

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/165

A61K 31/395 A61K 31/17

A61K 31/18 A61P 15/10



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01821951.9

[43] 公开日 2004 年 8 月 4 日

[11] 公开号 CN 1518445A

[22] 申请日 2001.11.14 [21] 申请号 01821951.9

[30] 优先权

[32] 2000.11.17 [33] GB [31] PCT/GB00/04380

[32] 2001.4.23 [33] GB [31] 0109910.0

[32] 2001.5.4 [33] GB [31] 0111037.8

[86] 国际申请 PCT/GB2001/005018 2001.11.14

[87] 国际公布 WO2002/040008 英 2002.5.23

[85] 进入国家阶段日期 2003.7.11

[71] 申请人 沃纳-兰伯特公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 玛丽亚·I·冈扎利兹

赫尔曼·T·斯托克

罗伯特·D·平诺克

马丁·C·普里查德

克里斯托弗·P·韦曼

皮特·H·范德格拉夫

阿利斯戴尔·M·内勒

迈克尔·希金博特姆

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

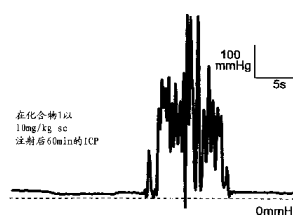
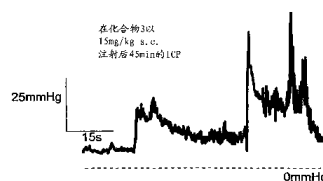
代理人 赵仁临 巫肖南

权利要求书 26 页 说明书 138 页 附图 25 页

[54] 发明名称 性功能障碍的治疗

[57] 摘要

已经发现蛙皮素受体拮抗剂可用于治疗男女性功能障碍。它们可能是选择性的 BB_1 拮抗剂或者混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂。本发明公开了蛙皮素受体拮抗剂与一系列其它活性化合物例如 PDE5 抑制剂, NEP 抑制剂及 lasofoxifene 的组合物。



ISSN 1008-4274

1. 蛙皮素受体拮抗剂与一种或多种选自下列(1)至(34)的物质的药物组合物(用于同时、单独或依次给药):

- 5 (1) 天然存在或合成的前列腺素或其酯;
- (2) α -肾上腺素受体拮抗剂化合物, 也称之为 α -肾上腺素受体拮抗剂或 α -受体拮抗剂或 α -阻断剂;
- (3) NO-供体(NO-激动剂)化合物;
- (4) 钾通道开启剂或调节剂;
- 10 (5) 多巴胺药剂;
- (6) 血管扩张剂;
- (7) 血栓烷 A2 激动剂;
- (8) CNS 活性剂;
- (9) 麦角生物碱;
- 15 (10) 调节促尿钠排泄因子作用的化合物;
- (11) 血管收缩素受体拮抗剂如洛沙坦;
- (12) NO-合酶的底物;
- (13) 钙通道阻断剂;
- (14) 降胆固醇药物;
- 20 (15) 抗血小板和抗血栓形成药物;
- (16) 胰岛素敏化剂和低血糖药物;
- (17) L-DOPA 或卡比多巴;
- (18) 乙酰胆碱酯酶抑制剂;
- (19) 甾族或非甾族的抗炎药;
- 25 (20) 雌激素受体调节剂和/或雌激素激动剂和/或雌激素拮抗剂, 及其药学上可接受的盐;
- (21) PDE 抑制剂;
- (22) NPY (神经肽 Y)抑制剂;
- (23) NEP 抑制剂;
- 30 (24) 血管作用的肠蛋白(VIP), VIP 模拟物, VIP 类似物, VIP 受体激动剂或 VIP 类似物或 VIP 片段, 或者 α -肾上腺素受体拮抗剂与 VIP 的组合;

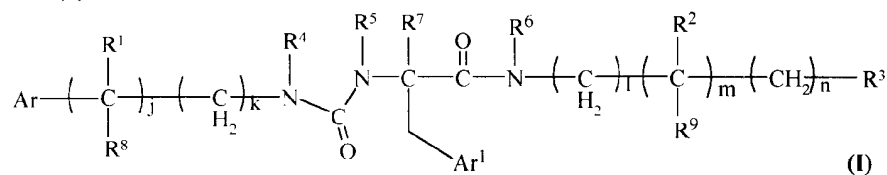
- (25) 黑皮质激素受体激动剂或调节剂或者黑皮质激素增强剂；
- (26) 5-羟色胺受体激动剂，拮抗剂或调节剂；
- (27) 睾酮替代剂，睾酮，二氢睾酮或睾酮植入物；
- (28) 雌激素，雌激素与甲羟孕酮或甲羟孕酮乙酸酯(MPA)(即一种组合
5 物)，或者雌激素和甲基睾酮激素替代治疗剂；
- (29) 去甲肾上腺素，多巴胺和/或 5-羟色胺传递剂的调节剂；
- (30) purinergic 受体激动剂和/或调节剂；
- (31) 神经激肽(NK)受体拮抗剂；
- (32) 类鸦片物受体激动剂，拮抗剂或调节剂；
- 10 (33) 催产素/加压素受体的激动剂或调节剂；及
- (34) 大麻素受体的调节剂。
2. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为选择性的蛙皮素 BB_1 拮抗剂。
3. 根据权利要求 2 的组合物，其中该蛙皮素 BB_1 拮抗剂对 BB_1 的选择
15 性比其它的蛙皮素受体亚型大 10 倍。
4. 根据权利要求 2 的组合物，其中该蛙皮素 BB_1 拮抗剂对 BB_1 的选择性比其它的蛙皮素受体亚型大 30 倍。
5. 根据权利要求 2 的组合物，其中该蛙皮素 BB_1 拮抗剂对 BB_1 的选择性比其它的蛙皮素受体亚型大 100 倍。
- 20 6. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂。
7. 根据前述权利要求中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂具有小于 1000nM 的抗 BB_1 的 K_i 。
8. 根据权利要求 1~6 中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂
25 具有小于 500nM 的抗 BB_1 的 K_i 。
9. 根据权利要求 1~6 中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂具有小于 100nM 的抗 BB_1 的 K_i 。
10. 根据权利要求 1~6 中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂具有小于 50nM 的抗 BB_1 的 K_i 。
- 30 11. 根据权利要求 1~6 中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂具有小于 10nM 的抗 BB_1 的 K_i 。

12. 根据前述权利要求中任一项的组合物，其包含有效量的非肽蛙皮素受体拮抗剂。

13. 根据权利要求 1~11 中任一项的组合物，其中包括将有效量的本身为肽的蛙皮素受体拮抗剂给药于患者。

5 14. 根据前述权利要求中任一项的组合物，其中所述非肽蛙皮素受体拮抗剂是经口给药时可吸收的化合物。

15. 根据前述权利要求中任一项的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(I)的化合物



10 或其药学上可接受的盐，其中：

- j 为 0 或 1；
- k 为 0 或 1；
- l 为 0, 1, 2 或 3；
- m 为 0 或 1；
- n 为 0, 1 或 2；

15 • Ar 为苯基，吡啶基或嘧啶基，每个基团是未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代：烷基，卤素，烷氧基，乙酰基，硝基，氨基， $-\text{CH}_2\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$ ，氰基， $-\text{CF}_3$ ， $-\text{NHCONH}_2$ ，及 $-\text{CO}_2\text{R}^{12}$ ；

20 • R^1 为氢或者具有 1~7 个碳原子的直链，支链或环状的烷基；

• R^8 为氢或者与 R^1 形成具有 3~7 个碳原子的环；

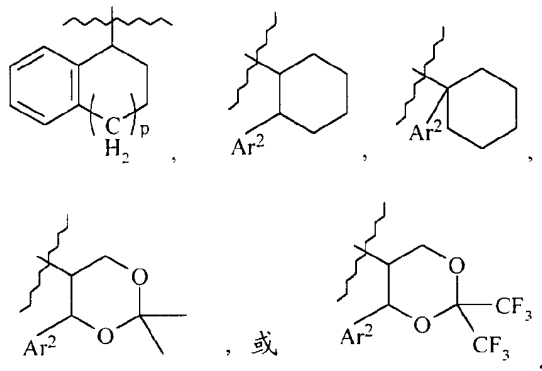
• R^2 为氢或者具有 1~8 个碳原子的直链，支链或环状的烷基，其还可以包含 1 或 2 个氧或氮原子；

• R^9 为氢或者与 R^2 形成 3~7 个碳原子的环，其可包含氧或氮原子；或者 R^2 和 R^9 一起可以为羰基；

25 • Ar^1 可以独立地选自 Ar 并且可以包括吡啶基-N-氧化物，吡啶基，咪唑基，及吡啶基；

• R^4 ， R^5 ， R^6 ，及 R^7 各自独立地选自氢和低级烷基； R^4 还可以与 R^5 形成 2~3 个原子的共价连接链，其可以包括氧或氮原子；

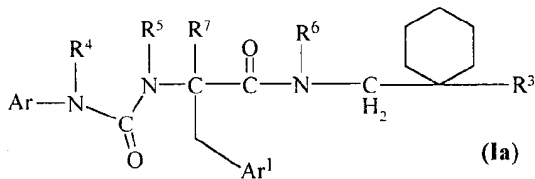
• R^3 可以独立地选自 Ar 或者为氢, 羟基, $-NMe_2$, N-甲基-吡咯基, 咪唑基, N-甲基-咪唑基, 四唑基, N-甲基-四唑基, 噻唑基, $-CONR^{13}R^{14}$, 烷氧基,



5 其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar^2 为苯基或吡啶基;

• R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} 和 R^{14} 各自独立地选自氢或具有 1~7 个碳原子的直链, 支链或环状的烷基。

16. 根据权利要求 1~14 中任一项的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(Ia)的化合物



10

其中

• Ar 为苯基, 其是未取代的或者被 1 或 2 个选自异丙基, 卤素, 硝基, 及氰基的取代基所取代;

• R^4 , R^5 , 及 R^6 为氢;

15

• R^7 为甲基或氢;

• R^3 为 2-吡啶基或羟基; 及

• Ar^1 为吲哚基, 吡啶基, 吡啶基-N-氧化物, 或咪唑基。

17. 根据权利要求 15 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为式 I 的化合物, 其中

20

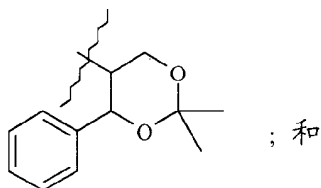
• Ar 为未取代的苯基;

• R^1 为环戊基或叔丁基;

• R^4 和 R^5 为氢;

• R^7 为甲基;

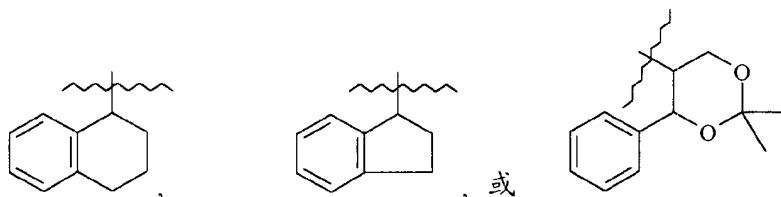
- R^6 为氢；
- R^3 为具有两个异丙基取代基的苯基，未取代的苯基，或者



Ar^1 为吲哚基。

- 5 18. 根据权利要求 15 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为式 I 的化合物，其中

- Ar 为 2,6-二异丙基-苯基，4-硝基苯基，及 4-氰基苯基；
- R^4 , R^5 , 及 R^6 为氢；
- R^7 为甲基；
- 10 • R^2 为氢或者环己基；及
- R^3 为羟基，吡啶基，



- 15 19. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为(S)3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺(也称之为化合物 1)或其药学上可接受的盐中的一种，或者为(2S)-N-[[1-(4-氨基苯基)环己基]甲基]-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-[[4-(4-硝基苯胺基)羰基]氨基]丙酰胺(也称之为化合物 3)或其药学上可接受的盐中的一种。

- 20 20. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为如下的化合物或其药学上可接受的盐：

(S) N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

- 25 N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吲哚-3-基)-N-甲基-丙酰胺；

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-1-甲基-脲基]-3-(1H-吲哚-3-

基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-(1-氧基-吡啶-2-基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-吡啶-2-基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

2-[3-(2-叔丁基-苯基)-脲基]-N-环己基甲基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二氯-苯基)脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

10 N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二甲氧基-苯基)脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二甲基氨基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

15 (S) N-环己基甲基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺;

N-环己基甲基-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基)丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

[S-(R*, R*)] 3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-{3-[1-(4-硝基-苯基)-乙基]-脲基}-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

20 N-(2,2-二甲基-4-苯基-[1,3]二噁烷-5-基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(1-苯基-环戊基甲基)脲基]-丙酰胺;

(S)-N-(2,6-二异丙基-苯基)-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基-丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-丙酰胺;

25 (R)-N-(2,6-二异丙基-苯基)-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基-丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-(2,2-二甲基-4-苯基-[1,3]二噁烷-5-基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

N-环己基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

30 N-(2-环己基-乙基)-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(3-甲基--丁基)-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(3-苯基-丙基)-丙酰胺；
- 5 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1,2,3,4-四氢化萘-1-基)-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(2-苯基-环己基)-丙酰胺；
- 10 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-茛满-1-基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-(1-羟基-环己基甲基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 15 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚烯-5-基)-丙酰胺；
- 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-苯基-丙酰胺；
- 20 N-(1-羟基-环己基甲基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺；
- 2-[3-(4-氟基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S) 3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 25 (S) 3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-丙酰胺；
- (S) 4-(3-{2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-脲基)-苯甲酸乙酯；
- 30 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-咪唑-4-基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

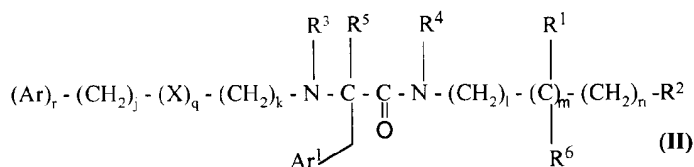
2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-3-(2-三氟甲基-苯基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-(2-硝基-苯基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

5 (S) 3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺; 和

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-吡啶-2-基-丙酰胺。

21. 根据权利要求 1~14 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面
10 式(II)的化合物或其药学上可接受的盐:



其中:

- j 为 0, 1 或 2;
- 15 • k 为 0 或 1;
- l 为 0, 1, 2 或 3;
- m 为 0 或 1;
- n 为 0, 1 或 2;
- q 为 0 或 1;
- 20 • r 为 0 或 1; 当 r 为 0 时, Ar 被氢替代;
- Ar 为苯基, 吡啶基, 嘧啶基, 噻吩基, 呋喃基, 咪唑基, 吡咯基或噻唑基, 每个基团为未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代: 乙酰基, 烷氧基, 烷基, 氨基, 氰基, 卤素, 羟基, 硝基, 氨磺酰基, 磺酰基, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{SO}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 和 $-(\text{CH}_2)_s\text{NR}^7\text{R}^8$,
- 25 其中 s 为 0, 1, 2 或 3, R^7 和 R^8 各自独立地选自 H, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基, 或者 R^7 和 R^8 与其相连的氮原子一起形成 5~7 元的脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧原子;

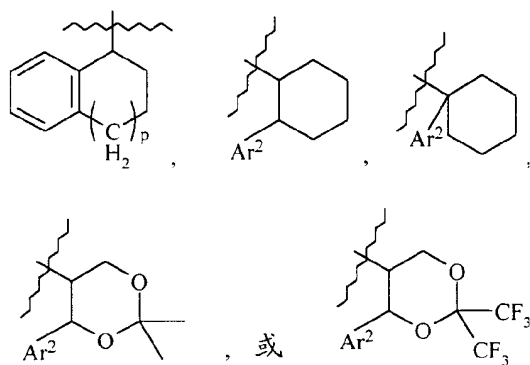
• R^1 为氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或者 5~7 个碳原子的环烷基, 其可以包含 1 或 2 个氮或氧原子;

- R^6 为氢, 甲基, 或者与 R^1 形成 3~7 个原子的脂环, 其可以包含氧或氮原子, 或者与 R^1 一起为羰基;

- Ar^1 独立地选自 Ar 或者为吡啶基或吡啶基-N-氧化物;

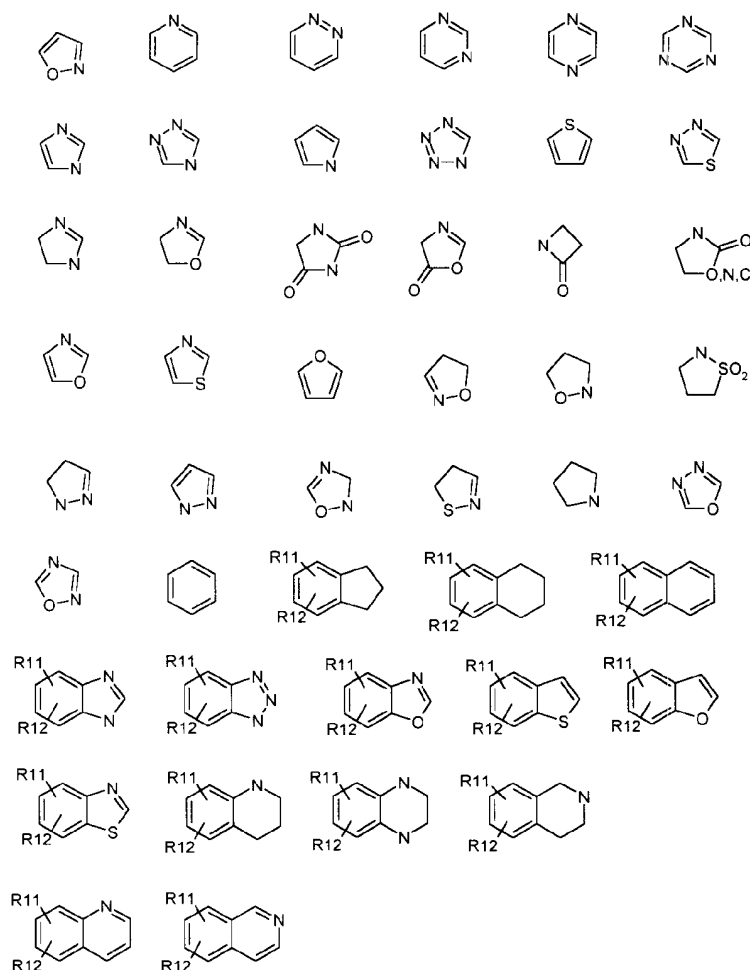
- R^3 , R^4 , 及 R^5 各自独立地选自氢和低级烷基;

- 5 • R^2 独立地选自 Ar 或者为氢, 羟基, 烷氧基, $-NMe_2$, $-CONR^9R^{10}$, 其中 R^9 和 R^{10} 各自独立地选自氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基, 或者 R^9 和 R^{10} 与其相连的氮原子一起形成 5~7 元的脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^2 为



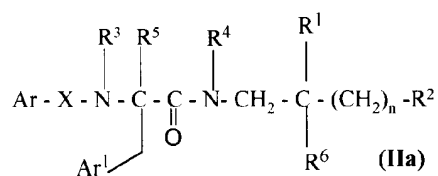
- 10 其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar^2 为苯基或吡啶基;

- X 为由下列任意化合物衍生的二价基团



其中环氮原子上可以连接有低级烷基， R^{11} 和 R^{12} 独立地选自H，卤素，羟基，烷氧基，乙酰基，硝基，氰基，氨基， CF_3 和 $-(CH_2)_tNR^{13}R^{14}$ ，这里 t 可以为0或1， R^{13} 和 R^{14} 各自独立地选自氢，高达6个碳原子的直链或支链烷基或5~7个碳原子的环烷基，其包含多达2个氧或氮原子。

22. 根据权利要求1~14的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(IIa)的化合物或其药学上可接受的盐：



其中：

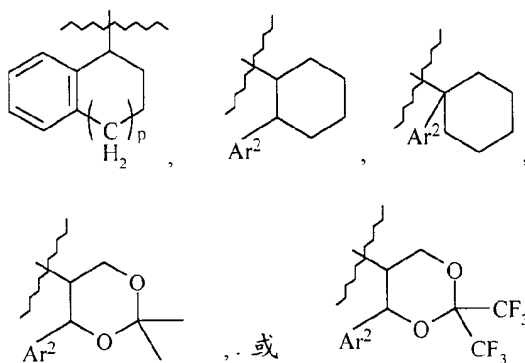
- n 为0或1；

• Ar 为苯基或吡啶基,其可以是未取代的或者被 1~3 个选自卤素,烷氧基,硝基及氰基的取代基所取代;

• Ar¹ 独立地选自 Ar 或者为吡啶基-N-氧化物或吡啶基;

• R⁶ 与 R¹ 形成 3~7 个原子的脂环,其可以包含氧或氮原子,或者与 R¹ 一起为羰基;

• R² 独立地选自 Ar 或者为氢,羟基,烷氧基,二甲基氨基,四唑基或 -CONR⁹R¹⁰, 其中 R⁹ 和 R¹⁰ 各自独立地选自氢或甲基,或者 R² 为下列基团中的任何一种:

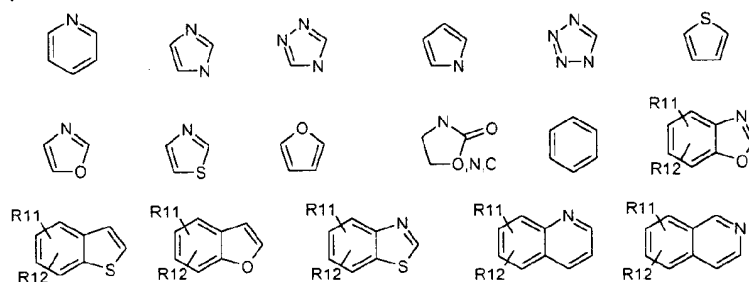


10

其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar² 为苯基或吡啶基;

• R³, R⁴ 和 R⁵ 各自独立地选自氢和甲基; 及

• X 选自:

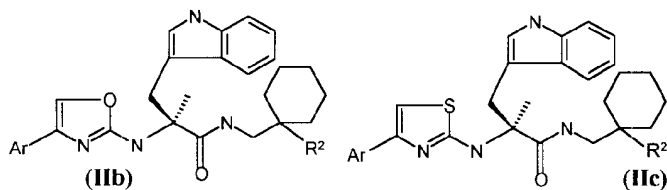


15

R¹¹ 和 R¹² 独立地选自 H, 卤素, 羟基, 烷氧基, 乙酰基, 硝基, 氰基, 氨基, CF₃ 和 (CH₂)_tNR¹³R¹⁴, 这里 t 为 0 或 1, 且 R¹³ 和 R¹⁴ 独立地选自氢和甲基。

23. 根据权利要求 1~14 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(IIb)或(IIc)的化合物或其药学上可接受的盐:

20



其中 Ar 和 R² 独立地代表苯基或吡啶基，其可以是未取代的或者被 1~3 个选自卤素，烷氧基，硝基和氰基的取代基所取代，及其药学上可接受的盐。

24. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺(也称之为化合物 2)或其药学上可接受的盐。

25. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化合物中的一种或其药学上可接受的盐：

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-(1-甲氧基甲基-环己基甲基)-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-N-(2-氧代-2-苯基-乙基)-丙酰胺；

15 (S)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-3-苯基-丙酰胺；

(S)-2-[4-(4-氟基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-丙酰胺；

20 (S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-(4-苯基-噁唑-2-基氨基)-丙酰胺；

(S)-2-(4-乙基-噁唑-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺；

25 (S)-2-(苯并噁唑-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-(吡啶-4-基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(异喹啉-4-基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(嘧啶-5-基氨基)-丙酰胺;

5 (S)-2-(联苯-2-基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-间甲苯氨基-丙酰胺;

10 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(6-苯基-吡啶-2-基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(R)-3-苯基-2-苯基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

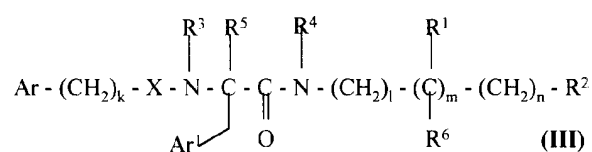
(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-苯基乙基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

15 (S)-2-[(苯并呋喃-2-基甲基)-氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺, 及

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(4-硝基-苄基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺。

26. 根据权利要求 1~14 任一项的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(III)的化合物或其药学上可接受的盐:

20

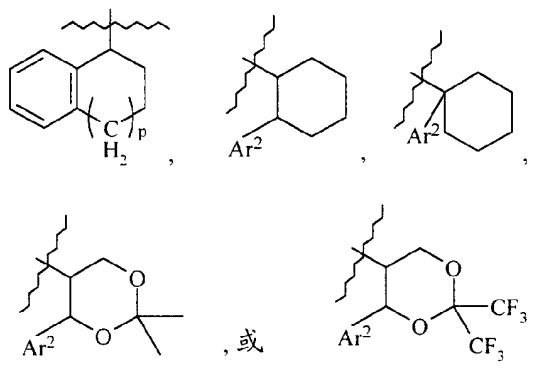


其中:

- k 为 0, 1 或 2;
- l 为 0, 1, 2 或 3;
- 25 • m 为 0 或 1;
- n 为 0, 1 或 2;
- X 为 -CO-, -OCO-, -SO- 和 -SO₂-;
- Ar 为苯并咪唑基, 苯并呋喃基, 苯并噻二唑基, 苯并噻唑基, 苯并噻吩基, 苯并吡嗪基, 苯并三唑基, 苯并噁二唑基, 呋喃基, 咪唑基, 茚

满基, 吡啶基, 异喹啉基, 异噁唑基, 萘基, 噁唑基, 苯基, 吡嗪基, 吡唑基, 吡啶基, 哒嗪基, 嘧啶基, 吡咯基, 喹啉基, 1,2,3,4-四氢化萘基, 四唑基, 噻唑基, 噻吩基或三唑基, 每个基团为未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代: 氨基, 乙酰基, 烷基(直链或支链的, 具有 1~6 碳原子), 烷氧基, 氰基, 卤素, 羟基, 硝基, 苯基, 吡啶基, 吡咯基, 异噁唑基, 苯氧基, 甲苯氧基, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{SO}_2\text{CF}_3$, $-\text{NHCONH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, SO_2Me , SO_2NH_2 , SO_2Ph , $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$, $-\text{CONR}^9\text{R}^{10}$, 及 CO_2R^{11} , 其中 q 为 0, 1 或 2, 且 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} 各自独立地选自氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或 5~7 个原子的环烷基, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^7 和 R^8 或 R^9 和 R^{10} 与其相连的氮原子一起形成 5~7 元的脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子;

- Ar^1 独立地选自 Ar , 并且还可以是吡啶基-N-氧化物;
- R^1 为氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或 5~7 个原子的环烷基, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子;
- R^2 独立地选自 Ar 或者为氢, 羟基, 烷氧基, $-\text{NMe}_2$, $-\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$,



- 其中 p 为 0, 1 或 2, Ar^2 为苯基或吡啶基; R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或 5~7 个碳原子的环烷基;
- R^3 , R^4 和 R^5 各自独立地选自氢和低级烷基; 及
 - R^6 为氢, 甲基, 或者与 R^1 一起形成 3~7 个碳原子的环, 其可以包含氧或氮原子, 或者 R^1 和 R^6 一起为羰基。

27. 根据权利要求 26 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为式(III)的化合物, 其中:

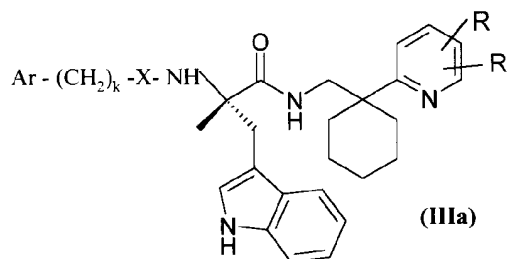
- k 为 0 或 1;

- l 为 1;
 - m 为 0 或 1;
 - n 为 0 或 1;
 - X 为 -C(O)-, -OC(O)-或-SO₂-;
- 5 • Ar 为苯并呋喃基, 呋喃基, 吡啶基, 异喹啉基, 萘基, 苯基, 吡啶基, 喹啉基或噻吩基, 每个基团为未取代的或者被 1 或 2 个选自下列的取代基所取代: 烷氧基, 氰基, 卤素, 硝基, 苯基, 苯氧基, -CF₃, -(CH₂)_qNR⁷R⁸, 其中 R⁷和 R⁸可以形成 5~7 个原子的环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R⁷和 R⁸可以独立地选自氢, 高达 4 个碳原子的直链或支链的烷基或 5
- 10 个碳原子的环烷基;
- Ar¹独立地选自 Ar, 优选吡啶基, 且可以是吡啶基-N-氧化物;
 - R¹和 R⁶可以形成 5~7 个碳原子的环烷基, 或者 R¹和 R⁶一起为羰基;
 - R²独立地选自未取代或取代的吡啶基或者为氢, 羟基, 烷氧基, -NMe₂, -CONR¹²R¹³, 其中 R¹²和 R¹³各自独立地选自 H 和 CH₃;
- 15 • R³, R⁴和 R⁵各自独立地选自氢和甲基。

28. 根据权利要求 27 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为式(III)的化合物, 其中

- l 为 1;
 - m 为 1;
- 20 • n 为 0;
- R²为 2-吡啶基;
 - R⁶与 R¹一起形成环己基。

29. 根据权利要求 1~14 任一项的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下面式(IIIa)的化合物或其盐:



25

其中 Ar, k 和 X 的意义同上, 且吡啶环任选被 1 或 2 个取代基所取代, R 和 R'独立地选自烷氧基, 氰基, 卤素, 硝基, 苯基, 苯氧基, -CF₃, -

$(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$, 其中 R^7 和 R^8 与其相连的氮原子一起可形成 5~7 员的脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^7 和 R^8 独立地选自氢或 5~7 个碳原子的环烷基, 及其药学上可接受的盐。

30. 根据权利要求 1 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化
5 合物之一或其盐:

N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-4-硝基-苯甲酰胺;

C-二甲基氨基-N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-苯甲酰胺;

10 1H-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

苯并[b]噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

15 N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-2-吡咯-1-基-苯甲酰胺;

1H-吡啶-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺; 及

1H-吡啶-2-羧酸((S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-[[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-氨基甲酰基]-1-甲基-乙基)-酰胺。

20 31. 根据权利要求 1 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化合物之一或其盐:

N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-苯甲酰胺;

25 N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-4-甲基-苯甲酰胺;

4-氯-N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-苯甲酰胺;

N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-4-甲氧基-苯甲酰胺;

30 N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-4-甲磺酰基-苯甲酰胺;

- 3-氟基-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺;
- 3-氯-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺;
- 5 N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲氧基-苯甲酰胺;
- N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲磺酰基-苯甲酰胺;
- 二甲基氨基-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲
- 10 基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺;
- N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲基-苯甲酰胺;
- 2-氯-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺;
- 15 N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-硝基-苯甲酰胺;
- N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-甲氧基-苯甲酰胺;
- N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰
- 20 基]-乙基]-2-甲基-苯甲酰胺;
- 2-氟-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺;
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-对甲苯基-乙酰基氨基)-丙酰胺;
- 25 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-邻甲苯基-乙酰基氨基)-丙酰胺;
- (S)-2-[2-(4-羟基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-[2-(3-羟基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶
- 30 -2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-间甲基-乙酰基氨基)-丙酰胺;

(S)-2-[2-(2-氟-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

- 5 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-噻吩-3-基-乙酰基氨基)-丙酰胺;

吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺

- 10 N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-异烟酰胺;

呋喃-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

呋喃-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

- 15 5-甲基-异噁唑-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

- 20 噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

噻吩-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

1H-吡啶-6-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

- 25 1H-吡啶-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

1H-吡啶-4-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

- 30 1H-吡啶-7-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

1-甲基-1H-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

苯并噻唑-6-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

5 1H-苯并三唑-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

3-甲基-噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

10 5-甲基-噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

6-甲基-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

异喹啉-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

15 喹啉-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

喹啉-8-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

20 5-苯基-噁唑-4-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-[2-(4-甲氧基-苯基)-乙酰基氨基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-2-[2-(4-二甲基氨基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

25 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[2-(2-硝基-苯基)-乙酰基氨基]-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-[2-(2-甲氧基-苯基)-乙酰基氨基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺; 及

30 N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-吡咯-1-基-苯甲酰胺。

32. 根据权利要求 1 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化

合物之一或其盐：

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸萘-1-基甲基酯；

5 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3,4-二氯-苄基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-硝基-苄基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-三氟甲基-苄基酯；

10 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸喹啉-6-基甲基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-硝基-苄基酯；及

15 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-氰基-苄基酯。

33. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化合物之一或其盐：

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3,4-二甲氧基-苄基酯；

20 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸萘-2-基甲基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸茚满-2-基酯；

25 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-甲氧基-苄基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-氯-苄基酯；

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-氟-苄基酯；

30 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-氯-苄基酯；

- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-甲基-苄基酯；
- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-叔丁基-苄基酯；
- 5 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-甲氧基-苄基酯；
- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-三氟甲基-苄基酯；
- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-乙氧基-苄基酯；
- 10 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2,4-二氯-苄基酯；
- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-甲基-苄基酯；
- 15 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-苯氧基-苄基酯；及
- {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-甲基-苄基酯。
34. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化
- 20 合物之一或其盐：
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-苯基甲磺酰基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-2-(2-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 25 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(萘-1-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(喹啉-8-磺酰基氨基)-丙酰胺；
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺；
- 30 (S)-2-(联苯-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环

己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(5-甲基-2-苯氧基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺; 及

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-对甲苯
5 氧基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺。

35. 根据权利要求 1 的组合物, 其中所述蛙皮素受体拮抗剂为下列化合物之一或其盐:

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(甲苯-4-磺
酰基氨基)-丙酰胺;

10 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲磺酰基氨基-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基
甲基)-丙酰胺;

(S)-2-(2-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环
己基甲基)-丙酰胺;

(S)-2-(4-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环
15 己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2,2,2-三氟
乙磺酰基氨基)-丙酰胺;

(S)-2-(5-二甲基氨基-萘-1-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-
吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

20 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(萘-2-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己
基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(噻吩-2-磺
酰基氨基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(3-硝基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-
25 环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-2-(4-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环
己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(4-硝基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-
环己基甲基)-丙酰胺;

30 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(3-三氟甲
基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺;

- (S)-2-(3,4-二氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(3-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 5 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(4-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺;
- (S)-2-(5-氯-噻吩-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(3-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 10 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(甲苯-3-磺酰基氨基)-丙酰胺;
- (S)-2-(3,4-二甲氧基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 15 (S)-2-(4-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(2-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(5-氯-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 20 (S)-2-(3,5-二甲基-异噁唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(苯并[1,2,5]噻二唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 25 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(1-甲基-1H-咪唑-4-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- (S)-2-(苯并[1,2,5]噻二唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;
- 30 3-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基氨基磺酰基}-噻吩-2-羧酸甲酯;
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(5-异噁唑-3-基-噻吩-2-磺酰基氨基)-2-甲基-N-

- (1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(2-硝基-苯基甲磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-2-(3-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 5 (S)-2-(1,2-二甲基-1H-咪唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(3-甲氧基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 10 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(8-硝基-萘-1-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-2-(2-氟-5-硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2,4,6-三氟-15 苯磺酰基氨基)-丙酰胺；
- (S)-2-(4-氟-2-硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-2-(5-苯磺酰基-噻吩-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 20 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(4-三氟甲氧基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺；
- 2-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基氨基磺酰基]-苯甲酸甲酯；
- (S)-2-(3-氟-4-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 25 (S)-2-(2,5-二氟-噻吩-3-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- (S)-2-(3-氟-4-甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
- 30 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(2-甲氧基-4-甲基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(5-吡啶-2-基-噻吩-2-磺酰基氨基)-丙酰胺;

(S)-2-(5-溴-6-氯-吡啶-3-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

5 (S)-2-(2,4-二硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(4-甲磺酰基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

10 (S)-2-(4-叔丁基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-2-(2,4-二氯-5-甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)-2-(2-氯-5-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

15 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(2-硝基-4-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺; 及

(S)-2-(4-丁基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺。

20 36. 根据前述权利要求中任一项的组合物, 其为进一步包含药学上可接受的赋形剂的药物组合物的形式。

37. 根据前述权利要求中任一项的组合物, 其适于经口给药。

38. 前述任一项权利要求要求保护的组合物在制备治疗或预防男性性功能障碍(特别是男性勃起性功能障碍)和/或女性性功能障碍(特别是性欲活动减退疾病, 性欲唤醒障碍, 性欲高潮障碍或性疼痛疾病)的药物中的用途。

25 39. 蛙皮素受体拮抗剂与 PDE 5 抑制剂的药物组合物(用于同时、单独或依次给药)。

40. 蛙皮素受体拮抗剂与 NEP 抑制剂的药物组合物(用于同时、单独或依次给药)。

30 41. 蛙皮素受体拮抗剂与一种或多种雌激素受体调节剂(SERM)和/或雌激素激动剂和/或雌激素拮抗剂的药物组合物(用于同时、单独或依次给药)。

42. 蛙皮素受体拮抗剂与 lasofoxifene 的药物组合物(用于同时、单独或

依次给药)。

43. 一种治疗药物引起的男性性功能障碍(特别是又不仅仅是抗抑郁药引起的性功能障碍)的方法, 包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有性功能障碍的男性。

5 44. 一种治疗药物引起的女性性功能障碍(特别是又不仅仅是抗抑郁药引起的性功能障碍)的方法, 包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有性功能障碍的女性。

45. 一种治疗男性勃起功能障碍的方法, 包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有勃起功能障碍的男性。

10 46. 一种治疗女性患者所患有的性欲活动减退疾病的方法, 包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于该女性患者。

47. 一种治疗女性患者所患有的性欲唤醒障碍和/或性欲高潮障碍的方法, 包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于该女性患者。

性功能障碍的治疗

5 技术领域

本发明涉及治疗性功能障碍的方法并且涉及用于治疗性功能障碍的药物制剂。

背景技术

10 男性和女性均可能患有性功能障碍。性功能障碍在大众中比较普遍(见 O' Donohue, 1997)。该疾病可能涉及寻求性行为(性本体感受性(proceptivity))和/或伴随性欲唤醒的接受性行为(性感受性(receptivity))。性的问题在接收药物,特别是抗抑郁药和抗高血压药的人口更普遍。对于性功能障碍的药物疗法的需要日益增加,然而从事探索治疗性功能障碍的药物的研究力
15 量微乎其微。

性功能障碍包括器质性和心理性的勃起功能障碍(Benet, 1995)以及性欲活动减退疾病,性欲唤醒障碍,性快感缺失和性疼痛疾病(Berman, 1999, Urology)。

在男性中,阳萎可以定义为不能实现阴茎的勃起或射精。据称,阳萎
20 在男性人口中的发病率为 2~7%,随着年龄的增加而增加到 50 几岁,且在 55 至 80 岁之间达到 18~80%。例如仅在美国,据估计就有 1000 万患有阳萎的男性,且大多数人的问题是器质性的而不是心理性的。虽然已经给出了许多不同的诱导阴茎勃起的药物,但是它们仅在直接通过例如尿道内或海绵体内(i.c.)注入阴茎之后才是有效的,而且尚未批准用于勃起的功
25 能障碍。US-A-5576290 公开了据称可以诱导勃起的肽,然而它们毫无疑问是通过皮下,例如通过注射给药的,而且如果过量给药,它们将产生过大的勃起反应和胃部的不适。通过意想不到的发现 cGMP PDE 抑制剂,例如吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮可以治疗勃起功能障碍,阳痿治疗得到了革命性的改变,并且可以经口给药,从而消除了与 i.c.给药有关的缺点。目前正在制造的这
30 种化合物之一是西地那非(伟哥)。

30~50%的美国妇女抱怨性功能障碍。衰老,更年期和雌激素循环水平

- 的下降显著地增加了性疾病的发病率。在 Berman J.R.等人的最近出版物(Int. J. Impot. Res., 1999, 11: S31-38)中, 描述了在临床环境中评价女性性反应的生理和主观因素并确定年龄和雌激素状态对其作用的方法。低下或缺少性冲动/愿望构成女性人口中最常见的问题(Laumann 等, 1999 JAMA 281:537-544), 然而除了心理疗法或实验方法之外没有任何疗法可供使用。在另一出版物(Bonney R.C 等, Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare, PJB Publications Ltd, London, 2000)中, 讨论了女性性功能障碍的原因和治疗方法, 包括使用模拟雌激素作用且已经报导具有温和的雄激素性质的合成类固醇替勃龙(Livial; Organon), 以及睾丸激素的使用。
- 10 迄今为止, 英国和美国的卫生部没有许可任何治疗女性性功能障碍的药物, 因此, 在女性性功能障碍, 特别是性冲动问题的治疗中存在未得到满足的药物需求。

发明概述

- 15 本发明基于起蛙皮素受体拮抗剂作用的物质的认识, 所述蛙皮素受体拮抗剂可用于治疗男性和女性患者的性功能障碍, 包括其行为因素。换言之, 它们可以为器质性和心理性的勃起功能障碍以及性欲活动减退疾病, 性欲唤醒障碍, 性快感缺失和性疼痛疾病提供治疗。

- 因此, 本发明提供治疗性功能障碍的方法, 包括将有效量的蛙皮素(BB)
20 受体拮抗剂给药于患有性功能障碍且需要治疗的患者。

本发明还提供蛙皮素受体拮抗剂在制备预防或治疗男性性功能障碍或女性性功能障碍的药物中的用途。

此外, 本发明的许多化合物兼具结合蛙皮素受体的性质和可经口给药有效剂量的性质。

- 25 蛙皮素拮抗剂所具有的抗蛙皮素受体的 K_i 优选为小于 1000nM, 更优选小于 500nM, 更优选小于 100 nM, 更优选小于 50 nM, 最优选小于 10 nM。优选蛙皮素拮抗剂与其它的蛙皮素受体亚型相比对 BB_1 是选择性的(优选选择性大于 10, 更优选选择性大于 30, 最优选选择性大于 100, 其可以在体外通过各自的抗 BB_1 和 BB_2 受体的 IC_{50} 或 K_i 值的比进行度量), 并且其抗
30 BB_1 受体的 K_i 值小于 1000nM, 优选小于 500nM, 更优选小于 100 nM, 更优选小于 50 nM, 最优选小于 10 nm。具有上述功效的化合物可以通过下述

体外筛选方法进行鉴别。

因此，本发明提供治疗药物引起的男性性功能障碍(特别是而不仅仅是抗抑郁药引起的功能障碍)的方法，包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有性功能障碍的男性。

- 5 本发明还提供治疗药物引起的女性性功能障碍(特别是而不仅仅是抗抑郁药引起的性功能障碍)的方法，包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有性功能障碍的女性。

本发明还提供治疗男性勃起功能障碍的方法，包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于患有勃起功能障碍的男性。

- 10 本发明还提供治疗女性患者所患有的性欲活动减退疾病的方法，包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于该女性患者。

本发明还提供治疗女性患者所患有的性欲唤醒障碍和/或性欲高潮障碍的方法，包括将有效量的蛙皮素 BB_1 拮抗剂或混合的 BB_1/BB_2 拮抗剂给药于该女性患者。

- 15 另外，本发明包括蛙皮素受体拮抗剂(其可以具有上述优选功效范围之一)与下列一种或多种辅助活性剂的组合物，用于治疗本文所述的男性性功能障碍(特别是男性勃起功能障碍)和女性性功能障碍(特别是女性性欲唤醒障碍或女性性欲疾病)。该组合物为器质性、神经性和/或心理性起源的性功能障碍，以及性欲活动减退疾病，性欲唤醒障碍，性欲高潮障碍和性疼痛疾病提供治疗。

因而，本发明进一步提供根据本发明的蛙皮素受体拮抗剂与一种或多种选自下列(1)至(34)的物质的药物组合物(用于同时、单独或依次给药)：

- (1) 天然或合成的前列腺素或其酯；
- (2) α -肾上腺素受体拮抗剂化合物，也称之为 α -肾上腺素受体拮抗剂
- 25 或 α -受体拮抗剂或 α -阻断剂；
- (3) NO-供体(NO-激动剂)化合物；
- (4) 钾通道开启剂或调节剂；
- (5) 多巴胺药剂；
- (6) 血管扩张剂；
- 30 (7) 凝血噁烷 A2 激动剂；
- (8) CNS 活性剂；

- (9) 麦角生物碱;
- (10) 调节促尿钠排泄因子作用的化合物;
- (11) 血管紧缩素受体拮抗剂如洛沙坦;
- (12) NO-合酶的底物;
- 5 (13) 钙通道阻断剂;
- (14) 降胆固醇药物;
- (15) 抗血小板和抗血栓形成药物;
- (16) 胰岛素敏化剂和低血糖药物;
- (17) L-DOPA 或卡比多巴;
- 10 (18) 乙酰胆碱酯酶抑制剂;
- (19) 甾族或非甾族的抗炎药;
- (20) 雌激素受体调节剂和/或雌激素激动剂和/或雌激素拮抗剂, 及其药
学上可接受的盐;
- (21) PDE 抑制剂;
- 15 (22) NPY (神经肽 Y)抑制剂;
- (23) NEP 抑制剂;
- (24) 血管作用的肠蛋白(VIP), VIP 模拟物, VIP 类似物, VIP 受体激
动剂或 VIP 类似物或 VIP 片段, 或者 α -肾上腺素受体拮抗剂与 VIP 的组合;
- (25) 黑皮质激素受体激动剂或调节剂或者黑皮质激素增强剂;
- 20 (26) 5-羟色胺受体激动剂, 拮抗剂或调节剂;
- (27) 睾酮替代剂, 睾酮, 二氢睾酮或睾酮植入物;
- (28) 雌激素, 雌激素与甲羟孕酮或甲羟孕酮乙酸酯(MPA)(即一种组
合物), 或者雌激素和甲基睾酮激素替代治疗剂;
- (29) 去甲肾上腺素, 多巴胺和/或 5-羟色胺传递剂的调节剂;
- 25 (30) purinergic 受体激动剂和/或调节剂;
- (31) 神经激肽(NK)受体拮抗剂;
- (32) 类鸦片物受体激动剂, 拮抗剂或调节剂;
- (33) 催产素/加压素受体的激动剂或调节剂; 及
- (34) 大麻素受体的调节剂。
- 30 具体地, 本发明包括药物组合物或单位剂量形式, 其包含有效量的蛙
皮素受体拮抗剂和有效量的选自上述(1)至(34)的任何物质。

在上述方法、上述组合、组合物或剂型中，所述拮抗剂的抗 BB_1 的 K_i 值小于 1000nM，优选小于 500nM，更优选小于 100 nM，更优选小于 50 nM，最优选小于 10 nM，和/或对 BB_1 的选择性比其它的蛙皮素受体亚型大 10 倍，更优选大 30 倍，最优选大 100 倍，其可以在体外通过各自的抗 BB_1 和 BB_2 受体的 IC_{50} 或 K_i 值的比进行度量。

附图简要说明

图 1: (S)3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基-甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺(化合物(1))对雌性大鼠性本体感受性的影响。

图 2: 化合物(1)对雌性大鼠性感受性的影响。

图 3: 重复给药化合物(1)对雌性大鼠性本体感受性的影响。

图 4: 脑室内给药化合物(1)对雌性大鼠性本体感受性的影响。

图 5: NMB 对雌性大鼠性本体感受性的抑制作用及化合物(1)对这种抑制作用的拮抗作用。

图 6: 显示化合物(1)对雌性性行为的影响是否是通过黄体酮介导的研究结果。

图 7: 显示化合物(1)对雌性性行为的影响是否是通过雌二醇介导的研究结果。

图 8: 显示化合物(1)对雌性性行为的影响是否是通过促乳激素介导的研究结果。

图 9: 显示化合物(1)对雌性性行为的影响是否是通过 LH 介导的研究结果。

图 10: 显示化合物(1)对雌性性行为的影响是否是通过 FSH 介导的研究结果。

图 11: 化合物(1)对正常雄性大鼠性行为(交配反应时间)的影响。

图 12: 化合物(1)对正常雄性大鼠性行为(插入反应时间)的影响。

图 13: 化合物(1)对正常雄性大鼠性行为(交配+插入的次数)的影响。

图 14: 化合物(1)对正常雄性大鼠性行为(射精反应时间)的影响。

图 15: 化合物(1)对正常雄性大鼠性行为(不应期)的影响。

图 16: 化合物(1)对患有性功能障碍的雄性大鼠的性行为(交配反应时间)

的影响。

图 17: 化合物(1)对患有性功能障碍的雄性大鼠的性行为(射精反应时间)的影响。

图 18: 化合物(1)对患有性功能障碍的雄性大鼠的性行为(射精的动物%)的影响。

图 19: PEG 200 中的(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺(化合物(2))对雌性大鼠性本体感受性的影响。

图 20: 甲基纤维素中的化合物(2)对雌性大鼠性本体感受性的影响。

图 21: PEG 200 中的化合物(2)对雌性大鼠性感受性的影响。

图 22: 化合物 1 对雌性性欲唤醒的麻醉兔模型的基础和骨盆神经刺激增加的影响。

图 23: (2S)-N-{{[1-(4-氨基苯基)环己基]甲基}-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-{{[(4-硝基苯胺基)羰基]氨基}丙酰胺(化合物 3)}对雌性性欲唤醒的麻醉兔模型的基础和骨盆神经刺激增加的影响。

图 24: 化合物 1 对有知觉的雄性大鼠的阴茎海绵体内压力的影响。

图 25: 化合物 3 对有知觉的阴茎勃起的雄性大鼠的阴茎海绵体内压力的影响。

图 26: 单独的化合物 3 及其与磷酸二酯酶 5 型抑制剂对阴茎勃起的麻醉兔模型的基础和骨盆神经刺激的增加及阴茎海绵体内压力的影响。

优选实施方案的说明

适宜的患者

如前所述, 本发明提供治疗男性性功能障碍或女性性功能障碍的组合、组合物和方法。发明人认为, 在男女心理性性功能障碍的病理学上存在共同的机制。

男性性功能障碍包括男性勃起功能障碍(MED)。在有意识的阴茎勃起的大鼠模型(实施例 170, 图 24 和 25)中及骨盆神经刺激模型(实施例 171, 图 26)中, 已经采用遥测技术证实, 患有轻微或中度 MED 的患者应当受益于蛙皮素拮抗剂治疗, 患有严重 MED 的患者也可以响应蛙皮素拮抗剂的能力, 使海绵体内压力回复到正常水平。然而, 早期研究指出, 患有轻微、

中度和严重 MED 的患者对蛙皮素拮抗剂/PDE5 抑制剂组合的反应速度更大(见实施例 171 和图 26)。轻微、中度和严重 MED 是本领域的技术人员所熟知的术语,其指南可参见 The Journal of Urology, vol 151, 54-61 (Jan 1994)。

我们的研究指出,下述男性性功能障碍/MED 患者群体应当可以从蛙皮素拮抗剂和/或蛙皮素拮抗剂与磷酸酯酶 5 型抑制剂(PDE5i)或者本文所述的其它组合治疗中获益。这些患者群体更详细地描述于 *Clinical Andrology* vol 23, no.4, p773-782, 及 I. Eardley 和 K. Sethia 所著之书 "*Erectile Dysfunction-Current Investigation and Management*" 的第三章(Mosby-Wolfe 出版)中,并且为:心理性的,内分泌性的,神经性的,过敏性的,药物引起的性功能障碍以及与阴茎海绵体因素、尤其是静脉性原因有关的性功能障碍。本发明可应用于下列患有性功能障碍/MED 患者的分组人口中:年轻人,中年以上包括与衰老有关的性唤醒下降。更具体地,本发明可应用于患有男性性功能障碍如 MED 的患者中,这种性功能障碍起因于:

- (i) 动脉性的(Arteriogenic)/血管性的(vasculogenic)病因学例如心血管或动脉粥样硬化疾病,高胆固醇血症,香烟烟熏,糖尿病,高血压,辐射和会阴外伤,髂下腹的阴部体系的跌打损伤。
- (ii) 神经性的病因学如脊髓损伤或中枢神经系统疾病包括多发性硬化,糖尿病,震颤麻痹,脑血管意外,周围神经病,外伤或基础骨盆的手术。
- (iii) 激素的/内分泌病因学如下丘脑/垂体/生殖腺轴的功能障碍,胰腺的功能障碍,外科或内科的阉割,雄激素缺乏,促乳激素的高水平循环例如高促乳激素症,甲状腺机能亢进和甲状腺机能减退。
- (iv) 心理性的病因学如抑郁症,强迫观念与行为的异常,忧虑症,情感和关系问题,行为忧虑,婚姻的不和谐,功能障碍性姿态,性恐怖症,宗教禁制或创伤性经历。
- (v) 药物引起的性功能障碍,起因于采用选择性的 5-羟色胺再摄取抑制剂的治疗(SSRIs)及其它抗抑郁药治疗(三环类药物及主要的镇静剂),抗高血压治疗,及交感神经阻滞药品。

