

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 97129030

A61K 31/439 (2006.01)

※申請日期： 97-7-31

※IPC 分類： ~~C07D~~ A61K

C07D 471/08 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

## 一、發明名稱：(中文/英文)

(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲  
鹽胺，其新穎鹽形式及使用方法(2S,3R)-N-(2-((3-PYRIDINYL)METHYL)-1-AZABICYCLO[2.2.2]OCT-  
3-YL)BENZOFURAN-2-CARBOXAMIDE, NOVEL SALT FORMS,  
AND METHODS OF USE THEREOF

## 二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商泰策體有限公司

TARGACEPT, INC.

代表人：(中文/英文)

威廉 S 坎道威

CALDWELL, WILLIAM S.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國北卡羅萊納州溫斯頓-莎倫市東一街200號300室

200 EAST FIRST STREET, SUITE 300, WINSTON-SALEM, NORTH  
CAROLINA 27101-4165, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

### 三、發明人：(共 14 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 梅陸安 班契夫  
BENCHERIF, MEROUANE
2. 麗莎 班森  
BENSON, LISA
3. 蓋瑞 梅瑞思 道爾  
DULL, GARY MAURICE
4. 尼可拉 費多夫  
FEDOROV, NIKOLAI
5. 葛雷哥利 J 蓋圖  
GATTO, GREGORY J.
6. 約翰 吉恩斯  
GENUS, JOHN
7. 克利司丁 G 喬丹  
JORDAN, KRISTEN G.
8. 賈古柏 馬修  
MATHEW, JACOB
9. 安多利 A 瑪盧羅  
MAZUROV, ANATOLY A.
10. 連 苗  
MIAO, LAN
11. 茱利歐 A 姆諾  
MUNOZ, JULIO A.
12. 印歌 菲佛  
PFEIFFER, INIGO
13. 桑德拉 菲佛  
PFEIFFER, SONDRA
14. 泰瑞莎 Y 菲利浦  
PHILLIPS, TERESA Y.

國 籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 美國 U.S.A.
3. 美國 U.S.A.
4. 俄羅斯 RUSSIA
5. 美國 U.S.A.
6. 美國 U.S.A.
7. 美國 U.S.A.
8. 美國 U.S.A.
9. 美國 U.S.A.
10. 美國 U.S.A.
11. 瓜地馬拉 GUATEMALA
12. 西班牙 SPAIN
13. 美國 U.S.A.
14. 美國 U.S.A.

#### 四、聲明事項：

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

申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年08月02日；60/953,610

2. 美國；2007年08月02日；60/953,613

3. 美國；2007年08月02日；60/953,614

4. 美國；2007年09月12日；60/971,654

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

## 五、中文發明摘要：

本發明係關於(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，其新穎鹽形式，其製備方法，新穎中間體及用於治療多種病況及病症(包括彼等與中樞及自主神經系統之功能障礙相關者)之方法。

## 六、英文發明摘要：

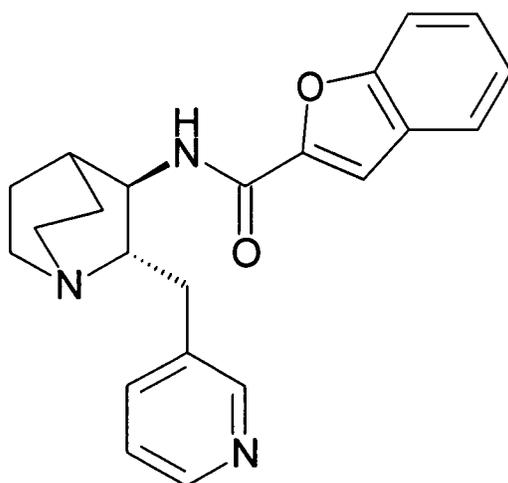
The present invention relates to (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)methyl)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-carboxamide, novel salt forms thereof, methods for its preparation, novel intermediates, and methods for treating a wide variety of conditions and disorders, including those associated with dysfunction of the central and autonomic nervous systems.

**七、指定代表圖：**

(一)本案指定代表圖為：第(1B)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

**八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：**

化合物 A

## 九、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺，其新穎鹽形式，其製備方法，新穎中間體及用於治療多種病況及病症(包括彼等與中樞及自主神經系統之功能障礙相關者)之方法。

本發明主張2007年9月12日申請之美國臨時申請案第60/971,654號；2007年8月2日申請之第60/953,610號；2007年8月2日申請之第60/953,613號；及2007年8月2日申請之第60/953,614號之權利，該等案之各者之全文以引用之方式併入本文中。

### 【先前技術】

已展示在若干亞型中存在中樞神經系統(CNS)之神經元菸鹼受體(NNR)特徵，其之最常見者為 $\alpha 4\beta 2$ 及 $\alpha 7$ 亞型。參見，例如 Schmitt, *Current Med. Chem.* 7: 749 (2000)，該文以引用之方式併入本文中。已提出與 $\alpha 7$  NNR亞型相互作用之配位體可用於治療多種病況及病症。關於 $\alpha 7$ 神經元菸鹼受體亞型之背景瞭解，參見 Mazurov等人，*Curr. Med. Chem.* 13: 1567-1584 (2006)及其中之參考文獻，其以引用之方式併入本文中。彼等病況及病症中之主要者為認知障礙、精神分裂症、炎症、血管新生、神經痛及肌肉纖維疼痛。

在精神分裂症患者之死後腦組織中存在減量之海馬NNR。吸煙比不吸煙之精神分裂症患者亦存在改良之心理

效應。菸鹼可改良動物及精神分裂症者之感覺閾缺乏。 $\alpha 7$  NNR亞型之阻斷導致類似於在精神分裂症中可見之閾缺乏。參見例如，Leonard等人，*Schizophrenia Bulletin* 22(3): 431 (1996)，其以引用之方式併入本文中。對患有P50聽覺誘發之可能閾缺乏之患者之感覺過程的生物化學、分子及遺傳學研究表明 $\alpha 7$  NNR亞型可在抑制神經元路徑方面起作用。參見例如Freedman等人，*Biological Psychiatry* 38(1): 22 (1995)，其以引用之方式併入。

最近已提出 $\alpha 7$  NNR為血管新生之介體，如由Heeschen等人，*J. Clin. Invest.* 100: 527 (2002)中所述，其以引用之方式併入。在此等研究中，已展示 $\alpha 7$ 亞型之抑制作用減少發炎性血管新生。亦已提出 $\alpha 7$  NNR為控制神經生成及腫瘤生長之目標(Utsugisawa等人，*Molecular Brain Research* 106(1-2): 88 (2002)及美國專利申請案第2002/0016371號，其各自以引用之方式併入)。最後，近來已認識到 $\alpha 7$ 亞型在認知(Levin and Rezvani, *Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders* 1(4): 423 (2002))、神經保護(O'Neill等人，*Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders* 1(4): 399 (2002)及Jeyarasasingam等人，*Neuroscience* 109(2): 275 (2002))及神經痛(Xiao等人，*Proc. Nat. Acad. Sci. (US)* 99(12): 8360 (2002))中之作用，各引文以引用之方式併入本文中。

已報導與 $\alpha 7$  NNR相互作用之各種化合物且已基於該基礎提出將該等化合物作為療法。關於對 $\alpha 7$  NNR及所提出

之療法之背景教示，參見例如 PCT WO 99/62505；PCT WO 99/03859；PCT WO 97/30998；PCT WO 01/36417；PCT WO 02/15662；PCT WO 02/16355；PCT WO 02/16356；PCT WO 02/16357；PCT WO 02/16358；PCT WO 02/17358；Stevens 等人，*Psychopharm.* 136: 320 (1998)；Dolle 等人，*J. Labelled Comp. Radiopharm.* 44: 785 (2001)及 Macor 等人，*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11: 319 (2001)及其中之參考文獻，該等參考案以引用之方式併入。在此等化合物中，常見之結構枝幹為經取代之第三雙環胺(例如吡啶)。已報導類似之經取代吡啶化合物結合於蕁毒鹼受體。關於該等化合物，參見例如 Sabb 之美國專利案第 5,712,270 號及 PCT，WO 02/00652 及 WO 02/051841，其之各者以引用之方式併入。

有些菸鹼化合物因其與多種不良副作用(例如刺激肌肉及神經節受體)有關而受到限制。對用於預防或治療各種病況或病症，諸如 CNS 病，包括緩解此等病症之症狀的化合物、組合物及方法存在持續需求，其中該等化合物展示具有有益作用(即在 CNS 之功能上)，但無顯著相關之副作用之菸鹼藥理學。需要影響 CNS 功能但不會顯著影響彼等可能導致不良副作用，諸如在心血管及骨骼肌位點處之明顯活性的菸鹼受體亞型之化合物、組合物及方法。本發明提供該等化合物、組合物及方法。

### 【發明內容】

本發明之一態樣為 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜

雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽。另一態樣為呈大體上純形式之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺，或其醫藥學上可接受之鹽。另一態樣為大體上不含(2S,3S)、(2R,3S)或(2R,3R)異構體之(2S,3R) N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺，或其醫藥學上可接受之鹽。

此外，另一態樣為立體異構體富集之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺，或其醫藥學上可接受之鹽。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為90%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為95%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為98%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99.5%或以上。

本發明之另一態樣為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之酸式鹽，其中酸係選自鹽酸、硫酸、磷酸、順丁烯二酸、對甲苯磺酸、半乳糖二酸(黏酸)、D-扁桃酸、D-酒石酸、甲磺酸、R-及S-10-樟腦磺酸、酮戊二酸或馬尿酸。在一實施例中，(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺與酸之化學計量為2:1、1:1或1:2。在一實施例中，化學計量為1:1。本發明之一實施例為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪

喃-2-甲醯胺鹽酸鹽或其水合物或溶劑合物，包括部分水合物或溶劑合物。另一實施例為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽或其水合物或溶劑合物，包括部分水合物或溶劑合物。

本發明亦提供(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺及新穎中間體之可規模化合成。

本發明之範疇包括本文中所述之態樣、實施例及參數選擇之所有組合。

### 【實施方式】

對於 $\alpha 7$  NNR亞型具有親和力( $\leq 1$  nM  $K_i$ 值)及選擇性之特定化合物(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，在動物認知模型(認知增強)及精神病模型(抗精神病藥效果)中展示功效。

本發明之一態樣為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽。另一態樣為呈大體上純形式之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽。另一態樣為大體上不含(2S,3S)、(2R,3S)或(2R,3R)異構體之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽。

此外，另一態樣為立體異構體富集之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯

胺，或其醫藥學上可接受之鹽。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為90%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為95%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為98%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99.5%或以上。

本發明之另一態樣為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之酸式鹽，其中酸係選自鹽酸、硫酸、磷酸、順丁烯二酸、對甲苯磺酸、半乳糖二酸(黏酸)、D-扁桃酸、D-酒石酸、甲磺酸、R-及S-10-樟腦磺酸、酮戊二酸或馬尿酸。在一實施例中，(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺與酸之化學計量為2:1、1:1或1:2。在一實施例中，化學計量為1:1。本發明之一實施例為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽或其水合物或溶劑合物，包括部分水合物或溶劑合物。另外一實施例為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽或其水合物或溶劑合物，包括部分水合物或溶劑合物。

本發明之另一態樣為(2S,3R)-(2-((3-吡啶基)甲基)-3-胺基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷。

本發明之另一態樣為包含本發明化合物及一或多種醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。

本發明之另一態樣為用於治療或預防中樞神經系統病症、炎症、疼痛或新血管生成的方法，其包含投與本發明化合物。在一實施例中，中樞神經系統病症之特徵在於正常神經遞質釋放之改變。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自輕度認知障礙、年齡相關之記憶障礙、老年性癡呆、早發性阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、老年癡呆、阿茲海默氏型癡呆、阿茲海默氏症、路易體性癡呆(Lewy Body dementia)、微梗塞型癡呆、AIDS相關之癡呆、HIV癡呆、多發性腦梗塞、帕金森氏症候群(Parkinsonism)、帕金森氏症(Parkinson's disease)、匹克氏病(Pick's disease)、進行性核上麻痺、亨丁頓氏舞蹈病(Huntington's chorea)、遲發性運動不能、運動功能亢進、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、抑鬱症、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症或妥瑞症候群(Tourette's syndrome)中之認知功能障礙。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自阿茲海默氏症、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症或妥瑞症候群中之認知功能障礙。

本發明之另一態樣包括本發明化合物用於製造供治療或預防中樞神經系統病症、炎症、疼痛或新血管生成之藥物的用途。在一實施例中，中樞神經系統病症之特徵在於正常神經遞質釋放之改變。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自輕度認知障礙、年齡相關之記憶障礙、老年性癡

