



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102088976 B

(45) 授权公告日 2012. 12. 26

(21) 申请号 200980127403. X

(22) 申请日 2009. 05. 12

(30) 优先权数据

0808710. 8 2008. 05. 13 GB

0900563. 8 2009. 01. 14 GB

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 01. 13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/SE2009/050525 2009. 05. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02009/139708 EN 2009. 11. 19

(73) 专利权人 阿斯利康(瑞典)有限公司

地址 瑞典南泰利耶

专利权人 帕尔梅根治疗(协同)有限公司

(72) 发明人 理查德·布尔 罗南·福特

安德鲁·马瑟 安东尼奥·梅特

凯瑟琳·威利

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 陈桢

(51) Int. Cl.

A61K 31/439(2006. 01)

A61P 11/06(2006. 01)

A61P 11/08(2006. 01)

A61K 31/428(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2006048225 A1, 2006. 05. 11,

WO 2007018461 A1, 2007. 02. 15,

WO 2004096800 A2, 2004. 11. 11,

WO 9804517 A1, 1998. 02. 05,

WO 2007027134 A1, 2007. 03. 08,

审查员 肖西祥

权利要求书 2 页 说明书 55 页 附图 10 页

(54) 发明名称

包含毒蕈碱性受体拮抗剂和 β_2 -肾上腺素受体激动剂的药物产品

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗呼吸系统疾病诸如慢性阻塞性肺病和哮喘的药物产品、试剂盒或者组合物,所述药物产品、试剂盒或者组合物包含第一活性成分和第二活性成分,其中第一活性成分为选择的毒蕈碱性受体拮抗剂,以及第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

1. 一种药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为选自下述的毒蕈碱性拮抗剂:

(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂- y -二环[2.2.2]辛烷 X;

其中 X 表示一元酸或者多元酸的药用阴离子,以及所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

2. 权利要求 1 的药物产品,其中第一活性成分为毒蕈碱性拮抗剂,其为 2,5-二氯苯磺酸盐或者 1-羟基萘-2-磺酸盐。

3. 权利要求 1 的药物产品,其中第一活性成分为毒蕈碱性拮抗剂,其为 1-羟基萘-2-磺酸盐。

4. 权利要求 1 的药物产品,其中第一活性成分为毒蕈碱性拮抗剂,其为氢溴酸盐。

5. 权利要求 1 至 4 中任一项的药物产品,其中 β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗。

6. 权利要求 1 至 4 中任一项的药物产品,其中 β_2 -肾上腺素受体激动剂选自:

N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺,

N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺,和

7-[(1R)-2-({2-[(3-{[2-(2-氯苯基)乙基]氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮,或者它们的药用盐。

7. 权利要求 1 至 4 中任一项的药物产品,其中 β_2 -肾上腺素受体激动剂为 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)- β -氨基丙酰胺或者其药用盐。

8. 权利要求 1 的药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷 X,其中 X 表示一元酸或者多元酸的药用阴离子,以及所述第二活性成分为 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐。

9. 权利要求 1 的药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物,以及所述第二活性成分为 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐。

10. 权利要求 1 的药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物,以及所述第二活性成分为 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)- β -氨基丙酰胺或者其药用盐。

11. 权利要求 1 的药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活

性成分为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷 X, 其中 X 表示一元酸或者多元酸的药用阴离子, 以及所述第二活性成分为茚达特罗。

12. 权利要求 1 的药物产品, 其包含第一活性成分和第二活性成分的组合, 所述第一活性成分为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物, 以及所述第二活性成分为茚达特罗。

13. 权利要求 1 至 12 中任一项的药物产品在制备用于治疗治疗呼吸系统疾病的药物中的用途。

14. 权利要求 13 的用途, 其中呼吸系统疾病为慢性阻塞性肺病。

15. 一种试剂盒, 其包含

第一活性成分的制剂, 所述第一活性成分为如在权利要求 1 至 4 中任一项定义的毒蕈碱性受体拮抗剂, 和

第二活性成分的制剂, 所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂, 以及任选地说明书, 所述说明书指导对有所述需要的患者同时、先后或者分开给予所述制剂。

16. 一种药物组合物, 其包含呈混合物形式的第一活性成分和第二活性成分, 所述第一活性成分为如在权利要求 1 至 4 中任一项定义的毒蕈碱性受体拮抗剂, 以及所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

包含毒蕈碱性受体拮抗剂和 β_2 -肾上腺素受体激动剂的药物产品

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗呼吸系统疾病特别是慢性阻塞性肺病 (COPD) 和哮喘的药用活性物质的组合。

背景技术

[0002] 肺的本质功能要求一种脆弱的结构广泛暴露于包括污染物、微生物、变应原 (allergen) 和致癌物在内的环境中。起因于生活方式选择和遗传组成的相互作用的宿主因素影响了对这种暴露的响应。对肺的伤害或者感染能够产生广泛的呼吸系统的疾病 (或者呼吸系统疾病)。这些疾病中的多种具有巨大的公共卫生重要性。呼吸系统疾病包括急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、职业性肺部疾病、肺癌、结核、纤维化、尘肺 (pneumoconiosis)、肺炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病 (COPD) 和哮喘。

[0003] 最常见的呼吸系统疾病是哮喘。哮喘一般定义为气道的炎性病症,其临床症状是由间歇性气流阻塞引起的。其临床特征为喘鸣 (wheezing)、呼吸困难和咳嗽的发作。它是一种慢性衰竭性病症,其患病率和严重性似乎一直在增加。据估计在发达国家的人口中,15%的儿童和5%的成人患有哮喘。因此,治疗应当针对控制症状,以便正常的生活成为可能,与此同时为治疗根本性炎症提供基础。

[0004] COPD 术语表示能够干扰正常呼吸的一大类肺病。目前的临床准则将 COPD 定义为以不完全可逆的气流受限 (airflow limitation) 为特征的病症。气流受限通常既是进行性的,又与肺对有害颗粒和气体的异常炎性响应有关。这类颗粒和气体的最重要贡献来源至少在西方世界是吸烟。COPD 患者具有多种症状,包括咳嗽、呼吸短促和痰生成过多;这类症状来源于大量细胞区室 (包括嗜中性粒细胞、巨噬细胞和上皮细胞) 的功能障碍。COPD 涵盖的两种最重要的病症是慢性支气管炎和肺气肿。

[0005] 慢性支气管炎是支气管的长期炎症,导致粘液生成增加以及其它变化。患者的症状为咳嗽和咳痰。慢性支气管炎能够引起更频繁和更严重的呼吸系统感染、支气管变窄和堵塞、呼吸困难和能力丧失。

[0006] 肺气肿是影响肺泡和 / 或者最小支气管末梢的慢性肺疾病。肺丧失其弹性,因此肺的这些区域变得肿大。这些肿大的区域困住陈腐的气体,不会有效地与新鲜空气交换。这导致呼吸困难,并且可能导致对血液的供氧不足。肺气肿患者的主要症状是呼吸短促。

[0007] 用于治疗呼吸系统疾病的治疗药物包括 β_2 -肾上腺素受体激动剂。这些药物 (也称为 β_2 -激动剂) 可用于通过松弛支气管平滑肌、减少气道阻塞、减少肺充气过度 and 减少呼吸短促来缓解呼吸系统疾病的症状。当前在评价中的作为每日一次的 β_2 激动剂的化合物描述在 Expert Opin. Investig. Drugs 14(7), 775-783 (2005) 中。

[0008] 用于治疗呼吸系统疾病的另一类治疗药物是毒蕈碱性拮抗剂。毒蕈碱性受体为具有五个家族成员 M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 和 M_5 的 G 蛋白偶联受体 (GPCR)。在五个毒蕈碱性亚型中,已知三个 (M_1 、 M_2 和 M_3) 在人类肺组织上发挥生理效应。副交感神经是人体气道中反射性支气管

收缩的主要途径,并通过向毒蕈碱性受体释放乙酰胆碱来调节气道紧张性 (airway tone)。气道紧张性在患有呼吸系统病症诸如哮喘和慢性阻塞性肺病 (COPD) 的患者中有所增加,且因此已经开发毒蕈碱性受体拮抗剂以用于治疗气道疾病。毒蕈碱性受体拮抗剂在临床实践中通常称作抗胆碱能类。作为针对 COPD 个体的一线治疗,毒蕈碱性受体拮抗剂已经获得了广泛认可,且其用途已深入地阐述在有关文献中 (例如 Lee 等人, Current Opinion in Pharmacology 2001,1,223-229)。

[0009] 尽管使用 β_2 肾上腺素受体激动剂或者毒蕈碱性拮抗剂治疗可产生重要的益处,但这些药物的效能通常远不能令人满意。此外,鉴于呼吸系统疾病 (诸如哮喘和 COPD) 的复杂性,任何一种调节剂可令人满意地单独治疗这些疾病的情况是不可能的。因此,仍然存在着对于针对呼吸系统疾病诸如 COPD 和哮喘的新疗法的迫切的医学需要,特别是对具有疾病调节潜能的疗法的需要。

发明内容

[0010] 本发明提供了药物产品 (pharmaceutical product),其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为选自下述的毒蕈碱性拮抗剂:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0011] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(哒嗪-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0012] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0013] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0014] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0015] (R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0016] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;和

[0017] (R)-1-[(2-甲基-吡啶-4-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 X;

[0018] 其中 X 表示一元酸或者多元酸的药用阴离子,以及所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

[0019] 如果本发明的毒蕈碱性拮抗剂与 β_2 -肾上腺素受体激动剂作为组合使用,则在治疗呼吸系统疾病中可观察到有益疗效。当两种活性物质同时给药 (要么以单一药物制剂形式给药,要么经由分开的药物制剂给药) 或者经由分开的药物制剂先后或者分开给药时,可观察到有益的效果。

[0020] 本发明的药物产品可为例如包含呈混合物形式的第一活性成分和第二活性成分的药物组合物。可替换地,药物产品可为例如试剂盒 (kit),其包含第一活性成分的制剂和

第二活性成分的制剂,和任选的说明书,所述说明书指导对有所述需要的患者同时、先后或者分开给予所述制剂。

[0021] 在本发明的组合中的第一活性成分为选自下述的毒蕈碱性拮抗剂:

[0022] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

[0023] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(哒嗪-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

[0024] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

[0025] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

[0026] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

[0027] (R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;

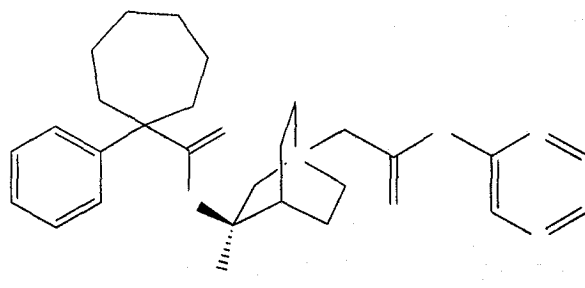
[0028] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X;和

[0029] (R)-1-[(2-甲基-吡啶-4-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 X,

[0030] 其中 X 表示一元酸或者多元酸的药用阴离子。

[0031] 本发明的毒蕈碱性拮抗剂为在同时待审的申请 PCT/GB2007/004350(WO2008/059245) 中所述的新类型化合物中选择的成员,它们显示了对 M3 受体的高效能。基于在实施例中描绘的结构以及根据 Cahn-Ingold-Prelogsystem 指明的立体化学,毒蕈碱性拮抗剂的命名为经 Beilstein Autonom 2000naming package 产生的 IUPAC 命名,由 MDL Information Systems Inc. 提供。例如,命名 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷由如下结构产生:

[0032]



[0033] 本发明的毒蕈碱性拮抗剂包含与在季铵氮原子上的正电荷相关的阴离子 X。阴离子 X 可为一元酸或者多元(例如二元)酸的任意的药用阴离子。在本发明的一种实施方案中, X 可为无机酸的阴离子,例如氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根离子、甲苯磺酸根离子、乙二磺酸根离子(乙-1,2-二磺酸根离子)、羟乙磺酸根离子(2-羟基乙基磺酸根离子)、硝酸

根离子或者磷酸根离子；或者适当的有机酸的阴离子，例如乙酸根离子、马来酸根离子、富马酸根离子、枸橼酸根离子、乳酸根离子、草酸根离子、油酸根离子、琥珀酸根离子、酒石酸根离子、甲磺酸根离子、对甲苯磺酸根离子、苯磺酸根离子、萘二磺酸根离子（萘-1,5-二磺酸根离子）（例如半萘二磺酸根离子）、马来酸根离子（(Z)-3-羧基-丙烯酸根离子）、琥珀酸根离子（3-羧基-丙酸根离子）、苹果酸根离子（(S)-3-羧基-2-羟基-丙酸根离子）、对乙酰氨基苯甲酸根离子、2,5-二氯苯磺酸根离子、1-羟基-2-萘甲酸根离子（昔萘酸根离子（xinafoate））或者 1-羟基萘-2-磺酸根离子。

[0034] 在本发明的一种实施方案中，毒蕈碱性受体拮抗剂选自：

[0035] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷溴化物；

[0036] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷氯化物；

[0037] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷 1-羟基-萘-2-磺酸盐；

[0038] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷 2,5-二氯苯磺酸盐；

[0039] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐；

[0040] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(哒嗪-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷溴化物；

[0041] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物；

[0042] (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物；

[0043] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷溴化物；

[0044] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷氯化物；

[0045] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐；

[0046] (R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物；

[0047] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓二环 [2.2.2] 辛烷氯化物；和

[0048] (R)-1-[(2-甲基-吡啶-4-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物。

[0049] 在本发明的一种实施方案中，毒蕈碱性受体拮抗剂为溴化物或者萘二磺酸盐的形式。

[0050] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为萘二磺酸盐的形式。当毒蕈碱性拮抗剂为萘二磺酸盐时,阳离子/阴离子比例可改变,且例如可为 1:1 或者 2:1 或者介于 1:1 和 2:1 之间的比值。

[0051] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为萘二磺酸盐的形式,其中萘二磺酸盐的阳离子/阴离子比例为 2:1,即半萘二磺酸盐。该实施方案的毒蕈碱性拮抗剂的实施例包括:

[0052] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐;和

[0053] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0054] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为 2,5-二氯苯磺酸盐或者 1-羟基萘-2-磺酸盐的形式。

[0055] 该实施方案的毒蕈碱性拮抗剂实施例包括:

[0056] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 1-羟基-萘-2-磺酸盐;和

[0057] (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷 2,5-二氯苯磺酸盐。

[0058] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为氢溴酸盐(bromidesalt)的形式。

[0059] 在本发明的组合中的第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。本发明的 β_2 -肾上腺素受体激动剂可为能够激活 β_2 -受体且起到支气管扩张剂的作用的任意化合物或者物质。在本说明书的上下文中,除非另作说明,任意与 β_2 -肾上腺素受体激动剂相关的物质包括可由所述 β_2 -肾上腺素受体激动剂形成的活性盐、溶剂化物或者衍生物以及任意的对映异构体和它们的混合物。 β_2 -肾上腺素受体激动剂的可能的盐或者衍生物的实例为酸加成盐,诸如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、乳酸盐、枸橼酸盐、酒石酸盐、1-羟基-2-萘羧酸盐、马来酸盐、三氟乙酸盐、D-扁桃酸盐和药用酯(例如 C_1 - C_6 烷基酯)。 β_2 -激动剂也可为溶剂化物的形式,例如水合物。

[0060] 可在该实施方案的药物产品中使用的 β_2 -肾上腺素受体激动剂的实例包括间羟异丙肾上腺素(metaproterenol)、异丙肾上腺素(isoproterenol)、异丙肾上腺素(isoprenaline)、沙丁胺醇(albuterol)、沙丁胺醇(salbutamol)(例如其硫酸盐)、福莫特罗(formoterol)(例如其富马酸盐)、沙美特罗(salmeterol)(例如其昔萘酸盐)、特布他林(terbutaline)、奥西那林(orcioprenaline)、比托特罗(bitolterol)(例如其甲磺酸盐)、吡布特罗(pirbuterol)或者茛达特罗(indacaterol)。该实施方案的 β_2 -肾上腺素受体激动剂可为长效 β_2 -激动剂(即具有持续长于 24 小时的活性的 β_2 -激动剂),例如沙美特罗(例如其昔萘酸盐)、福莫特罗(例如其富马酸盐)、班布特罗(bambuterol)(例如其盐酸盐)、卡莫昔罗(carmoterol)(TA 2005,化学鉴定为 [R-(R*,R*)]-8-羟基-5-[1-羟基-2-[[2-(4-甲氧基-苯基)-1-甲基乙基]-氨基]乙基]-2(1H)-喹诺酮一盐酸盐,也经 Chemical Abstract Service Registry Number 137888-11-0 鉴定并在美国专利

4, 579, 854 中披露)、茛达特罗 (CAS 编号 312753-06-3 ;QAB-149)、甲酰苯胺衍生物例如在 WO 2002/76933 中披露的 3-(4-{[6-({(2R)-2-[3-(甲酰氨基)-4-羟基苯基]-2-羟基乙基}氨基)己基}氧基)-丁基)-苯磺酰胺、苯磺酰胺衍生物例如在 WO2002/88167 中披露的 3-(4-{[6-({(2R)-2-羟基-2-[4-羟基-3-(羟基-甲基)苯基]乙基}氨基)-己基}氧基)丁基)苯磺酰胺、如在 WO 2003/042164 和 WO2005/025555 中披露的芳基苯胺受体激动剂、如在 WO 2004/032921、美国 2005/222144 中披露的吡啶衍生物、化合物 GSK 159797、GSK 159802、GSK597901、GSK 642444 和 GSK 678007。

[0061] 在本发明的一种实施方案中, β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗。福莫特罗的化学命名为 N-[2-羟基-5-[(1R)-1-羟基-2-[[[(1R)-2-(4-甲氧基苯基)-1-甲基乙基]氨基]乙基]苯基]-甲酰胺。福莫特罗的制备描述在例如 WO 92/05147 中。在本发明的一方面, β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗富马酸盐。可理解的是本发明涵盖福莫特罗的所有旋光异构体以及它们的混合物(包括外消旋化合物)的用途。因此,例如,术语福莫特罗涵盖 N-[2-羟基-5-[(1R)-1-羟基-2-[[[(1R)-2-(4-甲氧基苯基)-1-甲基乙基]氨基]乙基]苯基]-甲酰胺、N-[2-羟基-5-[(1S)-1-羟基-2-[[[(1S)-2-(4-甲氧基苯基)-1-甲基乙基]氨基]乙基]苯基]-甲酰胺以及所述对映异构体的混合物(包括外消旋化合物)。

[0062] 在本发明的一种实施方案中, β_2 -肾上腺素受体激动剂选自:

[0063] N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺,

[0064] N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺,和

[0065] 7-[(1R)-2-({2-[(3-{[2-(2-氯苯基)乙基]氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮,或者它们的药用盐。该实施方案的 β_2 -肾上腺素受体激动剂可如在本申请的实验制备部分中所述制备。该实施方案的 β_2 -肾上腺素受体激动剂的命名为经 IUPAC NAME, ACD Labs 版本 8naming package 产生的 IUPAC 命名。

[0066] 在本发明的另一个实施方案中, β_2 -肾上腺素受体激动剂选自:

[0067] N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐,

[0068] N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐,和

[0069] 7-[(1R)-2-({2-[(3-{[2-(2-氯苯基)乙基]氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮二氢溴酸盐。

[0070] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷 X, 且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗(例如其富马酸盐)。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基-

基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷-1-羟基-萘-2-磺酸盐。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷-2,5-二氯苯磺酸盐。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0071] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗(例如其富马酸盐)。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。

[0072] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗(例如其富马酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0073] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为福莫特罗(例如其富马酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。

[0074] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷-1-羟基-萘-2-磺酸盐。在该实施方案的另一面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷-2,5-二氯苯磺酸盐。在该实施方案的另一方

面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0075] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。

[0076] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0077] 本发明的一种实施方案提供了药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,其中X表示一元酸或者多元酸的药用阴离子,以及所述第二活性成分为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐。

[0078] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐。

[0079] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。

[0080] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰

基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为7-[(1R)-2-({2-[(3-{{2-(2-氯苯基)乙基}氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷1-羟基-萘-2-磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷2,5-二氯苯磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0081] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为7-[(1R)-2-({2-[(3-{{2-(2-氯苯基)乙基}氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。

[0082] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为7-[(1R)-2-({2-[(3-{{2-(2-氯苯基)乙基}氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0083] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为7-[(1R)-2-({2-[(3-{{2-(2-氯苯基)乙基}氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮或者其药用盐(例如二氢溴酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。

[0084] 在本发明的一种实施方案中, β_2 -肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟

苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐。该实施方案的β₂-肾上腺素受体激动剂如可在W02008/075026A1中所述制备。在该实施方案的另一方面,β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-三氟乙酸盐。在该实施方案的另一方面,β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二氢溴酸盐。在该实施方案的另一方面,β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐。

[0085] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐(例如二-D-扁桃酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷1-羟基-萘-2-磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷2,5-二氯苯磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噻唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐(例如二-D-扁桃酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噻唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。

[0086] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐(例如二-D-扁桃酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方

面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0087] 本发明的一种实施方案提供了药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,其中X表示一元酸或者多元酸的药用阴离子,以及所述第二活性成分为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐。

[0088] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物,且β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐。

[0089] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺或者其药用盐(例如二-D-扁桃酸盐)。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。

[0090] 在本发明的一种实施方案中,β₂-肾上腺素受体激动剂为茛达特罗。

[0091] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为茛达特罗。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷1-羟基-萘-2-磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷2,5-二氯苯磺酸盐。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0092] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噻唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺素受体激动剂为茛达特罗。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噻唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物。

[0093] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷X,且β₂-肾上腺

素受体激动剂为茛达特罗。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷溴化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷氯化物。在该实施方案的另一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐。

[0094] 在本发明的一种实施方案中,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷X,且 β_2 -肾上腺素受体激动剂为茛达特罗。在该实施方案的一方面,毒蕈碱性受体拮抗剂为(R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂二环[2.2.2]辛烷氯化物。

[0095] 本发明的组合可提供治疗呼吸系统疾病的有益疗效。这种可行的疗效的实例包括改善下述参数中的一种或者多种:流入肺的炎症细胞的减少、轻度和重度恶化、FEV₁(一秒用力呼气量)、肺活量(VC)、最大呼气流量(PEF)、症状评分和生活质量。

[0096] 本发明的毒蕈碱性拮抗剂(第一活性成分)和 β_2 -肾上腺素受体激动剂(第二活性成分)可同时、先后或者分开给药以治疗呼吸系统疾病。对于先后给药,其表示活性成分按任意顺序给药,给药一种之后,立即给予给药另一种。如果将它们分开给药,则它们仍然具有期望的效果,但是在按这种方式给药时,它们的给药间隔一般小于4小时,适宜地间隔小于2小时,更适宜地间隔小于30分钟,且最适宜地间隔小于10分钟。

[0097] 可以采用常规的系统剂型(systemic dosage form),诸如片剂、胶囊剂、丸剂、粉剂、水性或者油性溶液剂或者混悬剂、乳液和无菌注射的水性或者油性溶液剂或者混悬剂,将本发明的活性成分通过口服或者肠胃外(例如静脉内、皮下、肌内或者关节内)给药。活性成分也可以以溶液剂、混悬剂、气雾剂和干粉制剂的形式局部给药(递送至肺和/或者气道)。这些剂型通常将包括一种或者多种药用成分,它们可以选自例如辅料、载体、粘合剂、润滑剂、稀释剂、稳定剂、缓冲剂、乳化剂、粘度调节剂、表面活性剂、防腐剂、矫味剂和着色剂。正如本领域技术人员所理解的,给药活性成分的最适当方法取决于多种因素。

[0098] 在本发明的一种实施方案中,活性成分经由分开的药物制剂给药。因此,在一方面,本发明提供了一种试剂盒,其包含第一活性成分的制剂和第二活性成分的制剂以及任选的说明书,所述第一活性成分为本发明的毒蕈碱性拮抗剂,所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂,以及所述说明书指导对有所述需要的患者同时、先后或者分开给予所述制剂。

[0099] 在另一种实施方案中,活性成分可经由单一药物组合物给药。因此,本发明还提供了药物组合物,其包含呈混合物形式的第一活性成分和第二活性成分,所述第一活性成分为本发明的毒蕈碱性拮抗剂,以及所述第二活性成分为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