药物引起的男性性机能障碍包括药物处理/治疗导致射精延迟/性高潮延迟,性欲下降和/或勃起功能障碍。本发明的蛙皮素拮抗剂(尤其是 BB₁ 拮抗剂)可以恢复射精/性欲高潮,性欲和勃起功能至正常的生理“水平”。这可以得到下面实施例 8 及图 16~18 中所述实验的支持。

如果勃起功能障碍不是药物引起的,蛙皮素拮抗剂(尤其是BB₁拮抗剂)也可以用于治疗勃起功能障碍,通过增强(正常性刺激过程中)男性正常的内源性勃起机制并在性刺激过程中恢复勃起功能至正常水平。因而,下文的实施例170和171以及图24,25和26阐明,在动物模型中蛙皮素拮抗剂(尤其是BB₁拮抗剂)或者蛙皮素拮抗剂与磷酸二酯酶5型抑制剂增强勃起机制,通过增强海绵体内压力以及增强骨盆神经刺激诱导的海绵体内压力增加的作用。

早期的研究还表明,在性欲功能障碍不是药物引起的(例如心理性的)情况下,本发明有助于恢复男性性欲/愿望至正常水平。

男性性功能障碍的心理性因素已经由国际阳痿研究协会(The International Society for Impotence Research)命名委员会进行了分类(见Sachs B. D., 2000),分为普通型,表现为普通的无反应或原发性缺乏性欲唤醒,以及与衰老有关的性唤醒能力下降,表现为全身性抑制或者性亲密的慢性疾病。

本发明的化合物可用于治疗男性性功能障碍,特别是药物引起的男性性功能障碍以及与全身性无反应有关的心理性男性性功能障碍和与衰老相关的性唤醒能力下降。

女性性功能障碍可以分为四种类型(Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare, p.194-205, 2000),其包括:

- 性欲活动减退疾病,其特征不在于持久的或复发性的缺乏性思想/幻想,并且对性活动缺乏感受性,导致个人的痛苦。
- 性欲唤醒障碍,其特征不在于持久或复发性地不能实现或维持足够的性激动,导致个人的痛苦。正常的性欲唤醒反应包括大量的可于性激动期间观察到的生理反应。这些变化如阴道、阴唇和阴蒂充血导致生殖器官血流增加。充血通过血浆渗出物使阴道润滑性增加,使阴道顺应性增加(阴道平滑肌的放松),并且是阴道和阴蒂敏感性增加。女性性欲唤醒障碍(FSAD)是极其普遍性疾病,高达40%的绝经前、绝经期间以及绝经后的妇女患病(±HRT)。FSAD的主要后果是生殖器充血下降或者肿胀,其本身表明缺乏阴道润滑以及缺乏愉快的生殖器感觉。第二个后果是性欲降低,性交疼痛和难于达到性高潮。FSAD的最常见

的原因是降低的生殖器血流导致阴道、阴唇和阴蒂充血降低(Park, 1997; Goldstein, 1998; Berman, 1999, Werbin, 1999)。

- 性欲高潮疾病，其特征不在于足够的性刺激或唤醒之后持久或反复地难于或延迟获得性高潮，导致个人的痛苦。
- 5 • 性疼痛疾病，其特征不在于性交困难(表现为经常或持久的与性交有关的生殖器疼痛)，阴道痉挛(表现为经常或持久的无意识的阴道外三分之一肌肉痉挛，这影响阴道的渗透性，导致个人的痛苦)及其它疼痛疾病(表现为非性交的性刺激引起的经常或持久的生殖器疼痛)。

10 本发明的化合物可用于治疗女性性功能障碍(FSD)，这包括与性欲活动减退疾病，性欲唤醒障碍，性欲高潮障碍或性快感缺失或性疼痛疾病有关的绝经期前、绝经期间和绝经期后的女性性功能障碍。

早期研究指出，下述女性性功能障碍(FSD)患者群体可以从蛙皮素拮抗剂治疗或蛙皮素拮抗剂与 PDE5i(或本文所述的其它组合)治疗中获益。这些患者群体的更详尽的描述见 Berman 等(Urology, 1999)。本发明可应用于下列患有 FSD 患者的分组人口中：年轻人，中年以上(与衰老有关的性功能障碍)，进行或未进行激素替代治疗的绝经期前、绝经期间和绝经期后的妇女。更具体地，本发明可应用于下列原因导致的 FSD 的患者中：

- (i) 动脉性的(Arteriogenic)/血管性的(vasculogenic)病因学例如心血管或动脉粥样硬化疾病，高胆固醇血症，香烟烟熏，糖尿病，高血压，辐射和会阴外伤，髋下腹的阴部体系的跌打损伤。
- 20 (ii) 神经性的病因学如脊髓损伤或中枢神经系统疾病包括多发性硬化，糖尿病，震颤麻痹，脑血管意外，周围神经病，外伤或基础骨盆的手术。
- (iii) 激素/内分泌病因学如下丘脑/垂体/生殖腺轴的功能障碍，或者卵巢的功能障碍，胰腺的功能障碍，外科阉割或内科的，雄激素缺乏，促乳激素的高水平循环例如高促乳激素症，自然的绝经期，卵巢早衰，甲状腺机能亢进和甲状腺机能减退。
- 25 (iv) 心理性的病因学如抑郁症，强迫观念与行为的异常，忧虑症，后天的抑郁症/"Baby Blues"，情感和关系问题，行为忧虑，婚姻的不和谐，
- 30 功能障碍性姿态，性恐怖症，宗教禁制或创伤性经历。

(v) 药物引起的性功能障碍，起因于采用选择性的 5-羟色胺再摄取抑制剂的
治疗(SSRIs)及其它抗抑郁药治疗(三环类药物及主要的镇静剂)，抗
高血压治疗，交感神经阻滞药品，慢性口服避孕药治疗。

我们使用药物引起的女性性功能障碍是指包括药物处理/疗法导致性高
5 潮延迟或不能达到性高潮，性欲下降和 FSD 的情形。蛙皮素拮抗剂(尤其是
BB₁ 拮抗剂)有助于恢复性高潮，性欲和女性性功能至正常的生理“水平”。
而且，由于蛙皮素拮抗剂已经显示出对卵巢完好和卵巢切除的动物具有有
益的作用，显然蛙皮素拮抗剂(尤其是 BB₁ 拮抗剂)还可以用于治疗女性性欲
唤醒障碍(FSAD)，性欲活动减退疾病(HSDD)和性快感缺失(FOD)以及性疼
10 痛疾病，特别是那些性欲唤醒障碍继发的疾病。具体地，实施例 2 以及图 2
和 21，实施例 169 以及图 22 和 23 分别阐述了本发明的治疗组合和治疗方法，
其可通过增加 FSAD 与 FOD 妇女的生殖器血流进而提高感受性行为和
性唤醒。此外，实施例 1，4 和 5 以及图 1，3，4 和 5 举例说明，本发明的
组合和治疗方法可以增加 HSDD 妇女的性本体感受行为并恢复正常的愿望/
15 性欲。

蛙皮素受体拮抗剂-概要

蛙皮素受体存在于下丘脑区域。我们已经发现，它们可以对性行为施
加神经调节作用。

20 我们已经利用精心改进的动物模型试验了蛙皮素受体拮抗剂化合物，
并且确信它们是可靠的和有预见性的，特别是对女性的预见能力。在啮齿
类中，性本体感受行为在激素控制之下，黄体酮与雌激素的结合是诱导性
本体感受行为不可缺少的(Johnson M, 1988)。在灵长目中激素控制性本体感
受行为的证据是矛盾的，但是从整体来看，雌激素和/或雄激素看起来似乎
25 可以提高性本体感受行为(Baum M. J, 1983)。在大鼠中，性本体感受性的行
为表现包括“跳跃和飞奔”运动，同时伴随迅速的耳振动。评价渴望寻求
性接触(性刺激)的试验已经以最合适的度量性本体感受性的方式(Meyerson,
1973)报导过。在大鼠中，当雌性呈现脊柱前凸的位置时，感受性得到证实。
这在交配时当雄性用其前蹄向感受性的雌性的两侧施加压力时发生。控制
30 这种行为的神经元的主要位置是腹内侧核(VMN)和中脑中央的灰质区
(MCG)(参见 Wilson C. A., 1993)。

蛙皮素是 14 个氨基酸的肽，最初是从欧洲蛙 *Bombina bombina* 的皮肤中分离出来的(Anastasi A., 1971)。它属于肽类，该类肽在其 C-末端的十肽区中具有结构同源性(Dutta A. S., Small Peptides; Chemistry, Biology, and Clinical Studies)。目前，已经鉴定出两种类哺乳动物蛙皮素类的肽，十肽的神经介肽 B(NMB)和 23 个剩余氨基酸，胃泌激素释放肽(GRP)。

蛙皮素通过对异质受体群的作用激起许多中枢作用。BB₁ 受体与神经介肽 B(NMB)结合，其亲和力高于与胃泌激素有关的肽(GRP)和神经介肽 C(NMC)，BB₂ 受体以比 NMB 更大的亲和力与 GRP 和 NMC 结合。最近，已经获得了两个分别由 BB₃ 和 BB₄ 表示的受体亚型的证据，然而由于药理学10 的限制，目前对它们的功能几乎一无所知。BB₁ 和 BB₂ 受体在中枢神经系统内具有不均匀的分布，这表明这些受体的内源配体可以区别地调节神经传递。在其它区域中，BB₁ 受体存在于腹侧正中的下丘脑中(Ladenheim E.E, 1990)。

已经在哺乳动物大脑中检出类蛙皮素的免疫反应性和 mRNA(Braun M., 15 等, Life. Sci., 1978; 23: 2721)(Battey J.,等, TINS, 1991;14:524)。据认为 NMB 和 GRP 调解各种生物作用(参见 WO 98/07718)。

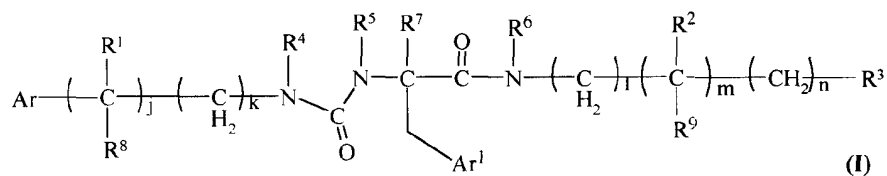
下列专利申请公开了可以拮抗蛙皮素受体的 NMB 和/或 GRP 的作用的化合物：CA 2030212, EP 0309297, EP 0315367, EP 0339193, EP 0345990, EP 0402852, EP 0428700, EP 0438519, EP 0468497, EP 0559756, EP 0737691, EP 20 0835662, JP 07258081, UK 2231051, US 4943561, US 5019647, US 5028692, US 5047502, US 5068222, US 5084555, US 5162497, US 5244883, US 5439884, US 5620955, US 5620959, US 5650395, US 5723578, US 5750646, US 5767236, US 5877277, US 5985834, WO 88/07551, WO 89/02897, WO 89/09232, WO 90/01037, WO 90/03980, WO 91/02746, WO 91/04040, WO 91/06563, WO 25 92/02545, WO 92/07830, WO 92/09626, WO 92/20363, WO 92/20707, WO 93/16105, WO 94/02018, WO 94/02163, WO 94/21674, WO 95/00542, WO 96/17617, WO 96/28214, WO 97/09347, WO 98/07718, WO 00/09115, WO 00/09116。我们相信这些申请中所公开的化合物可以用于预防或治疗男性和/或女性性功能障碍，这是前述申请没有公开也未暗示的，实际上，现有的科学出版物均未涉及蛙皮素受体。

本发明可应用的蛙皮素受体拮抗剂包括非肽化合物和肽化合物。优选

可以配制成经口给药(尤其是人的经口给药)且基本上不丧失活性的组合物的化合物。很多具有所需性质的非肽化合物落入此范畴。

A) 非肽蛙皮素受体拮抗剂

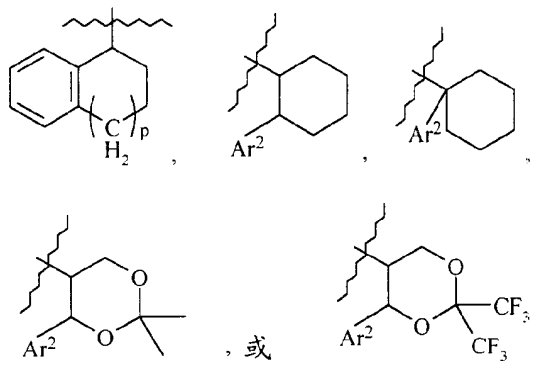
- 5 一类优选的用于本发明的化合物包括下面式(I)化合物及其药学上可接受的盐的蛙皮素受体拮抗剂



其中：

- 10
- j 为 0 或 1；
 - k 为 0 或 1；
 - l 为 0, 1, 2 或 3；
 - m 为 0 或 1；
 - n 为 0, 1 或 2；
- 15
- Ar 为苯基, 吡啶基或嘧啶基, 每个基团是未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代: 烷基, 卤素, 烷氧基, 乙酰基, 硝基, 氨基, $-\text{CH}_2\text{NR}^{10}\text{R}^{11}$, 氰基, $-\text{CF}_3$, $-\text{NHCONH}_2$, 及 $-\text{CO}_2\text{R}^{12}$;
 - R^1 为氢或者具有 1~7 个碳原子的直链, 支链或环状的烷基;
 - R^8 为氢或者与 R^1 形成具有 3~7 个碳原子的环;
- 20
- R^2 为氢或者具有 1~8 个碳原子的直链, 支链或环状的烷基, 其还可以包含 1 或 2 个氧或氮原子;
 - R^9 为氢或者与 R^2 形成 3~7 个碳原子的环, 其可包含氧或氮原子; 或者 R^2 和 R^9 可以同为羰基;
 - Ar^1 可以独立地选自 Ar 并且可以包括吡啶基-N-氧化物, 吲哚基, 咪唑基, 及吡啶基;
 - R^4 , R^5 , R^6 , 及 R^7 各自独立地选自氢和低级烷基; R^4 还可以与 R^5 形成 2~3 个原子的共价连接链(covalent link), 其可以包含氧或氮原子;
- 25

• R^3 可以独立地选自 Ar 或者为氢, 羟基, $-NMe_2$, N-甲基-吡咯基, 咪唑基, N-甲基-咪唑基, 四唑基, N-甲基-四唑基, 噻唑基, $-CONR^{13}R^{14}$, 烷氧基,

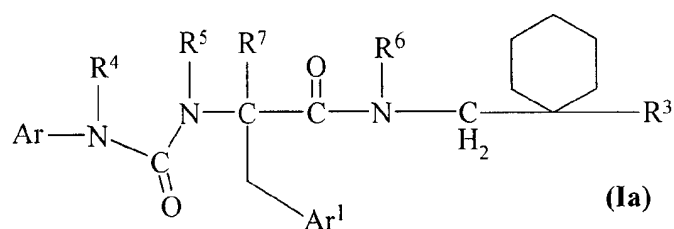


5 其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar^2 为苯基或吡啶基;

• R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} 和 R^{14} 各自独立地选自氢或具有 1~7 个碳原子的直链, 支链或环状的烷基。

优选的化合物是下面式(Ia)的化合物

10



其中

• Ar 为苯基, 其是未取代的或者被 1 或 2 个选自异丙基, 卤素, 硝基, 及氰基的取代基所取代;

15

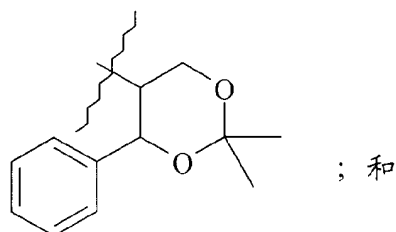
- R^4 , R^5 , 及 R^6 为氢;
- R^7 为甲基或氢;
- R^3 为 2-吡啶基或羟基; 及
- Ar^1 为吲哚基, 吡啶基, 吡啶基-N-氧化物, 或咪唑基。

20

其它优选的化合物是式 I 的化合物, 其中

- Ar 为未取代的苯基;
- R^1 为环戊基或叔丁基;

- R^4 和 R^5 为氢；
- R^7 为甲基；
- R^6 为氢；
- R^3 为具有两个异丙基取代基的苯基，未取代的苯基，或者



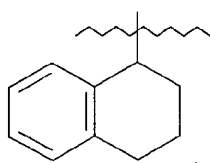
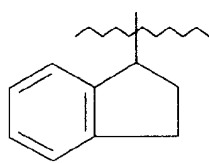
5

Ar^1 为吲哚基。

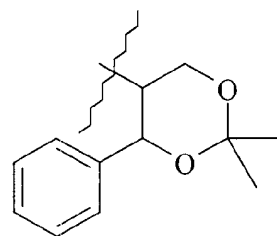
其它优选的化合物是式 I 的化合物，其中

- Ar 为 2,6-二异丙基-苯基，4-硝基-苯基，及 4-氰基-苯基；
- R^4 , R^5 , 及 R^6 为氢；
- R^7 为甲基；
- R^2 为氢或者环己基；及
- R^3 为羟基，吡啶基，

10



, 或



15

目前，最优选的式(I)化合物为(S)3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺(也称之为化合物 1)及其药学上可接受的盐和(2S)-N-{[1-(4-氨基苯基)环己基]甲基}-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-[(4-硝基苯胺基)-羰基]氨基}丙酰胺(也称之为化合物 3)

20 及其药学上可接受的盐。

其它的优选的式(I)化合物列举如下，并且还包括其药学上可接受的盐：

(S)N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-N-甲基-丙酰胺;

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-1-甲基-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-丙酰胺;

5 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-(1-氧基-吡啶-2-基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-吡啶-2-基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

2-[3-(2-叔丁基-苯基)-脲基]-N-环己基甲基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

10 N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二氯-苯基)脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二甲氧基-苯基)脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

15 N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二甲基氨基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

(S)N-环己基甲基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺;

20 N-环己基甲基-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基)丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

[S-(R*, R*)] 3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-{3-[1-(4-硝基-苯基)-乙基]-脲基}-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

N-(2,2-二甲基-4-苯基-[1,3]二噁烷-5-基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(1-苯基-环戊基甲基)脲基]-丙酰胺;

25 (S)-N-(2,6-二异丙基-苯基)-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基-丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-丙酰胺;

(R)-N-(2,6-二异丙基-苯基)-2-[3-(2,2-二甲基-1-苯基-丙基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-丙酰胺;

30 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-(2,2-二甲基-4-苯基-[1,3]二噁烷-5-基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺;

N-环己基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙

酰胺；

N-(2-环己基-乙基)-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

5 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(3-甲基-丁基)-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(3-苯基-丙基)-丙酰胺；

10 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1,2,3,4-四氢化萘-1-基)-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(2-苯基-环己基)-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-茚满-1-基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

15 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-N-(1-羟基-环己基甲基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

20 2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚烯-5-基)-丙酰胺；

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-苯基-丙酰胺；

N-(1-羟基-环己基甲基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺；

25 2-[3-(4-氰基-苯基)-脲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

(S)3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

30 (S)3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-丙酰胺；

(S)4-(3-{2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲

酰基]-乙基}-脲基)-苯甲酸乙酯;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-3-(1H-咪唑-4-基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

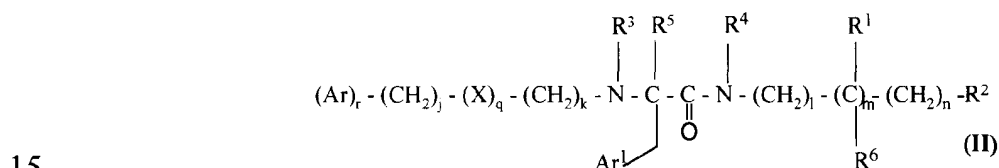
2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-3-(2-三氟甲基-苯基)-丙酰胺;

2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-(2-硝基-苯基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺;

(S)3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺; 及

10 N-环己基甲基-2-[3-(2,6-二异丙基-苯基)-脲基]-2-甲基-3-吡啶-2-基-丙酰胺。

另一类优选的可以用于本发明的化合物是式(II)的化合物, 并包括其药学上可接受的盐:



其中:

- j 为 0, 1 或 2;
 - k 为 0 或 1;
 - l 为 0, 1, 2 或 3;
 - m 为 0 或 1;
 - n 为 0, 1 或 2;
 - q 为 0 或 1;
 - r 为 0 或 1; 当 r 为 0 时, Ar 被氢替代;
 - Ar 为苯基, 吡啶基, 嘧啶基, 噻吩基, 呋喃基, 咪唑基, 吡咯基或噻唑基, 每个基团为未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代: 乙酰基, 烷氧基, 烷基, 氨基, 氰基, 卤素, 羟基, 硝基, 氨磺酰基, 磺酰基, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{SO}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 和 $-(\text{CH}_2)_s\text{NR}^7\text{R}^8$, 其中 s 为 0, 1, 2 或 3, R^7 和 R^8 各自独立地选自 H, 高达 6 个碳原子的直
- 25

链或支链烷基，或者 R^7 和 R^8 与其相连的氮原子一起形成 5~7 员的脂环，其可以包含 1 或 2 个氧原子；

- R^1 为氢，高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或者 5~7 个碳原子的环烷基，其可以包含 1 或 2 个氮或氧原子；

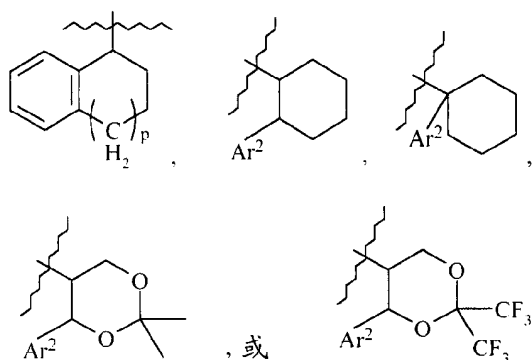
5 • R^6 为氢，甲基，或者与 R^1 一起形成 3~7 个原子的脂环，其可以包含氧或氮原子，或者与 R^1 一起同为羰基；

- Ar^1 独立地选自 Ar 或者为吡啶基或吡啶基-N-氧化物；

- R^3 , R^4 , 及 R^5 各自独立地选自氢和低级烷基；

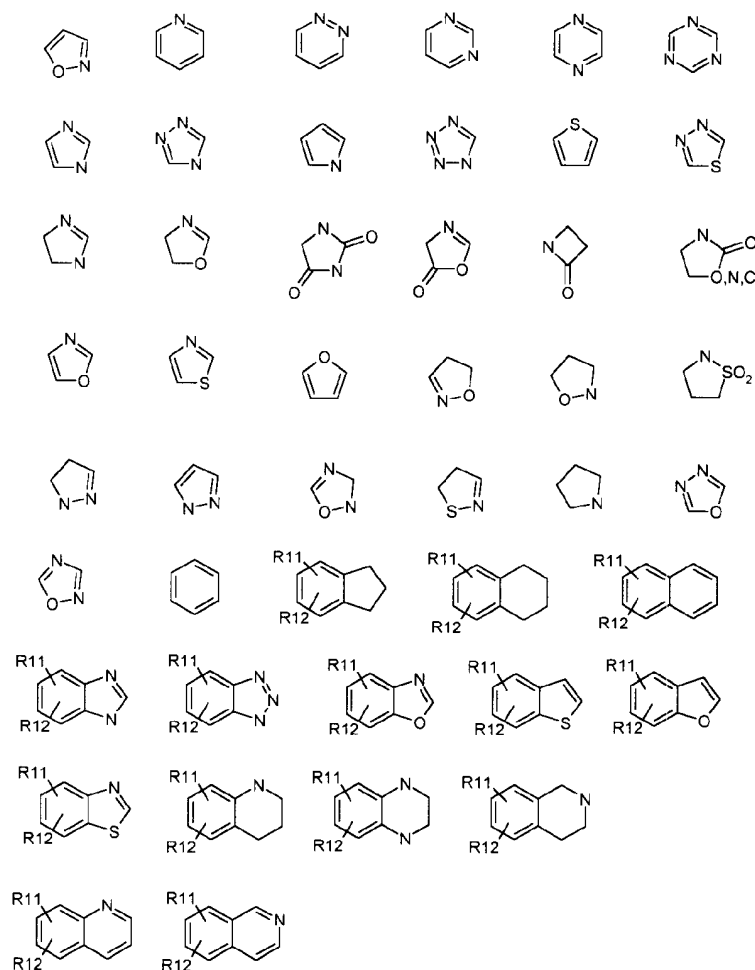
- R^2 独立地选自 Ar 或者为氢，羟基，烷氧基， $-NMe_2$ ， $-CONR^9R^{10}$ ，

10 其中 R^9 和 R^{10} 各自独立地选自氢，高达 6 个碳原子的直链或支链烷基，或者 R^9 和 R^{10} 与它们相连的氮原子一起形成 5~7 员脂环，其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子，或者 R^2 为



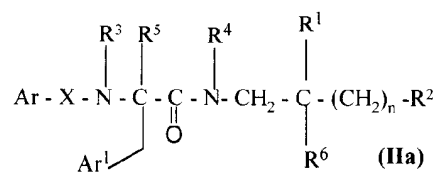
15 其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar^2 为苯基或吡啶基；

- X 为由下列任意化合物衍生的二价基团



其中环氮原子上可以连接有低级烷基, R^{11} 和 R^{12} 独立地选自 H, 卤素, 羟基, 烷氧基, 乙酰基, 硝基, 氰基, 氨基, CF_3 和 $-(CH_2)_tNR^{13}R^{14}$, 这里 t 可以为 0 或 1, R^{13} 和 R^{14} 各自独立地选自氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基, 或者 5~7 个碳原子的环烷基, 其包含多达 2 个氧或氮原子。

在式(II)所定义的种类中, 优选的化合物种类由式(IIa)表示, 并且包括其药学上可接受的盐:



10

其中:

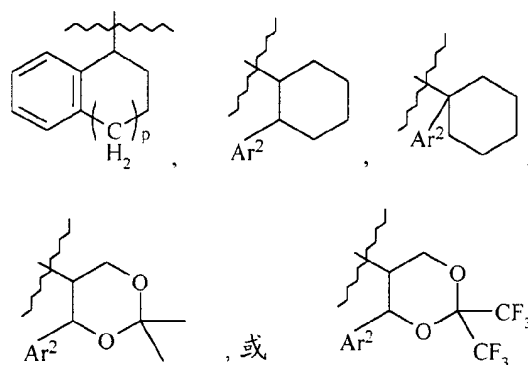
- n 为 0 或 1;

• Ar 为苯基或吡啶基，其可以是未取代的或者被 1~3 个选自卤素，烷氧基，硝基及氰基的取代基所取代；

• Ar¹ 独立地选自 Ar 或者为吡啶基-N-氧化物或吡啶基；

5 • R⁶ 与 R¹ 形成 3~7 个原子的脂环，其可以包含氧原子或氮原子，或者与 R¹ 一起为羰基；

• R² 独立地选自 Ar 或者为氢，羟基，烷氧基，二甲基氨基，四唑基或 -CONR⁹R¹⁰，其中 R⁹ 和 R¹⁰ 各自独立地选自氢或甲基或者 R² 为下列的任何一个基团

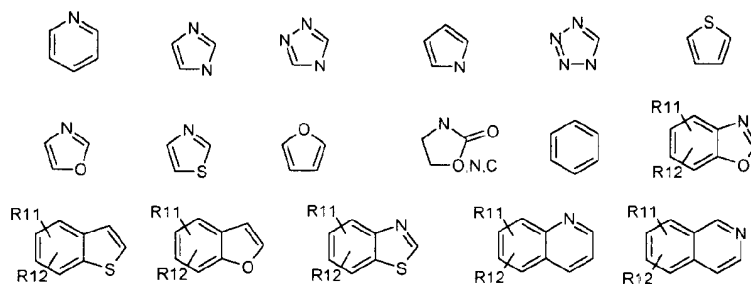


10

其中 p 为 0, 1 或 2 且 Ar² 为苯基或吡啶基；

• R³, R⁴ 和 R⁵ 各自独立地选自氢和甲基；及

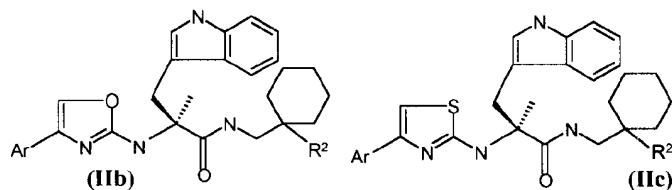
• X 选自：



15

R¹¹ 和 R¹² 独立地选自 H, 卤素, 羟基, 烷氧基, 乙酰基, 硝基, 氰基, 氨基, CF₃ 和 (CH₂)_tNR¹³R¹⁴, 其中 t 为 0 或 1, 且 R¹³ 和 R¹⁴ 独立地选自氢和甲基。

20 在通式(II)内, 优选化合物的子类具有下列式(IIb)或(IIc):

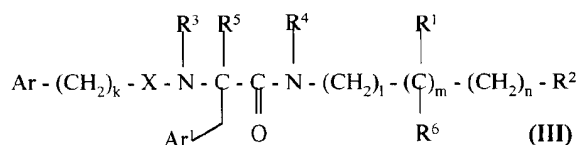


其中 Ar 和 R² 独立地代表苯基或吡啶基，其可以是未取代的或者被 1~3 个选自卤素，烷氧基，硝基和氰基的取代基所取代，及其药学上可接受的盐。

特别优选的式(II)的化合物是(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺(也称为化合物 2)及其药学上可接受的盐。

其它优选的式(II)的化合物见下述的实施例 10~27，并且包括在本发明之中，还包括其药学上可接受的盐。

根据本发明的第三种蛙皮素受体拮抗剂具有下列式(III)，并且包括其药学上可接受的盐：



其中：

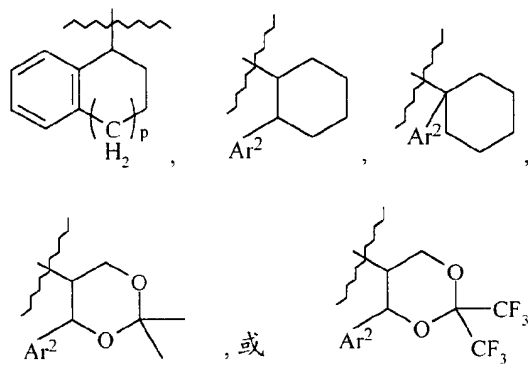
- k 为 0, 1 或 2;
- l 为 0, 1, 2 或 3;
- m 为 0 或 1;
- n 为 0, 1 或 2;
- X 为 -CO-, -OCO-, -SO- 和 -SO₂-;
- Ar 为苯并咪唑基，苯并呋喃基，苯并噻二唑基，苯并噻唑基，苯并噻吩基，苯并吡嗪基，苯并三唑基，苯并噁二唑基，呋喃基，咪唑基，茚满基，吡啶基，异喹啉基，异噁唑基，萘基，噁唑基，苯基，吡嗪基，吡唑基，吡啶基，哒嗪基，嘧啶基，吡咯基，喹啉基，1,2,3,4-四氢化萘基，四唑基，噻唑基，噻吩基或三唑基，每个基团均为未取代的或者被 1~3 个选自下列的取代基所取代：氨基，乙酰基，烷基(直链或支链的，具有 1~6 碳原子)，烷氧基，氰基，卤素，羟基，硝基，苯基，吡啶基，吡咯基，异噁

唑基, 苯氧基, 甲苯氧基, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{SO}_2\text{CF}_3$, $-\text{NHCONH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, SO_2Me , SO_2NH_2 , SO_2Ph , $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$, $-\text{CONR}^9\text{R}^{10}$, 及 CO_2R^{11} , 其中 q 为 0, 1 或 2, 且 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} 各自独立地选自氢或高达 6 个碳原子的直链或支链烷基, 或者 5~7 个原子的环烷基, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^7 和 R^8 或 R^9 和 R^{10} 与其所连接的氮原子一起可形成 5~7 员脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子;

• Ar^1 独立地选自 Ar , 并且还可以为吡啶基-N-氧化物;

• R^1 为氢或者高达 6 个碳原子的直链或支链烷基或者为 5~7 个原子的环烷基, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子;

10 • R^2 独立地选自 Ar 或者为氢, 羟基, 烷氧基, $-\text{NMe}_2$, $-\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$,



其中 p 为 0, 1 或 2, Ar^2 为苯基或吡啶基; 及 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自氢, 高达 6 个碳原子的直链或支链烷基, 或者 5~7 个碳原子的环烷基;

• R^3 , R^4 和 R^5 各自独立地选自氢和低级烷基; 及

15 • R^6 为氢, 甲基, 或者与 R^1 形成 3~7 个碳原子的环, 其可以包含氧原子或氮原子, 或者 R^1 和 R^6 可以一起为羰基。

在式(III)化合物的优选组中:

• k 为 0 或 1;

20 • l 为 1;

• m 为 0 或 1;

• n 为 0 或 1;

• X 为 $\text{C}(\text{O})-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, 或者 $-\text{SO}_2-$;

25 • Ar 为苯并呋喃基, 呋喃基, 吡啶基, 异喹啉基, 萘基, 苯基, 吡啶基, 喹啉基或噻吩基, 每个基团是未取代的或者被 1 或 2 个选自烷氧基,

氰基, 卤素, 硝基, 苯基, 苯氧基, $-\text{CF}_3$, $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$ 的取代基所取代, 其中 R^7 和 R^8 可以形成 5~7 原子的环, 其可包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^7 和 R^8 可以独立地选自氢, 高达 4 个碳原子的直链或支链烷基或者 5 个碳原子的环烷基;

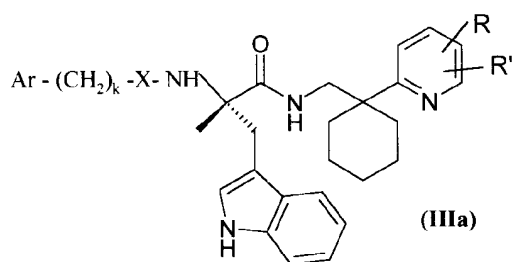
- 5 • Ar^1 独立地选自 Ar , 优选吡啶基, 并且可以为吡啶基-N-氧化物;
- R^1 和 R^6 可以形成 5~7 个碳原子的环烷基, 或者 R^1 和 R^6 一起为羰基;
- R^2 独立地选自未取代的或取代的吡啶基或者为氢, 羟基, 烷氧基, $-\text{NMe}_2$, $-\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$, 其中 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H 和 CH_3 ;
- R^3 , R^4 和 R^5 各自独立地选自氢和甲基。

10

在式(III)化合物的另一优选组中:

- l 为 1;
- m 为 1;
- n 为 0;
- 15 • R^2 为 2-吡啶基;
- R^6 与 R^1 形成环己基。

特别优选的化合物组为式(IIIa)的化合物组:



20

- 其中 Ar , k 和 X 的意义与第一化合物中的相同, 且吡啶环任选被 1 或 2 取代基所取代, R 和 R' 独立地选自烷氧基, 氰基, 卤素, 硝基, 苯基, 苯氧基, $-\text{CF}_3$, $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$, 其中 R^7 和 R^8 与其相连的氮原子一起可形成 5~7 员脂环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R^7 和 R^8 可以独立地选自氢
- 25 或 5~7 个碳原子的环烷基, 及其药学上可接受的盐。

 在另一组化合物(IIIa)中, Ar 为苯并呋喃基, 呋喃基, 吡啶基, 异喹啉基, 萘基, 苯基, 吡啶基, 喹啉基或噻吩基, 每个基团是未取代的或者被 1

或 2 选自下列的取代基所取代：烷氧基，氰基，卤素，硝基，苯基，苯氧基， $-\text{CF}_3$ ， $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^7\text{R}^8$ ，其中 R^7 和 R^8 可以形成 5~7 个原子的环，其可包含 1 或 2 个氧或氮原子，或者 R^7 或 R^8 可以独立地选自氢或者 5 个碳原子的环烷基，且 X 为 $-\text{C}(\text{O})-$ ， $-\text{OC}(\text{O})-$ 或 $-\text{SO}_2$ 。

5

优选的式(III)化合物的 N-末端的酰胺衍生物

在 N-末端的酰胺衍生物即其中 X 为 $-\text{C}(\text{O})-$ 的式(III)化合物中，最优选下列化合物：

10 N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-4-硝基-苯甲酰胺；

C-二甲基氨基-N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-苯甲酰胺；

1H-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺；

15 苯并[b]噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺；

N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-2-吡咯-1-基-苯甲酰胺

20 1H-吡啶-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺；及

1H-吡啶-2-羧酸((S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-{[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-氨基甲酰基}-1-甲基-乙基)-酰胺。

其它优选的式(III)化合物的 N-末端酰胺衍生物包括实施例 32-35，37-25 47，49-60，62-80，82-85 的化合物和 N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-2-吡咯-1-基-苯甲酰胺。

优选的式(III)化合物的 N-末端尿烷衍生物

30 在 N-末端尿烷衍生物即其中 X 为 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 的式 III 化合物中，特别优选下列化合物：

{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰

- 基]-乙基}-氨基甲酸萘-1-基甲基酯；
 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3,4-二氯-苄基酯；
 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-硝基-苄基酯；
 5 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-硝基-苄基酯；
 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-氰基-苄基酯；
 10 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-三氟甲基-苄基酯；
 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2,3-二氯-苄基酯；及
 {(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸喹啉-6-基甲基酯。
 15

其它优选的式(III)化合物的 N-末端尿烷衍生物包括实施例 88-90, 92-95, 97-98, 100-102, 104-106 和 108 的化合物。

20 优选的式(III)化合物的 N-末端磺酰胺衍生物

在式(III)化合物(其中 X 为-SO₂-的式(III)化合物)的 N-末端磺酰胺衍生物中, 特别优选下列化合物:

- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-苯基甲磺酰基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
 25 (S)-2-(2-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(萘-1-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；
 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(喹啉-8-磺酰基氨基)-丙酰胺；
 30 (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-三氟甲

基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺；

(S)-2-(联苯-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(5-甲基-2-苯氧基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；及

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-对甲苯氧基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺。

进一步优选的式(III)化合物的 N-末端磺酰胺衍生物包括实施例 112, 114, 116-119, 121-128, 130-151, 155-168 的化合物和下列化合物：

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲磺酰基氨基-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺；及

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙磺酰基氨基)-丙酰胺。

上述通式化合物是旋光的。因此本发明的范围还包括：

- 上述通式化合物的所有立体异构体。
- 上述通式化合物的溶剂化物，水合物和多晶型物(不同晶格描述符)。
- 上述通式化合物的药物组合物。
- 上述通式化合物的前药，如本领域的技术人员可能想到的；详见

Bundgaard 等(1987)。

本发明涉及的烷基包括 1~8 个碳原子的直链，支链，或者环状的碳链，除非另有说明。其代表性的实例包括甲基，乙基，丙基，异丙基，正丙基，正丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，2-甲基己基，正戊基，1-甲基丁基，2,2-二甲基丁基，2-甲基戊基，2,2-二甲基丙基，正己基等。

低级烷基包括最多有 6 个碳原子的碳链。本发明涉及的环烷基包括那些具有 3~7 个碳原子的环烷基，包括环戊基和环己基。它们可以被 1~3 个选自卤素，硝基，烷基，及烷氧基的基团所取代。

本发明涉及的烷氧基包括具有 1~6 个碳原子的直链和支链碳链，除非另有说明。其代表性的实例有甲氧基，乙氧基，丙氧基，异丙氧基，叔丁氧基，及己氧基。

术语“卤素”包括氟，氯，溴和碘。

术语“胺”包括游离的胺，烷基化的胺，及酰基化的胺。

术语“患者(subject)”包括动物，特别是哺乳动物，尤其是人。

旋光异构体和盐

- 5 根据其结构，所有上述通式化合物具有至少一个手性中心，一些具有多个手性中心。具体地，本发明的化合物可以非对映异构体，非对映异构体的混合物，或者以混合或单独的光学对映体的形式存在。本发明包括所有这些化合物形式。非对映异构体的混合物一般是通过下面将要详述的反应而得到的。单独的非对映异构体可以通过常规技术如柱色谱或重结晶从
- 10 非对映异构体的混合物中分离出来。单独的对映体可以通过本领域中公知的常规方法进行分离，如将旋光化合物转化成盐，然后通过色谱法或重结晶进行分离，并重新转化成非盐形式。

- 如果适合成盐，则药学上可接受的盐包括乙酸盐，苯磺酸盐，苯甲酸盐，碳酸氢盐，酒石酸氢盐，溴化物，乙酸钠，右旋樟脑磺酸盐，碳酸盐，
- 15 氯化物，柠檬酸盐，二盐酸盐，乙二胺四乙酸盐，乙二磺酸盐，丙酸酯十二烷基硫酸盐，乙磺酸盐，延胡索酸盐，葡庚糖酸盐，葡糖酸盐，谷氨酸盐，乙醇酰阿散酸酯，hexylresorcinate，哈胺，氢溴酸盐，盐酸盐，羟基苯甲酸盐，碘化物，羟乙基磺酸盐，乳酸盐，乳糖醛酸盐，苹果酸盐，马来酸盐，扁桃酸盐，甲磺酸盐，甲基溴，硝酸甲酯，粘酸盐，苯磺酸盐，硝
- 20 酸盐，双氢苯酸盐，泛酸盐，磷酸盐/二磷酸盐，多聚半乳糖醛酸，水杨酸盐，硬脂酸盐，碱式醋酸盐，琥珀酸盐，硫酸盐，丹宁酸盐，酒石酸盐，8-氯茶碱，三乙基碘化物，苜蓿，氯普鲁卡因，胆碱，二乙醇胺，乙二胺，葡甲胺，普鲁卡因，铝，钙，锂，镁，钾，钠，及锌。

- 25 优选的盐由强酸制成。这种盐包括盐酸盐，甲磺酸盐，及硫酸盐。

其它非肽蛙皮素拮抗剂

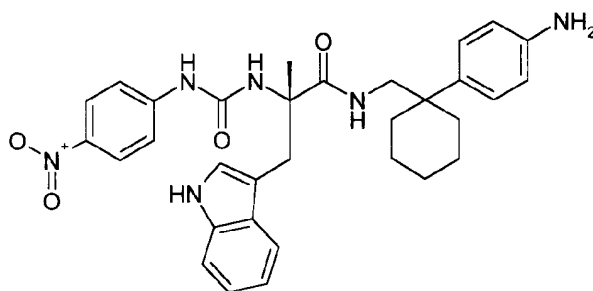
- 其它适用于本发明的非肽蛙皮素拮抗剂在下列文件中所描述和所要求保护的，这些文件的内容引入本文作为参考：WO 00/09115，WO 00/09116，WO 92/07830，JP 07258081 和 WO 98/07718。

30

式(I)的化合物的制备方法

式(I)化合物的制备详见 WO 98/07718, 其公开内容引入本文作为参考。

有关最近报导的化合物 3 (2S)-N-{{1-(4-氨基苯基)环己基}甲基}-3-(1H-
 吡啶-3-基)-2-甲基-2-{{[(4-硝基苯基)-羰基]氨基}丙酰胺}的类似物的制备参
 见 Ashwood, V. Brownhill, M. Higginbottom, D. C. Horwell, J. Hughes, R. A.
 5 Lewthwaite, A. T. McKnight, R. D. Pinnock, M. C. Pritchard, N. Suman-
 Chauhan, C. Webb and S. C. Williams. Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2589-
 2594.; J. E. Eden, M. D. Hall, D. C. Horwell, W. Howson, J. Hughes, R. E.
 Jordan, R. A. Lewthwaite, K. Martin, A. T. McKnight, J. O'Toole, R. D. Pinnock,
 M. C. Pritchard, N. Suman-Chauhan and S. C. Williams. Bioorg. Med. Chem.
 10 Lett., 1996, 6, 2617-2622. and in WO98/07718。化合物 3 可以采用上述申请
 中公开的方法合成。



15 式(II)化合物的制备方法

在整个该申请中, 下列缩写的意义列举如下:

- | | | |
|----|------------------|--|
| | NEt ₃ | 三乙胺 |
| | THF | 四氢呋喃 |
| | HBTU | O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲鎓(uronium)六氟磷酸盐 |
| 20 | DIPEA | N,N-二异丙基乙胺 |
| | DMF | N,N-二甲基甲酰胺 |
| | TEBA | 苄基三乙基氯化铵 |
| | BOC2O | 焦碳酸二叔丁酯 |
| | TFA | 三氟乙酸 |
| 25 | DMA | N,N-二甲基乙酰胺 |
| | EtOAc | 乙酸乙酯 |

	MeOH	甲醇
	Trp	色氨酸
	Ph	苯基
	HPLC	高压液相色谱
5	NP	正常相
	RP	逆相
	DMAP	N,N-二甲基-4-氨基吡啶
	OAc	乙酸根
	OB	雌二醇苯甲酸酯

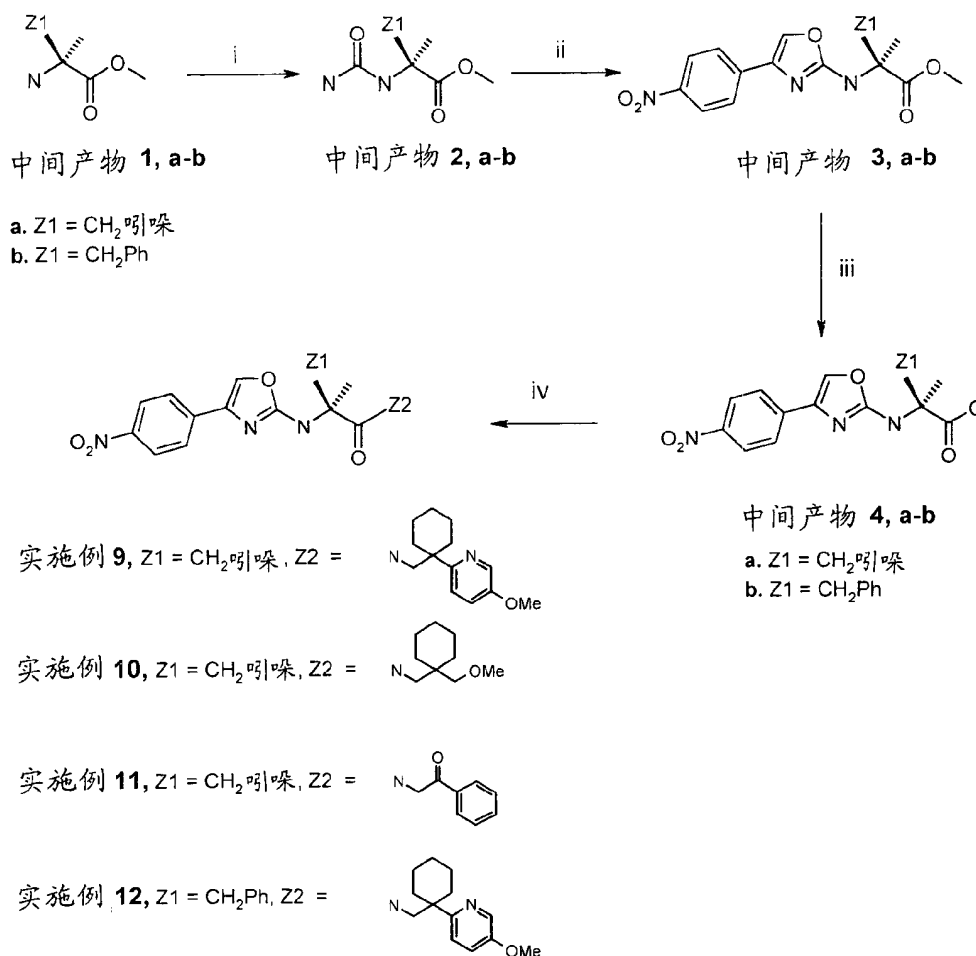
10

其中X是噁唑基的式(II)化合物的制备见方案1，其阐明了在四个步骤中通过中间产物4a或4b合成实施例9~12的化合物的方法。这些步骤为：

- 对硝基苯基氨基甲酸甲酯(中间产物1)的生成及后续的得到初级脲(中间产物2)的氨水处理。
- 15
- 初级脲与2-溴-1-(4-硝基-苯基)-乙酮环化，形成噁唑环(中间产物3)。
 - 甲酯-保护基的水解，得到中间产物4a或4b。
 - 利用HBTU使中间产物4a或4b与胺Z2反应，形成酰胺键，得到所需的化合物。

方案1：

20



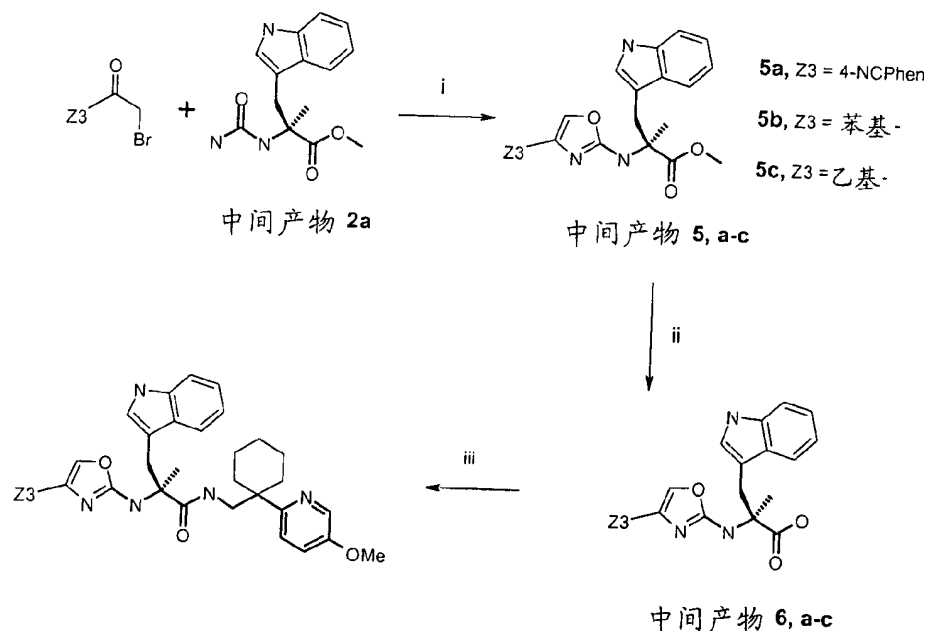
在上述方案中：

- i) a) 氯甲酸 4-硝基苯基酯, NEt₃, THF b) NH₃ 水
- ii) 2 - 溴-1-(4-硝基-~~替~~乙酰酮于甲苯/二噁烷中回流(3a)或于 1,2-二氯乙烷中回流(3b)
- iii) LiOH, 二噁烷, H₂O
- iv) HBTU, DIPEA, DMF, Z2

方案2描述了从中间产物2a合成实施例13~15的化合物。

- 10 • 初级脲2a与适宜的包含Z3基团的溴甲基酮环化, 形成噁唑环(中间产物5)。
- 所得中间产物5a, 5b或5c的甲酯保护基的水解, 得到中间产物6a-c。
- 中间产物6a, 6b或6c与[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]甲胺在HBTU存在下反应, 形成酰胺键, 得到所需的化合物。

方案2:



5 在上述方案中:

i) DMF 于 30℃

ii) LiOH, 二噁烷, H₂O

iii) HBTU, DIPEA, DMF, [1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)

10

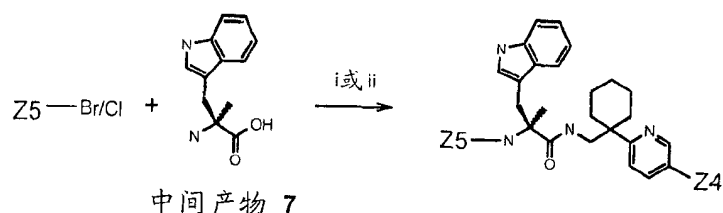
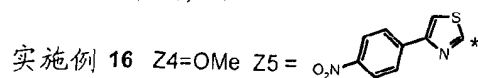
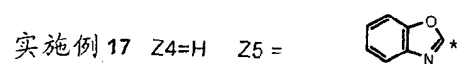
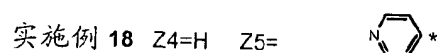
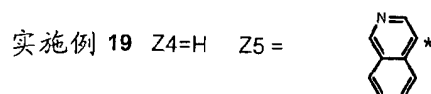
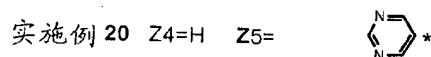
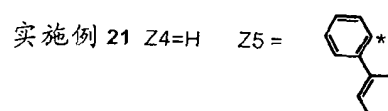
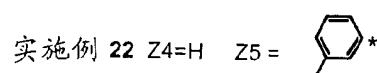
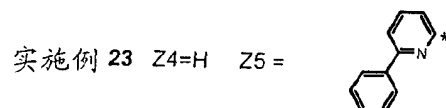
方案3描述了两步法合成实施例16-23的化合物。优选反应以“一锅(one-pot)”的工艺方式进行, 其中:

