複製板(10微升)之細胞中，產生80 μ M至0.156 nM之十點濃度範圍。在檢測中之最後DMSO濃度為1%。預備檢測含水板係經製備，並在Cybio液體處理器上稀釋。

經裝填染料之細胞係在FLIPR384 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)上讀取，其係使用氬雷射之488毫微米線激發染料。發射係使用540 $\pm$ 30毫微米帶通濾波器過濾。hERG通道係藉由添加含有66 mM K₂SO₄與1.3 mM Tl₂SO₄(Sigma/Aldrich)之20微升/井EP緩衝劑刺激而開啓。對於各板，係每秒收集數據，歷經12秒期間，此時添加含Tl⁺之刺激緩衝劑。每秒進行數據收集，歷經48秒，然後每三秒持續進行另外2分鐘。

檢測之動態範圍係測定自空白試驗與總體試驗井。總體試驗井(直行21與22)係界定板(沒有待測化合物存在)之最大hERG活化作用，而空白試驗井(直行23與24)係界定100% hERG抑制。空白試驗井係含有400 nM之標準hERG抑制劑多菲提得(dofetilide) (Ficker等人, 1998)或E-4031之任一種。首先將各試樣井中之原始數據點針對細胞/訊息偏差、負對照組(空白試驗)背景，使用線上FLIPR軟體作修正，並正規化至正對照組(總體試驗)。然後，關於hERG Tl⁺通量數據之待測化合物濃度回應曲線，係使用Excel Fit (ID Business Solutions有限公司, Surrey, UK)，以單一位置計算術方程式($Y = A + ((B-A)/(1 + ((C/X)^D)))$)，其中A = 最大抑制)吻合。分析數據，其方式是將對Tl⁺通量之螢光上最高變化幅度，對待測化合物之特定條件作吻合。化合物之功效(IC₅₀值)係計算自三份複製井之平均值。

鈉通道，位置2結合檢測

亦參閱：W. A. Catterall等人 *J. Biol. Chem.* 1981, 256, 8922。

標準結合緩衝劑含有50 mM HEPES, 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 130 mM 氯化膽鹼, 5.4 mM KCl, 0.8 mM MgCl₂, 5.5 mM 葡萄糖, 40微克/毫升 LqT。結合反應係藉由添加突觸體(製自Wistar大白鼠腦部)至含有標準結合緩衝劑中之5 nM [³H]-蝦膜毒素及在所要濃度下欲被測試之化合物之反應混合物中而起始。然後將試樣混合, 並在37°C下培養60分鐘。藉由添加含有50 mM HEPES, 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1.8 mM CaCl₂, 0.8 mM MgCl₂及1毫克/毫升牛血清白蛋白之冰冷洗滌緩衝劑使反應停止。立即收集突觸體至玻璃纖維濾器上, 並以洗滌緩衝劑洗滌3次。殘留在濾器上之[³H]-蝦膜毒素之放射活性, 係使用液體閃爍分光計計數。

平行人工膜滲透性檢測(PAMPA)

平行人工膜滲透性檢測(PAMPA)係包括被稱為胃腸道(GIT)脂質之特殊調配卵磷脂為基料之脂質組合。此GIT脂質係用以在類似Caco-2檢測中所使用之夾層板組裝中形成膜。

當藉由已知會被動地吸收在人類中之標準化合物度量時, GIT脂質係接近地類似活體內細胞膜組合物與性能。PAMPA係被廣泛地作為發現化合物滲透性篩檢之活體外模式使用。化合物經過PAMPA膜之通過速率, 係用以測定滲透係數(P_c), 其可能與化合物之活體內被動滲透性有關聯。

特定化合物之滲透係數(P_c)係在具有頂端及底與外側pH為7.4之pH依賴性環境中檢驗。所有實驗均在三份複製測定中進行。

將化合物(在100% DMSO中之10 mM儲備液)於pH 7.4供體井緩衝劑(pION目錄#110151)中以1:100稀釋, 提供1% DMSO中之100μM檢測溶液。將經稀釋於供體井緩衝劑中之化合物轉移至Whatman單濾器板, 並在分配200微升至檢測板(pION目錄#110163)之供體井之前過濾。PAMPA膜係經由以吸量管吸取4微升脂質溶液(pION目錄#110169)

至濾板(VWR目錄#13503)上而形成。然後，將該膜以在pH 7.4下之200微升受體并緩衝劑(pION目錄#110139)覆蓋。合併PAMPA檢測板(供體側與受體側)，並使其在室溫下培養4小時。接著將板拆開，並充填分光光度計板(VWR目錄#655801) (150微升/井)。供體、受體、參考物及空白試驗板係在SpectraMax UV板讀取器中讀取。數據係藉由pION軟體捕獲，其係分析光譜且產生Pc值。

CCR2趨化性

人類CCR2趨化性檢測係使用人類單核血球細胞系THP-1進行。首先將THP-1細胞在37°C下，於不含酚紅、不含BSA之RPMI-1640(pH 7.4)中，以螢光染料鈣黃綠素-AM標識，歷經30分鐘，伴隨著每15分鐘溫和混合。然後，洗滌經標識之細胞，並於 1×10^5 /毫升下，再懸浮於趨化性緩衝劑(不含酚紅之RPMI-1640, 0.1% BSA, pH 7.4)中。將待測化合物在趨化性緩衝劑中稀釋，以致使最後檢測濃度範圍為0.01 nM至1 μ M。

將配位體MCP-1 (PeproTech公司)在趨化性緩衝劑中稀釋至20 nM。為進行此檢測，係將等體積之待測化合物稀釋液與等體積之經標識THP-1細胞混合(混合物1)，並將等體積之待測化合物稀釋液與等體積之稀MCP-1配位體混合(混合物2)。使兩種混合物獨立地在37°C下培養10分鐘，接著溫和混合。然後，MCP-1-所引致之趨化性係在趨化性板(Becton Dickinson)中，藉由放置50微升混合物1於頂部室中，及225微升混合物2於底部室中進行度量。將板以蓋子覆蓋，並在37°C下培養30分鐘。30分鐘後，該板係在Cytofluor上讀取。所有條件均重複測試。關於信號對噪聲測定，係將單獨50微升經標識之THP-1細胞(5×10^4 /井)置於頂部室中，並將單獨225微升配位體MCP-1置於底部室中(最後濃度為10 nM)。藉由待測化合物之分級濃度所達成之抑制，係以不含化合物之MCP-1對照組之百分比計算。IC₅₀係被定義為達到

細胞趨化性之50%抑制作用所需要待測化合物之濃度。

hERG貼片夾持

全細胞貼片夾持係在安定地表現無性繁殖hERG鉀通道 α 亞單位之HEK-293細胞中，用以直接地度量hERG電流。化合物係在室溫下，於具有pH 7.4之緩衝水溶液中測試。施加重複性試驗脈衝(0.05 Hz)，從保持電位-80 mV至+20 mV，歷經2秒，而尾電流係在試驗脈衝之後，藉由形成電壓階層至-65 mV而被誘出。來自化合物之作用係藉由度量尖峰尾電流之抑制計算而得。

鈉通道貼片夾持

全細胞貼片夾持係在表現人類心臟鈉通道SCN5A之HEK-293細胞中，用以直接地度量向內鈉電流。化合物係在不含蛋白質之緩衝水溶液中測試。關於測定穩定狀態抑制，鈉電流係使用下述電壓擬案每5秒誘出：將細胞保持在-90 mV之電位下，並逐步至-20 mV，歷經60毫秒。在試驗脈衝至-20 mV期間，藉由度量峰電流之抑制，計算其作用。抑制之速率依存性係藉由在1 Hz與4 Hz頻率下之刺激進行評估。

在大白鼠中之單一劑量藥物動力學

將雄性史泊格多利(Sprague-Dawley)大白鼠(250-300克)用於藥物動力學研究。在經口服藥之前，使大白鼠斷食過夜，而於服藥後4小時餵食。從頸靜脈收集血液試樣(~0.3毫升)至含K₂EDTA之管件中，然後在4℃下離心(1500-2000x克)，以獲得血漿。在口服生物利用率研究中，使2組動物(每組N=2-3)接受待測化合物，無論是經由頸靜脈，以靜脈內(IV)灌注(歷經10分鐘)，或藉由口腔灌食法。序列血液試樣係在服藥後，於0.17 (僅針對IV), 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8及24小時下獲得。將經由在4℃下離心(1500-2000x克)所獲得之血漿試樣，在-20℃下儲存，直到藉由LC/MS/MS分析為止。

在猴子中之單一劑量藥物動力學

各種待測化合物之藥物動力學係在公獼猴屬猴子中，於交叉設計中評估。在經口服藥之前，使猴子斷食過夜，而於服藥後4小時餵食。使一組1-3隻動物(3至5公斤)經由股靜脈藉IV灌注(歷經10分鐘)與藉由口腔灌食法接受化合物，伴隨著治療間之1週沖失。在服藥後，於0.17 (僅IV), 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8及24小時下，從股動脈收集序列血液試樣(~0.3毫升)，並在4°C下離心(1500-2000x克)，以獲得血漿。將試樣在-20°C下儲存，直到藉由LC/MS/MS分析為止。

關於藥物動力學檢測之數據分析

藥物動力學參數係藉由血漿濃度對時間數據之非區域分析(KINETICA™軟體, 4.2版, InnaPhase公司, Philadelphia, PA)獲得。尖峰濃度(C_{max})與 C_{max} 之時間係直接記錄自實驗觀察。

從時間零至最後取樣時間之曲線下方面積(AUC(0-T))，係使用線性與對數梯形總和之組合計算而得。總血漿清除率(CL_{TP})、分佈之穩定狀態體積(V_{ss})、表觀脫除半生期(T_{1/2})及平均滯留時間(MRT)係於靜脈內投藥後估計。T_{1/2}之估計係使用具有可計量濃度之最少3個時間點施行。絕對口服生物利用率(F)係以口服與IV劑量後之劑量正規化AUC值之比例估計。

當在上述檢測中度量時，發現下文關於各化合物之數據。

表10.比較活體外數據

化合物	CCR2結合 IC ₅₀ (nM)	hERG通量 IC ₅₀ (nM)	Na ⁺ 通道結合 (%抑制)	PAMPA 滲透性 (毫微米/秒)
實例12as, WO2005021500	0.27 (1)	2,800	不可取得	不可取得
實例12aj WO2005021500	0.43±0.06 (2)	770	不可取得	不可取得
實例2k WO2005021500	0.88±0.60 (23)	51,000	97%, 10,000 nM	529±157 (9)

化合物	CCR2結合 IC ₅₀ (nM)	hERG通量 IC ₅₀ (nM)	Na ⁺ 通道結合 (%抑制)	PAMPA 滲透性 (毫微米/秒)
實例12bd WO2005021500	1.15±0.07 (2)	>80,000	54%, 10,000 nM	392
實例8a WO2005021500	1.83±0.80 (12)	>80,000	3%, 10,000 nM 33%, 30,000 nM	94±58 (10)
實例8e, WO2005021500	2.20±0.03 (2)	>80,000	6%, 10,000 nM	2±2 (2)
實例9c, WO2005021500	0.96±0.26 (19)	>80,000	48%, 10,000 nM 75%, 30,000 nM	145±71 (8)
實例1本發明	1.14±0.69 (18)	>80,000	0%, 10,000 nM ; 21%, 30,000 nM	443±114 (8)

表 11a.其他比較活體外數據

化合物	CCR2趨化性 IC ₅₀ (nM)	hERG貼片夾持(% 抑制)	Na ⁺ 通道貼片夾持(% 抑制)
實例2k美國專利 7,163,937	0.24±0.16 (12)	83%, 10,000 nM	52%, 10,000 nM 90%, 30,000 nM
實例8a WO2005021500	2.63±1.24 (4)	4%, 10,000 nM	22%, 10,000 nM 49%, 30,000 nM
實例9c, WO2005021500	0.21	4%, 10,000 nM	19%, 10,000 nM 39%, 30,000 nM
實例1, 本發明	0.67±0.42 (22)	33%, 10,000 nM 61%, 30,000 nM	17%, 10,000 nM 19%, 30,000 nM

表 11b.在大白鼠中之比較活體內藥物動力學數據

化合物	劑量IV/PO (毫克/公斤)	Cl (毫升/分鐘/公斤)	F%	口服AUC (nM*h)
實例2k WO2005021500	2.5 / 25	40	68	9294
實例8a WO2005021500	6 / 72	42	1.4	690
實例9c, WO2005021500	4 / 43	54	14	1855
實例1, 本發明	2 / 10	43	51	3794

表11c.在猴子中之比較活體內藥物動力學數據

化合物	劑量IV/PO (毫克/公斤)	Cl (毫升/分鐘/公斤)	F%	口服AUC (nM*h)
實例2k WO2005021500	1 / 1.4	25	46	862
實例8a WO2005021500	1 / 11	14	9.4	1896
實例9c, WO2005021500	1 / 10	12	26	6763
實例1, 本發明	1 / 1.3	23	47	836

利用性

實例之代表性化合物係使用熟諳此藝者已知之檢測，經証實為趨化因子受體活性之調節劑。在此段落中，吾人係描述此等檢測及給予其文獻參考資料。更多檢測係被描述於本文前述標題為"比較藥理學特性"之段落中。由於在此等MCP-1拮抗作用之檢測中顯現活性，故預期實例之化合物可用於治療與趨化因子及其同源受體有關聯之人類疾病。當於特定檢測中度量時，於此等檢測中活性之定義為在濃度上展現IC₅₀為30μM或較低之化合物。

MCP-1結合至人類PBMC之拮抗作用

(Yoshimura等人, *J. Immunol.* 1990, 145, 292)

於實例中所述之至少一種化合物，在此處所述之MCP-1結合至人類PBMC (人類末梢血液單核細胞)之拮抗作用中，係具有活性。

將微孔濾器板(#MABVN1250)以100微升結合緩衝劑(0.5%牛血清白蛋白；20 mM HEPES緩衝劑及5 mM氯化鎂在RPMI 1640培養基中)，在室溫下處理三十分鐘。為度量結合作用，將50微升結合緩衝劑，使用或未使用已知濃度之化合物，與50微升¹²⁵-I標識之人類MCP-1 (以獲得最後濃度為150 pM放射配位體)及含有5x10⁵個細胞之50微升結合緩衝劑合併。用於此種結合檢測之細胞，

可包括藉由Ficoll-Hypaque梯度離心所單離之人類末梢血液單核細胞、人類單細胞(Weiner等人, *J. Immunol. Methods*. 1980, 36, 89)或表現內源受體之THP-1細胞系。將化合物、細胞及放射配位體之混合物在室溫下培養三十分鐘。將板置於真空歧管上，施加真空，及將板以含有0.5 M NaCl之結合緩衝劑洗滌三次。將塑膠邊緣自板移除，使板風乾，將井穿孔及計數。結合作用之抑制百分比，係使用任何競爭化合物不存在下所獲得之總計數，及藉由添加100 nM MCP-1替代待測化合物所測得之背景結合，計算而得。

MCP-1-所引致鈣流入量之拮抗作用

(Sullivan等人, *Methods Mot. Biol.*, 114,125-133 (1999))

於實例中所述之至少一種化合物，在此處所述之MCP-1所引致鈣流入量檢測之拮抗作用中，係具有活性。

鈣移動係使用螢光Ca²⁺指示劑染料Fluo-3度量。使細胞在8 x 10⁵個細胞/毫升下，於含有0.1%牛血清白蛋白、20 mM HEPES緩衝劑、5 mM葡萄糖、1%牛胎兒血清、4μM Fluo-3 AM及2.5 mM羧苯磺胺之磷酸鹽緩衝之鹽水中，在37℃下培養60分鐘。用於此種鈣檢測之細胞，可包括如由Weiner等人, *J. Immunol. Methods*, 36, 89-97 (1980)所述經單離之人類單細胞或表現內源CCR2受體之細胞系，譬如THP-1與單Mac-6。然後，將此等細胞在含有0.1%牛血清白蛋白、20 mM HEPES、5 mM葡萄糖及2.5 mM羧苯磺胺之磷酸鹽緩衝之鹽水中洗滌三次。使細胞再懸浮於含有0.5%牛血清白蛋白、20 mM HEPES及2.5 mM羧苯磺胺之磷酸鹽緩衝之鹽水中，於最後濃度2-4 x 10⁶個細胞/毫升下。將細胞覆蓋於96-井黑色壁微板(100微升/井)中，並使板在200 x克下離心5分鐘。將不同濃度之化合物添加至井(50微升/井)中，並於5分鐘後，添加50微升/井之MCP-1，以獲得最後濃度為10 nM。利用螢光成像板讀取器偵測鈣移動。以氬雷射(488 nM)使細胞單層激發，

並度量細胞結合之螢光達3分鐘(對前90秒為每秒鐘，而對後90秒為每10秒鐘)。數據係以任意螢光單位產生，而對各井之螢光改變，係以最高-最低差別測得。化合物依存之抑制，係相對於單獨MCP-1之回應計算而得。

MCP-1-所引致人類PBMC趨化性之拮抗作用

(Bacon等人, *Brit. J. Pharmacol.* **1988**, 95, 966)

於實例中所述之至少一種化合物，在此處所述之MCP-1-所引致人類PBMC趨化性檢測之拮抗作用中，係具有活性。

將Neuroprobe MBA96-96-井趨化室、Polyfiltronics MPC 96井板及Neuroprobe不含聚乙烷基四氫吡咯酮之聚碳酸酯PFD5 8-微米濾器，在37°C培養器中溫熱。使剛經由標準聚蔗糖密度分離方法單離之人類末梢血液單核細胞(PBMC) (Boyum等人, *Scand. J. Clin. Lab Invest. Suppl.* **1968**, 97, 31)於 1×10^7 c/毫升下，懸浮於DMEM中，並在37°C下溫熱。亦將人類MCP-1之60 nM溶液在37°C下溫熱。待測化合物之稀釋液係在DMEM中所需要濃度之2x下構成。將PBMC懸浮液與60 nm MCP-1溶液，以1：1混合在具有預先溫熱DMEM之聚丙烯管中，使用或未使用待測化合物之稀釋液。使此等混合物在37°C管件溫熱器中溫熱。為引發檢測，將MCP-1/化合物混合物添加至Polyfiltronics MPC 96井板之井中，該板已被置於Neuroprobe趨化室之底部中。對各井大約體積為400微升，且於分配後應為正彎月面。8微米濾器係溫和地置於96井板之頂部，使橡膠墊片連接至上方室之底部，並將該室組裝在一起。將200微升體積之細胞懸浮液/化合物混合物添加至上方室之適當井中。將上方室以板封閉器覆蓋，並將組裝好之單元置於37°C培養器中45分鐘。於培養後，移除板封閉器，並吸出所有殘留細胞懸浮液。將此室拆開，並溫和地移除濾器。在將濾器保持於90度角下時，使用磷酸鹽緩衝鹽水之溫和液流，洗離未潛移之細