呆、早發性阿茲海默氏症、老年癡呆、阿茲海默氏型癡呆、阿茲海默氏症、路易體性癡呆、微梗塞型癡呆、AIDS相關之癡呆、HIV癡呆、多發性腦梗塞、帕金森氏症候群、帕金森氏症、匹克氏病、進行性核上麻痺、亨丁頓氏舞蹈病、遲發性運動不能、運動功能亢進、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、抑鬱症、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症，或妥瑞症候群中之認知功能障礙。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自阿茲海默氏症、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症，或妥瑞症候群中之認知功能障礙。

本發明之另一態樣為本發明化合物用於治療或預防中樞神經系統病症、炎症、疼痛，或新血管生成之用途。在一實施例中，中樞神經系統病症之特徵在於正常神經遞質釋放之改變。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自輕度認知障礙、年齡相關之記憶障礙、早老性癡呆、早發性阿茲海默氏症、老年癡呆、阿茲海默氏型癡呆、阿茲海默氏症、路易體性癡呆、微梗塞型癡呆、AIDS相關之癡呆、HIV癡呆、多發性腦梗塞、帕金森氏症候群、帕金森氏症、匹克氏病、進行性核上麻痺、亨丁頓氏舞蹈病、遲發性運動不能、運動功能亢進、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、抑鬱症、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症，或妥瑞症候群中之認知

功能障礙。在一實施例中，中樞神經系統病症係選自阿茲海默氏症、躁狂、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、焦慮、閱讀困難、精神分裂症，在精神分裂症、抑鬱症、強迫症，或妥瑞症候群中之認知功能障礙。

在上述方法及用途中，在本發明之一實施例中有效劑量在每24小時時間約1 mg與10 mg之間。

本發明之另一態樣為藉由(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮之連續動態解析及立體選擇性還原胺化製造(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽的方法。

本發明之範疇包括本文中所述之態樣、實施例及參數選擇之所有組合。

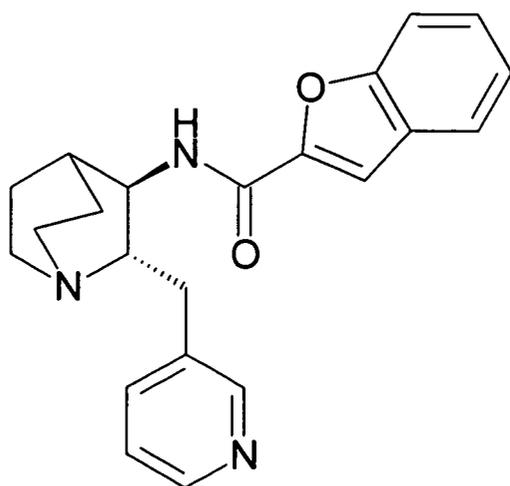
藥物候選者之商業開發包括許多步驟，包括按比例擴大化學合成及純化，尋找最佳鹽形式及其類似者。在藥物組合物之調配物中，原料藥較佳呈可便利地處理及加工之形式。需考慮之事項包括商業可行性以及製造連貫性。另外，在製造藥物組合物時，重要的是，在向患者投藥之後，提供藥物之可靠、可重現及恆定之血漿濃度分布。

活性成份之化學穩定性、固態穩定性及"存放期"亦為非常重要之因素。該原料藥及含有該原料藥之組合物應較佳地能夠有效地儲存可觀的時期，而不展示活性組份之物理化學特徵之顯著變化(例如，其化學組成、密度、吸濕性及溶解性)。另外，能夠儘可能地提供化學上較純之形式之藥物亦係非常重要的。下文中更詳細地論述本發明之此

等特徵。

### I. 化合物

本發明化合物為(2S,3R)-N(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，其表示為以下之化合物A，或化合物A之醫藥學上可接受之鹽形式。



化合物 A

在 Mazurov 等人之美國專利案第 6,953,855 號中(其以引用之方式併入本文中)描述外消旋化合物 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，其之合成及在醫療中之效用。

外消旋 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺為神經元菸鹼受體(NNR)之 $\alpha 7$ 亞型之高親和力配位體。外消旋 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺含有兩個不對稱取代碳原子。因此，外消旋 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺存在四種立體異構體形

式，即 (S,S)、(S,R)、(R,R) 及 (R,S)。其中 (S,R)，即 (2S,3R) 為化合物 A。

先前，威信在已報導之合成（包括美國專利案第 6,953,855 號）中所生成之主要立體異構體形式之特徵在於 1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛烷（吡啶）環之 2 位及 3 位之順式相對構型。換言之，理解為當由所報導之方法製備時順式非對映體 ((2R,3R) 及 (2S,3S) 對映異構體對) 為所得之主要形式。此對主要順式合成之確定係基於：(i) 吡啶環之 2 位及 3 位氫核之  $^1\text{H}$  偶合常數及分離之非對映體（順式及反式）中間體之  $^1\text{H}$  偶合常數與文獻中所報導之偶合常數之比較；及 (ii) 與文獻類比，用於製造化合物混合物之合成化學之預期的立體化學結果，參考 Warawa 等人，*J. Med. Chem.* **18**(6): 587-593 (1975) 及 Viti 等人，*Tetrahedron Lett.* **35**(32): 5939-5942 (1994)，兩者均以引用之方式併入。因此，預期將形成順式構型。因而，外消旋體之生物測試產生假定可歸因於主要順式構型之結果。

經由結晶鹽形式及類似物之 x-光繞射分析，現已發現在最初合成中所產生之主要非對映體實際上為反式非對映體。此外，已發現具有反式相對立體化學之兩種對映異構體，即 (2S,3R) 及 (2R,3S)，在其與  $\alpha 7$  NNR 亞型相互作用之能力上大體上彼此不同。(2S,3R) 構型，即化合物 A，具有較大活性。

經進一步分析，已發現化合物 A 具有使其區別於以下各物之藥理學性質：i) 個別呈現之其他三種立體異構體之各

者；ii)所有四種立體異構體之混合物，即外消旋體；及iii)其他在文獻中報導之 $\alpha 7$  NNR配位體。

(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(化合物A)為 $\alpha 7$  NNR受體之高選擇性、完全促效劑，其具有非常低之 $EC_{50}$ (對於活化而言)值及 $EC_{50}$ 與 $IC_{50}$ 之間之良好分離(對於殘餘抑制而言)，在較大醫療有用濃度範圍內提供功能性促效作用。

## II. (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之可規模化合成

特定合成步驟之順應性可變化以按比例擴大。發現反應由於多種原因缺乏按比例擴大之能力，包括安全考慮、試劑費用、難於處理或純化、反應能量學(熱力學或動力學)及反應產量。

本文中所述之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺的合成已用於製造公斤量之物質，且已在公斤倍數規模上以高產量進行組份反應。

可規模化合成使用外消旋酮(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮)之動態解析及解析之酮之(R)- $\alpha$ -甲基苄胺亞胺衍生物之立體選擇性還原(還原胺化)。本文中所報導之合成順序易於規模化且避免層析純化。

## III. 製備(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之新穎鹽形式

游離鹼形式之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環

[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺為具有極有限水溶性之非晶形粉末。游離鹼將與無機酸及有機酸反應生成特定酸加成鹽，其具有有利於製備醫藥組合物的物理及化學性質，包括(但不限於)可結晶性、水溶性及穩定性。本發明鹽之化學計量可變化。

視本文中所述之鹽形成方式而定，該等鹽可具有包藏在鹽形成過程中所存在之溶劑的晶體結構。因此，該等鹽可以水合物及其他具有相對於(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺而言變化之化學計量的溶劑之溶劑合物形式存在。

製備鹽形式之方法可變化。製備(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺鹽形式一般包括：

- (i)將游離鹼或游離鹼之溶液，即(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺於適合之溶劑中的溶液，與純酸混合，或在適合之溶劑中呈酸之溶液形式；
- (iia)冷卻所得鹽溶液，必要時產生沈澱；或
- (iib)添加適合之反溶劑以產生沈澱；或
- (iic)蒸發第一溶劑且添加新溶劑並重複步驟(iia)或步驟(iib)；及
- (iii)過濾且收集所得鹽。

在一實施例中，(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺為立體異構體富集

的。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為90%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為95%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為98%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99%或以上。在一實施例中，對映體及/或非對映體過量為99.5%或以上。

所使用之化學計量、溶劑混合物、溶質濃度及溫度可變化。可用於製備或再結晶鹽形式之代表性溶劑包括(但不限於)乙醇、甲醇、異丙醇、丙酮、乙酸乙酯及乙腈。

適合之醫藥學上可接受之鹽之實例包括無機酸加成鹽，諸如氯化物、溴化物、硫酸鹽、磷酸鹽及硝酸鹽；有機酸加成鹽，諸如乙酸鹽、半乳糖二酸鹽、丙酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、乙醇酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、檸檬酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、甲磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及抗壞血酸鹽；及與胺基酸形成之鹽，諸如天冬胺酸鹽及麩胺酸鹽。該等鹽在一些情況下可為水合物或乙醇溶劑合物。代表性鹽係如以下美國專利案中所述提供：Dull 等人之第 5,597,919 號，Dull 等人之第 5,616,716 號及 Ruecroft 等人之第 5,663,356 號，其之各者以引用之方式併入本文中。

篩選成為游離鹼(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺)之鹽顯示，當可形成許多醫藥學上可接受之酸之鹽時，僅此等鹽中之少數具有商業製造可接受之性質。因此不存在預測由商業可行性之

鹽例示之特徵之能力。提供結晶狀鹽(即展示一些結晶度之鹽)之酸，視其所製備之方法而定，包括鹽酸、硫酸、磷酸、對甲苯磺酸、半乳糖二酸(黏酸)、D-扁桃酸、D-酒石酸、甲磺酸、R-及S-10-樟腦磺酸、順丁烯二酸、酮戊二酸及馬尿酸。在此等鹽中，鹽酸鹽、磷酸鹽、順丁烯二酸鹽及對甲苯磺酸鹽各展示另外之理想性質，包括高熔點、良好水溶性及低的吸濕性。此等鹽之此等性質為意料之外的。

#### IV. 醫藥組合物

本發明之醫藥組合物包括本文中所述呈純態或呈組合物形式之鹽，後者中化合物與任何可為惰性或生理學活性之其他醫藥學上相容之產品組合。所得醫藥組合物可用於在易罹患病況或病症之個體中預防該病況或病症，及/或用於治療患有該病況或病症之個體。本文中所述之醫藥組合物包括本發明之化合物及/或其醫藥學上可接受之鹽。

該等化合物之投藥方式可變化。該等組合物較佳經口投藥(例如呈於溶劑內之液體形式，諸如水性或非水性液體；或於固體載體內)。經口投藥之較佳組合物包括丸劑、錠劑、膠囊、囊片、糖漿及溶液，包括硬明膠膠囊及定時釋放型膠囊。標準賦形劑包括黏合劑、填充劑、著色劑、增溶劑及其類似物。組合物可以單位劑型或多單位劑量或亞單位劑量調配。較佳組合物為液體或半固體形式。可使用包括醫藥學上惰性之液體載劑(諸如水)或其他醫藥學上相容之液體或半固體的組合物。該等液體及半固體之

使用為熟習此項技術者所熟知。

該等組合物亦可經由注射(亦即靜脈內、肌肉內、皮下、腹膜內、動脈內、鞘內及腦室內注射)投藥。靜脈內投藥為較佳注射方法。適用於注射之載劑為熟習此項技術者所熟知且包括5%右旋糖溶液、生理食鹽水及磷酸鹽緩衝生理食鹽水。該藥品亦可以輸注液或注射液(例如於醫藥學上可接受之液體或液體混合物中之懸浮液或乳液)形式投藥。

該等調配物亦可利用其他方式(例如直腸投藥方式)投藥。適用於直腸投藥之調配物，諸如栓劑，為熟習此項技術者所熟知。該藥品亦可藉由以下方式投藥：吸入(例如，以經鼻或使用Brooks等人之美國專利案第4,922,901號(該揭示案以全文併入本文中)中所述之類型之傳遞物之噴霧劑形式)投藥；局部(例如以洗劑形式)投藥；經皮(例如使用經皮貼片)或離子透入(iontophoretically)投藥；或經舌下或面頰投藥。儘管可將化合物以本體活性化學品之形式投藥，但較佳以用於高效且有效投藥之醫藥組合物或調配物之形式提供藥品。