- 利用铜催化反应, 将化合物Z5-Br或Z5-Cl的芳环连接在所示氨基酸的N-末端上。

15

- 在HBTU存在下, 于所得的酸与[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]甲胺或者[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺之间形成酰胺键, 得到所需的化合物。

方案3:



在上述方案中：

i) a) 10% CuI, K_2CO_3 , DMF, 130 °C

b) HBTU, DIPEA, DMF, 及[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(见 WO 98/07718)或者[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)

ii) a) 5-10% CuI, K_2CO_3 , TEBA, $Pd(P\text{邻甲苯基})_3Cl_2$, DMF, 130 °C

b) HBTU, DIPEA, DMF, 及[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)或者[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)

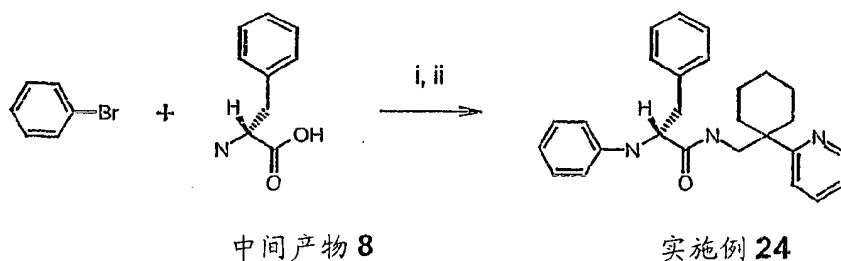
*表示连接点

10

方案4描述了两步一锅法合成实施例24的化合物

• 利用铜催化反应将芳环连接到氨基酸的N-末端(中间产物8), 然后是就地的HBTU酰胺键形成反应, 得到所需的化合物。

方案4:



在上述方案中：

- 5 i) 10% CuI, K₂CO₃, DMA, 90 °C
 ii) HBTU, NEt₃, DMA, [1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)

在上述方案中：

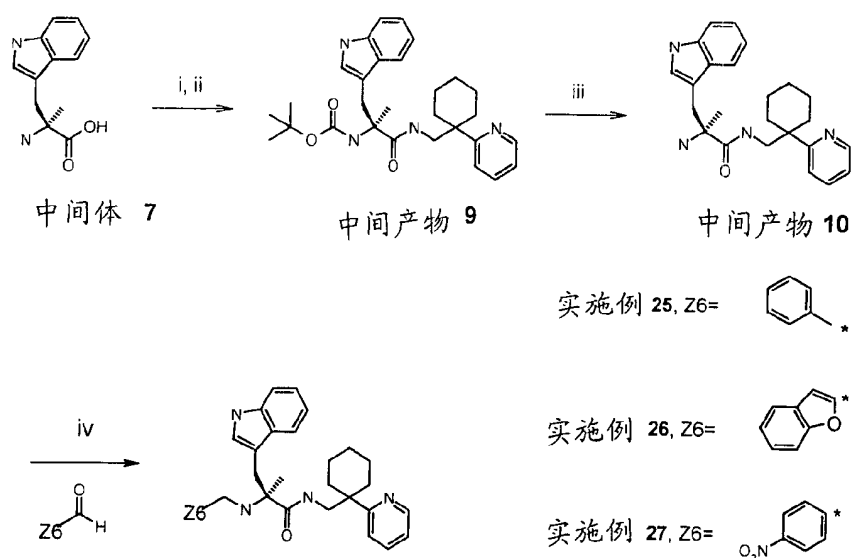
- 10 i) 10% CuI, K₂CO₃, DMA, 90 °C
 ii) HBTU, NEt₃, DMA, [1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(见 WO 98/07718)

方案 5 描述了通过如下步骤由中间产物 10 合成实施例 25-27 的化合物：

- 氨基酸的 N-BOC 保护(中间产物 7)，其提供基团 R⁵ 和 Ar¹。
 - 利用 HBTU，使经保护的氨基酸与提供基团 R¹, R², R⁴ 和 R⁶ 的胺反应，
- 15 形成酰胺键，由此得到中间产物 9。
- 中间产物 9 的 N-BOC 去保护，得到中间产物 10。
 - 中间产物 10 与适宜醛 Z6CHO 的还原胺化，得到所需化合物。

方案5:

20



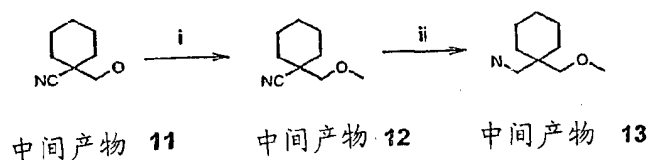
在上述方案中：

- i) BOC_2O , K_2CO_3 , 二噁烷, 水
 - 5 ii) HBTU, DIPEA, [1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(见 W0 98/07718), DMF
 - iii) TFA, CH_2Cl_2
 - iv) $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, 1,2-二氯乙烷.
- * 表示连接点

10 方案6描述了中间产物13的合成。

- 利用氢化钠使醇11甲基化。
- 在氢气气氛下利用 Raney 镍将所得的腈还原。

方案6:

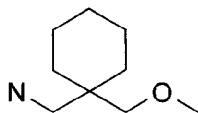


在上述方案中：

- i) NaH , CH_3I , THF
- 15 ii) Raney 镍, 氨乙醇溶液(ethanolic ammonia), H_2 , 345kPa

中间产物 13

C-(1-甲氧基甲基-环己基)-甲胺

**Intermediate 13**

上述化合物按方案 6 所示制备。

1. 在 0℃ 和氩气氛下，将氢化钠(862mg, 21.5mmol, 60%于油中)溶解于 THF(50ml)中。于 45 分钟内，向其中滴加碘甲烷(1.34ml, 21.6mmol)和 1-羟基-环己烷腈(1.0g, 7.18mmol; 见 J. Fröhlich 等, Heterocycles 1994, 37, 1879-91)于 THF(30ml)中的溶液。加完之后，将反应混合物在室温下搅拌过夜，然后用异丙醇接着用水(100ml)将反应淬灭。然后将混合物用二氯甲烷(2x150ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)，并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化，使用庚烷/乙酸乙酯(4:1)洗脱。在减压下除去溶剂，得到 1-甲氧基甲基-环己烷腈(1.1g, 88%)，其为淡黄色的油状物。

IR (薄片): 2934, 2861, 2832, 2235, 1476, 1452, 1385, 1211, 1187, 1185, 1126, 1102, 978, 932, 901, 849 cm⁻¹;

- ¹H NMR (CDCl₃): δ = 1.13-1.33 (3H, m), 1.57-1.78 (5H, m), 1.94-2.02 (2H, m), 3.36 (1H, s), 3.42 (3H, s);

2. 向 1-甲氧基甲基-环己烷腈(1.1g, 7.2mmol)的氨乙醇溶液(60ml)中加入 Raney 镍催化剂(0.55g, 用水和乙醇预洗过)。在 30℃ 和氢气氛(345 kPa)下将反应混合物摇动 16 小时。通过硅藻土垫极小心地滤出催化剂并用乙醇洗涤。在减压下除去溶剂，得到中间产物 13 (1.12g, 99%)，其为黄色的油状物。

MS m/e (ES⁺): 158.2 (M⁺ + H, 100%);

IR (薄片): 2926, 2857, 1572, 1452, 1378, 1316, 1190, 1140, 966 cm⁻¹;

- ¹H NMR (CDCl₃): δ = 1.20-1.60 (12H, m), 2.62 (2H, s), 3.23 (2H, s), 3.32 (3H, s)

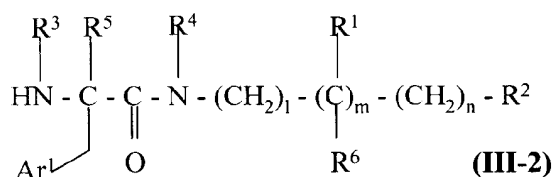
式(III)的化合物的制备方法

其中 X 为-CO-的式(III)的化合物可以通过在适宜催化剂存在下的质子惰性的极性溶剂中缩合式(III-1)的酸或其衍生物

5



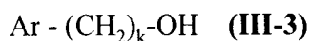
与式(III-2)的胺的衍生物而制备。



- 10 取代基 Ar, Ar^l 及 R¹ 至 R⁶ 以及参数 k 至 n 如同上述式(III)中的定义, 并任选将所得产物转化成药学上可接受的盐。例如, 缩合可以在二甲基甲酰胺中利用 O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲鎓(uronium)六氟磷酸盐(HBTU)和 N,N-二异丙基-乙胺(DIPEA)作为催化剂进行。

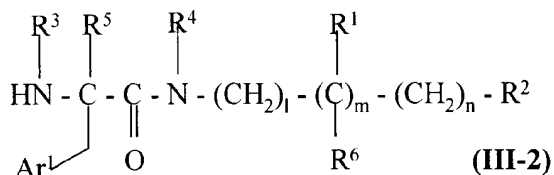
其中 X 为-OC(=O)的式(III)的化合物可以通过由式(III-3)的醇形成碳酸

15 酯



并将该碳酸酯与式(III-2)的胺在碱存在下的质子惰性的极性溶剂中反应而制备

20



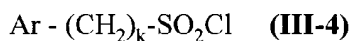
取代基 Ar, Ar^l 及 R¹ 至 R⁶ 以及参数 k 至 n 如同上述式(III)的定义, 并任选将所得产物转化成药学上可接受的盐。例如, 式(III-3)的化合物可与氯甲酸 4-硝基苯基酯于二氯甲烷中反应, 采用吡啶作为催化剂, 且所得的碳酸酯

- 25 可与式(III-2)的胺于二甲基甲酰胺中反应, 采用 N,N-二甲基-4-氨基吡啶作

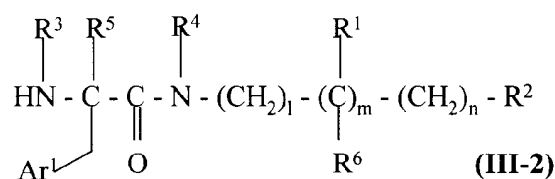
为催化剂。

其中 X 为-SO₂-的式(III)的化合物可以通过于存在催化剂碱的质子惰性的极性溶剂中缩合下面式(III-4)的磺酰氯

5



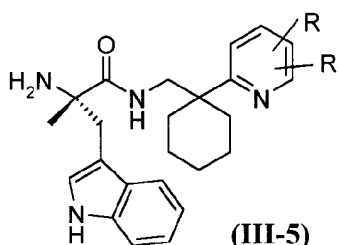
与下面式(III-2)的胺制备



- 10 取代基 Ar, Ar¹ 及 R¹ 至 R⁶ 以及参数 k 至 n 的定义与上述的式(III)一致, 并任选将所得产物转化成药学上可接受的盐。例如, 缩合可以在 N,N-二异丙基乙胺和 N,N-二甲基-4-氨基吡啶存在下于二甲基甲酰胺中进行。

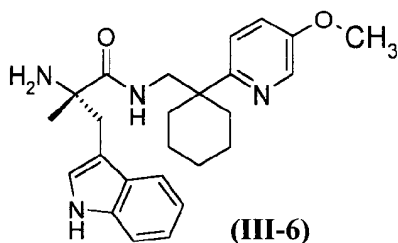
在上述方法中, 优选式(III-2)的胺为手性的式(III-5)的胺

15



其中吡啶环任选被 1 或 2 取代基 R 和 R' 所取代, 所述取代基选自烷氧基, 氰基, 卤素, 硝基, 苯基, 苯氧基, -CF₃, -(CH₂)_qNR⁷R⁸, 其中 R⁷ 和 R⁸ 可以形成 5~7 个原子的环, 其可以包含 1 或 2 个氧或氮原子, 或者 R⁷ 和 R⁸ 可以独立地选自氢或具有 1~5 个碳原子的环烷基, 甲氧基是特别优选的取代

- 20 基, 如(III-6)的手性胺所示:



B) 肽蛙皮素受体拮抗剂

本身为肽且据信适用于本发明的蛙皮素拮抗剂在下列文件中说明，其内容引入本文作为参考：

公开号	公开号
WO 97/09347	EP 0835662
US 5650395	US 5439884
WO 96/28214	WO 95/00542
EP 0737691	US 5620955
US 5767236	WO 92/02545
WO 91/04040	EP 0468497
EP 0309297	CA 2030212
EP 0438519	WO 92/20707
EP 0559756	WO 93/16105
WO 89/02897	US 4943561
WO 90/03980	US 5019647
WO 91/02746	US 5028692
WO 92/09626	US 5047502
WO 92/20363	WO 94/02018
WO 94/02163	WO 88/07551
WO 94/21674	WO 89/09232
WO 96/17617	EP 0315367
US 5084555	EP 0345990
US 5162497	US 5068222
US 5244883	US 5620959
US 5723578	UK 2231051
US 5750646	EP 0339193
US 5877277	WO 90/01037
US 5985834	WO 91/06563
EP 0428700	EP 0402852

5

药物组合物

为了由本发明的化合物制备药物组合物，惰性的、药学上可接受的载体可以是固体或液体。固体形式的制剂包括粉剂，片剂，可分散的颗粒，胶囊，囊剂(sachet)，及栓剂。

- 10 固体载体可以是一种或多种还可以充当稀释剂、调味剂、增溶剂、润滑剂、悬浮剂、粘合剂或者片剂崩解剂的物质，它还可以是封装材料。在粉剂中，载体是细碎的固体，其为与细碎的活性组分的混合物。在片剂中，

活性组分与具有必要粘合性的载体以适当的比例混合，并压制成所需的形状和尺寸。粉剂和片剂优选包含 5%至约 70%的活性组分。合适的载体是碳酸镁，硬脂酸镁，滑石，乳糖，糖，果胶，糊精，淀粉，黄耆胶，甲基纤维素，羧甲基纤维素钠盐，低熔点蜡，可可脂等。

- 5 液态制剂包括溶液，悬浮液，及乳液。作为适于肠胃外给药的液体制剂的实例，可以提及活性物质的无菌水或水-丙二醇溶液。液体药剂还可以聚乙二醇的水溶液形式配制。经口给药的水溶液可以通过将活性组分溶解于水中并根据需要加入合适的着色剂、调味剂、稳定剂及增稠剂而制备。经口使用的水悬浮液可以通过将细碎的活性组分分散于水和粘性材料如天然
- 10 的合成树脂，树脂，甲基纤维素，羧甲基纤维素钠盐，及其它药物配制领域公知的悬浮剂中而制备。

- 优选的药物制剂是单位剂型的制剂。在这种剂型中，制剂被分成包含适量活性组分的单位剂量。单位剂型可以是包装的制剂，该包装含有离散量的制剂，例如包装的片剂，胶囊，及小瓶或安瓿中的粉剂。单位剂型还
- 15 可以是胶囊，袋剂或片剂本身，它也可以是适宜数量的这种包装的任何形式。

对于栓剂的制备，首先将低熔点的蜡(如脂肪酸甘油酯与可可脂的混合物)熔化，并通过例如搅拌将活性成分分散于其中。然后将熔化的均匀混合物倒入适宜尺寸的模中，并使之冷却固化。

- 20 优选适合于经口给药于人的组合物，特别是单位剂型的这种组合物。

组合治疗

- 不想受任何特定的理论或学说的束缚，发明人相信蛙皮素受体拮抗剂可以作为药物的一部分与一种或多种血管扩张剂，激素药物或神经递质调
- 25 节剂组合使用。将这种制品用于或试验于性功能障碍的治疗中。

- 治疗器质性(而不是心理性)起源的性功能障碍的血管扩张剂影响阴茎，阴蒂或阴道的局部血流或润滑液分泌的水平。可用于治疗性功能障碍的血管扩张剂包括前列地尔或酚妥拉明，NO(氧化一氮)强化剂如 L-精氨酸，及 PDE5 抑制剂如西地那非或其药学上可接受的盐(*Scrip's Complete Guide to*
- 30 *Women's Healthcare*, p.194-205, 2000)(Sachs B. D., *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 2000, 24 541-560, Benet and Melman, 1995, *Urol. Clin. N.*

Amer. 22:699-709), VIP(血管肠内肽)强化剂(*Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare*, p.194-205, 2000)或者血管紧张素-2受体拮抗剂如洛沙坦(American Heart Association meeting, New Orleans, 2000)。

用于治疗器质性和精神性起源的性功能障碍的激素药物包括类固醇激素调节剂, 类固醇激素或激素制品(包括合成激素), 其包括雌激素(*Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare*, p.194-205, 2000)或者雄激素如睾酮(*Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare*, p.194-205, 2000, Sachs B.D., 2000), 其作用于与性欲和性欲唤醒有关的 CNS 区(Wilson CA., 1993)。

用于治疗器质性和精神性的性功能障碍的神经递质调节剂包括神经递质激动剂和拮抗剂如儿茶酚胺激动剂如 D₂ 激动剂 喹来洛朗, 5HT₂ 拮抗剂如利坦色林, 一元胺合成调节剂如降低内源性 5HT 活性的治疗剂, 包括采用对氯苯丙氨酸抑制 5HT 的合成, 抑制儿茶酚胺代谢和溶解的一元胺代谢或溶解调节剂, 如三环抗抑郁症药, 例如丙咪嗪(Wilson CA., 1993)。

这种组合治疗的用途包括允许双药物组分给药的治疗制剂, 即一剂药物中的蛙皮素受体拮抗剂与血管扩张剂, 激素治疗药物或神经递质调节剂药物。优选的剂型允许经口给药。然而, 通过栓剂、乳膏、皮肤贴剂或注射剂给药也是本发明的一部分。作为选择, 发明人设计了通过与血管扩张剂, 激素治疗药物或神经递质调节剂药物分开的途径给用蛙皮素受体拮抗剂。这种途径可以包括例如蛙皮素受体拮抗剂的经口给药和血管扩张剂的皮肤贴剂应用。如此可以提供一种试剂盒, 其中单位剂量的蛙皮素受体拮抗剂与单位剂量的血管扩张剂、激素治疗药物或神经递质调节剂共存。例如, 在这样的试剂盒中将蛙皮素受体拮抗剂配制成经口给药的片剂胶囊或其它单位剂量形式, 血管扩张剂以贴剂的形式提供, 两种剂量形式可以两排撕条的形式提供, 其中包含片剂等的隔室位于包含贴剂隔室的上面。其中两种剂型在空间上相关联使患者容易共同取得并且在作完时容易提醒的其它形式的包装, 是本领域的技术人员容易想到的。试剂盒还将包含有关试剂盒的个别组分应当何时和如何给药的指示。

更广泛地, 本发明提供蛙皮素受体拮抗剂与一种或多种选自下面(1)至(34)的物质的药物组合物(用于同时、单独或依次给药):

(1) 一种或多种天然存在或合成的前列腺素或其酯。适于本发明的前列腺素包括化合物如前列地尔, 前列腺素 E₁, 前列腺素 E₀, 13,14-二氢前

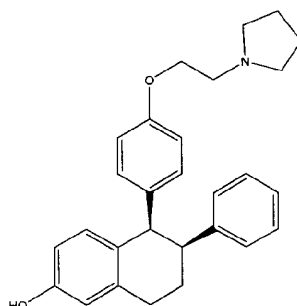
列腺素 E₁, 前列腺素 E₂, eprostinol, 天然合成和半合成的前列腺素极其衍生物, 包括 WO-00033825 和/或 2000 年 3 月 14 日颁发的 US 6037346(全文引入本文作为参考)中所公开的那些, PGE₀, PGE₁, PGA₁, PGB₁, PGF₁α, 19-羟基 PGA₁, 19-羟基-PGB₁, PGE₂, PGB₂, 19-羟基-PGA₂, 19-羟基-PGB₂, 5 PGE₃α, 卡波前列素, 缓血酸胺, 地诺前列素, 前列腺素 F₂, 伊落前列素, 前列甲脂, metenoprost, sulprostone, 噻前列素和 moxislyate。

(2) 一种或多种α-肾上腺素受体拮抗剂化合物, 也称之为α-肾上腺素受体拮抗剂或α-受体拮抗剂或α-阻断剂。适于本发明的化合物包括: α-肾上腺素受体阻断剂, 如 1998 年 6 月 14 日出版的 PCT 申请 WO99/30697 中 10 所述, 其公开(引入本文作为参考)涉及α-肾上腺素受体并且包括: 选择性α₁-肾上腺素受体或α₂-肾上腺素受体阻断剂及非选择性肾上腺素受体阻断剂, 适宜的α₁-肾上腺素受体阻断剂包括: 酚妥拉明, 酚妥拉明甲磺酸盐, 曲拉唑酮, 醛酶质, 吲哚哌胺, 萘哌地尔, 他索罗辛, 哌哌拉唑, 苯氧苄胺, 亚达唑散, 益法罗辛, 育亨宾, 萝芙木碱, Recordati 15/2739, SNAP 1069, SNAP 15 5089, RS17053, SL 89.0591, 多沙唑嗪, 特拉唑嗪, abanoquil 和派唑嗪; 来源于 US 6037346[2000 年 3 月 14 日]的α₂-阻断剂 dibenamine, 妥拉唑林, 曲马唑嗪和地苯那明; α-肾上腺素受体拮抗剂, 如美国专利 4,188,390; 4,026,894; 3,511,836; 4,315,007; 3,527,761; 3,997,666; 2,503,059; 4,703,063; 3,381,009; 4,252,721 和 2,599,000 中所述, 每个专利均引入本文作为参考; α₂-肾上腺素受体阻断剂包括: 可乐宁, 罂粟碱, 罂粟碱盐酸盐, 任选存在强心剂如 20 pirxamine。

(3) 一种或多种 NO-供体(NO-激动剂)化合物。适用于本发明的 NO-供体化合物包括有机硝酸盐如单、二或三硝酸盐或有机硝酸酯包括甘油三硝酸酯(也称之为硝化甘油), 异山梨醇 5-单硝酸酯, 异山梨醇二硝酸酯, 季 25 戊四醇四硝酸酯, 赤藓醇基四硝酸酯, 硝普钠盐(SNP), 3-morpholinosydnonimine, 脉导敏, S-亚硝基-N-乙酰基青霉胺(SNAP), S-亚硝基-N-谷胱甘肽(SNO-GLU), N-羟基-L-精氨酸, 硝酸戊酯, 林西多明, 林西多明盐酸盐, (SIN-1)S-亚硝基-N-半胱氨酸, diazenium diolates (NONOates), 1,5-pentanedinitrate, L-精氨酸, 人参, zizphi fructus, 脉导敏, 30 Re-2047, 亚硝化 maxislyte 衍生物如 NMI-678-11 和 NMI-937, 见已经出版的 PCT 申请 WO 0012075; 和/或

- (4) 一种或多种钾通道开启剂或调节剂。适用于本发明的钾通道开启剂/调节剂包括尼可地尔, 色满卡林, 左色满卡林(利马卡林), 吡那地尔, 二氮嗪, 米诺地尔, charybdotoxin, 优降糖, 4-氨基吡啶, BaCl_2 。
- (5) 一种或多种多巴胺药剂, 优选阿朴吗啡或选择性的 D_2 , D_3 或 D_2/D_3 激动剂如派拉米苏和 ropirinol(如 WO-0023056 所要求保护的), PNU 95666(如 WO-0040226 所要求保护的)。
- (6) 一种或多种血管扩张剂。适用于本发明的血管扩张剂包括尼莫地平, 吡那地尔, 环扁桃酯, 异舒普林, 氯丙嗪, 氟哌啶醇, Rec 15/2739, 曲拉唑酮。
- 10 (7) 一种或多种血栓烷 A_2 激动剂。
- (8) 一种或多种 CNS 活性剂。
- (9) 一种或多种麦角生物碱。适用于本发明的麦角生物碱见 2000 年 3 月 14 日颁发的美国专利 6037346, 并且包括乙酰二氢麦角胺, 麦角溴氮革, 溴麦角脲, 霞纳高林, delorgotril, disulergine, 麦角新碱马来酸盐, 麦角胺酒石酸盐, etisulergine, 麦角腓, 麦角酰二乙胺, mesulergine, 麦角苄酯, 15 甲基麦角胺, 麦角溴烟酯, 培高利特, 1-甲基麦角新碱, 普得究利, terguride。
- (10) 一种或多种调节促尿钠排泄因子, 特别是前房的促尿钠排泄因子(也称之为前房的促尿钠排泄肽), B 型和 C 型促尿钠排泄因子作用的化合物。
- (11) 一种或多种血管紧缩素受体拮抗剂如洛沙坦。
- 20 (12) 一种或多种 NO-合酶的底物如 L-精氨酸。
- (13) 一种或多种钙通道阻断剂如阿姆罗赫。
- (14) 一种或多种降胆固醇药物如斯特汀(例如阿伐他汀/利普妥-商标)和 fibrates。
- (15) 一种或多种抗血小板和抗血栓形成药物, 例如 tPA, uPA, 丙酮 25 苄羟香豆素, 水蛭素和其它凝血酶抑制剂, 肝素, 促凝血酶原激酶激活因子抑制剂。
- (16) 一种或多种胰岛素敏化剂如 triglitazone(rezulin)和降血糖药如格列甲嗪。
- (17) L-DOPA 或卡比多巴。
- 30 (18) 一种或多种乙酰胆碱酯酶抑制剂如多奈哌齐(爱丽赛)。
- (19) 一种或多种甾族或非甾族的抗炎药。

(20) 一种或多种雌激素受体调节剂(SERM)和/或雌激素激动剂和/或雌激素拮抗剂, 优选 raloxifene 或 lasofoxifene, (-)-顺式-6-苯基-5-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-5,6,7,8-四氢萘-2-醇及其药学上可接受的盐(下面的化合物 A), 其制备方法详见 WO 96/21656。



化合物 A

5

(21) 一种或多种 PDE 抑制剂, 特别是 PDE 2, 5, 7 或 8 抑制剂(用于经口或局部给药), 优选 PDE2 或 PDE5 抑制剂, 最优选 PDE5 抑制剂(见下文),
10 优选所述抑制剂抗各自酶的 IC₅₀ 小于 100nM; 及局部给药的 PDE 3, 4 抑制剂(例如海绵体内注射)。

(22) 当组合物用于治疗或预防女性性功能障碍时, 一种或多种 NPY(神经肽 Y)抑制剂, 特别是 NPY1 或 NPY5 抑制剂, 优选 NPY1 抑制剂。优选所述 NPY 抑制剂(包括 NPYY1 和 NPYY5)具有小于 100 nM, 更优选小于 50
15 nM 的 IC₅₀。

(23) 一种或多种中性肽链内切酶(NEP)抑制剂, 优选对 NEP 具有小于 100nM 的 IC₅₀。优选 NEP 抑制剂对 NEP 是选择性的并且具有比内皮素 convertin 酶(ECE)和血管紧张素转化酶(ACE)大 100 倍的选择性。然而, 混合的/双重的 NEP/ECE 与 NEP/ACE 抑制剂(如 ompatrilat)仍然包括在本发明的
20 的范围内。

(24) 一种或多种血管作用的肠蛋白(VIP), VIP 模拟物, VIP 类似物, 特别是通过一种或多种 VIP 受体亚型 VPAC1, VPAC 或 PACAP(脑垂体腺苷酸环化酶激活肽)发生作用的一种或多种 VIP 受体激动剂或 VIP 类似物(例如 Ro-125-1553)或 VIP 片段, 一种或多种 α -肾上腺素受体拮抗剂与 VIP 的
25 组合(如茚韦考普, Aviptadil)。

(25) 一种或多种黑皮质激素受体激动剂或调节剂或者黑皮质激素强化因子, 如 melanotan II, PT-14, PT-141 或者 WO-09964002, WO-00074679,

WO-09955679, WO-00105401, WO-00058361, WO-00114879, WO-00113112, WO-09954358 中所要求保护的化合物。

(26) 一种或多种 5-羟色胺受体激动剂,拮抗剂或调节剂,特别是 5HT1A (包括 VML 670), 5HT2A, 5HT2C, 5HT3 和/或 5HT6 受体的激动剂,拮抗剂或调节剂,包括 WO-09902159, WO-00002550 和/或 WO-00028993 中所述的那些。

(27) 一种或多种睾酮替代剂(包括去氢雄烯二酮), 睾酮(Tostrelle), 二氢睾酮或睾酮植入体。

(28) 一种或多种雌激素, 雌激素和甲羟孕酮或甲羟孕酮乙酸酯 (MPA)(即作为组合物), 或者雌激素与甲基睾酮激素替代治疗剂(例如 HRT, 特别是马雌激素, Cenestin, Oestrofeminal, Equin, Estrace, Estrofem, Elleste Solo, Estring, Eastraderm TTS, Eastraderm Matrix, Dermestril, Premphase, Preempro, Prempak, Premique, Estratest, Estratest HS, Tibolone)。

(29) 一种或多种去甲肾上腺素的调节剂或传送剂, 多巴胺和/或 5-羟色胺, 如丁氨苯丙酮, GW-320659。

(30) 一种或多种 purinergic 受体激动剂和/或调节剂。

(31) 一种或多种神经激肽(NK)受体拮抗剂, 包括 WO-09964008 中所述的那些。

(32) 一种或多种类鸦片物受体激动剂, 拮抗剂或调节剂, 优选 ORL-1 受体激动剂。

(33) 一种或多种催产素/加压素受体的激动剂或调节剂, 优选选择性的催产素激动剂或调节剂。

(34) 一种或多种大麻素受体调节剂。

25 辅剂: PDE5 抑制剂(I:PDE5)

PDE5 抑制剂

适用于本发明药物组合物的 PDE5i's 为 cGMP PDE5i's, 详见下文。特别优选的用于本发明的是有效的和选择性的 cGMP PDE5i's。适用于本发明的 GMP PDE5 抑制剂包括:

- 30
- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见 EP-A-0463756;
 - 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见 EP-A-0526004;

- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 93/06104;
- 同分异构的吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 93/07149;
- 喹唑啉-4-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 93/12095;
- 5 • 吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 94/05661;
- 嘌呤-6-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 94/00453;
- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 98/49166;
- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 99/54333;
- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-4-酮, 见 EP-A-0995751;
- 10 • 吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 见已出版的国际专利申请 WO 00/24745;
- 吡唑并[4,3-d]嘧啶-4-酮, 见 EP-A-0995750;
- 化合物, 见已经出版的国际专利申请 WO95/19978;
- 化合物, 见已经出版的国际专利申请 WO 99/24433; 及
- 化合物, 见已经出版的国际专利申请 WO 93/07124。
- 15 应当理解, 上述已出版的专利申请的内容, 特别是其中的通式和示例化合物均整体引入本文作为参考。
- 优选的用于本发明的 V 型磷酸二酯酶抑制剂包括:
 - 5-[2-乙氧基-5-(4-甲基-1-哌嗪基磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(西地那非), 也称之为 1-[[3-(6,7-二氢-1-甲基-7-氧代-3-丙基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)-4-乙氧基苯基]磺酰基]-4-甲基哌嗪 (见 EP-A-0463756);
 - 5-(2-乙氧基-5-吗啉代乙酰基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 EP-A-0526004);
 - 3-乙基-5-[5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)-2-正丙氧基苯基]-2-(吡啶-2-基)甲基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO98/49166);
 - 25 3-乙基-5-[5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)-2-(2-甲氧基乙氧基)吡啶-3-基]-2-(吡啶-2-基)甲基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO99/54333);
 - (+)-3-乙基-5-[5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)-2-(2-甲氧基-1(R)-甲基乙氧基)吡啶-3-基]-2-甲基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 也称之为 3-乙基-5-{5-[4-乙基哌嗪-1-基磺酰基]-2-[(1R)-2-甲氧基-1-甲基乙基]氧基}吡啶-3-基}-2-甲基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO99/54333);
 - 30

5-[2-乙氧基-5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)吡啶-3-基]-3-乙基-2-[2-甲氧基乙基]-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮, 也称之为 1-{6-乙氧基-5-[3-乙基-6,7-二氢-2-(2-甲氧基乙基)-7-氧代-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基]-3-吡啶基磺酰基}-4-乙基哌嗪(见 WO 01/27113, 实施例 8);

- 5 5-[2-异丁氧基-5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)吡啶-3-基]-3-乙基-2-(1-甲基哌啶-4-基)-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO 01/27113, 实施例 15);

5-[2-乙氧基-5-(4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)吡啶-3-基]-3-乙基-2-苯基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO 01/27113, 实施例 66);

- 10 5-(5-乙酰基-2-丙氧基-3-吡啶基)-3-乙基-2-(1-异丙基-3-氮杂环丁烷基)-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO 01/27112, 实施例 124);

5-(5-乙酰基-2-丁氧基-3-吡啶基)-3-乙基-2-(1-乙基-3-氮杂环丁烷基)-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO 01/27112, 实施例 132);

- 15 (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-六氢-2-甲基-6-(3,4-亚甲二氧基苯基)-吡嗪并[2',1':6,1]吡啶并[3,4-b]吡啶-1,4-二酮(IC-351), 即已经公开的国际申请 WO 95/19978 的实施例 78 和 95 的化合物, 以及实施例 1, 3, 7 和 8 的化合物;

- 2-[2-乙氧基-5-(4-乙基哌嗪-1-基-1-磺酰基)-苯基]-5-甲基-7-丙基-3H-咪唑并[5,1-f][1,2,4]三嗪-4-酮(vardenafil), 也称之为 1-[[3-(3,4-二氢-5-甲基-4-氧代-7-丙基咪唑并[5,1-f]-as-三嗪-2-基)-4-乙氧基苯基]磺酰基]-4-乙基哌嗪,
20 即已经公开的国际申请 WO99/24433 的实施例 20, 19, 337 和 336 的化合物; 及

已经公开的国际申请 WO93/07124 (EISAI)的实施例 11 的化合物; 以及 Rotella D P, *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 1257 中的化合物 3 和 14。

可共同用于本发明的其它类型 cGMP PDE5 抑制剂包括:

- 25 4-溴-5-(吡啶基甲基氨基)-6-[3-(4-氯苯基)-丙氧基]-3(2H)-哒嗪酮;
1-[4-[(1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基甲基)氨基]-6-氯-2-喹唑啉基]-4-哌啶-羧酸单钠盐;

(+)-顺式-5,6a,7,9,9,9a-六氢-2-[4-(三氟甲基)-苯基甲基-5-甲基-环戊二烯并[4,5]咪唑并[2,1-b]嘌呤-4(3H)酮;

- 30 呋士西林;

顺式-2-己基-5-甲基-3,4,5,6a,7,8,9,9a-八氢环戊二烯并[4,5]-咪唑并[2,1-b]

嘌呤-4-酮；3-乙酰基-1-(2-氯苄基)-2-丙基吡啶-6-羧酸酯；3-乙酰基-1-(2-氯苄基)-2-丙基吡啶-6-羧酸酯；

4-溴-5-(3-吡啶基甲基氨基)-6-(3-(4-氯苄基)丙氧基)-3-(2H)-吡嗪酮；

I-甲基-5-(5-吗啉代乙酰基-2-正丙氧基苄基)-3-正丙基-1,6-二氢-7H-吡唑并(4,3-d)嘧啶-7-酮；

1-[4-[(1,3-并二噁唑-5-基甲基)氨基]-6-氯-2-喹唑啉基]-4-哌啶羧酸单钠盐；

Pharmaprojects No. 4516 (Glaxo Wellcome)；

Pharmaprojects No. 5051 (Bayer)；

10 Pharmaprojects No. 5064 (Kyowa Hakko；见 WO 96/26940)；

Pharmaprojects No. 5069 (Schering Plough)；

GF-196960 (Glaxo Wellcome)；

E-8010 and E-4010 (Eisai)；Bay-38-3045 & 38-9456 (Bayer)；及

Sch-51866。

15 任何具体cGMP PDE5抑制剂的适宜性可以利用文献方法通过评价其功效和选择性很容易地测定，即根据标准的药物实践评价其毒性，溶解，代谢，药物动力学等。

优选 cGMP PDE5 抑制剂的 IC_{50} 小于 100 纳摩尔，更优选小于 50 纳摩尔，最优选小于 10 纳摩尔。cGMP PDE5 抑制剂的 IC_{50} 值可以采用下文

20 试验方法部分的 PDE5 试验进行测定。

优选用于本发明的药物组合物的 cGMP PDE5 抑制剂是对 PDE5 酶选择性的。优选它们相对于 PDE3，更优选相对于 PDE3 和 PDE4 是选择性的。

优选本发明的 cGMP PDE5 抑制剂的选择性比 PDE3 更优选比 PDE3 和 PDE4 大 100 倍，更优选大 300 倍。选择性比率可容易地由本领域的技术人员测

25 定。对 PDE3 和 PDE4 酶的 IC_{50} 值可采用已经建立的文献方法测定，见 S A Ballard 等(1998)，并详见下文。

辅剂：NEP 抑制剂 (I:NEP)

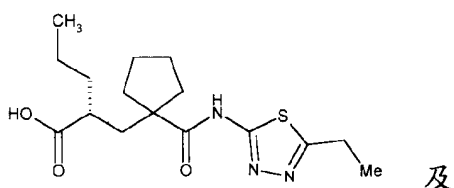
NEP EC3.4.24.11 (FEBS Lett., 229(1), 206-210 (1988))，也称之为脑啡肽酶或 neprilysin，是锌依赖的中性肽链内切酶。该酶与几种生物活性的寡肽的分解有关，断裂疏水性氨基酸残基之氨基侧链上的肽键(参见 Turner 等，

1997)。关键的神经释放的生物活性剂或者 NEP 代谢的神经肽包括促尿钠排泄肽如前房的促尿钠排泄肽(ANP)以及大脑促尿钠排泄肽和 C-型促尿钠排泄肽,蛙皮素,血管舒缓激肽,降钙素基因相关的肽, endothelins, 脑啡肽,神经加压素,物质 P 和血管作用的肠内肽。这些肽中的一些具有血管扩张剂功效和神经激素功能,利尿的和促尿钠排泄的活性或者介导行为作用。有关 NEP 的背景教导见 Victor A. McKusick 等<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/searchomim.htm>。下面有关 NEP 的信息是从中选取的。

“普通的急性淋巴细胞白血病抗原是人类急性淋巴细胞白血病(ALL)诊断中重要的细胞表面标志物。其存在于前-B 表型的白血病细胞上,占 ALL 病例的 85%。然而, CALLA 不限于白血病细胞,其可见于各种正常的组织。CALLA 是一种糖蛋白,并且富集于肾脏中,其存在于近侧小管的刷状缘上以及肾小球的上皮细胞上。Letarte 等(1988)克隆了编码 CALLA 的 cDNA,并且表明,由 cDNA 序列推断出的氨基酸序列与人类膜相关的中性肽链内切酶(NEP; EC 3.4.24.11, 也称之为脑啡肽酶)的序列相同。NEP 断裂疏水性残基的氨基侧链上的肽,并且使几种肽激素失活,所述肽激素包括胰高血糖素,脑啡肽,物质 P,神经加压素,催产素,及血管舒缓激肽。通过 cDNA 转染分析, Shipp 等(1989)确认, CALLA 是从前称之为脑啡肽酶类型的功能性中性肽链内切酶。Barker 等(1989)证实,编码 100-kD II 型跨膜糖蛋白的 CALLA 基因以大于 45 kb 的单拷贝存在,其在表达细胞表面 CALLA 的恶性肿瘤中不再重排。通过研究体细胞杂合体发现,基因定位于人类的染色体 3,且原位杂交的区域是 3q21-q27。Tran-Paterson 等(1989)还通过 DNA 的 Southern 印迹分析将基因由人-啮齿动物体细胞杂合体分配给染色体 3。D'Adamio 等(1989)证实, CALLA 基因跨距大于 80 kb 并由 24 外显子组成。”

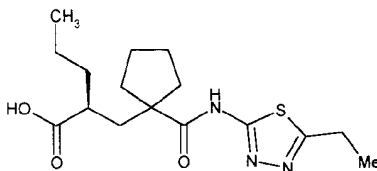
优选的作为辅剂与本发明的蛙皮素受体拮抗剂组合使用的 NEPi's 包括:

(2R)-2-[(1-[[[5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基]氨基]羰基]环戊基)甲基]戊酸



及

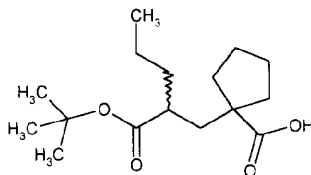
(2S)-2-[(1-[(5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基]羧基)环戊基]-甲基]戊酸



5

将下面步骤c)的标题产物(824mg)通过HPLC进一步纯化, 使用AD色谱柱并使用己烷:异丙醇:三氟乙酸(85:15:0.2)作为洗脱剂, 得到(2R)-2-[(1-[(5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基]羧基)-环戊基)甲基]戊酸, 其为白色的泡沫状物, 400mg, 99.5% ee,

10 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0.90 (t, 3H), 1.36 (m, 6H), 1.50-1.80 (m, 9H), 2.19 (m, 1H), 2.30 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.98 (q, 2H), 12.10-12.30 (bs, 1H), LRMS: m/z 338 (MH^+), $[\alpha]_D = -9.0^\circ$ ($c = 0.1$, 甲醇), 及(2S)-2-[(1-[(5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基]羧基)环戊基)-甲基]戊酸, 其为白色的泡沫状物, 386mg, 99% ee, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0.90 (t, 3H), 1.38 (m, 6H), 1.50-1.79 (m, 9H), 2.19 (m, 1H), 2.30 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.98 (q, 2H), 12.10-12.27 (bs, 1H); LRMS: m/z 338 (MH^+); and $[\alpha]_D = +3.8^\circ$ ($c = 0.1$, 甲醇)

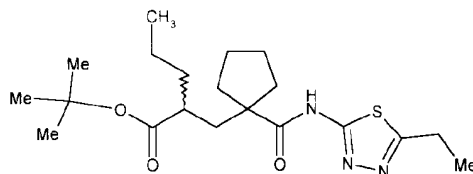
原料的制备20 a) 1-[2-(叔丁氧基羧基)-4-戊基]-环戊烷羧酸

25 将 1-[2-(叔丁氧基羧基)-4-戊基]-环戊烷羧酸(EP 274234) (23g, 81.5mmol)与 10% 钯炭(2g)于干燥乙醇(200ml)中的混合物在 30psi 和室温下氢化 18 小时。将反应混合物通过 Arbocel®过滤, 并减压蒸发滤液, 得到黄色的油状物。粗产物通过硅胶柱色谱进行纯化, 采用乙酸乙酯:戊烷(40:60)作为洗脱剂, 得到所需的产物, 其为澄清的油状物, 21g, 91%; ^1H NMR (CDCl_3 ,

0.86 (t, 3H), 1.22-1.58 (m, 15H), 1.64 (m, 4H), 1.78 (dd, 1H), 2.00-2.18 (m, 3H), 2.24 (m, 1H); LRMS : m/z 283 (M-H)⁻。

b) 2-[(1-[(5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基]羰基}-环戊基)甲基]戊酸叔丁酯

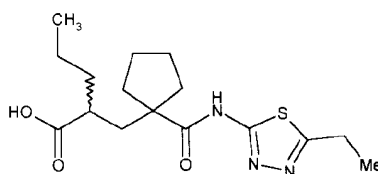
5



将 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.21mmol), 1-羟基苯并三唑水合物(0.2mmol), N-甲基吗啉(0.31mmol)和 2-氨基-5-乙基-1,3,4-噻二唑 (0.22mmol)加到上述步骤 a)的产物(150mg, 0.53mmol)于 N,N-二甲基甲酰胺(3ml)中的溶液中, 并将反应物在 90°C 搅拌 18 小时。冷却的溶液用乙酸乙酯(90ml)稀释, 用水(3x25ml)及盐水(25ml)洗涤, 然后干燥(MgSO₄)并减压蒸发。粗产物通过硅胶色谱进行纯化, 采用乙酸乙酯:戊烷(30:70)作为洗脱剂, 得到标题化合物, 92%; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ: 0.82 (t, 3H), 1.20-1.80 (m, 22H), 1.84 (m, 1H), 2.20 (m, 4H), 3.04 (q, 2H), 9.10 (bs, 1H); LRMS : m/z 396.2 (MH⁺)。

15

c) 2-[(1-[(5-乙基-1,3,4-噻二唑-2-基)氨基]羰基}环戊基)甲基]戊酸



将三氟乙酸(5ml)加到上述步骤 b)的标题产物(0.31mmol)的二氯甲烷 (5ml)溶液中, 并将溶液在室温下搅拌 4 小时。将反应混合物减压浓缩, 剩余物用甲苯和二氯甲烷共沸蒸馏, 得到标题化合物, 其为澄清的油状物, 81%, ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) δ: 0.92 (t, 3H), 1.35 (t, 3H), 1.25-1.80 (m, 11H), 2.20-2.50 (m, 4H), 2.95 (q, 2H), 12.10 (bs, 1H); LRMS : m/z 339.8 (MH⁺); 元素分析, 实验值: C, 56.46; H, 7.46; N, 12.36. C₁₆H₂₅N₃O₃S, 计算值 C, 56.62; H, 7.44; N, 12.37%。

25

有关鉴定和/或研究 I:NEP 的适宜分析体系的详情见下文中标题为 NEP 试验的部分。NEP 抑制剂其它实例公开和讨论于下列综述文件中:

- Pathol. Biol., 46(3), 1998, 191
Current Pharm. Design, 2(5), 1996, 443
Biochem. Soc. Trans., 21(3), 1993, 678
Handbook Exp. Pharmacol., 104/1, 1993, 547
5 TiPS, 11, 1990, 245
Pharmacol. Rev., 45(1), 1993, 87
Curr. Opin. Inves. Drugs, 2(11), 1993, 1175
Antihypertens. Drugs, (1997), 113
Chemtracts, (1997), 10(11), 804
10 Zinc Metalloproteases Health Dis. (1996), 105
Cardiovasc. Drug Rev., (1996), 14(2), 166
Gen. Pharmacol., (1996), 27(4), 581
Cardiovasc. Drug Rev., (1994), 12(4), 271
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., (1995), 22(1), 63
15 Cardiovasc. Drug Rev., (1991), 9(3), 285
Exp. Opin. Ther. Patents (1996), 6(11), 1147

NEPi's 的其它实例公开于下列文件中：

EP-509442A

US-192435

US-4929641

EP-599444B

US-884664

EP-544620A

US-798684

J. Med. Chem. 1993, 3821

Circulation 1993, 88(4), 1

EP-136883

JP-85136554

US-4722810

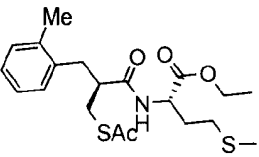
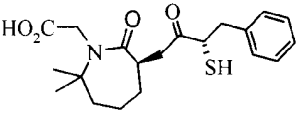
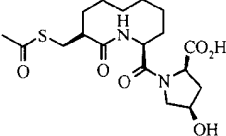
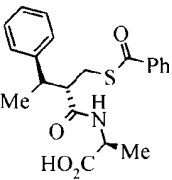
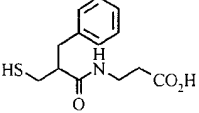
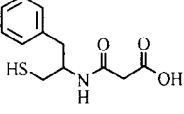
Curr. Pharm. Design, 1996, 2, 443

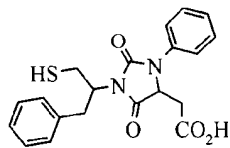
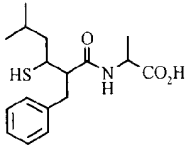
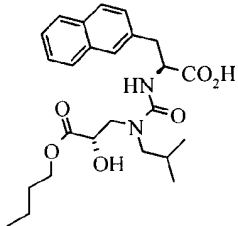
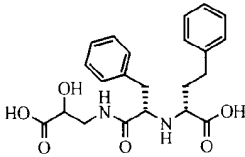
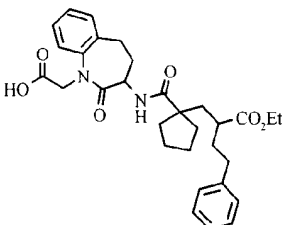
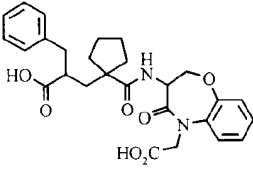
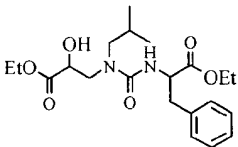
EP-640594
J. Med. Chem. 1993, 36(1), 87
EP-738711-A
JP-270957
CAS # 115406-23-0
DE-19510566
DE-19638020
EP-830863
JP-98101565
EP-733642
WO9614293
JP-08245609
JP-96245609
WO9415908
JP05092948
WO-9309101
WO-9109840
EP-519738
EP-690070
J. Med. Chem. (1993), 36, 2420
JP-95157459
Bioorg. Med. Chem. Letts., 1996, 6(1), 65

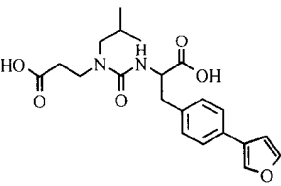
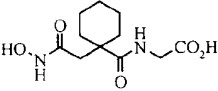
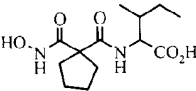
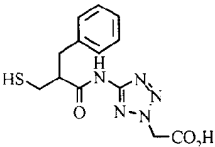
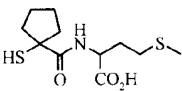
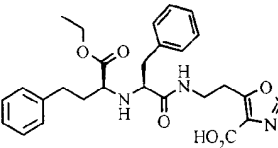
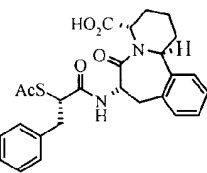
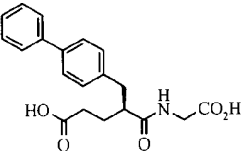
进一步的 I:NEP 公开于下列文件中：

EP-A-0274234
JP-88165353
Biochem.Biophys.Res. Comm.,1989, 164, 58
EP-629627-A
US-77978
Perspect. Med. Chem. (1993), 45
EP-358398-B

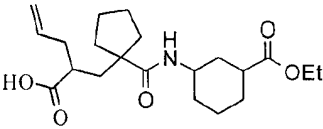
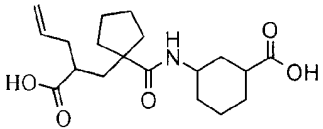
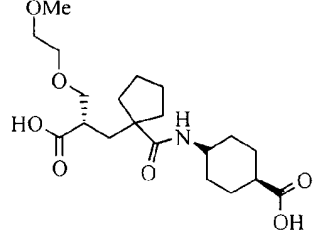
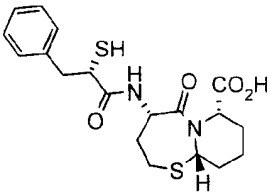
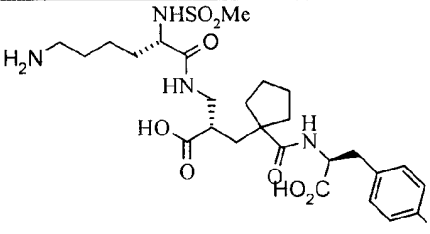
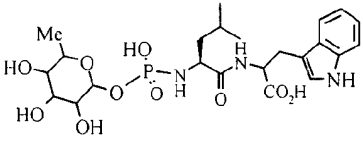
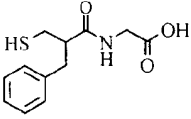
其他的 I:NEP 实例选自下列结构：

化合物	结构	作用方式参考文献
FXII		I:NEP EP-509442A US-192435 US-4929641
FXIII		I:NEP (也是 ACE 抑制剂) EP-599444B US-884664
FXIV		I:NEP EP-544620A US-798684 J. Med. Chem. 1993, 3821.
FXV		I:NEP (也是 ACE 抑制剂) Mizanpril Circulation 1993, 88(4), 1.
FXVI		I:NEP EP-136883 JP-85136554 US-4722810
FXVII		I:NEP Retrothiorphan Curr. Pharm. Design, 1996, 2, 443.