胞，並將濾器頂部以橡膠刮板之尖端擦拭。此洗滌係再重複兩次。使濾器風乾，然後完全浸沒在Wright Geimsa著色料中45秒。藉由浸泡在蒸餾水中7分鐘，洗滌濾器，然後在剛蒸餾之水中再洗滌15秒。使濾器再一次風乾。於濾器上之經潛移細胞，係藉由目視顯微鏡術定量。

哺乳動物趨化因子受體係提供用於干擾或促進哺乳動物(譬如人類)中免疫細胞功能之標的。會抑制或促進趨化因子受體功能之化合物，係特別可用於調節免疫細胞功能，以提供治療目的。因此，本發明係針對可用於預防及/或治療極多種炎性、傳染性及免疫調節病症與疾病之化合物，該病症與疾病包括氣喘與過敏性疾病，被致病微生物(其藉由定義係包括病毒)感染，以及自身免疫病理學疾病，譬如風濕性關節炎與動脈粥瘤硬化。

例如，會抑制哺乳動物趨化因子受體(例如人類趨化因子受體)之一或多種功能之本發明化合物，可被投予，以抑制(意即降低或防止)發炎或傳染病。結果，一或多種炎性過程，譬如白血球潛移、黏連、趨化性、胞裂外排(例如酵素、組織胺之胞裂外排)或炎性介體釋出，均被抑制。

同樣地，會促進哺乳動物趨化因子受體(例如人類趨化因子)之一或多種功能之本發明化合物，係被投予以刺激(誘發或增強)免疫或炎性回應，譬如白血球遊出、黏連、趨化性、胞裂外排(例如酵素、組織胺之胞裂外排)或炎性介體釋出，而造成炎性過程之有利刺激。例如，可添補嗜伊紅體，以對抗寄生感染。此外，前述炎性、過敏性及自身免疫疾病之治療，亦可被涵蓋於本發明之化合物中，其會促進哺乳動物趨化因子受體之一或多種功能，若吾人意欲傳輸足量化合物，經過引致趨化因子受體內部化作用，或以會造成細胞潛移之方向錯誤之方式傳輸化合物，以造成細胞上之受體表現之損失時。

除了靈長類動物譬如人類之外，多種其他哺乳動物可根據本發明之方法進行治療。例如，哺乳動物，包括但不限於乳牛、綿羊、山羊、馬、狗、貓、天竺鼠、大白鼠，或其他牛、羊、馬、犬、貓科動物、齧齒動物或老鼠物種，均可治療。但是，此方法亦可實施在其他物種上，譬如鳥類物種。在上述方法中治療之病患，係為想要在其中調節趨化因子受體活性之雄性或雌性哺乳動物。於本文中使用之"調節"係意欲涵蓋拮抗作用、催動作用、部份拮抗作用及/或部份催動作用。

CCR5結合與功能性檢測

細胞衍生與細胞培養物：安定地表現內源CC趨化因子受體5 (CCR5)之HT1080細胞匯集庫，係使用由Harrington、Sherf及Rundlett所概述之方法發展(參閱美國專利US 6,361,972與US 6,410,266)。最高表現之無性繁殖系係使用重複性流動細胞計數法單離，接著為次代無性繁殖。然後，將此等細胞在 3×10^5 個細胞/井下，於6-井培養皿中培養，並以含有嵌合HA-標記之G蛋白質Gqi5之DNA載體轉染(分子裝置；得自酵素之15微升Ex-Gen中之5微克線性化載體DNA係用於該轉移感染)。於轉移感染後兩天，將井合併，並覆蓋至P100板中。於覆蓋後七天，選取菌落，擴張，並藉由Western氏沾吸分析Gqi5含量。具有Gqi5 (得自轉移感染)與CCR5 (內源)之高度表現之無性繁殖系(稱為3559.1.6)係經選擇，並使用於下文所述之實驗。將HT1080細胞(無性繁殖系3559.1.6)以經補充10%經滲析牛胎兒血清、2%青霉素/鏈霉素/麩醯胺及500微克/毫升潮霉素B (最後濃度)之 α -MEM，在37°C與5% CO₂下，於潮濕氣層中培養。

細胞膜製劑：使含有 1×10^8 個HT1080細胞(無性繁殖系3559.1.6)之細胞丸粒再懸浮於5毫升冰冷細胞膜製備緩衝劑(50 mM HEPES, 5 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂)中，並於冰上，在高速下，於Polytron均化器

上均化20秒。將勻漿以另外25毫升細胞膜製備緩衝劑稀釋，並離心12分鐘(48,000x克，於4℃下)。於如前述再均化之前，使細胞丸粒再懸浮於5毫升細胞膜製備緩衝劑中。將勻漿以5毫升細胞膜製備緩衝劑稀釋，並檢測CCR5蛋白質濃度。

結合檢測：將得自上述細胞膜製劑之剛製成勻漿在結合緩衝劑(50 mM HEPES, 5 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 0.1% BSA；於檢測前，添加一份完全蛋白酶抑制劑片劑)中稀釋，以達到最後蛋白質濃度為10微克/井(得自Corning公司之固體白色96-井板)。將此細胞膜製劑與WGA-SPA珠粒(Amerhsam；經預先浸泡於結合緩衝劑中)混合，以獲得濃度為200微克/井。然後，將細胞膜/SPA珠粒混合物(100微升/井)添加至板中，該板已以2微升含有不同濃度待測物件之DMSO預加斑點(對負對照組為純DMSO；對待測物件，為不同濃度之本發明實例；500 nM MIP-1β作為正對照組)。結合檢測係經由添加50微升 [¹²⁵I]-MIP-1β(PerkinElmer；將物質在結合緩衝劑中稀釋，以致使50微升/井之添加係獲得最後濃度為0.1 nM [¹²⁵I]-MIP-1β)引發。將板密封，並在Packard TopCount上計數之前，使其在室溫下靜置4-6小時。關於待測物件之百分比結合係經計算，使用負與正對照組以界定各實驗之限幅。

螢光計成像板讀取器(FLIPR)-為基礎之功能性檢測：將HT1080細胞(無性繁殖系3559.1.6)在10,000個細胞/井(30微升)下覆蓋於384-井板(黑色/透明底部Biocoat PDL, Beckton Dickinson)中，並裝填30微升/井之Fluro-4 AM螢光染料(經由溶解1毫克Fluro-4 AM於440微升DMSO中，並在以10毫升Hanks緩衝劑進一步稀釋之前，以100微升普洛尼克(pluronic)溶液稀釋而製成)。將細胞於洗滌三次之前，在37℃與5% CO₂下培養30分鐘，並懸浮於檢測緩衝液(20 mM HEPES, 1.2 mM CaCl₂, 5 mM MgCl₂, 2.5毫米羧苯磺胺(probenecid), 0.5% BSA, 1x

Hanks)中。將待測物件在DMSO中連續性地稀釋，然後於添加至細胞(10微升/井)中之前，以檢測緩衝液1：10稀釋。使用FLIPR，讀取板之通量誘發(意即催動劑活性)(10-70秒)。接著將細胞以催動劑溶液(30微升/井；經由在100毫升檢測緩衝液中，稀釋30微升之100微莫耳濃度MIP-1 β 而製成；此擬案係在此檢測中傳輸最後濃度為5 nM MIP-1 β)進一步裝填，而板係使用FLIPR讀取一分鐘。待測物件相對於0.4% DMSO/緩衝劑負對照組之拮抗劑活性係經測定。

揭示內容之至少一種化合物為CCR2與CCR5兩者之抑制劑，且可用以治療與任一種趨化因子有關聯之疾病。本發明化合物係被認為是雙拮抗劑。

可以趨化因子受體功能抑制劑治療之人類或其他物種之疾病或症狀，包括但不限於：炎性或過敏性疾病與症狀，包括呼吸過敏性疾病，譬如氣喘、過敏性鼻炎、過敏性肺病、過敏性肺炎、嗜伊紅蜂窠織炎(例如Well氏徵候簇)、嗜伊紅肺炎(例如Loeffler氏徵候簇、慢性嗜伊紅肺炎)、嗜伊紅筋膜炎(例如Shulman氏徵候簇)、延遲型過敏性、組織間隙肺臟疾病(ILD)(例如自發性肺纖維變性或與ILD有關聯之風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡、關節黏連脊椎炎、系統硬化、Sjogren氏徵候簇、多肌炎或皮肌炎)；全身過敏或過敏性回應、藥物過敏反應(例如對青霉素、頭孢菌素類)、由於攝食受污染色胺酸所致之嗜伊紅血球過多-肌痛徵候簇、昆蟲螫傷過敏反應；自身免疫疾病，譬如風濕性關節炎、牛皮癬關節炎、多發性硬化、全身性紅斑狼瘡、重症肌無力、幼年開始型糖尿病；絲球體性腎炎、自身免疫橋本氏病、Behcet氏疾病；移植排斥(例如在移植時)，包括同種移植排斥或移植物-對-宿主疾病；炎性腸疾病，譬如克隆氏病與潰瘍性結腸炎；脊椎關節病；硬皮病；牛皮癬(包括T-細胞所媒介之牛皮癬)，與炎性皮膚病，譬如皮炎、濕疹、異位性皮炎、過敏性接觸性皮膚炎、

蕁麻疹；脈管炎(例如壞死性、皮膚及過敏性脈管炎)；嗜伊紅肌炎、嗜伊紅筋膜炎；伴隨著皮膚或器官之白血球浸入之癌症。其中不想要之炎性回應欲被抑制之其他疾病或症狀，可經治療，其包括但不限於脈管炎、易受傷害斑、靜脈新血管內膜增生再灌注損傷、滲析-移植新血管內膜增生、動脈-靜脈旁路血管內膜增生、動脈粥瘤硬化、某些血液學惡性病徵、細胞活素所引致之毒性(例如敗血性休克、內毒素休克)、多肌炎、皮肌炎。人類或其他物種中可以趨化因子受體功能抑制劑治療之傳染性疾病或症狀，包括但不限於HIV。

可以趨化因子受體功能之抑制劑治療之人類或其他物種之疾病或症狀，包括但不限於：免疫壓抑，譬如在具有免疫不全徵候簇之個體中之免疫壓抑，譬如AIDS或其他病毒感染，進行放射療法、化學療法、關於自身免疫疾病之療法或藥物療法(例如皮質類固醇療法)之個體，以上療法會造成免疫壓抑；由於先天性缺乏受體功能或其他原因所致之免疫壓抑；及感染疾病，譬如寄生疾病，包括但不限於蠕蟲感染，譬如線蟲(圓形蟲)；(鞭蟲病、蟯蟲病、蛔蟲病、鉤蟲、類圓線蟲病、旋毛蟲病、絲蟲病)；吸蟲(血吸蟲)(血吸蟲病、分枝吸蟲病)、絛蟲(帶蟲)(胞蟲病、肥胖絛蟲病、囊蟲病)；內臟蠕蟲、內臟游走性幼蟲(例如弓蛔蟲屬)、嗜伊紅胃腸炎(例如異尖屬、*Phocanema*屬)、皮膚游走性幼蟲(巴西鉤蟲、犬鉤蟲)。因此，本發明化合物可用於預防與治療極多種炎性、感染性及免疫調節病症與疾病。

此外，若吾人意欲傳輸足量化合物，經過引致趨化因子受體內部化作用，或以會造成細胞潛移之方向錯誤之方式傳輸化合物，以造成細胞上之受體表現之損失時，前述炎性、過敏性及自身免疫疾病之治療，亦可被涵蓋於趨化因子受體功能之促進劑中。

於另一方面，本發明可用以評估G蛋白質偶合受體之推斷專一催動劑或拮抗劑。本發明係針對利用此等化合物在關於會調節趨化因子

受體活性之化合物之篩選檢測之製備與實施上。再者，本發明化合物可用於確立或測定其他化合物對趨化因子受體之結合位置，例如在一檢測中藉由競爭性抑制或作為參考物，以將其已知活性與具有未知活性之化合物作比較。當發展出新檢測或擬案時，根據本發明之化合物可用以測試其有效性。明確言之，此種化合物可被提供於市售套件中，例如供使用於涉及前述疾病之醫藥研究上。本發明化合物亦可用於評估趨化因子受體之推斷專一調節劑。此外，吾人可利用本發明之化合物，以檢驗不被認為是趨化因子受體之G蛋白質偶合受體之專一性，無論是藉由充作不會結合化合物之實例，或作為在可幫助界定交互作用特定位置之受體上具有活性之化合物之結構變型。

於本文中所揭示之化合物可用以治療或預防病症，選自風濕性關節炎、骨關節炎、敗血性休克、動脈粥瘤硬化、動脈瘤、發熱、心血管作用、血液流動性休克、敗血病徵候簇、絕血再灌注後之傷害、瘧疾、克隆氏病、炎性腸疾病、分枝桿菌感染、腦膜炎、牛皮癬、鬱血性心衰竭、纖維變性疾病、惡病質、移植物排斥、自身免疫疾病、皮膚炎性疾病、多發性硬化、輻射傷害、氧過多肺泡傷害、HIV、HIV癡呆症、非胰島素依賴性糖尿病、氣喘、過敏性鼻炎、異位性皮炎、自發性肺纖維變性、大泡型類天疱瘡、蠕蟲寄生感染、過敏性結腸炎、濕疹、結合膜炎、移植、家族性嗜伊紅血球過多、嗜伊紅蜂窠織炎、嗜伊紅肺炎、嗜伊紅筋膜炎、嗜伊紅胃腸炎、藥物引致之嗜伊紅血球過多、膽囊纖維變性、Churg-Strauss徵候簇、淋巴瘤、霍奇金(Hodgkin)氏疾病、結腸癌、Felty氏徵候簇、肉狀瘤病、葡萄膜炎、阿耳滋海默氏、絲球體性腎炎與系統性紅斑狼瘡、食管鱗狀細胞癌、神經病原性疼痛及肥胖。

於另一方面，該化合物可用以治療或預防炎性病症，選自風濕性關節炎、骨關節炎、動脈粥瘤硬化、動脈瘤、發熱、心血管作用、

克隆氏病、炎性腸疾病、牛皮癬、鬱血性心衰竭、多發性硬化、自身免疫疾病、皮膚炎性疾病。

於另一方面，該化合物係用以治療或預防炎性病徵，選自風濕性關節炎、骨關節炎、動脈粥瘤硬化、克隆氏病、炎性腸疾病及多發性硬化。

於另一方面，在本文中所揭示之實例可用於治療多種癌症，包括但不限於下述：

癌瘤，包括以下之癌瘤，膀胱(包括加速與轉移性膀胱癌)、乳房、結腸(包括結腸直腸癌)、腎臟、肝臟、肺臟(包括小與非小細胞肺癌及肺臟腺癌)、卵巢、前列腺、睪丸、尿生殖道、淋巴系統、直腸、喉、胰臟(包括外分泌胰癌)、食道、胃、膽囊、子宮頸、甲狀腺及皮膚(包括鱗狀細胞癌)；

淋巴樣血統之造血腫瘤，包括白血病、急性淋巴球白血病、急性淋巴胚細胞白血病、B-細胞淋巴瘤、T-細胞淋巴瘤、霍奇金(Hodgkin)氏淋巴瘤、非霍奇金(Hodgkin)氏淋巴瘤、有毛細胞淋巴瘤、組織細胞淋巴瘤及Burkett's淋巴瘤；

髓樣血統之造血腫瘤，包括急性與慢性骨髓性白血病、脊髓發育不良徵候簇、髓樣白血病及前骨髓細胞白血病；

中樞與末梢神經系統之腫瘤，包括星細胞瘤、神經胚細胞瘤、神經膠質瘤及神經鞘瘤；

間葉來源之腫瘤，包括纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤及骨肉瘤；以及

其他腫瘤，包括黑色素瘤、著色性乾皮病、角質棘皮瘤、生殖細胞瘤、甲狀腺濾泡癌及畸胎瘤。

於另一項具體實施例中，本文中所揭示者為治療癌症之方法，其中癌症係選自乳癌、肝癌、前列腺癌及黑色素瘤。此外，於本文中所揭示之化合物可用於治療卵巢癌與多發性骨髓瘤。

本發明係提供用於治療多種非癌性增生疾病之方法。

合併治療以預防與治療炎性、傳染性及免疫調節病症與疾病，包括氣喘與過敏性疾病，以及自身免疫病理學疾病，譬如風濕性關節炎與動脈粥瘤硬化，及上文所指出之病理學疾病，係藉由本發明化合物與其他已知供此種利用之化合物之組合作說明。例如，在發炎之治療或預防上，本發明化合物可併用消炎或止痛劑，譬如阿片製劑催動劑、脂肪氧化酶抑制劑、環氧化酶-2抑制劑、間白血球活素抑制劑(譬如間白血球活素-1抑制劑)、腫瘤壞死因子抑制劑、NMDA拮抗劑、氧化氮之抑制劑或氧化氮合成之抑制劑、非類固醇消炎劑、磷酸二酯酶抑制劑或細胞活素抑制用消炎劑，例如併用以下化合物，譬如乙醯胺吩(acetaminophen)、阿斯匹靈、可待因、芬塔諾(fentanyl)、異丁苯丙酸(ibuprofen)、吲哚美薩辛(indomethacin)、酮洛拉克(ketorolac)、嗎啡、那丙新(naproxen)、非那西汀(phenacetin)、吡氧胺(piroxicam)、類固醇止痛劑、磺非塔尼(sufentanyl)、山林達克(sunlindac)、干擾素 α 等。同樣地，本發明化合物可伴隨以下藥物一起投藥，疼痛舒解劑；強化劑，譬如咖啡鹼、H₂-拮抗劑、聚二甲矽氧烷、氫氧化鋁或鎂；解除充血劑，譬如苯腎上腺素、苯丙醇胺、偽麻黃鹼、氧基美塔唑啉(oxymetazoline)、麻黃鹼、萘唑啉(naphazoline)、丁苳唑啉、氫化去氧麻黃鹼或左旋脫氧-麻黃鹼；及鎮咳藥，譬如可待因、二氫可待因酮、咳米吩(caramiphen)、卡貝他戊烷(carbetapentane)或右旋美索吩(dextramethorphan)；利尿劑；及鎮靜或非鎮靜抗組織胺藥。同樣地，於本文中所揭示之化合物可併用其他藥物，此藥物係用於治療/預防/抑制或改善本發明化合物對其有用之疾病或症狀。此種其他藥物可藉由其常用途徑及量，與本發明化合物同時或相繼地投藥。當化合物與一或多種其他藥物同時使用時，可使用除了本發明化合物以外含有此種其他藥物之醫藥組合物。因此，