化合物之例示性投藥方法對於熟習此項技術者而言係顯而易見的。此等調配物之有用性可視所用特定組合物及接受治療之特定個體而定。此等調配物可含有可為油性、水性、經乳化之液體載劑或可含有某些適於投藥方式的溶劑。

可間歇地或以逐漸、連續、恆定或受控速率將組合物投

與溫血動物(例如哺乳動物，諸如小鼠、大鼠、貓、兔、犬、豬、牛或猴)，但宜投與人類。此外，每日投與醫藥組合物之時間及次數可不同。

其他投與本發明化合物之適合之方法在Smith等人之美國專利案第5,604,231號中描述，該專利案之內容以引用之方式併入本文中。

在本發明之一實施例中，且如熟習該項技術者將瞭解，本發明之化合物可與其他治療化合物組合投藥。例如，本發明之化合物可與其他以下各物組合使用：NNR配位體(諸如伐倫克林(varenicline))、抗氧化劑(諸如自由基捕獲劑)、抗菌劑(諸如盤尼西林抗生素)、抗病毒劑(諸如核苷類似物，如齊多夫定(zidovudine)及阿昔洛韋(acyclovir))、抗凝劑(諸如殺鼠靈(warfarin))、消炎藥(諸如NSAID)、退熱劑、止痛劑、麻醉劑(諸如手術中所使用者)、乙醯膽鹼酯酶抑制劑(諸如多奈哌齊(donepezil)及加蘭他敏(galantamine))、抗精神病藥(諸如氟哌丁苯(haloperidol)、氯氮平(clozapine)、奧氮平(olanzapine)及喹硫平(quetiapine))、免疫抑制劑(諸如環孢素(cyclosporin)及甲胺喋呤(methotrexate))、神經保護劑、類固醇(諸如類固醇激素)、皮質類固醇(諸如地塞米松(dexamethasone)、強的松(prednisone)及氫皮質酮(hydrocortisone))、維生素、礦物質、保健食品(nutraceutical)、抗抑鬱劑(諸如丙咪嗪(imipramine)、氟西汀(floxetine)、帕羅西汀(paroxetine)、依地普蘭

(escitalopram)、舍曲林 (sertraline)、文拉法辛 (venlafaxine) 及度洛西汀 (duloxetine)、抗焦慮劑 (諸如阿普唑侖 (alprazolam) 及丁螺環酮 (buspirone))、抗驚厥劑 (諸如苯妥英 (phenytoin) 及加巴噴丁 (gabapentin))、血管舒張劑 (諸如哌唑嗪 (prazosin) 及西地那非 (sildenafil))、情感穩定劑 (諸如丙戊酸鹽 (valproate) 及阿立哌唑 (aripiprazole))、抗癌藥 (諸如抗增生劑)、抗高血壓劑 (諸如阿廷諾 (atenolol)、可樂定 (clonidine)、胺氯地平 (amlodipine)、維拉帕米 (verapamil) 及奧美沙坦 (olmesartan))、輕瀉劑、糞便軟化劑、利尿劑 (諸如呋喃苯胺酸 (furosemide))、鎮痙劑 (anti-spasmodic) (諸如雙環胺 (dicyclomine))、抗運動障礙劑及抗潰瘍藥 (諸如埃索美拉唑 (esomeprazole))。

本發明之化合物可單獨使用或與其它治療劑組合使用。該醫藥學活性劑組合可一起或分開投與，當分開投與時，投藥可同時或依序，以任何順序進行。為獲得理想之治療效果而選擇化合物或試劑之量及相對投藥時間。組合投藥可同時投與：(1) 包括多種化合物之整體醫藥組合物；或 (2) 各自包括該等化合物之一之分開的醫藥組合物。或者，可以依序方式分開投與組合，其中首先投與一種治療劑且其次投與另一種治療劑，或首先投與該另一種治療劑且其次投與該第一種治療劑。此依序投藥在時間上可接近或間隔較長。本發明之化合物可用於治療多種病症及病況，且因此本發明之化合物可與多種可用於治療或預防彼等病症或病況之其他適當治療劑組合使用。

化合物之適當劑量為有效預防患者所罹患之病症之症狀出現或有效治療患者所罹患之病症之某些症狀的量。如所述，"有效量"、"治療量"或"有效劑量"意謂足以引發所要藥理學效應或治療效應，從而可有效預防或治療病症的量。

當治療 CNS 病症時，化合物之有效量為足以通過個體之血腦障壁以結合個體腦中之相關受體位點並調節相關 NNR 亞型之活性(例如提供神經遞質分泌，從而有效預防或治療病症)的量。預防病症之一實例係藉由延遲病症之症狀發作而顯而易見。治療病症之一實例係藉由減少與該病症相關之症狀或改善該病症之症狀復發而顯而易見。較佳地，有效量為足以獲得理想結果，但不足以導致明顯副作用之量。

有效劑量可視以下因素而變化：諸如患者之狀況、病症之症狀之嚴重程度及醫藥組合物之投藥方式。對於人類患者而言，典型化合物之有效劑量一般需要以足以調節相關 NNR 活性之量投與該化合物，但該量應不足以誘發對骨骼肌及神經節任何明顯程度之效應。化合物之有效劑量當然隨患者不同而有所不同，但通常包括引起 CNS 效應或其他所要治療效應產生的量，但低於觀測到肌肉效應之量。

當以根據本文中所述之方法之有效量使用時，本文所述之化合物對 CNS 或其他病症之進展、改善 CNS 或其他病症之症狀，或在某些程度上改善 CNS 或其他病症之復發可提供某些程度之預防。彼等化合物之有效量通常低於引起

任何明顯副作用(例如彼等與骨骼肌或神經節相關之效應)所需之臨限濃度。可在治療某些CNS及其他病症且避免某些副作用之治療窗口中投與化合物。理想地，有效劑量之本文中所述之化合物足以對病症提供想要之效應但不足以(亦即含量不夠高)提供不良副作用。較佳地，以有效治療CNS或其他病症之劑量，但小於引起任何明顯程度之某些副作用所需之量，常小於引起任何明顯程度之某些副作用所需之量之1/5，且常小於引起任何明顯程度之某些副作用所需之量之1/10投與化合物。

最佳地，有效劑量為觀測到最大效應出現且具有最小副作用之極低濃度。通常，該等化合物之有效劑量一般需要以小於5 mg/kg患者體重之量投與化合物。通常，以小於約1 mg/kg患者體重之量，且通常小於約100 µg/kg患者體重，但常常以約10 µg至小於100 µg/kg患者體重投與本發明化合物。上述有效劑量通常表示作為單次劑量所投與之量或作為在24小時期間內投與一或多次劑量所投與之量。

對於人類患者，典型化合物之有效劑量通常需要以至少約1，通常至少約10，且常常至少約100 mg/24小時/患者之量投與化合物。對於人類患者，典型化合物之有效劑量需要以通常不超過約500，通常不超過約400，且常常不超過約300 mg/24小時/患者之量投與化合物。此外，有利地以使患者血漿內之化合物濃度通常不超過50 ng/mL，通常不超過30 ng/mL，且常常不超過10 ng/mL之有效劑量投與組合物。在本發明之一實施例中，有效劑量在24小時期間內

介於約 1 mg 與 10 mg 之間。

#### IV. 使用醫藥組合物之方法

如本文中所使用，"促效劑"為刺激其結合對象(通常為受體)的物質。刺激係在特定檢定之情況下定義，或可自本文之論述在文獻中顯而易見，該論述在大體上如熟習此項技術者所瞭解之類似環境下比較接受作為特定結合對象之"促效劑"或"拮抗劑"之因子或物質。刺激可關於由促效劑或部分促效劑與結合對象之相互作用誘發之特定效應或功能(且可包括異位效應)之增加而定義。

如本文中所使用，"拮抗劑"為抑制其結合對象(通常為受體)的物質。抑制係在特定檢定之情況下定義，或可自本文之論述在文獻中顯而易見，該論述在大體上如熟習此項技術者所瞭解之類似環境下比較接受作為特定結合對象之"促效劑"或"拮抗劑"之因子或物質。抑制可關於由拮抗劑與結合對象之相互作用誘發之特定效應或功能(且可包括異位效應)之減少而定義。

如本文中所使用，"部分促效劑"或"部分拮抗劑"為向其結合對象分別提供一定程度之刺激或抑制的物質，此程度之刺激或抑制分別不具有充分或完全促效性或拮抗性。應瞭解，刺激及由此之抑制本質上係針對任何可定義為促效劑、拮抗劑或部分促效劑的物質或物質類別而定義。

如本文中所使用，"固有活性"或"功效"係關於對結合對象複合物之生物有效性之某種度量。就受體藥理學而言，定義固有活性或功效之情境可視結合對象(例如受體/配位

體)複合物之情境及與特定生物學結果相關之活性的考慮而定。舉例而言，在有些情況下，固有活性可視所涉及之特定第二信使系統而改變。關於該教示，參見Hoyer, D.及Boddeke, H., *Trends Pharmacol. Sci.* 14(7): 270-5 (1993)，其以引用之方式併入本文中。習此相關技藝之人士將可了解該等相關之特定分析法，及其與本發明之相關性。

如本文中所使用，受體之調節包括對受體之促效作用、部分促效作用、拮抗作用、部分拮抗作用或反向促效作用。

如本文中所使用，由本文中所述之化合物介導釋放的神經遞質包括(但不限於)乙醯膽鹼、多巴胺(dopamine)、去甲腎上腺素、血清素及麩胺酸鹽，且本文中所述之化合物對CNS NNR之 $\alpha 7$ 亞型具有調節劑作用。

如本文中所使用，術語"預防(prevention或prophylaxis)"包括任何程度之疾病、病症或病況進展減少或發作延遲。該術語包括對特定疾病、病症或病況提供保護效應以及改善疾病、病症或病況之復發。因此，在另一態樣中，本發明提供用於治療患有NNR或nAChR介導之病症或有發展或復發NNR或nAChR介導之病症風險之個體的方法。例如在患有CNS功能障礙之個體中，本發明之化合物及醫藥組合物可用於達成有益之治療或預防效應。

如上所述，本發明之游離鹼及鹽化合物調節 $\alpha 7$  NNR亞型(係CNS之特徵)，且藉由調節 $\alpha 7$  NNR可在患有或易患該等病況或病症之個體中用於預防或治療多種病況或病症，

包括 CNS 之病況或病症。如上所述，該等化合物具有與  $\alpha 7$  NNR 選擇性結合且表現菸鹼藥理學之能力，例如用作促效劑、部分促效劑、拮抗劑。舉例而言，本發明之化合物當以有效量投與有需要之患者時，可對 CNS 病症之進展提供某種程度之預防(亦即提供保護作用)、改善 CNS 病症之症狀或改善 CNS 病症之復發，或其組合。

本發明之化合物可用於治療或預防彼等已提出或展示其他類型之菸鹼化合物適於用作治療劑之類型之病況及病症。關於該治療教示，參見例如，先前上文中所列之文獻，以及 Williams 等人，*Drug News Perspec.* 7(4): 205 (1994)；Arneric 等人，*CNS Drug Rev.* 1(1): 1-26 (1995)；Arneric 等人，*Exp. Opin. Invest. Drugs* 5(1): 79-100 (1996)；Bencherif 等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1413 (1996)；Lippiello 等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1422 (1996)；Damaj 等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291: 390 (1999)；Chiari 等人，*Anesthesiology* 91: 1447 (1999)；Lavand'homme and Eisenbach, *Anesthesiology* 91: 1455 (1999)；Holladay 等人，*J. Med. Chem.* 40(28): 4169-94 (1997)；Bannon 等人，*Science* 279: 77 (1998)；PCT WO 94/08992；PCT WO 96/31475；PCT WO 96/40682 及以下美國專利案：Bencherif 等人之第 5,583,140 號；Dull 等人之第 5,597,919 號；Smith 等人之第 5,604,231 號及 Cosford 等人之第 5,852,041 號，其之揭示案以引用之方式併入本文中。

該等化合物及其醫藥組合物適用於治療或預防多種 CNS 病症，包括神經退化性病變、神經精神異常、神經病變及成癮症。該等化合物及其醫藥組合物可用於治療或預防認知缺陷及功能障礙(年齡相關及其他因素)、注意力障礙及癡呆症(包括歸因於致病因子或代謝紊亂之彼等病症)；提供神經保護作用；治療抽搐及多發性腦梗塞；治療情感障礙、強迫症及成癮行為；提供止痛作用；控制炎症(諸如細胞因子及細胞核因子 $\kappa$ B所介導之炎症)；治療炎性病變；提供疼痛減輕作用；治療代謝障礙(諸如糖尿病或代謝症候群)及治療感染(作為用於治療細菌、真菌及病毒感染之抗感染劑)。