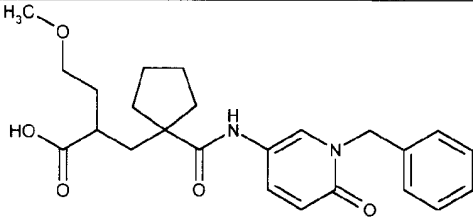
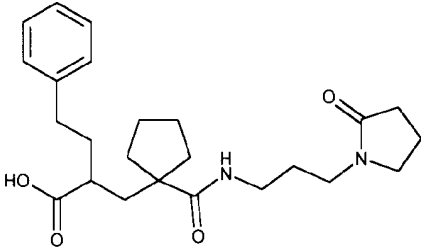
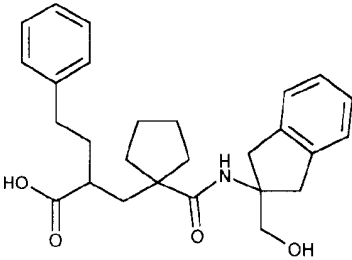
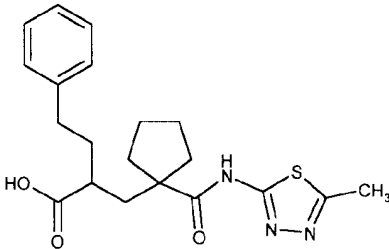
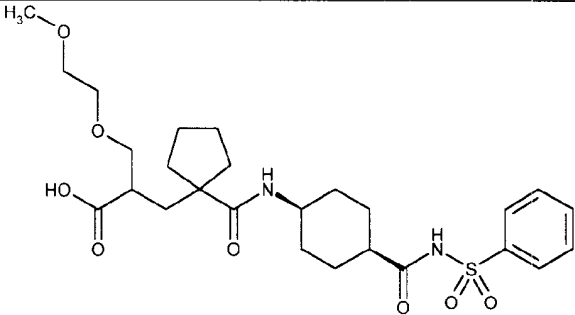
FXVIII		I:NEP (也是 ACE 抑制剂) EP-640594
FXIX		I:NEP J. Med. Chem. 1993, 36(1), 87.
FXX		I:NEP (也是 ACE 抑制剂) EP-738711-A JP-270957
FXXI		I:NEP CAS # 115406-23-0
FXXII		I:NEP (也是 ECE 抑制剂) DE-19510566 DE-19638020 EP-830863 JP-98101565
FXXIII		I:NEP (也是 ECE 抑制剂) EP-733642
FXXIV		I:NEP WO96/14293

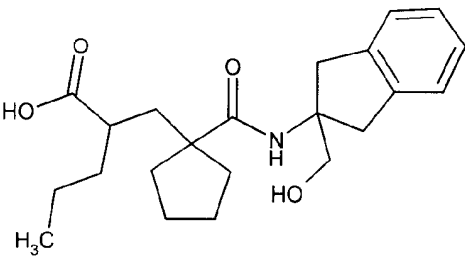
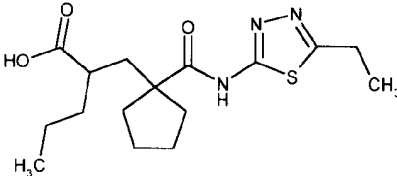
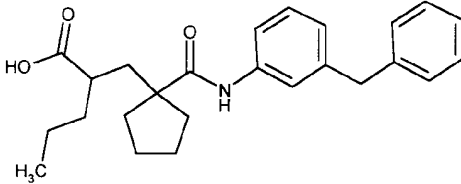
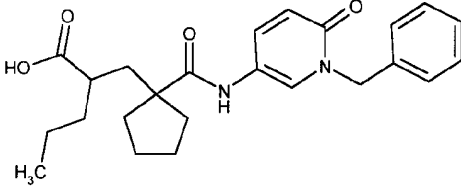
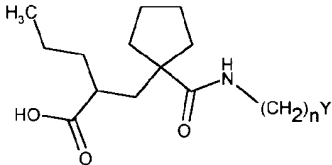
FXXV		I:NEP JP-08245609 JP-96245609
FXXVI		I:NEP WO9415908
FXXVII		I:NEP JP05092948
FXXVIII		I:NEP WO-9309101
FXXIX		I:NEP WO-9109840
FXXXI		I:NEP EP-519738 EP-690070
FXXXII		I:NEP (也是 ACE 抑制剂) J. Med. Chem. (1993), 36, 2420.
FXXXIII		I:NEP JP-95157459 Bioorg. Med. Chem. Letts., 1996, 6(1), 65.

优选的其它 I:NEP 选自下列结构：

化合物	结构	作用方式参考文献
FV		I:NEP EP-A-0274234 (实施例 300)
FVI		I:NEP EP-A-0274234 (实施例 379)
FVII		I:NEP Candoxatrilat EP-274234 JP-88165353 Biochem.Biophys.Res. Comm.,1989, 164, 58
FVIII		I:NEP Omapatrilat (也是 ACE 抑制剂) EP-0629627-A US-77978
FIX		I:NEP Sampatrilat (也是 ACE 抑制剂) Perspect. Med. Chem. (1993), 45. EP-0358398-B
FX		I:NEP Phosphoramidon (可商购)
FXI		I:NEP Thiorphan (可商购)

更优选的其他 I:NEP 选自下列结构：

化合物	结构
F57	
F58	
F59	
F60	
F61	

F62	
F63	
F64	
F65	
F66	 <p style="text-align: center;">(Ic)</p>

生物利用度

优选本发明的化合物(及组合物)可以经口利用。经口生物利用度是指到达体循环的经口给用的药物的比例。决定药物经口给药的生物利用度的因素是溶解，膜渗透和代谢稳定性。一般地，首先采用体外筛选梯级，然后采用体内技术测定经口给药的生物利用度。

胃肠道(GIT)内的水分对药物的溶解、溶剂化，可以通过在适宜 pH 至模拟 GIT 的条件下进行的体外溶解度实验来预见的。优选本发明的化合物具有 50 mcg/ml 的最小溶解度。溶解度可以采用本领域中已知的标准方法如 Adv. Drug Deliv. Rev. 23, 3-25, 1997 中所述的方法进行测定。

膜渗透性是指化合物经GIT细胞的通过。亲油性是预见此事的关键性质，并且采用有机溶剂和缓冲液通过体外Log $D_{7.4}$ 测量确定。优选本发明的化合物的Log $D_{7.4}$ 为-2至+4，更优选为-1至+2。log D可以通过本领域中已知的标准方法如J. Pharm. Pharmacol. 1990, 42:144中所述的方法测定。

5 细胞单层试验如CaCo₂可以基本上加到在溢出传递物如p-糖蛋白存在下有关优选的膜渗透性的预见中，也称之为caco-2通量。优选本发明的化合物的caco-2通量大于 $2 \times 10^{-6} \text{cms}^{-1}$ ，更优选大于 $5 \times 10^{-6} \text{cms}^{-1}$ 。Caco通量值可以根据本领域中已知的标准方法如J. Pharm. Sci, 1990, 79, 595-600中所述的方法进行测定。

10 代谢稳定性是指 GIT 或肝脏在溶解过程中代谢化合物的能力：第一传递作用。试验体系如微粒体、肝细胞等是代谢倾向的前兆。优选实施例的化合物在试验体系中表现出代谢稳定性，其相当于小于 0.5 的肝萃取物。试验体系的实施例及数据处理见 Curr. Opin. Drug Disc. Devel., 201, 4, 36-44, Drug Met. Disp., 2000, 28, 1518-1523。

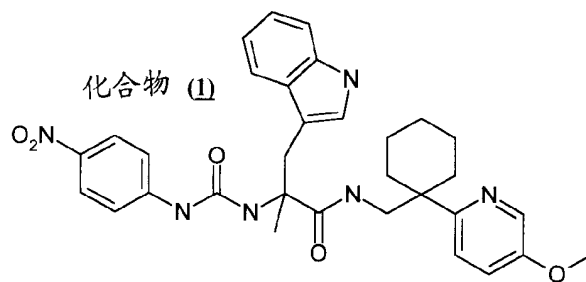
15 因为上述过程的相互影响，可以通过动物体内实验进一步支持药物经人口给药是可以生物利用的。在这些研究中，绝对的生物利用度是通过经口单独或以混合物方式给药而化合物测定的。对于绝对的测量结果(溶解的百分数)，也采用静脉途径。动物中经口给药的生物利用度的评价实例可参见 Drug Met. Disp., 2001, 29, 82-87; J. Med Chem, 1997, 40, 827-829, Drug Met. Disp., 1999, 27, 221-226。

对于本文交叉引用的可用于本发明的专利中包括的化合物，我们是指如权利要求(特别是权利要求 1)中所定义的具有治疗活性的化合物及具体的实例(其全部引入本文作为参考)。

25 现将仅以实施例的方式描述如何实施本发明，同时参照下列实施例，其中一些是制备例另一些描述生物试验结果。

实施例 1

(S)3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基-甲基]-2-甲基-2-[3-(4-硝基-苯基)-脲基]-丙酰胺(化合物(1))对雌性大鼠性本体感受性的影响



卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g, 来源于 Charles River)6 个一组圈养于 12 小时白天:黑夜(7.00-19.00 时关灯)的颠倒的光照系统中。卵巢切除两周后, 将它们用于性活动试验。实验开始至少 5 小时进入黑暗期。

试验在直径 90cm, 四周围绕 30cm 高围墙的圆形台进行。将两个前面为金属丝网(15x15cm)的小笼固定在上述墙上, 使得笼的前面与墙壁«齐平(flush)»且两个笼子彼此相对。它们装有两个刺激动物: 无性经历的雄性和感受的雌性(卵巢切除的, 给用 5 μ g 溶解于玉米油中的雌二醇苯甲酸酯, 并在试验前 48 小时皮下注射, 且在试验前 4 小时注射 0.5 mg 的黄体酮)。使用自然性试验和对照动物。试验前 48 小时, 将试验和对照动物给用 5g 的雌二醇苯甲酸酯。对于用作阳性对照的动物, 将黄体酮(0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油, 并于试验前 4 小时皮下给药(s.c.)。将试验和对照动物一次一只引入圆形台 10 分钟。在 10 分钟试验期间, 记录试验或阳性对照动物探查每个刺激动物所用的时间。将圆形台在动物之间彻底清扫。将雄性/雌性刺激盒的位置在动物间随机分布, 以避免位置偏爱。从探查刺激动物花费的总时间中, 计算出探查雄性减去雌性刺激物所花时间的百分数的差异。

将化合物(1)溶解于 100% β -环糊精, 然后用盐水稀释至最终 50%的 2-羟丙基- β -环糊精溶液。试验前 1 小时, 以 3 和 10mg/kg 的剂量, 按 1ml/kg 的给药体积腹膜内(i.p.)给药。试验前 4 小时, 将黄体酮(0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油并皮下(s.c.)给药, 作为阳性对照。

化合物(1)剂量依赖性地(3mg/kg-10mg/kg)增加探查雄性刺激物所花费的时间的百分数, MED 为 10mg/kg(见图 1)。该剂量的作用类似于黄体酮(prog)的作用(* P <0.05, ** P <0.01 Kruskal-Wallis, 然后 Mann-Whitney 试验, 相对于载体)。

实施例 2

化合物(1)对雌性大鼠性感受性的影响

将卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g, 来源于 Charles River)6 个一组收养在颠倒的光照系统中, 光照:黑暗为 12 小时(7.00-19.00 时关灯)。卵巢切除术两周之后, 将它们用于性活动试验。实验开始至少 5 小时才进入黑暗期。

将化合物(1)溶解于 100% β -环糊精, 然后用盐水稀释至最终 50%的 2-羟丙基- β -环糊精溶液。以 10mg/kg 的剂量, 按 1ml/kg 的给药体积腹腔内(i.p.)给药。将喹来洛朗(6.25 μ g/kg)溶解于水并 s.c.给药, 作为阳性对照。试验前 10 48 小时, 将卵巢切除的大鼠(如上所述)皮下给药 5 μ g 溶解于玉米油的雌二醇苯甲酸酯。这是低剂量的雌激素, 其不在卵巢切除的雌性中重新建立性行为, 但却为刺激性行为的药理学药剂提供最小的激素背景。将雌性大鼠与一系列健壮的雄性大鼠放在一起并进行 10 次交配。

如前所述, 记录动物的脊柱前凸反应并表示为交配的百分数(即脊柱前凸商数, LQ)。LQ<20 的动物被认为是非感受性的, 并被归入研究中。在给用所述化合物之前对每个大鼠进行试验, 然后同样地在注射后进行试验。预处理的时限对于化合物(1)和载体(50% β -环糊精, i.p.)为 1 小时, 对于喹来洛朗为 90 分钟。

如图 2 所示, 单独给药喹来洛朗(6.25(g/kg, s.c.)显著地($P<0.01$)增加 LQ, 20 给药 90 分钟之后与给药以前的 LQ 相比(成对的 t 检验)。单独给药化合物(1)(10mg/kg, i.p.)对 LQ 同样具有显著的($P<0.05$)刺激作用, 给药 1 小时之后与给药之前 LQ 相比(成对的 t 检验)。

实施例 3

25 重复给药化合物(1)对雌性大鼠性本体感受性的影响

在本研究中, 我们已经研究了反复给药较高剂量的化合物(1)(15mg/kg)是否仍然导致对性本体感受性的刺激。

将卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g)5 个一组收养在颠倒的光照系统中, 光照:黑暗为 12 小时(5.00-17.00 时关灯)。卵巢切除术 30 两周之后, 将它们用于试验。试验之前 48 小时, 将动物给用雌二醇苯甲酸酯(5(g/0.1ml 于玉米油中, s.c.))。在第一天, 于试验前 4 小时, 将黄体酮

(0.5mg/0.1ml, 于玉米油中, s.c.)给药于一组, 作为阳性对照。试验之前 48 小时, 将动物给用雌二醇苯甲酸酯(5(g/0.1ml 于玉米油中, s.c.))。在第一天, 于试验前 4 小时, 将黄体酮(0.5mg/0.1ml, 于玉米油中, s.c.)给药于一组, 作为阳性对照。试验前 1 小时, 将 50% 2-羟丙基-(-环糊精中的化合物

5 (1)(15mg/kg, i.p.)给药。试验持续 10 分钟, 并如前述那样进行。从探查刺激动物花费的总时间中, 计算出探查雄性减去雌性刺激物所花费时间的百分数的差异。将动物在第 1 天和第 15 天进行试验。从第 2 天至第 14 天, 化合物(1)组每天接受化合物注射(15mg/kg, i.p.), 而载体和黄体酮组接受载体注射。在第 15 天, 再次进行如第 1 天所述的试验。

10 在第 1 天, 黄体酮和化合物(1)均对性本体感受性具有刺激作用, 与载体组相比(**P<0.01, ANOVA, 及随后的 Dunnett's 试验)。在第 15 天, 观察到类似的刺激作用(**P<0.01, ANOVA, 及随后的 Dunnett's 试验)(见图 3)。对于每个处理组, 在第 1 天和第 15 天的效果间未观察到显著性差异(成对的 t 检验)。黄体酮和化合物(1)在统计学上的效果是相似的。随着实验的进

15 行, 在各组之间不存在体重或一般行为的变化。

从该研究中我们可以得出结论: 与黄体酮相比化合物(1)(15mg/kg, i.p.)对雌性大鼠性本体感受性具有刺激作用, 以及这种作用不受化合物的重复给药的影响, 其看起来是耐受性良好的。

20 实施例 4

化合物(1)的脑室内给药对雌性大鼠性本体感受性的影响

为了阐述位置对这种效果的作用, 我们将化合物(1)进行了脑室内给药(i.c.v.)。

将卵巢切除的雌性大鼠(Sprague Dawley, 得自 Charles River, UK)进行

25 脑功能区定位植入(坐标为前囟后 0.89mm, 横向 1.3mm 和纵向 2.5mm), 采用不锈钢套管(6mm 长, O.D. 0.75mm), 并就地用牙科粘固剂固定。将动物 3 个一组进行圈养并返回颠倒的 12 小时白天:黑夜的光照系统(5.00-17.00 时关灯)。Mortem 之后, 确定套管的正确放置。大鼠在卵巢切除两周之后(植入套管一周之后)用于试验。实验在开始至少 5 小时才进入黑暗期。试验前

30 48 小时, 将动物给药 5 μ g 的雌二醇苯甲酸酯(s.c, 于玉米油中), 并在试验前第 2 连续日使动物在仪器中(在没有刺激动物的情况下)适应 10 分钟。按

如前所述进行 10 分钟的试验。从探查刺激动物花费的总时间中，计算出探查雄性减去雌性刺激物所花时间的百分数的差异。

将化合物(1)溶解于盐水中的 50%的 2-羟丙基- β -环糊精中。借助于泵，于 30 秒内将其 i.c.v.给药，以 10 μ l/分钟的流量提供。给药的体积为 5 μ l/大鼠。化合物在试验前 10 分钟给药。将黄体酮(0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油并在试验前 4 小时皮下给药(s.c.)，作为阳性对照。如图 4 所示，化合物(1)剂量依赖地(3-30 μ g/大鼠)增加探查雄性刺激物所花费的时间的百分数，MED 为 10 μ g。该剂量的作用类似于黄体酮的作用。

从该研究我们可以得出结论：化合物(1)对雌性大鼠的性本体感受性的影响是通过中枢介导的。

在图 4 中，条形代表探查雄性所花费的时间的百分数，减去探查雌性刺激物所花费的时间的百分数 $\pm$ SEM，(n=7-8 每组)。*P<0.05，**P<0.01，相对于载体(Kruskal-Wallis ANOVA 试验及随后的 Mann-Whitney's 试验)。

15 实施例 5

NMB 对雌性大鼠性本体感受性的抑制作用及化合物(1)对这种作用的拮抗作用

我们已经研究了 BB_1 激动剂神经介素 B(NMB)对雌性大鼠性本体感受性的可能的抑制作用。

20 将卵巢切除的大鼠(Sprague Dawley，得自 Charles River，UK)进行脑功能区定位植入(坐标为前囟后 0.89mm，横向 1.3mm 和纵向 2.5mm)，采用不锈钢套管(6mm 长，O.D. 0.75mm)，并就地用牙科粘固剂固定。将动物 3 个一组进行圈养并返回颠倒的 12 小时白天:黑夜的光照系统(5.00-17.00 时关灯)。Mortem 之后，确定套管的正确放置。大鼠在卵巢切除两周之后(植入套管一周之后)用于试验。实验开始至少 5 小时才进入黑暗期。试验前 48 小时，将动物给药 5 μ g 的雌二醇苯甲酸酯(OB)(s.c.，于玉米油中)，并在试验前第 2 连续日使动物在仪器中(在没有刺激动物的情况下)适应 10 分钟。按如前所述进行 10 分钟的试验。从探查刺激动物花费的总时间中，计算出探查雄性减去雌性刺激物所花时间的百分数的差异。

30 黄体酮(Prog, 0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油并于试验前 4 小时皮下给药(s.c.)，以诱导本体感受性行为。将化合物(1)(15mg/kg，i.p.)溶解于盐水中的

50%的 2-羟丙基- β -环糊精中并于 i.c.v. 给药 1 小时前给药。神经介素 B 得自 Bachem, UK。将其溶解于等渗的盐水中并在试验前 10 分钟借助于泵于 30 秒内 i.c.v. 给药, 以提供 10 μ l/分钟的流速。定量给药的体积为 5 μ l/大鼠。每个大鼠的接收总量为 100ng。

5 如图 5 所示, 与载体组相比, 黄体酮(Prog)增加探查雄性刺激物所花费的时间的百分数, 从而表明刺激本体感受性行为。NMB(100ng, i.c.v.)显著地降低黄体酮-处理的大鼠的本体感受性行为。而且, 用化合物(1)(充当拮抗剂)(15mg/kg, i.p.)预处理防止了 NMB 的抑制作用。然而, 用该剂量的化合物(1)所获得的阻断作用不是完全的。

10 从该研究我们可以得出结论: 激动剂对 BB_1 受体的刺激导致本体感受性行为的抑制。这种抑制作用可以通过拮抗剂例如化合物(1)来阻止。在图 5 中, 条形代表探查雄性所花费的时间的百分数, 减去探查雌性刺激物所花费的时间的百分数 $\pm$ SEM, (n=8-12 每组)。*** $P<0.001$ 相对于黄体酮(单向的 ANOVA, 随后的 Dunnett's 试验)。

15

实施例 6

化合物(1)对雌性性行为的影响不是通过性激素介导的证明

前述实施例已经表明化合物(1)(纳摩尔(nanomolar)亲和力“混合的” BB_1/BB_2 受体拮抗剂)对雌性大鼠的性活动, 性本体感受性和性感受性均具有剂量依赖的刺激作用。尽管在该研究中使用的动物是卵巢切除的, 并因此不可能期望发生响应化合物的类固醇激素释放, 但是肾上腺仍可能响应化合物(1)而分泌类固醇激素。如果情况是这样, 则通过黄体酮的刺激作用的介导对啮齿动物是相关的, 而对于灵长类则是相关的。在本研究中, 我们已经研究了蛙皮素受体拮抗剂化合物(1)对黄体酮分泌的作用。此外, 25 还分析了相同动物中的雌二醇和垂体激素(Luteinising 激素(LH), 卵泡刺激激素(FSH)和促乳激素)。

将卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g)6 个一组圈养于 12 小时白天:黑夜(7.00-19.00 时关灯)的颠倒的光照系统中。它们至少在卵巢切除之后两周用于实验。试验前 48 小时, 将动物给用雌二醇苯甲酸酯 30 (5 μ g/0.1ml, 于玉米油中, s.c.)。在采血前 4 小时, 将黄体酮(0.5mg/0.1ml, 于玉米油中, s.c.)给药, 作为阳性对照。在采血前 1 小时, 将 50% 2-羟丙

基- β -环糊精中的化合物(1)(3-10mg/kg, i.p.)给药。斩首后, 从躯干中采血。将其立即离心(3500r.p.m., 4°C, 5 分钟)并将血浆冷冻直至分析激素含量为止, 使用商业上可得到的放射性免疫法测定雌二醇, 黄体酮, LH, FSH 和促乳激素的试剂盒(^{125}I -标定的激素)。

- 5 单独给用黄体酮导致黄体酮血浆水平显著增加($P<0.05$), 及 LH 血浆水平显著降低($P<0.01$), 与注射了载体的动物相比(Kruskal-Wallis, 然后 Mann-Whitney 试验)。然而, 化合物(1) (3-10mg/kg, i.p.)对黄体酮的血浆水平无作用(图 6, 其中动物在试验前 48 小时用 $5\mu\text{g}$ 的雌二醇苯甲酸酯预处理, s.c.。它们分别在注射化合物(1)(3-10mg/kg, p.o.)或黄体酮(0.5mg/0.1ml, s.c.)
- 10 之后 1 小时或 4 小时进行试验。数值代表平均值 $\pm$ SEM, ($n=9$ 每组)。* $P<0.05$, 相对于载体(Kruskal-Wallis, 然后 Mann-Whitney 试验, 相对于载体)), 雌二醇(图 7, 其中动物在试验前 48 小时用 $5\mu\text{g}$ 的雌二醇苯甲酸酯预处理, s.c.。它们分别在注射化合物(1)(3-10mg/kg, p.o.)或黄体酮(0.5mg/0.1ml, s.c.)之后 1
- 15 小时或 4 小时进行试验。数值代表平均值 $\pm$ SEM, ($n=6-7$ 每组)), 促乳激素(图 8, 其中动物在试验前 48 小时用 $5\mu\text{g}$ 的雌二醇苯甲酸酯预处理, s.c.。它们分别在注射化合物(1)(3-10mg/kg, p.o.)或黄体酮(0.5mg/0.1ml, s.c.)之后 1 小
- 20 小时或 4 小时进行试验。数值代表平均值 $\pm$ SEM, ($n=10$ 每组)), LH(图 9, 其中动物在试验前 48 小时用 $5\mu\text{g}$ 的雌二醇苯甲酸酯预处理, s.c.。它们分别在注射化合物(1)(3-10mg/kg, p.o.)或黄体酮(0.5mg/0.1ml, s.c.)之后 1 小时或 4
- 25 小时进行试验。数值代表平均值 $\pm$ SEM, ($n=10$ 每组)。** $P<0.01$, 相对于载体(Kruskal-Wallis, 然后 Mann-Whitney 试验, 相对于载体)), 或者 FSH(图 10, 其中动物在试验前 48 小时用 $5\mu\text{g}$ 的雌二醇苯甲酸酯预处理, s.c.。它们分别在注射化合物(1)(3-10mg/kg, p.o.)或黄体酮(0.5mg/0.1ml, s.c.)之后 1 小时或 4 小时进行试验。数值代表平均值 $\pm$ SEM, ($n=10$ 每组)。
- 从该研究我们可以得出结论: 化合物(1)对性激素的分泌没有作用, 因而暗示该化合物对雌性性活动的作用一定是通过不同机制介导的, 可能涉及神经递质。

实施例 7

30 化合物(1)对正常的雄性大鼠性行为的影响

已经就化合物(1)对性充沛大鼠的性行为的潜在刺激作用进行了试验。

将 Sprague Dawley 雄性大鼠(Charles River, 英国)每笼 4 只大鼠保存在颠倒的光照系统(12:12 小时, 5.00 时关灯)中, 可以自由获得食物和水。通过与感受性雌性接触对大鼠进行预选, 时间间隔为 4 天, 即每个第三天(在出现之间具有 2 个完整的工作日)直到完成 6-7 天的基线测定。选择始终表现出旺盛的行为(射精反应时间<300 秒)的动物用于进一步的实验(n=24)。将动物随机分为三组。所有动物在拉丁方格(latin-square)图案之后都接受全部的三种药物处理。药物处理每周进行一次, 在药物处理之间进行基线试验(基线与试验日的间隔为 4 天)。用于处理的药物为化合物(1)(15mg/kg, 溶解于盐水中的 50% 的 2-羟丙基- β -环糊精中), 载体, 或者氟西汀(20mg/kg, 溶解于 100% 的 DMSO 中)。所有处理药物均在试验前 1 小时, 以 1ml/kg 的量 i.p. 给药。

对于所有性行为试验, 将雄性大鼠放置在观察台(直径 50-60cm)上, 开始 5 小时进入黑暗循环并在红色照明下观察。将雄性大鼠放置在观察台 3~4 分钟之后, 将感受性的雌性大鼠(卵巢切除的, 带有 7 mm 的雌二醇苯甲酸酯硅橡胶植入物)引入观察台并记录下列参数: 交配反应时间: 即引入雌性到第一次交配的时间(秒)。允许的最大时间为 15 分钟(900 秒), 如果在该时间未记录到交配, 则终止试验(图 11); 插入反应时间: 即引入雌性到第一次插入的时间(秒)(图 12); 交配次数: 达到射精。当射精未达到时, 不分析交配次数, 插入次数: 实现射精。当射精未达到时, 不分析插入次数(图 13 是交配+插入的次数), 射精反应时间: 从第一次插入到射精的时间(秒)。将最大时间设定为 30 分钟(1800 秒), 如果在该时间未实现射精则终止试验(图 14), 及不应期: 从射精到下一一次性活动的第一次交配的时间(秒)。在达到射精的那些动物中, 试验在不应期结束时终止, 其标志是下一一次性循环的第一次交配(图 15)。

对于所有性行为参数, 用一步法的 ANOVA 和随后的 Dunnett's t 试验比较处理组与载体组的每一天试验(*P<0.05, **P<0.01; n=15-16)。

与载体组相比, 氟西汀处理组的交配反应时间和插入反应时间显著增加。该组的射精反应时间和不应期也增加, 表明性能力下降, 性唤醒也下降。在实现射精所需的交配次数和插入次数中无任何变化。与氟西汀不同, 剂量表明可以刺激性功能障碍的雄性大鼠的化合物(1)对所研究的任何参数均无作用(见实施例 9)。从该研究我们可以得出结论: 化合物(1)对性旺盛的雄性的性行为没有任何作用。

实施例 8

化合物(1)对性功能障碍的雄性大鼠的性行为的影响

氟西汀导致人类射精延迟，性快感缺失和性欲的丧失(Crenshaw and Goldberg, 1996)。诱导大鼠的雄性性功能障碍模型，通过每日给用氟西汀，直到显著的对性行为(唤醒和射精)有害的作用建立为止。检查化合物(1)对这些患有性功能障碍的雄性大鼠的雄性性行为的潜在作用。将化合物(1)的作用与育亨宾的作用相比。临床前及临床研究表明，育亨宾可以有效地治疗 SSRI 引起的性副作用(Hollander, E., McCarley, A. (1993) J. Clin. Psychiatry 53:207-209. and Jacobsen)。

将 Sprague Dawley 雄性大鼠(Charles River, 英国)每笼 4 只大鼠保存在颠倒的光照系统(12:12 小时，5.00 时关灯)中，可以自由获得食物和水。通过与发情雌性接触对大鼠进行预选，时间间隔为 4 天，即每个第三天(在出现之间具有 2 个完整的工作日)直到完成 6-7 天的基线测定。选择始终表现出旺盛的行为(射精反应时间<300 秒)的动物用于进一步的实验。将动物用载体(水)或氟西汀(20mg/kg, i.p., 给药体积 2ml/kg)连续处理 3 天。在第 4 天，用水处理的动物接受载体(载体+载体)，用氟西汀处理的动物接受下列三种处理药物中的一种：化合物(1)(15mg/kg, 溶解于盐水中的 50%的 2-羟丙基-β-环糊精中)，载体(环糊精)，或者育亨宾(2mg/kg, 溶解于水)。所有处理药物均在试验前 1 小时，以 1ml/kg 的量给药。

对于所有性行为试验，将雄性大鼠放置在观察台(直径 50-60cm)，开始 5 小时进入黑暗循环并在红色照明下观察。将雄性大鼠放置在观察台 3~4 分钟之后，将感受性的雌性大鼠(卵巢切除的，带有 7 mm 的雌二醇苯甲酸酯硅橡胶植入物)引入观察台并记录下列参数：交配反应时间：即引入雌性到第一次交配的时间(秒)。允许的最大时间为 15 分钟(900 秒)，如果在该时间未记录到交配，则终止试验(图 16)；射精反应时间：从第一次插入到射精的时间(秒)。将最大时间设定为 30 分钟(1800 秒)，如果在该时间未实现射精则终止试验(图 17)，并计算雄性大鼠在 30 分钟内实现射精的百分数(图 18)。

用一步法 ANOVA 及随后的 Dunnett's t 检验比较氟西汀+载体组与其它组的交配和射精反应时间。利用 Chi-平方检验及随后的 Fisher 检验分析动

物射精的百分数(*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$; $n = 15-19$)。

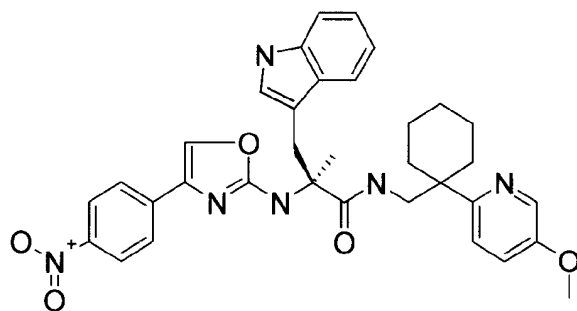
与载体+载体组相比，氟西汀-处理组的交配反应时间和射精反应时间显著增加，表明这些组中的性欲下降，性能力也下降。在氟西汀-处理组中，动物射精的次数显著降低，表明性快感缺失。化合物(1)显著地降低交配和射精反应时间，同时增加通过氟西汀处理而患有性功能障碍的动物的射精百分数，以至于达到可与正常动物(veh+veh)相比的程度。育亨宾遵循类似的趋势，但是没有达到显著的程度。

从该研究我们可以得出结论：化合物(1)对患有性功能障碍的雄性大鼠的性行为，在性欲、性能力和性快感缺失水平上具有刺激作用。

10

实施例9

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺



1.0℃下，于1小时内向搅拌着的氯甲酸对硝基苯基酯(9.27g, 46mmol)的THF(200ml)溶液中滴加H-(S)- α MeTrp-OMe(1a)(10.7g, 46 mmol)和三乙胺(6.4ml, 46mmol)的THF (100ml)溶液。另外加入氨水(15ml)之后，在室温下继续搅拌30分钟。10分钟之后，IR显示出1732和1660 cm^{-1} 谱带。减压除去THF，并将剩余物溶解于EtOAc中，用1N HCl(x2)， Na_2CO_3 溶液洗涤(直至强烈的黄色减退为止，~x8)，盐水洗涤，并干燥(MgSO_4)。在减压下除去溶剂，得到2a，其为泡沫状物(10.3g, 82%): MS m/e (AP+): 276.16 (M^+ + H, 100%);

MS m/e (AP-): 274.11 (M^- -H, 100%);

IR (薄片): 3383, 1724, 1657, 1600, 1539, 1456, 1374, 1256, 1108,

743 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.70 (3H, s), 3.38 (1H, d, J =14.7 Hz), 3.59 (1H, d, J =14.7 Hz), 3.71 (3H, s), 4.22 (2H, s), 5.16 (1H, s), 6.99 (1H, d, J =2.2 Hz), 7.08-7.20 (2H, m), 7.34 (1H, d, J =8.1 Hz), 7.59 (1H, d, J =7.8 Hz), 8.09 (1H, s)。

2. 将脲(2a)(6.4g, 23mmol)和 2-溴-1-(4-硝基-苯基)-乙酮(6.0g, 23mmol)搅拌于甲苯(500ml)/二噁烷(100ml)中并保持回流 30 小时, 其后减压除去溶剂, 剩余物通过色谱进行纯化, 使用 90g Biotage 柱。10% EtOAc 的庚烷溶液洗脱溴化物原料。20% EtOAc 洗脱所需产物。在减压下除去溶剂, 得到 3a, 其为泡沫状物(840mg, 9%):

MS m/e (ES^+): 420.56 (M^+ , 100%);

10 IR (薄片): 3394, 1732, 1632, 1605, 1574, 1515, 1456, 1334, 1253, 1210, 1108, 1072, 940, 854, 734 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.91 (3H, s), 3.46 (1H, d, J =14.6 Hz), 3.69 (3H, s), 3.78 (1H, d, J =14.6 Hz), 5.57 (1H, s), 6.89 (1H, d, J =2.2 Hz), 7.03-7.08 (1H, m), 7.14-7.18 (1H, m), 7.34 (1H, d, J =8.1 Hz), 7.41 (1H, d, J =8.1 Hz), 7.63 (1H, s),
15 7.85 (2H, d, J =9.0 Hz), 8.05 (1H, s), 8.24 (2H, d, J =8.6 Hz)。

3. 将酯(3a)(840mg, 2mmol)溶解于二噁烷(50ml)并加入 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (336mg, 8mmol)的 H_2O (25ml)溶液。将混合物剧烈搅拌过夜, 然后用 1M HCl (8ml, 8mmol)中和。减压下除去大部分二噁烷使产物结晶, 过滤, 用水洗涤
20 并减压干燥得到纯的 4a (668mg, 82%):

MS m/e (ES^+): 407 ($\text{M}^+ + \text{H}$);

IR (薄片): 1633 cm^{-1} ;

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ = 1.49 (3H, s), 3.30-3.35 (1H, m, masked by H_2O), 3.59 (1H, d, J =14.7 Hz), 6.86-6.90 (1H, m), 6.99-7.03 (2H, m), 7.30-7.36 (2H, m),
25 7.48 (1H, s), 7.94 (2H, d, J =9.0 Hz), 8.27-8.30 (3H, m), 10.88 (1H, s), (CO_2H 未发现)。

4. 将酸(4a)(1.148g, 2.8mmol), O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲鎓(uronium)六氟磷酸盐(HBTU, 1.06g, 2.8mmol), 及 N,N-二异丙基乙胺(DIPEA, 490 μl , 2.8mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA
30 (490 μl , 2.8mmol)和[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(见 WO 98/07718,

678mg, 3.1mmol)。HPLC 指示反应在 1 小时内完成。减压除去溶剂并将剩余物溶解于 EtOAc 中。有机层用盐水, 饱和的 NaHCO_3 (x3), 盐水洗涤并干燥(MgSO_4), 其后减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 使用 RP 二氧化硅, 并用 65% 的 MeOH 的 H_2O 溶液。蒸发纯净的馏分, 得到所需的产物, 其为无定形的固体(1.12g, 66%):

MPt: 100-105 °C;

MS m/e (ES⁺): 609.63 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%);

IR (薄片): 3359, 3272, 3054, 2932, 2857, 1628, 1606, 1573, 1515, 1488, 1393, 1336, 1268, 1232, 1181, 1150, 1131, 1097, 1028, 1012, 962, 939, 900, 853, 831, 737 cm^{-1} ;

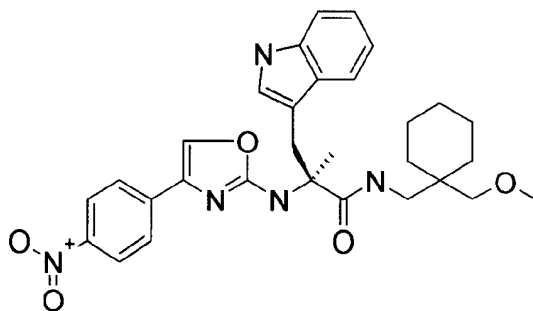
^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.10-1.60 (8H, m), 1.72 (3H, s), 1.95-2.02 (2H, m), 3.31-3.42 (2H, m), 3.41 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.50 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.69 (3H, s), 5.34 (1H, s), 6.90-6.97 (2H, m), 7.04-7.09 (2H, m), 7.14-7.19 (1H, m), 7.33 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.46 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.54 (1H, s), 7.77 (2H, d, $J=8.8$ Hz), 8.00 (1H, d, $J=2.9$ Hz), 8.04 (1H, s), 8.21 (2H, d, $J=8.8$ Hz); (酰胺被 CHCl_3 掩盖)

HPLC A: Rt. 11.86 分钟, 99.8/100%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 14.32 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm。

实施例10

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-N-(1-甲氧基甲基-环己基甲基)-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺



由中间产物 4a 和中间产物 13 合成上述化合物, 采用与实施例 9 相同的方法。酸(4a) (203mg, 0.5mmol), HBTU(190mg, 0.5mmol), 及 DIPEA (87 μ l, 0.5mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (87 μ l x 2, 1.0mmol)和中间产物 13 (94mg, 0.5mmol, 方案 6)。4 小时之后, 减压除去溶剂并将剩余物溶解在 EtOAc 中。有机层用盐水, 饱和的 NaHCO_3 (x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO_4)并在减压除去溶剂。将剩余物在甲醇中加热至 60 $^\circ\text{C}$ 并滤除产物。减压干燥, 得到所需产物, 其为黄色的结晶固体(214mg, 78%):

MPt: 189-192 $^\circ\text{C}$;

MS m/e (ES $^+$): 546.49 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%);

10 IR (薄片): 3285, 2928, 2849, 1637, 1604, 1516, 1453, 1334, 1260, 1108, 1077, 860, 743, 729 cm^{-1} ;

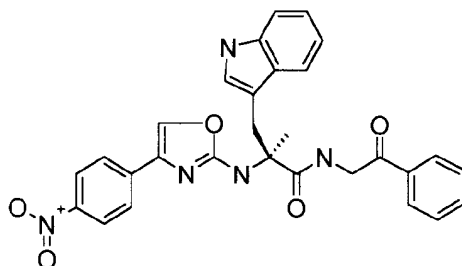
^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ = 1.10-1.35 (10H, m), 1.44 (3H, s), 2.91-3.01 (3H, m), 3.06-3.12 (1H, m), 3.07 (3H, s), 3.26-3.31 (1H, m), 3.64 (1H, d, $J=14.4$ Hz), 6.87-6.93 (2H, m), 7.01 (1H, t, $J=7.4$ Hz), 7.29-7.37 (3H, m), 7.44 (1H, s), 7.94
15 (2H, d, $J=9.0$ Hz), 8.26 (2H, d, $J=8.8$ Hz), 8.34 (1H, s), 10.84 (1H, s);

HPLC A: Rt. 17.07 分钟, 100/100%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm;

20 HPLC B: Rt. 14.35 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm。

实施例11

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-N-(2-氧代-2-苯基-乙基)-丙酰胺。



25 由中间产物 4a 合成上述化合物, 采用与实施例 9 相同的方法。酸(4a)

(203mg, 0.5mmol), HBTU(190mg, 0.5mmol), 及 DIPEA (87 μ l, 0.5mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (87 μ l, 0.5mmol)和 2-氨基-1-苯基-乙酮(103mg, 0.6mmol)。4 小时之后, 减压除去溶剂并将剩余物溶解在 EtOAc 中, 用盐水, 饱和的 NaHCO_3 (x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO_4)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 使用 NP 20g Mega Bond Elut 柱及 40%乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。蒸发纯净的馏分, 得到所需的产物, 其为黄色的无定形固体(170mg, 65%):

MPt: 80-90 $^{\circ}\text{C}$;

MS m/e (AP+): 525.83 (16%), 524.44 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%);

10 IR (薄片): 3396, 3059, 2983, 2932, 1694, 1628, 1605, 1575, 1514, 1449, 1336, 1284, 1264, 1225, 1181, 1154, 1096, 1072, 1010, 1001, 940, 853, 737 cm^{-1} ;

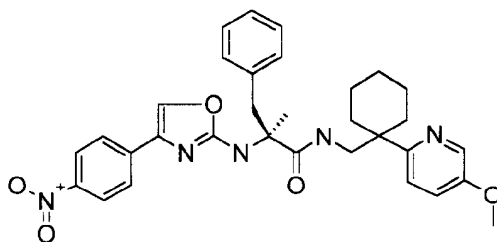
^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ = 1.50 (3H, s), 3.39 (1H, d, $J=14.7$ Hz), 3.64 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 4.53 (1H, d.d, $J=18.1$ and 5.4 Hz), 4.66 (1H, d.d, $J=18.1$ and 5.5 Hz), 6.87 (1H, t, $J=7.4$ Hz), 6.95 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 7.00 (1H, t, $J=7.4$ Hz), 7.30
15 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.34 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.41 (1H, s), 7.50-7.55 (2H, m), 7.62-7.67 (1H,m), 7.94-7.99 (4H, m), 8.24 (1H, t, $J=5.4$ Hz), 8.27 (2H, d, $J=9.0$ Hz), 8.31 (1H, s), 10.86 (1H, s);

HPLC A: Rt. 20.83 分钟, 98.3/99.6%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 25 分钟内, 速度 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M,
20 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 6.82 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm。

实施例12

25 (S)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-3-苯基-丙酰胺



由 1b 和 4b 合成上述化合物,采用与实施例 9 相同的方法。酸(4b) (120mg, 0.33mmol), HBTU(124mg, 0.33mmol), 及 DIPEA (114 μ l, 0.66mmol), 及[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(86mg, 0.4mmol)在 DMF(4ml)中搅拌 18 小时。减压除去溶剂并将剩余物溶解在 EtOAc 中。有机层用盐水, 饱和的 NaHCO₃ (x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 NP 二氧化硅与 10-80%的乙酸乙酯的庚烷溶液。蒸发纯净的馏分, 得到所需的化合物, 其为黄色的无定形固体(90mg, 49%):

MS m/e (AP⁺): 570.23 (M⁺ + H, 100%);

IR (薄片): 3363, 2930, 2856, 1658, 1651, 1628, 1574, 1515, 1488, 1334, 1268, 1232, 1073, 1030, 938, 852 cm⁻¹;

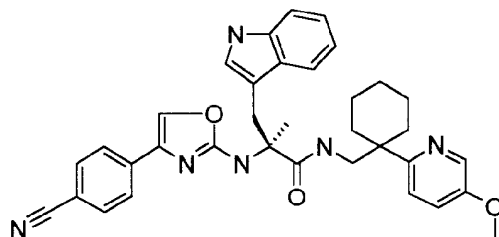
¹H NMR (DMSO-d₆): δ = 0.94-1.46 (11H, m), 1.98-2.10 (2H, m), 3.04-3.14 (2H, m), 3.25-3.32 (1H, m), 3.57 (1H, d, J=13.6 Hz), 3.73 (3H, s), 6.95-7.00 (3H, m), 7.10-7.24 (5H, m), 7.44 (1H, s), 7.93 (2H, d, J=8.8 Hz), 8.14 (1H, d, J=2.8 Hz), 8.27 (2H, d, J=9.2 Hz), 8.36 (1H, s);

HPLC A: Rt. 5.49 分钟, 99.76%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 7 分钟内,速度 1.5 ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 150x4.6mm 3 μ M 在 40 °C, 200-300 nm;

HPLC B: Rt. 5.72 分钟, 99.46%纯度, 20-90% CH₃CN/Tris (1mM)在 7 分钟内, 速度 2ml 分钟⁻¹, Prodigy 苯基-乙基, 100x4.6mm 5 μ M 在 30 °C, 200-300 nm。

实施例13

(S)-2-[4-(4-氟基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-丙酰胺



由 2a 通过方案 2 概述的 6a 合成上述化合物, 采用类似于实施例 9 的方法。将酸(6a)(309mg, 0.8mmol), HBTU(303mg, 0.8mmol), DIPEA (140 μ l, 0.8mmol)在 DMF(5ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (140 μ l, 0.8mmol)和 [1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(WO 98/07718)(185mg, 0.84mmol)。

- 5 HPLC 指示反应在 1 小时内完成。减压除去溶剂并将剩余物溶解在 EtOAc 中。用盐水, 饱和的 NaHCO_3 (x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO_4)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 RP 二氧化硅与 65%的 MeOH 的 H_2O 溶液。蒸发纯净的馏分, 得到实施例 13 化合物, 其为白色的无定形固体 (320mg, 68%):

10 MPt: 105-108 $^{\circ}\text{C}$;

MS m/e (ES^+): 589.32 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%), 590.18 (62%);

IR (薄片): 3355, 2932, 2857, 2225, 1628, 1572, 1521, 1489, 1456, 1328, 1269, 1232, 1096, 1072, 1029, 938, 844, 741 cm^{-1} ;

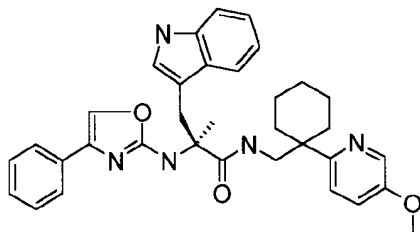
^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.20-1.60 (8H, m), 1.70 (3H, s), 1.93-2.03 (2H, m),
15 3.30-3.52 (4H, m), 3.68 (3H, s), 5.30 (1H, s), 6.89 (1H, d, $J=2.4$ Hz), 6.94 (1H, d, $J=8.8$ and 2.9 Hz), 7.03-7.09 (2H, m), 7.14-7.19 (1H, m), 7.20-7.25 (1H, m), 7.33 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.46 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.50 (1H, s), 7.63 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 7.72 (2H, d, $J=8.3$ Hz); 8.00 (1H, d, $J=2.9$ Hz), 8.05 (1H, s);

HPLC A: Rt. 11.63 分钟, 97.7/100%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中
20 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 9.20 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm。

25 实施例14

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-(4-苯基-噁唑-2-基氨基)-丙酰胺



由 2a 通过方案 2 概述的 6b 合成上述化合物, 采用类似于实施例 9 的
 5 方法。将酸(6b) (57mg, 0.148mmol), HBTU(56mg, 0.148mmol), DIPEA (26 μ l, 0.148mmol)在 DMF(5ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (26 μ l, 0.148mmol)和 [1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(见 WO 98/07718, 34mg, 0.148mmol)。HPLC 指示反应在 2 小时内完成。减压除去溶剂, 剩余物溶解于 EtOAc 中, 用盐水, 饱和的 NaHCO_3 (x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO_4)并在
 10 减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 RP 二氧化硅, 并用 70% 的 MeOH 的 H_2O 溶液作为洗脱剂。再次纯化, 采用 NP 8g Biotage 柱, 并用 45%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂, 得到所需的产物, 其为玻璃状物(20mg, 24%):

MPt: 85-90 $^{\circ}\text{C}$;

15 MS m/e (ES⁺): 564.06 (M^+ , 87%), 564.96 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%);

IR (薄片): 3289, 2931, 2857, 1627, 1569, 1520, 1488, 1456, 1337, 1267, 1233, 1072, 1072, 1030, 939, 739 cm^{-1} ;

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ = 0.95-1.45 (11H, m), 2.00-2.10 (2H, m), 3.10-3.25 (2H, m), 3.21 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.59 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.71 (3H, s), 6.84-7.14 (7H, m), 7.24-7.40 (5H, m), 7.70 (2H, d, $J=7.6$ Hz), 8.05 (1H, s), 8.15 (1H, d, $J=2.9$ Hz), 10.82 (1H, s);

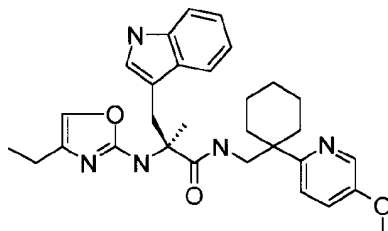
HPLC A: Rt. 12.01 分钟, 96.8/95.3%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

25 HPLC B: Rt. 17.27 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9,

1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm。

实施例15

(S)-2-(4-乙基-噁唑-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-丙酰胺



由 2a 通过方案 2 概述的 6c 合成上述化合物, 采用类似于实施例 9 的方法。将酸(6c) (188mg, 0.6mmol), HBTU(228mg, 0.6mmol), 及 DIPEA (105 μ l, 0.6mmol) 在 DMF(10ml) 中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (105 μ l, 0.6mmol) 和 [1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(见 WO 98/07718, 150mg, 0.65mmol)。HPLC 指示反应在 4 小时内完成。减压除去溶剂并将剩余物溶解在 EtOAc 中, 用盐水, 饱和的 NaHCO₃(x3), 盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 RP 二氧化硅与 65% 的 MeOH 的 H₂O 溶液。纯化产物, 利用 20g Mega Bond Elut 二氧化硅柱与 45% 的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。蒸发纯净的馏分, 得到上述化合物, 其为玻璃状物(30mg, 10%):

MPt: 60-65 °C;

MS m/e (ES⁺): 516.24 (M⁺ + H, 47%), 517.01 (100%), 538.10 (M⁺ + Na, 25%);

IR (薄片): 3272, 3054, 2931, 2856, 1651, 1622, 1596, 1573, 1520, 1489, 1457, 1358, 1268, 1232, 1206, 1131, 1083, 1028, 949, 830, 740 cm⁻¹;

¹H NMR (DMSO-d₆): δ = 1.10-1.50 (8H, m), 1.11 (3H, t, J=7.4 Hz), 1.29 (3H, s), 2.05-2.15 (2H, m), 2.28-2.34 (2H, m), 3.08-3.18 (3H, m), 3.48 (1H, d, J=14.4 Hz), 3.79 (3H, s), 6.80-6.90 (3H, m), 6.97-7.04 (2H, m), 7.10-7.20 (3H, m), 7.27-7.30 (2H, m), 8.17 (1H, d, J=2.9 Hz), 10.80 (1H, s);

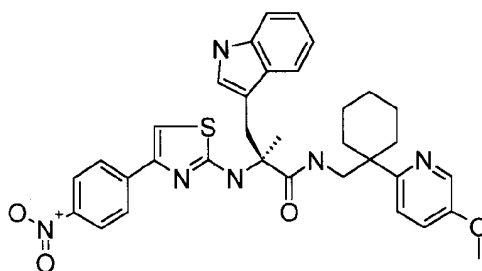
LCMS: Rt. 1.36 分钟, 100%纯度, 5-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1% Formic acid) 在 2 分钟内, 速度 4 ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 50x4.6mm 5 μ M,

215 nm, MS m/e (ES+) 515.95 (100%);

HPLC B: Rt. 12.29 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1 ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

5 实施例16

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噻唑-2-基氨基]-丙酰胺



利用方案3所述之一步法合成上述化合物。将 H-S-α MeTrp-OH (中间产物 7) (437mg, 2mmol), 2-氯-4-(4-硝基-苯基)-噻唑(见 Peet, Norton P.; Sunder, Shyam.报导的 3-(4-硝基苯基)噻唑并[2,3-c][1,2,4]三氮杂庚因制备的重新研究, J. Heterocycl. Chem. (1986), 23(2), 593-5; 481mg, 2mmol), 碘化铜(I)(38mg, 0.2mmol), 及 K₂CO₃(415mg, 3mmol)于 DMF(12ml)中的悬浮液在氮气氛下于 130℃加热 12 小时。将反应混合物冷却至室温然后加入 HBTU(759mg, 2mmol)和[1-(5-甲氧基-2-吡啶基)环己基]-甲胺(见 WO 98/07718; 441mg, 2mmol)。将混合物搅拌过夜, 然后真空浓缩, 其后将剩余物分配于水(20ml)与二氯甲烷(30ml)之间。分出有机相, 并通过二氧化硅(3x12cm)过滤, 使用 500ml 的二氯甲烷及随后的 500ml 二氯甲烷-乙醚(1:1)。减压浓缩含产物的馏分。剩余物吸附在 3.5g 二氧化硅上并通过色谱进行纯化(3x11cm), 采用庚烷-乙酸乙酯(1:1.1)。再次纯化产物, 采用 RP 色谱(Biotage KP-C18-HS Flash 12M, 15ml. 分钟⁻¹, 60-100%甲醇的水溶液)。减压浓缩得到所需的化合物, 其为淡黄色的无定形固体(27mg, 2%);