該醫藥組合物，係包括除了本發明揭示內容之化合物以外，亦含有一或多種其他活性成份者。

可與本發明化合物併用之其他活性成份之實例，無論是個別或在相同醫藥組合物中投藥，係包括但不限於：(a)整合素拮抗劑，譬如供選擇素ICAM與VLA-4使用者；(b)類固醇類，譬如貝可美塞松、甲基氫化潑尼松、 β -美塞松、潑尼松、地塞米松及氫基可體松；(c)免疫抑制劑，譬如環孢素、塔可利馬斯(tacrolimus)、雷帕霉素及其他FK-506型免疫抑制劑；(d)抗組織胺類(H1-組織胺拮抗劑)，譬如溴吩尼拉明(bromopheniramine)、氯吩尼拉明(chlorpheniramine)、地氯吩尼拉明(dexchlorpheniramine)、三普利定(triprolidine)、克列馬斯汀(clemastine)、苯海拉明(diphenhydramine)、二苯基吡拉林(diphenylpyraline)、吡甲胺(tripelennamine)、羥吡(hydroxyzine)、甲二拉吡(methdilazine)、異丙吡(promethazine)、異丁吡(trimeprazine)、氮塔丁(azatadine)、西普洛庚汀(cyproheptadine)、安他唑啉、吩尼拉明新安替根、阿斯特米唑(astemizole)、特菲那定(terfenadine)、羅拉他汀(loratadin)、西替利吡(cetirizine)、非克索吩拿定(fexofenadine)、脫乙氧羰基羅拉他汀等；(e)非類固醇抗氣喘劑，譬如 β_2 -催動劑(間羥特丁腎上腺素、間丙特瑞醇(metaproterenol)、芬忒醇、新異丙腎上腺素、阿布特拉(albuteral)、必托特醇(bitolterol)及吡丁特醇(pirbuterol))、茶鹼、色甘酸鈉、阿托品、溴化依普拉搥品(ipratropium bromide)、白三烯素拮抗劑(雜呋路卡斯特(zafirlukast)、蒙帖路卡斯特(montelukast)、普朗路卡斯特(pranlukast)、衣拉路卡斯特(iralukast)、波畢路卡斯特(pobilukast)、SKB-102,203)、白三烯素生物合成抑制劑(吉留通(zileuton)、BAY-1005)；(f)非類固醇消炎劑(NSAID)，譬如丙酸衍生物(阿米諾丙吩、苯薩丙吩(benxaprofen)、布可洛西酸、卡丙吩、聯苯丁酮酸、菲諾丙吩(fenoprofen)、弗丙吩

(fluprofen)、氟雙丙吩、異丁苯丙酸(ibuprofen)、吲哚丙吩(indoprofen)、酮基丙吩(ketoprofen)、米羅丙吩(mioprofen)、那丙新(naproxen)、呋普羅辛(oxaprozin)、吡丙吩、普南丙吩(pranoprofen)、蘇丙吩(suprofen)、提普若吩克酸(tiaprofenic acid)及提氧丙吩)，醋酸衍生物(吲哚美薩辛(indomethacin)、阿謝美塔辛(acemetacin)、阿可洛吩拿克(alclofenac)、克利達拿克(clidanac)、二可吩拿克(diclofenac)、吩可吩拿克、氯苯噻唑乙酸、吩提查克(fentiazac)、氟若吩拿克、對異丁基苯乙酸、異克西百克(isoxepac)、呋皮拿克(oxpinac)、沙林達克(sulindac)、提品拿克、四苯醯吡咯乙酸(tolmetin)、紀多美塔辛及周美皮克(zomepirac))，滅酸衍生物(氟滅酸、甲氯滅酸、甲滅酸、尼滅酸及甲苯滅酸)，聯苯基羧酸衍生物(二氟苯柳酸與氟吩尼索(flufenisal))，氧胺類(oxicams)(異氧胺(isoxicam)、吡氧胺(piroxicam)、蘇氧胺(sudoxicam)及天氧胺(tenoxicam))，柳酸酯類(乙醯柳酸、硫酸沙吡(sulfasalazine))，及吡唑啉類(炎爽痛、苧間戊二烯酮、戊烯保泰松、莫非布塔宗(mofebutazone)、氧基苯基保泰松、苯基保泰松)；(g)環氧化酶-2 (COX-2)抑制劑；(h)磷酸二酯酶型IV (PDE-IV)抑制劑；(i)趨化因子受體之其他拮抗劑；(j)膽固醇降低劑，譬如HMG-CoA還原酶抑制劑(洛伐制菌素(lovastatin)、辛伐制菌素(simvastatin)及普拉伐制菌素(pravastatin)、弗伐制菌素(fluvastatin)、阿托伐制菌素(atorvastatin)及其他制菌素)，多價螯合劑(消膽胺與可列斯替保(colestipol))，尼可同(nicotonic)酸，非諾纖酸衍生物(傑非布洛吉(gemfibrozil)、可洛纖(clofibrat)、非諾纖酸酯(fenofibrate)及苯雜纖酸酯(benzafibrate))，及普洛布可(probucol)；(k)抗糖尿病劑，譬如胰島素、磺醯基脲類、雙縮脲(二甲雙胍)、 α -配醣酶抑制劑(阿卡糖(acarbose))及葛塔宗(glitazone)類(卓葛塔宗(troglitazone)與皮歐葛塔宗(pioglitazone))；(l)干擾素製劑(干擾素 α -2a、干擾素-2B、干擾素 α -

N3、干擾素 β -1a、干擾素 β -1b、干擾素 γ -1b)；(m)抗病毒化合物，譬如依發伯恩姿(efavirenz)、聶伯拉平(nevirapine)、因地那伯(indinavir)、建西可洛伯(ganciclovir)、拉米五定(lamivudine)、發西可若伯(famciclovir)及佳西塔賓(zalcitabine)；(o)其他化合物，譬如5-胺基柳酸及其前體藥物，抗代謝物，譬如硝基咪唑硫嘌呤與6-巰基嘌呤，及細胞毒性癌症化學治療劑。本發明化合物對第二種活性成份之重量比，可以改變，且係依各成份之有效劑量而定。

通常，係使用每一種之有效劑量。因此，例如，當本發明化合物與NSAID併用時，本發明化合物對NSAID之重量比，一般範圍係為約1000：1至約1：1000，或者，從約200：1至約1：200。本發明化合物與其他活性成份之組合，通常亦在前述範圍內，但在各情況中，應使用各活性成份之有效劑量。

在治療癌症上，化學治療劑及/或其他治療法(例如放射療法)之組合經常是有利的。第二種(或第三種)藥劑可具有與主要治療劑相同或不同之作用機制。採用細胞毒性藥物組合可為特別有用，其中被投予之兩種或多種藥物係以不同方式或在細胞循環之不同階段中發生作用，及/或其中兩種或多種藥物具有重疊毒性或副作用，及/或其中被合併之藥物在治療藉由病患所明示之特定疾病狀態上各具有經証實之功效。

因此，於本文中所揭示之化合物(或於本文中所揭示之其他化學式)可併用其他抗癌與細胞毒劑及可用於治療癌症或其他增生疾病之治療法一起投藥。本文中之發明進一步包括本文中之化合物(或於本文中所揭示之其他化學式)於藥劑製備上之用途，該藥劑係用於治療癌症，及/或其包括本文化合物與說明書一起之包裝，該說明書係指示化合物可併用其他抗癌或細胞毒劑及用於治療癌症之治療法。本發明係進一步包括化合物與一或多種其他藥劑之組合，呈套件形式，例

如其中其係被包裝在一起，或置於欲被作為套件一起銷售之個別包裝中，或其中其係被包裝以被一起調配。

第二種(或多種)抗癌劑可選自下列之任一種或多種：

烷基化劑(包括氮芥末類、烷基磺酸鹽、亞硝基脲類、一氮參環衍生物及三氮烯類)；抗血管生成劑(包括間質金屬蛋白酶抑制劑)；抗代謝物(包括腺苷脫胺酶抑制劑、葉酸拮抗劑、嘌呤類似物及嘧啶類似物)；抗生素或抗體(包括單株抗體、CTLA-4抗體、蔥環素)；芳香酶抑制劑；

細胞循環回應改變劑；酵素；法呢基蛋白質轉移酶抑制劑；

激素與抗激素劑及類固醇(包括合成類似物、類皮質糖、雌激素/抗雌激素劑[例如SERM]、雄激素/抗雄激素劑、黃體製劑、黃體酮受體催動劑及促黃體生成激素釋出[LHRH]催動劑與拮抗劑)；似胰島素生長因子(IGF)/似胰島素生長因子受體(IGFR)系統調節劑(包括IGFR1抑制劑)；整合素發出訊息抑制劑；激酶抑制劑(包括多激酶抑制劑及/或Src激酶或Src/abl抑制劑、環素依賴性激酶[CDK]抑制劑、panHer、Her-1及Her-2抗體，VEGF抑制劑，包括抗-VEGF抗體，EGFR抑制劑、有絲分裂原活化蛋白質[MAP]抑制劑、MEK抑制劑、極光體激酶抑制劑、PDGF抑制劑及其他酪胺酸激酶抑制劑或絲胺酸/蘇胺酸激酶抑制劑；

微管瓦解劑，譬如也天西定(ecteinascidin)或其類似物及衍生物；微管安定化劑，譬如紅豆杉烷類與天然生成之艾波希酮(epothilone)及其合成與半合成類似物；

微管結合、去安定化劑(包括長春花植物鹼)；及

拓撲異構酶抑制劑；異戊烯基蛋白質轉移酶抑制劑；鉑配位錯合物；訊息轉導抑制劑；及其他作為抗癌使用之藥劑，以及細胞毒劑，譬如生物回應改變劑、生長因子及免疫調節劑。

此外，本發明化合物可其他治療劑一起調配或共同投藥，該其他治療劑係經選擇，針對其在尋求解決與前述症狀有關聯副作用上之特定實用性。例如，本發明化合物可與數種藥劑一起調配，以預防惡心、過敏性及胃刺激，譬如止吐藥，及H₁與H₂抗組胺藥。

上述其他治療劑，當與本發明化合物合併採用時，可例如以醫師之桌上參考資料(Physicians' Desk Reference) (PDR)中所指示之量使用，或如一般熟諳此藝者以其他方式所測得者。

此等化合物係以治療上有效量投予哺乳動物。所謂"治療上有效量"，係意謂本發明揭示內容之化合物當單獨或併用另一種治療劑對哺乳動物投藥時，有效預防或改善疾病狀態或疾病進展之量。

劑量與配方

本揭示內容之化合物可以口服劑量形式投藥，譬如片劑、膠囊(其每一個均包含持續釋出或按時釋出配方)、丸劑、粉末、顆粒、酏劑、酹劑、懸浮液、糖漿及乳化液。其亦可以靜脈內(大丸劑或灌注)、腹膜腔內、皮下或肌內形式投藥，全部均使用一般熟諳醫藥技藝者所習知之劑量形式。其可單獨投藥，但一般係與醫藥載劑一起投藥，根據所選定之投藥途徑及標準醫藥實務作選擇。

本發明化合物之劑量服用法，當然係依已知因素而改變，譬如特定藥劑之藥效特性及其投藥模式與途徑；接受者之物種、年齡、性別、健康狀況、醫療症狀及體重；病徵之性質與程度；共同治療之種類；治療頻率；投藥途徑，病患之腎與肝功能，及所要之作用。醫師或獸醫可決定及開立所需要藥物之有效量，以預防、抗衡或遏制病症之發展。

以下述作為一般指引，各活性成份之每日口服劑量，當用於所指示之作用時，其範圍係在約0.001至1000毫克/公斤體重之間，或在每天約0.01至100毫克/公斤體重之間，或者，在約1.0至20毫克/公斤/

天之間。靜脈內方式之劑量，在恒定速率灌注期間，係從約1至約10毫克/公斤/分鐘。本發明化合物可以單一日服劑量投藥，或總日服劑量可以每日二、三或四次之分離劑量投藥。於一項具體實施例中，活性成份之每日口服劑量係在3與600毫克之間，無論是每日投藥一次，或以分離劑量每日投藥兩次。或者，活性成份可以10-20毫克之劑量投予，每日投藥兩次，或以40至100毫克，每日投藥一次。或者，活性成份可一天兩次投予12.5毫克之劑量，或一天一次75毫克。或者，活性成份可以3, 10, 30, 100, 300及600毫克之劑量投予，一天投予無論是一次或兩次。

本發明化合物可以鼻內形式，經由局部使用適當鼻內媒劑，或經由經皮途徑，使用經皮之皮膚貼藥投藥。當以經皮傳輸系統形式投藥時，劑量投藥在整個劑量服用法中，當然是連續的，而非間歇性的。

此等化合物典型上係在與適當醫藥稀釋劑、賦形劑或載劑(於本文中總稱為醫藥載劑)混合下投藥，其係適當地針對所意欲之投藥形式作選擇，意即口服片劑、膠囊、酏劑、糖漿等，並與習用醫藥實務一致。

例如，對於呈片劑或膠囊形式之口服投藥而言，活性藥物成份可與口服、無毒性、藥學上可接受之惰性載劑合併，譬如乳糖、澱粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、磷酸二鈣、硫酸鈣、甘露醇、花楸醇等；對於呈液體形式之口服投藥而言，口服藥物成份可與任何口服、無毒性藥學上可接受之惰性載劑合併，譬如乙醇、甘油、水等。再者，當想要或必要時，亦可將適當黏合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑併入混合物中。適當黏合劑包括澱粉、明膠，天然糖類，譬如葡萄糖或 β -乳糖、玉米增甜劑，天然與合成膠質，譬如阿拉伯膠、西黃蓍樹膠或海藻酸鈉，羧甲基纖維素、聚乙二醇、蠟類等。

在此等劑量形式中使用之潤滑劑，包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、醋酸鈉、氯化鈉等。崩解劑係包括但不限於澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨土、三仙膠等。

本發明化合物亦可以脂質體傳輸系統形式投藥，譬如小單層狀泡囊、大單層狀泡囊及多層狀泡囊。脂質體可製自多種磷脂類，譬如膽固醇、硬脂基胺或磷脂醯膽鹼。

本發明化合物亦可與作為可成為標的藥物載體之可溶性聚合體偶合。此種聚合體可包括聚乙炔基四氫吡咯酮、吡喃共聚物、多羥基丙基甲基丙烯酸醯胺-酚、多羥基乙基天門冬胺醯胺酚或被棕櫚醯基殘基取代之聚氧化乙烯-聚離胺酸。再者，本發明化合物可偶合至可用於達成藥物受控釋出之生物可降解聚合體種類，例如聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸與聚乙醇酸之共聚物、聚 ϵ -己內酯、聚羥丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二氫吡喃、聚氰基醯化物及水凝膠之經交聯或兩性嵌段共聚物。

適用於投藥之劑量形式(醫藥組合物)，每劑量單位可含有約1毫克至約100毫克活性成份。在此等醫藥組合物中，活性成份通常係以約0.5-95重量%之量存在，以組合物之總重量為基準。

明膠膠囊可含有活性成份與粉末狀載劑，譬如乳糖、澱粉、纖維素衍生物、硬脂酸鎂、硬脂酸等。可使用類似稀釋劑，以製造壓縮片劑。片劑與膠囊可被製成持續釋出產物，以提供藥物之連續釋出，歷經數小時期間。壓縮片劑可經糖塗覆或薄膜塗覆，以掩蓋任何令人不愉快之味道及保護片劑隔離大氣，或經腸溶性物質塗覆，以在胃腸道中選擇性崩解。

供口服投藥之液體劑量形式，可含有著色與矯味劑，以增加病人接納性。

一般而言，水、適當油、鹽水、含水右旋糖(葡萄糖)及相關糖溶

液，以及二醇類，譬如丙二醇或聚乙二醇，係為非經腸溶液用之適當載劑。供非經腸投藥用之溶液，可含有活性成份之水溶性鹽，適當安定劑，及若必要時使用之緩衝物質。抗氧化劑，譬如亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉或抗壞血酸，無論是單獨或合併，係為適當安定劑。亦使用者為檸檬酸及其鹽類，以及EDTA鈉。此外，非經腸溶液可含有防腐劑，譬如氯化苄烷氧銨、對羥基苯甲酸甲酯或丙酯及氯丁醇。

適當醫藥載劑係描述於 *Remington* 氏醫藥科學，Mack 出版公司中，其係為此項領域中之標準參考書。

供本發明化合物投藥用之代表性有用醫藥劑量形式，可說明如下：

膠囊

大數目之單位膠囊可經由充填標準兩片式硬明膠膠囊而製成，各具有100毫克粉末狀活性成份、150毫克乳糖、50毫克纖維素及6毫克硬脂酸鎂。

軟明膠膠囊

可製備活性成份在可消化油譬如大豆油、棉籽油或橄欖油中之混合物，並利用正位移泵注入明膠中，以形成含有100毫克活性成份之軟明膠膠囊。此等膠囊應經洗滌並乾燥。

片劑

片劑可藉習用程序製成，因此劑量單位為100毫克活性成份、0.2毫克膠態二氧化矽、5毫克硬脂酸鎂、275毫克微晶性纖維素、11毫克澱粉及98.8毫克乳糖。可塗敷適當塗層，以增加可口性或延遲吸收。

可注射液

適合藉注射投藥之非經腸組合物可經由將1.5重量%活性成份在10體積%之丙二醇與水中攪拌而製成。溶液應以氯化鈉形成等滲性，及經滅菌。

懸浮液

可製備含水懸浮液以供口服投藥，因此各5毫升含有100毫克細分活性成份、200毫克羧甲基纖維素鈉、5毫克苯甲酸鈉、1.0克花楸醇溶液(美國藥典)及0.025毫升香草醛。

在本發明化合物與例如其他抗凝血劑合併之情況中，日服劑量可為每千克病人體重約0.1至100毫克式I化合物，與約1至7.5毫克第二種抗凝血劑。對片劑劑量形式而言，本發明化合物一般可以每劑量單位約5至10毫克之量存在，而第二種抗凝血劑之量為每劑量單位約1至5毫克。

在兩種或多種前述第二種治療劑與實例之化合物一起投藥之情況中，通常各成份在一典型日服劑量與典型劑量形式中之量，相對於當該藥劑單獨投藥時之常用劑量，鑒於治療劑在組合投藥時之加成或增效作用，可被降低。

特別是當以單一劑量單位提供時，在所合併之活性成份之間，存有化學交互作用之可能性。因此，當實例之化合物與第二種治療劑合併在單一劑量單位中時，其係經調配，以致雖然將活性成份合併在單一劑量單位中，但活性成份間之物理接觸係被降至最低(意即減少)。例如，可將一種活性成份以腸溶性物質塗覆。藉由腸溶性塗覆其中一種活性成份，則不僅能夠使所合併活性成份間之接觸降至最低，而且能夠控制其中一種此等成份在胃腸道中釋出，以致使其中一種此等成份不會在胃中釋出，而是在腸中釋出。其中一種活性成份亦可塗覆一種物質，其會在整個胃腸道中達成持續釋出，且亦用以使所合併活性成份間之物理接觸降至最低。再者，此持續釋出成份可另外經腸溶性物質塗覆，以致使此成份之釋出僅發生於腸中。又另一種途徑係涉及組合產物之調配，其中係將一種成份塗覆持續及/或腸溶性釋出之聚合體，而另一種成份亦塗覆聚合體，譬如低黏度級經丙甲基