[0100] 发明的药物组合物可以如下制备:将毒蕈碱性拮抗剂(第一活性成分)与 β_2 -肾上腺素受体激动剂(第二活性成分)和药用辅料、稀释剂或者载体混合。因此,在本发明的另一方面,其提供制备药物组合物的方法,包括将本发明的毒蕈碱性拮抗剂与 β_2 -肾上腺素受体激动剂和药用辅料、稀释剂或者载体混合。

[0101] 应当理解的是,根据本发明,所给药的每种活性成分的治疗剂量随所采用的具体

活性成分、给予活性成分的模式和所治疗的病症或者障碍而变化。

[0102] 在本发明的一种实施方案中,本发明的毒蕈碱性拮抗剂是经由吸入给药的。在经由吸入给药时,本发明的毒蕈碱性拮抗剂的剂量一般为如下的范围:0.1 微克(μg)至 5000 μg 、0.1 至 1000 μg 、0.1 至 500 μg 、0.1 至 100 μg 、0.1 至 50 μg 、0.1 至 5 μg 、5 至 5000 μg 、5 至 1000 μg 、5 至 500 μg 、5 至 100 μg 、5 至 50 μg 、5 至 10 μg 、10 至 5000 μg 、10 至 1000 μg 、10 至 500 μg 、10 至 100 μg 、10 至 50 μg 、20 至 5000 μg 、20 至 1000 μg 、20 至 500 μg 、20 至 100 μg 、20 至 50 μg 、50 至 5000 μg 、50 至 1000 μg 、50 至 500 μg 、50 至 100 μg 、100 至 5000 μg 、100 至 1000 μg 或者 100 至 500 μg 。所述剂量一般为每天分 1 至 4 次给予,适宜地每天一次或者两次,且最适宜地每天一次。

[0103] 在本发明的一种实施方案中,所述 β_2 - 肾上腺素受体激动剂可适宜地经由吸入给药。在经由吸入给药时, β_2 - 肾上腺素受体激动剂的剂量一般为如下的范围:0.1 μg 至 50 μg 、0.1 至 40 μg 、0.1 至 30 μg 、0.1 至 20 μg 、0.1 至 10 μg 、5 至 10 μg 、5 至 50 μg 、5 至 40 μg 、5 至 30 μg 、5 至 20 μg 、5 至 10 μg 、10 至 50 μg 、10 至 40 μg 、10 至 30 μg 或者 10 至 20 μg 。所述剂量一般为每天分 1 至 4 次给予,适宜地每天一次或者两次,且最适宜地每天一次。

[0104] 在一种实施方案中,本发明提供了药物产品,其包含第一活性成分和第二活性成分的组合,所述第一活性成分为本发明的毒蕈碱性拮抗剂,以及所述第二活性成分为 β_2 - 肾上腺素受体激动剂,其中将每种活性成分配制为吸入给药形式。

[0105] 本发明的活性成分适宜地以溶液剂、混悬剂、气雾剂和干粉制剂的形式经由吸入进行给药(例如局部递送至肺和/或者气道)。例如计量吸入装置可以用于给予分散在适当的推进剂中的活性成分,其中含有或者不含有额外的赋形剂(诸如乙醇)、表面活性剂、润滑剂或者稳定剂。适当的推进剂包括烃、氯氟碳和氢氟烷(例如七氟烷)推进剂,或者所述推进剂的任意混合物。优选的推进剂是 P134a 和 P227,它们各自可以单独使用或者与其它推进剂和/或者表面活性剂和/或者其它赋形剂组合使用。也可以使用雾化水性混悬剂,或者优选为溶液剂,其中含有或者不含有适当 pH 和/或者张力调节剂。

[0106] 活性成分的干粉制剂和加压 HFA 气雾剂可经口服或者鼻内吸入给药。对于吸入剂,理想地,对化合物进行微细分散。微细分散的化合物优选地具有小于 10 μm 的质量中位直径,且可在分散剂的协助下在推进剂混合物中混悬,所述分散剂诸如 C_8 - C_{20} 脂肪酸或者其盐(例如油酸)、胆汁盐、磷脂、烷基糖类、全氟化表面活性剂或者聚乙氧基化表面活性剂或者其它药用分散剂。

[0107] 一种可能是将微细分散的本发明化合物与载体物质(例如单糖、二糖或者多糖、糖醇或者其它多元醇)混合。适当的载体为糖类,例如乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、拉克替醇、麦芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露醇;以及淀粉。可替换地,微细分散的化合物可被其它物质包衣。粉末混合物也可分配在硬明胶胶囊中,每个含有预期剂量的活性化合物。

[0108] 另一个可能是将微细分散的粉末加工成为球状物,其在吸入操作中破裂。球状粉末可填充至多剂量吸入器的药物贮器中,例如已知的 **Turbuhaler[®]**, 其中用剂量单位计量预期剂量,然后其被患者吸入。在该系统中,将活性成分与或者不与载体物质递送给患者。

[0109] 本发明的组合用于治疗或者预防呼吸道病症(respiratory-tract disorder), 诸如慢性阻塞性肺病(COPD)、所有类型的慢性支气管炎(chronic bronchitis)(包括与

其相关的呼吸困难)、哮喘(过敏性和非过敏性哮喘;婴儿气喘综合征(‘wheezy-infant syndrome’))、成人/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、慢性呼吸阻塞、支气管高反应性(bronchial hyperactivity)、肺纤维化、肺气肿和过敏性鼻炎;由于其它药物治疗,特别是其它吸入药物治疗引起的气道高反应性加重或者肺尘症(例如矾土肺(aluminosis)、煤肺病(anthracosis)、石棉肺(asbestosis)、石末肺(chalcosis)、驼鸟毛尘肺(ptilosis)、肺铁末沉着症(siderosis)、硅肺病(silicosis)、烟草尘肺(tabacosis)和棉尘肺(byssinosis))。

[0110] 干粉吸入器可用于单独地给予活性成分或者给予活性成分与药用载体的组合,在给予活性成分与药用载体的组合的情况中,以微细分散的粉末或者有序混合物(ordered mixture)的形式给药。干粉吸入器可以是单剂量或者多剂量,并且可以采用干粉或者含有粉末的胶囊。

[0111] 计量吸入器、雾化器和干粉吸入装置是公知的,多种这类装置是可获得的。

[0112] 本发明还提供了用于在治疗中同时、先后或者分开使用的本发明的药物产品、试剂盒或者药物组合物。

[0113] 本发明还提供了用于治疗呼吸系统疾病,特别是慢性阻塞性肺病或者哮喘的本发明的药物产品、试剂盒或者药物组合物。

[0114] 本发明还提供了本发明的药物产品、试剂盒或者药物组合物在制备用于治疗呼吸系统疾病,特别是慢性阻塞性肺病或者哮喘的药物中的用途。

[0115] 本发明还提供了用于治疗呼吸系统疾病的方法,其包括对有所述需要的患者同时、先后或者分开给予:

[0116] (a) 一(治疗有效)剂量的第一活性成分,其为本发明的毒蕈碱性拮抗剂;知

[0117] (b) 一(治疗有效)剂量的第二活性成分,其为 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

[0118] 在本说明书的上下文中,除非另有相反的具体说明,术语“治疗”也包括“预防”。术语“治疗的”和“治疗地”也可相应地解释。预防被认为与经受所述疾病或者病症的先前发作的人员的治疗特别有关,或者被认为与面临所述疾病或者病症的增加危险之中的人员的治疗特别有关。面临发展具体疾病或者病症的危险之中的人员,通常包括具有该疾病或者病症的家族史的人员,或者已经通过遗传学试验或者筛选确定为对特别易发展该疾病或者病症的人员。

[0119] 本发明的药物产品、试剂盒或者组合物可任选包含第三活性成分,所述第三活性成分为适于在治疗呼吸系统疾病中使用的物质。可包括在本发明中的第三活性成分的实例包括

[0120] • 磷酸二酯酶抑制剂,

[0121] • 趋化因子受体功能的调节剂,

[0122] • 激酶功能抑制剂,

[0123] • 蛋白酶抑制剂,

[0124] • 甾类糖皮质激素受体激动剂,和

[0125] • 非甾类糖皮质激素受体激动剂。

[0126] 可用作为该实施方案的第三活性成分的磷酸二酯酶抑制剂的实例包括PDE4抑制剂诸如同工型PDE4D抑制剂、PDE3抑制剂和PDE5抑制剂。实例包括下述化合物:

- [0127] (Z)-3-(3,5-二氯-吡啶-4-基)-2-[4-(2-茛满基氧基-5-甲氧基-2-吡啶基)丙烯腈],
- [0128] N-[9-氨基-4-氧代-1-苯基-3,4,6,7-四氢吡咯并[3,2,1-jk][1,4]苯并二氮杂萘-3(R)-基]吡啶-3-甲酰胺 (CI-1044),
- [0129] 3-(苄基氧基)-1-(4-氟苄基)-N-[3-(甲基磺酰基)苯基]-1H-吡啶-2-甲酰胺,
- [0130] (1S-外)-5-[3-(二环[2.2.1]庚-2-基氧基)-4-甲氧基苯基]四氢-2(1H)-嘧啶酮 (Atizoram),
- [0131] N-(3,5-二氯-吡啶-4-基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羟基-1H-吡啶-3-基]-2-氧代乙酰胺 (AWD-12-281),
- [0132] β -[3-(环戊基氧基)-4-甲氧基苯基]-1,3-二氢-1,3-二氧代-2H-异吡啶-2-丙酰胺 (CDC-801),
- [0133] N-[9-甲基-4-氧代-1-苯基-3,4,6,7-四氢吡咯并[3,2,1-jk][1,4]苯并二氮杂萘-3(R)-基]吡啶-4-甲酰胺 (CI-1018),
- [0134] 顺式-[4-氰基-4-(3-环戊基氧基-4-甲氧基苯基)环己烷-1-羧酸 (西洛司特),
- [0135] 8-氨基-1,3-二(环丙基甲基)黄嘌呤 (西潘茶碱),
- [0136] N-(2,5-二氯-吡啶-3-基)-8-甲氧基-5-喹啉甲酰胺 (D-4418),
- [0137] 5-(3,5-二-叔丁基-4-羟基亚苄基)-2-亚氨基噻唑烷-4-酮 (达布非酮),
- [0138] 2-甲基-1-[2-(1-甲基乙基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基]-1-丙酮 (异丁司特),
- [0139] 甲磺酸 2-(2,4-二氯苯基羰基)-3-脲基苯并呋喃-6-酯 (Lirimilast),
- [0140] (-)-(R)-5-(4-甲氧基-3-丙氧基苯基)-5-甲基噁唑烷-2-酮 (Mesopram),
- [0141] (-)-顺式-9-乙氧基-8-甲氧基-2-甲基-1,2,3,4,4a,10b-六氢-6-(4-二异丙基氨基羰基苯基)-苯并[c][1,6]二氮杂萘 (普马芬群),
- [0142] 3-(环丙基甲氧基)-N-(3,5-二氯-吡啶-4-基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺 (罗氟司特),
- [0143] 罗氟司特的 N-氧化物,
- [0144] 5,6-二乙氧基苯并[b]噻吩-2-羧酸 (硫苯司特),
- [0145] 2,3,6,7-四氢-2-(氨基亚氨基)-9,10-二甲氧基-3-甲基-4H-嘧啶并[6,1-a]异喹啉-4-酮 (曲喹辛), 和
- [0146] 3-[[3-(环戊基氧基)-4-甲氧基苯基]-甲基]-N-乙基-8-(1-甲基乙基)-3H-嘌呤-6-胺 (V-11294A)。
- [0147] 可用作为该实施方案的第三活性成分的趋化因子受体功能的调节剂的实例包括 CCR3 受体拮抗剂、CCR4 受体拮抗剂、CCR5 受体拮抗剂和 CCR8 受体拮抗剂。
- [0148] 可用作为该实施方案的第三活性成分的激酶功能抑制剂的实例包括 p38 激酶抑制剂和 IKK 抑制剂。
- [0149] 可用作为该实施方案的第三活性成分的蛋白酶抑制剂的实例包括中性白细胞弹性蛋白酶抑制剂或者 MMP12 抑制剂。

[0150] 可用作为该实施方案的第三活性成分的甾类糖皮质激素受体激动剂的实例包括布地奈德、氟替卡松（例如其丙酸酯）、莫米松（例如其糠酸酯）、倍氯米松（例如其 17-丙酸酯或者 17,21-二丙酸酯）、环索奈德、氯替泼诺（例如其依碳酸盐）、依替泼诺（例如其二氯乙酸盐）、曲安西龙（例如其丙酮化合物）、氟尼缩松、zoticasone、氟莫奈德、罗氟奈德、布替可特（例如其丙酸酯）、泼尼松龙、泼尼松、替泼尼旦、类固醇酯例如 6 α ,9 α -二氟-17 α -[(2-呋喃基羰基)氧基]-11 β -羟基-16 α -甲基-3-氧代-雄甾-1,4-二烯-17 β -硫代羧酸 S-氟甲酯、6 α ,9 α -二氟-11 β -羟基-16 α -甲基-3-氧代-17 α -丙酰氧基-雄甾-1,4-二烯-17 β -硫代羧酸 S-(2-氧代-四氢-呋喃-3S-基)酯和 6 α ,9 α -二氟-11 β -羟基-16 α -甲基-17 α -[(4-甲基-1,3-噻唑-5-羰基)氧基]-3-氧代-雄甾-1,4-二烯-17 β -硫代羧酸 S-氟甲酯、DE 4129535 的类固醇酯、WO 2002/00679、WO 2005/041980 的类固醇或者类固醇 GSK 870086、GSK 685698 和 GSK 799943。

[0151] 可用作为该实施方案的第三活性成分的非甾类糖皮质激素受体激动剂的实例包括在 W02006/046916 中所述那些。

附图说明

[0152] 通过下述非限制性实施例对本发明进行示例说明。在实施例中出现下述附图：

[0153] 图 1：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物晶型 A (实施例 1) 的 X 射线粉末衍射图。

[0154] 图 2：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物晶型 A (实施例 2) 的 X 射线粉末衍射图。

[0155] 图 3：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物晶型 A (实施例 3) 的 X 射线粉末衍射图。

[0156] 图 4：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物晶型 A (实施例 4) 的 X 射线粉末衍射图。

[0157] 图 5：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷 1-羟基-萘-2-磺酸盐晶型 A (实施例 5) 的 X 射线粉末衍射图。

[0158] 图 6：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷 2,5-二氯-苯磺酸盐晶型 A (实施例 6) 的 X 射线粉末衍射图。

[0159] 图 7：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A (实施例 7) 的 X 射线粉末衍射图。

[0160] 图 8：毒蕈碱性拮抗剂 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A (实施例 14) 的 X 射线粉末衍射图。

[0161] 图 9：体外在豚鼠气管中茚达特罗 (10nM)、(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂蒽-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z)

(1nM) 以及茚达特罗 (10nM) 和 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z) (1nM) 的组合产生的舒张百分数。

[0162] 图 10: 体外在豚鼠气管中 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺 (化合物 V) (10nM)、(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z) (1nM) 以及 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺 (化合物 V) (10nM) 和 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z) (1nM) 的组合产生的舒张百分数。

[0163] 图 11: 体外在豚鼠气管中 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐 (化合物 W) (1nM)、(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z) (1nM) 以及 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐 (化合物 W) (1nM) 和 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (化合物 Z) (1nM) 的组合产生的舒张百分数。

具体实施方式

[0164] 毒蕈碱性拮抗剂的制备

[0165] 本发明的毒蕈碱性拮抗剂可如下制备。在本申请中描述的那些的可替换的盐可通过常规化学作用使用类似于所描述的那些的方法来制备。

[0166] 对于制备毒蕈碱性拮抗剂的一般实验细节

[0167] 除非另作特殊说明,在制备毒蕈碱性拮抗剂中使用下述一般条件。

[0168] 除非另作特殊说明,所有反应在氮气气氛下进行。

[0169] 在实施例, NMR 光谱在 Varian Unity Inova 光谱仪上以 300 或者 400 或者 500MHz 的质子频率进行测量, 或者在 Bruker DRX 光谱仪上以 400 或者 500MHz 的质子频率进行测量, 或者在 Bruker Avance 光谱仪上以 600MHz 的质子频率进行测量, 或者在 Bruker Avance DPX 300 光谱仪上以 300MHz 的质子频率进行测量。MS 光谱在 Agilent 1100MSD G1946D 光谱仪或者 Hewlett Packard HP1100MSD G1946A 光谱仪或者 Waters Micromass ZQ2000 光谱仪上测量。名称使用 MDL 提供的 Autonom 2000 (版本 4.01.305) 软件生成。

[0170] 使用 PANalytical CubiX PRO 仪器或者 PANalytical X-Pert 仪器收集 XRPD 数据。

[0171] X 射线粉末衍射 -XR PD-PANalytical CubiX PRO

[0172] 数据用 PANalytical CubiX PRO 仪器收集, 其在 $\theta - \theta$ 配置下, 扫描范围为 2° 至 $40^\circ 2\theta$, 100 秒暴露时间 / 0.02° 增量。X 射线由铜制的长细焦点管产生, 其在 45kV 和 40mA 的条件下操作。铜 X 射线的波长为 1.5418\AA 。数据在零背景容器上收集, 将 $\sim 2\text{mg}$ 的化合物

置于所述容器上。该容器由单晶硅制造,所述单晶硅沿非衍射平面切割,然后在光学平面精制机上抛光。X射线在该平面上入射被布拉格(Bragg)消光所抵销。

[0173] X射线粉末衍射-PANalytical X-Pert

[0174] 数据使用 PANalytical X-Pert 仪器收集,其在 $2\theta - \theta$ 配置下,扫描范围为 2° 至 $40^\circ 2\theta$, 100 秒暴露时间/ 0.02° 增量。X射线由铜制的长细焦点管产生,其在 45kV 和 40mA 的条件下操作。铜 X 射线的波长为 1.5418\AA 。数据在零背景容器上收集,将 $\sim 2\text{mg}$ 的化合物置于所述容器上。该容器由单晶硅制造,所述单晶硅沿非衍射平面切割,然后在光学平面精制机上抛光。X射线在该平面上入射被布拉格消光所抵销。

[0175] 差示扫描量热法(DSC)热分析图使用具有铝盘和穿孔的盖的 TA Instruments Q 1000DSC Differential Scanning Calorimeter 测量。样品重量在 0.5 至 5mg 之间变化。操作在如下条件下进行:氮气流速为 50mL/min 且所研究的温度以每分钟升温 10°C 的恒速在 25 至 300°C 之间。

[0176] 热重量分析(TGA)热分析图使用具有铂盘的 TA Instruments Q500TGAThermogravimetric Analyser 测量。样品重量在 1 至 5mg 之间变化。操作在如下条件下进行:氮气流速为 60mL/min 且所研究的温度以每分钟升温 10°C 的恒速由 25°C 至 $200\text{--}300^\circ\text{C}$ 。

[0177] 重量分析蒸汽吸收(GVS)分布使用 Surface Measurements Systems Dynamic Vapour Sorption DVS-1 或者 DVS Advantage GVS instruments 测量。将约 1-5mg 的固体样品置于玻璃管或者金属丝筛管中并在双循环步骤方法(40 至 90 或者 0 至 90 或者 0% 的相对湿度(RH),在 10% RH 的步骤中)中记录样品重量。

[0178] 在实验部分中使用的缩写:

[0179] Aq = 水性或水溶液

[0180] DCE = 1,2-二氯乙烷

[0181] DCM = 二氯甲烷

[0182] DMF = 二甲基甲酰胺

[0183] DMSO = 二甲基亚砷

[0184] EtOAc = 乙酸乙酯

[0185] EtOH = 乙醇

[0186] DSC = 差示扫描量热计

[0187] GVS = 重量分析蒸汽吸收

[0188] TGA = 热重量分析

[0189] XRPD = X 射线粉末衍射

[0190] HATU = O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基铋六氟磷酸盐

[0191] MeCN = 乙腈

[0192] MeOH = 甲醇

[0193] RT = 室温

[0194] Rt = 保留时间

[0195] THF = 四氢呋喃

[0196] Satd = 饱和的

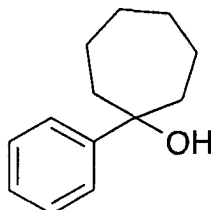
[0197] 基于在实施例中描绘的结构以及根据 Cahn-Ingold-Prelog 体系指明的立体化学,在本申请中描述的毒蕈碱性拮抗剂以及在制备它们的过程中使用的中间体已经具有由 MDL Information Systems Inc. 提供的 Beilstein Autonom2000naming package 产生的 IUPAC 名称。

[0198] 具体实施方案

[0199] 实施例 1:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物

[0200] a) 1-苯基-环庚醇

[0201]

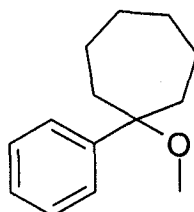


[0202] 在氮气环境下以反应保持稳定回流的速率向镁 (1.2g) 在无水四氢呋喃 (60mL) 中的溶液中加入碘的晶体,接着加入溴苯 (7.85g)。将反应混合物搅拌 20 分钟然后小心加入环庚酮 (4.48g)。在搅拌 10 分钟后,加入饱和氯化铵水溶液 (10mL) 并将反应混合物在水 (100mL) 和异己烷 (100mL) 之间分配。将有机层干燥 ($MgSO_4$) 并蒸发,得到了副标题化合物 (7.6g),其为油状物。

[0203] 1H NMR (299.946MHz, $CDCl_3$) δ 7.53-7.47 (m, 2H), 7.36-7.29 (m, 2H), 7.26-7.19 (m, 1H), 2.07 (ddd, 2H), 1.97-1.50 (m, 11H).

[0204] b) 1-甲氧基-1-苯基-环庚烷

[0205]

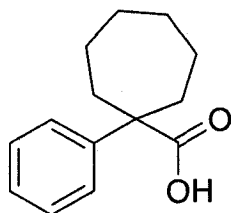


[0206] 将 1-苯基-环庚醇 (实施例 1a) (7.6g) 在四氢呋喃 (100mL) 中溶解并加入氢化钠 (60%在油中, 2.0g)。将反应混合物在 60°C 搅拌 5 分钟并加入碘甲烷 (7.1g)。将混合物在 60°C 保持过夜然后再加入一定量的氢化钠 (60%在油中, 2.0g) 和碘甲烷 (7.1g) 并将反应混合物回流 70 小时。将反应混合物在水 (100mL) 和异己烷 (100mL) 之间分配并分离有机层,干燥 ($MgSO_4$) 并蒸发,得到了副标题化合物 (11.31g)。

[0207] 1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 7.43-7.37 (m, 2H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.24-7.19 (m, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.12-1.88 (m, 4H), 1.88-1.45 (m, 8H).

[0208] c) 1-苯基-环庚烷羧酸

[0209]

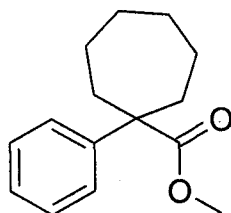


[0210] 在氮气环境下将钾 (2.62g) 和钠 (0.52g) 一起在矿物油中在 120℃ 加热 30 分钟然后冷却至室温。除去油状物并用乙醚 (100mL) 置换且加入 1-甲氧基-1-苯基-环庚烷 (实施例 1b) (4.9g) 并将反应混合物在氮气下在室温搅拌过夜。将反应混合物冷却至 -78℃ 并在搅拌的同时加入固体二氧化碳 (~20g)。将反应混合物温热至室温并在氮气环境下小心加入水 (150mL)。分离水层,用浓盐酸中和并用乙醚 (150mL) 萃取。将有机层干燥 (MgSO₄) 并蒸发,得到了副标题化合物 (4.15g),其为油状物。

[0211] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.20 (m, 5H), 2.49-2.35 (m, 2H), 2.16-2.03 (m, 2H), 1.76-1.47 (m, 8H).

[0212] d) 1-苯基-环庚烷羧酸甲酯

[0213]

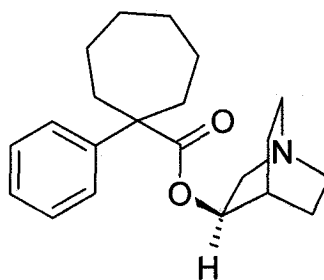


[0214] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (实施例 1c) (4.15g) 在甲醇 (150mL) 和浓盐酸 (5mL) 中回流 24 小时。蒸发溶剂并将残余物在乙醚 (100mL) 中溶解,用水 (100mL)、饱和碳酸氢钠 (50mL) 和水 (100mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄) 并蒸发,得到了副标题化合物 (3.5g),其为油状物。

[0215] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.18 (m, 5H), 3.63 (s, 3H), 2.47-2.35 (m, 2H), 2.08-1.97 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 8H).