### CNS病症

在該等病症、疾病及病況中，本發明之化合物及醫藥組合物可用於治療或預防者為：年齡相關之記憶障礙(AAMI)、輕度認知障礙(MCI)、年齡相關之認知衰退(ARCD)、早老性癡呆、早發性阿茲海默氏症、老年癡呆、阿茲海默氏型癡呆、阿茲海默氏症、非癡呆型認知障礙(CIND)、路易體性癡呆、HIV癡呆、AIDS癡呆複合症、血管型癡呆、唐氏症候群(Down syndrome)、腦損傷、創傷性腦損傷(TBI)、拳擊手癡呆、克-亞二氏症(Creutzfeldt-Jacob Disease)及朊病毒疾病、中風、局部缺血、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、閱讀困難、精神分裂症、類精神分裂症精神障礙、分裂情感性精神障礙、在精神分裂症中之認知功能障礙、在精神分裂症中之認知缺陷，諸如記

憶，包括工作記憶、執行功能、注意力、警醒症、信息處理、及學習、與精神分裂症有關之癡呆(無論輕度、中度或重度)、與精神分裂症有關之癡呆(無論輕度、中度或重度)、帕金森氏病，包括帕金森氏症、腦炎後帕金森氏症候群、帕金森氏症候群-Gaum癡呆、帕金森氏症型額顳癡呆(FTDP)、匹克氏病、尼曼-匹克二氏病(Niemann-Pick's Disease)、亨丁頓氏病(Huntington's Disease)、亨丁頓氏舞蹈病、遲發性運動不能、運動功能亢進、進行性核上麻痺(progressive supranuclear palsy, progressive supranuclear paresis)、腿不寧症候群、多發性硬化症、肌肉萎縮性側索硬化(ALS)、運動神經元病(MND)、多系統萎縮(MSA)、皮質基底核退化症、格林-巴利症候群(Guillain-Barré Syndrome, GBS)、慢性發炎性髓鞘脫失多發性神經病(CIDP)、癲癇症、常染色體顯性遺傳夜間額葉癲癇、躁狂、焦慮、抑鬱症、經前期緊張症候群、恐慌症、貪食症、厭食症、發作性睡病、白天過度嗜睡、雙極症、廣泛性焦慮症、強迫症、憤怒暴發、對立違抗性障礙、妥瑞症候群、自閉症、藥物及酒精成癮症、煙草成癮症、肥胖、惡病質、牛皮癬、狼瘡、急性膽管炎、鵝口瘡、潰瘍、哮喘、潰瘍性結腸炎、發炎性腸疾病、克羅恩氏病(Crohn's disease)、手術後腸梗阻、痙攣性緊張不足、腹瀉、便秘、結腸袋炎(pouchitis)、胰腺炎、病毒性肺炎、關節炎，包括類風濕性關節炎及骨關節炎、內毒血症、敗血症、動脈硬化症、特發性肺纖維化、急性疼痛、慢性疼

痛、神經病、尿失禁、糖尿病及贅瘤形成。

認知障礙或認知功能障礙可與以下疾病相關：精神病症或病況，諸如精神分裂症及其他精神障礙，包括(但不限於)精神障礙、類精神分裂症精神障礙、分裂情感性精神障礙、妄想症、短暫精神障礙、共享型精神障礙、及由於一或多種一般疾病造成之精神障礙、癡呆、及其他認知病症，包括(但不限於)輕度認知障礙、早老性癡呆、阿茲海默氏症、老年癡呆、阿茲海默氏型癡呆、年齡相關之記憶障礙、路易體性癡呆、血管型癡呆、AIDS癡呆複合症、閱讀困難、帕金森氏症候群，包括帕金森氏症、帕金森氏症造成之認知障礙及癡呆、多發性硬化症造成之認知障礙、創傷性腦損傷造成之認知障礙、由於其他一般疾病造成之癡呆、焦慮症，包括(但不限於)無畏曠症之恐慌症、有畏曠症之恐慌症、無恐慌症史之畏曠症、特定恐懼症、社交恐懼症、強迫症、創傷後壓力症、急性壓力症、廣泛性焦慮症及由於一般疾病造成之廣泛性焦慮症、情感障礙，包括(但不限於)重性抑鬱症、惡劣心境障礙、雙極抑鬱症、雙極躁狂、雙極I型症、與躁狂相關之抑鬱症、抑鬱或混合型發作、雙極II型症、循環情感性精神障礙、及由於一般疾病造成之情感障礙、睡眠失調，包括(但不限於)睡眠障礙、原發性失眠症、原發性睡眠過度、發作性睡病、深眠病症(parasomnia disorder)、夢魘症、睡眠驚恐症及夢遊症、智力遲鈍、學習障礙、運動技巧障礙、交流障礙、廣泛性發育障礙、注意力缺乏症及分裂性行為異

常、注意力缺乏症、注意力缺乏過動症、嬰兒、兒童或成人進食及飲食障礙、抽搐障礙、排泄性病徵、物質相關性病徵，包括(但不限於)物質依賴、物質濫用、物質中毒、物質戒斷、酒精相關之病徵，安非他命或安非他命類似物相關之病徵、咖啡因相關之病徵、大麻相關之病徵、可卡因相關之病徵、迷幻藥相關之病徵、吸入劑相關之病徵、菸鹼相關之病徵、類鴉片相關之病徵、苯環己哌啶或苯環己哌啶類似物相關之病徵、及鎮靜劑-、催眠劑-或抗焦慮劑相關之病徵、人格障礙，包括(但不限於)強迫人格障礙及衝動控制障礙。

精神分裂症之症狀通常分為三類：陽性、陰性及認知。陽性症狀，亦可稱為"精神病"症狀，且包括妄想及幻覺。"陽性"係指具有明顯症狀。陰性症狀包括情感表現平淡或缺乏情感表現，不能開始並堅持完成活動，言語簡單且缺乏內容，且在活動時缺乏快樂或興趣。"陰性"係指缺乏健康個體中存在之某些特徵。認知症狀係關於思維過程。認知症狀包括認知缺陷，諸如記憶，包括工作記憶、執行功能、注意力、警醒症、信息處理及學習，參考 Sharma 等人，*Cognitive Function in Schizophrenia: Deficits, Functional Consequences, and Future Treatment*, *Psychiatr. Clin. N. Am.* 26 (2003) 25-40，其以引用之方式併入本文中。精神分裂症亦影響情感。雖然許多受精神分裂症影響之個體變得抑鬱，但有些亦具有明顯情感擺動及甚至類雙極症病狀。

關於定義該等病況及病症，以上病況及病症係例如在美國心理協會(American Psychiatric Association)：精神疾病診斷與統計手冊(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)，第四版，文本修訂，Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000中詳細描述，該文以引用之方式併入本文中。此手冊亦可提及與物質使用、濫用及依賴相關之症狀及診斷特徵之大量細節。

較佳地，在無明顯相反副作用(包括例如，顯著增加血壓及心率，對胃腸道之顯著負效應，及對骨骼肌之顯著效應)時進行治療或預防疾病、病症及病況。

咸信本發明之化合物當以有效量使用時可調節 $\alpha 7$  NNR之活性而不與人類神經節(如由其缺少引發腎上腺嗜鉻組織之菸鹼功能之能力所證明)或骨骼肌(另外由其缺少引發表現肌肉型菸鹼受體之細胞製劑之菸鹼功能的能力所證明)所特有之菸鹼亞型產生明顯的相互作用。因此，該等化合物能夠治療或預防疾病、病症及病況而不在神經節及神經肌肉位點引發與明顯副作用相關的活性。因此，咸信投與該等化合物可形成提供某些疾病、病症及病況之治療且避免某些副作用的治療窗。亦即，咸信有效劑量之化合物足以對疾病、病症或病況產生所要效應，但相信不足以(亦即含量不夠高)產生不良副作用。

因此，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽供治療(諸如上述治療)之用的用途。

在又一態樣中，本發明提供本發明化合物或其醫藥學上

可接受之鹽之用途，其係用於製造供治療 CNS 病症(諸如上述病症、疾病或病況)之用的藥物。

### 炎症

已知主要經由迷走神經之神經系統藉由抑制巨噬細胞腫瘤壞死因子(TNF)釋放來調節先天性免疫反應之大小。此生理學機制稱為"膽鹼性消炎路徑"(參見，例如，Tracey, "The inflammatory reflex," *Nature* 420: 853-9 (2002)，其以引用之方式併入本文中)。過度炎症及腫瘤壞死因子合成導致多種疾病之發病率及甚至死亡率。此等疾病包括(但不限於)內毒血症、類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬、哮喘、動脈硬化症、特發性肺纖維化及發炎性腸疾病。

可藉由投與本文中所述之化合物治療或預防之發炎性病況包括(但不限於)慢性及急性炎症、牛皮癬、內毒血症、痛風、急性假痛風、急性痛風性關節炎、關節炎、類風濕性關節炎、骨關節炎、多發性肌炎、皮膚炎、強直性脊椎炎、斯蒂爾病(Still's disease)、成人發作性斯蒂爾病、同種異體移植排斥反應、慢性移植排斥反應、哮喘、動脈硬化症、單核吞噬細胞依賴性肺損傷、特發性肺纖維化、異位性皮炎、慢性阻塞性肺病、成人呼吸窘迫症候群、鐮狀細胞疾病中之急性胸部症候群、發炎性腸疾病、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、急性膽管炎、鵝口瘡、結腸袋炎、絲球體腎炎、狼瘡腎炎、血栓症及移植物抗宿主反應。

### 與細菌及/或病毒感染相關之發炎性反應

許多細菌及/或病毒感染(例如腦膜炎、肝炎及腎炎)與由毒素形成，及身體對細菌或病毒及/或毒素之自然反應所引起之副作用相關。如上所述，身體對感染之反應通常包括產生顯著量之TNF及/或其他細胞激素。此等細胞激素之過度表現可造成顯著傷害，諸如敗血性休克(當細菌為膿毒菌時)、內毒素性休克、尿膿毒病及中毒性休克症候群。

細胞激素表現係由NNR介導，且可藉由投與此等受體之促效劑或部分促效劑來抑制。因此，作為此等受體之促效劑或部分促效劑之本文中所述之化合物可用於最小化與細菌感染以及病毒及真菌感染有關之發炎性反應。該等細菌感染之實例包括炭疽、肉毒中毒、及膿毒。有些此等化合物亦可具有抗菌性。

此等化合物亦可用作與現存治療組合之輔助治療以控制細菌、病毒及真菌感染，諸如抗生素、抗病毒劑及抗真菌劑。抗毒素亦可用於結合由感染物產生之毒素且使結合之毒素通過身體而不產生發炎性反應。抗毒素之實例於例如，Bundle等人之美國專利案第6,310,043號中揭示，其以引用的方式併入本文中。其他有效抗細菌及其他毒素之藥劑可為有效的，且其治療效果可藉由與本文中所述之化合物共投與而實現。

#### 疼痛

可投與該等化合物以治療及/或預防疼痛，包括急性、神經性(neurologic)、發炎性、神經性(neuropathic)及慢性

疼痛。本文中所述之化合物之止痛作用可在持續發炎性疼痛及神經痛之模型中得以證明，如美國公開專利申請案第20010056084 A1(Allgeier等人)號中所執行，該案以引用之方式併入，其中證明在發炎性疼痛之完全傅氏佐劑大鼠模型(complete Freund's adjuvant rat model)中痛覺過敏及在神經痛之小鼠部分坐骨神經結紮模型中機械痛覺過敏。

止痛作用適用於治療各種起源或病源之疼痛，尤其適用於治療發炎性疼痛及相關之痛覺過敏、神經痛及相關之痛覺過敏、慢性疼痛(例如嚴重慢性疼痛，術後疼痛及與包括癌症之各種病況相關之疼痛、絞痛、腎臟或膽絞痛、月經痛、偏頭痛及痛風)。發炎性疼痛可為不同起源的，包括關節炎及類風濕性疾病、腱鞘炎(teno-synovitis)及血管炎。神經痛包括三叉神經痛或疱疹神經痛、糖尿病性神經痛、灼痛、下背疼痛，及傳入神經阻滯症候群，諸如臂神經叢撕裂。