纖維素(HPMC)或如此項技藝中已知之其他適當物質，以進一步分隔活性成份。此聚合體塗層係用以形成對於與另一種成份交互作用之額外障壁。

使本發明組合產物成份間之接觸降至最低之此等以及其他方式，無論是以單一劑量形式投藥或以個別形式但同時藉由相同方式投藥，一旦明瞭本發明揭示內容後，均將為熟諳此藝者所立即明瞭的。

此外，於本文中所揭示之某些化合物可作為其他化合物之新陳代謝產物使用。因此，於一項具體實施例中，化合物可無論是作為實質上純化合物使用，然後其亦可被併入醫藥組合物中，或可作為新陳代謝產物使用，其係於該化合物之前體藥物投藥後產生。於一項具體實施例中，化合物可經由使用於治療如本文中所述之病症，而作為新陳代謝產物使用。

於本文中使用之"實質上純"係意欲包括具有純度大於約90重量百分比之化合物，包括約90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99及100百分比。

以下述作為一項實例，於本文中所揭示之化合物可在具有純度大於約90百分比(重量比)下為實質上純，其中小於約10百分比之其餘物質包括化合物之其他新陳代謝產物，化合物之前體藥物，及/或由於其製備而發生之反應物及/或處理不純物。

顯然地，本發明之許多修正與變異，在明白上文陳述內容之後均為可能。因此，應明瞭的是，在隨文所附請求項之範疇內，本發明可按本文中所詳述，以其他方式實施。

活體內檢測與功效

N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺(亦被稱為"實例1")係在下述活體內檢測中評估，如下文所述。

段落1. 在獼猴屬猴子中，於皮內(ID) MCP-1激發之後，實例1會阻斷單核細胞添補至皮膚

MCP-1之皮內注射會造成單核細胞之浸潤至注射位置。此模式最初係經發展，以評估CCR2拮抗劑對於單核細胞之浸潤至以人類MCP-1所注射皮膚組織中之抑制作用。細胞浸潤可半定量地藉由組織學記分度量。

方法

使各猴子每日一次服用實例1或其媒劑對照物(0.05 N HCl)，歷經三天。將實例1在0, 5, 10或20毫克/公斤之劑量下，以經口方式投予4隻獼猴屬猴子之組群(每性別每組2隻)。於第3天服藥後，立即使所有動物接受2次10微克(50微升/注射)人類MCP-1 (R&D系統)之皮內注射，及2次其DPBS對照物(50微升/注射)之皮內注射，在背側胸部上之個別位置處。所有位置之真皮切片檢查均在MCP-1 (或DPBS)激發後大約18小時獲得。使切片檢查進行半定量組織學評估。皮膚試樣之代表性切片係藉由光學顯微鏡檢查法檢驗，注意微小損傷與細胞浸潤，並將其發生率以表列出。

除了切片檢查分析以外，係收集血液，並評估全血液計數與細胞差別。亦評估血漿試樣之化合物(與新陳代謝產物)濃度，與血清試樣之系統MCP-1含量。

結果

單核細胞回應MCP-1激發而添補至經媒劑處理對照動物之皮膚，係為顯著的(平均組織學評分為2.0，具有1-3之範圍，表10)。在5、10及20毫克/公斤下，實例1會抑制此真皮單核細胞浸潤，個別達75%、95%及95% (表10與圖20)。該化合物亦會阻斷其他細胞類型之浸潤，譬如嗜伊紅細胞與嗜中性白血球(表12)。實例1在18小時下之血漿濃度，及其與抑制程度及Cyno趨化性IC₉₀值之關係，係摘錄於表12

中。在cyno趨化性檢測中，以關於實例1之IC₅₀值7.1±2.7 nM為基準，5、10及20毫克/公斤劑量會在服藥後18小時下，造成自由血漿濃度為趨化性IC₉₀之0.8-、2.1-及4.3-倍(表12)。

表12

在獼猴屬猴子中實例1對於單核細胞及其他細胞類型回應MCP-1激發之浸潤之作用之摘述^{a,b}

劑量 (毫克/ 公斤)	自由血漿 濃度(nM)	趨化性IC ₉₀ 倍數	單核細胞 評分(範圍) (抑制%)	PMN ^c 評分 (範圍)	Eos ^d 評分 (範圍)	總細胞 評分 (範圍)
0	0	0	2.0 (1-3)(0%)	0.3 (0-1)	1.5 (0.5-3)	4.0 (2-6 ^e)
5	99	0.8	0.5 (0-1)(75%)	0.1 (0-0.5)	1.4 (1-2)	2.0 (1-3)
10	248	2.1	0.1 (0-0.5)(95%)	0.1 (0-0.5)	0.8 (0.5-1)	1.0 (0.5-2)
20	512	4.3	0.1 (0-0.5)(95%)	0 (0-0)	0.8 (0.5-1)	0.9 (0.5-1)

^a使用任意標定系統，從0至4，各數目代表炎性浸潤之特定指稱，如下：0，不顯著數目之炎性細胞；0.5，微量；1，最少；2，溫和；3，中等；4，顯著浸潤。

^b平均值為8個MCP-1位置活體組織切片之平均，代表2個各別活體組織切片，得自每組4隻猴子。範圍表示每隻動物2個活體組織切片之平均組織學評分之寬度。

^cPMN代表多形核細胞(嗜中性白血球)。

^dEos為嗜伊紅細胞之縮寫。

^e總評分為各細胞類型展現劑量回應之平均值之數學總和。

血清炎性介體上改變之評估，係顯示在實例1治療組中，相對於媒劑對照組，於MCP-1含量上之增加(大約3-4倍)。此外，全血液計數(CBC)分析顯示在實例1治療組中，相對於媒劑對照組，在服藥三天後，於第4天，在18小時下，於嗜中性白血球上之增加(~2-倍)。

為在更容易地可計量系統中精修實例1之劑量(濃度)回應，吾人係使用hCCR2 KI老鼠，以在使用流動細胞計數為基礎之操作法之巯基乙酸酯(TG)-所引致之腹膜炎模式中，評估實例1對於單細胞/巨噬細胞浸潤之作用。

段落2.在hCCR2 KI老鼠之48-小時TG腹膜炎模式中，實例1抑制單細胞/巨噬細胞浸潤

TG-所引致之腹膜炎模式已被使用作為單細胞/巨噬細胞添補至發炎位置之模式。自己進行及已發表之研究，已証實在此模式中之單細胞/巨噬細胞添補係為CCR2-依賴性。參閱Boring L.等人，在*C-C趨化因子受體2被剔除之老鼠中減弱之單細胞潛移與經降低之類型1 (Th1) 細胞活素回應*. J Clin Invest., 100(10): 2552-61. (1997)；與Kuziel, W.A.等人，在*缺乏CC趨化因子受體2之老鼠中嚴重降低白血球黏連性與單細胞外滲*. Proc Natl Acad Sci USA. 94(22): 12053-8 (1997)。

方法

關於48-小時TG腹膜炎研究，係一天兩次服用實例1，其中第一次服藥係在TG注射前一小時給予。總腹膜細胞計數係在經單離之細胞上，藉由細胞計數器獲得。於各研究結束時，亦自後眶竇收集血液於肝素中，供流動細胞計數法，及在EDTA中，供測定藥物濃度。

關於流動細胞計數分析，係將腹膜滲出物細胞(1×10^6)以FACS緩衝劑(PBS/0.5% BSA)洗滌一次，並再懸浮於FACS緩衝劑中。使細胞在冰上以Fc-阻斷抗體(BD Pharmingen)培養15分鐘，接著添加下列抗體(BD Pharmingen)：PE共軛抗-F4/80、FITC共軛抗-Ly6c及Alexa 647共軛抗-hCCR2。在冰上45分鐘後，使細胞在冰上藉由BD Cytofix固定，歷經15分鐘，以FACS緩衝劑洗滌兩次，並再懸浮於200微升FACS緩衝劑中。對於各試樣獲得細胞事件(40,000)，且數據係使用FloJo軟體(TreeStar)分析。設定FSC/SSC閘門，以包含所有單細胞(低

SSC, 較高FSC), 同時將粒性細胞排除於分析之外。然後, 將此選通之個體群分析Ly6C (FITC)、F4/80 (PE)表現。腹膜單細胞/巨噬細胞數目係以下述方式測定, 將藉由細胞計數器所獲得之總腹膜細胞計數, 與藉由得自流動細胞計數之F4/80⁺細胞所確認單細胞/巨噬細胞之百分比相乘。平均值間差異之統計意義係使用配對二尾式t試驗法分析, 具有被設定在P值低於0.05下之意義。

結果

實例1係在hCCR2 KI老鼠TG腹膜炎模式中評估, 以測定其在抑制單細胞/巨噬細胞浸潤上之EC50。老鼠係被投予巯基乙酸酯, 且在1, 25或100毫克/公斤下每天兩次(BID)經口服用實例1。TG治療後四十八小時, 獲得腹膜灌洗物, 以藉由流動細胞計數法供細胞浸潤分析。

為區別經添補之單細胞/巨噬細胞對留置之巨噬細胞與粒性細胞, 故F4/80與Ly6C單細胞/巨噬細胞表面標記物之染色, 係用以界定經添補之單細胞/巨噬細胞。發現單細胞/巨噬細胞浸潤上之劑量依賴性抑制(圖21)。1, 25, 100毫克/公斤之劑量係個別獲得24%, 74%及78%之抑制。在使用多劑量之三項個別研究中, 關於抑制單細胞/巨噬細胞浸潤, 藉此分析之平均EC50係被估計為3.9 nM。

為在hCCR2 KI老鼠之48-小時巯基乙酸酯腹膜炎模式中, 藉由實例1評估受體佔領之活體內含量, 故度量實例1與老鼠MCP-1兩者之血漿含量。對於此評估要注意的是, 僅CCR2及其主要配位體MCP-1被納入考量。於競爭性抑制劑存在下, 配位體之受體佔領係藉由Gaddum方程式界定:

$$\frac{[RL]}{[R]} = \frac{1}{1 + (K_d / [L]) (1 + [I] / K_i)}$$

由於實例1為MCP-1結合至CCR2之競爭性抑制劑, 故老鼠MCP-1/CCR2受體複合物與實例1/CCR2受體複合物兩者之量可使用老鼠

MCP-1與蛋白質-未結合實例1兩者在血漿中之血清含量測得。老鼠MCP-1結合至hCCR2之K_d為0.91 +/- 0.08 nM (n=8)，其係在冷競爭配位體結合實驗中，使用¹²⁵I-人類MCP-1測得。實例1結合至hCCR2之平均K_i為1.3 nM。老鼠MCP-1/CCR2受體複合物之分率係使用上述方程式之形式測定。為測定實例1/CCR2複合物之分率，該方程式係被再定義為：

$$\frac{[RI]}{[R]} = \frac{1}{1 + (K_i / [I]) (1 + [L] / K_d)}$$

最後，不含CCR2之量係測定自：

$$[CCR2]_{\text{總計}} = [CCR2]_{\text{不含}} + [\text{老鼠MCP-1/CCR2}] + [\text{實例1/CCR2}]$$

如表13中所示，在48小時下單細胞/巨噬細胞浸潤至腹膜中之抑制百分比，係反映出實例1/CCR2受體複合物之百分比。

表13

在48-小時TG腹膜炎模式中，實例1在hCCR2 KI老鼠血液中之活體內受體佔領之測定

劑量(毫克/公斤)	血漿中老鼠MCP-1之濃度(nM)	血漿中自由態實例1之濃度(nM) (IC90 CCR2結合倍數)	%老鼠MCP-1結合之CCR2	實例1-結合CCR2之%	%自由態CCR2	單細胞/巨噬細胞浸潤之%抑制 ^a
100	0.015	53 (1.8)	0.04	97.6	2.4	78
25	0.017	14 (0.5)	0.16	91.2	8.6	74
1	0.005	1.4 (0.05)	0.26	51.4	48.3	24
0 (媒劑)	0	0	0	0	100	0

段落3.慢性功效研究

實驗性自身免疫腦脊髓炎(EAE)

方法

為評估實例1對慢性疾病模式之作用，吾人係在hCCR2 KI老鼠中使用多發性硬化之EAE模式。為研究實例1對EAE之作用，故使用多

發性硬化之模式，每組10隻老鼠。於第0天，使hCCR2 KI老鼠以總共200微升在不完全Freund氏佐劑(IFA) (Sigma-Aldrich)中之300微克髓磷脂寡樹突膠質細胞糖蛋白(MOG) 35-55 (Genemed Synthesis)，以1：1與300微克結核分枝桿菌(H37Ra) (Becton-Dickinson)混合，以皮下方式免疫。於第0天(免疫作用後兩小時)與第2天，將老鼠以腹膜腔內方式注射100微升之400毫微克百日咳毒素。於第10天開始臨床記分，在整個研究中每週持續三次，且以0-5之尺度為基礎：0，沒有疾病跡象；0.5，部份尾部虛弱；1，下垂尾或搖擺步態與尾部緊張性；1.5，搖擺步態與尾部虛弱；2，搖擺步態與下垂尾(失調)；2.5 (失調與部份肢體癱瘓；3，一個肢體完全癱瘓；3.5，一個肢體之完全癱瘓與第二個肢體之部份癱瘓；4，兩個肢體之完全癱瘓；4.5，垂死；5，死亡。在25毫克/公斤與55毫克/公斤下口服實例1 (每天兩次)係於第1天起始。

結果

在兩種劑量下之實例1會降低臨床評分之曲線下方面積(AUC)達49% ($p < 0.05$) (圖22)。對於實例1，在 ^{125}I -老鼠MCP-1結合至hCCR2-表現細胞、hPBMC (模擬hCCR2 KI環境)上， IC_{50} 為3.7 nM。以此 IC_{50} 值為基準，25與55毫克/公斤劑量會造成自由血漿峰谷濃度為結合 IC_{90} 之~1-與3-倍。於第22天，脊髓之組織學評估，在以實例1對媒劑所治療老鼠之間，並未証實總炎性細胞浸潤上之顯著差異。顯著嗜中性白血球浸潤係被發現於以化合物治療之老鼠中。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種化合物於藥物製備上的用途，其中該化合物係N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺或其藥學上可接受之鹽，且該藥物係用於治療哺乳動物之腎臟疾病。
2. 如請求項1之用途，其中該化合物係N-((1R,2S,5R)-5-(第三-丁基胺基)-2-((S)-2-酮基-3-(6-(三氟甲基)喹啉-4-基胺基)四氫吡咯-1-基)環己基)乙醯胺或其藥學上可接受鹽之結晶型。
3. 如請求項2之用途，其中結晶型之特徵為實質上等於下列之單位晶胞參數：

晶胞尺寸：

$$a = 18.7240(4)$$

$$b = 8.0171(2)$$

$$c = 19.6568(5)$$

$$\alpha = 90$$

$$\beta = 114.935(2)$$

$$\gamma = 90$$

$$V(A^3) = 2675.7(1)$$

空間群P2₁2₁2₁

分子/單位晶胞2

其中該晶體係在約+22°C (RT)之溫度下。

4. 如請求項2之用途，其中結晶型之特徵為包含三個或更多個2 θ 值(CuK $\alpha\lambda$ = 1.5418Å)之粉末x-射線繞射圖樣，該2 θ 值係選自5.5, 9.1, 12.1, 14.0及19.2，在約22°C之溫度下。
5. 如請求項4之用途，其中結晶型之進一步特徵為包含四個或更多

個2 θ 值(CuK $\alpha\lambda$ = 1.5418Å)之粉末x-射線繞射圖樣，該2 θ 值係選自包括5.5, 9.1, 12.1, 14.0及19.2，在約22℃之溫度下。

6. 如請求項2之用途，其中結晶型之特徵為實質上如列示於下表中之部份原子座標。

Atom	X	Y	Z	Atom	X	Y	Z
N1	0.7824	1.3195	0.3238	C71	0.9289	1.4591	0.5167
N2	0.1685	0.3056	- 0.0178	H72	0.9378	1.4237	0.5668
H3	0.1633	0.1989	- 0.0196	H73	0.9764	1.4359	0.5102
N4	0.6223	0.8215	0.1887	C74	0.8719	1.7574	0.6080
N5	0.2627	0.4840	- 0.0849	C75	0.6719	1.2862	0.4846
N6	0.6868	0.9765	0.2943	H76	0.6246	1.2933	0.4390
H7	0.7030	0.9877	0.3420	H77	0.6814	1.3914	0.5103
N8	0.4185	0.9718	0.0742	H78	0.6660	1.2009	0.5162
N9	0.0989	0.0258	- 0.1003	C79	0.9173	1.6199	0.6639
N10	0.7913	1.3680	0.4754	H80	0.8851	1.5217	0.6541
H11	0.7826	1.4618	0.4918	H81	0.9305	1.6578	0.7142
N12	0.5331	0.6005	0.1813	H82	0.9647	1.5943	0.6584
N13	0.3353	0.7474	0.0475	C83	0.9176	1.9198	0.6225
H14	0.3028	0.6896	0.0583	H84	0.9680	1.8999	0.6220
N15	0.8501	1.6946	0.5311	H85	0.9252	1.9631	0.6707
N16	0.4567	1.1267	0.1887	H86	0.8887	1.9992	0.5842
O17	0.7470	1.1042	0.4435	C87	0.7960	1.7901	0.6131
O18	0.2114	0.7470	- 0.1165	H88	0.7660	1.8705	0.5758
O19	0.2229	0.5239	0.0583	H89	0.8064	1.8325	0.6620
O20	0.8588	1.0890	0.3360	H90	0.7667	1.6881	0.6048
F21	0.5881	0.9034	0.4961	C91	0.2069	0.3753	0.0494
F22	0.4828	0.7754	0.4659	C92	0.1886	0.3981	- 0.1294
F23	0.5874	0.6500	0.5199	H93	0.1617	0.4641	- 0.1751
C24	0.1049	- 0.1653	- 0.0049	C94	0.1345	0.3960	- 0.0889
H25	0.1473	- 0.2167	- 0.0125	H95	0.1249	0.5115	- 0.0787