[0216] e) 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯

[0217]



[0218] 将 1-苯基-环庚烷羧酸甲酯 (实施例 1d) (1.0g) 和 (R)-奎宁环-3-醇 (0.39g) 在含有钠 (~5mg) 的庚烷 (50mL) 中在 Dean 和 Stark 装置中回流 24 小时。将庚烷 (20mL) 用甲苯 (20mL) 置换并继续回流 3 天。将反应混合物在水 (50mL) 和乙醚 (50mL) 之间分配并分离乙醚层,干燥 (MgSO₄) 并蒸发。将粗产物经硅胶柱色谱法纯化 (用乙酸乙酯 / 三乙胺 (99/1) 洗脱),得到了标题化合物,其为油状物 (0.83g)。

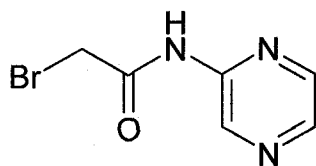
[0219] m/e 328 [M+H]⁺

[0220] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.27 (m, 4H), 7.23-7.16 (m, 1H), 4.78-4.71 (m,

1H), 3.12 (ddd, 1H), 2.79–2.32 (m, 7H), 2.16–1.98 (m, 2H), 1.91–1.80 (m, 1H), 1.70–1.34 (m, 12H).

[0221] f) 2-溴-N-(吡嗪-2-基)-乙酰胺

[0222]

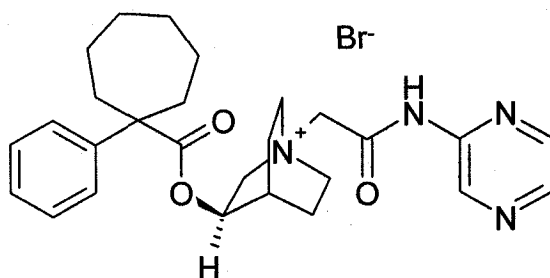


[0223] 向搅拌的吡嗪-2-基胺 (1.878g) 和碳酸钾 (8.19g) 在二氯甲烷 (25mL) 中的混悬液中加入 2-溴乙酰胺 (1.72mL)。将反应混合物搅拌过夜然后用水 (2x 50mL) 洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄) 并浓缩, 得到了副标题化合物, 其为固体 (0.700g)。

[0224] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.51 (d, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.30 (dd, 1H), 4.06 (s, 2H).

[0225] 实施例 1: (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物晶型 A

[0226]



[0227] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-3-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (实施例 1e) (0.200g) 和 2-溴-N-(吡嗪-2-基)-乙酰胺 (实施例 1f) (0.132g) 在乙腈 (1mL) 中溶解并静置过夜。将所得的固体过滤并用乙腈 (2x1mL) 和乙醚 (3mL) 洗涤。将干燥的固体由丙酮 (15mL) 和乙醚 (10mL) 重结晶, 得到了标题化合物 (0.240g)。

[0228] m/e 463 [M]⁺

[0229] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.37 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.50–8.46 (m, 2H), 7.39–7.30 (m, 4H), 7.27–7.21 (m, 1H), 5.16–5.08 (m, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.17–4.07 (m, 1H), 3.69–3.56 (m, 4H), 3.48–3.38 (m, 1H), 2.44–2.26 (m, 3H), 2.25–2.04 (m, 2H), 2.03–1.87 (m, 3H), 1.85–1.71 (m, 1H), 1.68–1.45 (m, 8H).

[0230] 对实施例 1: (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物晶型 A 的分析

[0231] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 1 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X'Pert 或者 CubiX system)、DSC 和 TGA 进行分析。

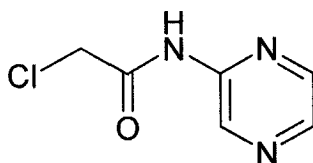
[0232] 经 DSC 确定的实施例 1 溴化物晶型 A 的熔化温度 (melting temperature) 实测为 202°C (初始) (±2°C)。在熔化前经 TGA 所观察到的重量损失为 2.7%。GVS 确定得到在 80% RH 的 3% 重量增加 (% w/w) (±0.2%)。

[0233] 实施例 1 溴化物晶型 A 的 XRPD 谱在图 1 中显示。

[0234] 实施例 2 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物

[0235] a) 2-氯-N-(吡嗪-2-基)-乙酰胺

[0236]



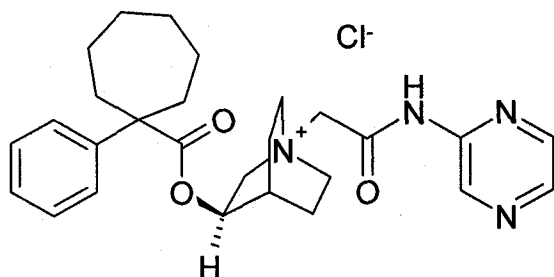
[0237] 向搅拌的吡嗪-2-基胺 (4.6g) 和碳酸钾 (20.05g) 在二氯甲烷 (50mL) 中的混悬液中加入 2-氯乙酰氯 (3.85mL)。将反应混合物搅拌过夜用水 (2x 50mL) 洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄) 并浓缩, 得到了固体, 将其经硅胶柱色谱法纯化 (用乙酸乙酯/异己烷 (5 : 95) 洗脱), 得到了副标题化合物, 其为白色固体 (2.2g)。

[0238] m/e 172 [M+H]⁺

[0239] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.12 (s, 1H), 9.31 (d, 1H), 8.44 (dd, 1H), 8.41 (d, 1H), 4.40 (s, 2H).

[0240] 实施例 2 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物晶型 A

[0241]



[0242] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (实施例 1e) (0.55g) 和 2-氯-N-(吡嗪-2-基)-乙酰胺 (实施例 2a) (0.288g) 在乙腈 (4mL) 中搅拌过夜。再加入乙腈 (14mL) 并将混合物搅拌 2 小时。将固体经过滤收集并用乙醚 (4x 10mL) 洗涤, 得到了标题化合物, 其为固体 (0.735g)。

[0243] m/e 463 [M]⁺

[0244] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.52 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.49-8.45 (m, 2H), 7.38-7.31 (m, 4H), 7.26-7.21 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 1H), 4.44 (d, 1H), 4.40 (d, 1H), 4.14 (ddd, 1H), 3.73-3.59 (m, 4H), 3.48-3.38 (m, 1H), 2.42-2.29 (m, 2H), 2.23-2.12 (m, 2H), 2.04-1.87 (m, 1H), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.71-1.45 (m, 9H).

[0245] 对实施例 2 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物晶型 A 的分析

[0246] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 2 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X' Pert 或者 CubiX system)、DSC 和 TGA 进行分析。

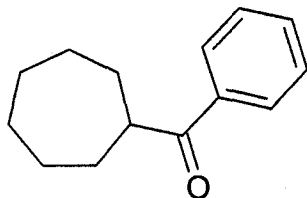
[0247] 经 DSC 确定的实施例 2 氯化物晶型 A 的熔化温度实测为 215°C (初始) (±2°C)。GVS 确定得到在 80% RH 的 9% 重量增加 (% w/w) (±0.2%)。

[0248] 实施例 2 氯化物晶型 A 的 XRPD 谱在图 2 中显示。

[0249] 实施例 3 : (R)-3-(1- 苯基 - 环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓 - 二环 [2.2.2] 辛烷氯化物

[0250] a) 环庚基 - 苯基 - 甲酮

[0251]

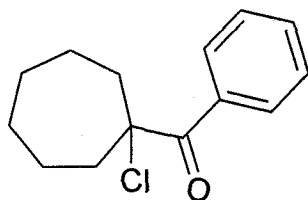


[0252] 在氮气下将苯基溴化镁 (3.0M 在乙醚中的溶液) (271mL) 以保持轻微回流的速率逐滴加至搅拌的 (置顶搅拌器) 环庚烷甲腈 (50g) 在 229mL 乙醚中的溶液中。然后将反应混合物回流加热 3 小时。TLC 显示在反应混合物中无起始物质存在。将反应混合物冷却至室温并在氮气下静置过夜。将反应混合物冷却至 0°C 并在保持低于 20°C 的温度的同时用 102mL 4N HCl (水溶液) 逐滴处理。将 4N 硫酸 (203mL) 先逐滴快速滴加然后更快速滴加完。移去冰浴并馏出乙醚。将反应混合物在 80-90°C 加热 3.5 小时然后冷却至室温并静置过夜。将混合物用乙醚 (约 450mL) 和水 (100mL) 稀释。分离各层并将水层用乙醚 (2x 400mL) 萃取。合并有机层并用饱和碳酸氢钠水溶液 (600mL) 和盐水 (600mL) 洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并蒸发, 得到了副标题化合物, 其为橙色液体 (86.5g)。

[0253] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.96-7.91 (d, 2H), 7.54-7.49 (m, 1H), 7.48-7.40 (t, 2H), 3.48-3.37 (m, 1H), 1.98-1.88 (m, 2H), 1.85-1.44 (m, 10H).

[0254] b) (1- 氯 - 环庚基) - 苯基 - 甲酮

[0255]

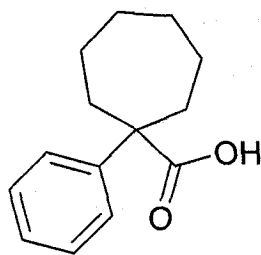


[0256] 在 0°C 历时约 1 小时将磺酰氯 (210mL) 逐滴加至纯的环庚基 - 苯基 - 甲酮 (实施例 3a) (86.5g) 中。观察到气体逸出和放热。在加入过程中内部温度保持低于 15°C 并将逸出气体经过 10.2M NaOH 水溶液进行涤洗。将反应混合物加热回流过夜。TLC 显示无残留的起始物质。将反应混合物冷却至 0°C 并在搅拌的同时缓慢倒入至冰 (1L) 上。分离各层并将水层用乙醚 (2x 400mL) 萃取。将合并的有机层用水 (600mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (600mL) 和盐水 (600mL) 洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并蒸发, 得到了副标题化合物, 其为棕色油状物 (100g)。

[0257] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.10-8.06 (d, 2H), 7.52-7.46 (t, 1H), 7.44-7.36 (t, 2H), 2.50 (ddd, 2H), 2.29 (ddd, 2H), 1.84-1.73 (m, 2H), 1.68-1.58 (m, 2H), 1.58-1.43 (m, 4H).

[0258] c) 1- 苯基 - 环庚烷羧酸

[0259]

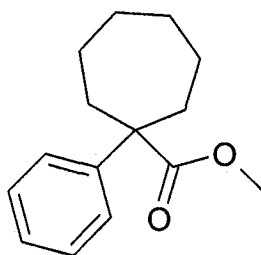


[0260] 将(1-氯-环庚基)-苯基-甲酮(实施例3b)(100g)在750mL二噁烷中的溶液逐滴快速用混浊的硝酸银(137g)在水(85mL)中的溶液处理,引起形成沉淀。将应混合物加热至5°C且保持5小时。TLC显示无起始物质残留。将反应混合物冷却至室温然后过滤并浓缩为约200mL。加入水(200mL)和乙醚(300mL)并分离各层。将水层用乙醚(2x250mL)萃取。将合并的有机层用10%碳酸钠水溶液(3x250mL)萃取。历时40分钟将合并的碱性萃取物加热至90°C然后冷却至室温并用浓HCl(水溶液)酸化。将所得的棕色固体滤出,用水(x2)洗涤并在50°C经真空干燥。将其由热乙醇(40mL)结晶得到副标题化合物,其为淡棕色结晶(9.83g)。

[0261] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.36-7.26(m, 4H), 7.21-7.15(m, 1H), 2.43-2.35(m, 2H), 2.07-1.98(m, 2H), 1.70-1.53(m, 8H).

[0262] d) 1-苯基-环庚烷羧酸甲酯

[0263]



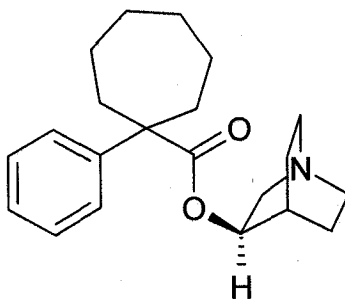
[0264] 在氮气气氛下将2.0M三甲基甲硅烷基重氮甲烷(29.2mL)的溶液逐滴加至1-苯基-环庚烷羧酸(实施例3c)(9.8g)在甲醇(85mL)和甲苯(300mL)中的溶液中。

[0265] 在45分钟后TLC显示无起始物质出现。将反应混合物真空浓缩并将粗产物经柱色谱法纯化(用0-10%乙酸乙酯/环己烷洗脱)。合并有关馏分,得到了产物,其为淡黄色油状物(9.25g)。

[0266] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CD_3OD) δ 7.32-7.24(m, 4H), 7.21-7.12(m, 1H), 3.60(s, 3H), 2.43-2.32(m, 2H), 2.07-1.96(m, 2H), 1.65-1.58(m, 8H).

[0267] e) 1-苯基-环庚烷羧酸(R)-(1-氮杂-二环[2.2.2]辛-3-基)酯

[0268]

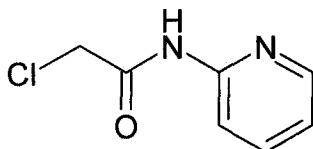


[0269] 将(R)-(3)-奎宁环醇(10.13g)和1-苯基-环庚烷羧酸甲酯(实施例3d)(9.25g)在甲苯(90mL)中的溶液用Dean-Stark脱水器加热回流且保持30分钟。将反应混合物冷却至室温并移去脱水器。在氮气下逐滴加入氢化钠(60%分散在矿物油中)(3.19g)并在氮气下将反应混合物加热回流过夜。TLC显示无起始物质残留。将反应混合物在冰浴中冷却并用乙酸乙酯(200mL)和水(200mL)稀释。将混合物过滤并分离各层。将水层用乙酸乙酯(2x 250mL)萃取并将合并的有机层用盐水洗涤,经硫酸镁干燥并蒸发,得到了粗产物,将其经硅胶色谱法纯化(用含有1%三乙胺的EtOAc洗脱)。合并有关馏分并蒸发,得到了副标题化合物,其为无色油状物(7.63g)。

[0270] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) δ 7.34-7.28(m, 4H), 7.23-7.17(m, 1H), 4.80-4.75(m, 1H), 3.12(ddd, 1H), 2.75-2.65(m, 3H), 2.53-2.37(m, 4H), 2.14-2.06(m, 2H), 1.88-1.85(m, 1H), 1.69-1.54(m, 10H), 1.54-1.42(m, 1H), 1.35-1.24(m, 1H)。

[0271] f) 2-氯-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺

[0272]

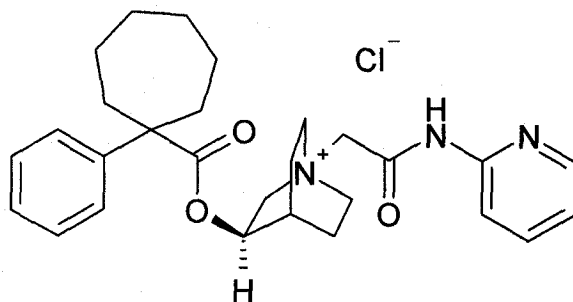


[0273] 在氮气下在0°C将2-氨基-吡啶(1.0g)在无水的二氯甲烷(10.6mL)中的溶液用三乙胺(1.63mL)处理,接着缓慢加入氯乙酰氯(0.93mL)。将反应混合物温热至室温。在2小时后,将混合物在二氯甲烷和水之间分配。分离各相并将水层用二氯甲烷(x2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩,得到了粗产物,将其经硅胶色谱法纯化(用0-30%乙酸乙酯/环己烷洗脱)。合并有关馏分并蒸发,得到了标题化合物(1.43g),其为粉红色固体。通过用40-60石油醚研磨完成进一步纯化,得到了1.15g预期产物。将0.94g一份的物质由回流的乙腈(2.4mL)结晶,得到了副标题化合物,其为粉红色固体(0.73g)。

[0274] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 8.96(s, 1H), 8.32(ddd, 1H), 8.21(d, 1H), 7.76(ddd, 1H), 7.12(ddd, 1H), 4.20(s, 2H)。

[0275] 实施例3:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷氯化物晶型A

[0276]



[0277] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (实施例 3e) (254mg) 在乙腈 (5mL) 中的溶液用 2-氯-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺 (实施例 3f) (46mg) 处理并将所得的黄色溶液在室温搅拌过夜, 在此过程中有固体沉淀。将反应混合物用两毫升乙醚处理并将固体滤出, 用乙醚洗涤并真空干燥, 得到了标题化合物 (217mg), 其为灰白色固体。通过由回流的乙腈 (20mL) 结晶完成纯化, 得到了 98mg 标题化合物, 其为白色晶状固体。

[0278] m/e 462 [M]⁺

[0279] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) : δ 11.09 (s, 1H), 8.34-8.32 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.85-7.79 (t, 1H), 7.33-7.25 (m, 4H), 7.21-7.13 (m, 2H), 5.07 (m, 1H), 4.29 (s, 2H), 4.07 (ddd, 1H), 3.65-3.51 (m, 4H), 3.41-3.29 (m, 1H), 2.36-2.23 (m, 2H), 2.17-2.04 (m, 2H), 1.99-1.81 (m, 3H), 1.78-1.66 (m, 1H), 1.77-1.19 (m, 9H).

[0280] 对实施例 3 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物晶型 A 的分析

[0281] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 3 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X' Pert system)、DSC 和 TGA 进行分析。

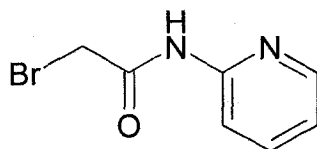
[0282] 经 DSC 确定的实施例 3 氯化物晶型 A 的熔化温度实测为 239°C (初始) (±2°C)。在熔化前经 TGA 所观察到的重量损失可以忽略。GVS 确定得到在 80% RH 的重量增加可以忽略 (% w/w) (±0.2%)。

[0283] 实施例 3 氯化物晶型 A 的 XRPD 谱在图 3 中显示。

[0284] 实施例 4 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物

[0285] a) 2-溴-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺

[0286]

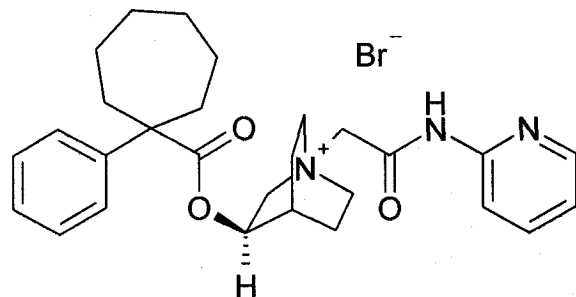


[0287] 向 2-氨基吡啶 (48.8mmol) 在无水 THF (98mL) 中的溶液在室温逐滴加入 Et₃N (58.6mmol) 和溴乙酰溴 (58.6mmol)。将混合物搅拌过夜并用饱和 NaHCO₃ (水溶液) 淬灭。将 EtOAc 加至混合物中并分离各层。将水相用 EtOAc 萃取并将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩, 得到了棕色固体。经快速硅胶色谱法纯化 (用 1-2% MeOH/ 二氯甲烷洗脱), 得到了副标题化合物, 其为黄色固体 (1.14g)。

[0288] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) : δ 8.75(s, 1H), 8.26(ddd, 1H), 8.10(d, 1H), 7.67(ddd, 1H), 7.03(ddd, 1H), 3.94(s, 2H).

[0289] 实施例 4 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物晶型 A

[0290]



[0291] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环[2.2.2]辛-3-基)酯 (实施例 3e) (0.79mmol) 和 2-溴-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺 (实施例 4a) (0.87mmol) 在无水 MeCN 中在室温一起搅拌 2.5 天。将反应混合物真空浓缩并将黄色固体经快速硅胶柱色谱法纯化 (用 2-8% MeOH/二氯甲烷洗脱), 得到了褐色固体。将固体在回流的 MeCN 中溶解并将溶液冷却至室温。将所得的结晶滤出并用少量冷的 MeCN 洗涤, 得到了标题化合物 (211mg), 其为白色晶状固体。

[0292] m/e 462 [M]⁺

[0293] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 11.02(s, 1H), 8.33(ddd, 1H), 7.97(d, 1H), 7.86-7.80(m, 1H), 7.32-7.25(m, 4H), 7.23-7.12(m, 2H), 5.09-5.04(m, 1H), 4.23(s, 2H), 4.06(ddd, 1H), 3.63-3.49(m, 4H), 3.41-3.29(m, 1H), 2.37-2.22(m, 2H), 2.17-2.04(m, 2H), 1.98-1.83(m, 3H), 1.78-1.66(m, 1H), 1.65-1.39(m, 9H).

[0294] 对实施例 4 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物晶型 A 的分析

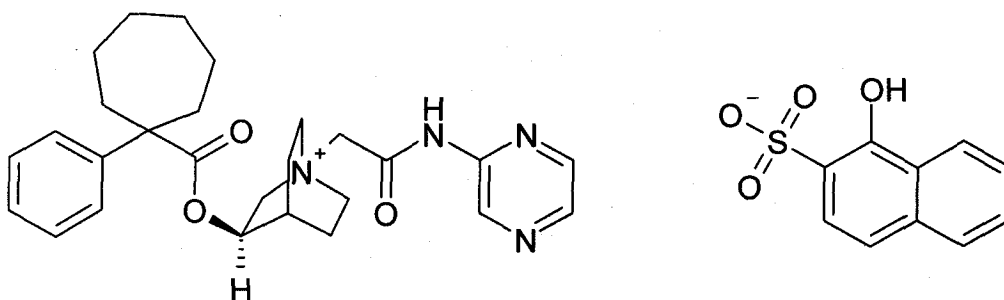
[0295] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 4 晶型 A 的样品用 XRPD(PANalytical X'Pert system)、DSC 和 TGA 进行分析。

[0296] 经 DSC 确定的实施例 4 溴化物晶型 A 的熔化温度实测为 230°C (初始) ($\pm 2^\circ\text{C}$)。在熔化前经 TGA 所观察到的重量损失可以忽略。GVS 确定得到在 80% RH 的重量增加可以忽略 (% w/w) ($\pm 0.2\%$)。

[0297] 实施例 4 溴化物晶型 A 的 XRPD 谱在图 4 中显示。

[0298] 实施例 5 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷 1-羟基-萘-2-磺酸盐晶型 A

[0299]



[0300] 在分液漏斗中将 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物(实施例2)(100mg)和1-羟基萘-2-磺酸钾盐(200mg)在水(10mL)和二氯甲烷(25mL)之间分配。分离二氯甲烷并用水(10mL)洗涤并干燥有机层,蒸发,得到了固体,将其由乙腈重结晶,得到了标题化合物,其为固体(97mg)。

[0301] m/e 463[M]⁺

[0302] ¹H NMR(400MHz, DMSO-D₆) δ 11.61(s, 1H), 11.36(s, 1H), 9.28(s, 1H), 8.49-8.45(m, 2H), 8.17(d, 1H), 7.81(d, 1H), 7.56-7.46(m, 3H), 7.38-7.29(m, 5H), 7.27-7.21(m, 1H), 5.16-5.09(m, 1H), 4.30(s, 2H), 4.16-4.07(m, 1H), 3.68-3.54(m, 4H), 3.48-3.35(m, 1H), 2.42-2.27(m, 2H), 2.25-2.10(m, 2H), 2.03-1.89(m, 3H), 1.84-1.71(m, 1H), 1.66-1.51(m, 9H).