### 新血管生成

$\alpha 7$  NNR係與新血管生成相關。例如藉由投與 $\alpha 7$  NNR之拮抗劑(或特定劑量之部分促效劑)抑制新血管生成可治療或預防特徵為不良新血管生成或血管生成之病況。該等病況可包括彼等特徵為發炎性血管生成及/或局部缺血-誘發之血管生成之病況。與腫瘤生長相關之新血管生成亦可藉由投與用作 $\alpha 7$  NNR之拮抗劑或部分促效劑的本文中所述之化合物來抑制。

$\alpha 7$  NNR-特異性活性之特異性拮抗作用可減少對炎症、

局部缺血及瘤形成之血管生成反應。關於用於評估本文中所述之化合物之適當動物模型系統的指導可見於例如 Heeschen, C. 等人, "A novel angiogenic pathway mediated by non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors," *J. Clin. Invest.* **110(4)**:527-36 (2002) 中, 該文關於血管生成之  $\alpha 7$ -特異性抑制及與人類疾病相關之血管生成活性之細胞(活體外)及動物模型, 尤其路易斯(Lewis)肺腫瘤模型(在小鼠中活體內-參見, 尤其第 529 頁及第 532-533 頁)之揭示以引用之方式併入本文中。

可使用本文中所述之化合物治療之代表性腫瘤類型包括 NSCLC、卵巢癌、胰腺癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、肺癌、口咽癌、咽下部癌、食道癌、胃癌、胰腺癌、肝癌、膽囊癌、膽管癌、小腸癌、尿路癌、腎臟癌、膀胱癌、尿路上皮癌、女性生殖道癌、子宮頸癌、子宮癌、卵巢癌、絨膜癌、妊娠滋養層疾病、男性生殖道癌, 前列腺癌、精囊癌、睪丸癌、生殖細胞腫瘤、內分泌腺癌、甲狀腺癌、腎上腺癌、腦下垂體癌、皮膚癌、血管瘤、黑色素瘤、肉瘤、骨及軟組織肉瘤、卡堡氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、腦腫瘤、神經腫瘤、眼部腫瘤、腦膜腫瘤、星形細胞瘤、神經膠質瘤、膠質母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、神經瘤、神經母細胞瘤、神經鞘瘤(Schwannoma)、腦膜瘤、來自造血系統之惡性固體腫瘤(諸如白血病、綠色瘤、漿細胞瘤及蕈樣真菌病之斑塊及腫瘤及皮膚 T-細胞淋巴瘤/白血病)及來自淋巴瘤之固體腫瘤。

亦可將該等化合物與其它形式之抗癌治療結合投與，包括與諸如順鉑、阿德力黴素(adriamycin)、道諾黴素(daunomycin)及其類似物之抗贅生性抗腫瘤劑，及/或同樣如該項技術中已知之抗VEGF(血管內皮生長因子)劑共投與。

可以使化合物靶向腫瘤位點之方式投藥。例如可以與將微粒導向腫瘤之各種抗體共軛之微球體、微粒或脂質體形式投與該等化合物。此外，該等化合物可以微球體、微粒或脂質體形式存在，其經適當尺寸化以通過動脈及靜脈，但停留於腫瘤周圍之毛細管床中且將該等化合物局部投與該腫瘤。該藥物傳遞方法在該項技術中為已知。

#### 其他病症

除治療CNS病症、炎症、新血管生成及疼痛之外，本發明化合物亦可用於預防或治療其中NNR起作用之某些其他病況、疾病及病症。實例包括自體免疫病症，諸如狼瘡、與細胞激素釋放相關之病症、繼發於感染之惡病質(例如如AIDS、AIDS相關之複合症及贅瘤形成中所發生)、代謝障礙，包括I型糖尿病、II型糖尿病、代謝症候群、肥胖症，或高血糖症、天疱瘡(pemphitis)、尿失禁、視網膜疾病、感染性疾病、肌無力、Eaton-Lambert症候群、高血壓、骨質疏鬆症、血管收縮、血管擴張、心律失常、貪食症、厭食症以及在公開之PCT申請案WO 98/25619中所述之彼等適應症，其關於該等病症以引用之方式併入本文中。亦可投與本發明之化合物以治療痙攣，諸如彼等癲癇

症之症狀，及治療諸如梅毒及克-亞二氏症之病況。

### 診斷用途

該等化合物尤其當其經修飾以包括適當標記時可用於診斷性組合物(諸如探針)中。探針可用於(例如)測定特異性受體、尤其 $\alpha 7$ 受體亞型之相對數目及/或功能。為此，本發明之化合物最佳係經放射性同位素部分(諸如 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{123}\text{I}$ 或 $^{125}\text{I}$ )標記。

所投化合物可利用已知適於所用標記之偵測方法偵測。偵測方法之實例包括正電子發射斷層攝影術(PET)及單光子發射電腦化攝影術(SPECT)。上述放射性標記適用於PET(例如 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 或 $^{76}\text{Br}$ )及SPECT(例如 $^{123}\text{I}$ )成像，其中 $^{11}\text{C}$ 之半衰期為約20.4分鐘， $^{18}\text{F}$ 之半衰期為約109分鐘， $^{123}\text{I}$ 之半衰期為約13小時且 $^{76}\text{Br}$ 之半衰期為約16小時。需要高比活性以在不飽和濃度下顯現所選受體亞型。所投劑量通常低於毒性範圍且提供高對比度影像。預期該等化合物能夠以無毒量投藥。劑量之測定係以熟習放射性標記成像技術者已知之方式進行。關於該等化合物之投藥，參見例如London等人之美國專利第5,969,144號，其以引用的方式併入本文中。

該等化合物可利用已知技術投藥。關於該投藥，參見例如如上所述之London等人之美國專利第5,969,144號，其以引用的方式併入。該等化合物可以併有其他成份(諸如適用於調配診斷性組合物之彼等成份類型)的調配組合物投藥。適用於實施本發明之化合物最佳以高純度形式使用。

關於該分析，參見 Elmalch 等人之美國專利第 5,853,696 號，其以引用之方式併入本文中。

化合物投與個體(例如人類個體)後，可藉由適當技術使化合物於個體體內的存在成像並量化以便指示所選 NNR 亞型之存在、數量及功能性。除人類之外，化合物亦可投與動物，諸如小鼠、大鼠、狗及猴。SPECT 及 PET 成像可利用任何適當的技術及裝置進行。關於代表性成像技術之揭示，參見 Villemagne 等人，In: Arneric 等人(編)*Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*, 235-250 (1998) 及 Elmalch 等人之美國專利第 5,853,696 號，其各以引用的方式併入本文中。

放射性標記化合物以高親和力結合選擇性 NNR 亞型(例如  $\alpha 7$ ) 且較佳地對其他菸鹼膽鹼能受體亞型(例如與肌肉及神經節相關之彼等受體亞型) 展現之非特異性結合可忽略。因而，該等化合物可用作個體體內、尤其腦內之菸鹼膽鹼能受體亞型之非侵入成像劑從而用於與多種 CNS 疾病及病症相關之診斷中。

在一態樣中，診斷性組合物可用於個體(諸如人類患者)之疾病診斷方法中。該方法包括將如本文中所述之可偵測性標記化合物投與彼患者，及偵測彼化合物與所選 NNR 亞型(例如  $\alpha 7$  受體亞型)之結合。熟習利用診斷工具(諸如 PET 及 SPECT)之技術者可使用本文中所述之放射性標記化合物診斷多種病況及病症，包括與中樞神經系統及自主神經系統之功能障礙相關之病況及病症。該等病症包括多種

CNS 疾病及病症，包括阿茲海默氏病、帕金森氏症候群及精神分裂症。可加以評價的該等及其他代表性疾病及病症包括 Bencherif 等人之美國專利第 5,952,339 號中所述之彼等疾病及病症，該專利以引用的方式併入本文中。

在另一態樣中，該等診斷性組合物可用於個體（諸如人類患者）之選擇性菸鹼受體亞型之監測方法中。該方法包括將如本文中所述之可偵測性標記化合物投與彼患者及偵測彼化合物與所選菸鹼受體亞型（即  $\alpha 7$  受體亞型）之結合。

### 受體結合

本發明之化合物可用作結合於 NNR 亞型，尤其  $\alpha 7$  受體亞型之化合物的結合檢定中之參照配位體。為此，本發明之化合物較佳係經放射性同位素部分（諸如  $^3\text{H}$  或  $^{14}\text{C}$ ）標記。

### V. 合成實例

提供以下實例用來說明本發明而不應將其視作限制本發明範疇。在該等實例中，除非另有說明，否則所有份數及百分率係以重量計。除非另有說明，否則所有溶液均為水溶液。

實例 1：小規模合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺 (化合物 A) 及其對映異構體，(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺  
2-((3-吡啶基)亞甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-酮

將氫氧化鉀 (56 g, 0.54 莫耳) 溶於甲醇 (420 mL) 中。在環境溫度下添加 3-奎寧環酮 (Quinuclidinone) 鹽酸鹽 (75 g,

0.49莫耳)且將混合物攪拌30 min。在環境溫度下添加3-吡啶羧醛(58 g, 0.54莫耳)且將混合物攪拌16 h。在此時期,反應混合物變成黃色,同時在燒瓶壁上有固體結塊。將固體自壁上刮下且將塊打碎。在快速攪拌下添加水(390 mL)。當固體溶解時,將混合物在4°C下冷卻隔夜。藉由過濾收集晶體,用水洗滌,且風乾得到80 g黃色固體。藉由濃縮濾液至其原體積之約10%獲得第二次產出(8 g)且在4°C下冷卻隔夜。兩次產出均足夠純以用於進一步轉化(88 g, 82%產率)。

### 2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮

將2-((3-吡啶基)亞甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮(20 g, 93 mmol)懸浮於甲醇(200 mL)中且用46 mL之6 M鹽酸處理。添加10%碳載鈀(1.6 g)且將混合物在25磅/平方吋(psi)之氫氣下震盪16 h。混合物經矽藻土過濾,且藉由旋轉蒸發將溶劑自濾液中移除。此操作提供呈白色膠狀物之粗製2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮鹽酸鹽(20 g),將其隨後用2 M氫氧化鈉(50 mL)及氯仿(50 mL)處理且攪拌一小時。分離氯仿層,且水相用2 M氫氧化鈉(約5 mL,足以使pH值增至10)及飽和氯化鈉水溶液(25 mL)處理。用氯仿(3×10 mL)萃取此混合物水溶液,且使合併之氯仿萃取物乾燥(無水硫酸鎂)並藉由旋轉蒸發濃縮。將殘餘物(18 g)溶於溫乙醚(320 mL)中且冷卻至4°C。濾出白色固體,用少部分冷乙醚洗滌且風乾。將濾液濃縮至其原體積之約10%並在4°C下冷卻得到第二產出。獲得合併之產量

為 16 g (79%)。

### 3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷

向氮氣下攪拌之 2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮 (3.00 g, 13.9 mmol) 於無水甲醇 (20 mL) 中之溶液中添加氯化鋅於乙醚 (2.78 mL, 2.78 mmol) 中之 1 M 溶液。在環境溫度下攪拌 30 min 後，用固體甲酸銨 (10.4 g, 167 mmol) 處理此混合物。在環境溫度下再攪拌一小時後，逐份添加固體氰基硼氫化鈉 (1.75 g, 27.8 mmol)。接著在環境溫度下將反應攪拌隔夜且藉由添加水 (約 5 mL) 終止反應。將該中止之反應在 5 M 氫氧化鈉 (10 mL) 與氯仿 (20 mL) 之間分溶。水層用氯仿 (20 mL) 萃取且使合併之有機層乾燥 (硫酸鈉)，過濾且濃縮。此操作得到 2.97 g 黃色膠狀物。GCMS 分析顯示產物為順式與反式胺之 1:9 混合物，連同痕量之相應醇 (98% 總質量回收)。

### (2R,3S) 及 (2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷

將二-對甲苯醯基-D-酒石酸 (5.33 g, 13.8 mmol) 添加至攪拌之粗 3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷 (6.00 g, 27.6 mmol 之 1:9 順式/反式) 於甲醇 (20 mL) 中之溶液中。完全溶解後，接著藉由旋轉蒸發將澄清溶液濃縮成固體塊狀物。將固體溶於最少量之沸騰甲醇 (約 5 mL) 中。將溶液緩慢冷卻，首先至環境溫度 (1 h)，接著經約 4 h 至 5°C 且最終至 -5°C 隔夜。藉由抽吸過濾收集所沈澱之鹽且自 5 mL 甲醇中再結晶。風乾後得到 1.4 g 白色固體，將其