Atom	X	Y	Z	Atom	X	Y	Z
H26	0.0773	- 0.2487	0.0097	C96	0.3636	0.8982	0.1612
H27	0.1257	- 0.0826	0.0338	C97	0.0560	0.3169	- 0.1396
C28	0.0052	- 0.2107	- 0.1371	H98	0.0300	0.3865	- 0.1836
H29	- 0.0334	- 0.1565	- 0.1806	H99	0.0226	0.3123	- 0.1131
H30	- 0.0204	- 0.2889	- 0.1178	C100	0.0655	0.1409	- 0.1647
H31	0.0423	- 0.2685	- 0.1506	H101	0.0138	0.0994	- 0.1999
C32	- 0.0102	0.0236	- 0.0618	C102	0.2651	0.6526	- 0.0801
H33	0.0176	0.1111	- 0.0276	C103	0.3727	0.8727	0.0930
H34	- 0.0371	- 0.0447	- 0.0399	C104	0.3129	0.8065	0.1831
H35	- 0.0478	0.0713	- 0.1077	H105	0.2826	0.7213	0.1525
C36	0.6347	0.8573	0.2590	C106	0.4090	1.0275	0.2081
C37	0.7956	1.1614	0.3094	C107	0.1998	0.2249	- 0.1544
C38	0.5429	0.6399	0.2526	H108	0.2268	0.1548	- 0.1108
C39	0.5969	0.8058	0.3661	H109	0.2321	0.2314	- 0.1820
H40	0.6303	0.8901	0.3943	C110	0.0479	- 0.0823	- 0.0781
C41	0.5928	0.7673	0.2949	C111	0.3943	0.5437	- 0.0102
C42	0.7174	1.0886	0.2543	H112	0.4319	0.5306	0.0416
H43	0.7243	1.0288	0.2140	H113	0.4226	0.5469	- 0.0417
C44	0.8437	1.4188	0.3806	C114	0.1202	0.1477	- 0.2041
H45	0.8919	1.4020	0.3733	H115	0.0955	0.2128	- 0.2496
C46	0.8266	1.6034	0.3730	H116	0.1283	0.0355	- 0.2179
H47	0.7791	1.6255	0.3797	C117	0.3076	0.8411	0.2485
H48	0.8177	1.6396	0.3230	C118	0.2292	0.2619	0.1158

Atom	X	Y	Z	Atom	X	Y	Z
C49	0.5524	0.7201	0.3942	H119	0.2846	0.2720	0.1469
C50	0.6668	1.2414	0.2237	H120	0.2172	0.1487	0.0989
H51	0.6690	1.2785	0.1776	H121	0.2001	0.2924	0.1441
H52	0.6125	1.2182	0.2137	C122	0.3349	0.4024	- 0.0337
C53	0.8609	1.3569	0.4595	H123	0.3502	0.3144	- 0.0588
H54	0.8773	1.2398	0.4636	H124	0.3290	0.3556	0.0092
C55	0.4991	0.5496	0.2836	C125	0.3458	0.7009	- 0.0200
H56	0.4668	0.4624	0.2569	H126	0.3682	0.7937	- 0.0371
C57	0.7010	1.3718	0.2841	C127	0.4561	1.0941	0.1233
H58	0.6975	1.4822	0.2628	H128	0.4859	1.1659	0.1085
H59	0.6744	1.3722	0.3171	C129	0.4030	1.0567	0.2762
C60	0.9137	1.6472	0.5099	H130	0.4339	1.1390	0.3084
H61	0.9621	1.7039	0.5438	C131	0.2548	0.7395	0.2713
C62	0.7404	1.2441	0.4666	C132	0.3536	0.9679	0.2955
C63	0.5039	0.5898	0.3526	H133	0.3500	0.9907	0.3403
H64	0.4747	0.5300	0.3726	F134	0.1847	0.7359	0.2156
C65	0.5722	0.6959	0.1556	F135	0.2364	0.8060	0.3220
H66	0.5642	0.6734	0.1065	F136	0.2859	0.5920	0.2960
C67	0.8949	1.7014	0.4308	F137	0.1977	0.8329	0.2710
H68	0.9412	1.6866	0.4211	F138	0.2168	0.6170	0.2301
H69	0.8818	1.8193	0.4256	F139	0.2934	0.6790	0.3395
C70	0.5532	0.7632	0.4678	H140	0.8280	1.7679	0.5060
				H141	0.1330	- 0.0400	- 0.1062