[0303] 对实施例5:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷1-羟基-萘-2-磺酸盐晶型A的分析

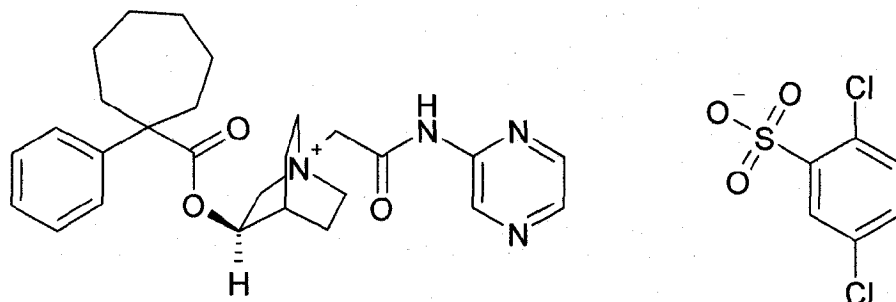
[0304] 将通过上述操作得到的结晶的实施例5晶型A的样品用XRPD(PANalytical X'Pert或者CubiX system)和DSC进行分析。

[0305] 经DSC确定的实施例5的1-羟基-萘-2-磺酸盐晶型A的熔化温度实测为193°C(初始)($\pm 2^\circ\text{C}$)。GVS确定得到在80%RH的重量增加可以忽略,接近0.3%(%w/w)($\pm 0.2\%$)。

[0306] 实施例5的1-羟基-萘-2-磺酸盐晶型A的XRPD谱在图5中显示。

[0307] 实施例6:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷2,5-二氯-苯磺酸盐晶型A

[0308]



[0309] 在分液漏斗中将 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物(实施例2)(100mg)在水(10mL)和二氯甲烷(25mL)中混悬。加入2,5-二氯苯磺酸钠盐水溶液(0.1M, 8mL)并振摇混合物。分离二氯甲

烷并用水 (10mL) 洗涤并干燥有机层, 蒸发, 得到了固体, 将其由乙腈 / 乙醚重结晶, 得到了标题化合物 (81mg)。

[0310] m/e 463 [M]⁺

[0311] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.36 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.49-8.44 (m, 2H), 7.83 (d, 1H), 7.43-7.31 (m, 6H), 7.27-7.22 (m, 1H), 5.16-5.09 (m, 1H), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.16-4.07 (m, 1H), 3.69-3.55 (m, 4H), 3.48-3.36 (m, 1H), 2.42-2.28 (m, 2H), 2.23-2.10 (m, 2H), 2.03-1.87 (m, 3H), 1.83-1.72 (m, 1H), 1.69-1.46 (m, 9H).

[0312] 对实施例 6 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷 2,5-二氯-苯磺酸盐晶型 A 的分析

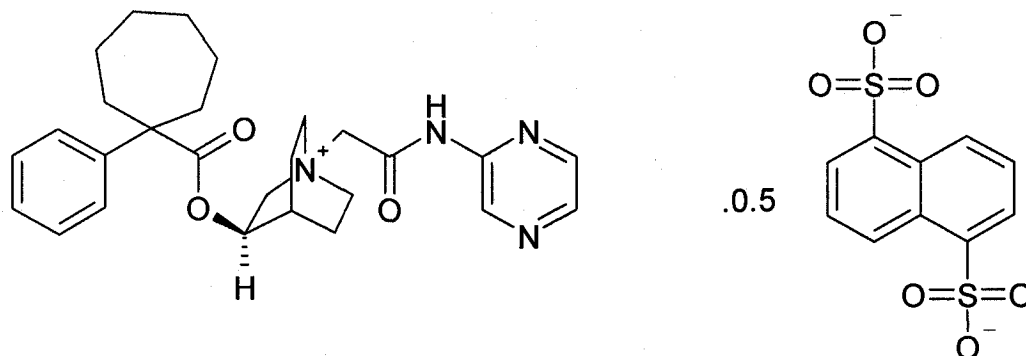
[0313] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 6 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X'Pert system) 和 DSC 进行分析。

[0314] 经 DSC 确定的实施例 6 的 2,5-二氯-苯磺酸盐晶型 A 的熔化温度实测为 158°C (初始) (±2°C)。GVS 确定得到在 80% RH 的重量增加可以忽略, 接近 0.2% (% w/w) (±0.2%)。

[0315] 实施例 6 的 2,5-二氯-苯磺酸盐晶型 A 的 XRPD 谱在图 6 中显示。

[0316] 实施例 7 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A

[0317]



[0318] 将 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物 (实施例 2) (100mg) 在二氯甲烷 (25mL) 中的溶液用 4x 10mL 萘-1,5-二磺酸二钠盐水溶液 (通过将 2.88g 酸加至 1.68g 碳酸氢钠中制备 100mL 溶液) 洗涤。收集有机相并干燥 (MgSO₄) 然后到干燥。将残余物在丙酮 (1mL) 和乙醚 (3mL) 中溶解并将溶液结晶, 得到了标题化合物 (78mg)。

[0319] m/e 463 [M]⁺

[0320] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.10 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.94 (d, 1H), 8.43 (d, 2H), 7.94 (d, 1H), 7.28-7.38 (m, 5H), 7.17-7.26 (m, 1H), 5.09-5.17 (m, 1H), 4.25-4.32 (m, 2H), 4.05-4.16 (m, 1H), 3.54-3.68 (m, 4H), 3.35-3.50 (m, 1H), 2.96-3.04 (m, 3H), 2.28-2.41 (m, 1H), 2.10-2.26 (m, 1H), 1.90-2.10 (m, 2H), 1.73-1.86 (m, 1H), 1.48-1.72 (m, 9H).

[0321] 对实施例 7 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的分析

[0322] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 7 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X' Pert 或者 CubiX system) 和 DSC 进行分析。

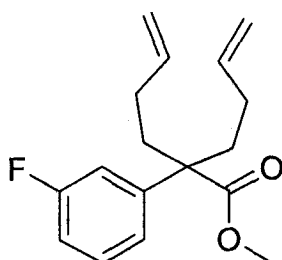
[0323] 经 DSC 确定的实施例 7 的半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的熔化温度实测为 222°C (初始) ($\pm 2^\circ\text{C}$)。GVS 确定得到在 80% RH 的 1.6% 重量增加 (% w/w) ($\pm 0.2\%$)。

[0324] 实施例 7 的半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的 XRPD 谱在图 7 中显示。

[0325] 实施例 8 : (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物

[0326] a) 2-(丁-3-烯基)-2-(3-氟-苯基)-己-5-烯酸甲酯

[0327]

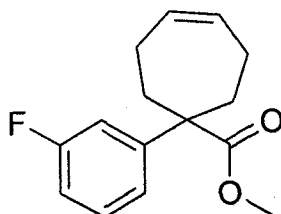


[0328] 将 (3-氟-苯基)-乙酸甲酯 (4.30g) 在四氢呋喃 (20mL) 中溶解并冷却至 -78°C 。加入二(三甲基甲硅烷基)氨基锂 (25.6mL, 1M THF 溶液) 并将溶液搅拌 30 分钟。加入 4-溴-丁-1-烯 (2.60mL) 并将反应混合物温热至室温且搅拌一小时。再将反应混合物冷却至 -78°C 。加入二(三甲基甲硅烷基)氨基锂 (25.6mL, 1M THF 溶液) 并将溶液搅拌 30 分钟。加入 4-溴-1-丁烯 (2.60mL) 并将反应混合物温热至室温且搅拌一小时。在进行以上概述的操作之后,接着再将反应混合物冷却至 -78°C 并再次加入等份的二(三甲基甲硅烷基)氨基锂 (25.6mL, 1M THF 溶液) 和 4-溴-1-丁烯 (2.60mL)。在搅拌过夜后,加入水 (20mL) 并将反应混合物用乙醚 (2x 60mL) 萃取。将合并的有机萃取物用硫酸镁干燥并蒸发。将所得的液体经硅胶柱色谱法纯化 (用乙酸乙酯 / 异己烷 (1/99) 洗脱), 得到了副标题化合物 (5.0g)。

[0329] m/e 277 [M+H]⁺

[0330] b) 1-(3-氟-苯基)-环庚-4-烯羧酸甲酯

[0331]



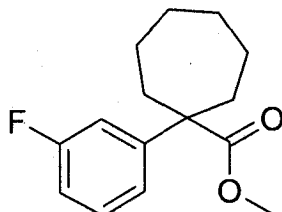
[0332] 向 2-(丁-3-烯基)-2-(3-氟-苯基)-己-5-烯酸甲酯 (实施例 8a) (5.0g) 在二氯甲烷 (100mL) 中的溶液中加入 Grubbs 催化剂 (2nd Generation, Sigma-Aldrich Company Ltd) (0.05g)。将混合物在氮气下温热至回流。在 20 小时后,将反应混合物冷却至室温,蒸发为油状物并经硅胶柱色谱法纯化 (用乙酸乙酯 / 异己烷 (5/95) 洗脱), 生成了油状物。对产物的分析显示在混合物中存在有显著量的起始物质, 因此使混合物经历重复的反应条

件并如上纯化,得到了副标题化合物,其为无色油状物 (3.60g)。

[0333] m/e 249 [M+H]⁺

[0334] c) 1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧酸甲酯

[0335]

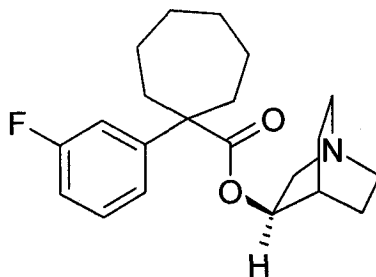


[0336] 将 1-(3-氟-苯基)-环庚-4-烯羧酸甲酯 (实施例 8b) (1.09g) 在甲醇 (20mL) 中溶解,加入钯/炭 (50mg) 并在 4atm 的氢气下将混合物搅拌过夜。将溶液过滤并蒸发,得到了副标题化合物 (1.09g)。

[0337] m/e 251 [M+H]⁺

[0338] d) 1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯

[0339]



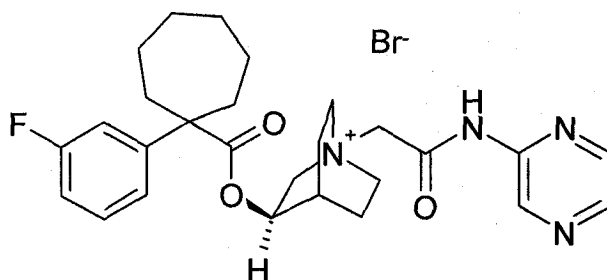
[0340] 将 1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧酸甲酯 (实施例 8c) (0.280g) 在甲苯 (100mL) 中溶解并加入 (R)-奎宁环-3-醇 (0.320g)。在 Dean 和 Stark 装置中将甲苯 (10mL) 馏出并在冷却后加入氢化钠 (10mg)。将反应混合物在 Dean 和 Stark 装置中回流 4 小时,此后加入额外量的氢化钠 (10mg) 并将反应混合物再回流 4 小时。在冷却至室温后,将甲苯用水洗涤,干燥并蒸发。将残余物经柱色谱法纯化 (用乙酸乙酯/异己烷/三乙胺 (50/50/1),然后用乙酸乙酯/三乙胺 (99/1) 洗脱),得到了副标题化合物 (0.200g)。

[0341] m/e 346 [M+H]⁺

[0342] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.26 (td, 1H), 7.10-7.07 (m, 1H), 7.04 (dd, 1H), 6.90 (ddd, 1H), 4.78-4.73 (m, 1H), 3.14 (ddd, 1H), 2.79-2.66 (m, 3H), 2.66-2.56 (m, 1H), 2.53-2.46 (m, 1H), 2.46-2.36 (m, 2H), 2.13-1.99 (m, 2H), 1.90-1.85 (m, 1H), 1.73-1.40 (m, 11H), 1.29-1.18 (m, 1H).

[0343] 实施例 8 : (R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧基氧基]-1-(吡嗪-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物

[0344]



[0345] 将1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧酸(R)-(1-氮杂-二环[2.2.2]辛-3-基)酯(实施例8d)(0.100g)在乙腈(8mL)中溶解并加入2-溴-N-(吡嗪-2-基)-乙酰胺(实施例1f)(0.05g)。将反应混合物搅拌3天,用乙醚(8mL)稀释,再搅拌10分钟,将所得的固体过滤并用乙醚(3x 8mL)洗涤,得到了固体,将其由热丁酮(8mL)重结晶,得到了标题化合物,其为固体(0.081g)。

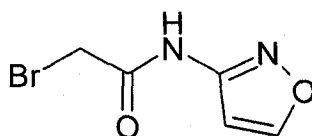
[0346] m/e 481[M⁺]

[0347] ¹H NMR(400MHz, DMSO-D₆) δ 11.42(s, 1H), 9.28(s, 1H), 8.49-8.45(m, 2H), 7.40(td, 1H), 7.19-7.12(m, 2H), 7.09(td, 1H), 5.17-5.10(m, 1H), 4.40-4.30(m, 2H), 4.16-4.07(m, 1H), 3.71-3.57(m, 4H), 3.52-3.41(m, 1H), 2.43-2.27(m, 2H), 2.26-2.19(m, 1H), 2.19-2.09(m, 1H), 2.05-1.87(m, 3H), 1.86-1.76(m, 1H), 1.71-1.46(m, 9H).

[0348] 实施例9:(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物

[0349] a)2-溴-N-(异噁唑-3-基)-乙酰胺

[0350]

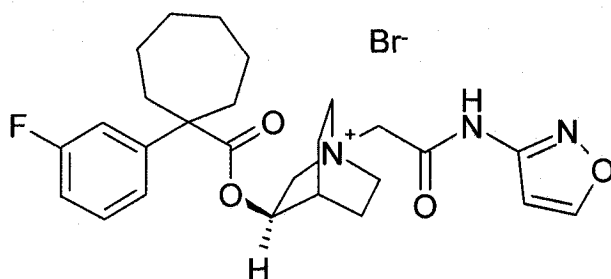


[0351] 将异噁唑-3-基胺(1.14g)在二氯甲烷(50mL)中溶解并加入碳酸钾(3.74g)。在搅拌的同时缓慢加入溴乙酰氯(1.12mL)并将混悬液搅拌过夜。将反应混合物用水(2x 50mL)洗涤,干燥并蒸发。将产物由二氯甲烷/异己烷重结晶,得到了副标题化合物(2.3g)。

[0352] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 8.94(s, 1H), 8.34(s, 1H), 7.06(s, 1H), 4.03(s, 2H).

[0353] 实施例9:(R)-3-[1-(3-氟-苯基)-环庚烷羰基氧基]-1-(异噁唑-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环[2.2.2]辛烷溴化物

[0354]



[0355] 将1-(3-氟-苯基)-环庚烷羧酸(R)-(1-氮杂-二环[2.2.2]辛-3-基)酯(实施例8d)(50mg)和2-溴-N-(异噁唑-3-基)-乙酰胺(实施例9a)(30mg)在乙腈(4mL)中

溶解并搅拌过夜。将溶液用乙醚 (12mL) 稀释并搅拌过夜。将所得的结晶滤出,用乙醚 (3x 10mL) 洗涤并干燥,得到了标题化合物,其为固体 (48mg)。

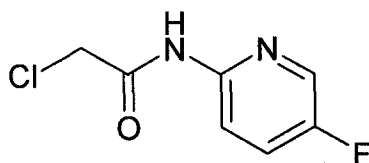
[0356] m/e 470 [M⁺]

[0357] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.69 (s, 1H), 8.90 (d, 1H), 7.40 (td, 1H), 7.18-7.07 (m, 3H), 6.91 (d, 1H), 5.16-5.10 (m, 1H), 4.31 (d, 1H), 4.25 (d, 1H), 4.09 (ddd, 1H), 3.68-3.53 (m, 4H), 3.43 (dd, 1H), 2.42-2.27 (m, 2H), 2.25-2.19 (m, 1H), 2.18-2.09 (m, 1H), 2.04-1.88 (m, 3H), 1.85-1.75 (m, 1H), 1.69-1.51 (m, 9H).

[0358] 实施例 10 : (R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物

[0359] a) 2-氯-N-(5-氟-吡啶-2-基)-乙酰胺

[0360]

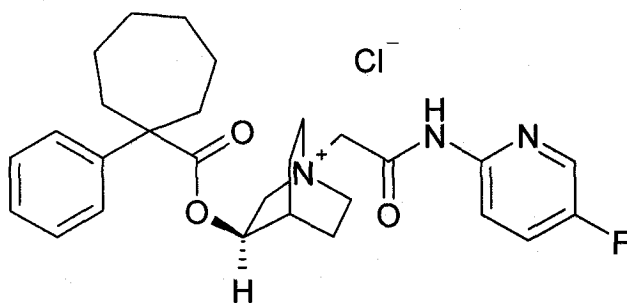


[0361] 副标题化合物 (0.99g, 73%, 白色固体) 根据在实施例 3f 中所用的方法使用 2-氨基-5-氟-吡啶制备。

[0362] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 10.91 (s, 1H), 8.35 (d, 1H), 8.10 (dd, 1H), 7.80-7.74 (m, 1H), 4.34 (s, 2H).

[0363] 实施例 10 : (R)-1-[(5-氟-吡啶-2-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物

[0364]



[0365] 将 2-氯-N-(5-氟-吡啶-2-基)-乙酰胺 (实施例 10a) (31mg) 加至 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (实施例 3e) (49mg) 在乙腈 (1mL) 中的溶液中。将反应混合物在室温搅拌过夜。将乙醚 (2mL) 加至反应混合物中并将白色固体滤出,用乙醚洗涤几次并在 40°C 真空干燥,得到了标题化合物 (49mg)。

[0366] m/e 480 [M⁺]

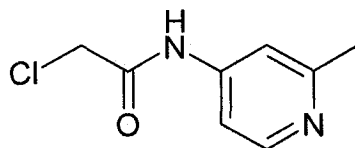
[0367] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.19 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.81 (ddd, 1H), 7.33-7.26 (m, 4H), 7.22-7.17 (m, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.26 (s, 2H), 4.11-4.03 (m, 1H), 3.64-3.50 (m, 4H), 3.41-3.29 (m, 1H), 2.36-2.23 (m, 2H), 2.17-2.05 (m, 2H), 1.99-1.82 (m, 3H), 1.78-1.65 (m, 1H), 1.70-1.41 (m, 9H).

[0368] 实施例 11 : (R)-1-[(2-甲基-吡啶-4-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环

庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物

[0369] a) 2-氯-N-(2-甲基-吡啶-4-基)-乙酰胺

[0370]

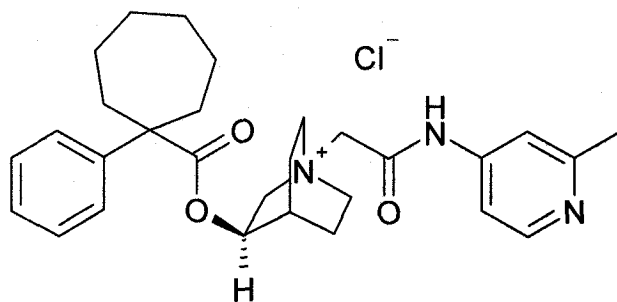


[0371] 副标题化合物 (1.0g) 根据在实施例 3f 中所用的方法使用 4-氨基-2-甲基吡啶制备。

[0372] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-D_6) δ 10.64 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.38-7.35 (m, 1H), 4.30 (s, 2H), 2.42 (s, 3H).

[0373] 实施例 11: (R)-1-[(2-甲基-吡啶-4-基氨基甲酰基)-甲基]-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物

[0374]



[0375] 标题化合物使用类似于在制备实施例 10 中所用的操作制备。经硅胶色谱法纯化 (用 0-20% MeOH/二氯甲烷洗脱) 完成进一步纯化, 得到了标题化合物, 其为白色固体 (57mg)。

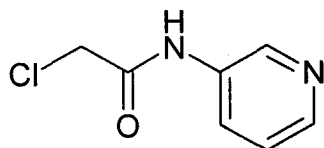
[0376] m/e 476 $[\text{M}]^+$

[0377] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-D_6) δ 11.32 (s, 1H), 8.31 (d, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.35-7.26 (m, 5H), 7.22-7.16 (m, 1H), 5.09-5.04 (m, 1H), 4.30 (dd, 2H), 4.09-4.01 (m, 1H), 3.64-3.49 (m, 4H), 3.41-3.29 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.39-2.23 (m, 2H), 2.17-2.05 (m, 2H), 1.97-1.82 (m, 3H), 1.78-1.65 (m, 1H), 1.65-1.41 (m, 9H).

[0378] 实施例 12: (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物

[0379] a) 2-氯-N-(吡啶-3-基)-乙酰胺

[0380]



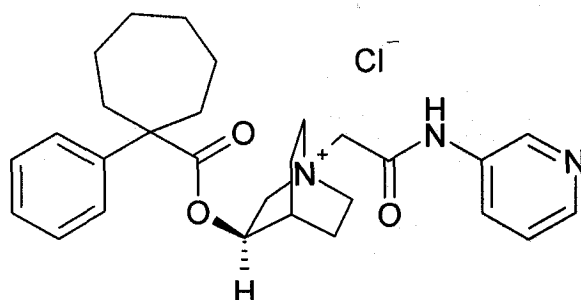
[0381] 将 3-氨基吡啶 (350mg) 和氢氧化钠 (0.6g) 的混合物在水 (8mL) 中溶解并将反应混合物在冰浴中冷却。逐滴加入氯乙酰氯 (1.19mL) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用二氯甲烷萃取并将有机层浓缩并经柱色谱法纯化 (用 0-60% 乙酸乙酯/环己

烷洗脱),得到了副标题化合物(0.10g),其为白色固体。

[0382] ^1H NMR(400MHz, DMSO- D_6) δ 10.51(s, 1H), 8.73(d, 1H), 8.30(dd, 1H), 8.03(ddd, 1H), 7.40-7.35(m, 1H), 4.30(s, 2H).

[0383] 实施例 12:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷氯化物

[0384]



[0385] 标题化合物(78mg)经类似于在实施例 3 中所用的方法使用 2-氯-N-(吡啶-3-基)-乙酰胺代替 2-溴-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺进行制备。

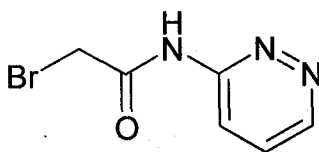
[0386] m/e 462[M]⁺

[0387] ^1H NMR(400MHz, DMSO- D_6) δ 11.27(s, 1H), 8.76(d, 1H), 8.30(dd, 1H), 7.98(ddd, 1H), 7.37(ddd, 1H), 7.33-7.25(m, 4H), 7.22-7.15(m, 1H), 5.07(d, 1H), 4.28(dd, 2H), 4.11-4.03(m, 1H), 3.65-3.50(m, 4H), 3.41-3.29(m, 1H), 2.37-2.21(m, 2H), 2.19-2.05(m, 2H), 1.97-1.83(m, 3H), 1.78-1.66(m, 1H), 1.71-1.27(m, 9H).

[0388] 实施例 13:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(哒嗪-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物

[0389] a) 2-溴-N-(哒嗪-3-基)-乙酰胺

[0390]

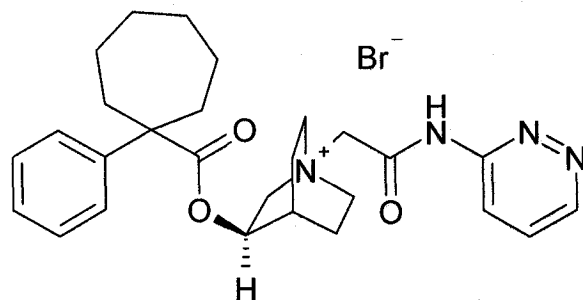


[0391] 在 0℃向哒嗪-3-基胺(2.7g)和二异丙基乙基胺(6.3mL)在二氯甲烷(100mL)中的混悬液中逐滴加入溴乙酸酐(9.0g)在二氯甲烷(10mL)中的溶液。将混合物在 0℃搅拌 0.5 小时然后温热至室温。将所得的混悬液过滤,用二氯甲烷洗涤并干燥,得到了副标题化合物,其为固体(2.0g)。

[0392] ^1H NMR(400MHz, DMSO- D_6) δ 11.51(s, 1H), 9.00(dd, 1H), 8.28(dd, 1H), 7.74-7.68(m, 1H), 4.15(s, 2H).