在氯仿(5 mL)與2 M氫氧化鈉(5 mL)之間分溶。合併氯仿層及水層之5 mL氯仿萃取物，乾燥(無水硫酸鈉)且濃縮得到無色油狀物(0.434 g)。此游離鹼之對映體純度係藉由將一部分轉變為其N-(第三丁氧羰基)-L-脯胺醯胺，接著使用LCMS分析非對映體純度(98%)來測定。

用2 M氫氧化鈉使來自初始結晶之母液呈鹼性(約pH 11)且用氯仿(10 mL)萃取兩次。將氯仿萃取物乾燥(無水硫酸鈉)且濃縮得到油狀物。將此胺(3.00 g, 13.8 mmol)溶於甲醇(10 mL)且用二-對甲苯醯基-L-酒石酸(2.76 g, 6.90 mmol)處理。將混合物加溫以幫助溶解且接著緩慢冷卻至-5°C，將其在該溫度保持隔夜。藉由抽吸過濾收集沈澱，自甲醇中再結晶且乾燥。此操作得到1.05 g白色固體。將鹽轉化成游離鹼(產量=0.364 g)，且使用脯胺醯胺方法分析對映體純度(97%)，如以上對於其他對映異構體所述。

**N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之反式對映異構體A**

將氯磷酸二苯酯(0.35 mL, 0.46 g, 1.7 mmol)逐滴添加至苯并咪喃-2-甲酸(0.28 g, 1.7 mmol)及三乙胺(0.24 mL, 0.17 g, 1.7 mmol)於無水二氯甲烷(5 mL)中之溶液中。在環境溫度下攪拌30 min後，添加(2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷(0.337 g, 1.55 mmol)(其來源於二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽)及三乙胺(0.24 mL, 0.17 g, 1.7 mmol)於無水二氯甲烷(5 mL)中之溶液。將反應混合物在環境溫度下攪拌隔夜，且接著用10%氫氧化鈉

(1 mL)處理。分離兩相混合物，且在Genevac離心蒸發器上濃縮有機層。將殘餘物溶於甲醇(6 mL)中且在C18矽膠管柱上，使用含有0.05%三氟乙酸之乙腈/水梯度作為溶離劑藉由HPLC純化。濃縮所選擇之溶離份，將所得殘餘物在氯仿與飽和碳酸氫鈉水溶液之間分溶，且蒸發氯仿得到0.310 g(產率為42%)白色粉末(根據GCMS純度為95%)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.51 (d, 1H), 8.34 (dd, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.58 (dt, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.40 (dd, 1H), 7.29 (t, 1H), 7.13 (dd, 1H), 6.63 (d, 1H), 3.95 (t, 1H), 3.08 (m, 1H), 2.95 (m, 4H), 2.78 (m, 2H), 2.03 (m, 1H), 1.72 (m, 3H), 1.52 (m, 1H)。

隨後藉由對掌性層析分析確定此物質(反式對映異構體A)與絕對構型為2S,3R(藉由x-光結晶分析確定)之物質相同。

#### N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺之反式對映異構體B

將氯磷酸二苯酯(96 μL, 124 mg, 0.46 mmol)逐滴添加至苯并呋喃-2-甲酸(75 mg, 0.46 mmol)及三乙胺(64 μL, 46 mg, 0.46 mmol)於無水二氯甲烷(1 mL)中之溶液中。在環境溫度下攪拌45 min後，添加(2R,3S)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷(0.10 g, 0.46 mmol)(其來源於二-對甲苯醯基-L-酒石酸鹽)及三乙胺(64 μL, 46 mg, 0.46 mmol)於無水二氯甲烷(1 mL)中之溶液。將反應混合物在環境溫度下攪拌隔夜，且接著用10%氫氧化鈉(1

mL)處理。分離兩相混合物，且藉由旋轉蒸發濃縮有機層及水層之氯仿萃取物(2 mL)。將殘餘物溶於甲醇中且在C18矽膠管柱上，使用含有0.05%三氟乙酸之乙腈/水梯度作為溶離劑藉由HPLC純化。濃縮所選擇之溶離份，將所得殘餘物在氯仿與飽和碳酸氫鈉水溶液之間分溶，且蒸發氯仿得到82.5 mg(產率為50%)白色粉末。NMR光譜與2S,3R異構體所得之光譜相同。由於此物質(反式對映異構體B)之直接前驅體與2S,3R化合物(反式對映異構體A)之直接前驅體為對映體，因此假定反式對映異構體B之絕對構型為2R,3S。

**實例2：大規模合成(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺及(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)-1-苯并咪喃-2-甲醯胺對甲苯磺酸鹽**

**2-((3-吡啶基)亞甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮**

在氮氣蒙氣下將3-奎寧環酮鹽酸鹽(8.25 kg, 51.0 mol)及甲醇(49.5 L)添加至配備機械攪拌器、溫度探針及冷凝器之100 L玻璃反應燒瓶中。經由粉末漏斗經約30 min時間添加氫氧化鉀(5.55 kg, 99.0 mol)，造成反應溫度自50°C上升至56°C。經約2 h時間將3-吡啶羧醛(4.80 kg, 44.9 mol)添加至反應混合物中。將所得混合物在20°C±5°C下攪拌最少12 h，藉由薄層層析法(TLC)監測反應。當反應完成時，經由燒結玻璃漏斗過濾反應混合物且用甲醇(74.2 L)洗滌濾餅。濃縮濾液，轉移至反應燒瓶中，且添加水

(66.0 L)。將懸浮液攪拌最少 30 min，過濾，且用水(90.0 L)洗滌濾餅直至沖洗液之 pH 值為 7-9。在真空下於  $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  乾燥固體最少 12 h 得到 8.58 kg (89.3%) 2-((3-吡啶基)亞甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮。

#### (2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽

在惰性蒙氣下將 2-((3-吡啶基)亞甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮 (5.40 kg, 25.2 mol) 及甲醇 (40.5 L) 添加至配備機械攪拌器、溫度探針、低壓氣體調節器系統及壓力計之 72 L 反應容器中。頂部空間充滿氮氣，且將混合物攪拌以獲得澄清黃色溶液。向該燒瓶中添加 10% 碳載鈀 (50% 濕度) (270 g)。使用真空泵抽空反應器中之氣體，且將頂部空間置換為 10 至 20 吋水壓之氮氣。將抽空及用氮氣增壓再重複 2 次，在第三次增壓後使反應器在 20 吋水壓之氮氣下。將反應混合物在  $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  下攪拌最少 12 h，且經由 TLC 監測反應。當反應完成時，經由燒結玻璃漏斗上之 Celite<sup>®</sup> 545 (1.9 kg) 床過濾懸浮液，且用甲醇 (10.1 L) 洗滌濾餅。濃縮濾液獲得半固體，將其於氮氣蒙氣下轉移至配備機械攪拌器、冷凝器及溫度探針之 200 L 反應燒瓶中。將半固體溶於乙醇 (57.2 L) 中，且添加二-對甲苯醯基-D-酒石酸 (DTTA) (9.74 kg, 25.2 mol)。將攪拌之反應混合物在回流下加熱最少 1 h，且當反應冷卻至  $15^{\circ}\text{C}$  與  $30^{\circ}\text{C}$  之間時歷時另外最少 12 h。使用桌上型過濾器過濾懸浮液，且用乙醇 (11.4 L) 洗滌濾餅。在真空下於環境溫度乾燥產物得到 11.6

kg(產率為76.2%，純度因子為59.5%)(2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽。

**(2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽**

將水(46.25 L)及碳酸氫鈉(4.35 kg, 51.8 mol)添加至200 L燒瓶。當完全溶解時，添加二氯甲烷(69.4 L)。添加(2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽(11.56 kg, 19.19 mol)，且將反應混合物攪拌2 min至10 min。將各層分離最少2 min(必要時添加額外之水(20 L)以在各層間分溶)。移除有機相且經無水硫酸鈉乾燥。將二氯甲烷(34.7 L)添加至剩餘水相，且將懸浮液攪拌2 min至10 min之間。將各層分離2 min至10 min之間。再次移除有機相且經無水硫酸鈉乾燥。如上所述，又一次重複用二氯甲烷(34.7 L)萃取水相。將各次萃取之樣品提交用於對掌性HPLC分析。藉由過濾移除硫酸鈉，濃縮濾液獲得呈固體之(2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮(4.0 kg)。

在氮氣蒙氣下將(2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮(3.8 kg)轉移至配備機械攪拌器及溫度探針之100 L潔淨玻璃反應燒瓶中。添加無水四氫呋喃(7.24 L)及(+)-(R)- $\alpha$ -甲基苄胺(2.55 L, 20.1 mol)。經1 h時間將異丙醇鈦(IV)(6.47 L, 21.8 mol)添加至攪拌之反應混合物中。將反應在氮氣蒙氣下攪拌最少12 h。將乙醇(36.17 L)

添加至反應混合物中。反應混合物冷卻至 $-5^{\circ}\text{C}$ 以下，且逐份添加硼氫化鈉(1.53 kg, 40.5 mol)，保持反應溫度在 $15^{\circ}\text{C}$ 以下(此添加過程耗費數小時)。接著在 $15^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$ 下將反應混合物攪拌最少1 h。藉由HPLC監測反應，且當反應完成時(如由剩餘之(2S)-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-酮小於0.5%來指示)，添加2 M氫氧化鈉(15.99 L)且將混合物攪拌最少10 min。經由桌上型漏斗中之Celite<sup>®</sup>545床過濾反應混合物。用乙醇(15.23 L)洗滌濾餅，且濃縮濾液獲得油狀物。

在惰性蒙氣下將濃縮物轉移至配備機械攪拌器及溫度探針之100 L潔淨玻璃反應燒瓶中。添加水(1 L)，且將混合物冷卻至 $0^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。將2 M鹽酸(24 L)添加至混合物中以將混合物之pH值調節至pH 1。接著將混合物攪拌最少10 min，且緩慢添加2 M氫氧化鈉(24 L)以將混合物之pH值調節至pH 14。將混合物攪拌最少10 min，且用二氯甲烷( $3\times 15.23$  L)萃取水相。使有機相經無水硫酸鈉(2.0 kg)乾燥、過濾且濃縮得到(2S,3R)-N-((1R)-苯基乙基)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷(4.80 kg，產率為84.7%)。

在惰性蒙氣下將(2S,3R)-N-((1R)-苯基乙基)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷轉移至配備機械攪拌器及溫度探針之22 L玻璃燒瓶。添加水(4.8 L)，且將攪拌之混合物冷卻至 $5^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。將濃鹽酸(2.97 L)緩慢添加至反應燒瓶中，保持混合物之溫度在 $25^{\circ}\text{C}$ 以下。在惰性蒙

氣下將所得溶液轉移至含有乙醇(18 L)，配備機械攪拌器、溫度探針及冷凝器之72 L反應燒瓶中。向燒瓶中添加10%碳載鈀(50%濕度)(311.1 g)及環己烯(14.36 L)。將反應混合物在接近回流下加熱最少12 h，且藉由TLC監測反應。當反應完成時，將反應混合物冷卻至45°C以下，且經由燒結玻璃漏斗上之Celite®545(1.2 kg)床將其過濾。用乙醇(3 L)沖洗濾餅且濃縮濾液得到水相。將水(500 mL)添加至濃縮濾液中，且用甲基第三丁基醚(MTBE)(2×4.79 L)洗滌此合併之水層。將2 M氫氧化鈉(19.5 L)添加至水相中以將混合物之pH值調節至pH 14。接著將混合物攪拌最少10 min。用氯仿(4×11.96 L)萃取水相，且合併之有機相經無水硫酸鈉(2.34 kg)乾燥。將濾液過濾且濃縮獲得呈油狀物之(2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷(3.49 kg，>定量產量)。

在惰性蒙氣下將(2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛烷轉移至配備機械攪拌器、冷凝器及溫度探針之100 L潔淨反應燒瓶中。添加乙醇(38.4 L)及二-對甲苯醯基-D-酒石酸(3.58 kg，9.27 mol)。在平緩回流下將反應混合物加熱最少1 h。接著當反應混合物冷卻至15°C與30°C之間時將其攪拌最少12 h。將所得懸浮液過濾，濾餅用乙醇(5.76 L)洗滌。在惰性蒙氣下將濾餅轉移至配備機械攪拌器、溫度探針及冷凝器之100 L潔淨玻璃反應燒瓶中。添加9:1之乙醇/水溶液(30.7 L)，且在平緩回流下將所得漿料加熱最少1 h。接著當冷卻至15°C與30°C之間時，將

反應混合物攪拌最少 12 h。過濾混合物且濾餅用乙醇 (5.76 L) 洗滌。收集產物並在真空下於  $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  下乾燥最少 12 h 得到 5.63 kg (產率為 58.1%) (2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛烷二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽。