7. 如請求項2之用途，其中結晶型係具有實質上根據圖2之粉末x射線繞射圖樣。

圖式

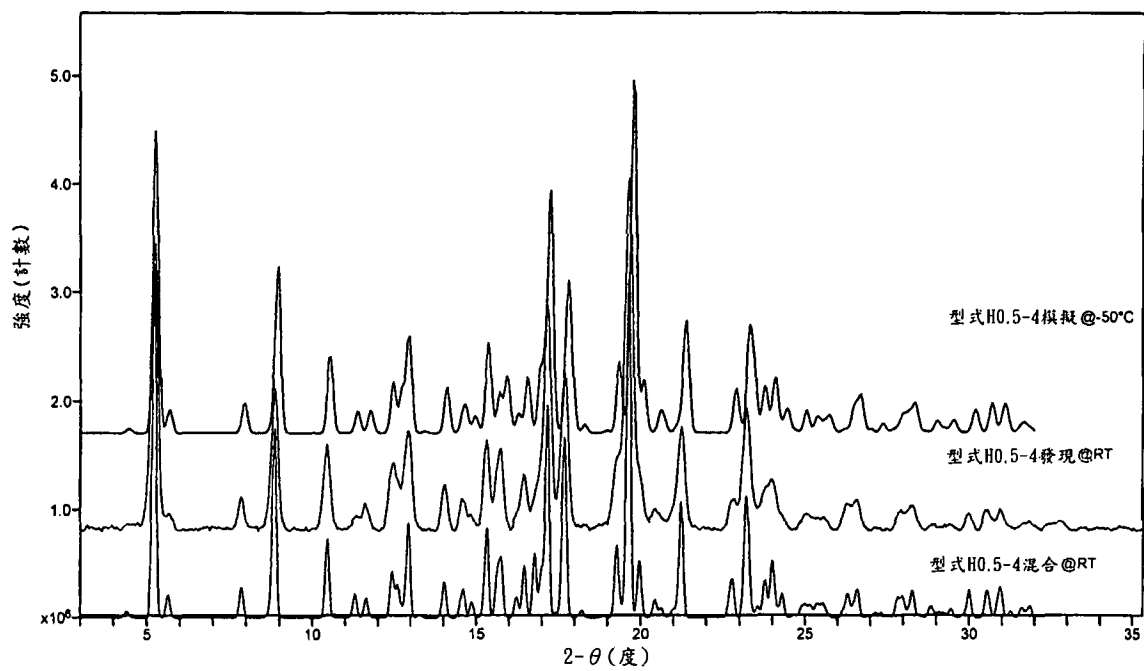


圖 1

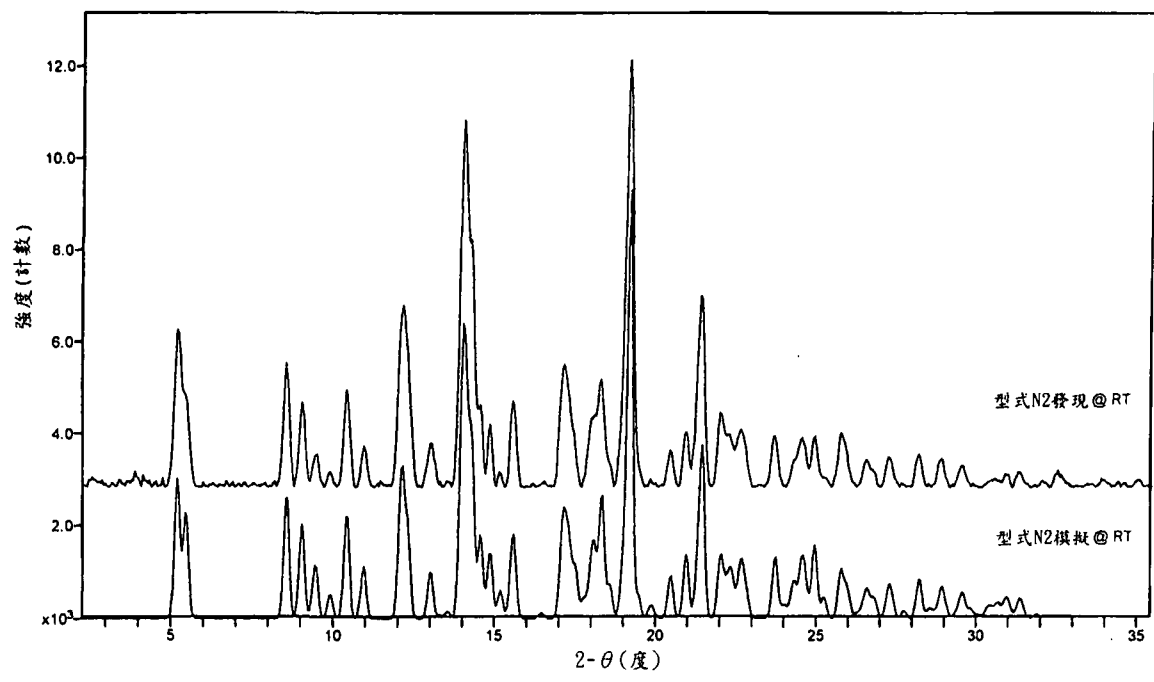


圖 2

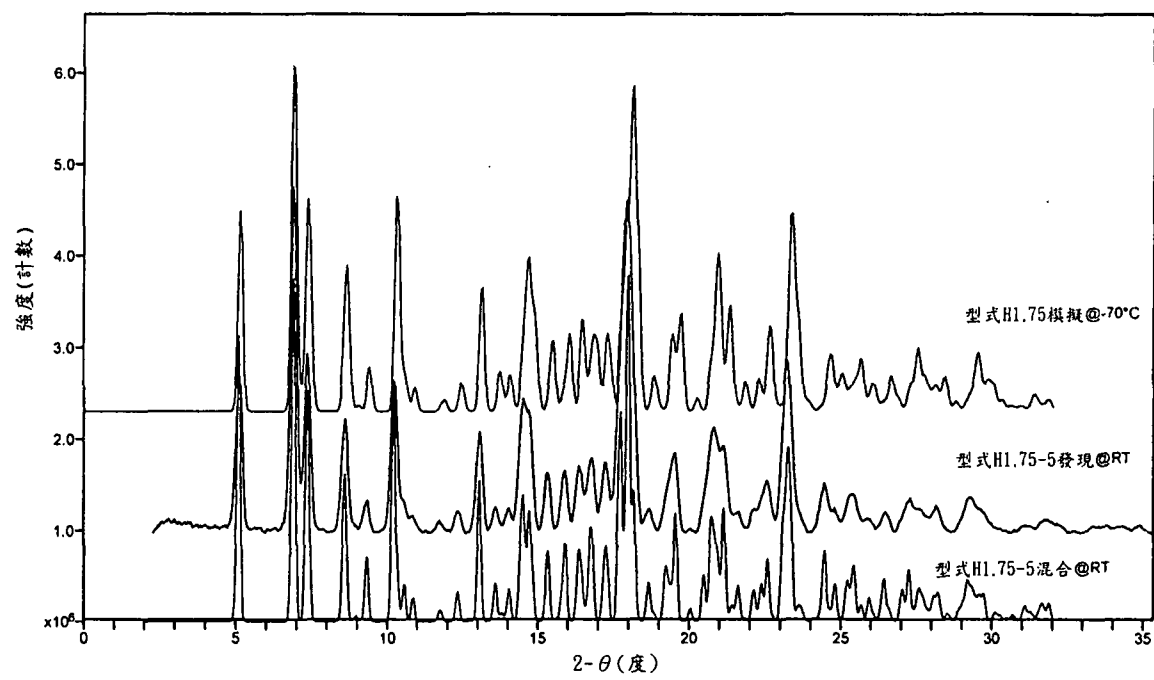


圖 3

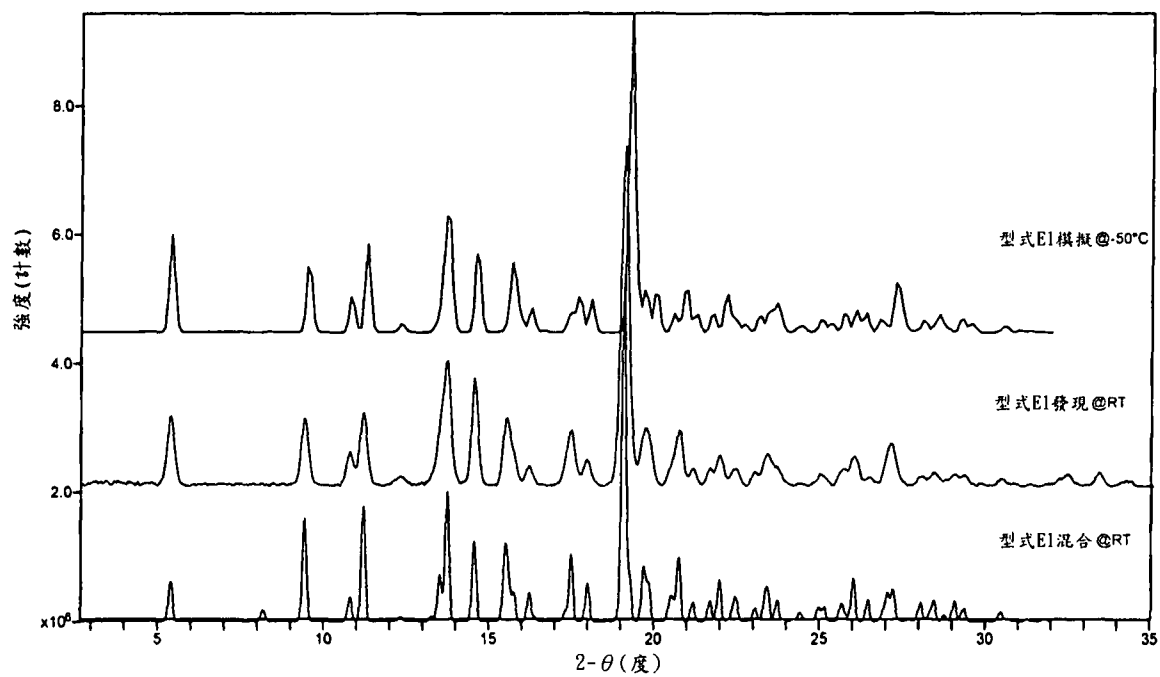


圖 4

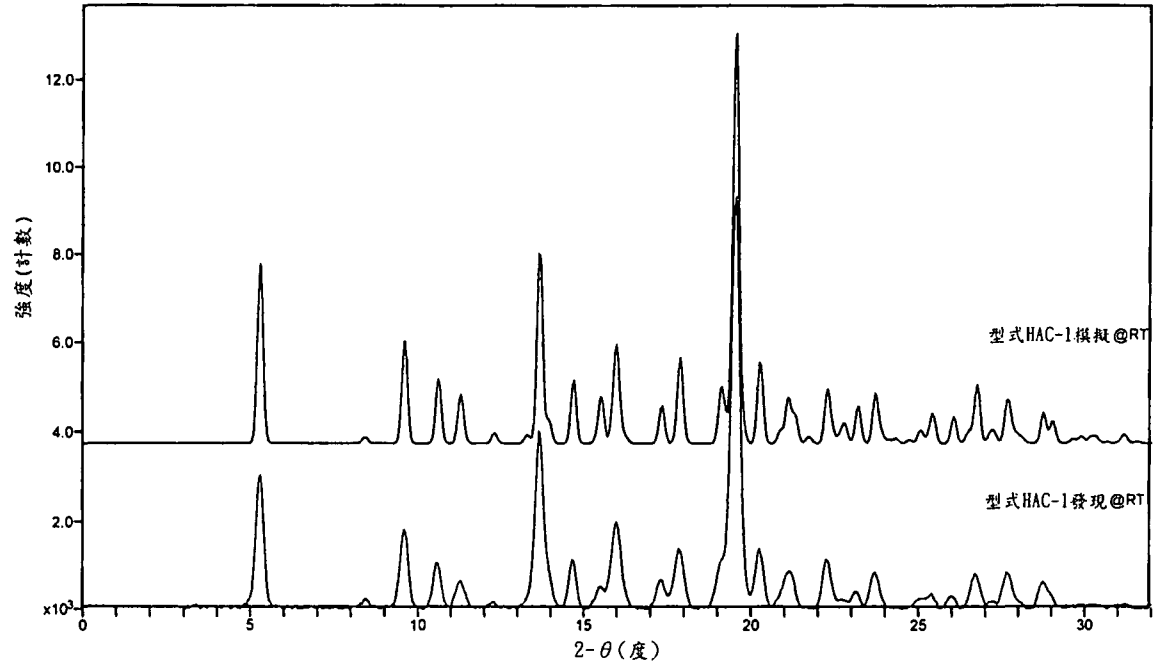


圖 5

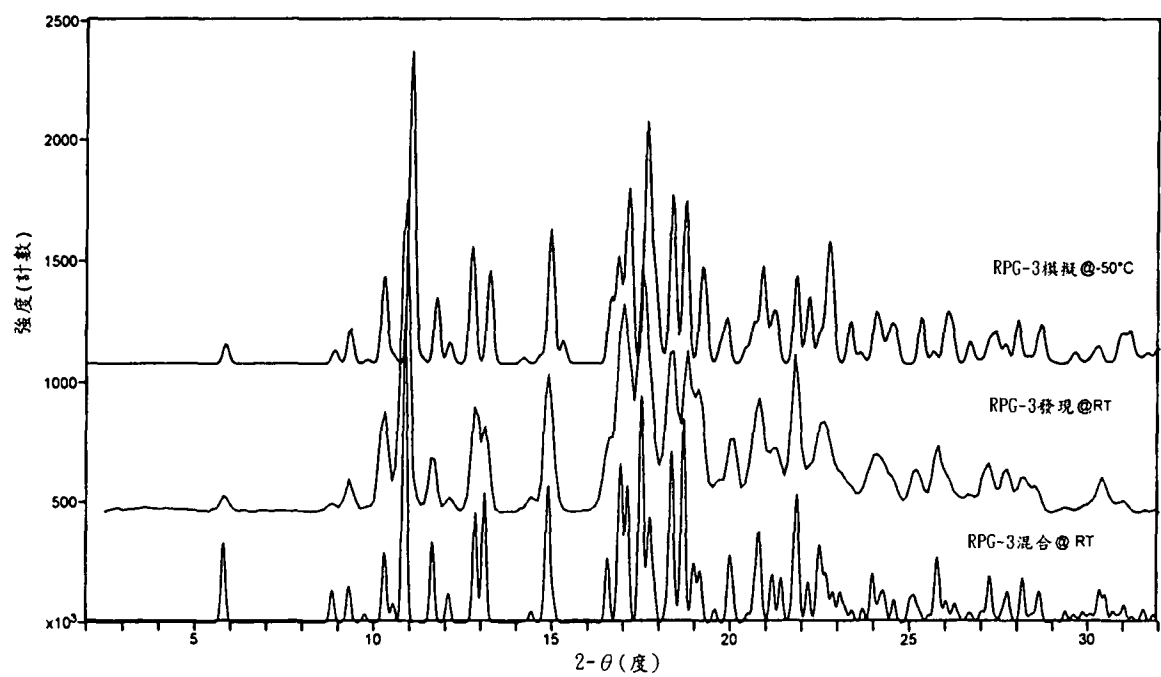


圖 6

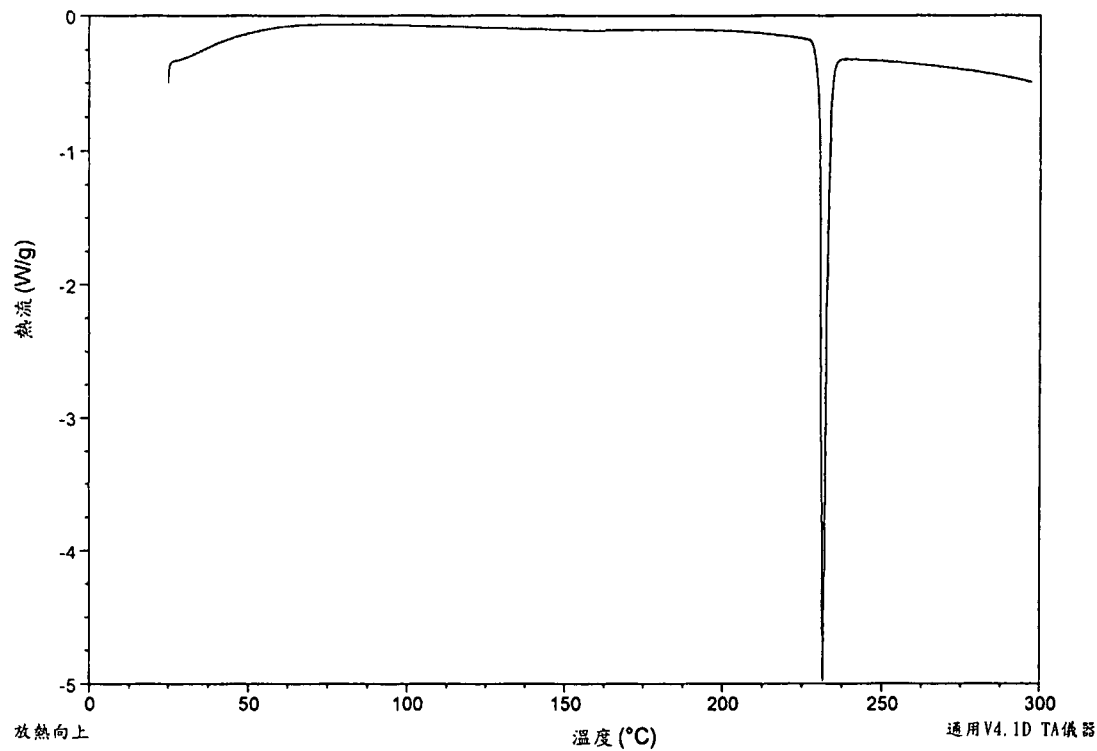


圖 7

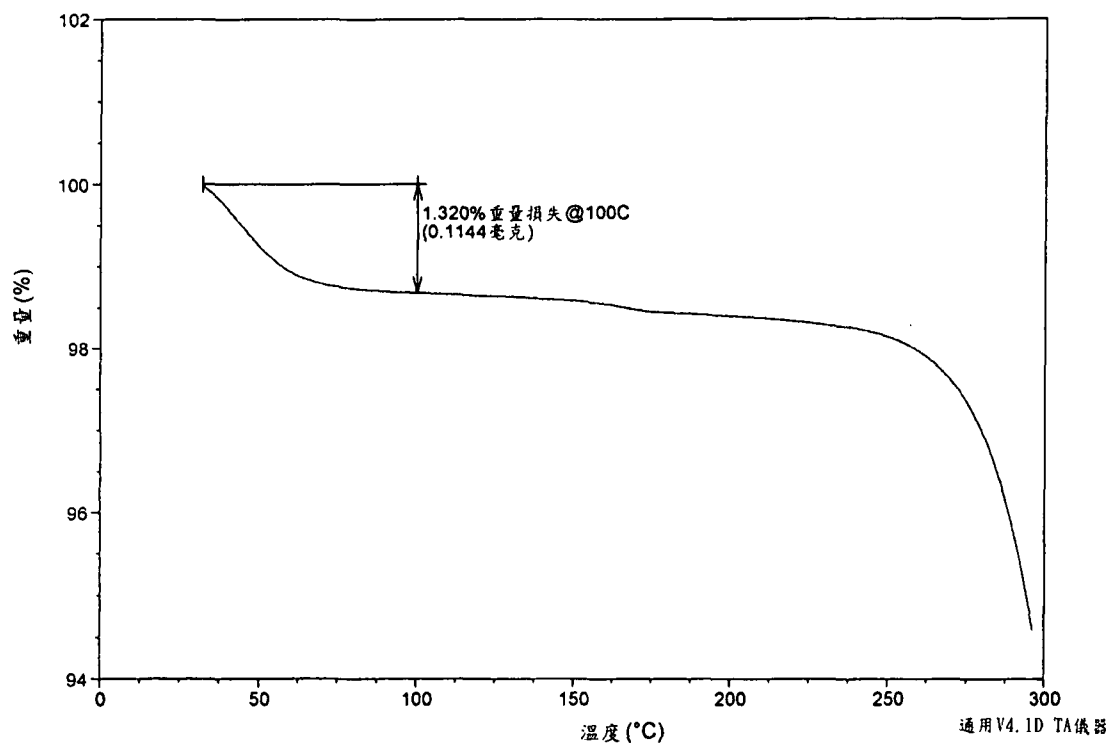


圖 8

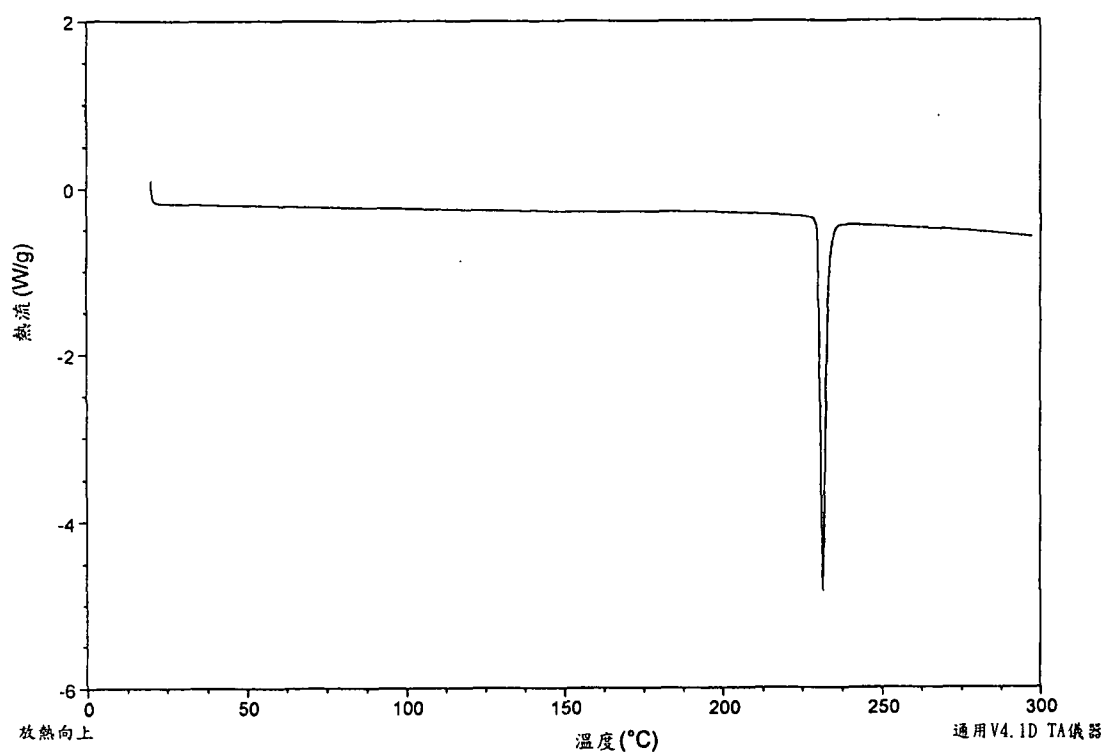