[0393] 实施例 13:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(哒嗪-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物

[0394]



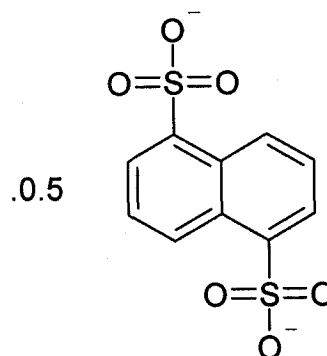
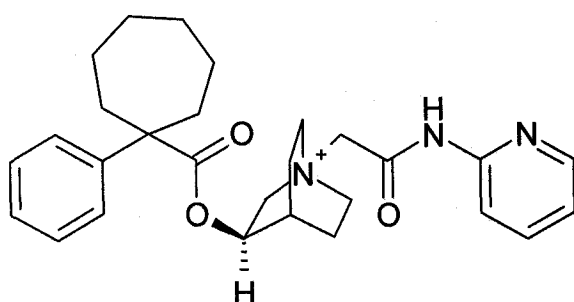
[0395] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (实施例 1e) (0.160g) 和 2-溴-N-(吡啶-3-基)-乙酰胺 (实施例 13a) (0.106g) 在乙腈 (1mL) 中溶解并静置过夜。减压除去溶剂并将残余物经硅胶柱色谱法纯化 (用甲醇/二氯甲烷 (1 : 9) 洗脱), 得到了标题化合物, 其为固体 (180mg)。

[0396] m/e 463 [M]⁺

[0397] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ 11.68 (s, 1H), 9.06 (dd, 1H), 8.25 (d, 1H), 7.79 (dd, 1H), 7.39-7.30 (m, 4H), 7.27-7.21 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.16-4.06 (m, 2H), 3.69-3.56 (m, 4H), 3.46-3.36 (m, 1H), 2.43-2.27 (m, 2H), 2.24-2.10 (m, 2H), 2.04-1.89 (m, 3H), 1.84-1.71 (m, 1H), 1.68-1.45 (m, 8H)。

[0398] 实施例 14 : (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-3-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A

[0399]



[0400] 将 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷氯化物 (实施例 3) (100mg) 在二氯甲烷 (4mL) 中的溶液与萘-1,5-二磺酸二钠盐 (73mg 在 2mL H₂O 中) 的水溶液振摇。收集有机相并将水层用二氯甲烷 (4mL) 萃取。将合并的有机层经过相分离筒分离并将所得的溶液蒸发, 得到了无色油状物。将残余物用乙醚研磨并将所得的固体经过滤收集, 用乙醚洗涤并在 50℃ 真空干燥。将固体在热乙腈 (1mL) 中溶解然后蒸发, 得到了泡沫状物, 然后将其在丙酮 (2mL) 中溶解。将混合物静置 48 小时, 此时出现结晶。将所得的晶体经过滤收集, 用冰冷的丙酮洗涤然后在 50℃ 真空干燥, 得到了标题化合物, 其为白色固体 (67mg)。

[0401] m/e 462 [M]⁺

[0402] ¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) : δ 11.06 (s, 1H), 8.85-8.88 (d, 1H), 8.40-8.36 (d, 1H), 7.98-8.06 (d, 1H), 7.91-7.94 (dd, 1H), 7.90-7.85 (dd, 1H), 7.42-7.36 (dd, 1H), 7.33-7.25 (m, 4H), 7.21-7.13 (m, 2H), 5.07 (m, 1H), 4.29 (s, 2H), 4.07 (ddd, 1H),

3.65-3.51 (m, 4H), 3.41-3.29 (m, 1H), 2.36-2.23 (m, 2H), 2.17-2.04 (m, 2H), 1.99-1.81 (m, 3H), 1.78-1.66 (m, 1H), 1.77-1.19 (m, 9H).

[0403] 对实施例 14:(R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的分析

[0404] 将通过上述操作得到的结晶的实施例 14 晶型 A 的样品用 XRPD (PANalytical X'Pert 或者 CubiX system) 和 DSC 进行分析。

[0405] 经 DSC 确定的实施例 14 的半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的熔化温度实测为 198°C (初始) ($\pm 2^\circ\text{C}$)。GVS 确定得到在 80% RH 的重量增加为 1% (% w/w) ($\pm 0.3\%$)。

[0406] 实施例 14 的半-萘-1,5-二磺酸盐晶型 A 的 XRPD 谱在图 8 中显示。(R)-3-(1-苯基-环庚烷羧基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物 (实施例 4) 的替代制备

[0407] 一般条件:除非另作说明,所有反应在惰性气氛(氮气)下进行;试剂和溶剂可商购得到并按标准使用;使用试剂级别溶剂。

[0408] (a) 环庚烷羧酸甲酯

[0409] 将环庚烷羧酸 (3.75kg) 和甲醇 (37.50L) 装入反应容器中并将所得的混合物搅拌。装入硫酸 (100%, 51.73g), 温度升至 60°C 并继续搅拌 18 小时。经减压蒸馏除去甲醇, 得到了总体积为 11.25L。装入甲苯 (37.50L) 并再经减压蒸馏除去 15L 溶剂。进行 ^1H NMR 光谱分析以证实甲醇不再存在于溶液中。将混合物冷却至环境温度并用甲苯 (7.50L) 稀释。装入饱和碳酸氢钠水溶液 (18.75L)。将反应混合物搅拌 15 分钟, 然后停止搅拌并分离各层。将下层水层除去以弃去。装入饱和氯化钠水溶液 (18.75L)。将反应混合物搅拌 15 分钟, 然后停止搅拌并分离各层。将下层水层除去以弃去。将粗产物溶液经减压共沸蒸馏干燥, 除去 7.5L 甲苯, 得到 28.3kg 14.08% w/w 的环庚烷羧酸甲酯在甲苯中的溶液。

[0410] (b) 1-苯基-环庚烷羧酸甲酯

[0411] 将二异丙基胺 (3.44kg) 和甲苯 (16.52kg) 装入第一反应容器中并在搅拌的同时冷却至 0°C。加入 N-己基锂 (8.81kg, 33% w/w), 保持温度为 5°C \pm 5°C。将混合物在此温度搅拌 20 分钟。首先将环庚烷羧酸甲酯 (14.08% w/w 在甲苯中的溶液; 26.93kg) 经减压蒸馏除去 11.37L 甲苯进行浓缩, 然后装入第一反应容器中, 保持温度为 5°C \pm 5°C。将内容物温热至 20°C, 在此温度搅拌 20 分钟, 然后冷却回到 0°C。在惰性气氛下在环境温度向第二反应容器中装入二(三-叔丁基膦)二溴化二钯(I) (Johnson Matthey Pd-113; 189.15g)、溴苯 (3.06L) 和甲苯 (7.58L)。将第二容器的内容物以温度保持在 5°C \pm 5°C 的速率装入第一容器中, 用甲苯 (3.79L) 线性洗涤 (line wash)。将混合物在 0°C 搅拌 1 小时, 然后温热至 20°C 并在此温度搅拌过夜。加入 2M 盐酸 (18.96L), 同时保持温度低于 30°C, 然后将混合物在 20°C 搅拌 15 分钟, 停止搅拌并分离各层。将下层水层除去以弃去。加入第二批 2M 盐酸 (18.96L), 然后将混合物在 20°C 搅拌 15 分钟, 停止搅拌并分离各层。将下层水层除去以弃去。装入水 (18.96L), 并将混合物在 20°C 搅拌 15 分钟, 然后停止搅拌并分离各层。将下层水层除去以弃去。将粗产物溶液经过含有 Phosphonics SPM32 净化剂的柱, 然后在旋转薄膜蒸发器上减压蒸干, 得到了 1-苯基-环庚烷羧酸甲酯, 其为流动的棕色油状物 (3.12kg)。

[0412] (c) 1-苯基-环庚烷羧酸

[0413] 将氢氧化钠 (12.64kg) 在水 (31.60L) 中溶解并冷却至 20°C。加入 1-苯基-环

庚烷羧酸甲酯 (6.32kg) 在甲醇 (31.60L) 中的溶液,接着用甲醇 (5L) 线性淋洗。将混合物在 60°C 搅拌 18 小时,然后冷却至 20°C。加入浓盐酸 (29.43L) 以沉淀出固体,保持温度低于 50°C,然后将混合物冷却至 20°C 并搅拌 18 小时。将粗产物经过滤收集并用水 (31.60L) 洗涤,然后在甲醇 (37.41L) 和水 (9.35L) 中分散。将混合物在搅拌的同时以 1°C / 分钟的速率加热至 62°C 然后以 0.3°C / 分钟的速率冷却至 5°C 并保持在 5°C 过夜。将产物经过滤收集,用水 (2x 12.64L) 洗涤并在真空烘箱中在 40°C 干燥 72 小时,得到了 1-苯基-环庚烷羧酸 (5.60kg)。

[0414] (d) 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯

[0415] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (2.70kg) 和丁腈 (21.60L) 装入第一反应容器中。将内容物在搅拌的同时加热至 70±5°C,得到了均匀溶液。向第二反应容器中装入 1,1'-羰基二咪唑 (1.1 当量 (摩尔浓度); 2.16kg) 和丁腈 (10.80L)。将内容物在搅拌的同时加热至 50±5°C。将第一容器中的内容物转移至第二容器中,温度升至 70±5°C 并继续搅拌 30±15 分钟。将 (R)-(-)-3-奎宁环醇 (1.67kg) 和丁腈 (8.10L) 装入第一反应容器中,接着装入叔戊酸钾 (7.32L)。将该混合物搅拌 15 分钟,然后加至第二容器中,接着用丁腈 (1.35L) 线性淋洗。将混合物在 70°C 搅拌 18 小时然后冷却至 20°C。装入 1M 盐酸 (29.70L),接着装入足量的浓盐酸以使 pH 减小至低于 7 (加入 2.276kg)。将混合物搅拌 15 分钟,停止搅拌并分离各层。将下层除去以弃去。装入饱和碳酸氢钠水溶液 (27.00L)。将混合物搅拌 15 分钟,停止搅拌并分离各层。将下层除去以弃去。通过减压蒸馏除去溶剂,得到了 31.9% w/w 的副标题产物的溶液 (10.73kg 溶液和 3.42kg 产物)。

[0416] (e) (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物

[0417] 向在第一反应容器中的溴乙酸 (3.00kg) 在乙酸甲酯 (24.18L) 中的溶液中装入 1-丙烷膦酸环酐 (T3P) (19.51L) 在乙酸甲酯中的溶液 (50% w/w 的溶液)。将内容物在搅拌的同时冷却至 5°C,然后装入预冷却至 10°C 的 2-吡啶胺 (8.13kg) 在乙酸甲酯 (24.29L) 中的溶液,保持容器内容物的温度低于 5°C。将混合物搅拌 1 小时,然后停止搅拌并分离各层。将下层分离以弃去。将残留的含有 2-溴-N-(吡啶-2-基)-乙酰胺 (42.04kg, 3.90% w/w) 的溶液转移至第二反应容器中并冷却至 0°C。

[0418] 将 1-苯基-环庚烷羧酸 (R)-(1-氮杂-二环 [2.2.2] 辛-3-基) 酯 (31.9% w/w 在丁腈中的溶液; 7.88kg) 装入第二反应容器中并将混合物在 0°C 搅拌 18 小时。将固体产物经过滤收集,用乙酸甲酯 (6.22L) 洗涤并在真空烘箱中干燥,得到了粗产物 (3.51kg, 90.5% w/w 3.17kg 总计)。

[0419] 将粗产物 (3.48kg) 在乙醇 (69.62L) 中的溶液加热至 75°C 直到全部溶解。将溶液经 1.2 微米滤器过滤,然后以 0.3°C / 分钟的速率冷却至 0°C 并在此温度搅拌 18 小时。将固体产物经过滤收集,用乙醇 (7.47L) 洗涤并在真空烘箱中在 50°C 干燥 48 小时,得到了纯化的产物 (2.82kg)。

[0420] 毒蕈碱性拮抗剂的生物活性

[0421] 毒蕈碱性拮抗剂的化合物的抑制作用经毒蕈碱性受体放射性配体结合测定进行确定。

[0422] 放射性配体结合研究所用的 [³H]-N-甲基东莨菪碱 ([³H]-NMS) 以及表达人毒蕈碱

性受体 (M2 或者 M3) 的可商购得到的细胞膜用于评价毒蕈碱性拮抗剂对 M2 和 M3 受体的亲和性。将在 TRIS 缓冲液中的膜与 $[^3\text{H}]$ -NMS 和各种浓度的 M3 拮抗剂在 96 孔板中培养 3 小时。然后将膜和结合的放射性配体经过滤收集并干燥过夜。然后加入闪烁液并对结合的放射性配体使用 Canberra Packard Topcount 闪烁计数器进行计数。

[0423] 拮抗剂对各毒蕈碱性受体的半衰期使用备选的放射性配体 $[^3\text{H}]$ -QNB 以及改良过的上述亲和性测定进行测量。将拮抗剂以高于用 $[^3\text{H}]$ -QNB 配体确定的 K_i 值的 10 倍的浓度的拮抗剂与表达人毒蕈碱性受体的膜培养 3 小时。在此段时间结束时,加入 $[^3\text{H}]$ -QNB 以达到高于其对于所研究的受体的 K_d 值的 25 倍的浓度并继续在由 15 分钟至 180 分钟的各种时间段进行培养。然后将膜和结合的放射性配体经过滤收集并干燥过夜。然后加入闪烁液并对结合的放射性配体使用 Canberra Packard Topcount 闪烁计数器进行计数。

[0424] 对 $[^3\text{H}]$ -QNB 与毒蕈碱性受体结合进行检测的速率与拮抗剂从受体分离的速率相关,即与拮抗剂对受体的半衰期相关。

[0425] 表 1 显示对于实施例 1 的 pIC_{50} 值。

[0426] 表 1

[0427]

实施例的化合物编号	M3pIC ₅₀
1	10.1

[0428] 表 2 给出了对于实施例化合物的 IC₅₀ 强度。

[0429] 表 2

[0430]

实施例的化合物编号	M3pIC ₅₀
3	+++
8	+++
9	+++
10	+++
11	+++
12	+++
13	+++

[0431] M3 结合 IC₅₀ < 2nM “+++”; IC₅₀ = 2-10nM “++”; IC₅₀ > 10nM “+”; NT- 为检测到。

[0432] β₂-肾上腺素受体激动剂的制备

[0433] 可在本发明的组合中使用的下述 β₂-肾上腺素受体激动剂可如下制备。

[0434] 对于制备 β₂-肾上腺素受体激动剂的一般实验细节

[0435] ¹H NMR 光谱在 Varian Inova 400MHz 或者 Varian Mercury-VX 300MHz 仪器上记

录。氯仿-d(δ_{H} 7.27ppm)、二甲基亚砜-d₆(δ_{H} 2.50ppm)、乙腈-d₃(δ_{H} 1.95ppm) 或者甲醇-d₄(δ_{H} 3.31ppm) 的中心峰用作内标。使用硅胶进行柱色谱法纯化(0.040-0.063mm, Merck)。除非另作说明,起始物质可商购得到。所有溶剂和可商购的试剂为实验室级别且可按标准使用。

[0436] 用于 LC/MS 分析的下述方法:

[0437] 仪器:Agilent 1100;色谱柱:Waters Symmetry 2.1x 30mm;质谱:APCI;流速:0.7ml/min;波长:254nm;溶剂A:水+0.1% TFA;溶剂B:乙腈+0.1% TFA;梯度:15-95% / B 8分钟,95% B 1分钟。

[0438] 分析性色谱在 Symmetry C₁₈-column 上进行:2.1x 30mm,3.5 μ m 粒度,乙腈/水/0.1%三氟乙酸作为流动相,梯度为从5%至95%乙腈,历时8分钟,流速0.7ml/min。

[0439] 在实施例中使用的缩写或者术语具有下述含义:

[0440] SCX:用磺酸吸着剂的固相萃取

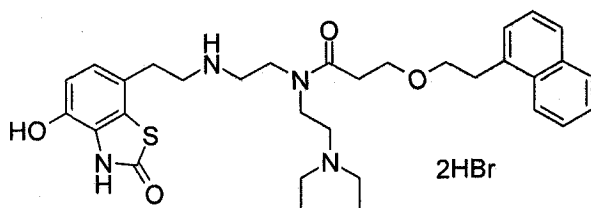
[0441] HPLC:高效液相色谱

[0442] DMF:N,N-二甲基甲酰胺

[0443] 基于所述结构, β_2 -肾上腺素受体激动剂以及在制备它们的过程中使用的中间体在本申请中使用 IUPAC NAME, ACD Labs 版本 8naming package 命名。

[0444] β_2 -肾上腺素受体激动剂 1:(BA1):N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氧-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基}氨基)乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐的制备 1

[0445]



[0446] a) 3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酸叔丁酯

[0447] 将 1-萘乙醇(10g)用苄基三甲基氢氧化铵(**Triton B[®]**; 0.9mL 40%在甲醇中的溶液)处理并将所得的混合物真空搅拌30分钟。然后将混合物冷却至0°C并用丙烯酸叔丁酯(8.19g)处理。将所得的混合物缓慢温热至室温并搅拌过夜。接着将粗制的混合物吸收在氧化铝(30g)上并用乙醚(200mL)洗脱。将有机物浓缩,得到了粗物质(16.6g),将其经快速硅胶色谱法纯化(用1:8的乙醚:己烷洗脱),得到了副标题化合物(12.83g)。

[0448] ¹H NMR(CDCl₃) δ 8.05(dd, 1H), 7.84(dd, 1H), 7.72(dd, 1H), 7.54-7.34(m, 4H), 3.81-3.69(m, 4H), 3.35(t, 2H), 2.52-2.47(m, 2H), 1.45(s, 9H).

[0449] b) 3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酸

[0450] 将 3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酸叔丁酯(6.19g)吸收在二氯甲烷(30mL)中并用三氟乙酸(5mL)处理。将所得的溶液在室温搅拌2小时,加入额外的1mL三氟乙酸并将溶液搅拌过夜。将混合物浓缩,吸收在2M氢氧化钠溶液(30mL)中并用乙醚(2x 20mL)洗涤。接着将水层酸化(使用1M盐酸)并用乙醚(2x 30mL)萃取。将合并的有机物用盐水(20mL)洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩,得到了副标题化合物(5.66g),其为澄

清油状物。

[0451] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 8.05 (bs, 1H), 7.85 (bs, 1H), 7.74 (bs, 1H), 7.50-7.38 (m, 4H), 3.84-3.75 (bm, 4H), 3.39 (bs, 2H), 2.65 (bs, 2H).

[0452] c) N-[2-(二乙基氨基乙基)-N-(2-羟基乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺

[0453] 将草酰氯 (0.33g) 逐滴加至 3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酸 (0.53g) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中, 加入二甲基甲酰胺 (1 滴) 并继续在室温搅拌 1 小时。接着将混合物浓缩, 重新溶解在二氯甲烷 (10mL) 中并逐滴加至 2-(2-二乙基氨基乙基氨基)乙醇 (0.35g) 和二异丙基乙基胺 (0.56g) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中。将所得的混合物在室温搅拌 1 小时, 稀释 (二氯甲烷, 50mL), 用水 (2x 20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经硫酸镁干燥并浓缩, 得到了粗产物 (0.91g), 将其经快速柱色谱法纯化 (用 5-7% 甲醇在二氯甲烷中的溶液洗脱), 得到了 0.63g 副标题化合物。

[0454] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 8.05 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.52-7.47 (m, 2H), 7.42-7.35 (m, 2H), 3.84-3.78 (m, 6H), 3.72-3.70 (m, 1/2H), 3.45-3.35 (m, 6H), 2.79-2.77 (m, 1+1/2H), 2.62-2.58 (m, 2H), 2.54-2.49 (m, 4H), 1.04-1.01 (m, 6H).

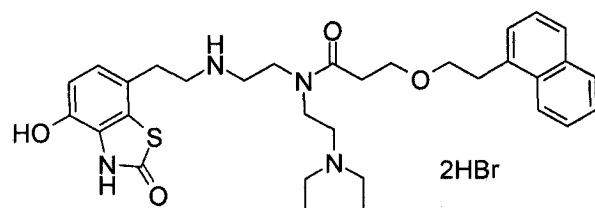
[0455] d) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺

[0456] 在 -78°C 将二甲基亚砷 (0.097g) 在二氯甲烷 (1mL) 中的溶液加至草酰氯 (0.079g) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中。将反应混合物搅拌 15 分钟然后加入 N-(2-二乙基氨基乙基)-N-(2-羟基乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺 (0.22g) 在二氯甲烷 (1mL+1mL 洗涤) 中的溶液并将反应混合物再搅拌 15 分钟。加入三乙胺 (0.29g) 并历时 1 小时将反应混合物温热至室温, 接着将混合物稀释 (二氯甲烷 30mL), 将有机物用碳酸氢钠 (20mL)、盐水 (20mL) 洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩, 得到了副标题化合物 (0.21g)。

[0457] 将粗产物在甲醇 (10mL) 中溶解并将 7-(2-氨基乙基)-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮盐酸盐 (根据在 Organic Process Research&Development 2004, 8(4), 628-642 中所述操作制备; 0.131g) 与乙酸 (0.1mL) 和水 (0.1mL) 一同加入。在室温搅拌 30 分钟后, 加入氰基硼氢化钠 (0.020g) 并将反应混合物搅拌过夜。加入氨水 (7N 在甲醇中, 1mL) 并将混合物浓缩。将粗制的残余物经快速柱色谱法纯化 (用 1% 氨水; 5% -7% 甲醇在二氯甲烷中的溶液洗脱)。粗产物直接在下一步中使用。

[0458] e) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐

[0459]



[0460] 将 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺 (0.052g) 在乙醇 (1.5mL) 中溶解并用 48% 氢溴酸 (21 μ l) 处理。将白色固体二氢溴酸盐 (0.058g) 经过滤

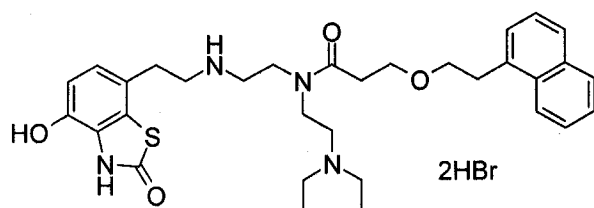
收集。

[0461] MS :APCI (+ve) 579 (M+1)

[0462] $^1\text{H NMR}$ δ (DMSO) 11.78-11.71 (m, 1H), 10.11-10.06 (m, 1H), 9.51-9.43 (m, 0.33H), 9.21-9.13 (m, 0.66H), 8.75-8.66 (m, 1H), 8.59-8.51 (m, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.95-7.90 (m, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.60-7.48 (m, 2H), 7.47-7.39 (m, 2H), 6.87 (t, 1H), 6.76 (dd, 1H), 3.78-3.53 (m, 10H), 3.25-3.09 (m, 10H), 2.91-2.80 (m, 2H), 2.73-2.61 (m, 2H), 1.26-1.15 (m, 6H). NMR 显示在 298K 约 2 : 1 的旋转异构体混合物。

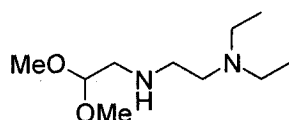
[0463] β_2 -肾上腺素受体激动剂 1 : (BA1) : N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐的制备 2

[0464]



[0465] a) N'-(2,2-二甲氧基乙基)-N,N-二乙基-乙-1,2-二胺.

[0466]

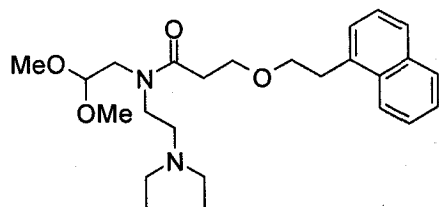


[0467] 在 10-15 $^{\circ}\text{C}$ 将 N,N-二乙基-乙二胺 (150g) 在甲醇 (500mL) 中的溶液逐滴快速地用乙二醛二甲基乙缩醛 (60wt% 在水中的溶液, 225g) 处理。在加入完成后, 将溶液温热至 15 $^{\circ}\text{C}$, 然后温热至 22 $^{\circ}\text{C}$ 并在此温度留置 16 小时。将反应混合物用 5% 钨 / 炭 (Johnson-Matthey type 38H paste, 15g) 处理并在 6 巴氢化直到经 GC/MS 判断反应完成。经过滤除去催化剂并将滤液蒸干 (甲苯共沸物, 2.5L), 得到了 196.2g 副标题化合物。

[0468] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 4.48 (t, 1H), 3.39 (s, 6H), 2.75 (d, 2H), 2.69 (t, 2H), 2.57-2.48 (m, 6H), 1.01 (ts, 6H).

[0469] b) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2,2-二甲氧基乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺.