MPt: 110-114℃;

MS m/e (AP+): 624.88 (M⁺, 100%), 625.70 (M⁺ + H, 52%);

IR (薄片): 3385, 3279, 2931, 2855, 1654, 1595, 1542, 1509, 1456, 1341, 1268, 1231, 1108, 1058, 908, 844, 731 cm⁻¹;

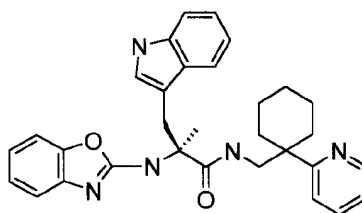
^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.15-1.55 (8H, m), 1.71 (3H, s), 1.90-2.00 (2H, m), 3.16-3.42 (2H, m), 3.46 (1H, d, $J=14.9$ Hz), 3.60 (1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.70 (3H, s), 5.51 (1H, s), 6.89-6.93 (3H, m), 6.98 (1H, d, $J=8.8$ Hz), 7.05-7.10 (1H, m), 7.15-7.25 (2H, m), 7.34 (1H, d, $J=8.3$ Hz), 7.47 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.90 (2H, d, $J=9.0$ Hz), 7.98 (1H, d, $J=2.9$ Hz), 9.05 (1H, s), 8.21 (2H, d, $J=8.8$ Hz);

HPLC A: Rt. 12.30 分钟, 99.4%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 200-300 nm;

HPLC B: Rt. 15.38 分钟, 99.5%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 200-300 nm。

实施例17

(S)-2-(苯并噁唑-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺



1. 将下列试剂按所列顺序混合: 中间产物 7 (545mg, 2.5mmol), 2-氯苯并噁唑(384mg, 2.5mmol), 碳酸钾(346mg, 2.5mmol), 苄基三乙基氯化铵 (TEBA, 114mg, 0.5mmol), 三乙胺(1.04ml, 7.5mmol), DMF(12.5ml), 去氧水 (1.25ml), 碘化铜(I)(24mg, 0.125mmol), 反式二氯二(三邻甲苯基膦)合钨(II) (99mg, 0.125mmol)。在氮气氛下于 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 24 小时之后, 减压除去 DMF。剩余物溶解于乙酸乙酯/水中, 水相用柠檬酸酸化至 pH 6-6.5。用三份乙酸乙酯进一步萃取水相。将合并的有机层干燥(MgSO_4)并减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 10g NP 二氧化硅与 0-100%的乙酸乙酯的庚烷溶液。用二氯甲烷结晶, 得到(S)-2-(苯并噁唑-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-丙酸(245mg, 29%)。MS m/e (ES^+) 335.97 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%), 336.69 (85%)。

2. 将上述丙酸(234mg, 0.7mmol), HBTU(265mg, 0.7mmol), 及 DIPEA (122 μ l, 0.7mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟, 然后加入 DIPEA (122 μ l, 0.7mmol)和[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 140mg, 0.74mmol)。4 小时之后, 在环境温度下减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 采用 NP 二氧化硅, 并用 50%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。蒸发纯净的馏分, 得到所需的化合物, 其为精细的针状物(44mg, 3%):

MPt: 198-200 °C;

MS m/e (ES⁺): 508.59 (100%, M⁺ + H), 509.92 (10%);

10 IR (薄片): 3381, 3222, 3048, 2929, 2856, 1635, 1581, 1552, 1519, 1458, 1353, 1241, 1096, 742 cm⁻¹;

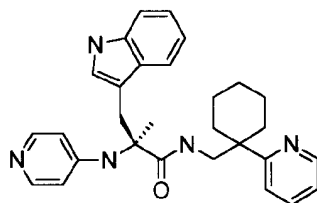
¹H NMR (CDCl₃): δ = 1.20–1.60 (8H, m), 1.76 (3H, s), 1.95–2.05 (2H, m), 3.34 (1H, d.d, J=13.2 and 4.9 Hz), 3.45 (1H, d.d, J=13.2 and 5.6 Hz), 3.50 (2H, s), 5.67 (1H, s), 6.78–6.82 (1H, m), 6.89 (1H, d, J=2.2 Hz), 6.99–7.35 (10H, m), 7.43
15 (1H, d, J=8.1 Hz), 8.01 (1H, s), 8.24 (1H, d, J=4.6 Hz);

HPLC A: Rt. 10.54 分钟, 100/100%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

20 HPLC B: Rt. 10.67 分钟, 100/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

实施例18

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-(吡啶-4-基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺



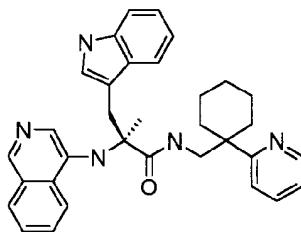
25 以同样的比例, 采用类似于实施例17的方法制备上述化合物。

1. 重复实施例17的方法, 只是使用4-溴吡啶盐酸盐(486mg, 2.5mmol)。

2. 将步骤1的酸(30mg, 0.1mmol), HBTU(38mg, 0.1mmol), 及DIPEA (18 μ l, 0.1mmol)在DMF(10ml)中搅拌5分钟, 然后加入DIPEA (18 μ l, 0.1mmol)和[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 19mg, 0.1mmol)。在环境温度下2小时之后减压除去溶剂。剩余物溶解于乙酸乙酯, 并用碳酸氢钠溶液(x2), 盐水洗涤并干燥(MgSO_4)。减压除去溶剂。粗产物通过色谱进行纯化, 使用10g ISCO Redisep柱, 用乙酸乙酯作为洗脱剂。再次纯化, 采用20g RP-C18与70%的甲醇的水溶液, 然后蒸发得到所需的结晶状产物(6mg, 13%):
- MPt: 180-195 $^{\circ}\text{C}$;
- MS m/e (AP^+): 468.12 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%), 469.59 ($\text{M}^+ + 2\text{H}$, 20%);
- 10 MS m/e (AP^-): 467.56 (M^- , 45%), 466.60 ($\text{M}^- - \text{H}$, 100%), 465.64 ($\text{M}^- - 2\text{H}$, 88%);
- IR (薄片): 3316, 2930, 1651, 1602, 1515, 1430, 1106, 997, 816, 741 cm^{-1} ;
- NMR (CDCl_3): δ = 1.25–1.70 (8H, m), 1.46 (3H, s), 2.00–2.10 (2H, m), 3.27 (1H, d, $J=14.9$ Hz), 3.30–3.48 (2H, m), 3.36 (1H, d, $J=14.9$ Hz), 4.43 (1H, s),
- 15 6.22 (2H, d, $J=5.6$ Hz), 6.85 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 6.89–6.93 (1H, m), 7.11–7.37 (5H, m), 7.46–7.54 (2H, m), 8.08–8.13 (4H, m);
- HPLC A: Rt. 7.21 分钟, 96.1/96.5%纯度, 20-100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm;
- 20 HPLC B: Rt. 6.02 分钟, 99.1/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟 $^{-1}$, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μM , 215 和 254 nm。

实施例19

- (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(异喹啉-4-基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺
- 25



以相同的比例，采用类似于实施例 17 的方法制备实施例 19 化合物。

1. 按照实施例 17 的方法，只是使用 4-溴异喹啉 (520mg, 2.5mmol)。

2. 将步骤 1 的酸(40mg, 0.12mmol)，HBTU(46mg, 0.12mmol)，及 DIPEA (21 μ l, 0.12mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟，然后加入 DIPEA (21 μ l, 0.12mmol)和[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 23mg, 0.12mmol)。2 小时之后，在环境温度下减压除去溶剂。剩余物溶解于乙酸乙酯中并用碳酸氢钠溶液(x2)和盐水洗涤并干燥(MgSO₄)。减压除去溶剂。粗产物通过色谱进行纯化，使用 10g ISCO Redisep 柱，用 80%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。再次纯化，使用 20g RP-C18 与 70%甲醇的水溶液，然后蒸发，
10 得到所需的产物，其为玻璃状物(9mg, 14%):

MPt: 98-101 °C;

MS m/e (AP⁺): 518.28 (100%, M⁺ + H), 517.40 (M⁺, 50%);

MS m/e (AP⁻): 516.53 (75%, M⁻), 515.63 (100%, M⁻-H);

IR (薄片): 3385, 3278, 3052, 2927, 2849, 1651, 1585, 1520, 1455, 1403,
15 1343, 781, 740 cm⁻¹;

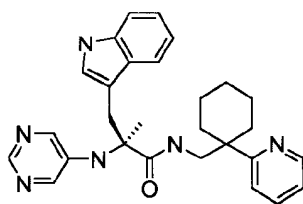
NMR (CDCl₃): δ = 1.20–1.65 (11H, m), 1.93–2.10 (2H, m), 3.35 (1H, d, J=14.6Hz), 3.39–3.52 (2H, m), 3.48 (1H, d, J=14.9 Hz), 4.62 (1H, s), 6.55–6.59 (1H, m), 6.90 (1H, d, J=2.0 Hz), 7.00 (1H, d, J=8.1 Hz), 7.17–7.28 (4H, m), 7.37–7.55 (4H, m), 7.62 (1H, s), 7.70 (1H, d, J=7.6 Hz), 7.74–7.76 (1H, m), 7.87
20 (1H, d, J=8.1 Hz), 8.15 (1H, s), 8.63 (1H, s)

HPLC A: Rt. 7.52 分钟，100/100%纯度，20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内，速度 1ml 分钟⁻¹，Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 8.33 分钟，99.7/100%纯度，80:20 甲醇/Tris 缓冲液，pH9, 1ml
25 分钟⁻¹，Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

实施例20

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(嘧啶-5-基氨基)-丙酰胺



以相同的比例，采用类似于实施例 17 的方法制备上述化合物。

1. 采用实施例17的方法，只是使用5-溴嘧啶(397mg, 2.5mmol)。

2. 将步骤 1 的酸(150mg, 0.5mmol)，HBTU(190mg, 0.5mmol)，及 DIPEA (87 μ l, 0.5mmol)在 DMF(10ml)中搅拌 5 分钟，然后加入 DIPEA (87 μ l, 0.5mmol)和[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 95mg, 0.5mmol)。2 小时之后，在环境温度下减压除去溶剂。剩余物溶解于乙酸乙酯并用碳酸氢钠溶液(x2)和盐水洗涤并干燥(MgSO₄)。减压除去溶剂。粗产物通过色谱进行纯化，使用 10g ISCO Redisep 柱，用 90%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。在减压下除去溶剂，得到所需的产物，其为泡沫状物(135mg, 58%):

10 MPT: 95-98 °C;

MS m/e (AP⁺): 470.60 (25%), 469.58 (M⁺ +H, 100%), 468.77 (M⁺, 92%);

MS m/e (AP⁻): 467.60 (M⁻-H, 70%), 466.85 (100%);

IR (薄片): 3291, 3052, 2931, 2857, 1651, 1575, 1519, 1470, 1455, 1427, 1357, 1306, 1265, 1237, 1194, 1156, 1106, 1010, 848, 788, 739 cm⁻¹;

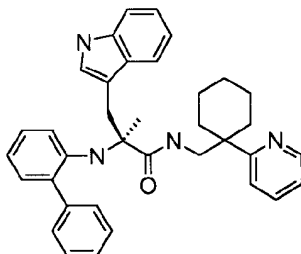
15 NMR (CDCl₃): δ = 1.20–1.65 (8H, m), 1.48 (3H, s), 2.00–2.10 (2H, m), 3.24–3.48 (4H, m), 4.14 (1H, s), 6.88–6.92 (2H, m), 7.13–7.24 (3H, m), 7.37 (1H, d, J=8.1 Hz), 7.48–7.55 (3H, m), 7.86 (2H, s), 8.08–8.10 (1H, m), 8.16 (1H, s), 8.57 (1H, s);

20 HPLC A: Rt. 8.94 分钟，99.3/99.4%纯度，20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内，速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 5.76 分钟，95.1/98.7%纯度，80:20 甲醇/Tris 缓冲液，pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm。

25 实施例21

(S)-2-(联苯基-2-基氨基)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺



以相同的比例，采用类似于实施例17的方法制备上述化合物。

1. 按照实施例18的方法，只是使用2-溴联苯(583mg, 2.5mmols)。
- 5 2. 将步骤1的酸(350mg, 0.95mmol), HBTU(400mg, 1mmol), NEt₃ (0.5ml, 3.5mmol), 及 1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 200mg, 1mmol)于DMF(15ml)中搅拌。1 小时之后，在环境温度下将反应混合物用乙酸乙酯(100ml)稀释，用碳酸氢钠溶液(x2)洗涤并干燥(MgSO₄)。减压除去溶剂。粗产物通过色谱进行纯化，使用 0-50%的乙酸乙酯的庚烷溶液及随后 0-30%的二氯甲烷于乙醚中作为洗脱剂。在减压下除去溶剂，得到所需的产物，其为泡沫状物(98mg, 19%，步骤 2):

MS m/e (AP⁺): 565 (M⁺ + Na, 100%), 564 (80%), 542 (M⁺, 30%)

IR (KBr disc): 3404, 2928, 2855, 1650, 1584, 1508, 1489, 1458, 1432 cm⁻¹;

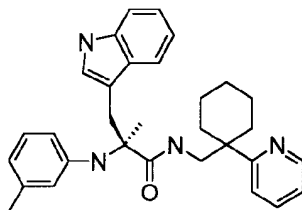
- 15 NMR (DMSO-d₆): δ = 1.10-1.52 (8H, m), 1.27 (3H, s), 1.95-2.05 (2H, m), 2.95 (1H, d, J=14.4 Hz), 3.02-3.08 (1H, m), 3.08 (1H, d, J=14.6 Hz), 3.28-3.34 (1H, m), 4.36 (1H, s), 6.37 (1H, d, J=8 Hz), 6.49 (1H, d, J=2.2 Hz), 6.71-6.75 (1H, m), 6.82-6.86 (1H, m), 6.95-7.43 (13H, m), 7.52-7.57 (1H, m), 8.33 (1H, d, J=3.7 Hz), 10.81 (1H, s);

- 20 HPLC A: Rt. 12.65 分钟， 99.65%纯度， 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内，速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm;

HPLC B: Rt. 33.05 分钟， 99.89%纯度， 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm。

实施例22

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-间甲苯氨基-丙酰胺



采用类似于实施例 16 的一步法制备上述化合物。合成以 1mmol 规模进行, 使用 1-溴-3-甲基苯(171mg, 1mmol)。粗产物通过色谱进行纯化, 使用 25g NP 二氧化硅, 用 25%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。在减压下除去溶剂, 得到所需的化合物, 其为玻璃状物(260mg, 54%):

MPt: 70-75 °C;

MS m/e (AP⁺): 481.33 (100%, M⁺ + H), 482.37 (40%);

IR (薄片): 3385, 3291, 3049, 2929, 2857, 1652, 1607, 1590, 1513, 1456, 1431, 1341, 1302, 1264, 1237, 1177, 1155, 1104, 1010, 774, 741 cm⁻¹;

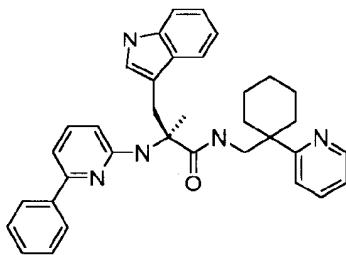
NMR (DMSO-d₆): δ = 1.08–1.50 (8H, m), 1.19 (3H, s), 2.00–2.10 (2H, m), 2.16 (3H, s), 3.03 (1H, d, d, J=12.9 and 5.1 Hz), 3.10 (1H, d, J=14.7Hz), 3.22 (1H, d, J=14.6Hz), 3.24–3.30 (1H, m), 5.43 (1H, s), 6.29 (1H, s), 6.30 and 6.44 (each 1H, each d, J=7.6 Hz), 6.87–7.07 (6H, m), 7.15–7.19 (1H, m), 7.29 (1H, d, J=8.0 Hz), 7.33 (1H, d, J=7.8 Hz), 7.48–7.54 (1H, m), 8.31–8.33 (1H, m), 10.81 (1H, s);

HPLC A: Rt. 11.04 分钟, 98.3%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm;

HPLC B: Rt. 16.87 分钟, 99.5%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm。

实施例23

(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-(6-苯基-吡啶-2-基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺



采用类似于实施例 16 的一步法制备上述化合物。合成以 0.4mmol 规模进行, 使用 2-溴-6-苯基-吡啶 (95mg, 0.4 mmol)。粗产物通过色谱进行纯化, 使用 25g NP 二氧化硅, 用 55%的乙酸乙酯的庚烷溶液作为洗脱剂。在减压下除去溶剂, 得到所需的产物, 其为泡沫状物(260mg, 54%):

5 MS m/e (AP^+) 544.31 (100%, $M^+ + H$), 545.35 (35%);

MS m/e (AP^-) 542.29 (100%, $M^- - H$), 543.31 (M^- 40%);

IR (薄片): 3407, 3276, 3056, 2930, 2857, 1651, 1595, 1576, 1519, 1486, 1467, 1455, 1439, 1339, 1264, 1180, 1157, 1105, 1028, 1009, 991, 804, 763, 739 cm^{-1} ;

10 NMR ($CDCl_3$) δ = 1.03–1.60 (8H, m), 1.53 (3H, s), 1.90–2.03 (2H, m), 3.32–3.45 (3H, m), 3.65 (1H, d, $J=14.6Hz$), 4.67 (1H, s), 6.13 (1H, d, $J=8.3 Hz$), 6.77–7.50 (14H, m), 7.97 (2H, d, $J=7.1 Hz$), 8.02 (1H, s), 8.23–8.25 (1H, m);

HPLC A: Rt. 4.21 分钟, 96.8%纯度, 20–100% CH_3CN 于 H_2O 中 (+0.1%TFA)在 7 分钟内, 速度 1.5ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 150x4.6mm 5 μM ,

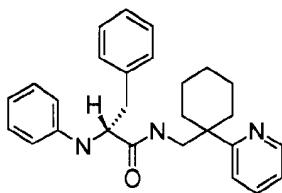
15 200–300 nm。

实施例24

(R)-3-苯基-2-苯基氨基-N-[1-吡啶-2-基-环己基甲基]-丙酰胺

20 按方案4所示之两步法由中间产物8合成上述化合物。

1. 在氮气氛下, 向中间产物 8(0.5g, 3mmol)与溴苯(0.35ml, 3.3mmol)的



DMA (5ml) 溶液中加入碳酸钾 (0.6g, 4.3mmol) 和碘化铜 (I)(50mg, 0.26mmol), 其后, 将该混合物在 90℃加热 1.5 小时。减压除去溶剂, 剩余物通过色谱进行纯化, 洗脱剂为 5%的甲醇的二氯甲烷溶液。在减压下除去溶剂, 得到(R)-3-苯基-2-苯基氨基-丙酸, 其为油状物(0.41g, 56%):

5 MS m/e (AP⁺): 242 (M⁺ + H, 100%)。

2. 将步骤 1 的酸(0.40g, 1.66mmol), HBTU(0.6g, 1.8mmol), NEt₃ (0.5ml, 3.5mmol), 及 1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 0.35mg, 1.8mmol)于 DMF(15ml)中搅拌。1 小时之后, 在环境温度下将反应混合物用乙酸乙酯 (100ml)稀释, 用碳酸氢钠溶液(x2)洗涤并干燥(MgSO₄)。减压除去溶剂。粗
10 产物通过色谱进行纯化, 使用 50%的乙酸乙酯的庚烷溶液, 及随后用 RP C18 二氧化硅, 并用 70%的甲醇的水溶液作为洗脱剂。在减压下除去溶剂, 得到所需的产物, 其为白色的无定形固体(0.15g, 22%):

MPt: 113-115℃;

MS m/e (AP⁺): 414.22 (M⁺ + H, 100%);

15 IR (KBr disc): 3300, 2931, 2858, 1649, 1605, 1589, 1523, 1498, 1432, 1318, 748 cm⁻¹;

NMR (CDCl₃): δ = 1.20–1.70 (8H, m), 1.90-2.15 (2H, m), 2.91 (1H, d.d, J=14.2 and 8.8 Hz), 3.27 (1H, d.d, J=14.2 and 4.4 Hz), 3.38 (1H, d.d, J=13.2 and 5.5 Hz), 3.48 (1H, d.d, J=13.2 and 6.1 Hz), 3.80 (1H, d, J=3.4 Hz), 3.88-3.93 (1H,
20 m), 6.44 (2H, d, J=7.8 Hz), 6.74 (1H, t, J=11.3 Hz), 6.90-7.45 (11H,m), 8.28 (1H, d, J=3.6 Hz);

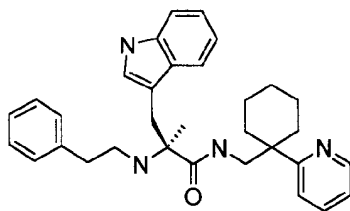
HPLC A: Rt. 4.51 分钟, 100%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 10 分钟内, 速度 1.5 ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm;

25 HPLC B: Rt. 13.15 分钟, 99.14%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 200-300 nm。

实施例25

(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-苯基乙基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲
30 基)-丙酰胺

如方案5所示，由中间产物10制备上述化合物。



1. 向搅拌着的 H-(S)- α MeTrp-OH(7)(10g, 46mmol)与焦碳酸二叔丁基酯(10g, 46mmol)的二噁烷(100ml)溶液中加水(20ml)和碳酸钾(10g, 74mmol)。4 小时之后，将反应混合物用 2N 盐酸(150ml)酸化，产物用乙酸乙酯(2 x 200ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)并减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化，以乙酸乙酯为洗脱剂。在减压下除去溶剂，得到 Boc-(S)- α MeTrp-OH，其为橙色的油状物(14.5g, 99%)。向搅拌着的 Boc-(S)- α MeTrp-OH(7g, 22mmol)的 DMF(100ml)溶液中加入 HBTU(8.0g, 22mmol)，三乙胺(5ml, 35mmol)，及[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(WO 98/07718; 4.2g, 22mmol)。1 小时之后，将反应混合物用乙酸乙酯(300ml)稀释，用 2N 盐酸(2 x 200ml)洗涤，干燥(MgSO₄)并在 60℃下减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化。洗脱液为 5%甲醇的二氯甲烷溶液，随后在减压下除去溶剂，得到中间产物 9，其为黄色的油状物(8.3g, 77%):

MS m/e (AP+): 491 (M⁺ + H, 100%), 513 (M⁺ + Na, 20%);

- 15 IR (薄片): 3339, 2929, 2858, 1704, 1659, 1651, 1589, 1519, 1487, 1366, 1249, 1164, 1070, 908, 737 cm⁻¹;

NMR (CDCl₃): δ = 1.20-1.70 (20H, m), 2.00-2.12 (2H, m), 3.25-3.50 (4H, m), 5.05-5.20 (1H, br.s), 6.92 (1H, d, J=2.0 Hz), 7.02-7.32 (6H, m), 7.51 (1H, d, J=8.0 Hz), 7.59-7.64 (1H, m), 8.03 (1H, s), 8.48 (1H, d, J=4 Hz)。

- 20 2. 向搅拌着的中间产物 9(8.2g, 16.5mmol)的二氯甲烷(100ml)溶液中加入三氟乙酸(3.0ml, 39mmol)。18 小时之后，在 60℃下减压除去溶剂。剩余物用饱和的碳酸钠溶液(200ml)小心处理，然后用乙酸乙酯(3 x 200ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)并在 60℃下减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化。洗脱液为 0-5%的甲醇的二氯甲烷溶液，然后在减压下除去溶剂，得到中间产物 10，其为白色的泡沫状物(4.85g, 75%):

MPt: 65-68℃;

MS m/e (AP⁺): 391 (M⁺ + H, 100%);

IR (KBr disc): 3367, 2926, 2855, 1648, 1589, 1569, 1522, 1455, 1430, 1366, 1341, 1234, 842, 784, 742 cm⁻¹;

NMR (CDCl₃): δ = 1.20-1.80 (13H, m), 1.98-2.20 (2H, m), 2.83 (1H, d, J=14.2 Hz), 3.33 (1H, d, J=14.2 Hz), 3.38 (2H, d, J=5.6 Hz), 6.98-7.20 (6H, m), 7.50-7.75 (3H, m), 8.05-8.15 (1H, s), 8.49-8.51 (1H, m);

3. 向搅拌着的中间产物10(293mg, 0.75mmol)与苯乙醛(90mg, 0.75mmol)的 1,2-二氯乙烷(20ml)溶液中加入固体三乙酰氧基硼氢化钠(316mg, 1.5mmol)。搅拌过夜之后, 加入饱和的碳酸氢钠溶液—观察到发泡现象。水相用二氯甲烷萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)并减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 使用 20g RP-C18 与 0-50%甲醇的水溶液, 及随后用 20g NP 二氧化硅与 45%的乙酸乙酯的庚烷溶液。在减压下除去溶剂, 得到所需的化合物, 其为玻璃状物(60mg, 16%);

MS m/e (ES⁺): 496.56 (28%), 495.5 (52%, M⁺ + H), 364.43 (22%), 269.34 (51%), 268.90 (88%), 248.37 (100%);

IR (薄片): 3274, 3058, 2928, 2856, 1651, 1588, 1568, 1519, 1469, 1454, 1431, 1355, 1263, 1236, 1155, 1117, 1053, 1030, 1009, 992, 930, 782, 742 cm⁻¹;

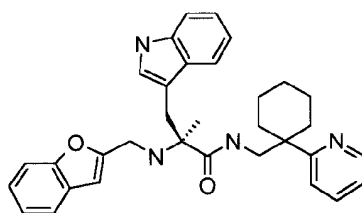
¹H NMR (CDCl₃): δ = 1.20-1.65 (11H, m), 2.00-2.20 (2H, m), 2.40-2.75 (4H, m), 2.94 and 3.05 (each 1H, each d, J=14.4 Hz), 3.41 (2H, d, J=6.1 Hz), 6.74 (1H, d, J=2.2 Hz), 7.04-7.25 (9H, m), 7.32 (1H, d, J=7.8 Hz), 7.55-7.60 (3H, m), 7.90 (1H, s), 8.55-8.58 (1H, m);

HPLC A: Rt. 8.52 分钟, 99.0/98.6%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm;

HPLC B: Rt. 23.84 分钟, 99.6/100%纯度, 80:20 甲醇/Tris 缓冲液, pH9, 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm。

实施例26

(S)-2-[(苯并呋喃-2-基甲基)-氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺



按方案5所示，由中间产物10制备上述化合物。

向搅拌着的中间产物 10(150mg, 0.38mmol)与苯并咪唑-2-醛(56mg, 0.38mmol)的 1,2-二氯乙烷(5ml)溶液中加入固体的三乙酰氧基硼氢化钠(162mg, 0.77mmol)。在室温下搅拌 48 小时之后，加入饱和的碳酸氢钠溶液
5 -观察到发泡现象。水相用乙酸乙酯萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化，使用 60%乙酸乙酯的庚烷溶液。在减压下除去溶剂，得到所需的产物，其为无定形的白色固体(29mg, 15%):

MS m/e (ES⁺): 521.08 (M⁺ + H, 100%), 391.06 (50%);

10 IR (薄片): 3268, 3056, 2930, 2856, 1656, 1588, 1569, 1519, 1469, 1454, 1431, 1355, 1342, 1255, 1171, 1105, 1052, 1009, 909, 788, 740 cm⁻¹;

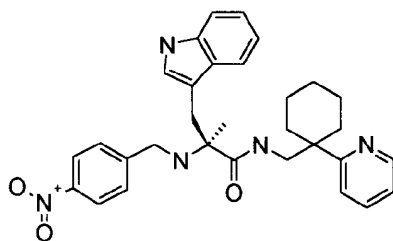
¹H NMR (CDCl₃): δ = 1.20-2.20 (14H, m), 3.08 (1H, d, J=14.4 Hz), 3.14 (1H, d, J=14.8 Hz), 3.45-3.49 (2H, m), 3.66 (1H, d, J=14.4 Hz), 3.76 (1H, d, J=14.8 Hz), 6.33 (1H, s), 6.84-6.88 (1H, m), 7.00-7.65 (12H, m), 8.32 (1H, s),
15 8.39 (1H, d, J=4.0 Hz);

HPLC A: Rt. 8.86 分钟, 99.7/99.1%纯度, 20-100% CH₃CN 于 H₂O 中 (+0.1%TFA)在 15 分钟内, 速度 1ml 分钟⁻¹, Prodigy ODSIII 250x4.6mm 5 μ M, 215 和 254 nm。

20 实施例27

(S)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-2-(4-硝基-苄基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺

按方案 5 所示, 由中间产物 10 制备上述化合物。向搅拌着的中间产物 10 (150mg, 0.38mmol) 与 4-硝基苯甲醛(58mg, 0.38mmol) 的 1,2-二氯乙烷(5ml)



溶液中加入固体的三乙酰氧基硼氢化钠(114mg, 0.54mmol)。在环境温度下搅拌 24 小时之后, 加入饱和的碳酸氢钠溶液—观察到发泡现象。水相用乙酸乙酯萃取。将合并的有机相干燥(MgSO_4)并在减压除去溶剂。剩余物通过色谱进行纯化, 使用 60% 乙酸乙酯的庚烷溶液。再次纯化, 采用 RP 二氧化硅与 45% 的甲醇 于水中(+1% 乙酸), 得到产物。合并纯净的馏分, 碱化(碳酸钠), 并用乙酸乙酯萃取。在减压下除去溶剂, 得到所需的化合物, 其为玻璃状物(10.5mg, 5%):

10 MPT: 58-60 °C;

MS m/e (ES^+): 526.15 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%), 527.14 (33%);

IR (薄片): 3365, 2924, 2856, 1652, 1513, 1429, 1346, 1257, 1048 cm^{-1} ;

^1H NMR (DMSO-d_6): δ = 1.10-1.55 (8H, m), 1.19 (3H, s), 1.88-2.08 (2H, m), 2.25-2.30 (1H, m), 2.95-3.02 (2H, m), 3.10-3.20 (1H, m), 3.17-3.27 (1H, m),
15 3.50-3.80 (2H, m), 6.93-7.63 (11H, m), 8.12 (2H, d, $J=8.8$ Hz), 8.42 (1H, d, $J=3.6$ Hz), 10.86 (1H, s)。

实施例 28

BB_1 和 BB_2 结合试验

在下列的实验中, BB_1 与 BB_2 结合的测量如下。将稳定表达克隆的人类 NMB(用于 BB_1 试验)和 GRP 受体(用于 BB_2 试验)的 CHO-K1 细胞常规培养于 Ham's F12 培养基中, 其中补充了 10% 的胎牛血清和 2 mM 的谷氨酰胺。对于结合试验, 通过胰蛋白酶作用收获细胞, 并在 -70 °C 冷冻贮存于包含 5% DMSO 的 Ham's F12 培养基中, 直到使用为止。在使用日, 将细胞迅速解冻, 用过量的培养基稀释, 并在 2000 g 离心 5 分钟。将细胞重新悬浮于 50 mM Tris-HCl 试验缓冲液(pH 7.4, 于 21 °C, 含 0.02% BSA, 40 $\mu\text{g/mL}$)
25

- 杆菌肽, 2 μ g/mL 糜蛋白酶, 4 μ g/mL 亮肽素, 及 2 μ M 磷酸二肽)中, 计数, 及 polytroned (设定 5, 10 秒), 然后在 28000 g 下离心 10 分钟。将最终的团粒再悬浮于试验缓冲液至最终的细胞浓度为 1.5×10^5 /mL。对于结合
- 5 化合物(最终试验体积 250 μ L)的情况下, 对 NMB 和 GRP 受体分别培养 60 分钟和 90 分钟。通过 1 μ M 蛙皮素确定特异性结合。通过于 Whatman GF/C 过滤器上在真空下迅速过滤使试验终止, 并用 50 mM Tris-HCl (pH 6.9, 21°C; 6 $\times$ 1 mL)洗涤, 所述过滤器在 0.2% PEI 中预浸渍>2 小时。利用伽马计数器测定放射性范围。
- 10 通过采用 Prism[®] (GraphPad Software Inc., San Diego, 美国)中的迭代曲线拟合程序的非线性回归, 分析所有竞争数据。利用 Cheng-Prusoff 方程 (Cheng Y., Prusoff W. H., Biochem. Pharmacol. 22: 3099-3108, 1973)将 IC₅₀ 值修正为 K_i 值。

所得结果列于表 1 中。

15

表 1: 人类 NMB 和 GRP 受体结合的亲和性

实施例序号	NMB K _i (nM)	GRP K _i (nM)
9	4	24
10	469	
11	5580	
12	16	2820
13	19	1385
14	106	1190
15	213	1770
16	15	
17	2080	
18	303	
19	1249	
20	3163	
21	824	
22	653	
23	3371	
24	137	
25	616	2620
26	2400	
27	652	

实施例 29

PEG200 中的(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-N-[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-2-甲基-2-[4-(4-硝基-苯基)-噁唑-2-基氨基]-丙酰胺(化合物(2))对雌性大鼠性本体感受性的影响

将卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g, 来源于 Charles River)6 个一组圈养于 12 小时光照:黑暗(7.00-19.00 时关灯)颠倒的光照系统中。卵巢切除两周后, 将它们用于性活动试验。在试验前连续 2 天, 使动物在仪器(不存在刺激动物)中适应 10 分钟。实验开始至少 5 小时才进入黑暗期。

试验在直径 90cm, 四周围绕 30cm 高围墙的圆形台上进行。将两个前面为金属网(15x15cm)的小笼固定在墙上, 使得笼的前面与墙壁“齐平”且两个笼子彼此相对。它们装有刺激动物: 无性经历的雄性和感受的雌性(卵巢切除的, 给用 5 μ g 溶解于玉米油中的雌二醇苯甲酸酯, 并在试验前 48 小时皮下注射, 且在试验前 4 小时注射 0.5 mg 的黄体酮)。使用自然性试验和对照动物。试验前 48 小时, 将试验和对照动物给用 5g 的雌二醇苯甲酸酯。试验动物用溶解于 PEG200 载体中的上述化合物(30-100mg/kg)处理, 并在每次试验前 1 小时以 1ml/kg 的体积经口给药。对于用作阳性对照的动物, 将黄体酮(0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油, 并于试验前 4 小时皮下给药(s.c.)。将试验和对照动物一次一只引入圆形台 10 分钟。在 10 分钟试验期间, 记录试验或阳性对照动物探查每个刺激动物所用的时间。将圆形台在引入动物之间彻底清扫。将雄性/雌性刺激盒的位置在动物间随机分布, 以避免位置偏爱。从探查刺激动物的总时间中, 计算出探查雄性减去雌性刺激物所花时间的百分数的差异。

发现(见图 19), 上述化合物剂量依赖地(30-100)增加探查雄性刺激物所花费的时间的百分数, MED 为 100mg/kg (见下面)。该剂量的作用与黄体酮(最大)的作用相似(*P<0.05, **P<0.01 Kruskal-Wallis 及随后的 Mann-Whitney 检验, 相对于载体)。

实施例 30

甲基纤维素中的化合物(2)对雌性大鼠性本体感受性的影响

重复实施例 31, 只是将上述化合物(3-30mg/kg)溶解于 0.5%的甲基纤维素,并在试验前 1 小时以 3ml/kg 的给药体积 p.o.给药。将黄体酮(0.5mg/0.1ml)溶解于玉米油,并于试验前 4 小时 s.c.给药,作为阳性对照。

上述化合物(3-30mg/kg)剂量依赖地增加探查雄性刺激物所花费的时间的百分数, MED 为 10mg/kg。这相当于效能增加了 10 倍,与在 PEG200 载体(MED=100mg/kg)中获得的口服结果相比。结果示于图 20 中,其中条形代表探查雄性所花费的时间的百分数,减去探查雌性刺激物所花费的时间的百分数 $\pm$ SEM, (n=6-9 每组)。*P<0.05, **P<0.01, 相对于载体(一步法 ANOVA 及随后的 Dunnett's 检验, 相对于载体组)。

10

实施例 31

PEG 200 中的化合物(2)对雌性大鼠性感受性的影响

将卵巢切除的成年雌性 Sprague Dawley 大鼠(180-200g, 来源于 Charles River)6 个一组圈养于 12 小时光照:黑暗(7.00-19.00 时关灯)颠倒的光照系统中。卵巢切除两周后,将它们用于性活动试验。实验开始至少 5 小时才进入黑暗期。

将上述化合物溶解于 PEG200 载体并经口给药。将喹来洛朗二盐酸盐(LY 163, 502, 6.25 μ g/kg)溶解于水并皮下给药(s.c.),作为阳性对照。两个化合物均以 1ml/kg 的体积给药。

20

试验前 48 小时,将动物给用 5 μ g 雌二醇苯甲酸酯(Sigma Chemical. Co. Ltd., UK),其溶解于玉米油中并通过皮下注射。将雌性与一系列精力旺盛的雄性大鼠放在一起,并进行 10 次交配。记录动物的脊柱前凸反应,并且表示成交配的百分数(即脊柱前凸商数, LQ)。在多数动物中,处理引起 LQ=0-10%,这被认为是非感受性的(NR)。表现出较高 LQ 的动物不在研究之列。给用化合物之前,对每个大鼠进行试验,然后分别在注射上述化合物或喹来洛朗之后 1 小时和 90 分钟进行同样的试验。

给药 90 分钟之后,单独给用喹来洛朗(6.25(g/kg)显著地(P<0.01)增加 LQ,与给药之前的 LQ 相比(成对的 t 检验)。在给药 1 小时之后且 MED 为 100mg/kg 时,单独经口给用上述化合物可剂量依赖地(10-100mg/kg)增加 LQ(P<0.01),与给药之前的 LQ 相比(成对的 t 检验)。上述化合物的作用

30

(100mg/kg)与喹来洛朗 (6.25(g/kg)的作用类似, 如图 21 所示。

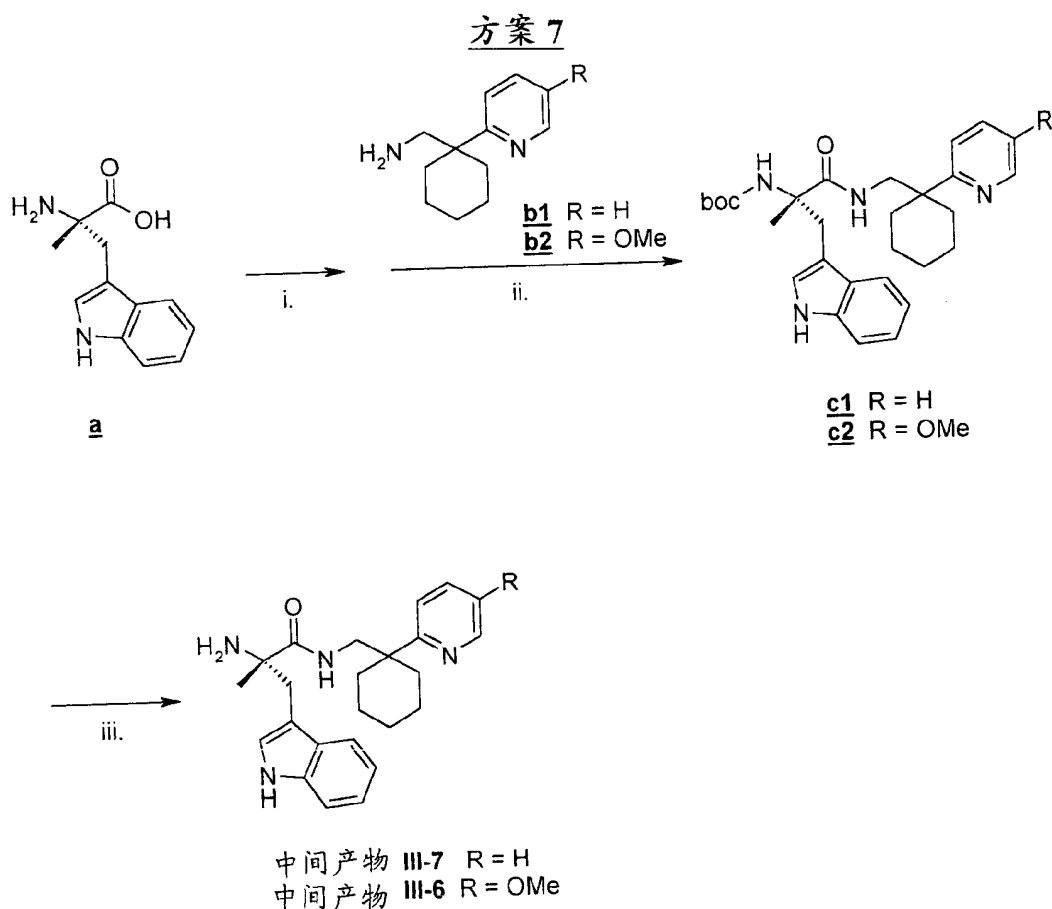
合成实施例(式(III)的化合物)

(S)-2-氨基-3-(1 H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺(中间产物 III-7)及

(S)-2-氨基-3-(1 H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基)-丙酰胺(中间产物 III-6)

在下述反应方案 7 中, 中间产物 III-6 和 III-7 通过下述步骤制备: (i) 保护起始氨基酸 a 的氨基, 使用碳酸二叔丁酯和碳酸钾于二噁烷/水中, (ii) 通过 N-保护的氨基酸与胺 b1 或 b2 于二甲基甲酰胺中在 O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脌鎓六氟磷酸盐(HBTU)和 N,N-二异丙基-乙胺(DIPEA)存在下的反应, 形成酰胺, 及(iii)通过与二氯甲烷中的三氟乙酸反应, 使产物 c1 或 c2 的氨基去保护。

15



- i. BOC_2O , K_2CO_3 , 二噁烷, 水
- ii. HBTU, DIPEA, DMF
- iii. TFA, CH_2Cl_2

5 **{(S)-2-(1-H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁酯(c1)**

(1) 向搅拌着的 H-(S)- α MeTrp-OH (a) (10g, 46mmol)与焦碳酸二叔丁基酯(10g, 46mmol)的二噁烷(100ml)溶液中加入水(20ml)和碳酸钾(10g, 74mmol)。4 小时之后, 将反应混合物用 2N 盐酸(150ml)酸化, 产物用乙酸乙酯(2 x 200ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO_4)并减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化, 洗脱液为乙酸乙酯。在减压下除去溶剂, 得到 Boc-(S)- α MeTrp-OH, 其为橙色的油状物(14.5g, 99%)。

(2) 向搅拌着的 Boc-(S)- α MeTrp-OH(7g, 22mmol)的 DMF(100ml)溶液中加入 HBTU(8.0g, 22mmol), 三乙胺(5ml, 35mmol), 及[1-(2-吡啶基)环己基]甲胺(b1, 4.2g, 22mmol, 见 WO 98/07718)。1 小时之后, 将反应混合物用乙酸乙酯(300ml)稀释并用 2N 盐酸(2 x 200ml)洗涤, 干燥(MgSO_4)并在 60℃下减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化。洗脱液为 5%甲醇的二氯甲烷溶液, 然后在减压下除去溶剂, 得到 c1, 其为黄色的油状物(8.3g, 77%):

IR (薄片): 3339, 2929, 2858, 1704, 1659, 1651, 1589, 1519, 1487, 1366, 1249, 1164, 1070, 908, 737 cm^{-1} ;

NMR (CDCl_3): δ = 1.20-1.70 (20H, m), 2.00-2.12 (2H, m), 3.25-3.50 (4H, m), 5.05-5.20 (1H, br.s), 6.92 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 7.02-7.32 (6H, m), 7.51 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 7.59-7.64 (1H, m), 8.03 (1H, s), 8.48 (1H, d, $J=4$ Hz);

MS m/e (AP+): 491 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 100%), 513 ($\text{M}^+ + \text{Na}$, 20%)。

25 **(3) (S)-2-氨基-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺(中间产物 III-7)**

向搅拌着的 c1(8.2g, 16.5mmol)的二氯甲烷(100ml)溶液中加入三氟乙酸(3.0ml, 39mmol)。18 小时之后, 在 60℃下减压除去溶剂。剩余物用饱和的碳酸钠溶液(200ml)小心处理, 然后用乙酸乙酯(3 x 200ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO_4)并在 60℃下减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化。

洗脱液为 0-5%的甲醇的二氯甲烷溶液，然后在减压下除去溶剂，得到中间产物 III-7，其为白色的泡沫状物(4.85g, 75%)。

MPt: 65-68℃;

IR (KBr disc): 3367, 2926, 2855, 1648, 1589, 1569, 1522, 1455, 1430, 1366,
5 1341, 1234, 842, 784, 742 cm⁻¹;

NMR (CDCl₃): δ = 1.20-1.80 (13H, m), 1.98-2.20 (2H, m), 2.83 (1H, d, J=14.2 Hz), 3.33 (1H, d, J=14.2 Hz), 3.38 (2H, d, J=5.6 Hz), 6.98-7.20 (6H, m), 7.50-7.75 (3H, m), 8.05-8.15 (1H, s), 8.49-8.51 (1H, m);

MS m/e (AP+): 391 (M⁺ + H, 100%)。

10

{{(S)-2-(1-H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸叔丁基酯(c2)}

向搅拌着的 Boc-(S)-α MeTrp-OH(1.44g, 4.5mmol)的 DMF(50ml)溶液中加入 HBTU(1.72g, 4.5mmol), DIPEA (2.38ml, 13.6mmol), 及[1-(5-甲氧基-2-
15 吡啶基)环己基]甲胺(1g, 4.5mmol)。过夜之后，将反应混合物用乙酸乙酯(300ml)和水稀释，干燥(MgSO₄)并减压蒸发。剩余物通过快速色谱进行纯化，洗脱液为乙酸乙酯/庚烷(1:1)，然后在减压下除去溶剂，得到 c2，其为油状物(2.207g, 94%)。

NMR (CDCl₃): δ = 1.24-1.60 (8H, m), 1.39 (9H, s), 1.52 (3H, s), 2.00-2.18
20 (2H, m), 3.20-3.43 (4H, m), 3.82 (3H, s), 6.92 (1H, d, J=2.4 Hz), 7.02-7.20 (6H, m), 7.30 (1H, d, J=6.0 Hz), 7.51 (1H, d, J=8Hz), 8.00 (1H, s), 8.17 (1H, d, J=2.8Hz)。

MS m/e (ES+): 521.36 (M⁺ + H, 100%), 543.25 (M⁺ + Na)。

25 中间产物 III-6

向搅拌着的 c2 (2.2g, 4.2mmol)的二氯甲烷(10ml)溶液中加入三氟乙酸(5ml, 过量)。搅拌过夜之后，将反应混合物溶解于 1N HCl 中并用乙醚萃取。弃掉有机相。水相用饱和的碳酸钠溶液小心碱化，然后用乙酸乙酯(3x50ml)萃取。将合并的有机相干燥(MgSO₄)并在 60℃下减压蒸发，得到中间产物
30 III-6，其为玻璃状物(1.253g, 71%)。

IR (薄片): 3272, 2930, 2857, 1651, 1595, 1573, 1520, 1489, 1478, 1455,

1393, 1358, 1291, 1268, 1232, 1181, 1150, 1131, 1030, 1012, 831, 741 cm^{-1} ;

NMR (DMSO): δ = 1.10-1.65 (13H, m), 1.80-1.90 (1H, m), 2.00-2.10 (1H, m), 2.70 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 3.10 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 3.10-3.22 (2H, m), 3.77 (3H, s), 6.93-7.07 (4H, m), 7.16-7.19 (1H, m), 7.32 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.48-7.55 (2H, m), 8.21 (1H, d, $J=3.2$ Hz), 10.88 (1H, s);

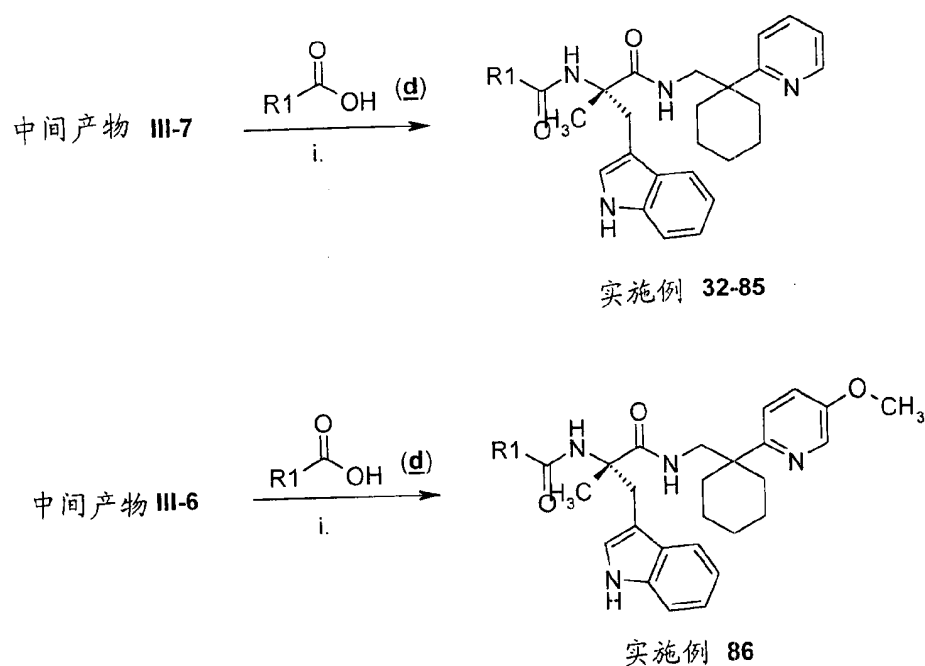
MS m/e (ES⁺): 421.27 ($M^+ + H$, 100%), 443.26 ($M^+ + Na$).