圖 9

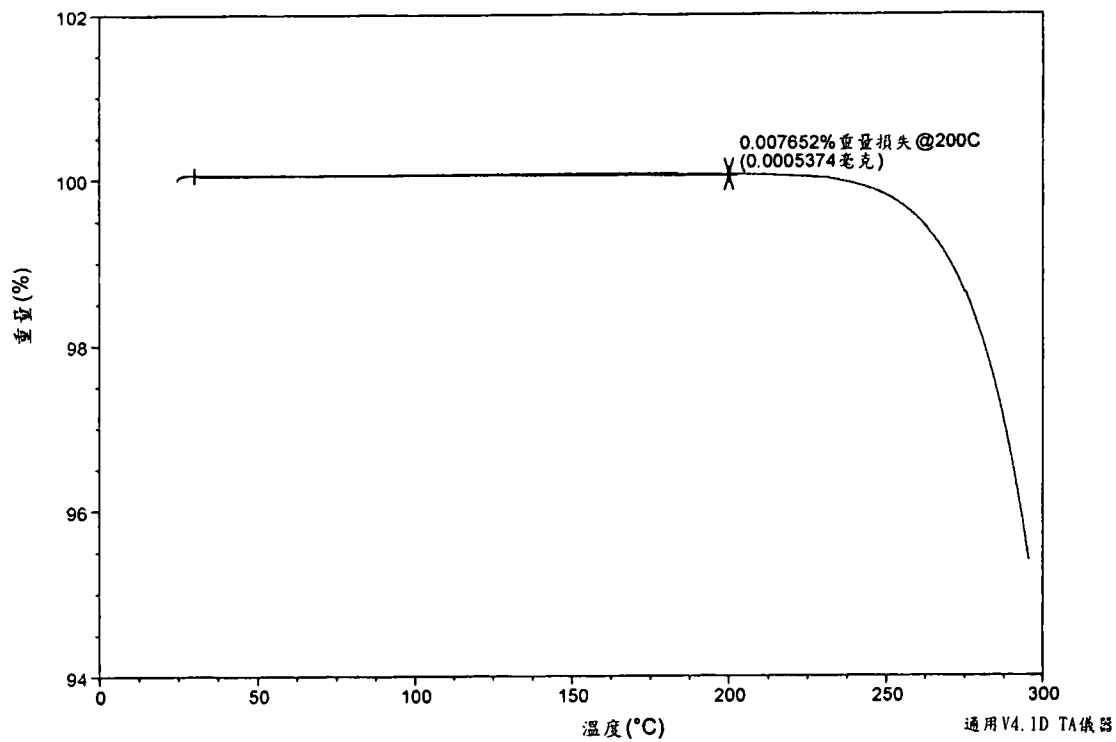


圖 10

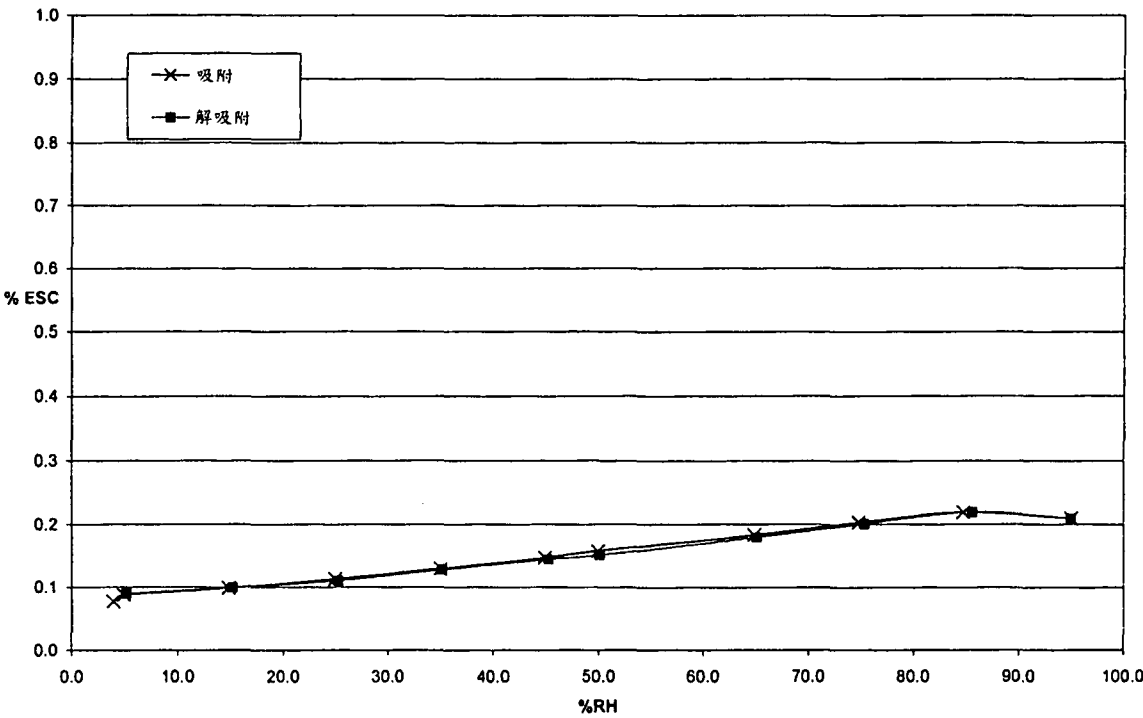


圖 11

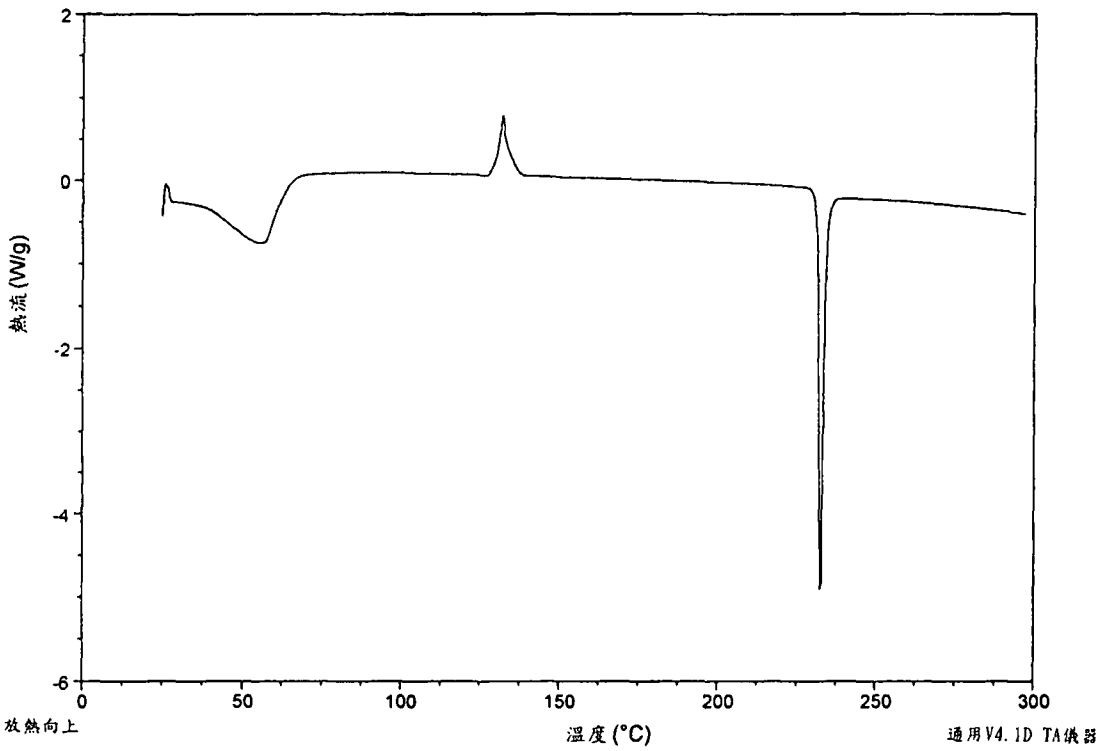


圖 12

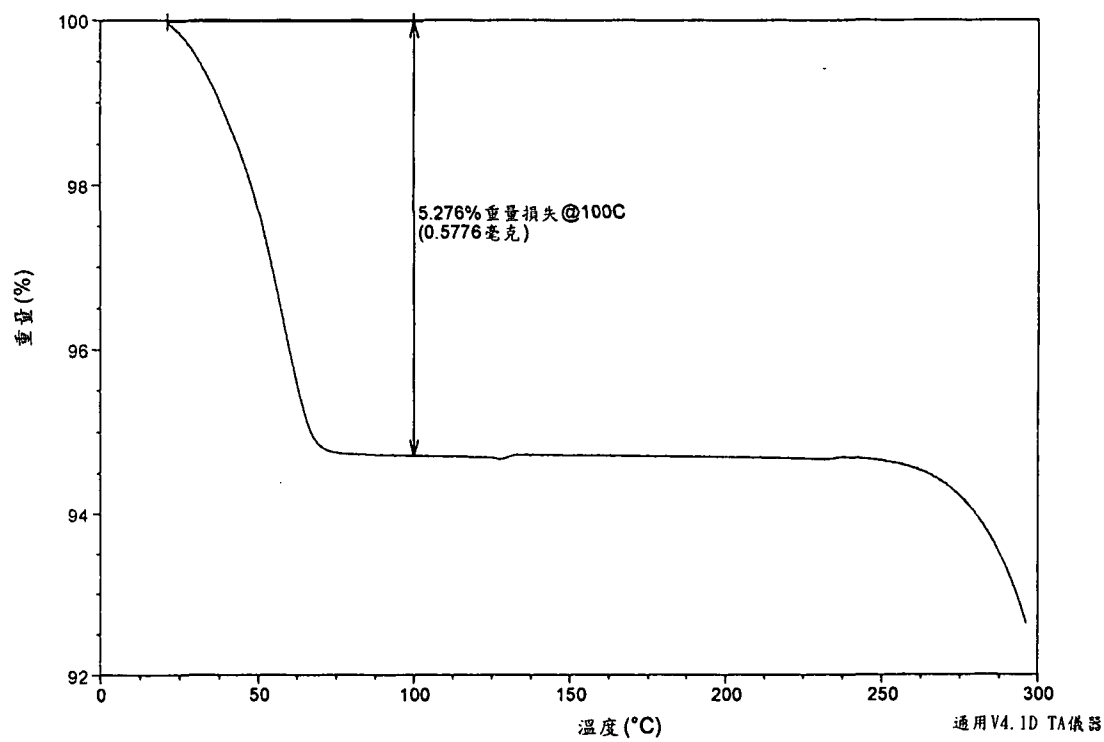


圖13

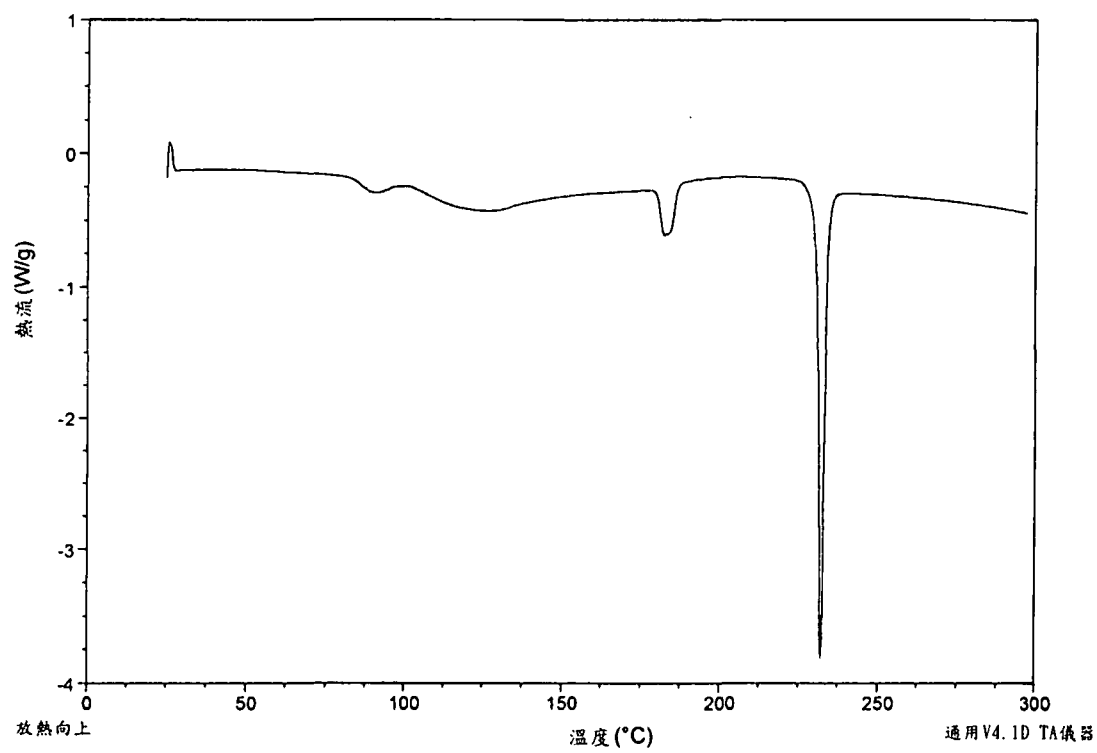


圖 14

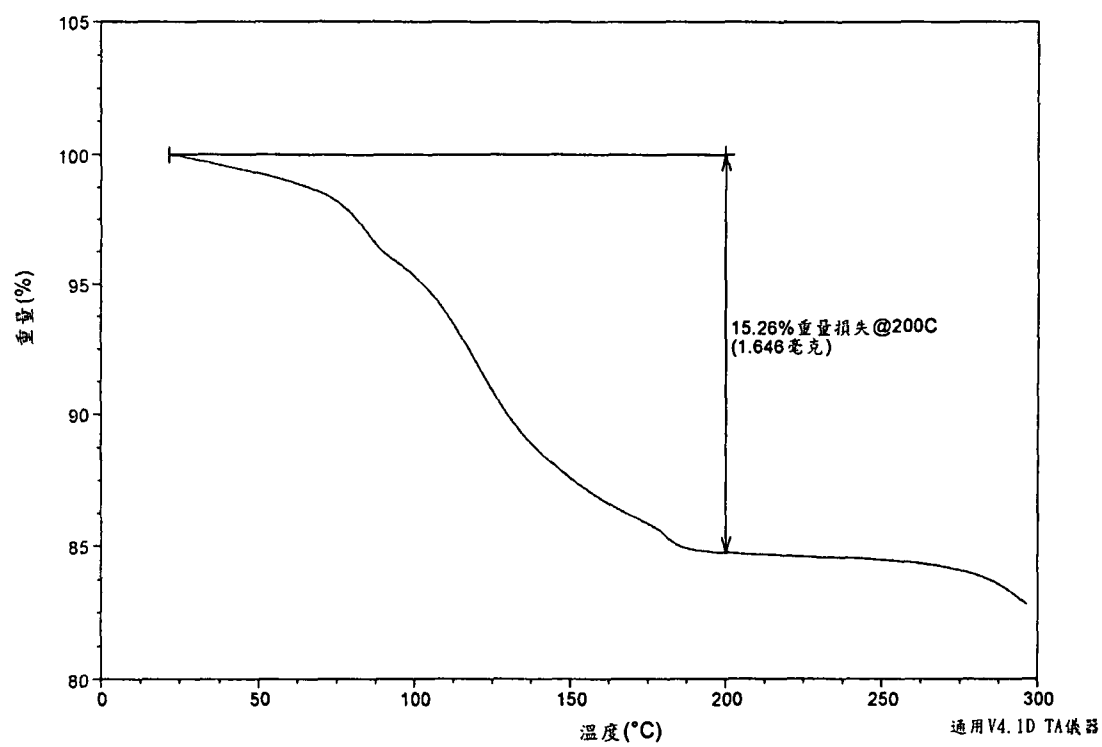


圖 15

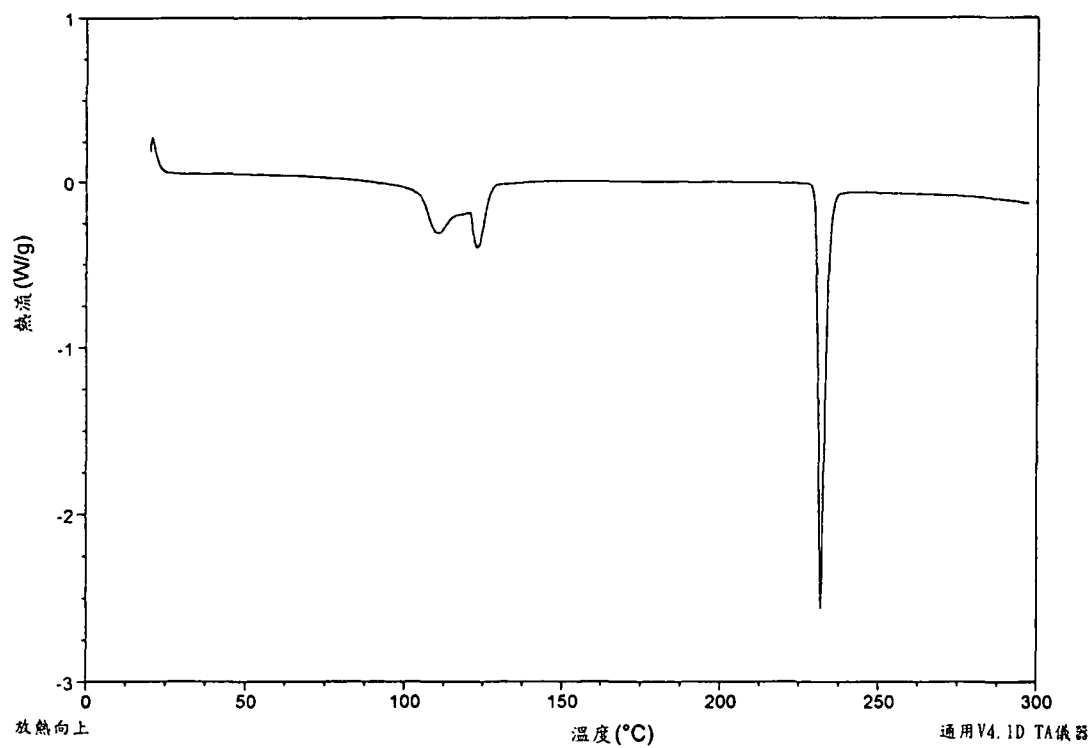


圖 16

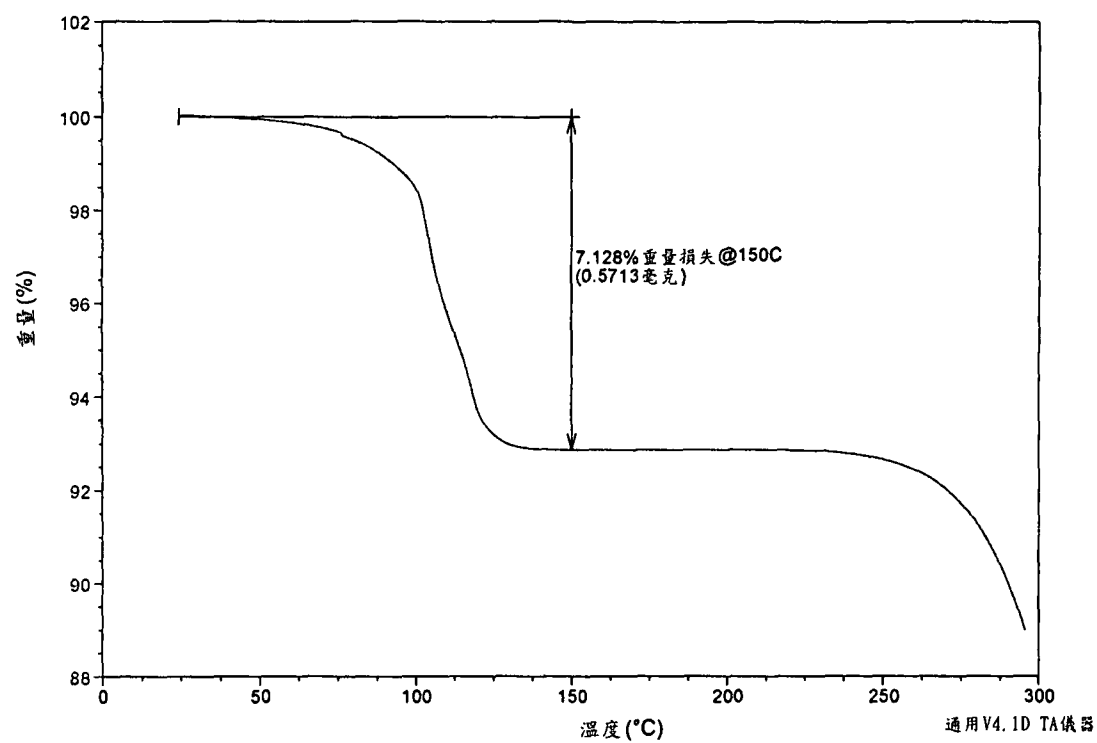


圖 17

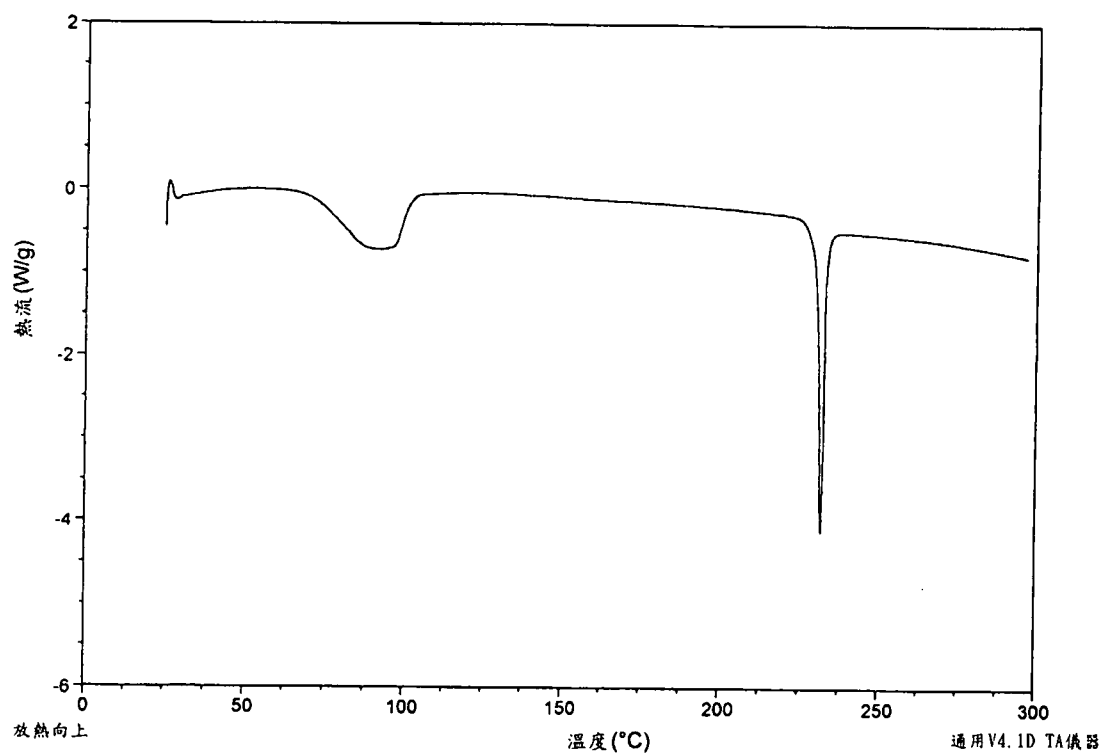