[0470]



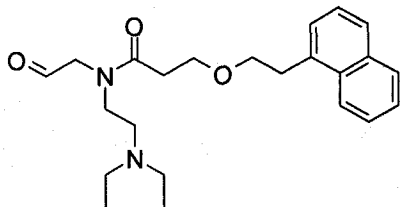
[0471] 历时 45 分钟将草酰氯 (151mL) 逐滴加至 3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酸 (389g) (实施例 7 步骤 b)) 在二氯甲烷 (2.1L) 和 DMF (0.5mL) 中的溶液中。将反应混合物再搅拌 16 小时。接着将混合物浓缩, 重新溶解在 DCM (1.7L) 中并在 0 $^{\circ}\text{C}$ 历时 1.75 小时逐滴加至 N'-(2,2-二甲氧基乙基)-N,N-二乙基乙-1,2-二胺 (325g) 和异丙基二乙基胺 (551mL) 在 DCM (1.7L) 中的溶液中。将所得的混合物在室温搅拌 3 小时, 用饱和碳酸氢钠水溶液

(5x1L)、水 (1.5L) 洗涤并经硫酸钠干燥并浓缩,得到了 650g 副标题化合物。

[0472] m/e 431 (M+H⁺, 100%)

[0473] c) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-3-[2-(1-萘基)乙氧基]-N-(2-氧代乙基)丙酰胺。

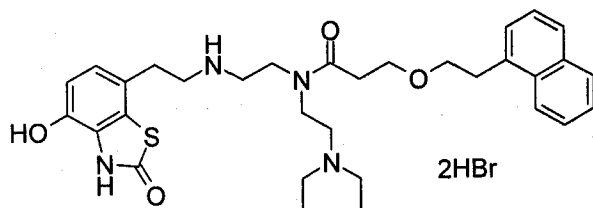
[0474]



[0475] 在 0 °C 历时 1.5 小时将 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2,2-二甲氧基乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺 (93g) 在 DCM(270mL) 中的溶液逐滴用三氟乙酸 (270mL) 处理。在加入后,将反应混合物温热至室温并再搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩并将残余物倒入至饱和碳酸氢钠水溶液 (1800mL, 小心) 中。将含水混合物用 DCM(4x400mL) 萃取并将合并的萃取物经硫酸镁干燥并浓缩。残余物直接用在下面的反应中。

[0476] d) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐。

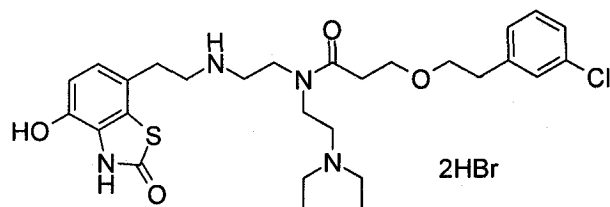
[0477]



[0478] 将 7-(2-氨基-乙基)-4-羟基-3H-苯并噻唑-2-酮盐酸盐 (53g) 在无水 NMP(216mL) 中的混悬液加热至 60 °C 并将一批用 NaOH(8.2g) 在甲醇 (102mL) 中的溶液处理。将亮橙色混悬液冷却至室温并历时 20 分钟逐滴用 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-3-[2-(1-萘基)乙氧基]-N-(2-氧代乙基)丙酰胺在二氯甲烷 (475mL) 中的溶液处理。将反应混合物留至搅拌 25 分钟。然后历时 20 分钟分批加入三乙氧基硼氢化钠 (91.5g) 并将混合物再搅拌 50 分钟。将反应混合物倒入至水 (1.8L) 中并将酸性溶液 (pH5) 用叔丁基甲基醚 (TBME) (3x500mL) 洗涤。通过加入固体碳酸钾将水相碱化至 pH8 并用二氯甲烷 (3x750mL) 萃取;将合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并浓缩,得到了黑色油状物。将其在乙醇 (200mL) 中溶解并加入 48% 氢溴酸水溶液 (73mL)。将溶液老化 (age) 30 分钟然后蒸干。将残余物用乙醇 (560mL) 研磨;将所得的固体经过滤收集并在 50 °C 真空干燥。将粘性固体在沸腾的乙醇 (100mL) 中混悬并趁热过滤。将收集的固体在 50 °C 真空干燥。将该物质由乙醇/水 (3 : 1, 500mL) 重结晶。在静置过夜后,将所得的固体经过滤收集并用冰冷的乙醇 (75mL) 洗涤。将其在 50 °C 真空干燥 24 小时,得到了 57g 标题化合物。

[0479] β_2 -肾上腺素受体激动剂 2 : (BA2) : N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐

[0480]



[0481] a) 3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酸叔丁酯将 2-(3-氯苯基)乙醇 (20g) 用苄基三甲基氢氧化铵 (**Triton B**[®]) (2.67mL) 处理并将所得的混合物在真空搅拌 30 分钟。然后将混合物冷却至 0°C 并用丙烯酸叔丁酯 (17.40g) 处理。将反应混合物温热至室温并搅拌 16 小时。将混合物经氧化铝 (15g) 过滤, 用乙醚 (75mL) 洗脱。将收集的滤液浓缩, 得到了副标题化合物 (34.40g), 其为油状物。

[0482] ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.26-7.07 (m, 4H), 3.69-3.59 (m, 4H), 2.86-2.81 (t, 2H), 2.50-2.45 (t, 2H), 1.43 (s, 9H)

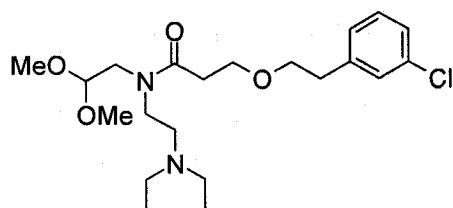
[0483] b) 3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酸

[0484] 将 3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酸叔丁酯 (实施例 1a, 34.40g) 在二氯甲烷 (150mL) 中溶解并用三氟乙酸 (50mL) 处理。将混合物在室温搅拌 3 小时, 然后真空浓缩并与二氯甲烷 (2x 10mL) 共沸。将残余物吸收在二氯甲烷 (300mL) 中并用饱和碳酸氢钠 (200mL) 萃取。将碱性层用二氯甲烷 (20mL) 洗涤然后用 2M 盐酸酸化。将酸性层用二氯甲烷 (2x 200mL) 萃取。合并有机层, 用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到了副标题化合物 (24.50g), 其为油状物。

[0485] m/e 227 [M-H]

[0486] c) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2,2-二甲氧基乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺

[0487]

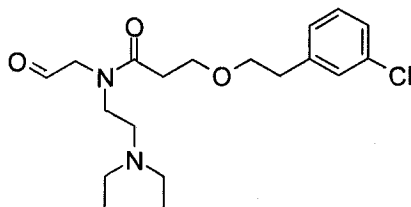


[0488] 历时 45 分钟将草酰氯 (9.50mL) 逐滴加至 3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酸 (22.50g) (实施例 1b) 在二氯甲烷 (120mL) 和 DMF (0.5mL) 中的溶液中。将反应混合物再搅拌 16 小时。接着将混合物浓缩, 重新溶解在 DCM (1.7L) 中并在 0°C 历时 1.75 小时逐滴加至 N'-(2,2-二甲氧基乙基)-N,N'-二乙基乙-1,2-二胺 (20.20g) (实施例 16a) 和异丙基二乙基胺 (34.43mL) 在 DCM (200mL) 中的溶液中。将所得的混合物在室温搅拌 16 小时, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (3x1L)、水 (1.5L) 洗涤并经硫酸钠干燥并浓缩, 得到了 39.50g 副标题化合物。

[0489] m/e 415 (M+H⁺, 83%)

[0490] d) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]-N-(2-氧代乙基)丙酰胺

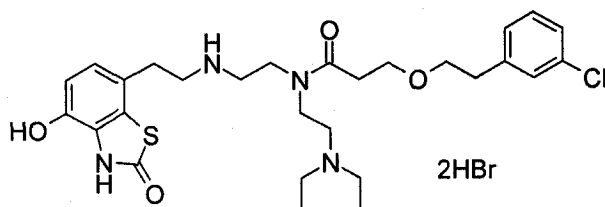
[0491]



[0492] 在 0 °C 历时 30 分钟将 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2,2-二甲氧基乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺 (实施例 1c) (20g) 在 DCM(500mL) 中的溶液逐滴用三氟乙酸 (50mL) 处理。在加入后,将反应混合物温热至室温并再搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩并将残余物倒入至饱和碳酸氢钠水溶液 (1800mL, 小心) 中。将含水混合物用 DCM(3x400mL) 萃取并将合并的萃取物经硫酸镁干燥并浓缩。残余物直接用在下面的反应中。

[0493] e) N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐

[0494]



[0495] 将 7-(2-氨基-乙基)-4-羟基-3H-苯并噻唑-2-酮盐酸盐 (11.77g) 在无水 NMP (50mL) 中的混悬液加热至 65 °C 并将一批用 NaOH (1.83g) 在甲醇 (23mL) 中的溶液处理。将亮橙色混悬液冷却至室温并历时 30 分钟逐滴用 N-[2-(二乙基氨基)乙基]-3-[2-(3-氯苯基)乙氧基]-N-(2-氧代乙基)丙酰胺 (实施例 1d) 在二氯甲烷 (50mL) 中的溶液处理。将反应混合物留至搅拌 30 分钟。然后历时 20 分钟分批加入三乙酰氧基硼氢化钠 (20.33g) 并将混合物再搅拌 16 小时。将反应混合物倒入至水 (1.8L) 中,通过加入固体碳酸钾碱化至 pH8 并用二氯甲烷 (2x500mL) 萃取;将合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并浓缩,得到了黑色油状物。将残余物在硅胶上用 10% (0.1% aq NH₃/MeOH)/DCM 作为洗脱剂经色谱法纯化,得到了副标题化合物,其为棕色油状物。收率 (6.58g)。将其在乙醇 (150mL) 中溶解并加入 48% 氢溴酸水溶液 (10mL)。将溶液老化 30 分钟然后蒸干。将残余物用乙醇 (100mL) 研磨;将所得的固体经过滤收集并在 50 °C 真空干燥。将该物质由乙醇/水 (6 : 1, 500mL) 重结晶;在静置过夜后,将所得的固体经过滤收集并用冰冷的乙醇 (75mL) 洗涤。将其在 50 °C 真空干燥 24 小时,得到了 4.96g 标题化合物。

[0496] MS :APCI (+ve) :563 (M+1) 99.3% 纯度 (T9505M).

[0497] ¹H NMR (DMSO, 90 °C), δ 11.75-11.73 (m, 1H), 10.08-10.06 (d, 1H), 8.65 (bs, 1H), 7.33-7.19 (m, 4H), 6.89-6.84 (t, 1H), 6.77-6.74 (m, 1H), 3.68-3.58 (m, 8H), 3.17-3.16 (m, 10H), 2.86-2.80 (m, 4H), 2.67-2.62 (m, 2H), 1.23-1.19 (t, 6H).

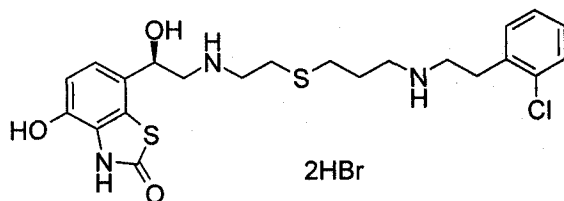
[0498] 元素分析

[0499] CHNS C :46.54 % (46.39) ;H :5.75 % (5.70) ;N :7.94 % (7.73) ;S :4.46 % (4.42)

[0500] β₂-肾上腺素受体激动剂 3 : (BA3) : 7-[(1R) -2-({2-[(3-[[2-(2-氯苯基) 乙基]

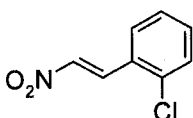
氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮二氢
溴酸盐

[0501]



[0502] a) 1-氯-2-[(E)-2-硝基乙烯基]苯

[0503]

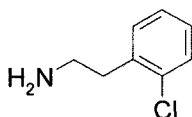


[0504] 将 2-氯苯甲醛 (exAldrich) (10.0g) 与硝基甲烷 (26.05g) 和乙酸铵 (21.92g) 在乙酸 (200mL) 中混合, 且将混合物回流加热 40 分钟。将混合物冷却至室温, 并真空除去大部分乙酸。将残余物在二氯甲烷中溶解并用水洗涤, 然后用碳酸钾溶液 (x2) 洗涤, 然后再用水洗涤。将有机物经无水硫酸镁干燥, 过滤并蒸发, 得到了期望的物质, 其为橙色油状物 (12.83g)。

[0505] $^1\text{H NMR}$ δ (CDCl_3) 8.41 (d, 1H), 7.62-7.57 (m, 2H), 7.52-7.48 (m, 1H), 7.43 (dt, 1H), 7.34 (ddd, 1H)

[0506] b) 2-(2-氯苯基)乙烷胺

[0507]

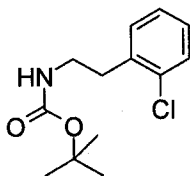


[0508] 在 0-10°C 在氮气气氛下通过将硫酸 (8.40mL) 在无水 THF (60mL) 中的溶液逐滴加至搅拌的 1.0M 氢化铝锂在 THF (314mL) 中的溶液中来制备氢化铝。在 5°C 搅拌 30 分钟后, 在保持内部温度在 0°C 和 10°C 之间的同时逐滴加入 1-氯-2-[(E)-2-硝基乙烯基]苯 (12.83g) 在无水 THF (160mL) 中的溶液。当加入完成时, 将反应混合物回流加热 5 分钟。将混合物冷却至室温, 然后冷却至 0°C 并在保持温度低于 20°C 的同时小心地逐滴加入异丙醇 (22mL)。在保持温度低于 20°C 的同时小心地逐滴加入 2M 氢氧化钠 (35mL)。将混合物在室温搅拌 30 分钟, 然后经硅藻土层过滤, 然后将其用 THF (x3) 洗涤。将滤液蒸干。将残余物使用硅胶柱色谱法纯化 (使用乙酸乙酯装载物质, 然后使用 10% 三乙胺在乙酸乙酯中的溶液、接着使用 10% 三乙胺在 45% 乙醇:45% 乙酸乙酯中的溶液作为洗脱剂), 得到了期望的物质 (4.66g)。

[0509] $^1\text{H NMR}$ δ (CDCl_3) 7.36 (dd, 1H), 7.25-7.13 (m, 3H), 2.98 (dt, 2H), 2.91-2.87 (m, 2H)

[0510] c) [2-(2-氯苯基)乙基]氨基甲酸叔丁酯

[0511]

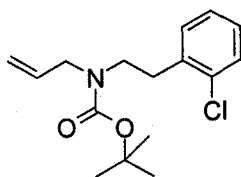


[0512] 历时 10 分钟在环境温度在氮气气氛下向搅拌的 2-(2-氯苯基)乙烷胺 (25.57g) 和三乙胺 (22.87mL) 在无水 THF (300mL) 中的溶液中加入碳酸氢二叔丁酯 (35.85g) 在无水 THF (50mL) 中的溶液。将反应混合物在室温搅拌 3 小时。真空除去溶剂,得到了期望的物质,其为黄色油状物 (42.0g)。

[0513] $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl₃) 7.35 (d, 1H), 7.25-7.14 (m, 3H), 4.57 (s, 1H), 3.43-3.35 (m, 2H), 2.95 (t, 2H), 1.43 (d, 9H)

[0514] d) 烯丙基 [2-(2-氯苯基)乙基]氨基甲酸叔丁酯

[0515]



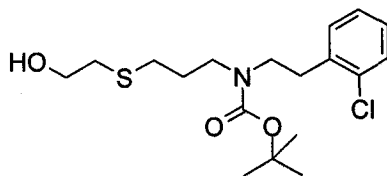
[0516] 历时 15 分钟在 35℃ 在氮气气氛下向已用乙醚 (x3) 洗涤的氢化钠 (60% 在矿物油中) (7.23g) 在无水 DMF (200mL) 中的混悬液中加入 [2-(2-氯苯基)乙基]氨基甲酸叔丁酯 (42.0g) 在无水 DMF (50mL) 中的溶液。当加入完成时,将混合物在 50℃ 搅拌 90 分钟。将混合物冷却至室温,然后使用外部冷却保持温度在 25℃ 的同时缓慢加入烯丙基溴化物 (15.63mL)。将混合物在室温搅拌 2 小时,然后用水稀释并用乙酸乙酯 (x3) 萃取。合并有机物,用水洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并蒸发。将残余物使用硅胶柱色谱法纯化 (用 1% 乙酸乙酯在异己烷中的溶液载样,然后使用异己烷与乙酸乙酯 (0%, 1%, 2%, 5%) 作为洗脱剂),得到了期望的物质 (27.0g)。由于存在几种混合馏分,因此将它们合并,并使用如上的硅胶柱色谱法重新纯化,得到了额外的 4g 期望的物质。将两批产物合并,得到了总计 31.0g 期望的物质。

[0517] $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl₃) 7.36-7.31 (m, 1H), 7.21-7.12 (m, 3H), 5.83-5.68 (m, 1H), 5.17-5.05 (m, 2H), 3.86-3.66 (m, 2H), 3.41 (t, 2H), 3.03-2.90 (m, 2H), 1.43 (s, 9H)

[0518] HPLC :95.90% @220nm [M+H-Boc]⁺ = 196.1 (计算值 = 295.1339) (多模式 +)

[0519] e) [2-(2-氯苯基)乙基]{3-[(2-羟基乙基)硫基]丙基}氨基甲酸叔丁酯

[0520]



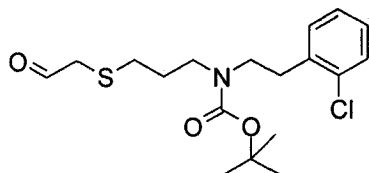
[0521] 将烯丙基 [2-(2-氯苯基)乙基]氨基甲酸叔丁酯 (31.0g) 与 2-巯基乙醇 (7.37mL) 和 AIBN (1.15g) 混合,并在 65℃ 搅拌 45 分钟。将混合物冷却并加入更多的巯基乙醇 (1mL) 和 AIBN (200mg)。然后将混合物在 65℃ 再加热 30 分钟。将物质经硅胶柱色谱法纯化 (用 20% 乙酸乙酯在异己烷中的溶液装载物质,然后用 20% 乙酸乙酯在异己烷中的溶液洗脱,再变为 50% 乙酸乙酯在异己烷中的溶液洗脱),得到了期望的物质 (31.94g)。

[0522] $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 7.38-7.32 (m, 1H), 7.22-7.13 (m, 3H), 3.75-3.68 (m, 2H), 3.41 (t, 2H), 3.32-3.14 (m, 2H), 3.03-2.91 (m, 2H), 2.72 (t, 2H), 2.54-2.36 (m, 2H), 1.85-1.71 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)

[0523] HPLC :92.31% @220nm[M+H-Boc] $^+$ = 274.1 (计算值 = 373.1478) (多模式 +)

[0524] f) [2-(2-氯苯基)乙基]{3-[(2-氧代乙基)硫基]丙基}氨基甲酸叔丁酯

[0525]

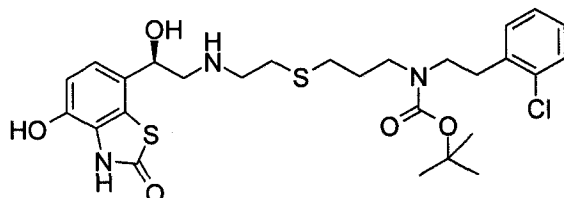


[0526] 将三氧化硫:吡啶络合物 (30.52g) 在 DMSO (200mL) 中溶解并在室温在氮气气氛下搅拌 15 分钟。加入 DCM (100mL), 接着加入 [2-(2-氯苯基)乙基]{3-[(2-羟基乙基)硫基]丙基}氨基甲酸叔丁酯 (23.9g) 和许尼希 (Hunigs) 碱 (63.5mL) 在 DCM (160mL) 中的溶液, 将其一次性加入 (放热)。将所得的混合物在室温搅拌 15 分钟。将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 用水洗涤, 然后用 1N HCl 洗涤, 然后用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并真空除去溶剂。将物质经硅胶柱色谱法纯化 (用 20% 乙酸乙酯在异己烷中的溶液洗脱), 得到了期望的物质 (12.43g)。

[0527] $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 9.46 (t, 1H), 7.36-7.32 (m, 1H), 7.21-7.13 (m, 3H), 3.40 (t, 2H), 3.29-3.13 (m, 4H), 3.02-2.90 (m, 2H), 2.45-2.34 (m, 2H), 1.82-1.69 (m, 2H), 1.49-1.36 (m, 9H)

[0528] g) [2-(2-氯苯基)乙基]{3-[(2-[(2R)-2-羟基-2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)硫基]丙基}氨基甲酸叔丁酯

[0529]



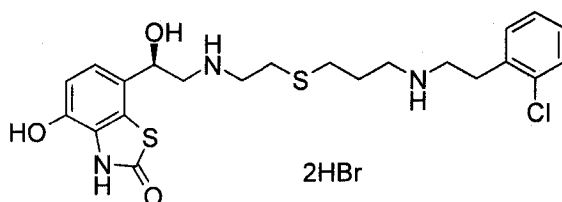
[0530] 将 [2-(2-氯苯基)乙基]{3-[(2-氧代乙基)硫基]丙基}氨基甲酸叔丁酯 (11.32g) 在甲醇 (200mL) 和乙酸 (1.74mL) 的混合物中溶解。将 7-[(1R)-2-氨基-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮盐酸盐 (8.0g) 加至该溶液中, 并将混合物在室温在氮气气氛下搅拌 1 小时。加入氰基硼氢化钠 (1.92g) 并将混合物再搅拌 2 小时。将溶剂真空除去, 并将残余物用水稀释, 用 0.880 氨水溶液碱化, 并用乙酸乙酯 (x3) 萃取 (在萃取过程中经硅藻土过滤)。合并有机物, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并蒸发, 得到了棕色残余物 (15.5g)。将物质使用硅胶柱色谱法纯化 (使用 DCM 与 MeOH (2%, 5%, 10%, 20% 和 30%, 所有的含有 1% 0.880NH₃ 水溶液) 作为洗脱剂), 得到了期望的物质 (6.67g) (38% 收率)。

[0531] $^1\text{H NMR } \delta$ (DMSO) 7.43-7.38 (m, 1H), 7.30-7.21 (m, 3H), 6.86 (d, 1H), 6.69 (d, 1H), 4.56 (dd, 1H), 3.23-3.10 (m, 2H), 2.88 (t, 2H), 2.71-2.48 (m, 8H), 2.46-2.39 (m, 2H), 1.72-1.62 (m, 2H), 1.40-1.22 (m, 9H)

[0532] HPLC :97.46% @220nm[M+H]⁺ = 582.1 (计算值 = 582.1863) (多模式 +)

[0533] h) 7-[(1R)-2-({2-[(3-{[2-(2-氯苯基)乙基]氨基}丙基)硫基]乙基}氨基)-1-羟基乙基]-4-羟基-1,3-苯并噻唑-2(3H)-酮二氢溴酸盐

[0534]



[0535] 在 0℃ 向搅拌的来自部分 g) 的 Boc 化合物 (5.93g) 在 DCM (20mL) 中的混悬液中加入三氟乙酸 (20mL), 并将所得的混合物在氮气下搅拌 30 分钟。将混合物用甲苯稀释, 并除去溶剂, 然后与甲苯 (x2) 共沸。将残余物在乙腈中溶解, 用 48% HBr 水溶液酸化并真空浓缩 (不干燥)。将混合物再用乙腈稀释并经过滤收集沉淀的固体, 用乙腈洗涤并真空干燥, 得到了 6.35g。由于出现 3.8% 的杂质 (来自部分 e) 的异构体), 所以将物质重新溶解在乙腈: 水的 1:1 混合物中并使用制备性 HPLC 纯化 (Sunfire 30x80mm C8 色谱柱; NH₄OAc 缓冲液; 乙腈 5-50%, 历时 10 分钟)。将所得的物质在水提取器中在 10 毫巴经 KOH 和 H₂SO₄ 干燥过夜。将所得的二乙酸盐在水中溶解并用 0.880 氨水水溶液碱化。形成白色胶状物, 因此将水性物质倾出, 并将胶状物真空干燥, 得到了游离碱 (4.11g)。将其在热乙醇中溶解, 并将溶液过滤, 然后冷却至室温。将溶液用 48% HBr 水溶液酸化并留至结晶。将白色固体经过滤收集, 用乙醇洗涤并真空干燥, 得到了 3.81g 1 批产物。

[0536] ¹H NMR δ (DMSO) 11.67 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.70 (s, 4H), 7.50-7.30 (m, 4H), 6.94 (d, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.96-4.90 (m, 1H), 3.22-3.02 (m, 10H), 2.86-2.76 (m, 2H), 2.66 (t, 2H), 1.91 (五重峰, 2H)

[0537] HPLC :99.63% @220nm[M+H]⁺ = 482 (计算值 = 482.1339) (多模式 +)

元素分析:		C	H	N	S
[0538]	计算值:	41.04	4.70	6.53	9.96
	实测值: 1:	41.07	4.69	6.67	9.72
[0539]	2:	41.08	4.68	6.74	9.67
	3:	40.96	4.68	6.75	9.67

[0540] 将母液蒸干然后用乙腈研磨。将固体经过滤收集, 得到了 719mg 2 批产物 (总计 4.53g)。

[0541] ¹H NMR δ (DMSO) 11.67 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.80-8.60 (m, 4H), 7.50-7.29 (m, 4H), 6.94 (d, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.96-4.89 (m, 1H), 3.22-3.00 (m, 10H), 2.85-2.76 (m, 2H), 2.66 (t, 2H), 1.90 (五重峰, 2H)