实施例 32-86

中间产物 III-6 和 III-7 的 N-酰基衍生物

10 方案 8 描述了中间产物 III-7 和 III-6 的 N-酰基衍生物的合成。

方案 8



15 i. HBTU, DIPEA, DMF

在方案 8 中, R1 代表羧酸 d 分子的其余部分。这些中间产物 d 列于表 2 中。

中间产物 III-7 的 N-酰基衍生物

20 向酸 d (0.18 mmol) 中加入 0.50 M HBTU 于 DMF 中的溶液 (300 μL , 0.15

mmol), 1.0 M 二异丙基乙胺于 DMF 中的溶液(300 μ L, 0.30 mmol)和 0.40 M 中间产物 III-7 于 DMF 中的溶液(375 μ L, 0.15 mmol)。将该溶液在轨道振荡器上于室温下摇动 18 小时。加水(1.0 mL)并将混合物加载在 LC-18 SPE 柱(0.5 g 吸附剂)上, 且将柱用水(3 mL), 25% 甲醇/水(3 mL), 50% 甲醇/水(4 mL)和 5 甲醇(4.5 mL)洗脱。浓缩甲醇馏分并通过 LCMS 进行分析。当纯度<90%时, 将产物通过制备 HPLC(柱子: Phenomenex primesphere 10 μ C18-HC 110A, 100x21.20 mm; 流动相: 甲醇/水 10~100%梯度)进一步纯化。产物通过 LCMS(柱子: 50x4.6 mm Prodigy ODSIII (5 μ)色谱柱; 流动相: 乙腈/水(0.1% 甲酸) 5~100%梯度, 时间 2 分钟, 保持 100%乙腈 1 分钟; 流速 4 mL/分钟; 10 于 215 nm UV 检测; 质谱: 150-900 Da 全扫描 APCI+ 质心数据)进行表征和分析。

下列产物是通过上述方法制备的, 原料列于表 2 中, 所给出的试验结果列于表 3 中。

表 2

实施例	中间产物 d
32	苯甲酸
33	4-甲基-苯甲酸
34	4-氯-苯甲酸
35	4-甲氧基-苯甲酸
36	4-硝基-苯甲酸
37	4-甲磺酰基-苯甲酸
38	3-氯基-苯甲酸
39	3-氯-苯甲酸
40	3-甲氧基-苯甲酸
41	3-甲磺酰基-苯甲酸
42	3-二甲基氨基-苯甲酸
43	3-甲基-苯甲酸
44	2-氯-苯甲酸
45	2-硝基-苯甲酸
46	2-甲氧基-苯甲酸

47	2-甲基-苯甲酸
48	2-二甲基氨基-苯甲酸
49	2-氟-苯甲酸
50	对甲苯基-乙酸
51	邻甲苯基-乙酸
52	(4-羟基-苯基)-乙酸
53	(3-羟基-苯基)-乙酸
54	间甲苯基-乙酸
55	(2-氟-苯基)-乙酸
56	噻吩-3-基-乙酸
57	吡啶-2-羧酸
58	异烟酸
59	呋喃-3-羧酸
60	呋喃-2-羧酸
61	1H-吡啶-2-羧酸
62	5-甲基-异噻唑-3-羧酸
63	1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸
64	噻吩-2-羧酸
65	噻吩-3-羧酸
66	1H-吡啶-6-羧酸
67	1H-吡啶-5-羧酸
68	1H-吡啶-4-羧酸
69	1H-吡啶-7-羧酸
70	1-甲基-1H-吡啶-2-羧酸
71	苯并[b]噻吩-2-羧酸
72	苯并噻唑-6-羧酸
73	1H-苯并三唑-5-羧酸
74	3-甲基-噻吩-2-羧酸
75	5-甲基-噻吩-2-羧酸

76	6-甲基-吡啶-2-羧酸
77	异喹啉-3-羧酸
78	喹啉-2-羧酸
79	喹啉-8-羧酸
80	5-苯基-噁唑-4-羧酸
81	2-吡咯-1-基-苯甲酸
82	(4-甲氧基-苯基)-乙酸
83	(4-二甲基氨基-苯基)-乙酸
84	(2-硝基-苯基)-乙酸
85	(2-甲氧基-苯基)-乙酸
86	1H-吡啶-2-羧酸

表 3

实 施 例	产物	MH ⁺	纯 度 %	LCMS 保留时间 (分钟)	BB ₁ IC50 (nM)	BB ₂ IC50 (nM)
32	N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 苯甲酰胺	494,64	100	1.71	2499	IA
33	N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 4-甲基-苯甲酰胺	508,67	95	1.76	2499	IA
34	4-氯-N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1- [(1-吡啶-2-基-环己基-甲基)-氨基甲酰基]- 乙基}-苯甲酰胺	529,09	94	1.84	1349	IA
35	N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 4-甲氧基-苯甲酰胺	524,67	94	1.68	2879	IA
36	N-{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-	539,64	80	1.79	343	IA

	4-硝基-苯甲酰胺					
37	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-4-甲磺酰基-苯甲酰胺	572,73	95	1.60	2272	IA
38	3-氟基-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	519,65	91	1.71	2042	IA
39	3-氯-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基-甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	529,09	97	1.84	1269	IA
40	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲氧基-苯甲酰胺	524,67	98	1.73	2859	IA
41	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲磺酰基-苯甲酰胺	572,73	95	1.60	3051	IA
42	二甲基氨基-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基-甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	537,71	91	1.74	2518	IA
43	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-3-甲基-苯甲酰胺	508,67	100	1.79	2351	IA
44	2-氯-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基-甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	529,09	98	1.79	3229	IA
45	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-硝基-苯甲酰胺	539,64	91	1.71	4581	IA
46	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-甲氧基-苯甲酰胺	524,67	100	1.73	2559	IA

47	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-甲基-苯甲酰胺	508,67	100	1.79	3283	IA
48	C-二甲基氨基-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基-甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	537,71	93	1.79	716	IA
49	2-氟-N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-苯甲酰胺	512,63	98	1.76	3949	IA
50	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-对甲苯基-乙酰基氨基)-丙酰胺	522,70	94	1.76	944	IA
51	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-邻甲苯基-乙酰基氨基)-丙酰胺	522,70	98	1.76	944	IA
52	(S)-2-[2-(4-羟基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	524,67	96	1.50	3135	IA
53	(S)-2-[2-(3-羟基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	524,67	90	1.52	1437	IA
54	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-间甲苯基-乙酰基氨基)-丙酰胺	522,70	95	1.76	817	IA
55	(S)-2-[2-(2-氟-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	526,66	94	1.71	878	1546
56	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-噻吩-3-基-乙酰基氨基)-丙酰胺	514,70	93	1.65	1437	IA

57	吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	495,63	98	1.68	3709	IA
58	N-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-异烟酰胺	495,63	98	1.47	1365	IA
59	呋喃-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	484,60	97	1.60	1204	IA
60	呋喃-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	484,60	100	1.60	1204	IA
61	1H-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	533,68	100	1.79	289	527
62	5-甲基-异噁唑-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	499,62	94	1.46	4127	IA
63	1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	497,65	96	1.46	4819	-
64	噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	500,67	100	1.42	1437	IA
65	噻吩-3-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	500,67	100	1.39	2201	IA
66	1H-吡啶-6-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	533,68	100	1.42	1604	IA

67	1H-吡啶-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	533,68	100	1.35	1881	IA
68	1H-吡啶-4-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	533,68	99	1.35	4503	IA
69	1H-吡啶-7-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	533,68	100	1.60	1369	IA
70	1-甲基-1H-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	547,71	100	1.70	1233	IA
71	苯并[b]噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	550,73	100	1.63	611	IA
72	苯并噻唑-6-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	551,72	95	1.35	897	1495
73	1H-苯并三唑-5-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	535,65	95	1.25	3167	-
74	3-甲基-噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	514,70	100	1.53	744	IA
75	5-甲基-噻吩-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	514,70	100	1.60	1663	IA
76	6-甲基-吡啶-2-羧酸{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	509,66	98	1.6	2816	IA

77	异喹啉-3-羧酸{(S)-2-(1H-吲哚-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	545,69	100	1.71	1363	-
78	喹喔啉-2-羧酸{(S)-2-(1H-吲哚-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	546,68	94	1.67	1425	IA
79	喹啉-8-羧酸{(S)-2-(1H-吲哚-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	545,69	96	1.57	4479	IA
80	5-苯基-噁唑-4-羧酸{(S)-2-(1H-吲哚-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-酰胺	561,69	95	1.81	2660	IA
81	N-[(S)-2-(1H-吲哚-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基]-2-吡咯-1-基-苯甲酰胺	559,72	98	1.71	361	IA
82	(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-[2-(4-甲氧基-苯基)-乙酰基氨基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	538,70	98	1.71	1694	IA
83	(S)-2-[2-(4-二甲基氨基-苯基)-乙酰基氨基]-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	551,74	100	1.36	2708	IA
84	(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-甲基-2-[2-(2-硝基-苯基)-乙酰基氨基]-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	553,67	95	1.5	1979	IA
85	(S)-3-(1H-吲哚-3-基)-2-[2-(2-甲氧基-苯基)-乙酰基氨基]-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	538,70	100	1.57	1326	2479

IA: IC₅₀ > 10000 nM

中间产物 III-6 的 N-酰基衍生物

实施例 86

1H-吡啶-2-羧酸((S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-[[1-(5-甲氧基-吡啶-2-基)-环己基甲基]-氨基甲酰基]-1-甲基-乙基)-酰胺

向 1-H-吡啶-2-羧酸(38 mg, 0.24 mmol), 中间产物 III-6(100 mg, 0.19 mmol)和二异丙基乙胺(61 mg, 0.47 mmol)于 DMF(5 mL)的溶液中加入 HBTU(90 mg, 0.24 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 16 小时。将反应混合物减压浓缩和剩余物用乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并减压浓缩。剩余物通过柱色谱(60%乙酸乙酯/庚烷)纯化, 得到实施例 86 化合物, 其为无定形的白色固体(65 mg, 61%)。

10 IR (薄片): 3285, 2931, 2855, 1651, 1537, 1489, 1456, 1420, 1342, 1310, 1267, 1028, 908, 744 cm⁻¹;

NMR (CDCl₃): δ = 1.10-1.61 (11H, m), 1.95-2.04 (2H, m), 3.29-3.52 (4H, m), 3.43 (3H, s), 6.47 (1H, s), 6.86-6.90 (1H, m), 6.98-6.99 (2H, m), 7.09-7.42 (8H, m), 7.52-7.58 (2H, m), 7.73-7.74 (1H, m) 8.05 (1H, s), 9.11 (1H, s);

15 MS m/e (ES⁺): 564 (M⁺ + H, 100%)。

实施例 86 与蛙皮素受体的结合研究给出下列结果(IC₅₀): BB₁: 11nM, BB₂: 119 nM。

实施例 87-110

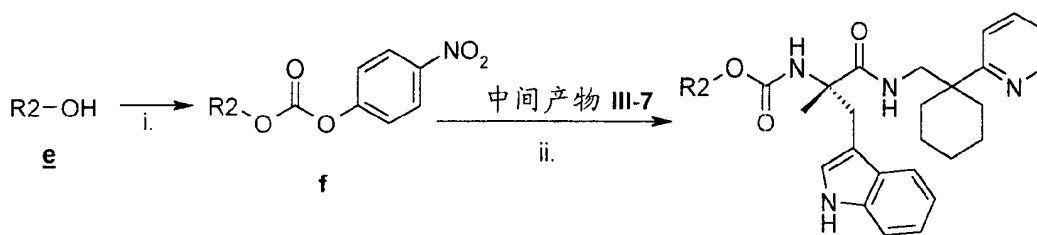
20 中间产物 III-7 的 N-末端脲烷衍生物

方案 9 描述了中间产物 III-7 的脲烷衍生物的合成:

- 将醇转化成 4-硝基苯基碳酸酯
- N-末端脲烷的生成

25

方案 9



实施例 87-110

i. 氯甲酸 4-硝基苯基酯, 吡啶, THF

ii. DMAP, DMF

在方案 9 中, R^2 代表中间产物 e 的其余部分。这些中间产物 e 列于表 4 中。

- 5 0℃下, 向搅拌着的醇 e (10 mmol)与氯甲酸 4-硝基苯基酯(2.01 g, 10 mmol)的二氯甲烷(50 mL)溶液中滴加吡啶(0.81 mL, 10 mmol)的二氯甲烷(10 mL)溶液。使反应混合物缓慢地升温至室温并于室温下搅拌 16 小时。减压除去溶剂, 剩余物溶解于乙酸乙酯(50 mL)中并依次用 10%柠檬酸(2x30 mL), 水(30 mL), 饱和的 NaHCO_3 溶液(2x50 mL)和盐水(50 mL)洗涤。将有
- 10 机相干燥(MgSO_4)并减压浓缩。粗产物一般用乙酸乙酯, 乙醚或庚烷重结晶, 得到纯净的碳酸酯 f。通过 IR 表征产物的特性(见表 4 的盐酸酯信号)。

- 向碳酸酯 f(0.21 mmol)中加入 DMF(0.4 mL), 然后加入 0.50 M DMAP 于 DMF 中的溶液(400 μL , 0.20 mmol)和 0.50 M 中间产物 III-7 于 DMF 中的溶液(200 μL , 0.10 mmol)。将溶液在轨道振动器上于室温下摇动 42 小时。
- 15 加水(1.0 mL)并将混合物加载在 LC-18 SPE 柱(0.5 g 吸附剂)上, 将柱用 25% 甲醇/水(3.4 mL)和甲醇(4 mL)洗脱。浓缩甲醇馏分并通过制备 HPLC (柱子: Phenomenex primesphere 10 $\mu\text{C}18\text{-HC}$ 110A, 100x21.20 mm; 流动相: 甲醇/水 10~100%梯度)进行纯化。通过 LCMS(柱子: 50x4.6 mm Prodigy ODSIII (5 μ) 色谱柱; 流动相: 乙腈/水(0.1%甲酸)5~100%梯度, 时间 2 分钟, 100%乙
- 20 腈保持 1 分钟; 流速 4 mL/分钟; UV 检测于 215 nm; 质谱: 150-900 Da 全扫描 APCI+质心数据)进行表征和分析。

下列产物是根据上述方法制备的, 原料列于表 4 中, 所根处的试验结果示于表 5 中

25

表 4

实施例	中间产物 <u>e</u>	中间产物 <u>f</u> : IR (cm^{-1})
87	萘-1-基-甲醇	1754
88	(3,4-二甲氧基-苯基)-甲醇	1754
89	萘-2-基-甲醇	1752
90	茛满-2-醇	1765
91	(3,4-二氯-苯基)-甲醇	1754

92	(4-甲氧基-苯基)-甲醇	1748
93	(4-氯-苯基)-甲醇	1761
94	(2-氟-苯基)-甲醇	1752
95	(2-氯-苯基)-甲醇	1764
96	(4-硝基-苯基)-甲醇	1761
97	邻甲苯基-甲醇	1757
98	(4-叔丁基-苯基)-甲醇	1766
99	(3-硝基-苯基)-甲醇	1769
100	(2-甲氧基-苯基)-甲醇	1766
101	(4-三氟甲基-苯基)-甲醇	1763
102	(3-乙氧基-苯基)-甲醇	1767
103	3-羟基甲基-苄腈	1769
104	(2,4-二氯-苯基)-甲醇	1768
105	间甲苯基-甲醇	1757
106	(3-苯氧基-苯基)-甲醇	1766
107	(3-三氟甲基-苯基)-甲醇	1770
108	对甲苯基-甲醇	1759
109	(2,3-二氯-苯基)-甲醇	1758
110	喹啉-6-基-甲醇	1761

表 5

实 施 例	产物	MH ⁺	纯 度 %	LCMS 保留时间 (分钟)	BB ₁ IC50 (nm)	BB ₂ IC50 (nm)
87	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 氨基甲酸茶-1-基甲基酯	574,73	100	1.67	239	IA
88	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 氨基甲酸 3,4-二甲氧基-苄基酯	584,72	95	1.41	1758	IA

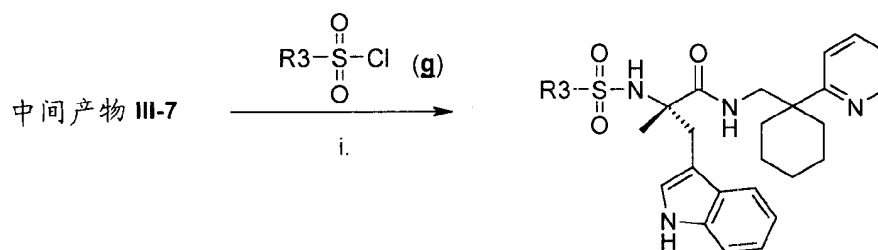
89	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸萘-2-基甲基酯	574,73	100	1.67	1001	IA
90	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸茚满-2-基酯	550,71	91	1.59	955	IA
91	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3,4-二氯-苄基酯	593,56	93	1.73	202	IA
92	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-甲氧基-苄基酯	554,70	93	1.49	1610	IA
93	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-氯-苄基酯	559,11	98	1.62	681	IA
94	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-氟-苄基酯	542,66	91	1.52	923	IA
95	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-氯-苄基酯	559,11	89	1.62	624	IA
96	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-硝基-苄基酯	569,67	97	1.51	41	463
97	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-甲基-苄基酯	538,70	94	11.60	751	IA
98	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-叔丁基-苄基酯	580,78	100	1.86	1986	IA

99	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-硝基-苄基酯	569,67	97	1.51	17	612
100	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2-甲氧基-苄基酯	554,70	96	1.52	818	IA
101	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 4-三氟甲基-苄基酯	592,67	97	1.7	1102	IA
102	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-乙氧基-苄基酯	568,72	89	1.60	1065	IA
103	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-氟基-苄基酯	549,68	99	1.43	85	IA
104	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 2,4-二氯-苄基酯	593,56	95	1.78	450	IA
105	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-甲基-苄基酯	538,70	96	1.59	841	IA
106	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-苯氧基-苄基酯	616,77	96	1.78	1350	IA
107	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-氨基甲酸 3-三氟甲基-苄基酯	592,67	96	1.67	182	IA
108	{{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}-	538,70	97	1.60	1084	IA

	氨基甲酸 4-甲基-苄基酯					
109	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 氨基甲酸 2,3-二氯-苄基酯	593,56	94	1.73	152	IA
110	{(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基}- 氨基甲酸喹啉-6-基甲基酯	575,72	97	1.22	171	IA

实施例 111-168

中间产物 III-7 的 N-末端磺酰胺衍生物



5

方案 10

实施例 111-168

在方案 10 中， R^3 代表中间产物 **g** 的剩余部分。这些中间产物 **g** 列于表 6 中。

向磺酰氯 **g** (0.14 mmol) 中加入 0.143 M 中间产物 III-7 的 DMF 溶液 (700 μL , 0.10 mmol)，然后加入 300 μL 含二异丙基乙胺 (0.667 M 的 DMF 溶液, 0.20 mmol) 与 4-二甲基氨基吡啶 (0.033 M 的 DMF 溶液, 0.01 mmol) 混合物的溶液。将反应混合物在轨道振动器上于 70°C 摇动 16 小时。将粗反应混合物加载在 5 g 二氧化硅柱上，柱用乙酸乙酯的庚烷溶液的溶液 (30~100% 梯度) 洗脱。在减压下除去溶剂，得到磺酰胺 (实施例 111-168)。磺酰胺的纯度通过 LCMS 检测。将纯度小于 95% 的样品通过制备 HPLC (柱子: YMC-Pack ODS-AM, 5 μm , 150x20 mm; 流动相: 乙腈/水 40~100% 梯度) 进一步纯化。通过 LCMS (柱子: 150x4.6 mm Prodigy ODS3 (3 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈 (0.085% TFA)/水 (0.1% TFA) 20~100% 梯度，时间为 7 分钟，100% 乙腈 (0.085%

TFA)保持 1 分钟；流速 1.5 mL/分钟；检测：二极管阵列 200-300 nm；质谱：150-900 Da 全扫描 APCI+质心数据)进行表征和分析(见表 7)。

下面的实施例是通过上述方法制备的，原料列于表 6 中，所得到的试验结果列于表 7 中：

5

表 6

实施例	中间产物 g
111	苯基-甲磺酰氯
112	4-甲基-苯磺酰氯
113	2-氯-苯磺酰氯
114	2-氟-苯磺酰氯
115	萘-1-磺酰氯
116	4-氯-苯磺酰氯
117	5-二甲基氨基-萘-1-磺酰氯
118	萘-2-磺酰氯
119	噻吩-2-磺酰氯
120	喹啉-8-磺酰氯
121	3-硝基-苯磺酰氯
122	4-氟-苯磺酰氯
123	4-硝基-苯磺酰氯
124	3-三氟甲基-苯磺酰氯
125	3,4-二氯-苯磺酰氯
126	3-氟-苯磺酰氯
127	4-三氟甲基-苯磺酰氯
128	5-氯-噻吩-2-磺酰氯
129	2-三氟甲基-苯磺酰氯
130	3-氯-苯磺酰氯
131	3-甲基-苯磺酰氯
132	3,4-二甲氧基-苯磺酰氯
133	4-氰基-苯磺酰氯

134	2-氟基-苯磺酰氯
135	5-氯-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-磺酰氯
136	3,5-二甲基-异噁唑-4-磺酰氯
137	苯并[1,2,5]噁二唑-4-磺酰氯
138	1-甲基-1H-咪唑-4-磺酰氯
139	苯并[1,2,5]噁二唑-4-磺酰氯
140	3-氯磺酰基-噻吩-2-羧酸甲酯
141	5-异噁唑-3-基-噻吩-2-磺酰氯
142	(2-硝基-苯基)-甲磺酰氯
143	3-氟基-苯磺酰氯
144	1,2-二甲基-1H-咪唑-4-磺酰氯
145	3-甲氧基-苯磺酰氯
146	8-硝基-萘-1-磺酰氯
147	2-氯-5-硝基-苯磺酰氯
148	2,4,6-三氯-苯磺酰氯
149	4-氯-2-硝基-苯磺酰氯
150	5-苯磺酰基-噻吩-2-磺酰氯
151	4-三氟甲氧基-苯磺酰氯
152	5-甲基-2-苯氧基-苯磺酰氯
153	2-对甲苯氧基-苯磺酰氯
154	联苯基-2-磺酰氯
155	2-氯磺酰基-苯甲酸甲酯
156	3-氯-4-氟-苯磺酰氯
157	2,5-二氯-噻吩-3-磺酰氯
158	3-氯-4-甲基-苯磺酰氯
159	2-甲氧基-4-甲基-苯磺酰氯
160	5-吡啶-2-基-噻吩-2-磺酰氯
161	5-溴-6-氯-吡啶-3-磺酰氯
162	2,4-二硝基-苯磺酰氯
163	4-甲磺酰基-苯磺酰氯

164	4-叔丁基-苯磺酰氯
165	2,4-二氯-5-甲基-苯磺酰氯
166	氯-三氟甲基-苯磺酰氯
167	硝基-三氟甲基-苯磺酰氯
168	4-丁基-苯磺酰氯

表 7

实 施 例	产物	MH ⁺	纯度 %	LCMS 保留时间 (分钟)	BB ₁ IC50 (nm)	BB ₂ IC50 (nm)
111	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-苯基甲磺酰基氨基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	544,72	100	4.64	186	IA
112	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(甲苯-4-磺酰基氨基)-丙酰胺	544,72	100	4.74	557	IA
113	(S)-2-(2-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	565,14	100	4.71	257	IA
114	(S)-2-(2-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	548,68	100	4.54	267	IA
115	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(萘-1-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	580,76	99	4.98	185	1576
116	(S)-2-(4-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	565,14	97	4.89	373	4386
117	(S)-2-(5-二甲基氨基-萘-1-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基	623,82	100	4.39	1302	IA

	-环己基甲基)-丙酰胺					
118	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(苯-2-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	580,76	100	5.01	322	IA
119	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(噻吩-2-磺酰基氨基)-丙酰胺	536,72	99	4.39	232	Ia
120	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(喹啉-8-磺酰基氨基)-丙酰胺	581,74	99	4.53	108	IA
121	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(3-硝基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	575,69	99	4.58	208	1960
122	(S)-2-(4-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	548,68	100	4.60	560	4165
123	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(4-硝基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	575,69	98	4.65	515	IA
124	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(3-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺	599,58	100	5.03	440	2246
125	(S)-2-(3,4-二氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	599,58	99	5.47	216	IA
126	(S)-2-(3-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	548,68	100	4.65	407	2761
127	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(4-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺	598,69	95	5.31	553	IA

128	(S)-2-(5-氯-噻吩-2-磺酰基氨基)-3-(1H- 吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己 基甲基)-丙酰胺	571,17	99	4.94	404	IA
129	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶- 2-基-环己基甲基)-2-(2-三氟甲基-苯磺酰 基氨基)-丙酰胺	598,69	99	5.11	134	-
130	(S)-2-(3-氯-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶- 3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲 基)-丙酰胺	565,14	99	5.05	331	2687
131	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶- 2-基-环己基甲基)-2-(甲苯-3-磺酰基氨 基)-丙酰胺	544,72	99	4.93	393	1019
132	(S)-2-(3,4-二甲氧基-苯磺酰基氨基)-3- (1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基- 环己基甲基)-丙酰胺	590,75	98	4.50	608	IA
133	(S)-2-(4-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡 啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基 甲基)-丙酰胺	555,70	99	4.61	766	IA
134	(S)-2-(2-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡 啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基 甲基)-丙酰胺	555,70	97	4.62	408	IA
135	(S)-2-(5-氯-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-磺酰 基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1- 吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	583,16	98	4.38	1252	IA
136	(S)-2-(3,5-二甲基-异噻唑-4-磺酰基氨 基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶- 2-基-环己基甲基)-丙酰胺	549,70	96	4.54	515	IA
137	(S)-2-(苯并[1,2,5]噻二唑-4-磺酰基氨 基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶- 2-基-环己基甲基)-丙酰胺	588,76	97	4.67	256	IA
138	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(1-甲基-	534,69	100	3.60	3667	IA

	1H-咪唑-4-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺					
139	(S)-2-(苯并[1,2,5]噁二唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	572,69	100	4.70	507	IA
140	3-[(S)-2-(1H-咪唑-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基氨基磺酰基]-噻吩-2-羧酸甲酯	594,76	100	4.79	167	IA
141	(S)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-(5-is 噁唑-3-基-噻吩-2-磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	603,77	98	4.60	534	IA
142	(S)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-2-(2-硝基-苯基甲磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	589,72	100	4.65	430	IA
143	(S)-2-(3-氟基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	555,70	99	4.55	460	IA
144	(S)-2-(1,2-二甲基-1H-咪唑-4-磺酰基氨基)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	548,71	96	3.55	2482	IA
145	(S)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-(3-甲氧基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	560,72	99	4.75	295	3686
146	(S)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-2-(8-硝基-萘-1-磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	625,75	99	4.89	177	IA
147	(S)-2-(2-氯-5-硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-咪唑-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	610,14	96	5.00	374	Ia

148	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2,4,6-三氯-苯磺酰基氨基)-丙酰胺	634,03	100	5.45	215	Ia
149	(S)-2-(4-氯-2-硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	610,14	100	5.13	513	IA
150	(S)-2-(5-苯磺酰基-噻吩-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	676,88	100	5.03	297	IA
151	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(4-三氟甲氧基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺	614,69	99	5.35	635	IA
152	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(5-甲基-2-苯氧基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	636,82	97	5.79	76	IA
153	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(2-对甲苯氧基-苯磺酰基氨基)-丙酰胺	636,82	97	5.79	90	IA
154	(S)-2-(联苯基-2-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	606,79	97	5.52	166	IA
155	2-[(S)-2-(1H-吡啶-3-基)-1-甲基-1-[(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-氨基甲酰基]-乙基氨基磺酰基]-苯甲酸甲酯	588,73	99	4.84	242	IA
156	(S)-2-(3-氯-4-氟-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	583,13	95	5.12	284	1216
157	(S)-2-(2,5-二氯-噻吩-3-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	605,61	99	5.23	214	IA

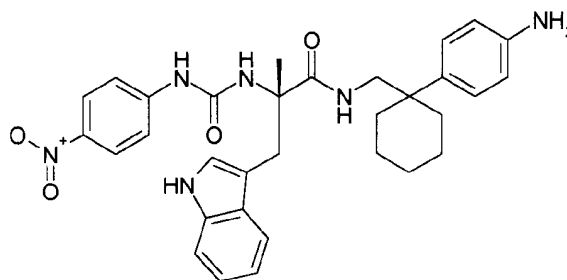
158	(S)-2-(3-氯-4-甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	579,17	97	5.28	299	3939
159	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(2-甲氧基-4-甲基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	574,75	96	4.92	445	IA
160	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-2-(5-吡啶-2-基-噻吩-2-磺酰基氨基)-丙酰胺	613,81	100	4.79	344	IA
161	(S)-2-(5-溴-6-氯-吡啶-3-磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	645,02	95	5.09	187	IA
162	(S)-2-(2,4-二硝基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	620,69	100	4.97	475	IA
163	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-(4-甲磺酰基-苯磺酰基氨基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	608,78	98	4.20	1043	IA
164	(S)-2-(4-叔丁基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	586,80	96	5.65	406	IA
165	(S)-2-(2,4-二氯-5-甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	613,61	97	5.64	172	IA
166	(S)-2-(氯-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	633,14	100	5.33	627	IA
167	(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-(硝基-三氟甲基-苯磺酰基氨基)-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	643,69	100	5.34	758	IA

168	(S)-2-(4-丁基-苯磺酰基氨基)-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-N-(1-吡啶-2-基-环己基甲基)-丙酰胺	586,80	96	5.84	492	IA
-----	---	--------	----	------	-----	----

实施例 169

蛙皮素拮抗剂在性欲唤醒的麻醉兔模型中增强雌性生殖器血流中骨盆神经刺激的增加。

- 5 所使用的蛙皮素拮抗剂 = 化合物 1 和 (2S)-N-{[1-(4-氨基苯基)环己基]甲基}-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-{[(4-硝基苯胺基)羰基]氨基}丙酰胺(化合物 3)。



- 10 hBB₁ Ki 0.25 nM

hBB₂ Ki 46 nM

- 雌性新西兰兔(~2.5kg)预先组合给用 Medetomidine (Domitor®) 0.5ml/kg i.m.与氯胺酮(Vetalar®) 0.25ml/kg i.m., 同时保持通过面罩摄取氧。将兔子进行气管开口, 使用 Portex™未加套管的气管内导管 3ID., 其与呼吸机相连并
- 15 并保持 30-40 次呼吸/分钟的呼吸速度, 大约 18-20ml 的呼吸容量, 及最大 10 cm H₂O 的气道压力。然后将麻醉转换至异氟烷, 同时继续以 2l/分钟进行供 O₂。将 23G 或 24G 导管插入右边缘耳静脉, 以 0.5ml/分钟灌注 Lactated Ringer 溶液。兔子在侵袭性手术期间保持在 3%的异氟烷, 对于维持麻醉降低至 2%。

- 20 将兔的左侧腹股沟区去毛并沿股骨制备长度大约 5cm 的垂直切口。暴露并分离股静脉和动脉, 然后插入 PVC 导管(17G), 用于灌输药物和化合物。重复对股动脉进行套管插入术, 插入导管至 10cm 的深度, 以保证导管到达腹主动脉。将该动脉插管与 Gould 系统相连以记录血压。还通过该动脉插管采取血内气体分析的样品。测量收缩压和舒张压, 并利用式(舒张压

×2+收缩压) ÷3 计算平均动脉压。通过脉搏量氧计和 *Po-ne-mah* 数据获取软件系统(Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc)测定心率。腹部中线切口至腹腔。该切口刚好在耻骨上面长度约 5cm。直接切开脂肪和肌肉以露出腹下神经, 其经由整个体腔。必要的是贴近耻骨壁侧面曲线, 以避免破坏布置在耻骨上面的股静脉和股动脉。坐骨和骨盆神经布置较深, 并在进一步解剖兔子背面之后定位。一旦识别出坐骨神经, 骨盆神经就容易定位了。术语骨盆神经不严格地使用; 在这个问题上, 解剖学书籍没能足够详细地标识该神经。然而, 该神经的刺激导致阴道和阴蒂血流的增加, 以及骨盆区的运动感觉。骨盆神经远离周围组织并将 Harvard 双极性刺激电极在该神经附近。该神经轻微地升起并产生一定的张力, 然后将电极固定在适当位置。在神经和电极周围放置大约 1ml 的轻石蜡油。其充当神经的防护性润滑剂并防止电极的血液污染。将电极与 Grass S88 刺激器相连。利用以下参数刺激骨盆神经: -5V, 脉冲宽度 0.5ms, 刺激持续时间 10 秒, 频率范围 2 至 16Hz。对于各个 15~20 分钟的神经刺激, 获得重

15 现性的反应。在各实验开始时测定频率响应曲线, 以便确定次最大(sub maximal)反应时使用的最佳频率, 一般为 4Hz。在耻骨的尾端腹部中线切口, 以暴露阴部区。去除结缔组织, 以暴露出阴蒂被膜, 保证壁上无小血管。还通过去除任何结缔组织显露出外部的阴道壁。将一种激光 Doppler 流量探针插入阴道 3cm, 以便一半的探针杆仍然是可见的。将第二个探针定位,

20 使得它刚好布置在外部的阴蒂壁上面。然后调整这些探针的位置直到获得信号为止。将第二探针刚好放置在外部阴道壁上的血管表面上。两个探针夹紧在适当位置。

将化合物1和化合物3溶解于50%的于盐水中的β-环糊精中。将其以 15mg/kg的剂量皮下(sc)给药。记录阴道和阴蒂血流, 或者是采用*Po-ne-mah* 数据采集软件系统(Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc)的流量计直接获得数据, 或者间接地来自Gould图表记录仪的轨迹。在实验开始时设定标度(0-125ml/分钟/100g组织)。所有数据以平均值±标准差的形式记录。显著性变化利用Student's t-检验进行鉴定。

25

非选择性的 BB₁/BB₂ 蛙皮素受体拮抗剂(化合物 1; 15mg/kg sc)充当麻醉兔中股盆神经刺激(PNS)增加生殖器血流的有效的强化因子(图 22)。化合物 1 在没有 PNS 时对基础的生殖器血流没有作用(图 22)。这强化了我们的观

30

点，拮抗/阻断 BB_1/BB_2 受体将会通过加强控制性欲唤醒/生殖器血流的中枢机制来增强唤醒反应，并且不会在不存在性刺激的情况下诱导性唤醒。

选择性的 BB_1 蛙皮素受体拮抗剂(化合物 3; 15mg/kg sc)充当麻醉兔中股盆神经刺激(PNS)增强阴道和阴蒂血流的有效的强化因子(图 23)。增强趋势在 sc 给药 45 分钟之后是显著的，并且保持上升约 1 小时。化合物 3 在不存在 PNS 的情况下对基础的生殖器血流没有作用(图 23)。这强化了我们的观点，选择性 BB_1 受体拮抗剂将会通过加强控制性欲唤醒/生殖器血流的中枢机制来增强唤醒反应，进而治疗 FSAD，并且不会在不存在性刺激的情况下诱导性唤醒。由于这些药物还增强阴蒂血流，所以它们可能对治疗性欲高潮障碍有效。

在生殖器水平，所观察到的增强作用类似于由阿朴吗啡观察到的有益作用，因此我们相信，中枢神经调节增强下降的控制生殖器血流的神经元通道是可信的。

15 实施例 170

蛙皮素拮抗剂(化合物 1 和 3)诱导有意识的雄性大鼠的阴茎海绵体内压力的增加。

所使用的蛙皮素拮抗剂 = 化合物 1 和 (2S)-N-[[1-(4-氨基苯基)环己基]甲基]-3-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基-2-[[4-(4-硝基苯胺基)羰基]氨基]丙酰胺(化合物 3)。

除了用于治疗患有 FSD 的妇女，蛙皮素拮抗剂还可用于治疗男性勃起功能障碍(MED)。非选择性的 $BB_1/2$ 拮抗剂(化合物 1; 10mg/kg sc)和选择性的 BB_1 受体拮抗剂(化合物 3; 15mg/kg sc)在有意识的大鼠阴茎勃起模型中是原勃起的(pro-erectile)(图 24 和 25)。勃起反应通过测量海绵体内压力来记录，利用外科手术植入的遥感装置。有关外科方法、数据采集和分析的详情可以参见 Bernabe 1999。

将化合物 1 和化合物 3 溶解于 50% 的于盐水中的 β -环糊精中。将其以 15mg/kg 的剂量皮下(sc)给药。在以 10mg/kg 皮下给药化合物 1 1 小时之后，及以 15mg/kg 皮下给药化合物 3 45 分钟之后，观察到海绵体内压力显著增加。这些增加等同于阴茎勃起。化合物 1 和 3 导致大量的勃起，其方式类似于用阿朴吗啡或 melanotan-II 中观察到的方式，二者均为临床证实的有效治

疗MED的药物。况且，所观察到的增加幅度与用阿朴吗啡或melanotan-II观察到的类似。认为作用机理类似于对女性生殖器血流的影响，下降的控制阴茎勃起的神经元通道的CNS增强。

5 实施例171

蛙皮素拮抗剂与 PDE5 抑制剂的伴随给药提高骨盆神经刺激增加麻醉的勃起兔模型中阴茎海绵体内压力

除治疗女性 FSD 之外，蛙皮素拮抗剂还可以单独或与选择性 PDE5 抑制剂共同用于治疗男性勃起功能障碍(MED)。

- 10 将雄性新西兰兔(~2.5kg)预先组合给用 Medetomidine(Domitor®) 0.5ml/kg i.m.与氯胺酮(Vetalar®)0.25ml/kg i.m.，同时保持通过面罩摄取氧。将兔子进行气管开口，使用 Portex™未加套管的气管内导管 3ID.，其与呼吸机相连并保持 30-40 次呼吸/分钟的呼吸速度，大约 18-20ml 的呼吸容量，及最大 10 cm H₂O 的气道压力。然后将麻醉转换至异氟烷，同时继续以 2l/分钟进行供 O₂。将 23G 或 24G 导管插入右边缘耳静脉，以 0.5ml/分钟灌注 Lactated Ringer 溶液。兔子在侵袭性手术期间保持在 3%的异氟烷，对于维持麻醉降低至 2%。暴露并分离左侧颈静脉，然后插入 PVC 导管(17G)，用于灌输药物和化合物。

- 20 将兔的左侧腹股沟区去毛并沿股骨进行长度大约 5cm 的垂直切口。暴露并分离股静脉和动脉，然后插入 PVC 导管(17G)，用于灌输药物和化合物。重复对股动脉进行套管插入术，插入导管至 10cm 的深度，以保证导管到达腹主动脉。将该动脉插管与 Gould 系统相连以记录血压。还通过该动脉插管采取血内气体分析的样品。测量收缩压和舒张压。并利用式(舒张压 × 2 + 收缩压) ÷ 3 计算平均动脉压。通过脉搏量氧计和 *Po-ne-mah* 数据获取软件系统(Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc)测定心率。

- 30 进行腹部中线切口，至腹腔。该切口长度约 5cm，刚好在耻骨上面。直接切开脂肪和肌肉以露出腹下神经，其通过整个体腔。必要的是贴近耻骨壁侧面曲线，以避免破坏布置在耻骨上面的股静脉和股动脉。坐骨和骨盆神经布置较深，并在进一步解剖兔子背面之后定位。一旦识别出坐骨神经，骨盆神经就容易定位了。术语骨盆神经不严格地使用；在这个问题上，

解剖学书籍没能足够详细标识该神经。然而，该神经的刺激导致海绵体内压力和海绵体血流，以及骨盆区神经支配的增加。使骨盆神经远离周围组织，并将 Harvard 双极性刺激电极放置在神经周围。神经轻微地升高至产生一定的张力，然后将电极固定在适当位置。在神经和电极周围放置大约 1ml 5 的轻质石蜡油。其充当神经的防护性润滑剂并防止电极的血液污染。将电极与 Grass S88 刺激器相连。利用以下参数刺激骨盆神经：-5V，脉冲宽度 0.5ms，刺激持续时间 20 秒，频率为 16Hz。对于各个 15~20 分钟的神 经刺激，获得重现性的反应。利用上述参数进行若干刺激，以建立平均的控制响应。利用 Harvard 22 灌流泵通过颈静脉灌注要试验的化合物，以进行连 10 续 15 分钟的刺激周期。去除阴茎周围的皮肤和结缔组织以暴露出阴茎。通过被膜 albica 将导管套(*Insyte-W*, Becton-Dickinson 20 Gauge 1.1x48mm)插入左侧主体海绵体中，去除针状体，留下柔软的导管。该导管通过压力传感器(*Ohmeda 5299-04*)与 Gould 体系相连，以记录海绵体内压力。一旦海绵体内压力建立，利用 *Vetbond*(组织粘合剂，3M)将导管在适当的位置密封。通 15 过脉搏量氧计和 *Po-ne-mah* 数据获取软件系统(*Ponemah Physiology Platform*, Gould Instrument Systems Inc)测定心率。

记录海绵体内血流，或者是采用 *Po-ne-mah* 数据采集软件系统(*Ponemah Physiology Platform*, Gould Instrument Systems Inc)的流量计直接获得数据，或者间接地来自 Gould 图表记录仪的轨迹。在实验开始时设定标度(0-125ml/ 20 分钟/100g 组织)。所有数据以平均值±标准差的形式记录。显著性变化利用 Student's t-检验进行鉴定。

将化合物 1 和化合物 3 溶解于 50% 的于盐水中的 β -环糊精中。将其以 15mg/kg 的剂量皮下(sc)给药。化合物 3 对 BB1 受体与 PDE5 抑制剂对 PDE5 酶的伴随抑制作用对海绵体内压力，或者勃起过程产生显著的增强作用。

25 图 26 证实，化合物 3 (10mg/kg sc)与选择性的 PDE5 抑制剂(3-乙基-5-{5-[4-乙基哌嗪)磺酰基-2-丙氧基苯基}-2-(2-吡啶基甲基)-6,7-二氢-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮也称之为 3-乙基-5-{5-[4-乙基哌嗪-1-基磺酰基)-2-正丙氧基苯基}-2-(2-吡啶基)甲基-2,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(见 WO98/491066; 1mg/kg iv)的伴随抑制作用对 ICP 或者勃起过程产生显著的 30 增强作用，与单独给用相同剂量的化合物 3 抑制剂所获得的作用相比。BB₁拮抗剂和 PDE5 抑制剂或者二者的组合，对未刺激的海绵体内压力没有显

著的作用，即它们缺乏性驱动/唤醒时不诱导上述增强作用。该数据表明，伴随给用 PDE5 抑制剂和蛙皮素拮抗剂较单独的 PDE5 抑制剂治疗具有很多临床优点。这些优点包括治疗 MED 亚型(对 PDE5 抑制剂疗法无反应)的功效和机会。

5

试验测定：辅助化合物

NEP 酶测定

制备并分析来源于犬，大鼠，兔和人肾皮层的可溶性的中性肽链内切酶(NEP)。

- 10 可溶性的 NEP 得自肾皮层，并通过测量其断裂 NEP 底物 Abz-D-Arg-Arg-Leu-EDDnp 产生其荧光产物 Abz-D-Arg-Arg 的速率来测定其活性。

实验方法

1. 材料

- 15 所有的水均为二次去离子水。

1.1 组织

人肾脏 IIAM (Pennsylvania.美国)

大鼠肾脏

兔肾脏

- 20 犬肾脏

1.2 均质化培养基

100mM 甘露醇和 20mM Tris @ pH 7.1

将 2.42g 的 Tris(Fisher T/P630/60)稀释于 1 升水中并在室温下使用 6M HCl 将 pH 调节到 7.1。向其中加入 18.22g 的甘露醇(Sigma M-9546)。

- 25 1.3 Tris 缓冲液(NEP 缓冲液)

将 50ml 的 50mM Tris pH 7.4 (Sigma T2663)稀释于 950ml 的水中。

1.4 底物(Abz-D-Arg-Arg-Leu-EDDnp)

- 30 从 SNPE 订购，并以粉末形式贮存在-20℃。通过逐渐将底物重新悬浮于 Tris 缓冲液中，制得 2mM 的常备液，其不应进行涡旋或超声波处理。将 600μl 2mM 常备液的等分试样贮存在-20，最长可贮存一个月(Medeiros,

M.A.S., Franca, M.S.F.等, (1997), Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 30, 1157-1162)。

1.5 总产物

5 将对应于 100%底物到产物转化的样品装在平板上, 以便测定底物转化的百分数。总产物通过用 20 μ l 酶储备液在 37 $^{\circ}$ C 培养 1ml 的 2mM 底物 24 小时而生成。

1.6 中止液

在 NEP 缓冲液中制备 300 μ M 的磷酸二肽储备液(Sigma R7385), 并以 50 μ l 的等分试样贮存于-20。

10 1.7 二甲亚砜(DMSO)。

1.8 氯化镁-MgCl₂·6H₂O (Fisher M0600/53)。

1.9 Black 96 孔平底试验板(Costar 3915)。

1.10 Topseal A (Packard 6005185)。

1.11 离心试管。

15

2. 专用设备

2.1 Sorvall RC-5B 离心机(SS34 GSA 转子, 预冷至 4 $^{\circ}$ C)。

2.2 Braun 小型引物混合器。

2.3 Beckman CS-6R 离心机。

20 2.4 Fluostar galaxy。

2.5 Wesbart 1589 摇动培养箱。

3. 方法

3.1 组织制备

25 3.2 由肾脏皮层获得犬、大鼠, 兔及人 NEP, 采用 Booth, A.G. & Kenny, A.J. (1974) Biochem. J. 142, 575-581 中的方法。

3.3 室温下使冷冻的肾脏解冻, 并从髓部分离出皮层。

3.4 将皮层精细地切碎, 并利用 Braun 小型引物混合器(2.2)均质化于大约 10 体积的均质化缓冲液(1.2)中。

30 3.5 将氯化镁(1.8)(20.3mg/gm 组织)加到均质物中并在冰-水浴中搅拌 15 分钟。

3.6 将均质物以 1500g (3820rpm)在 Beckman 离心机(2.3)中离心 12 分钟,然后将上清液移至新的离心试管并弃去沉淀物。

3.7 将上清液在 Sovall 离心机(2.1)中以 15000g (12100rpm)离心 12 分钟并弃去上清液。

5 3.8 将剩余沉淀物顶部的淡粉色层移出并重新悬浮于均质化缓冲液中,该缓冲液中包含氯化镁(9mg MgCl 于 5ml 缓冲液/1g 组织中)。

3.9 将该悬浮液在 Beckman 离心机(2.3)中以 2200g(4630rpm)离心 12 分钟,然后弃去沉淀物。

10 3.10 将上清液在 Sorvall 离心机(2.1)中以 15000g (12100rpm)离心 12 分钟并弃去上清液。

3.11 将最后的沉淀物重新悬浮于均质化缓冲液中,所述缓冲液包含氯化镁(0.9mg MgCl 于 0.5ml 缓冲液/1g 组织中)。采用 Braun 小型引物混合器(2.2)得到均匀的悬浮液。然后将其以 100 μ l 的等分试样冷冻,以便用于 NEP 活性分析。

15

4.0 NEP 活性的测定

通过其断裂NEP特异性肽底物的能力,测量先前等分的NEP的活性。

4.1 制备 4%的 DMSO/NEP 缓冲液(4ml 的 DMSO 于 96ml 的 NEP 缓冲液中)。

20 4.2 将底物、总产物、酶及磷酸二肽储备液放在冰上解冻。

4.3 向每个孔中加入 50 μ l 4%的 DMSO/NEP 缓冲液。

4.4 将 2mM 的底物储备液以 1:40 的比例稀释,制得 50 μ M 的溶液。将 100 μ l 50 μ M 的底物加到每个孔中(最终浓度 25 μ M)。

25 4.5 加入 50 μ l 的系列的酶稀释物以引发反应(通常使用 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 及 1:3200)。将 50 μ l NEP 缓冲液加到空白孔中。

4.6 将 2mM 的总产物以 1:80 比例稀释,制得 25 μ M 溶液。将 200 μ l 25 μ M 的产物加到新平板的前四个孔中。

4.7 将平板在摇动培养箱中于 37 $^{\circ}$ C 培养 60 分钟。

30 4.8 将 300 μ M 的磷酸二肽储备液以 1:100 的比例稀释成 300nM。通过加入 100 μ l 300nM 的磷酸二肽使反应中止,并在摇动培养箱中于 37 $^{\circ}$ C 培养 20 分钟,然后在 Fluostar(ex320/em420)上读数。

5. NEP 抑制作用的测定

- 5.1 将底物，总产物，酶和磷酸二肽储备液放在冰上解冻。
- 5.2 在100%的DMSO中制备化合物储备液，并以1:25的比例稀释于
5 NEP缓冲液中，得到4%的DMSO溶液。所有进一步的稀释均在4%的DMSO
溶液(4ml的DMSO于96ml的NEP缓冲液中)中进行。
- 5.3 将50μl的化合物一式两份地加到96孔平板中，并将50μl 4%的
DMSO/NEP缓冲液加到对照和空白孔中。
- 5.4 将2mM的底物储备液以1:40的比例稀释于NEP缓冲液中，制得
10 50μM溶液(对于1个平板，将275μl 2mM的底物加到10.73ml的缓冲液是足够的)。
- 5.5 将酶储备液稀释于NEP缓冲液中(根据活性检查确定)。
- 5.6 将2mM的总产物储备液以1:80的比例稀释于NEP缓冲液中，制得
25μM溶液。将200μl加到单独板的前四个孔中。
- 15 5.7 将300μM的磷酸二肽储备液以1:1000的比例稀释，制得300nM的
储备液(11μl磷酸二肽加到10.99ml NEP缓冲液中)。
- 5.8 向96孔平板的每个孔中加入下列物质：

表：加入96孔平板的试剂

	化合物/DMSO	Tris 缓冲液	底物	NEP 酶	总产物
样品	2μl 化合物	50μl	100μl	50μl	无
对照	2μl DMSO	50μl	100μl	50μl	无
空白	2μl DMSO	100μl	100μl	无	无
总计	2μl DMSO	无	无	无	200μl

- 20 5.9 通过加入 NEP 酶引发反应，并在摇动培养箱中于 37℃培养 1 小
时。
- 5.10 用 100μl 300nM 的磷酸二肽使反应中止，并在摇动培养箱中于 37
℃培养 20 分钟，然后在 Fluostar(ex320/em420)上读数。

25

6. 计算

在存在和不存在化合物的情况下计算NEP酶的活性，并以百分数的形式表示。

%对照活性(酶的转化率):

$$5 \quad \frac{\text{对照的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}}{\text{总计的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}} \times 100$$

%采用抑制剂的活性:

$$10 \quad \frac{\text{化合物的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}}{\text{总计的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}} \times 100$$

以对照%表示的活性:

$$15 \quad \frac{\text{\%采用抑制剂的活性}}{\text{\%对照活性}} \times 100$$

将%活性(对照的%)对化合物浓度拟合成 S 形的剂量-响应曲线，并通过 Excel 中的 LabStats 拟合曲线计算出 IC₅₀ 值。

20

ACE 测定

由猪和人肾脏皮层制备并测定可溶性血管紧张素转化酶(ACE)。

可溶性 ACE 活性得自肾脏皮层，并通过测量断裂 ACE 底物 Abz-Gly-p-硝基-Phe-Pro-OH 产生荧光产物 Abz-Gly 的速度进行测定。

25

1. 材料

所有的水均为二次去离子水。

1.1 人肾脏 IIAM(Pennsylvania.美国)或英国人体组织库(UK HTB)

1.2 猪肾脏 ACE Sigma (A2580)

30

1.3 均质化缓冲液-1

100mM 甘露醇和 20mM Tris @ pH 7.1

将 2.42g 的 Tris(Fisher T/P630/60) 稀释于 1 升水中, 并在室温下用 6M HCl 将 pH 调节至 7.1。向其中加入 18.22g 的甘露醇(Sigma M-9546)。

1.4 均质化缓冲液-2

100mM 甘露醇, 20mM Tris @ pH7.1 和 10mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fisher M0600/53)

向 500ml 的均质化缓冲液 1 (1.4) 中加入 1.017g 的 MgCl_2 。

1.5 Tris 缓冲液(ACE 缓冲液)。

50mM Tris 和 300mM NaCl @ pH 7.4

在水中, 将 50ml 的 50mM Tris pH 7.4 (Sigma T2663) 和 17.52g NaCl (Fisher S/3160/60) 制成 1000ml。

1.6 底物(Abz-D-Gly-p-硝基-Phe-Pro-OH) (Bachem M-1100)

将 ACE 底物以粉末贮存在 -20°C 。通过逐渐再悬浮底物于 ACE 缓冲液中, 制备 2mM 的储备液, 对其不能进行涡旋或超声波处理。400 μl 2mM 储备液的等分试样贮存于 -20°C 下, 最多贮存 1 个月。

15 1.7 总产物

将对应于 100% 底物转化成产物的样品加载在板上, 以便测定底物转化百分数(见计算)。总产物是通过在 37°C 用 20 μl 的酶储备液培养 1ml 的 2mM 底物 24 小时而生成的。

1.8 中止液

20 将 0.5M EDTA (Promega CAS[6081/92/6]) 以 1:250 的比例稀释于 ACE 缓冲液中, 制得 2mM 溶液。

1.9 二甲亚砜(DMSO)。

1.10 氯化镁- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fisher M0600/53)。

1.11 Black 96 孔平底试验板(Costar 3915 或 Packard)。

25 1.12 Topseal A (Packard 6005185)。

1.13 离心试管。

2. 专用设备

2.1 Sorvall RC-5B 离心机(SS34 GSA 转子, 预冷至 4°C)。

30 2.2 Braun 小型引物混合器。

2.3 Beckman CS-6R 离心机。

2.4 BMG Fluostar Galaxy。

2.5 Wesbart 1589 摇动培养箱。

3. 方法

5 3.1 组织制备

3.2 人类 ACE 得自肾脏皮层，采用 Booth, A.G. & Kenny, A.J. (1974) Biochem. J. 142, 575-581 中的方法。

3.3 使冷冻的肾脏在室温下解冻，并从髓部分解出皮层。

3.4 将皮层精细地切碎并均质化于大约 10 体积的均质化缓冲液-1(1.4) 10 中，使用 Braun 小型引物混合器(2.2)。

3.5 向均质物中加入氯化镁(1.11)(20.3mg/gm 组织)，并在冰-水浴中搅拌 15 分钟。

3.6 将均质物在 Beckman 离心机中(2.3)以 1500g(3820rpm)离心 12 分钟，然后将上清液移至新的离心试管中并弃去沉淀物。

15 3.7 将上清液在 Sovall 离心机(2.1)中以 15000g (12100rpm)离心 12 分钟并弃去上清液。

3.8 将剩余的沉淀物顶部的淡粉色层移出并重新悬浮于均质化缓冲液-2 (1.5)中(5ml 缓冲液/1g 组织)。

3.9 将悬浮液在 Beckman 离心机中以 2200g (4630rpm)离心 12 分钟， 20 然后弃去沉淀物。

3.10 将上清液在 Sorvall 离心机上以 15000g(12100rpm)离心 12 分钟并弃去上清液。

3.11 将最终的沉淀物重新悬浮于均质化缓冲液-2(0.5ml 缓冲液/1g 组织) 中。采用 Braun 小型引物混合器得到均匀的悬浮液。然后将以 100μl 的等分 25 试样冷冻，以便用于 NEP 活性测定。