**(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺**

在惰性蒙氣下將 (2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛烷二-對甲苯醯基-D-酒石酸鹽 (3.64 kg, 5.96 mol) 及 10% 氯化鈉水溶液 (14.4 L, 46.4 mol) 添加至配備機械攪拌器之 72 L 玻璃反應燒瓶中。將 5 M 氫氧化鈉 (5.09 L) 添加至攪拌之混合物中以將混合物之 pH 值調節至 pH 14。接著將混合物攪拌最少 10 min。用氯仿 (4×12.0 L) 萃取水溶液，且合併之有機層經無水硫酸鈉 (1.72 kg) 乾燥。過濾合併之有機層，且濃縮濾液，獲得呈油狀物之 (2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛烷 (1.27 kg)。

在惰性蒙氣下將 (2S,3R)-3-胺基-2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛烷轉移至配備機械攪拌器之 50 L 玻璃反應燒瓶中。將二氯甲烷 (16.5 L)、三乙胺 (847 mL, 6.08 mol)、苯并咪喃-2-甲酸 (948 g, 5.85 mol) 及六氟磷酸 O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',1'-四甲基鏷 (HBTU) (2.17 kg, 5.85 mol) 添加至反應混合物中。在環境溫度下將混合物攪拌最少 4 h，且藉由 HPLC 監測反應。當反應完全時，將 10% 碳酸鉀水溶液 (12.7 L, 17.1 mol) 添加至反應混合物中且將混

合物攪拌最少 5 min。分離各層且用 10% 鹽水 (12.7 L) 洗滌有機相。分離各層且將有機相冷卻至  $15^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ 。將 3 M 鹽酸 (8.0 L) 緩慢添加至反應混合物中，以將混合物之 pH 值調節至 pH 1。接著將混合物攪拌最少 5 min，且使各層分溶最少 5 min。使用桌上型過濾器過濾固體。分離各濾液層，且將水相及來自漏斗之固體轉移至反應燒瓶。向燒瓶中緩慢逐份添加 3 M 氫氧化鈉 (9.0 L) 且將混合物之 pH 值調節至 pH 14。用二氯甲烷 ( $2 \times 16.5$  L) 萃取水相。合併之有機相經無水硫酸鈉 (1.71 kg) 乾燥。過濾混合物，且濃縮濾液，得到呈黃色固體之 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (1.63 kg，產率為 77.0%)。

**(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺對甲苯磺酸鹽**

將 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (1.62 kg，4.48 mol) 及二氯甲烷 (8.60 kg) 添加至大玻璃圓瓶 (carboy) 中。經由 HPLC 分析確定溶液中物質之重量/重量百分數。將溶液濃縮成油狀物，添加丙酮 (4 L)，且將混合物濃縮成油狀固體。在旋轉蒸發燒瓶中再添加丙酮 (12 L) 至該油狀固體，且在惰性蒙氣下將所得漿液轉移至具有機械攪拌器、冷凝器、溫度探針及冷凝器之 50 L 玻璃反應燒瓶中。將反應混合物加熱至  $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。將水 (80.7 g) 添加至溶液中，且將其攪拌最少 10 min。經約 15 min 將對甲苯磺酸 (853 g，4.44 mol) 逐份添加

至反應混合物中。將反應混合物加熱至回流且保持於該溫度歷時最少 30 min 以獲得溶液。將反應經約 2 h 冷卻至  $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。經約 1.5 h 添加乙酸異丙酯 (14.1 L)。將反應混合物經最少 10 h 緩慢冷卻至環境溫度。過濾混合物且用乙酸異丙酯 (3.5 L) 洗滌濾餅。在真空下於  $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  下乾燥分離之產物 2 h 至 9 h，得到 2.19 kg (產率為 88.5%) (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺對甲苯磺酸鹽，mp  $226\text{-}228^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  8.29 (s, 1H), 7.78 (m,  $J = 5.1$ , 1H), 7.63 (d,  $J = 7.9$ , 1H), 7.54 (d,  $J = 7.8$ , 1H), 7.49 (d,  $J = 8.1$ , 2H), 7.37 (m,  $J = 8.3$ , 1H), 7.33 (m,  $J = 8.3, 6.9, 1.0$ , 1H), 7.18 (m,  $J = 7.8, 6.9, 1.0$ , 1H), 7.14 (d,  $J = 8.1$ , 2H), 7.09 (s, 1H), 6.99 (dd,  $J = 7.9, 5.1$ , 1H), 4.05 (m,  $J = 7.7$ , 1H), 3.74 (m, 1H), 3.47 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.15 (dd,  $J = 13.2, 4.7$ , 1H), 3.02 (dd,  $J = 13.2, 11.5$ , 1H), 2.19 (s, 3H), 2.02 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.79 (m, 1H)。 $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  157.2, 154.1, 150.1, 148.2, 146.4, 145.2, 138.0, 137.0, 130.9, 128.2 (2), 126.9, 126.8, 125.5 (2), 123.7, 123.3, 122.7, 111.7, 100.7, 61.3, 50.2, 48.0, 40.9, 33.1, 26.9, 21.5, 20.8, 17.0。

藉由用氫氧化鈉水溶液處理及用氯仿萃取將此物質之樣品轉化成化合物 A 游離鹼 (用於鹽選擇研究)。完全蒸發氯仿得到灰白色粉末，mp  $167\text{-}170^{\circ}\text{C}$ ，其具有以下光譜性質：正離子電噴霧 MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$  離子  $m/z=362$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500

MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.53 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 8.43 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 8.28 (dd,  $J = 1.6, 4.7$  Hz, 1H), 7.77 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.63 (dt,  $J = 1.7, 7.7$  Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.46 (m,  $J = 8.5, 7.5$  Hz, 1H), 7.33 (m,  $J = 7.7, 7.5$  Hz, 1H), 7.21 (dd,  $J = 4.7, 7.7$  Hz, 1H), 3.71 (m,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 2.69 (m, 2H), 2.55 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.62 (m, 1H), 1.56 (m, 1H), 1.26 (m, 1H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.1, 154.1, 150.1, 149.1, 146.8, 136.4, 135.4, 127.1, 126.7, 123.6, 122.9, 122.6, 111.8, 109.3, 61.9, 53.4, 49.9, 40.3, 35.0, 28.1, 26.1, 19.6。

將化合物A之單鹽酸鹽(參見實例5)提交用於x-光結晶分析。所得晶體結構(分別於圖10A及10B中展示)確定化合物A之2S,3R絕對構型。

### 實例3：合成(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺磷酸鹽

向圓底燒瓶中添加(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(8.18 g, 22.6 mmol)及2-丙醇(180 mL)。在65-70°C下將混合物攪拌且加熱直至所有固體已溶解。將溶液在65-70°C下劇烈攪拌，且由滴管逐滴添加磷酸(1.65 mL, 24.3 mmol)。立刻形成白色粒狀固體。在65-70°C攪拌混合物歷時30分鐘，冷卻至環境溫度(23°C)且再攪拌24 h。藉由抽吸過濾收集白色固體，用2-丙醇(20 mL)洗滌濾餅且將固體風乾至少1 h。

將固體進一步在真空烘箱中於75°C下乾燥隔夜(16 h)得到10.7 g產物(>定量產量), mp 265-273°C同時分解, 在約180°C觀測到結晶變化。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)表明2-丙醇(強溶劑合物)之存在, 其可解釋產量大於定量產量。對掌性LC分析得到97.1%之純度(270 nm)。

**實例4：合成(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺順丁烯二酸鹽**

將順丁烯二酸(0.067 g, 0.630 mmol)添加至熱的(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(0.203 g, 0.560 mmol)於乙酸異丙酯(2 mL)中之漿液中, 沈積精細、白色固體, 連同膠狀殘餘物。添加額外之乙酸異丙酯(3 mL)及順丁烯二酸(0.006 g), 且將混合物加熱至回流。在回流下添加異丙醇(5 mL)。將所得白色固體混合物冷卻至環境溫度, 過濾且固體用乙酸異丙酯(2 mL)洗滌。將產物在真空下於60°C下乾燥18 h得到0.228 g灰白色、薄片狀固體(產率為84.7%), mp 180-182°C。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)表明單鹽化學計量。 $C_{22}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ 之計算值: C, 65.40; H, 5.70; N, 8.80; 實驗值: C, 65.35, 65.29; H, 5.86, 5.68; N, 8.69, 8.78。

**實例5：合成(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽**

單鹽酸鹽: 藉由將濃鹽酸(1.93 mL of 12M, 23.2 mmol)逐滴添加至8.5 mL冷凍之THF製備鹽酸/THF溶液。將溶液

溫至環境溫度。向圓底燒瓶中添加(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(8.49 g, 23.5 mmol)及丙酮(85 mL)。攪拌混合物且在45-50°C下加熱直至獲得完全溶液。將以上製備之鹽酸/THF溶液經5 min時間逐滴添加，同時在轉移中使用額外之THF(1.5 mL)。在酸溶液之添加過程中開始形成粒狀白色固體。將混合物冷卻至環境溫度，且攪拌隔夜(16 h)。藉由抽吸過濾收集固體，且用丙酮(10 mL)洗滌濾餅，且將固體抽吸風乾30 min。將固體在真空烘箱中在75°C下進一步乾燥2 h得到8.79 g精細之白色晶體(產率為94%)，mp 255-262°C。對掌性LC分析得到純度為98.8% (270 nm)。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)展示無殘餘溶劑且證實單化學計量。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.7 (寬峰 s, 1H - 第四胺), 8.80 (寬峰 s, 1H - 醯胺H), 8.54 (s, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.19 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.05-3.55 (m, 6H), 2.00-2.10 (m, 3H), 1.90 (m, 1H), 1.70 (m, 1H)。此鹽之x-光結晶分析確定立體化學分配及化學計量(參見圖10A及10B)。

二鹽酸鹽：將氯化氫氣體緩慢鼓泡進入冰冷之(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(1.9 g, 5.3 mmol)於無水乙醚(25 mL)中之溶液。首先在氫氣流中且接著用高真空(在高真空管線中之氫氧化鈉洗滌器)移除揮發物。用小體積之無水乙醚(棄去)

將殘餘物濕磨若干次，且在高真空下乾燥剩餘之固體。此操作得到 2.17 g(產率為 94%)灰白色粉末，mp 210-212°C(吸濕的)。對掌性 LC 分析得到純度為 93.7%(270 nm)。正離子電噴霧 MS  $[M+H]^+$  離子  $m/z = 362$ 。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9.15 (s, 1H), 8.84 (d, 1H), 8.63 (d, 1H), 7.97 (t, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.35 (t, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.40-3.85 (m, 6H), 1.95-2.40 (m, 5H)。

**實例 6：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺半乳糖二酸鹽**

將半乳糖二酸(黏酸)(36.3 mg, 0.173 mmol)添加至 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺(125 mg, 0.346 mmol)於熱乙醇(1 mL)中之溶液。當混合物回流時添加水(8滴)；接著將熱混合物經由棉塞過濾，隨後用乙醇(1 mL)沖洗。冷卻未能得到沈澱。藉由旋轉蒸發移除揮發物，且用異丙醇(棄去)濕磨殘餘物(白色泡沫)，且將剩餘固體溶於回流之丙酮/水(4 mL, 7:1)中。緩慢冷卻至 5°C 產生白色固體，將其濾出，用異丙醇(3×1 mL)洗滌，且在高真空下乾燥。此操作得到 118 mg(產率為 73%)精細白色片狀物，mp 134-139°C。 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  8.29 (s, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.18 (t, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.98 (m, 1H), 4.08 (s, 1H, 半乳糖二酸), 3.98 (d, 1H), 3.77 (s, 1H, 半乳糖二酸), 3.66 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.95-3.30

(m, 4H), 1.65-2.05 (m, 5H)。

**實例 7：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 D-酒石酸鹽**

將酒石酸 (25.6 mg, 0.173 mmol) 添加至 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (125 mg, 0.346 mmol) 於熱乙醇 (1 mL) 中之溶液中。將所得溶液緩慢冷卻至環境溫度。無固體沈澱，因此將溶液濃縮得到白色泡沫。在異丙醇中結晶的嘗試失敗。將泡沫溶於甲醇且添加另外一半當量酒石酸 (25.6 mg, 0.173 mmol)。濃縮混合物得到白色泡沫，其不能自甲醇與異丙醇之混合物中結晶。接著將濃縮物 (固體及膠狀液體之混合物) 在乙酸乙酯 (1 mL) 中漿化，生成白色固體。此固體藉由過濾 (乙酸乙酯洗滌) 且在真空烘箱 (於 40°C 下 18 h) 中乾燥分離，得到 141 mg (產率 79.7%) 單化學計量鹽 (NMR)，mp 136-140°C。對掌性 LC 分析得到純度為 98.1% (270 nm)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.50 (s, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.38 (t, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.21 (t, 1H), 4.34 (s, 2H, 酒石酸), 4.26 (d, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.64 (m, 2H), 3.15-3.55 (m, 4H), 1.90-2.30 (m, 5H)。