[0542] HPLC :99.20% @220nm[M+H]⁺ = 482 (计算值 = 482.1339) (多模式 +)

元素分析:		C	H	N	S
计算值:		41.04	4.70	6.53	9.96
[0543]	实测值: 1:	40.90	4.69	6.78	9.60
	2:	41.01	4.70	6.83	9.60
	3:	40.97	4.69	6.76	9.63

[0544] β_2 -肾上腺素受体激动剂的生物活性

[0545] 肾上腺素能 β_2 介导的 cAMP 的产生

[0546] 细胞制备

[0547] 将 H292 细胞在 225cm² 孵育器烧瓶中在 37°C, 5% CO₂ 在 RPMI 培养基中培养, 所述培养基含有 10% (v/v) FBS (胎牛血清) 和 2mM L- 谷氨酰胺。

[0548] 实验方法

[0549] 通过用 Accutase™ 细胞脱离溶液处理 15 分钟从组织培养瓶中除去粘附的 H292 细胞。将烧瓶在加湿孵育器中在 37°C, 5% CO₂ 孵育 15 分钟。将脱离的细胞以 0.05x 10⁶ 细胞/mL 再悬浮于 RPMI 培养基 (含有 10% (v/v) FBS 和 2mM L- 谷氨酰胺) 中。将 100 μ L 中的 5000 个细胞加到组织培养物处理的 96 孔板的每孔中, 并将细胞在加湿孵育器中在 37°C, 5% CO₂ 孵育过夜。除去培养基, 将细胞用 100 μ L 测定缓冲液洗涤两次, 并用 50 μ L 测定缓冲液 (含有 10mM HEPES pH7.4 和 5mM 葡萄糖的 HBSS 溶液) 置换。将细胞在室温静置 20 分钟, 之后加入 25 μ L 咯利普兰 (1.2mM, 在含有 2.4% (v/v) 二甲基亚砜的测定缓冲液中制成)。将细胞用咯利普兰孵育 10 分钟, 之后加入化合物 A, 然后将细胞在室温孵育 60 分钟。测定中最终咯利普兰的浓度为 300 μ M 且最终媒介物浓度为 1.6% (v/v) 二甲基亚砜。通过除去上清液停止反应, 用 100 μ L 测定缓冲液洗涤一次并用 50 μ L 溶解缓冲液 (lysis buffer) 置换。将细胞单层在 -80°C 冷冻 30 分钟 (或者过夜)。

[0550] AlphaScreen™ cAMP 检测

[0551] 使用 AlphaScreen™ 方法学确定细胞溶解产物中 cAMP (环磷腺苷) 的浓度。将经冷冻的细胞板在板振摇器上解冻 20 分钟, 然后将 10 μ L 细胞溶解产物转移到 96 孔白色板中。将 40 μ L 用生物素化的 cAMP 预孵育的混合 AlphaScreen™ 检测珠加到每孔中, 并将板避光室温孵育 10 小时。AlphaScreen™ 信号使用 EnVision 分光光度计 (Perkin-Elmer Inc.) 测量, 使用推荐的制造商设置。cAMP 浓度如下确定: 使用标准 cAMP 浓度参考在相同实验中确定的校准曲线。构建针对化合物 A 的浓度响应曲线, 将数据拟合成四参数数理逻辑方程 (four parameter logistic equation) 以确定 pEC₅₀ 和固有活性。固有活性表达为相对于在每个实验中针对福莫特罗确定的最大活性的分数。结果在表 3 中列出。

[0552] 选择性测定

[0553] 肾上腺素能 α_1 D

[0554] 膜制备

[0555] 从表达重组人类 α_1 D 受体的人胚肾 293 (HEK293) 细胞制备膜。将这些膜在测定缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, 0.1% 凝胶, pH 7.4) 中稀释, 从而提供在最大特异结合和最小特异结合之间得到清楚区域 (clear window) 的膜的最终浓度。

[0556] 实验方法

[0557] 测定在 U 形底 96 孔聚丙烯板中进行。将 $10\ \mu\text{L}$ [^3H]- 哌唑嗪 (0.3nM 最终浓度) 和 $10\ \mu\text{L}$ 化合物 A (10 倍最终浓度) 加到每个测试孔中。针对每种测定板在 $10\ \mu\text{L}$ 媒介物 (10% (v/v) DMSO 于测定缓冲液中的溶液; 定义最大结合) 或者 $10\ \mu\text{L}$ BMY7378 (10 μM 最终浓度; 定义非特异性结合 (NSB)) 的存在下针对 [^3H]- 哌唑嗪结合进行一式八份。然后加入膜以达到最终体积为 $100\ \mu\text{L}$ 。将板在室温孵育 2 小时, 然后过滤到 PEI 涂覆的 GF/B 滤板上, 在测定缓冲液中使用 96 孔板 Tomtec 细胞收集器预浸渍 1 小时。在 4°C 用 $250\ \mu\text{L}$ 洗涤缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, pH 7.4) 进行五次洗涤以除去未结合放射性。将板干燥, 然后使用 Packard 板密封器从底下密封, 将 MicroScint-0 ($50\ \mu\text{L}$) 加到每孔中。将板密封 (TopSeal A), 然后用闪烁计数器 (TopCount, Packard BioScience) 使用 3 分钟计数方案测量与滤器结合的放射性。

[0558] 通过从平均最大结合中减去平均 NSB 确定总特异性结合 (B_0)。也从来自其它孔的值中减去 NSB 值。这些数据表达为 B_0 的百分数。使用通常在 0.1nM 至 $10\ \mu\text{M}$ 范围的连续稀释确定化合物浓度 - 效应曲线 (对 [^3H]- 哌唑嗪结合的抑制)。将数据拟合成四参数数理逻辑方程以确定化合物效能, 其表达为 $p\text{IC}_{50}$ (引起对 [^3H]- 哌唑嗪结合的 50% 抑制的摩尔浓度的负对数)。结果显示于下表 3 中。

[0559] 肾上腺素能 β_1

[0560] 膜制备

[0561] 含有重组人类肾上腺素能 β_1 受体的膜获自 Euroscreen。将这些膜在测定缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, 120mM NaCl, 0.1% 凝胶, pH 7.4) 中稀释, 从而提供在最大特异结合和最小特异结合之间得到清楚区域的膜的最终浓度。

[0562] 实验方法

[0563] 测定在 U 形底 96 孔聚丙烯板中进行。将 $10\ \mu\text{L}$ [^{125}I]- 碘氰吲哚洛尔 (Iodocyanopindolol) (0.036nM 最终浓度) 和 $10\ \mu\text{L}$ 化合物 A (10 倍最终浓度) 加到每个测试孔中。针对每种测定板在 $10\ \mu\text{L}$ 媒介物 (10% (v/v) DMSO 于测定缓冲液中的溶液; 定义最大结合) 或者 $10\ \mu\text{L}$ 普萘洛尔 (10 μM 最终浓度; 定义非特异性结合 (NSB)) 的存在下针对 [^{125}I]- 碘氰吲哚洛尔结合进行一式八份。然后加入膜以达到最终体积为 $100\ \mu\text{L}$ 。将板在室温孵育 2 小时, 然后过滤到 PEI 涂覆的 GF/B 滤板上, 在测定缓冲液中使用 96 孔板 Tomtec 细胞收集器预浸渍 1 小时。在 4°C 用 $250\ \mu\text{L}$ 洗涤缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, 120mM NaCl, pH 7.4) 进行五次洗涤以除去未结合放射性。将板干燥, 然后使用 Packard 板密封器从底下密封, 将 MicroScint-0 ($50\ \mu\text{L}$) 加到每孔中。将板密封 (TopSeal A), 然后用闪烁计数器 (TopCount, Packard BioScience) 使用 3 分钟计数方案测量与滤器结合的放射性。

[0564] 通过从平均最大结合中减去平均 NSB 确定总特异性结合 (B_0)。也从来自其它孔的值中减去 NSB 值。这些数据表达为 B_0 的百分数。使用通常在 0.1nM 至 $10\ \mu\text{M}$ 范围的连续稀释确定化合物浓度 - 效应曲线 (对 [^{125}I]- 碘氰吲哚洛尔结合的抑制)。将数据拟合成四参数数理逻辑方程以确定化合物效能, 其表达为 $p\text{IC}_{50}$ (引起对 [^{125}I]- 碘氰吲哚洛尔结合的 50% 抑制的摩尔浓度的负对数)。结果显示于下表 3 中。

[0565] 多巴胺 D2

[0566] 膜制备

[0567] 含有重组人类多巴胺亚型 D2 受体的膜获自 Perkin Elmer。将这些膜在测定缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, 120mM NaCl, 0.1% 凝胶, pH 7.4) 中稀释, 从而提供在最大特异结合和最小特异结合之间得到清楚区域的膜的最终浓度。

[0568] 实验方法

[0569] 测定在 U 形底 96 孔聚丙烯板中进行。将 30 μ L [3 H]-螺派隆 (0.16nM 最终浓度) 和 30 μ L 化合物 A (10 倍最终浓度) 加到每个测试孔中。针对每种测定板在 30 μ L 媒介物 (10% (v/v) DMSO 于测定缓冲液中的溶液; 定义最大结合) 或者 30 μ L 氟哌啶醇 (10 μ M 最终浓度; 定义非特异性结合 (NSB)) 的存在下针对 [3 H]-螺派隆结合进行一式八份。然后加入膜以达到最终体积为 300 μ L。将板在室温孵育 2 小时, 然后过滤到 PEI 涂覆的 GF/B 滤板上, 在测定缓冲液中使用 96 孔板 Tomtec 细胞收集器预浸渍 1 小时。在 4 $^{\circ}$ C 用 250 μ L 洗涤缓冲液 (50mM HEPES, 1mM EDTA, 120mM NaCl, pH 7.4) 进行五次洗涤以除去未结合放射性。将板干燥, 然后使用 Packard 板密封器从底下密封, 将 MicroScint-0 (50 μ L) 加到每孔中。将板密封 (TopSeal A), 然后用闪烁计数器 (TopCount, Packard BioScience) 使用 3 分钟计数方案测量与滤器结合的放射性。

[0570] 通过从平均最大结合中减去平均 NSB 确定总特异性结合 (B_0)。也从来自其它孔的值中减去 NSB 值。这些数据表达为 B_0 的百分数。使用通常在 0.1nM 至 10 μ M 范围的连续稀释确定化合物浓度 - 效应曲线 (对 [3 H]-螺派隆结合的抑制)。将数据拟合成四参数数理逻辑方程以确定化合物效能, 其表达为 pIC50 (引起对 [3 H]-螺派隆结合的 50% 抑制的摩尔浓度的负对数)。结果显示于下表 3 中。

[0571] 表 3

[0572]

化合物	β 2pEC50	β 2 固有活性	α 1 结合 pIC50	β 1 结合 pIC50	D2 结合 pIC50
BA1	8.2	0.8	6.6	< 5	6.1
BA2	8.3	0.7	< 6.1	< 5	5.6
BA3	9.2	0.8	7.6	6.9	5.8

[0573] 组合数据

[0574] 评价在豚鼠分离的气管环制剂中支气管扩张剂活性

[0575] 通过颈脱位法杀死豚鼠 (300-500g) 并分离气管。将气管切割成宽度为 2-3 个软骨环的片段并悬浮于 10ml 器官浴槽中改良的克雷布斯液 (modified Krebs' solution) (mM ; NaCl, 90 ; NaHCO₃, 45 ; KCl, 5 ; MgSO₄ · 7H₂O, 0.5 ; Na₂HPO₄ · 2H₂O, 1 ; CaCl₂, 2.25 ; 葡萄糖, 10 ; pH 7.4, 并用 5% CO₂, 95% O₂ 在 37 $^{\circ}$ C 通气) 中。将气管环与等长收缩力传感器连接用于测量等长收缩力。洗涤组织并将 1g 的力施加到各组织。用乙酰甲胆碱 (1 μ M) 使环收缩。一旦收缩到达稳定水平 (plateau), 加入媒介物 (0.01% DMSO 在蒸馏水中)、茛达特罗 (10nM)、N-[2-(二乙氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐 (10nM)、N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并

噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)- β -氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐(1nM)、(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)、(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)和茛达特罗(10nM)的组合、N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐(10nM)和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)的组合和/或者N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)- β -氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐(1nM)和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)的组合,然后使组织静置60分钟。在加入化合物后第60分钟测量在每个环中的张力,且其表达为乙酰甲胆碱(1 μ M)收缩的舒张百分数(平均值 \pm 标准方差平均值)。使用Chart 4软件(ADInstruments, Charlgrove, UK)收集数据。

[0576] 对茛达特罗和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物的组合的评价:

[0577] 对茛达特罗(10nM)的舒张百分数(表达为对乙酰甲胆碱(1 μ M)的最大响应的百分数)为 24 ± 6.9 ,对(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)的舒张百分数为 9 ± 9.4 且对茛达特罗(10nM)和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)的组合的舒张百分数为 40 ± 3.6 。对媒介物的舒张百分数为 0 ± 0 ($n=3$;参见图9,其中化合物Z为(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物)。

[0578] 对N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物的组合的评价:

[0579] 对N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐(10nM)的舒张百分数(表达为对乙酰甲胆碱(1 μ M)的最大响应的百分数)为 18 ± 11.2 ,对(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化物(1nM)的舒张百分数为 9 ± 4.3 且对N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐(10nM)和(R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环[2.2.2]辛烷溴化(1nM)的组合的舒张百分数为 32 ± 14.1 。对媒介物的舒张百分数为 6 ± 4.5 ($n=4$;参见图10,其中化合物V为N-[2-(二乙基氨基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-3-[2-(1-萘基)乙氧基]丙酰胺二氢溴酸盐且化合物Z

为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物)。

[0580] 对 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐和 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环

[2.2.2] 辛烷溴化物的组合的评价：

[0581] 对 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐 (1nM) 的舒张百分数 (表达为对乙酰甲胆碱 (1 μM) 的最大响应的百分数) 为 23±10, 对 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (1nM) 的舒张百分数为 5±1.8 且对 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐 (1nM) 和 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物 (1nM) 的组合的舒张百分数为 42±11.1。对媒介物的舒张百分数为 6±4.5 (n = 4; 参见图 11, 其中化合物 W 为 N-环己基-N³-[2-(3-氟苯基)乙基]-N-(2-{[2-(4-羟基-2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-7-基)乙基]氨基}乙基)-β-氨基丙酰胺二-D-扁桃酸盐且化合物 Z 为 (R)-3-(1-苯基-环庚烷羰基氧基)-1-(吡啶-2-基氨基甲酰基甲基)-1-氮鎓-二环 [2.2.2] 辛烷溴化物)。

[0582] 体内组合数据

[0583] 经麻醉的豚鼠中肺功能的评价

[0584] 对雄性 Dunkin-Hartley 豚鼠 (300-600g) 进行称重并在可恢复的气体 (5% 氟烷/氧气) 麻醉下经由气管内途径给药媒介物 (0.05M 磷酸盐, 0.1% 吐温 80, 0.6% 生理盐水, pH 6) 或者化合物。在给药乙酰甲胆碱两小时前将动物给药化合物或者媒介物。

[0585] 在第一次给药支气管收缩剂约 30 分钟前将豚鼠用戊巴比妥麻醉 (1mL/kg 60mg/mL 溶液, 腹膜内注射)。对气管进行插管, 使用恒定体积呼吸泵 (Harvard Rodent Ventilator 型号 683) 以 60 呼吸/min 的速率和 5ml/kg 的潮气量对动物进行通风换气。进行颈静脉插管用于给药乙酰甲胆碱或者维持麻醉 (0.1mL 戊巴比妥溶液, 60mg/mL, 视需要)。

[0586] 将动物转移至 Flexivent 系统 (SCIREQ, Montreal, Canada) 中以便测量气道阻力。以 60 呼吸/min 的速率和 5ml/kg 的潮气量对动物进行通风换气 (半正弦曲线通气型式)。应用 2-3cm H₂O 的呼吸末正压 (positive end expiratory pressure)。使用 Flexivent“陕照”装置 (持续 1 秒, 1Hz 频率) 测量气道阻力。一旦获得稳定的基线阻力值, 以上升的剂量 (0.5、1、2、3 和 5 μg/kg, 静脉注射) 以约 4 分钟间隔通过颈静脉导管将动物给药乙酰甲胆碱。每次给药支气管收缩剂后记录峰阻力值。在完成肺功能测量后通过静脉注射约 1.0mL 戊巴比妥钠 (Euthatal) 对豚鼠施行安乐死。在每次给药支气管收缩剂时由化合物产生的支气管保护百分数如下计算：

[0587]

$$\% \text{支气管保护} = \frac{\% \text{变化 } R_{\text{媒介物}} - \% \text{变化 } R_{\text{化合物}}}{\% \text{变化 } R_{\text{媒介物}}}$$