4.0 ACE 活性的测定

通过其断裂 ACE 特异性肽底物的能力，测量前面等分的 ACE 的活性。

将猪的 ACE(1.2)解冻并以 0.004U/μl 悬浮于 ACE 缓冲液(1.6)中，将其 30 以 50μl 的等分试样冷冻。

4.1 制备 4%的 DMSO/ACE 缓冲液(4ml 的 DMSO 于 96ml 的 ACE 缓

冲液中)。

4.2 将底物(1.7), 总产物(1.8)和酶 (1.1, 1.2, 1.3)放在冰上解冻。

4.3 将 50 μ l 的 4% DMSO/ACE 缓冲液加到每个孔中。

4.4 将 2mM 的底物储备液以 1:100 的比例稀释, 制得 20 μ M 溶液。

5 将 100 μ l 的 20 μ M 底物加到每个孔中(试验中的最终浓度为 10 μ M)。

4.5 加入 50 μ l 的系列酶稀释物以引发反应(通常使用 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 及 1:3200)。将 50 μ l 的 ACE 缓冲液加到空白孔中。

4.6 将 2mM 的总产物以 1:200 稀释, 制得 10 μ M 溶液。将 200 μ l 10 μ M 的产物加到新平板的前四个孔中。

10 4.7 将板在摇动培养箱中于 37 $^{\circ}$ C 培养 60 分钟。

4.8 通过加入 100 μ l 2mM 的 EDTA 于 ACE 缓冲液中, 使酶反应中止, 并在摇动培养箱中于 37 $^{\circ}$ C 培养 20 分钟, 之后在 BMG Fluostar Galaxy (ex320/em420)上读数。

15 5. ACE 抑制作用的测定

5.1 将底物, 总产物, 及酶储备液放在冰上解冻。

5.2 在 100%的 DMSO 中制备化合物储备液, 并以 1:25 的比例稀释于 ACE 缓冲液中, 得到 4%的 DMSO 溶液。所有的进一步稀释均在 4%的 DMSO/ACE 缓冲液中进行(4ml 的 DMSO 于 96ml 的 ACE 缓冲液中)。

20 5.3 将 50 μ l 的化合物一式两份地加到 96 孔板中, 并将 50 μ l 的 4%DMSO/ACE 缓冲液加到对照和空白孔中。

5.4 步骤 5.2 和 5.3 可以手工完成, 也可以通过 Packard 多探针自动机械完成。

25 5.5 将 2mM 的底物储备液以 1:100 稀释于 ACE 缓冲液中, 制得 20 μ M 溶液(10 μ M 的最终试验浓度)(对于 1 块平板, 将 110 μ l 的 2mM 底物加到 10.89ml 缓冲液中就足够了)。

5.6 将酶储备液稀释于 ACE 缓冲液中, 根据活性检查确定(4.0)。

5.7 将 2mM 的总产物储备液以 1:200 稀释于 ACE 缓冲液中, 制得 10 μ M 溶液。将 200 μ l 加到单独滴板的前四个孔中。

30 5.8 将 0.5mM 的 EDTA 储备液以 1:250 的比例稀释, 制得 2mM 的储备液(44 μ l EDTA 加到 10.96ml 的 ACE 缓冲液中)。

5.9 向96孔板的每个孔中加入下列试剂：

表1：加入96孔板的试剂

	化合物/DMSO	Tris 缓冲液	底物	ACE 酶	总产物
样品	2μl 化合物	50μl	100μl	50μl	无
对照	2μl DMSO	50μl	100μl	50μl	无
空白	2μl DMSO	100μl	100μl	无	无
总计	2μl DMSO	无	无	无	200μl

5 5.10 将 50μl 最高浓度的各试验化合物一式两份地加到相同的 96 孔板中，作为总计(5.7)。加入 150μl 的 ACE 缓冲液，以测定任何化合物的荧光性。

5.11 通过加入 ACE 酶引发反应，然后在摇动培养箱中于 37℃培养 1 小时。

10 5.12 通过加入 100μl 2mM EDTA 使反应中止，并在摇动培养箱中于 37℃培养 20 分钟，然后在 BMG Fluostar Galaxy (ex320/em420)上读数。

6. 计算

在存在和不存在化合物的情况下计算ACE酶的活性，并表示成百分数。

15 FU = 荧光单位

(i) %对照活性(酶的转化率):

20
$$\frac{\text{对照的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}}{\text{总计的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}} \times 100$$

(ii) %使用抑制剂的活性:

25
$$\frac{\text{化合物的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}}{\text{总计的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}} \times 100$$

(iii) 表示成对照的%的活性:

$$\frac{\% \text{ 使用抑制剂的活性}}{\% \text{ 对照活性}} \times 100 \quad \text{或者}$$

$$5 \quad \frac{\text{化合物的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}}{\text{对照的平均 FU} - \text{空白的平均 FU}} \times 100$$

(iv) $\% \text{抑制} = 100 - \% \text{对照}$

10 (v) 对于荧光化合物，将包含化合物(5.10)的空白的平均 FU 从所使用的化合物平均 FU 值中扣除，以计算出活性%。

将%活性(对照的%)对化合物浓度拟合成 S 形的剂量-响应曲线，并通过 Excel 中的 LabStats 拟合曲线计算出 IC_{50} 值。

15 PDE5 抑制剂 – 试验方法

磷酸二酯酶(PDE)抑制活性

20 通过在体外测量其 IC_{50} 值，测定 PDE 对环鸟苷 3',5'-单磷酸(cGMP)和环腺苷 3',5'-单磷酸(cAMP)的 PDE 抑制活性(50%酶活性抑制所需的化合物浓度)。

将所需的 PDE 酶从各种来源中分离出来，所述来源包括人海绵体，人和兔血小板，人心脏的心室，人骨骼肌以及人和犬视网膜，主要采用 W.J. Thompson 和 M.M. Appleman (Biochem., 1971, 10, 311)的方法。具体地，
25 cGMP-特异性的 PDE(PDE5)和 cGMP-受抑制的 cAMP PDE(PDE3)得自人海绵体或人血小板；cGMP-刺激的 PDE(PDE2)得自人海绵体和人血小板；钙/调钙蛋白(Ca/CAM)-依赖的 PDE(PDE1)得自人心脏的心室；cAMP-特异性的 PDE(PDE4)得自人骨骼肌和表达于 SF9 细胞中的人的重组体；及感光 PDE(PDE6)得自人或犬视网膜。磷酸二酯酶 7-11 由转染至 SF9 细胞的全长
30 的人重组体克隆产生。

试验可以采用下列方法进行，或者采用 W.J. Thompson 等人(Biochem., 1979, 18, 5228)之“间歇”方法的改进方法，或者采用直接检测 AMP/GMP 的闪烁邻近试验(scintillation proximity assay)，该试验采用改进的 Amersham

plc 所述的方案的改进(产品代码为 TRKQ7090/7100)。总之, PDE 抑制剂的作用是通过于各种抑制剂浓度和低底物(cGMP 或 cAMP 的未标定与 $[^3\text{H}]$ -标定的比例为 3:1, 浓度为 $\sim 1/3 K_m$)下试验酶的固定量, 使得 $\text{IC}_{50} \cong K_i$ 进行研究的。最终的试验体积用试验缓冲液[20 mM Tris-HCl pH 7.4, 5 mM MgCl_2 , 1 mg/ml 胎牛血清蛋白]补足至 100 μl 。用酶引发反应, 在 30°C 培养 30~60 分钟, 得到<30%的底物转化率, 并用 50 μl 硅酸钇 SPA 小珠(对 PDE9 和 11 分别含 3 mM 未标记的环核苷酸)终止。将平板重新密封并摇动 20 分钟, 其后使小珠在暗处沉降 30 分钟, 然后在 TopCount 板计数器(Packard, Meriden, CT)上计数。将放射性单位转化成未抑制的对照(100%)的活性%, 相对于抑制剂浓度作图, 并利用 Microsoft Excel 扩展的“拟合曲线”(或内部的等同物)得到抑制剂的 IC_{50} 值。这些实验的结果表明, 本发明的化合物是 cGMP-特异性的 PDE5 的抑制剂。

功能活性

这可以通过测定本发明的化合物增强硝普酸钠或电场刺激诱导的预收缩的兔尸海绵体组织条的松弛的能力进行评价, 采用根据 S.A. Ballard 等人 (Brit. J. Pharmacol., 1996, 118 (suppl.), abstract 153P)或 S.A. Ballard 等人(J. Urology, 1998, 159, 2164-2171)所述的方法。

体内活性

化合物可以在麻醉的犬中筛选, 以确定 i.v.给药之后其增强阴茎海绵体本体中压力升高的能力, 办法是通过向海绵体内注射硝普酸钠来诱导, 使用 Trigo-Rocha 等人(Neourolog. and Urodyn., 1994, 13, 71)所述的方法。

NPY 试验:

鉴定 NPY 抑制剂的试验见 WO-A-98/52890 (page 96, lines 2 to 28)。

其它的参考文献

Anastasi A.等, *Experientia*, 1971; 27: 166

S A Ballard 等, *Journal of Urology*, 1998, vol. 159, pages 2164-2171

Barker, P. E.; Shipp, M. A.; D'Adamio, L.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L.
常见的急性淋巴细胞增多白血病在染色体区域 3(q21-q27)的抗原基因图, *J.*
5 *Immun.* 142: 283-287, 1989.

Batley J.,等, *TINS*, 1991;14:524

Baum M.J., *J. Biosci.*, 1983; **33**:578-582

10

Benet A.E and Melman A, 1995, *Urol. Clin. N. Amer.* 22: 699-709

Berman 等, 1999, 性欲活动减退疾病, 性唤醒障碍, 性快感缺失和性
疼痛疾病, *Urology* 54: 385-391。

15

Berman, J., Goldstein, I., Werbin, T.等(1999a), 评价西地那非对女性性反
应的生理参数作用的交换的双盲安慰剂控制研究, *J. Urol.*, 161, 805.

Berman J.R.等 *Int. J. Impot. Res.*, 1999, 11: S31-38

20

Bernabe J, Rampin O, Sachs BD, Giuliano F, 大鼠勃起期间海绵体内压
力: 基于远距离记录的综合方法, *Am J Physiol.* 1999 Feb;276(2 Pt 2):R441-9.

Bonney R.C 等, *Scrip's Complete Guide to Women's Healthcare*, PJB
25 Publications Ltd, London, 2000

Braun M.,等, *Life. Sci.*, 1978; 23: 2721

Bundgaard 等, *Acta Pharm. Suec.*, 1987; 24: 233-246

30

D'Adamio, L.; Shipp, M. A.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L.: 编码常见急

- 性淋巴细胞增多白血病抗原基因的组织：许多小外显子和单独的 5-引物的非翻译区，*Proc. Nat. Acad. Sci.* 86: 7103-7107, 1989.
- Dutta A.S., *Small Peptides; Chemistry, Biology, and Clinical Studies*,
5 Chapter 2, pp 66-82
- J. Fröhlich 等, *Heterocycles* 1994, 37, 1879-91
- Goldstein, I. & Berman, J.R. (1998)血管化的女性性功能障阻：阴道充血
10 和阴蒂勃起不足综合症，*Int. J. Impot. Res.*, 10, S84-S90.
- Johnson M and Everitt B., *Essential Reproduction (3rd edn)*, Blackwell, Oxford, 1988.
- 15 Ladenheim E.E 等, *Brain Res.*, 1990; 537: 233-240
- Laumann 等, 1999 *JAMA* 281:537-544)
- Letarte, M.; Vera, S.; Tran, R.; Addis, J. B. L.; Onizuka, R. J.; Quackenbush,
20 E. J.; Jongeneel, C. V.; McInnes, R. R. : 常见的淋巴细胞增多白血病抗原和中
性肽链内切酶相同，*J. Exp. Med.* 168: 1247-1253, 1988.
- Meyerson B.J, Lindstrom L.H., *Acta Physiol. Scand.*, 1973; 389 (Suppl.): 1-
80.
25
- O' Donohue W,等, *Clin. Psychol. Rev.* 1997; 17: 537-566.
- Park, K., Goldstein, I., Andry, C.,等(1997)，血管化的女性性功能障阻：
阴道充血不足和阴蒂勃起不足的血液动力学基础，*Int. J. Impotence Res.*, 9,
30 27-37.

Sachs B. D., *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 2000, 24 541-560.

- Shipp, M. A.; Vijayaraghavan, J.; Schmidt, E. V.; Masteller, E. L.; D'Adamio, L.; Hersh, L. B.; Reinherz, E. L. : 常见的急性淋巴细胞增多白血症
5 抗原(CALLA)是活性中性肽链内切酶 24、11(‘脑啡肽酶’): 由 cDNA 转染分析的直接证据, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 86: 297-301, 1989.

- Tran-Paterson, R.; Willard, H. F.; Letarte, M. : 常见的急性淋巴细胞增多
白血管抗原(中性肽链内切酶-3.4.24.11)基因位于人染色体 3, *Cancer Genet.*
10 *Cytogenet.* 42: 129-134, 1989.

Werbin, T., Salimpour, P., Berman, L.,等(1999), 性刺激和年龄对受性刺激的女人生殖器血流的影响, *J. Urol.*, 161, 688.

- 15 Wilson C.A., *Pharmacological targets for the control of male and female sexual behaviour*, In: *Sexual Pharmacology*, Riley A.J.等, (Eds), Clarendon Press, Oxford, 1993: 1-58.