圖 18

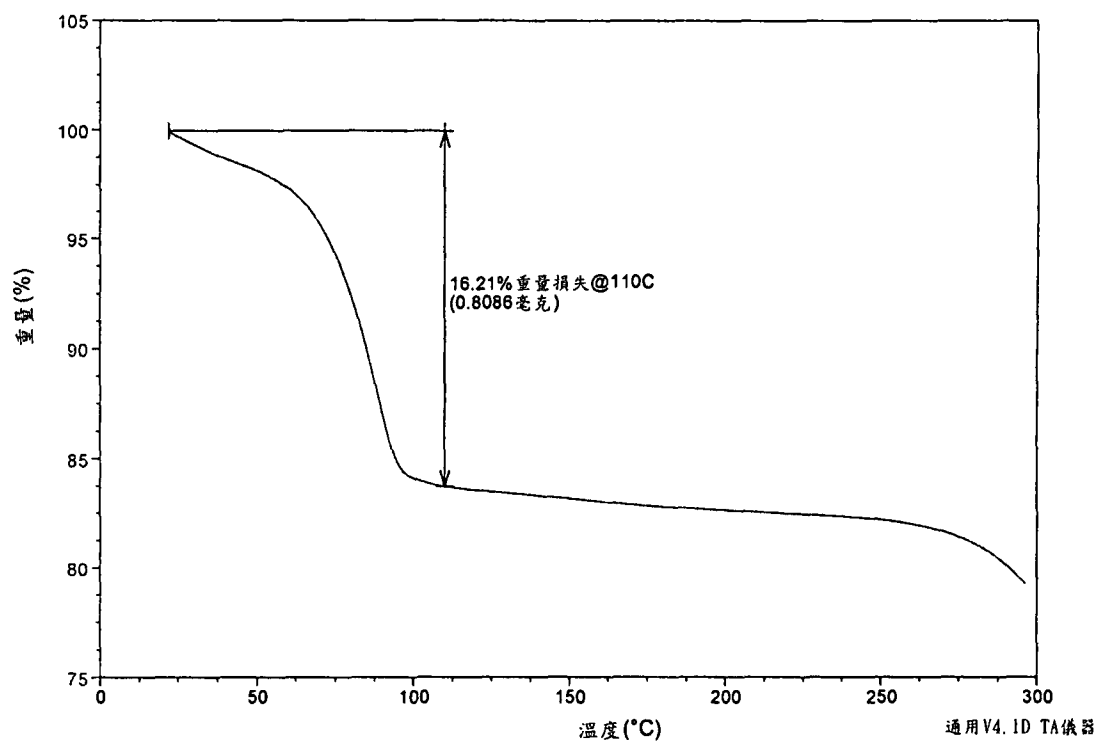


圖 19

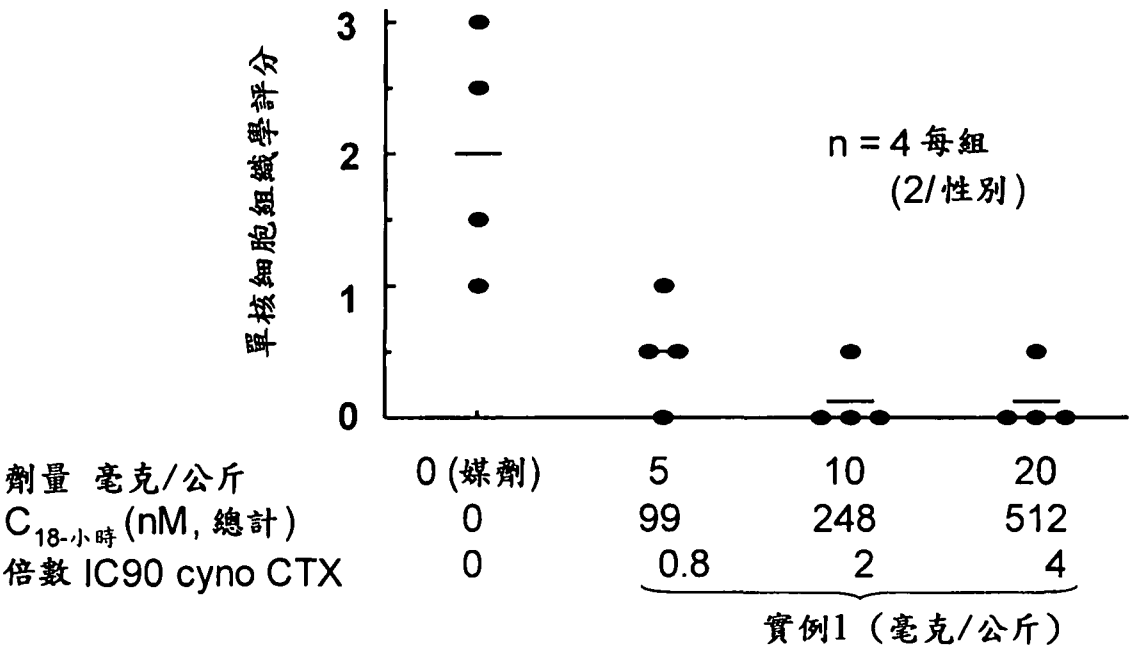


圖 20

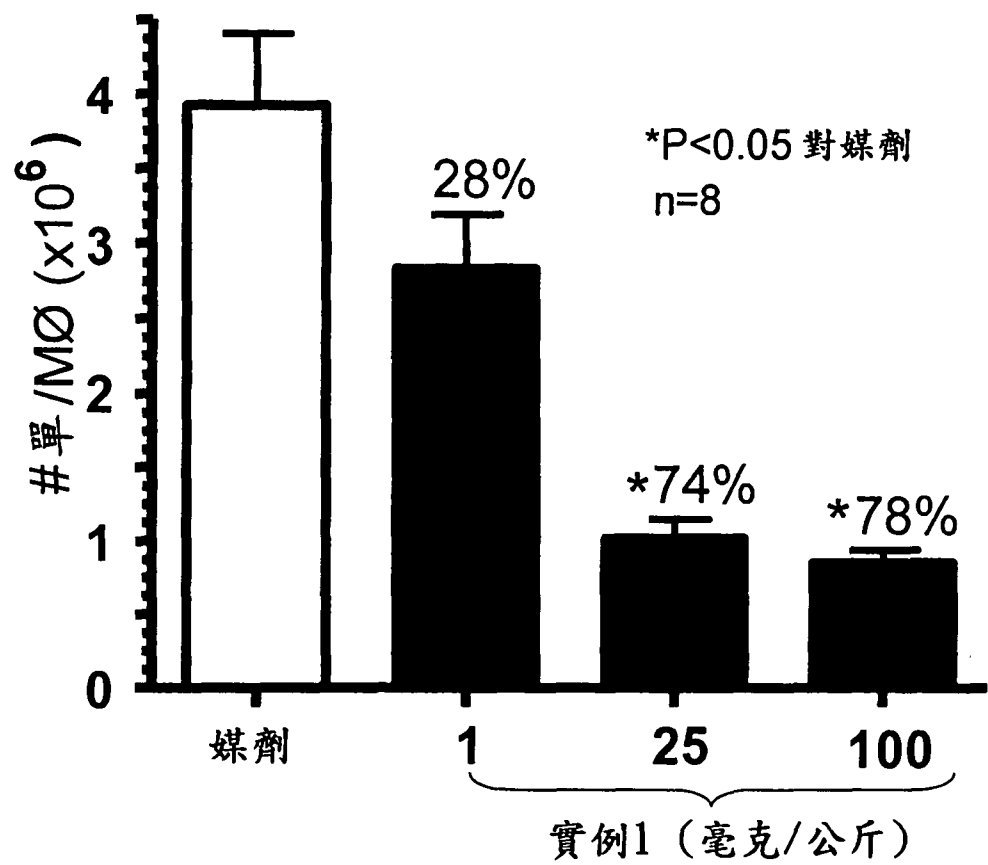


圖21

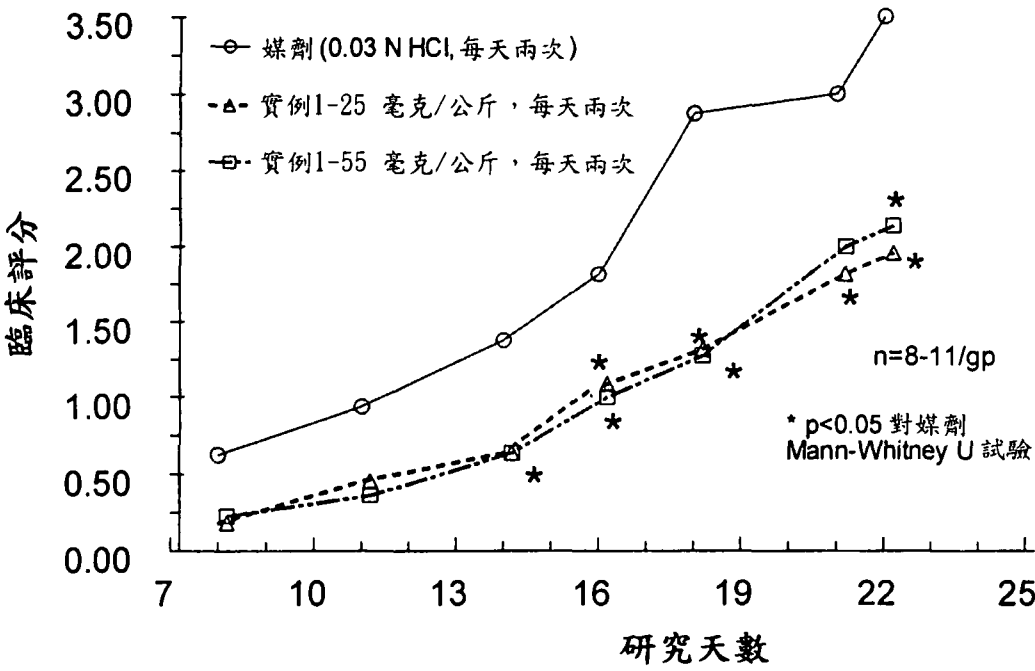


圖 22

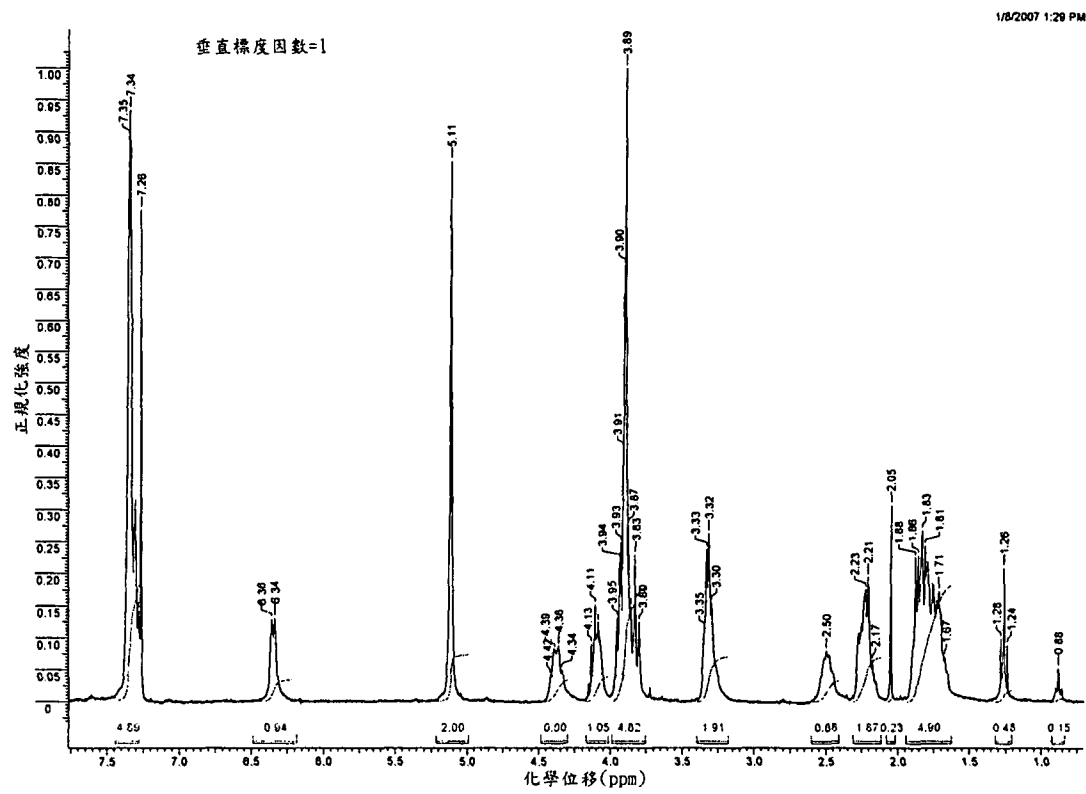


圖 23

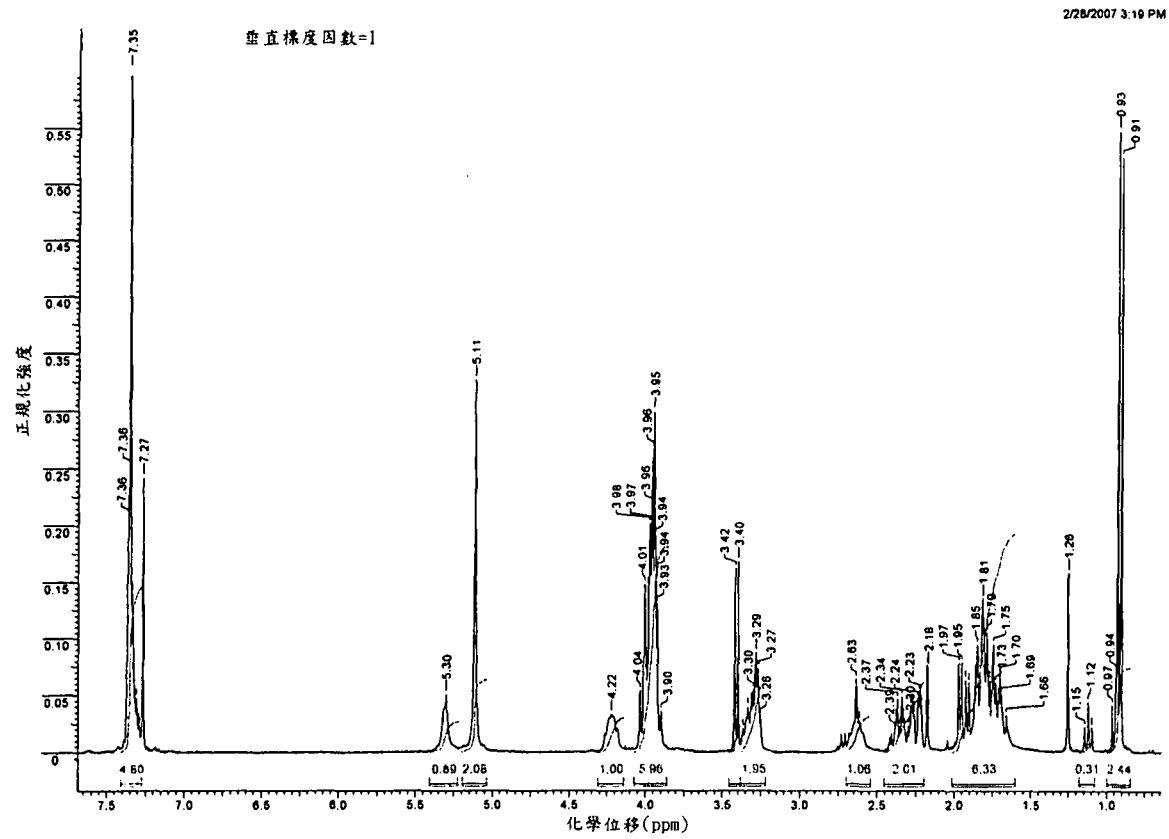


圖 24

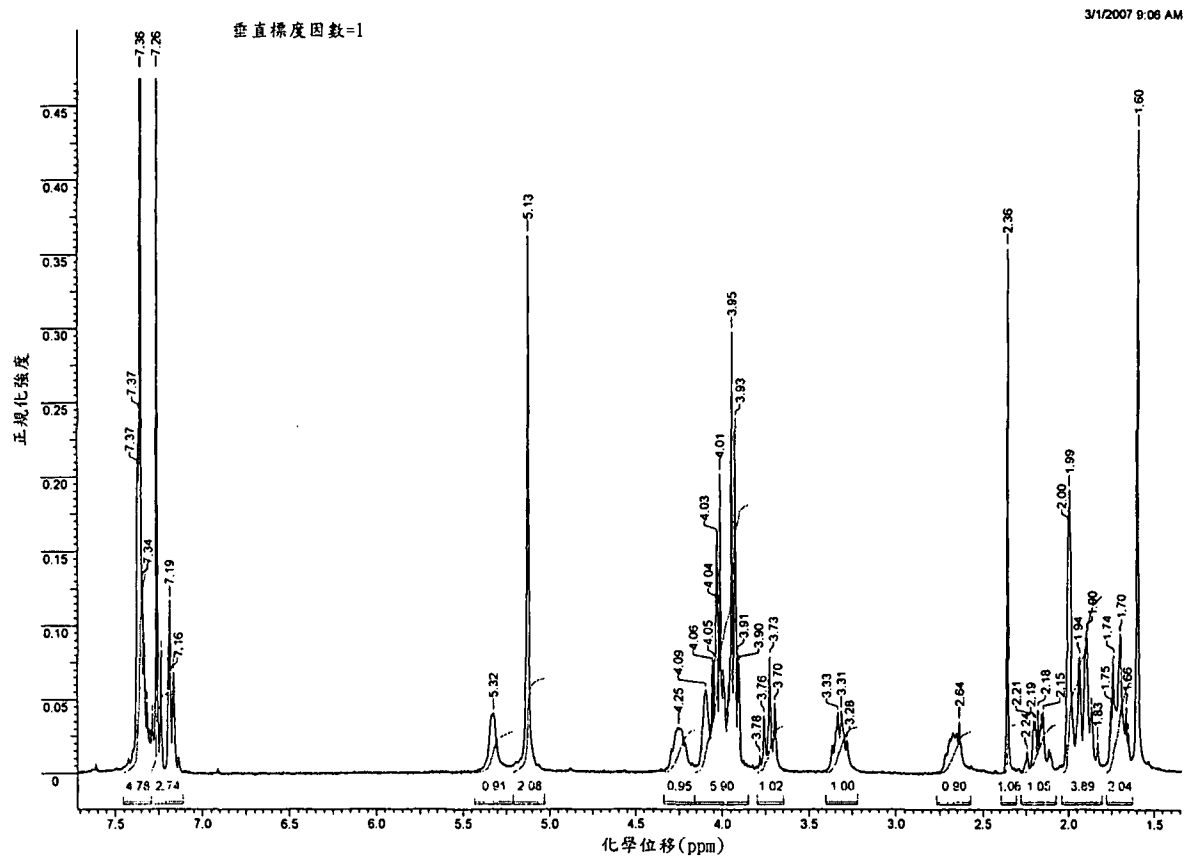


圖 25

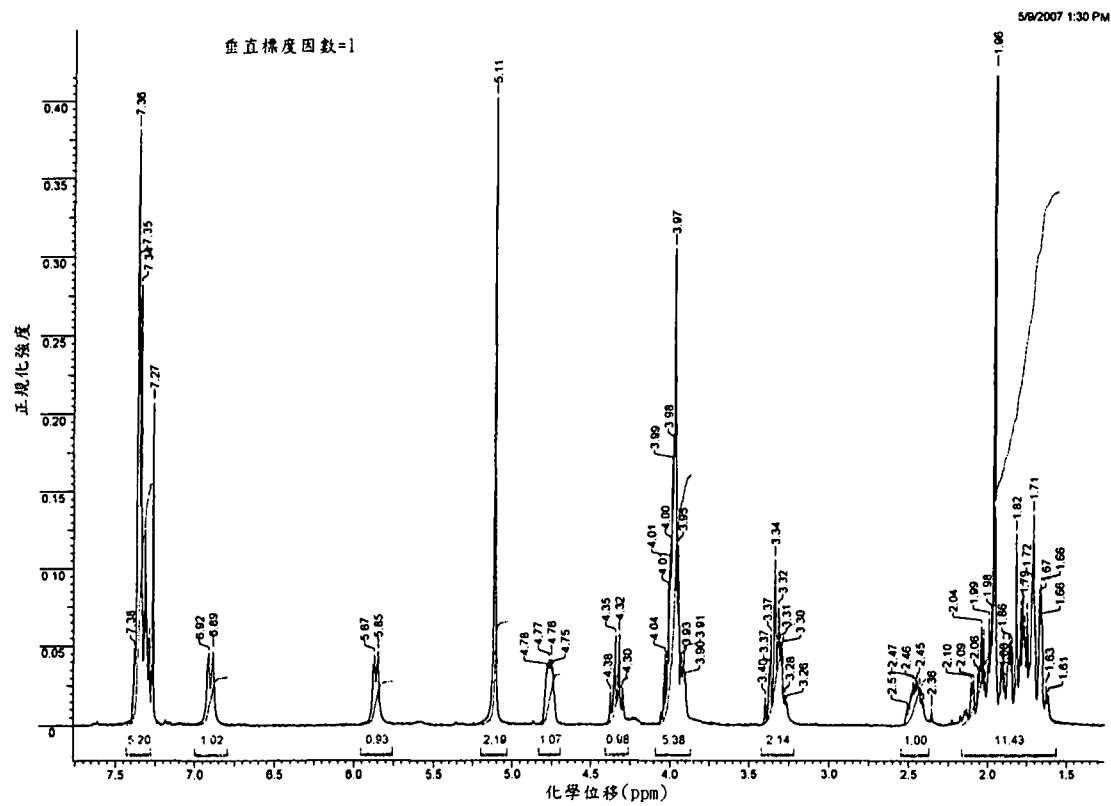


圖 26

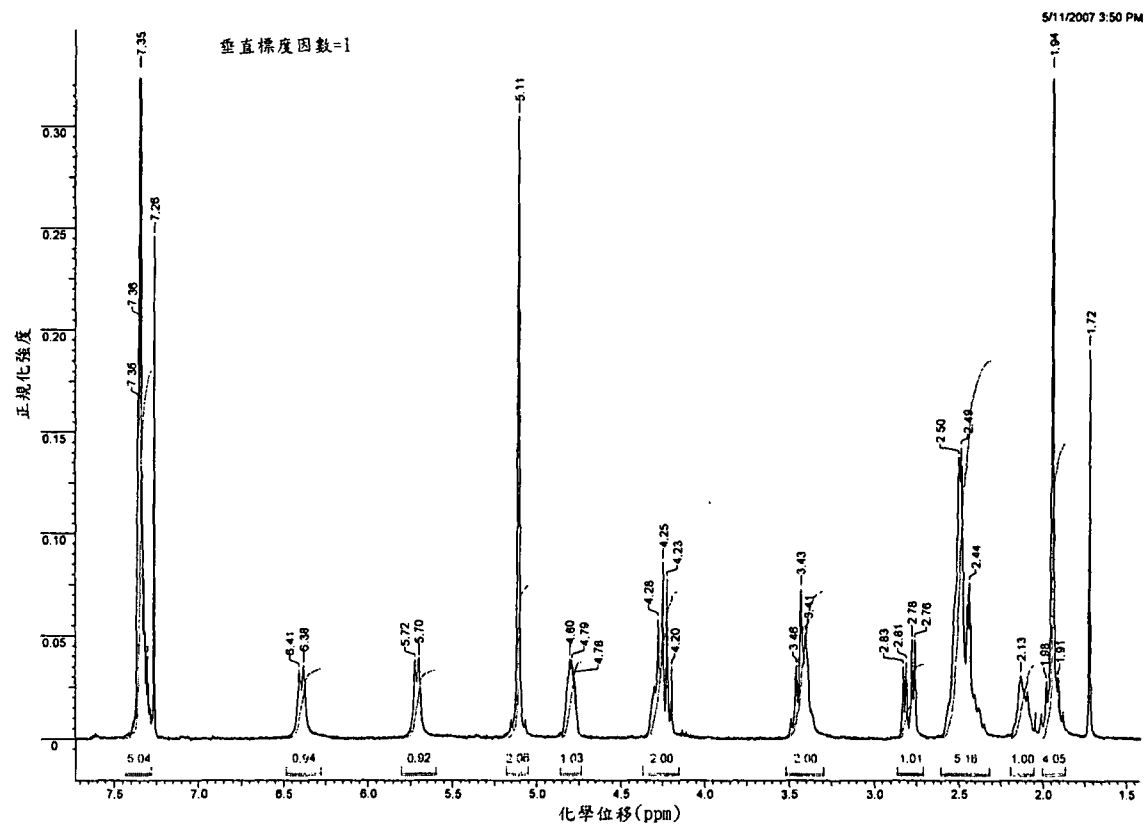


圖 27