[0588] 其中%变化 $R_{\text{媒介物}}$ 为媒介物处理组中气道阻力的最大变化百分数的均值。

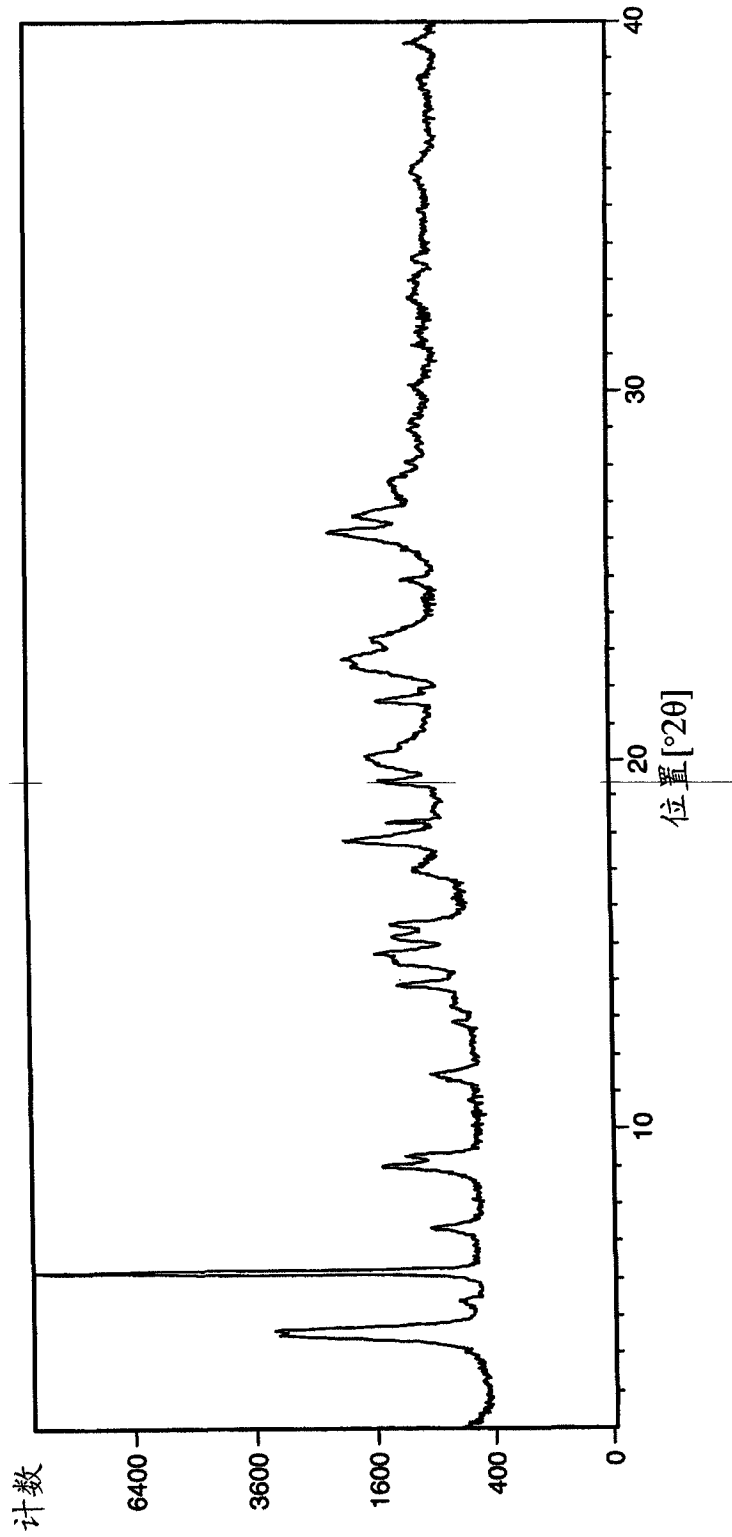


图 1

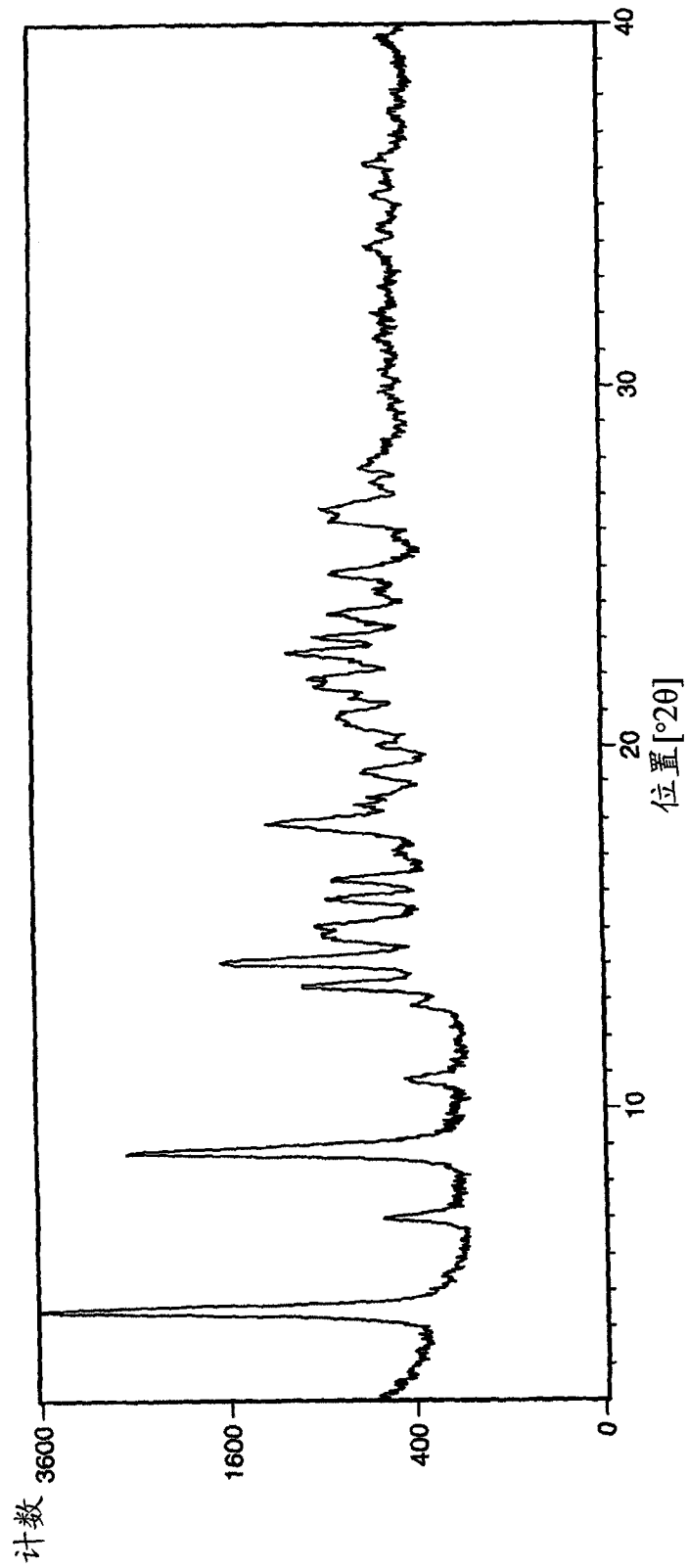


图 2

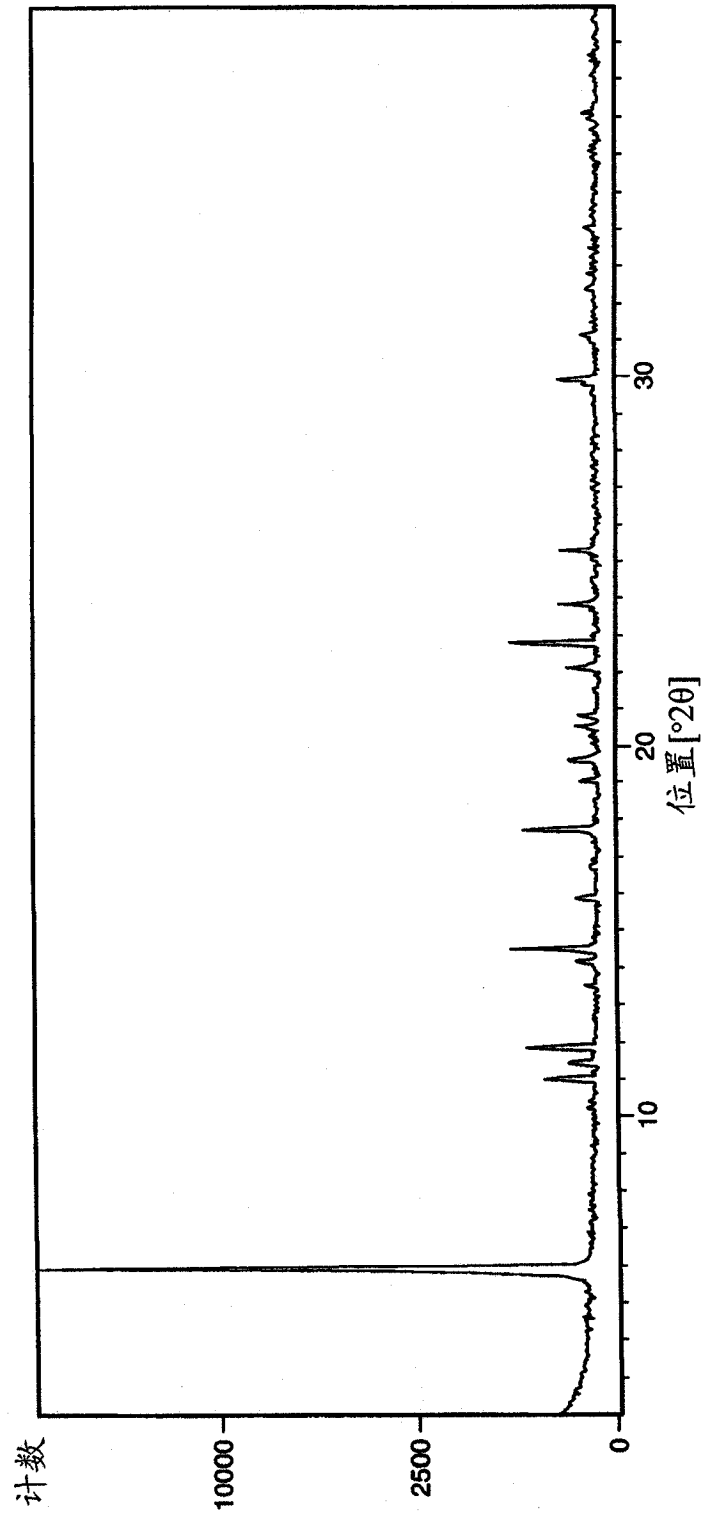


图 3

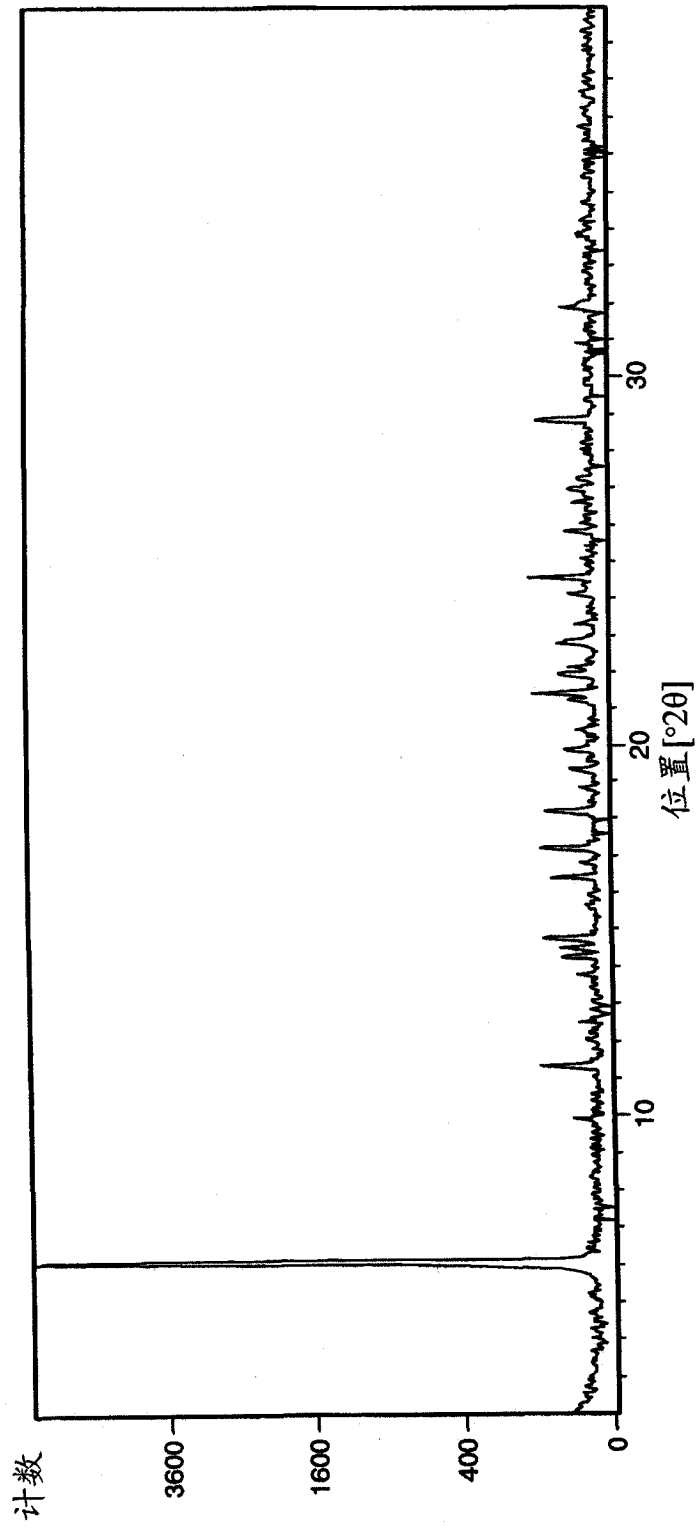


图 4

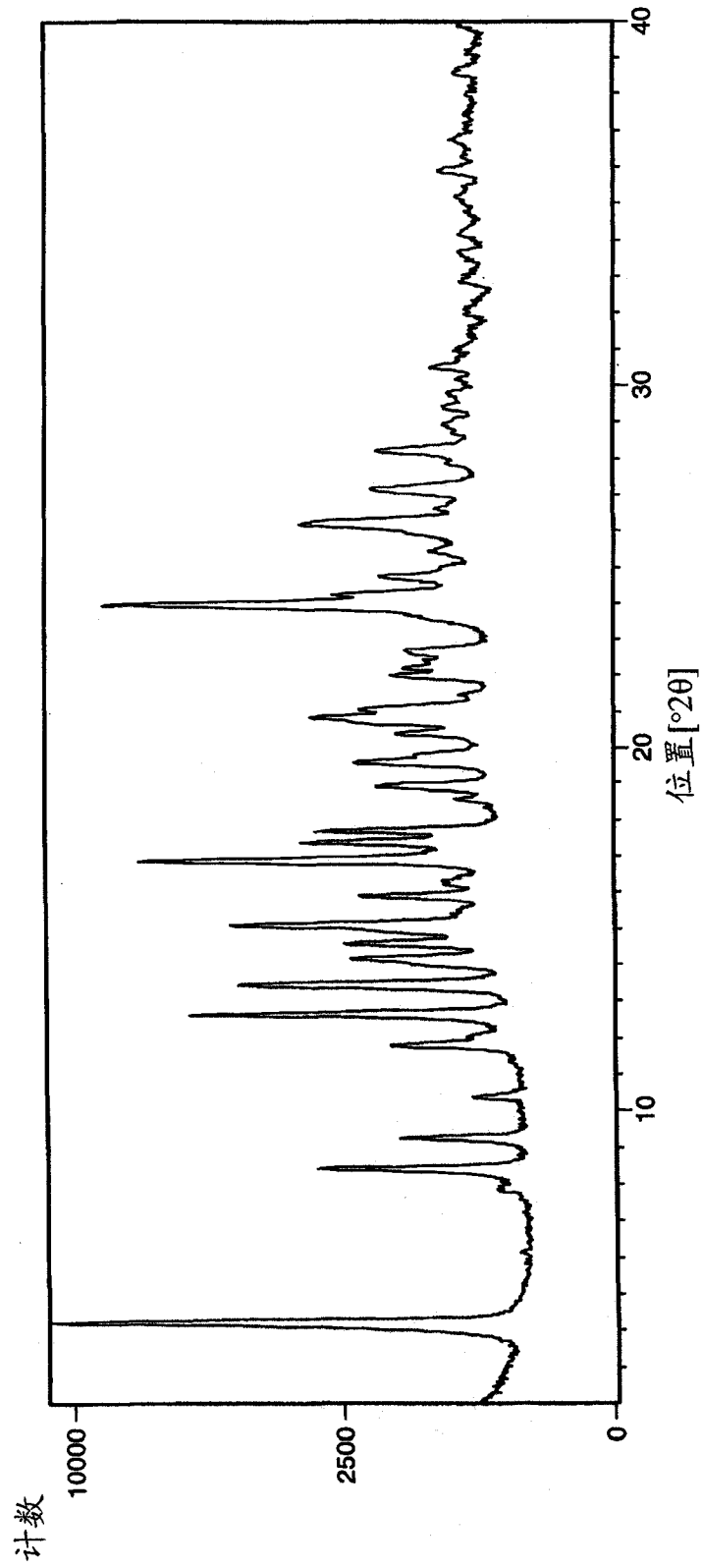


图 5

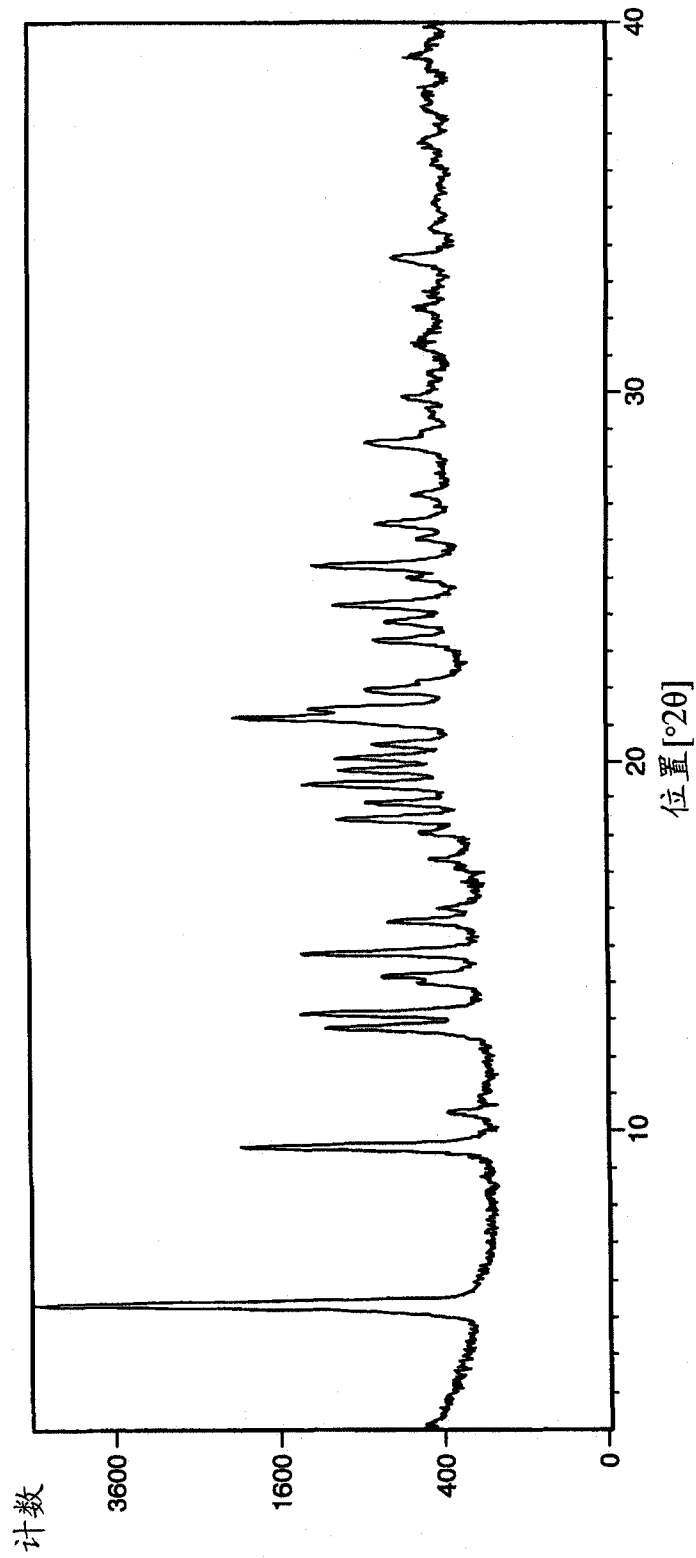


图 6

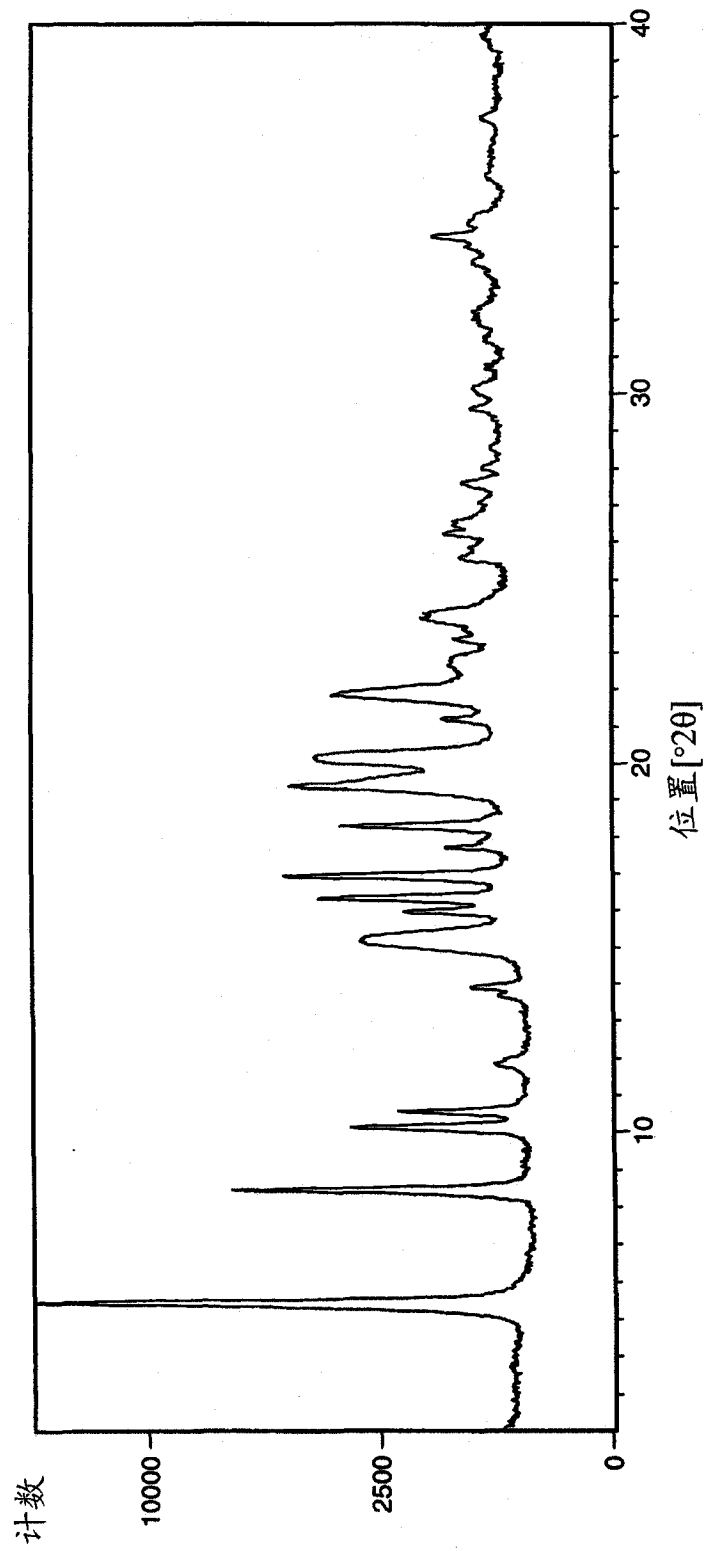


图 7

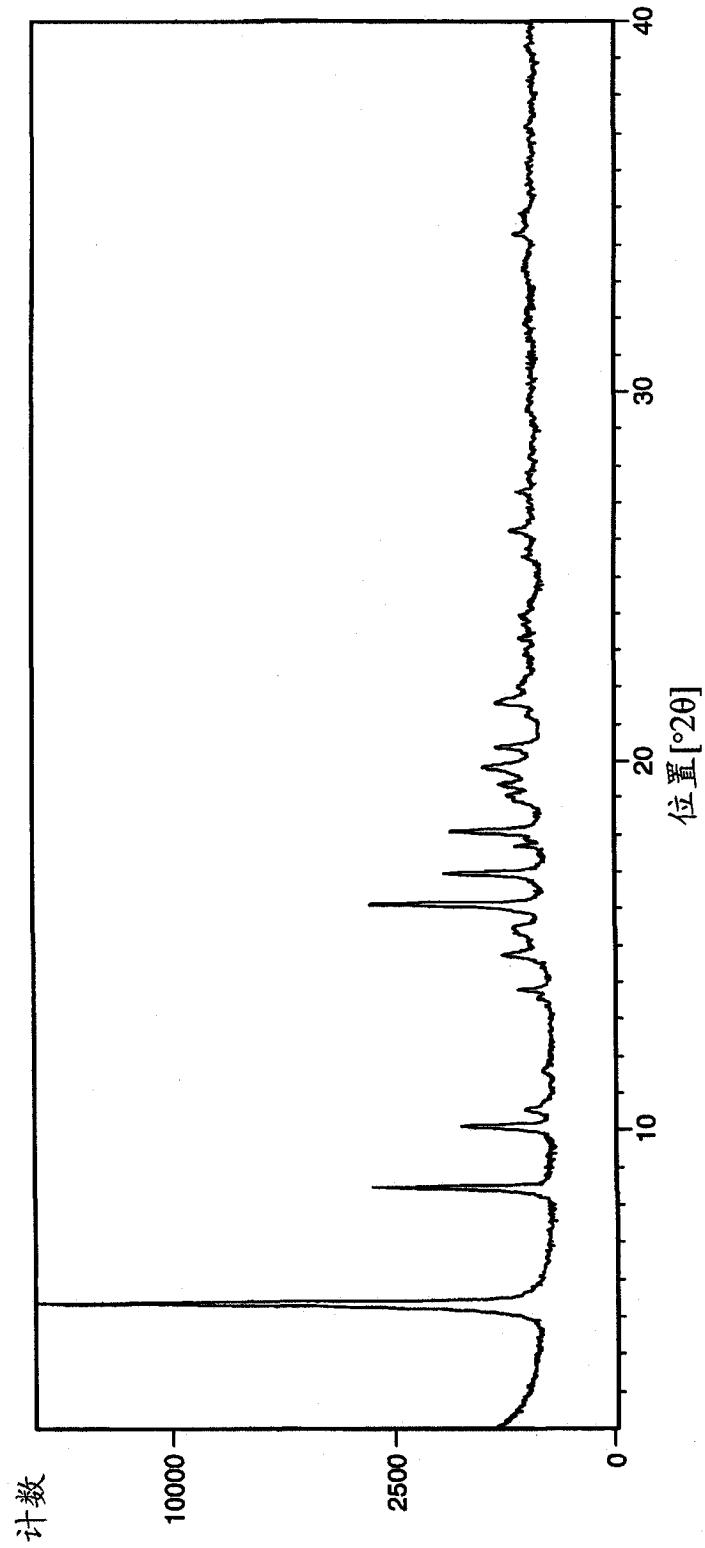


图 8

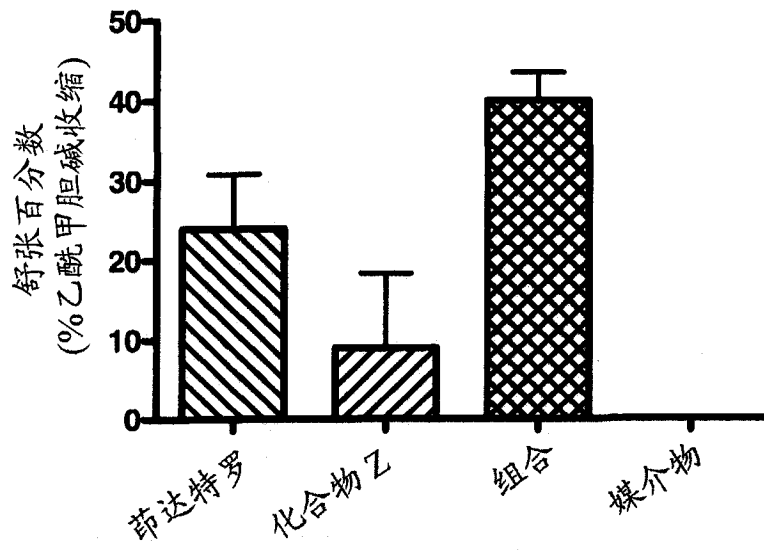


图 9

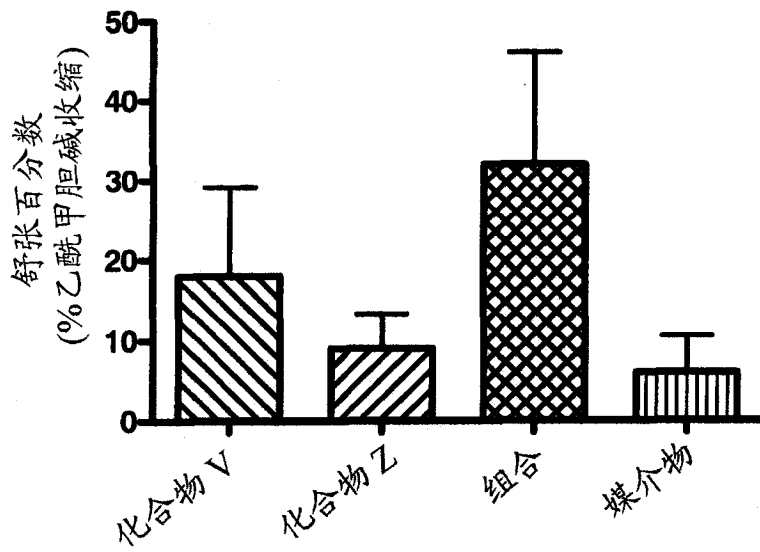


图 10

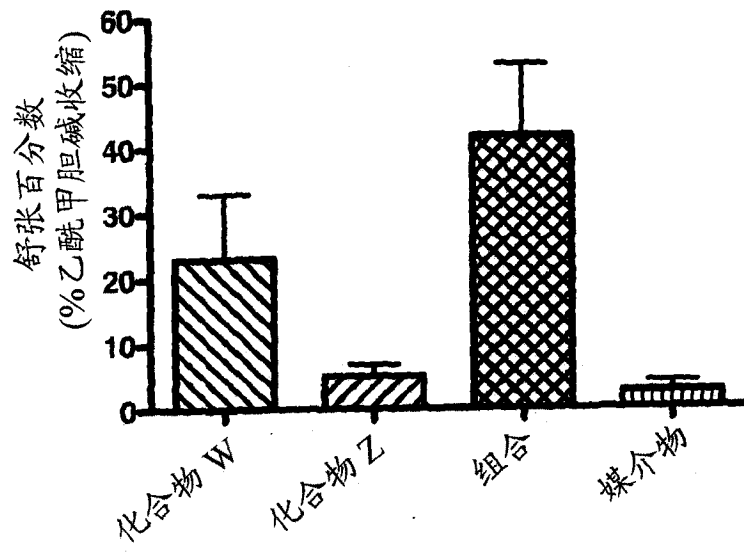


图 11