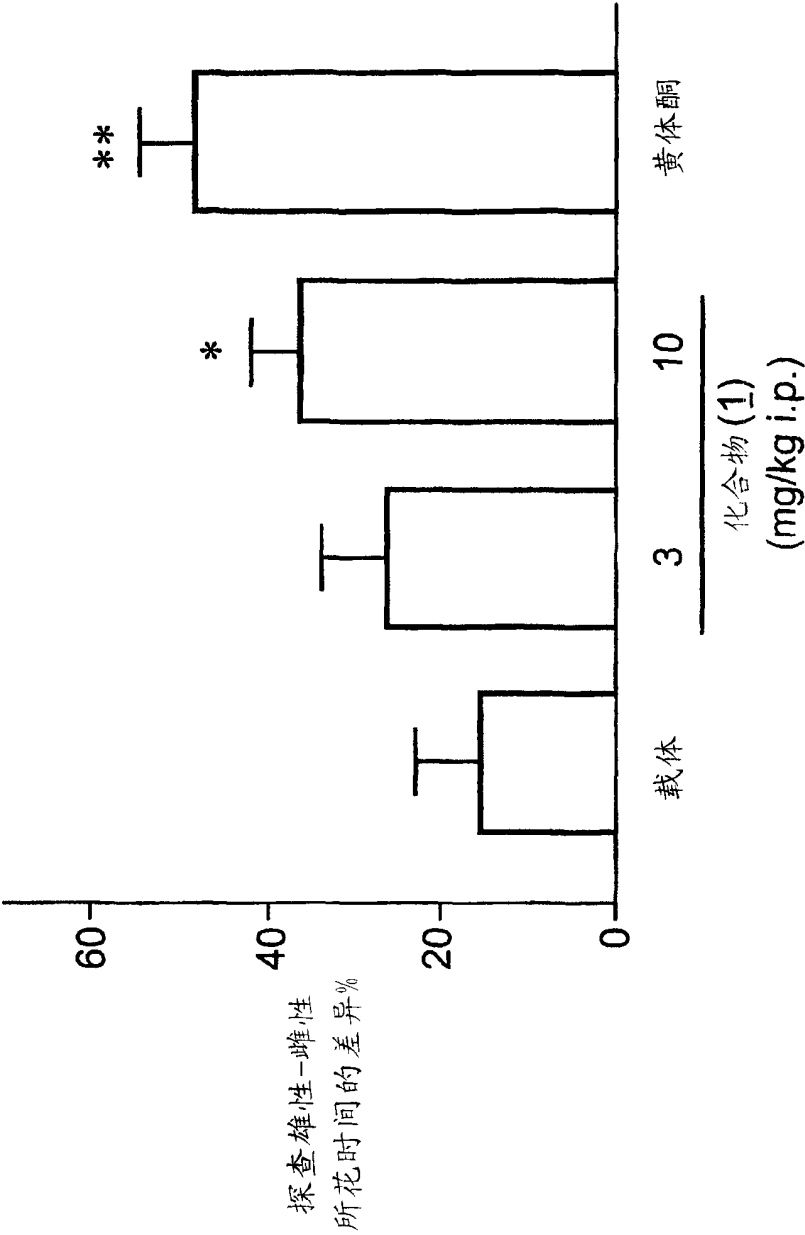


图 1

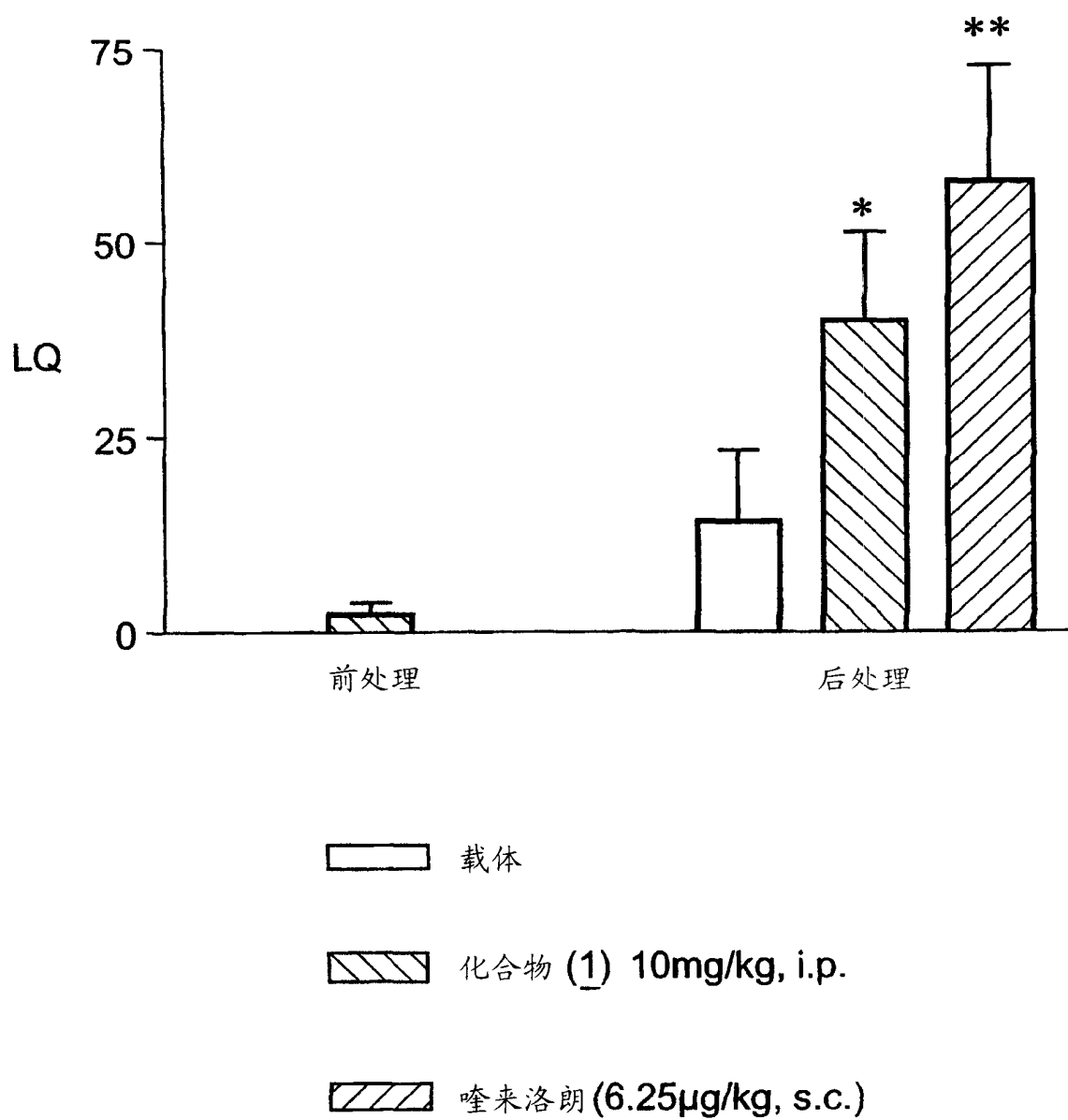


图 2

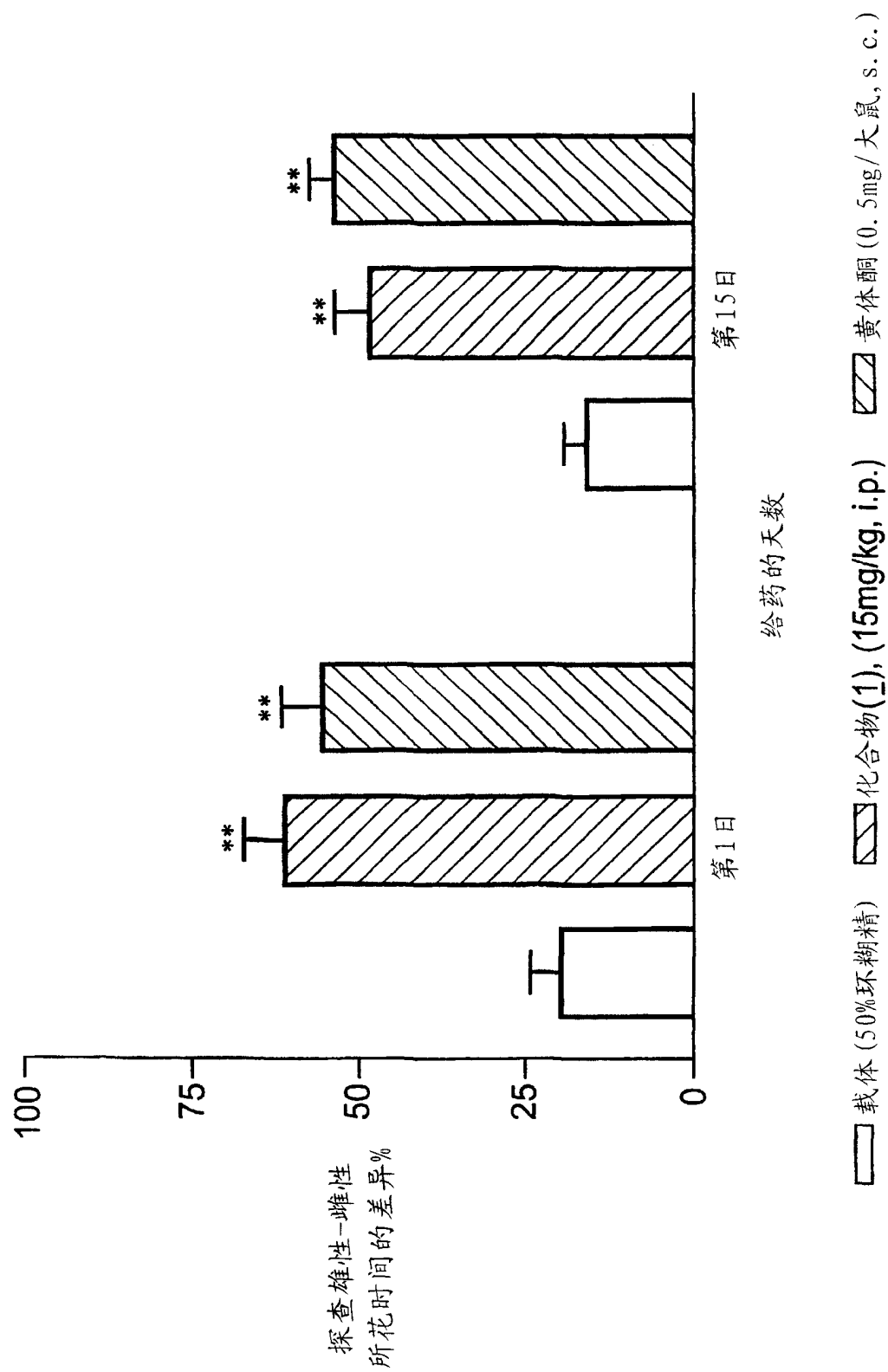


图 3

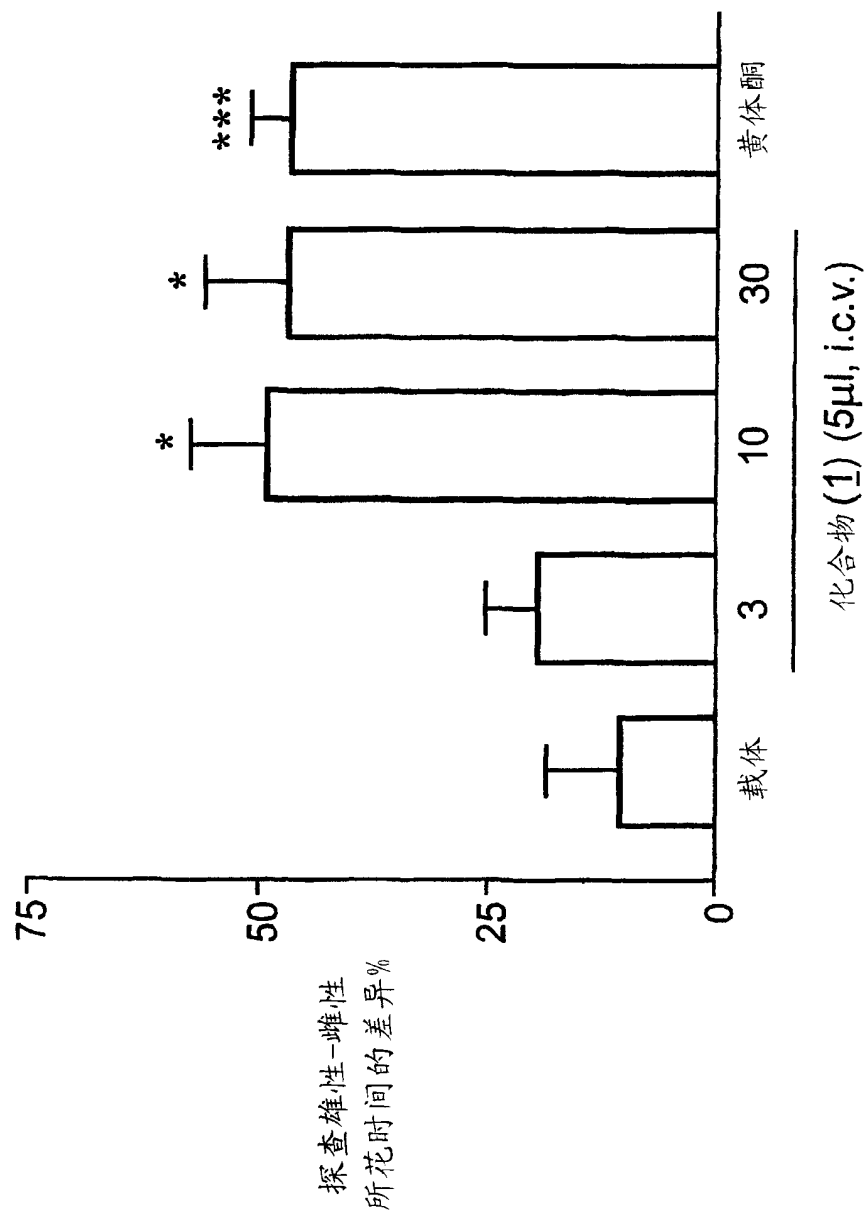


图 4

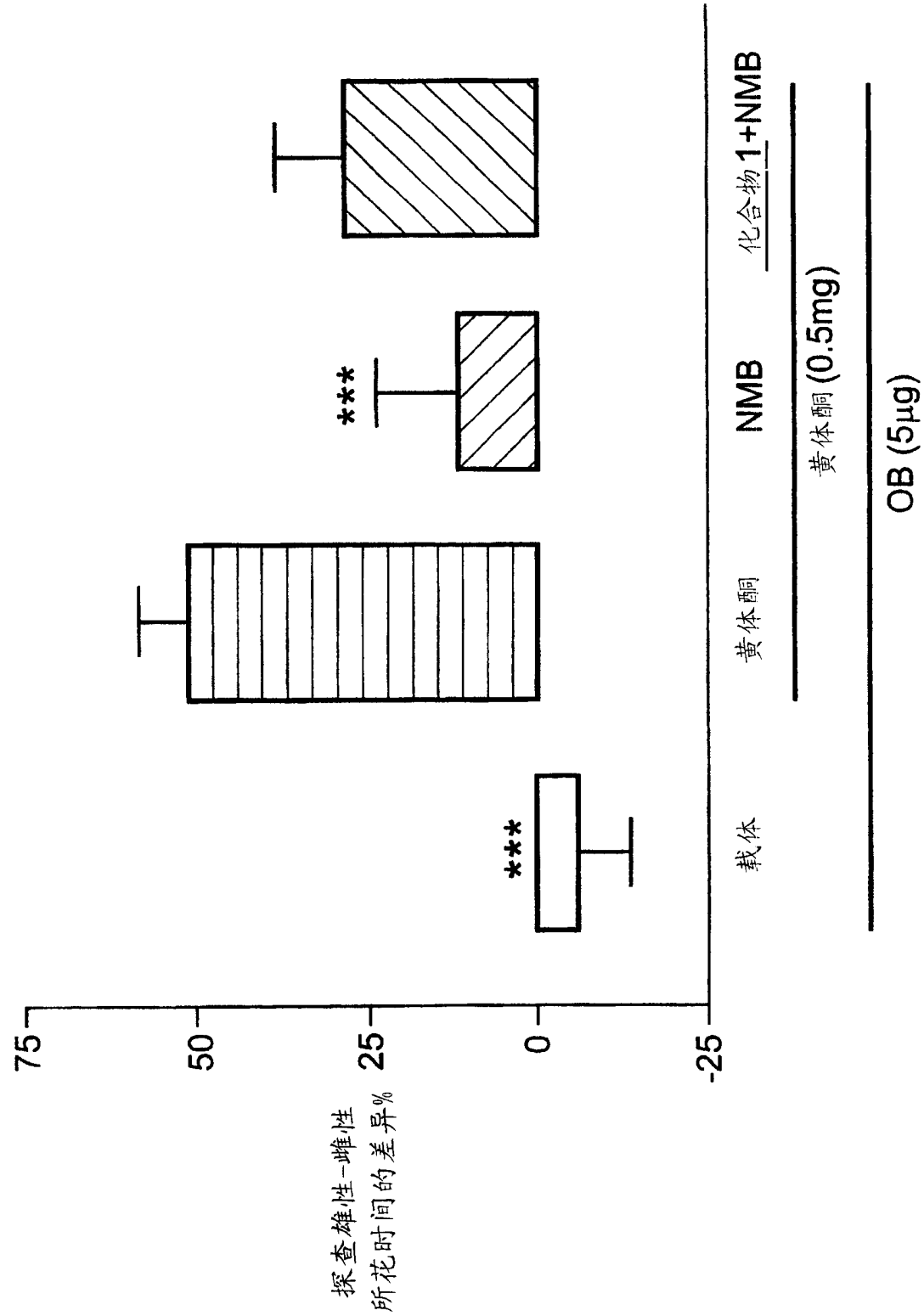


图 5

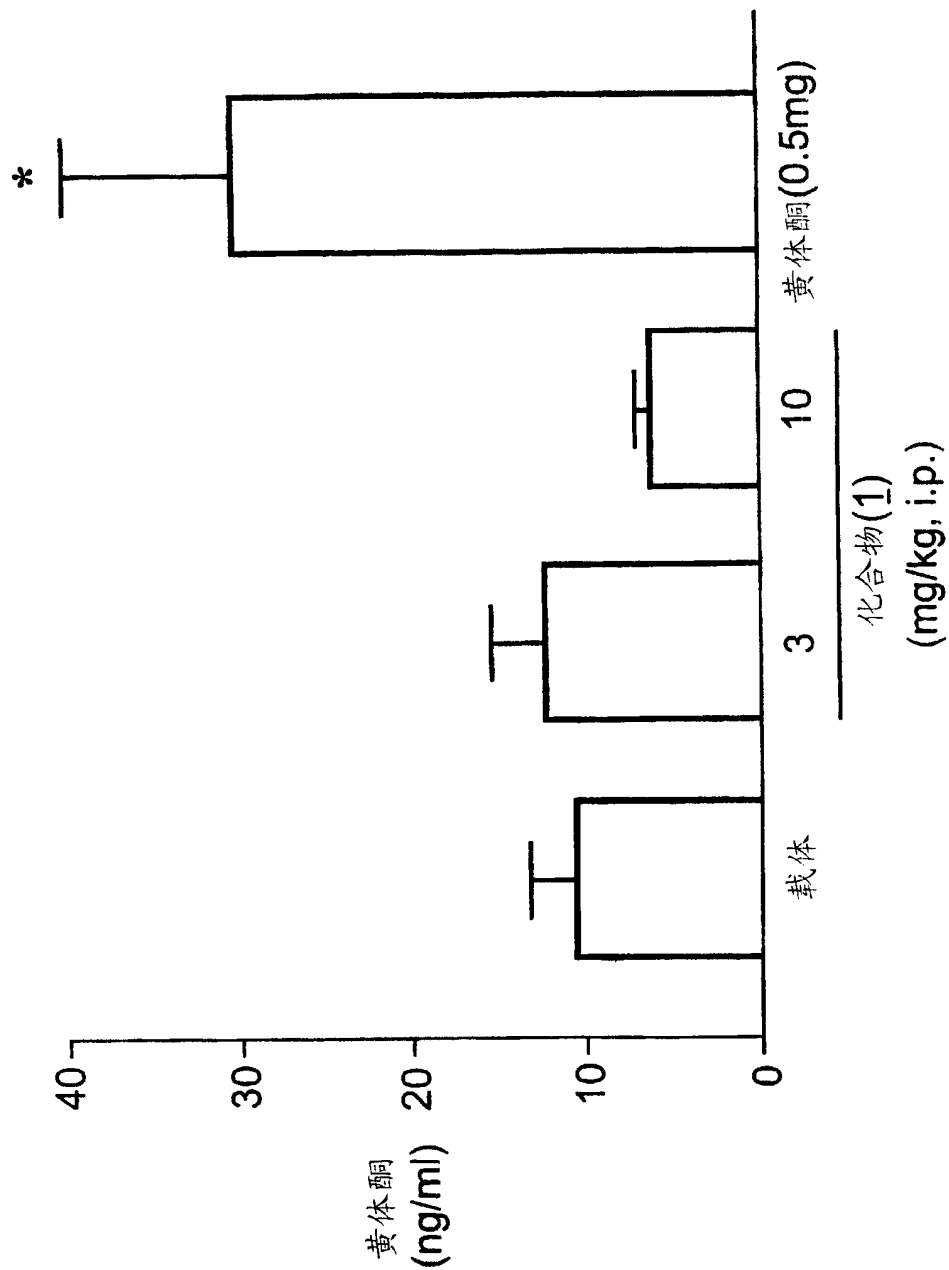


图 6

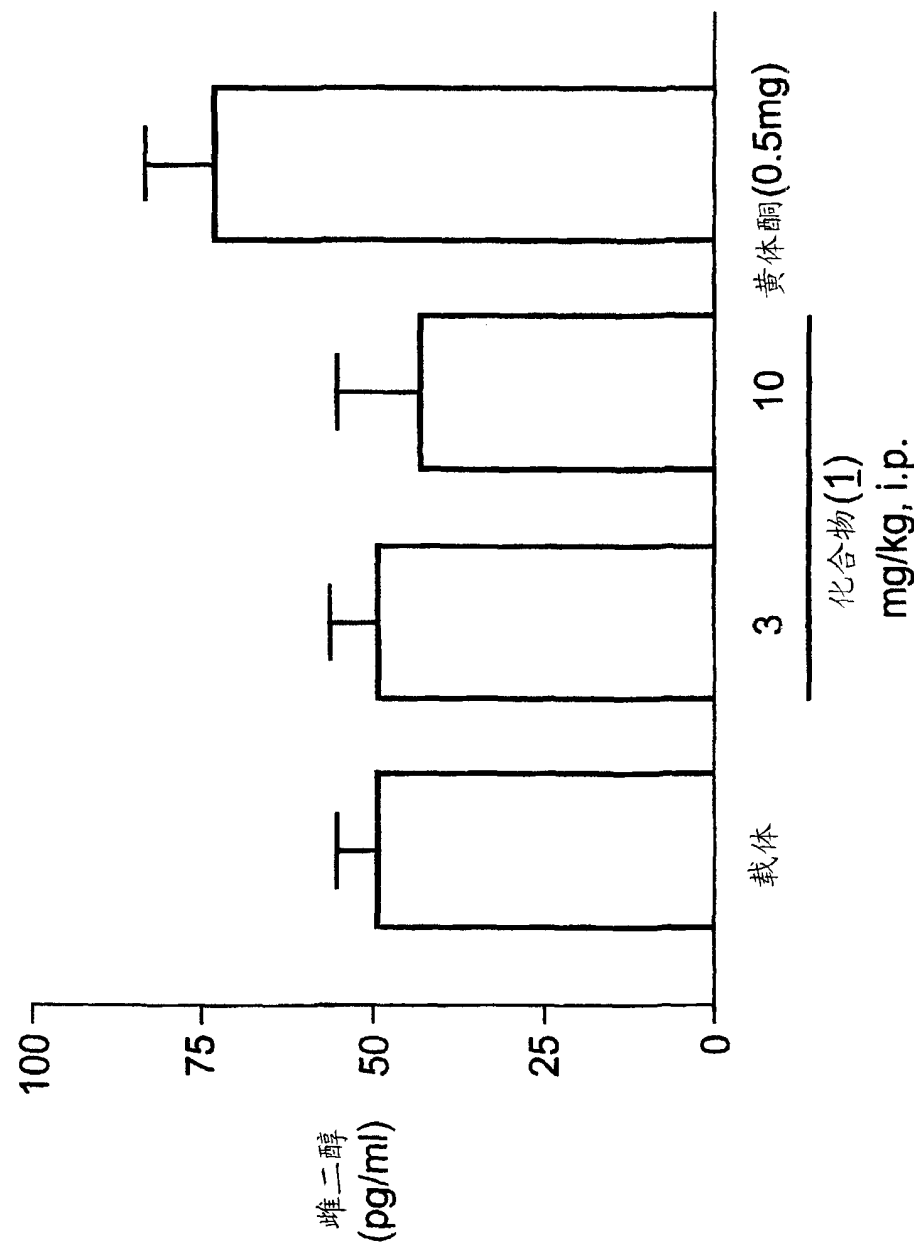


图 7

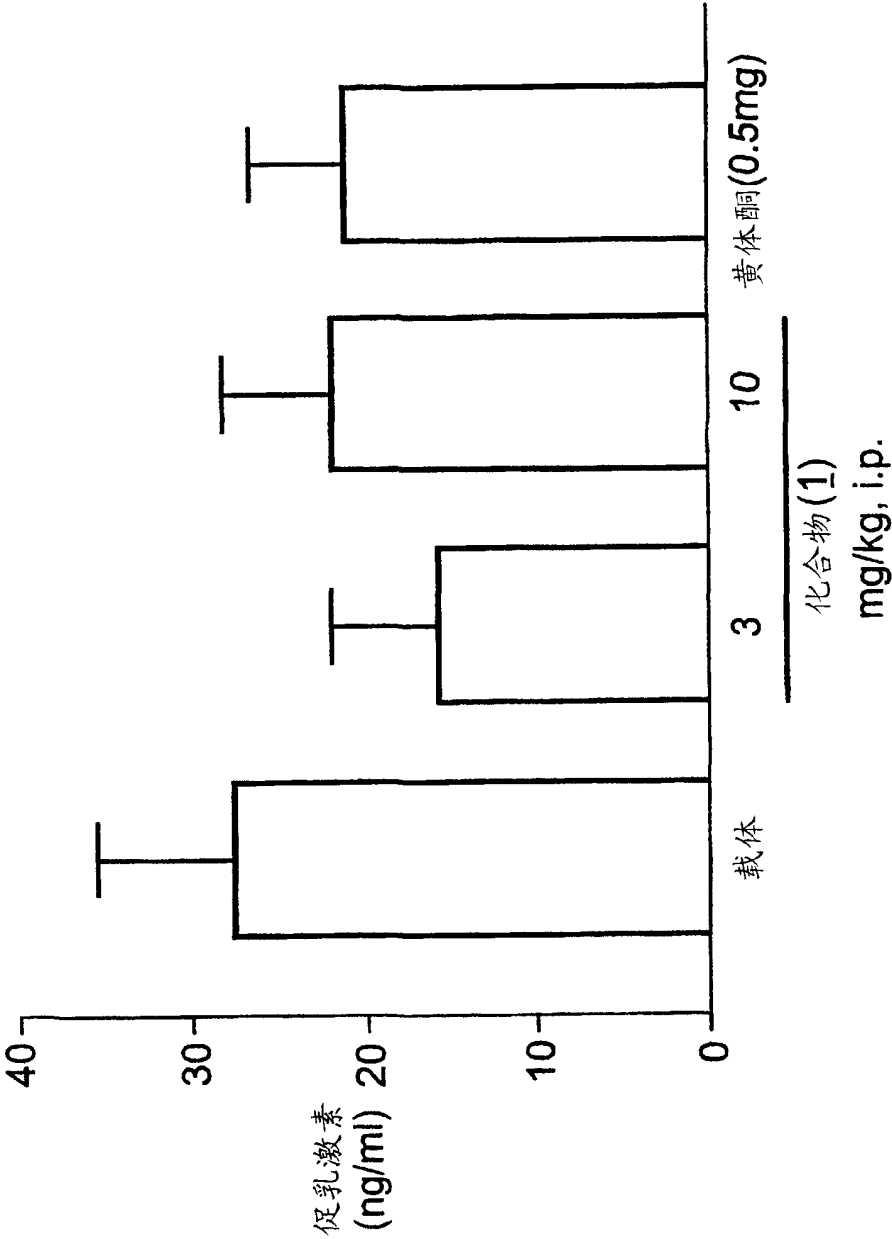


图 8

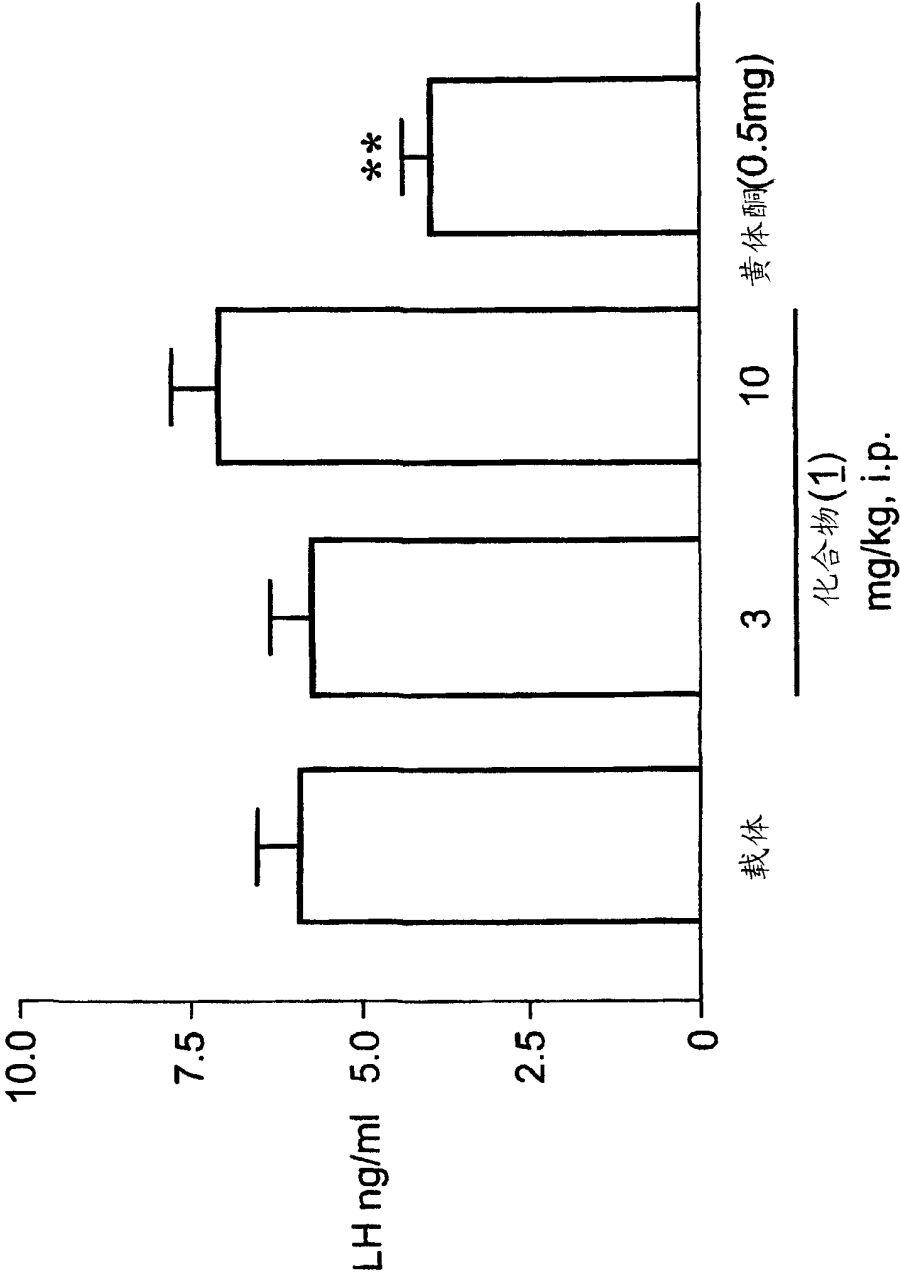


图 9

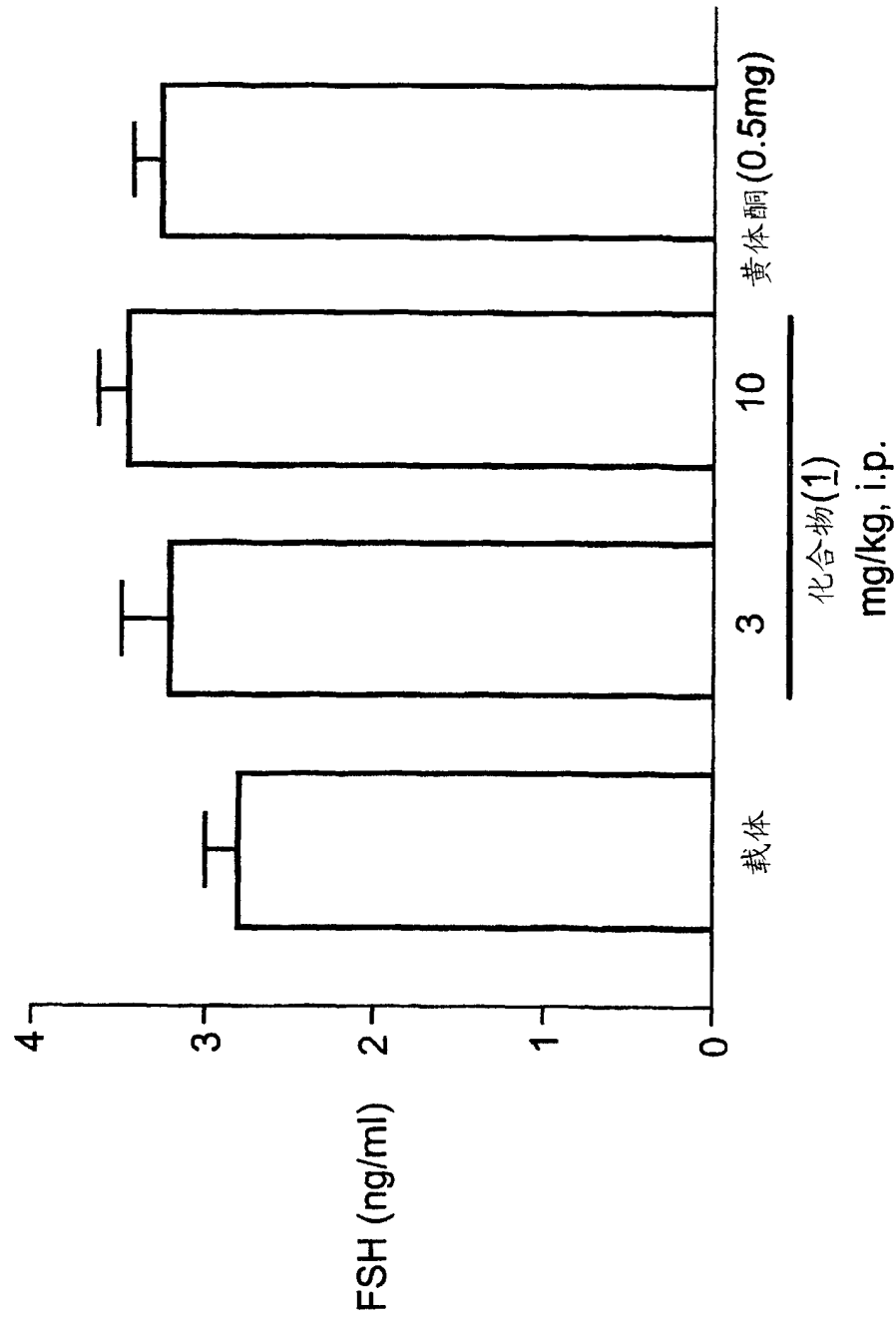


图 10

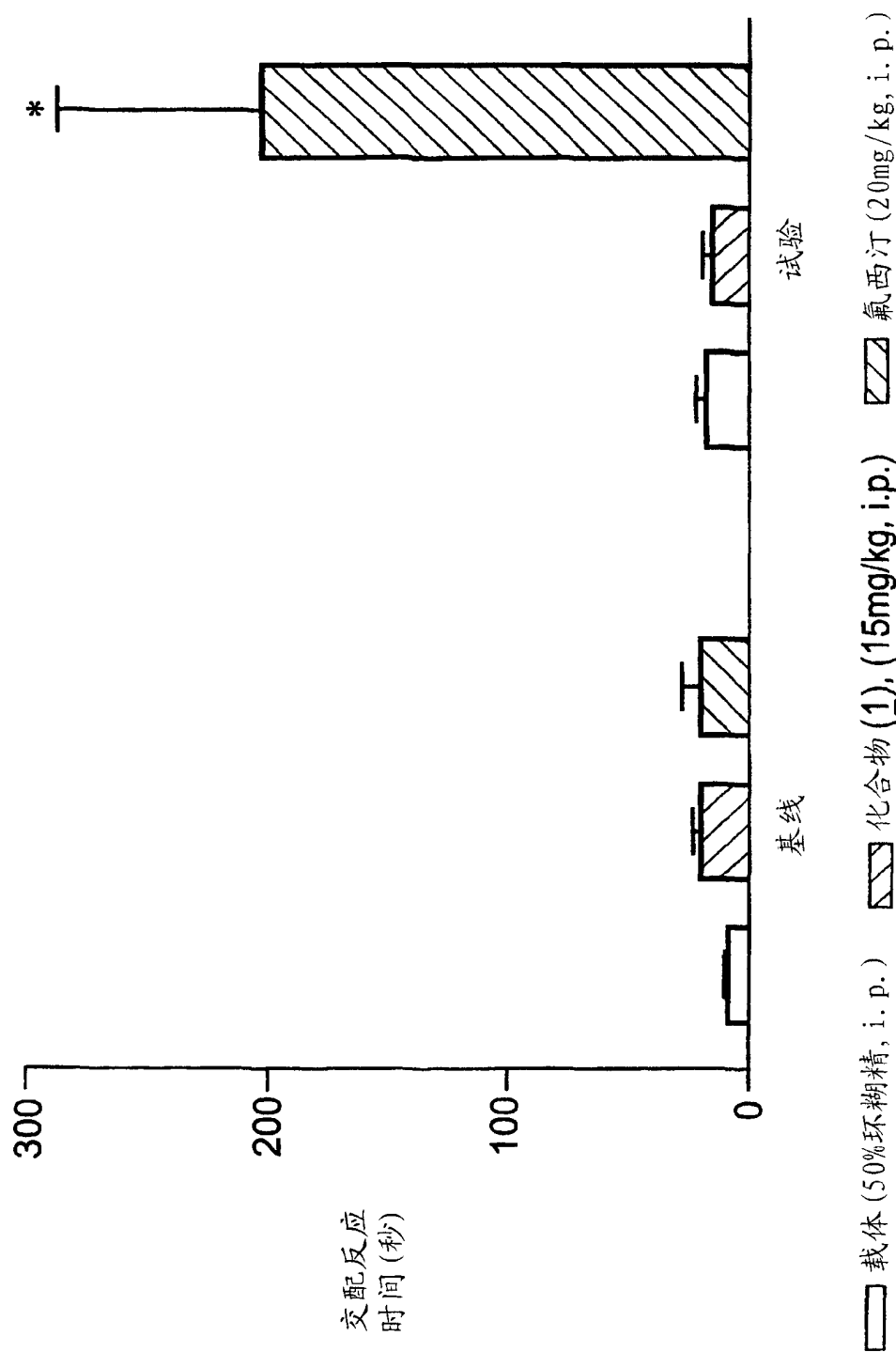


图 11

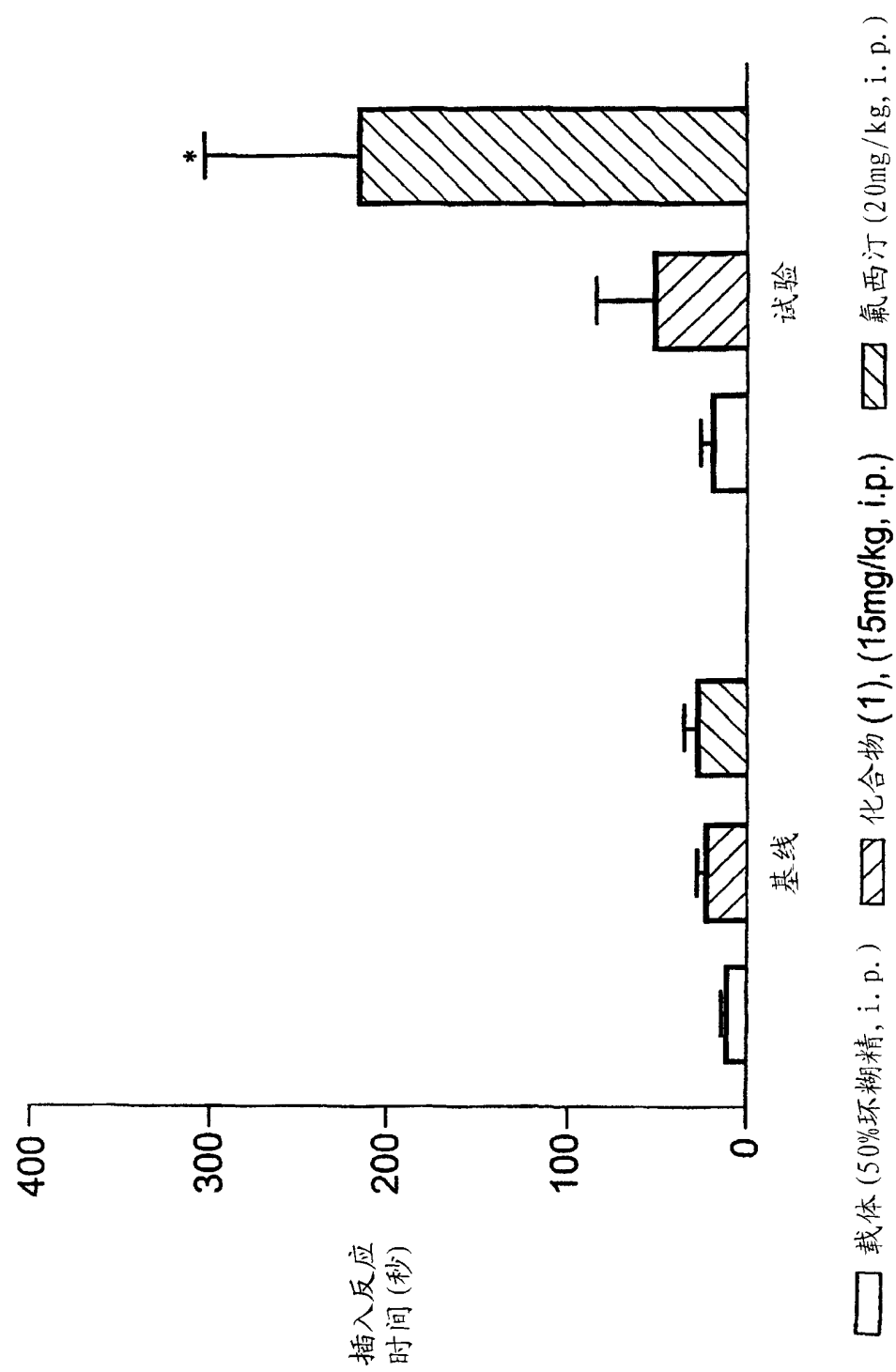


图 12

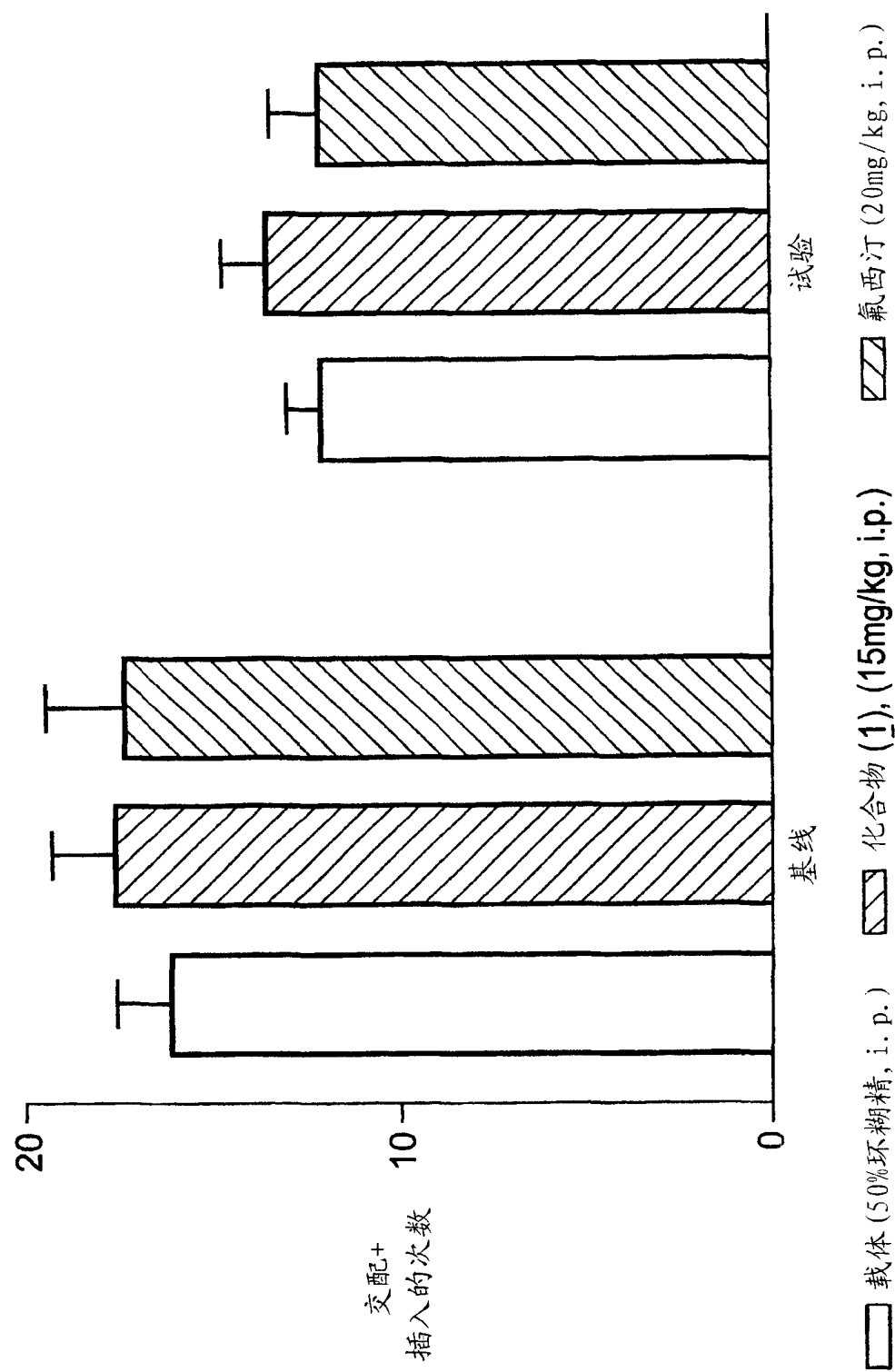


图 13

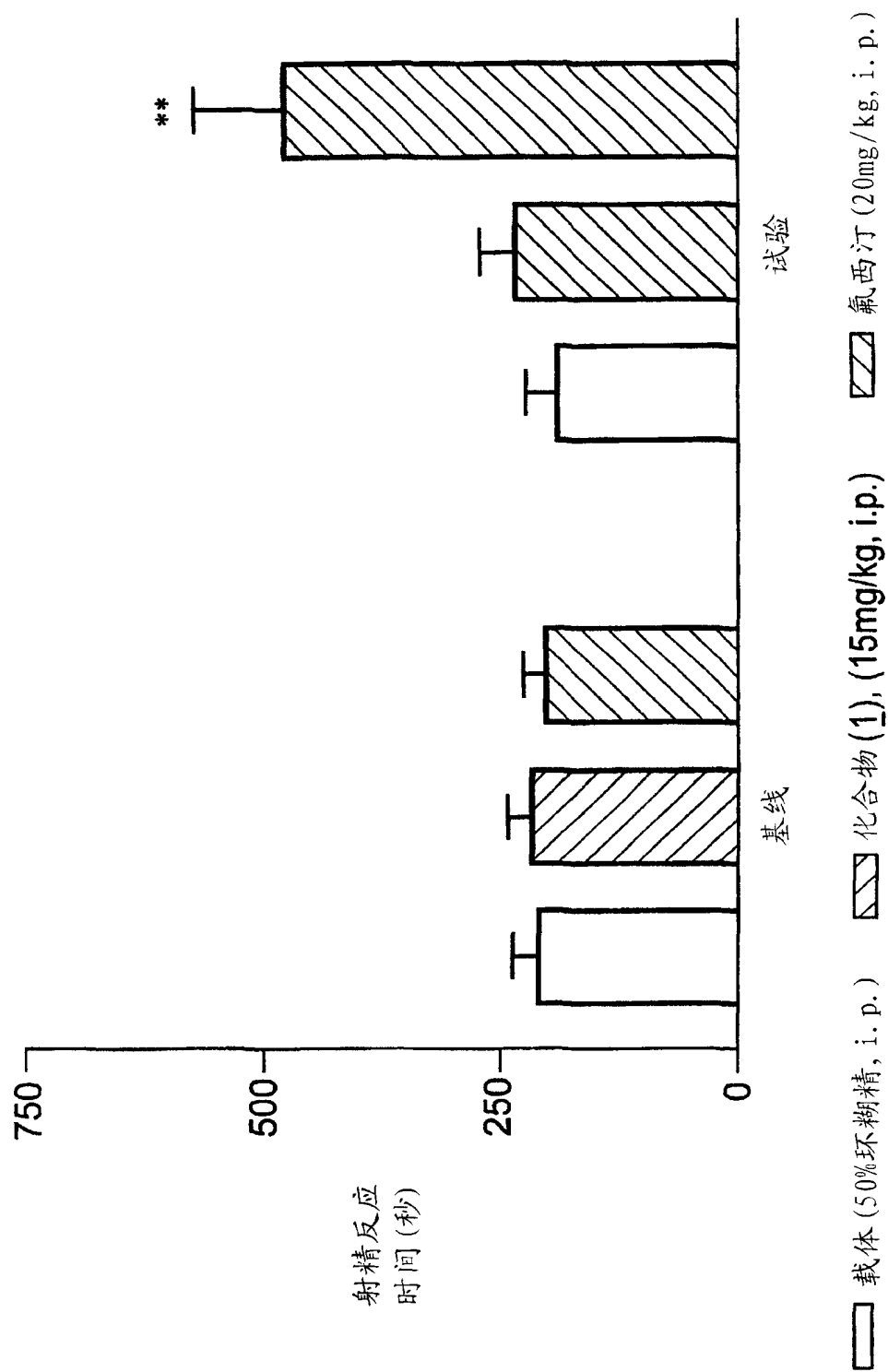


图 14

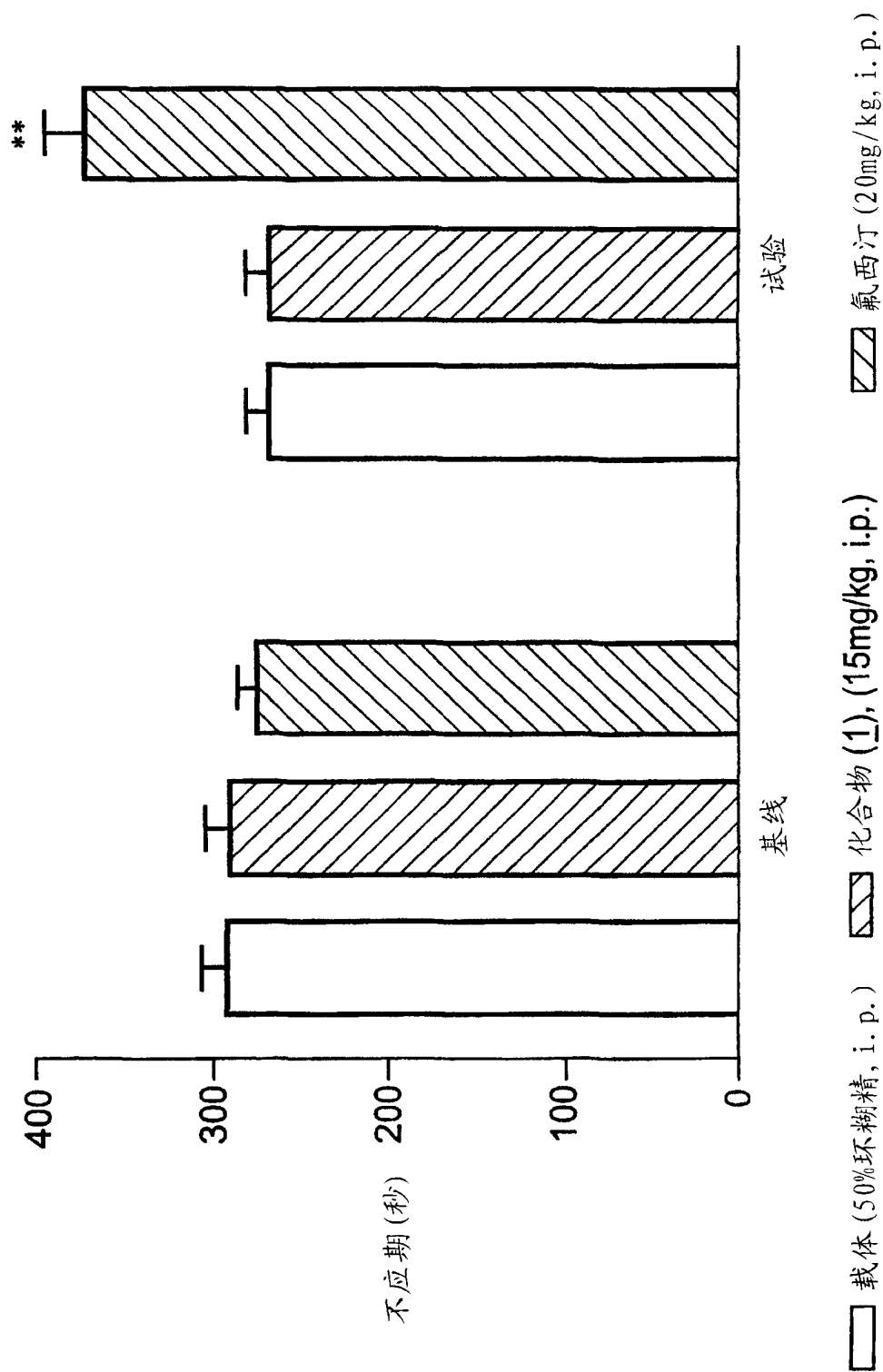


图 15

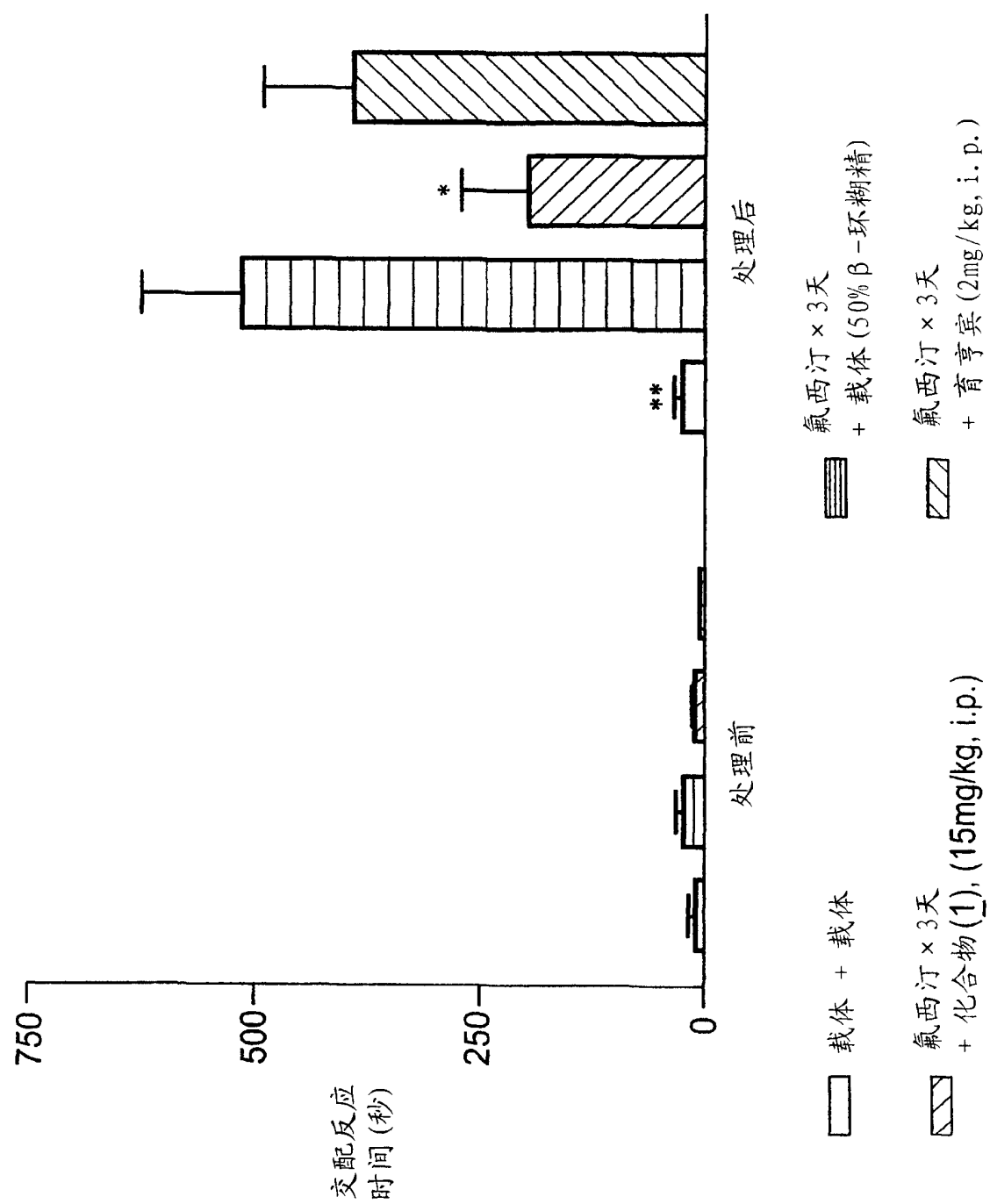


图 16

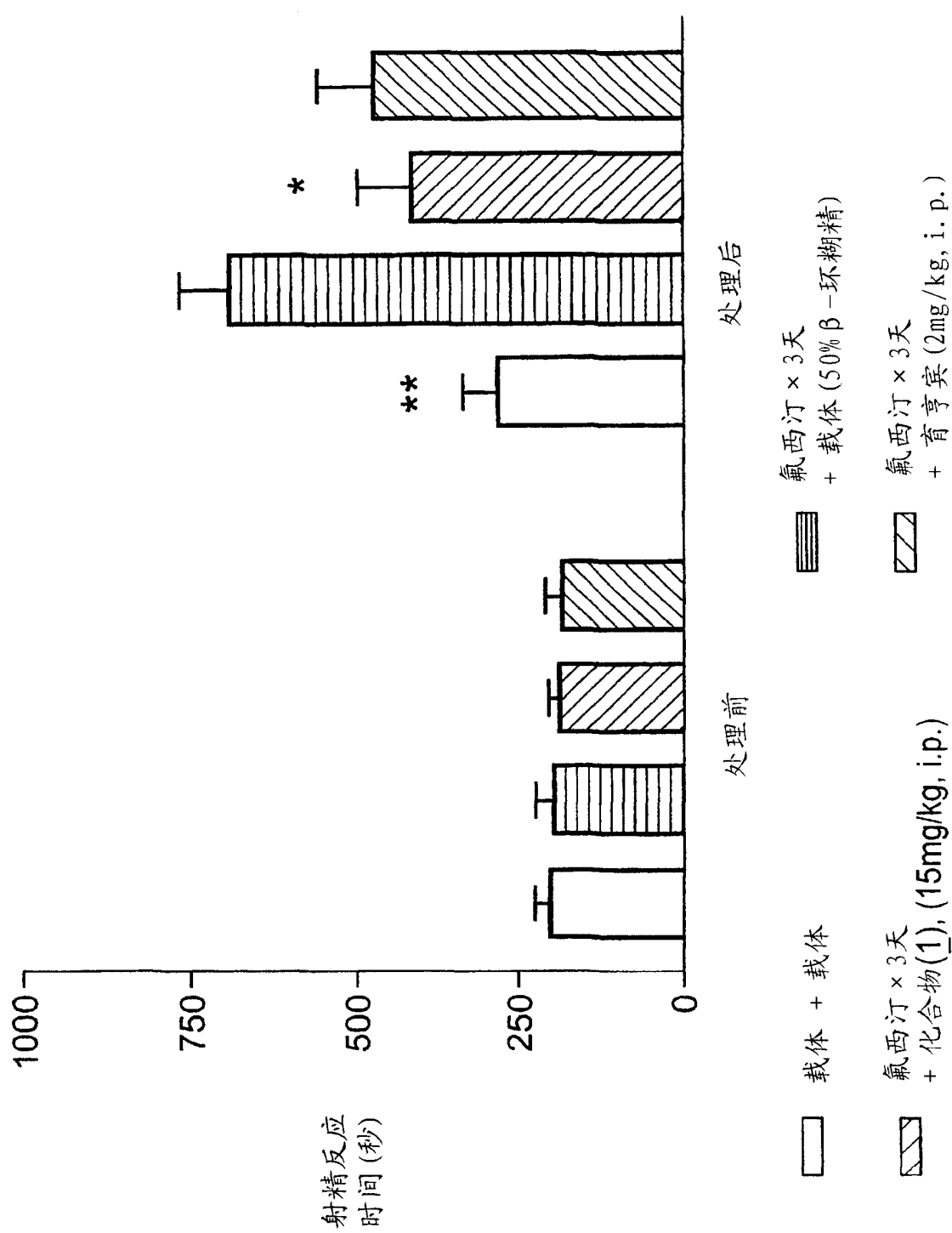


图 17

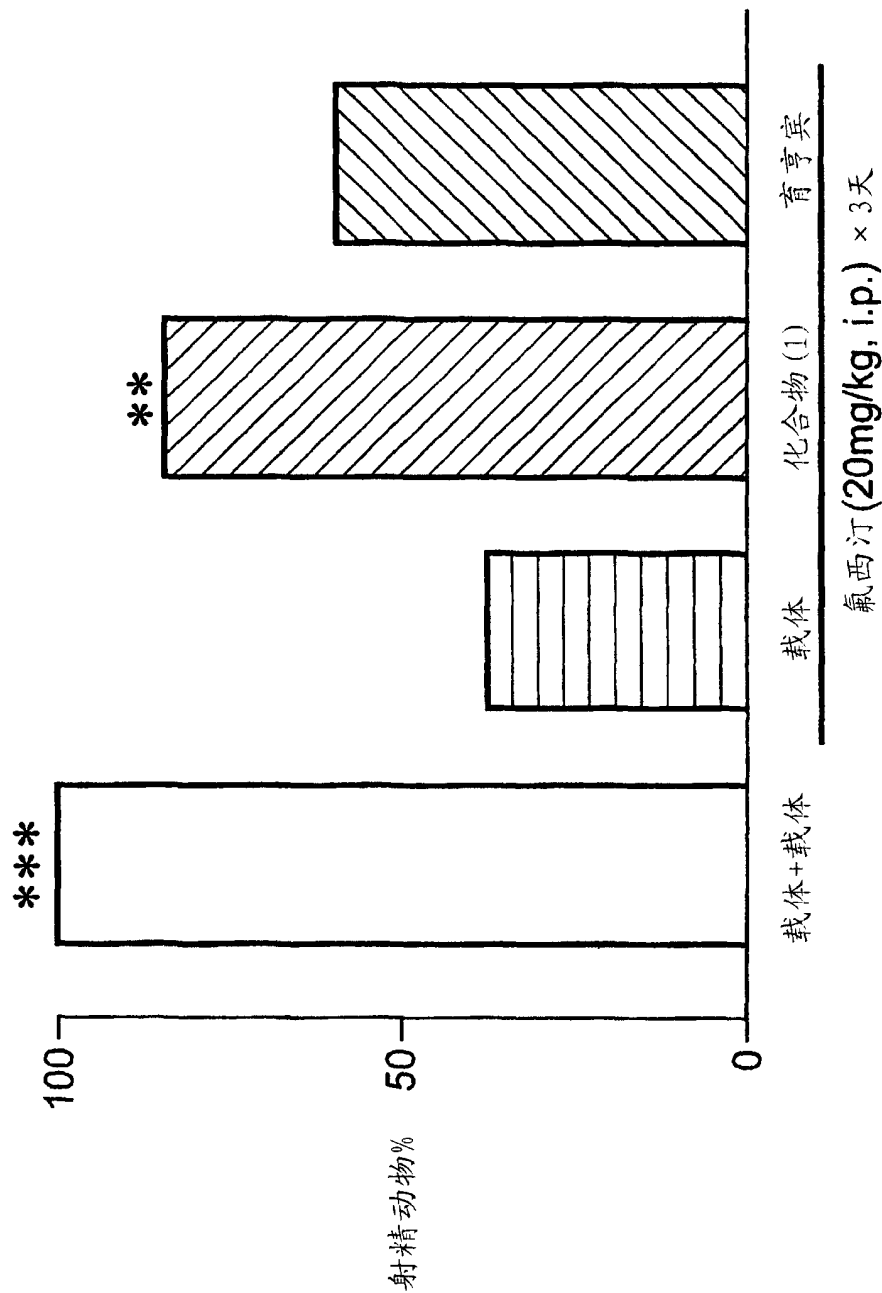


图 18

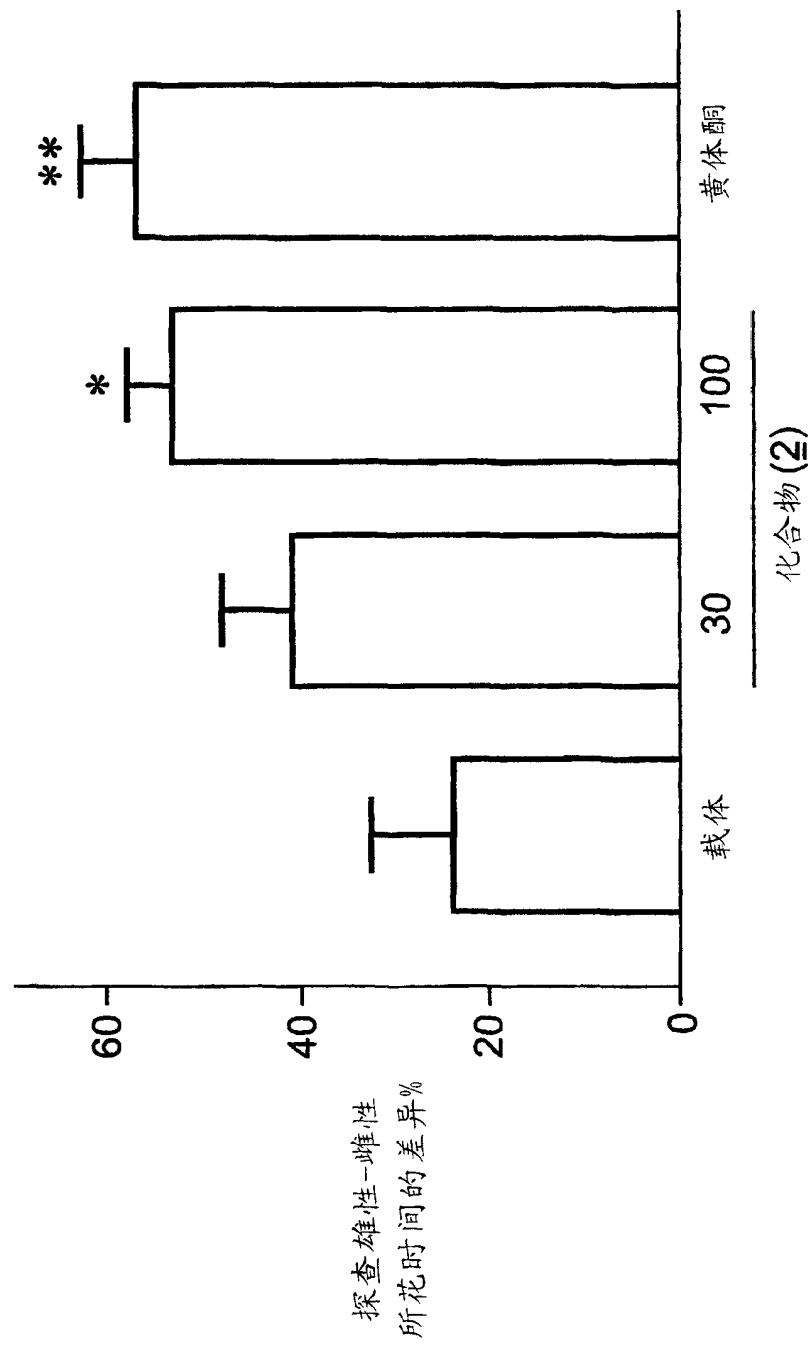


图 19

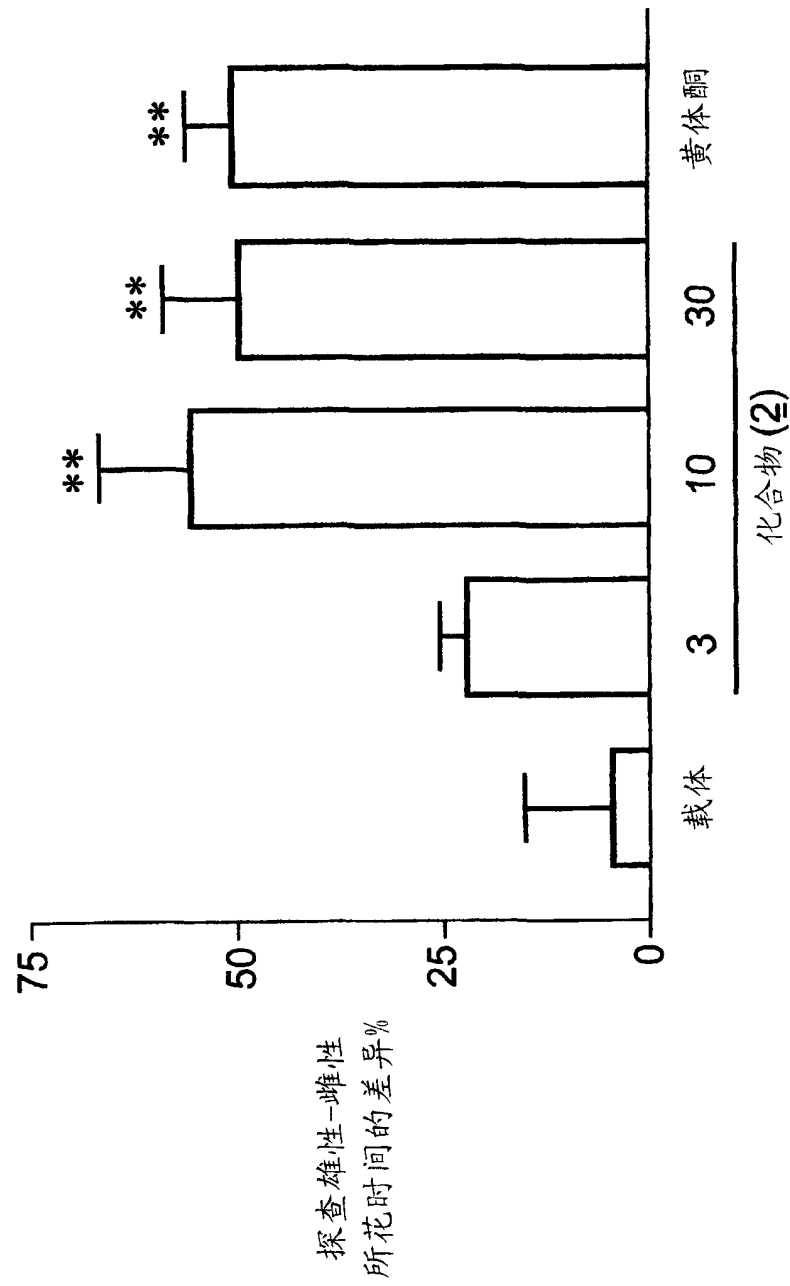


图 20

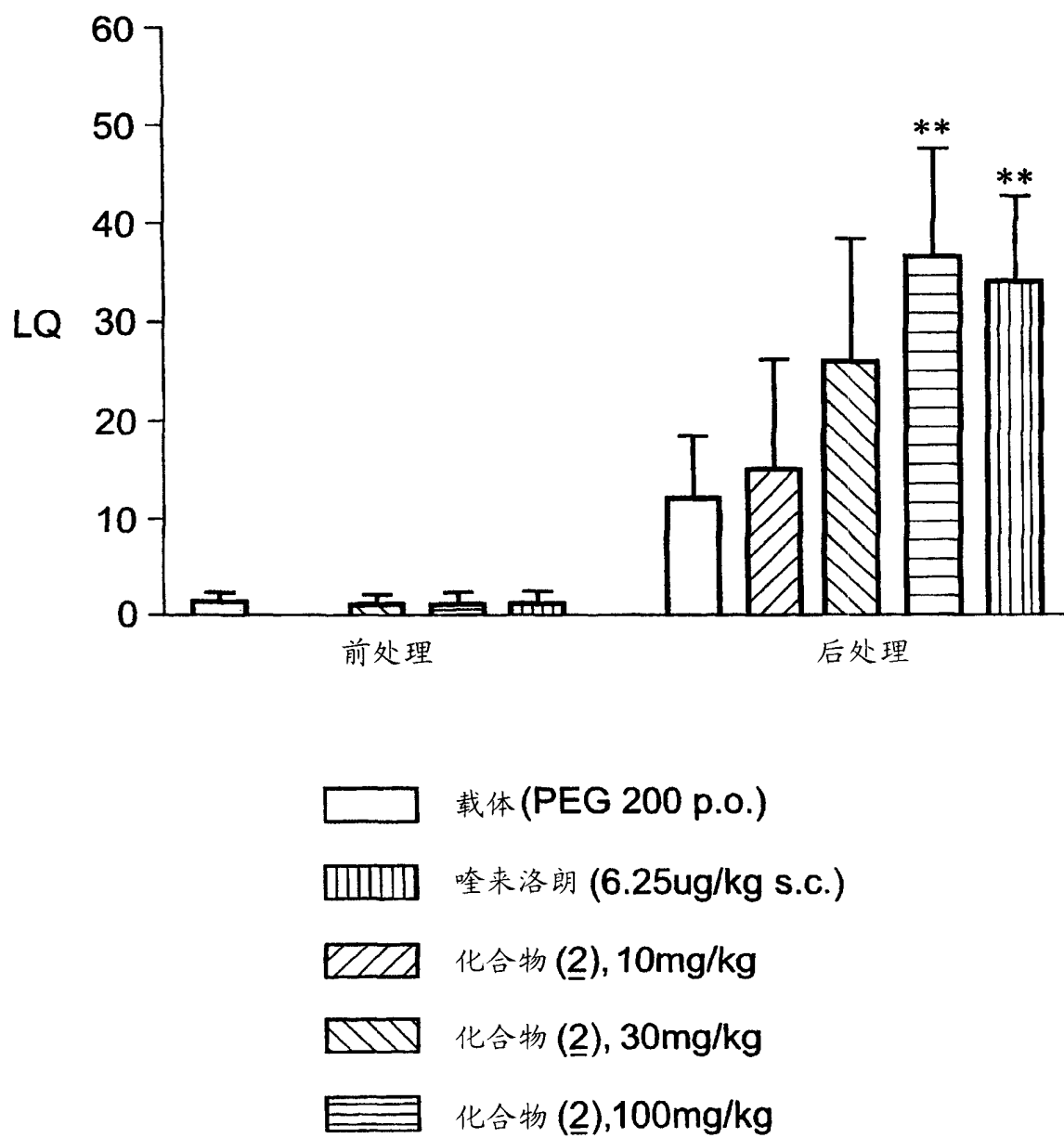


图 21

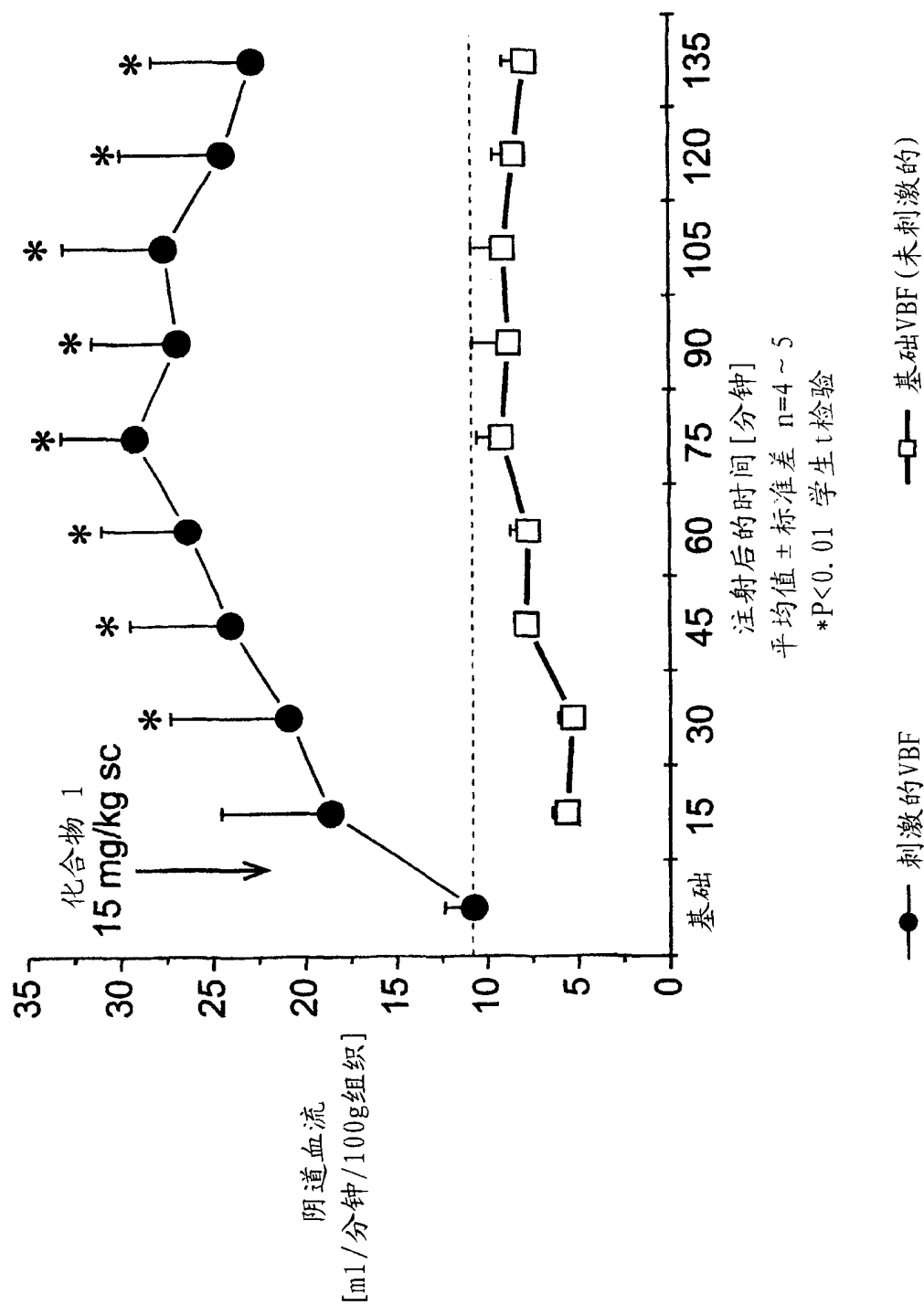


图 22

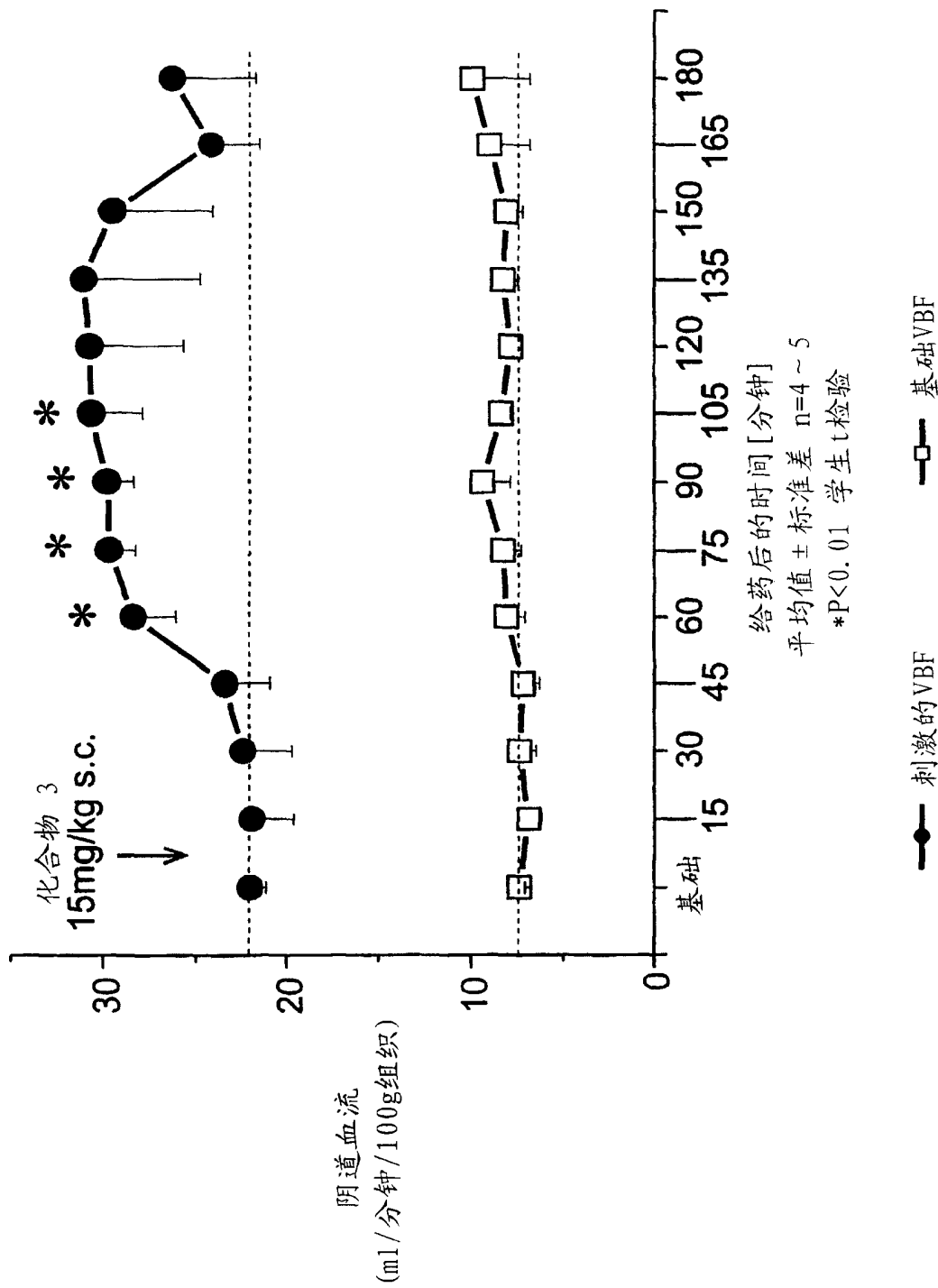


图 23

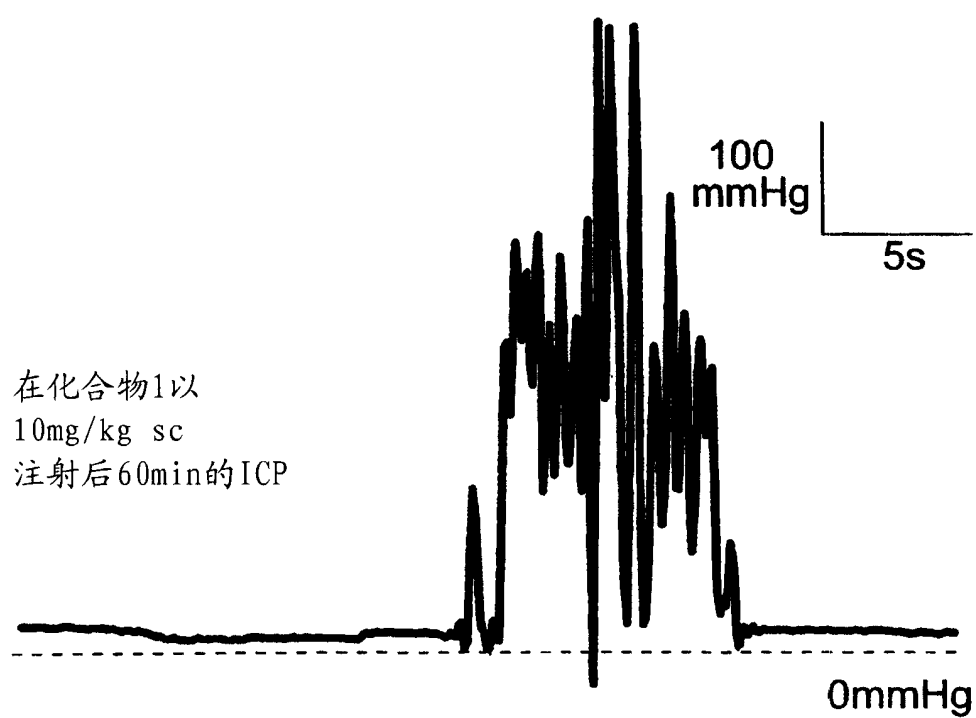


图 24

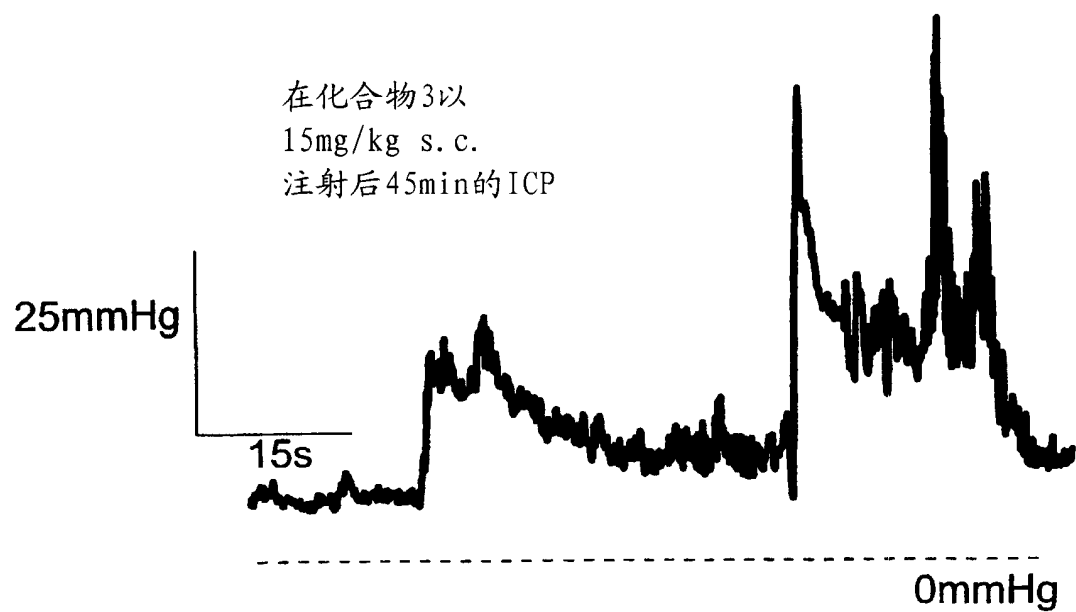


图 25

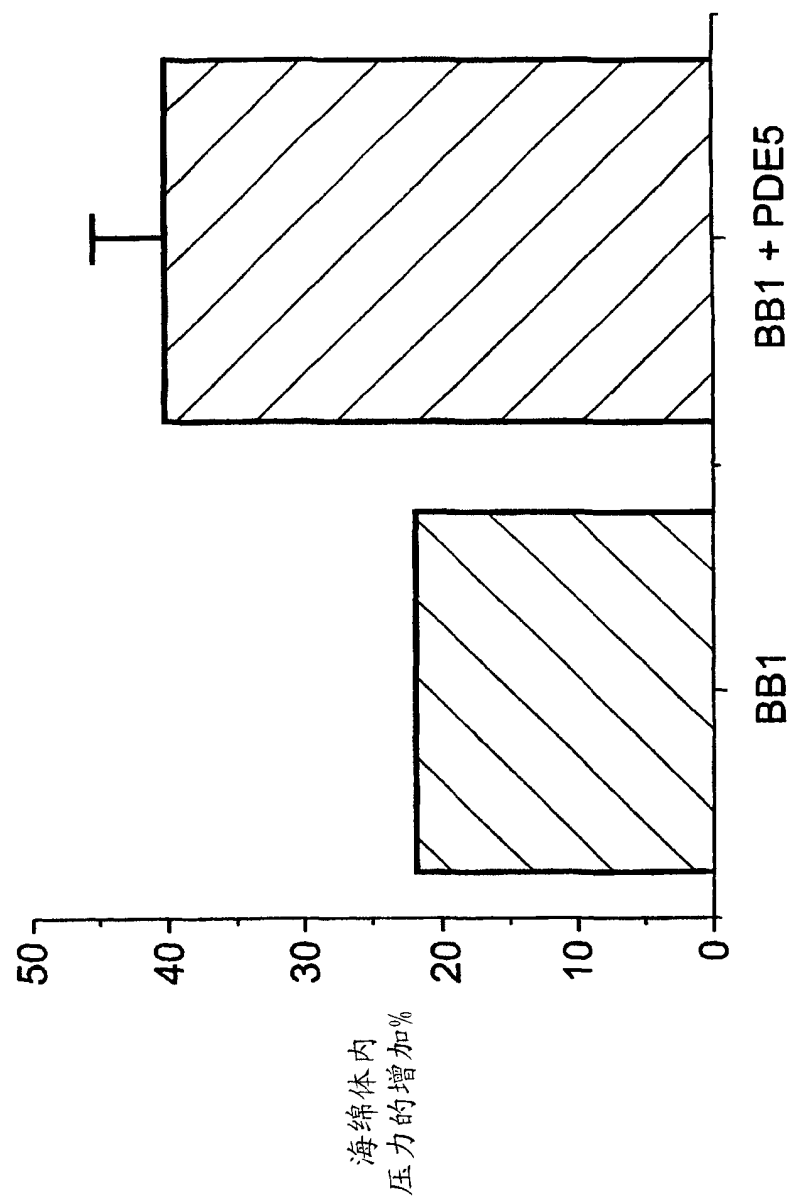


图 26