**實例 8：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺甲磺酸鹽**

將甲磺酸 (33.2 mg, 0.346 mmol) 添加至 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (125 mg, 0.346 mmol) 於熱乙醇 (1 mL) 中之溶液中。

冷卻未能得到沈澱。使混合物回流，且經由棉塞過濾熱混合物，隨後用甲醇(1 mL)沖洗。藉由旋轉蒸發移除揮發物，且將殘餘物(淡黃色泡沫)溶於熱異丙醇(1 mL)中。再次，冷卻未能得到沈澱。蒸發異丙醇，且將殘餘物在丙酮(1 mL)中漿化。過濾且真空烘箱乾燥(在50°C下18 h)得到146 mg(產率92.5%)淡米色固體，mp 240-243°C。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.32 (s, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.01 (m, 1H), 4.09 (d, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.47 (m, 2H), 3.00-3.40 (m, 4H), 2.67 (s, 3H, 甲磺酸), 1.75-2.15 (m, 5H)。

**實例 9：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 D-扁桃酸鹽**

將 D-扁桃酸(52.6 mg, 0.346 mmol)添加至(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺(125 mg, 0.346 mmol)於熱乙醇(1 mL)中之溶液中。用乙酸乙酯(4 mL)稀釋且冷卻未能得到沈澱。藉由旋轉蒸發移除揮發物，且將殘餘物(白色泡沫)溶於熱異丙醇(0.5 mL)中。冷卻至5°C產生白色晶體，將其藉由抽吸過濾收集。真空烘箱乾燥(在45°C下18 h)得到111 mg(產率為62.4%)淡米色固體，mp 188.5-193°C。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.33 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.27 (m, 8H, 包括扁桃酸), 7.12 (s, 1H), 7.01 (m, 1H), 4.85 (s, 1H, 扁桃酸), 4.10 (d, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.00-3.40 (m, 4H), 1.75-2.15 (m, 5H)。

**實例 10：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 R-樟腦磺酸鹽**

將 R-10-樟腦磺酸 (80.3 mg, 0.346 mmol) 添加至 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (125 mg, 0.346 mmol) 於熱乙醇 (1 mL) 中之溶液中。冷卻未能沈積任何沈澱。藉由旋轉蒸發移除揮發物，且將殘餘物 (白色泡沫) 溶於熱異丙醇 (0.5 mL) 中。冷卻至 5°C 產生少許白色晶體及乳狀懸浮液。用刮勺刮燒瓶壁，最後將混合物轉化成稠厚質精細白色晶體。又添加 0.5 mL 異丙醇且藉由抽吸過濾收集晶體。真空烘箱乾燥 (在 70°C 下 5 h，隨後在 110°C 下 2 h) 得到 193 mg (產率為 93.8%) 白色固體，mp 149.5-156°C。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.30 (s, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.99 (m, 1H), 4.07 (d, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.95-3.35 (m, 5H, 包括樟腦磺酸), 2.64 (d, 1H, 樟腦磺酸), 2.22 (m, 2H), 1.70-2.10 (m, 8H, 包括樟腦磺酸), 1.45 (m, 1H, 樟腦磺酸), 1.25 (m, 1H, 樟腦磺酸), 0.85 (s, 3H, 樟腦磺酸), 0.68 (s, 3H, 樟腦磺酸)。

**實例 11：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 S-樟腦磺酸鹽**

將 S-10-樟腦磺酸 (80.3 mg, 0.346 mmol) 添加至 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺 (125 mg, 0.346 mmol) 於熱乙醇 (1 mL) 中之溶

液中。用乙酸乙酯(4 mL)稀釋且冷卻未能沈積任何沈澱。藉由旋轉蒸發移除揮發物，且將殘餘物(白色泡沫)溶於熱異丙醇(1.5 mL)中。冷卻至5°C產生白色晶體。將混合物濃縮至約0.5 mL且再次冷卻至5°C。接著藉由抽吸過濾收集固體且真空乾燥，最初在45°C下18 h，但隨後在連續之高溫(最終在110°C)下移除殘餘異丙醇。此操作得到143 mg(產率為69.7%)白色固體，mp 153.5-157°C。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.29 (s, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.34 (m, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.99 (m, 1H), 4.05 (d, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 3.95-3.35 (m, 5H, 包括樟腦磺酸), 2.67 (d, 1H, 樟腦磺酸), 2.23 (m, 2H), 1.70-2.10 (m, 8H, 包括樟腦磺酸), 1.46 (m, 1H, 樟腦磺酸), 1.25 (m, 1H, 樟腦磺酸), 0.84 (s, 3H, 樟腦磺酸), 0.64 (s, 3H, 樟腦磺酸)。

使用類似於上述報導之程序(實例3-11)的程序表徵若干其他鹽形式。此等製備之結果報導於實例12-14。

#### 實例12：合成(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺硫酸鹽

將硫酸鹽自乙酸異丙酯與水之混合物中沈澱。MP 278°C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.28 (寬峰 s, 1H, 醯胺), 8.56 (dd, 1H), 8.24 (t, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.21 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.10-3.60 (m, 5H), 2.05 (m, 3H), 1.92 (m, 1H), 1.73 (m, 1H)。

**實例 13：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺酮戊二酸鹽**

將  $\alpha$ -酮戊二酸鹽自乙酸異丙酯中沈澱。MP 177°C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.64 (s, 1H, 醯胺), 8.50 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.18 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.00-3.45 (m, 5H), 2.81 (m, 2H, 酮戊二酸), 2.41 (m, 2H, 酮戊二酸), 1.96 (m, 3H), 1.83 (m, 1H), 1.60 (m, 1H)。

**實例 14：合成 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺馬尿酸鹽**

將馬尿酸鹽自丙酮沈澱(吸濕性太強不能獲得熔點)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.79 (s, 1H, 醯胺), 8.56 (d, 1H), 8.44 (s, 1H, 馬尿酸), 8.29 (m, 1H), 7.87 (m, 2H, 馬尿酸), 7.76 (d, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.49 (m, 4H, 包括馬尿酸), 7.34 (m, 2H), 7.21 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 3.74 (m, 2H), 3.00-3.50 (m, 5H), 2.80 (m, 2H, 馬尿酸), 1.79 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.30 (m, 1H)。

**實例 15：分離 (2R,3R)-及 (2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺且轉化成半乳糖二酸鹽**

藉由旋轉蒸發濃縮來自 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺對甲苯磺酸鹽(實例 2)分離之上清液樣品，用 10% 氫氧化鈉水溶液調節

至 pH 10 且用二氯甲烷萃取。將二氯甲烷萃取物蒸發，且將殘餘物 (1.8 g) 溶於含有 0.5% 二-正丁胺之純乙醇 (55 mL) 中。將此溶液以 0.25 mL 份量注入 25 cm×2.1 cm Chiralpak® AD 對掌性 HPLC 管柱上，用 60:40:0.2 之己烷/乙醇/二-正丁胺 (流速=30 mL/min) 溶離，在 270 nm 下監測。在蒸發溶劑後，在約 7.5 min 時溶離且在約 13.5 min 時溶離之流出物之分離分別得到 0.48 g (98% 對掌性純度) 及 0.47 g (99% 對掌性純度) 之無色油狀物。兩個 NMR 光譜相同。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.49 (s, 1H), 8.45 (d, 1H), 7.74 (d, 1H), 7.52 (m, 4H), 7.35 (t, 1H), 7.20 (dd, 1H), 7.05 (d, 1H), 4.55 (dt, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 2.90 (m, 5H), 2.09 (m, 1H), 1.88 (m, 4H)。

將各游離鹼樣品於純乙醇 (10 mL) 中之溫熱溶液用一當量半乳糖二酸處理。將所得混合物在攪拌下在 75°C 加熱 5 min 且冷卻至環境溫度。藉由抽吸過濾收集所得固體且真空乾燥，分別得到 0.65 g (產率為 87%) 及 0.62 g (產率為 85%) 之白色粒狀固體 (在各情況下，mp 200-205°C)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.38 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.48 (t, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.32 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.35 (m, 6H), 2.25 (m, 2H), 2.02 (m, 3H)。

**實例 16：合成 (2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺對氯苯甲酸鹽**

將固體對氯苯甲酸 (46.8 mg, 0.299 mmol) 整份添加至先

前來自實例 15 之 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之溶離異構體 (108 mg, 0.299 mmol) 於丙酮 (10 mL) 中之溶液。將此混合物溫至接近回流歷時 30 min 且冷卻至環境溫度。未形成沈澱，因此將溶液濃縮至其原體積之約 20% (熱板)，此時開始形成點狀晶體。將混合物冷卻且用異丙醇 (2 mL) 稀釋。在環境溫度下藉由緩慢蒸發溶劑濃縮此混合物，且收集所得固體並乾燥。此操作產生 145 mg (產率為 94%) 淡黃色晶體，mp 150-152°C。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.49 (s, 1H), 8.38 (d, 1H), 7.93 (d, 2H, 對氯苯甲酸), 7.67 (m, 2H), 7.57 (d, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.36 (d, 2H, 對氯苯甲酸), 7.30 (m, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.00 (d, 1H, 醯胺), 6.90 (寬峰 s, 第四胺), 4.62 (m, 1H), 3.85 (dd, 1H), 3.36 (m, 1H), 2.95-3.25 (m, 5H), 2.16 (s, 1H), 1.70-2.10 (m, 4H)。

樣品之 X-光結晶分析顯示其絕對立體化學為 2R,3R (參見圖 11A 及 11B)。因此，藉由排除法，實例 15 中之稍後溶離異構體具有 2S,3S 絕對構型。

#### 實例 17：用於分析立體異構體之對掌性層析法

產生一個用於彼此分離四種立體異構體之對掌性層析法證實非常具挑戰性。初始嘗試 (使用己烷/異丙醇/三乙胺流動相) 導致重疊之峰及遠非最佳之峰形。將異丙醇換成乙醇且將三乙胺換成二-正丁胺可改良解析及峰形且縮短運行時間。該方法之細節如下：

分析管柱：Chiralpak® AD (250×4.6 mm, 5 μm)

移動相：60:40:0.2己烷/乙醇/二-正丁胺

注射體積：10  $\mu$ L

流動速率：1.0 mL/分鐘

溫度：20 $^{\circ}$ C

偵測：在270 nm下之UV

總運行時間：約25分鐘

溶離順序(RT)：2S,3R(5.3 min)；2R,3S(7.3 min)；2R,3R(8.3 min)；2S,3S(12.1 min)

圖12中展示立體異構體類似物之代表性層析圖。

### 實例18：XRPD

對本文中所述之若干鹽樣品進行XRPD分析。提供鹽酸鹽(圖13)及甲苯磺酸鹽(圖14)之繞射圖案。

#### X-光粉末繞射(XRPD)

X-光粉末繞射圖案係在兩個儀器之任何一個或兩個上收集。有些係在Siemens D5000繞射儀上使用CuK $\alpha$ 輻射(40kV, 40mA)， $\theta$ - $\theta$ 測角計，V20發散狹縫及接收狹縫，石墨第二單色器及閃爍計數器收集。使用經鑒證之剛玉標準(NIST 1976)檢查儀器之效能。將在環境條件下運行之樣品使用原樣粉末製備為平板試樣。將約35 mg之樣品輕緩封裝於切割為經拋光之零背景(510)矽晶圓的空腔中。在分析過程中將樣品在其自身平面中旋轉，以間距0.05 $^{\circ}$ 以4秒/間距自2 $^{\circ}$ 至42 $^{\circ}$ 掃描，使用CuK $\alpha$ 1( $\lambda = 1.5406\text{\AA}$ )。

有些X-光粉末繞射圖案係在Bruker AXS C2 GADDS繞射儀上使用CuK $\alpha$ 輻射(40 kV, 40 mA)，自動XYZ級，用於

自動樣品定位之雷射視訊顯微鏡及HiStar二維區偵測器收集。X-光光學由與0.3 mm針孔準直儀耦合之單一Göbel多層鏡組成。光束發散角(亦即在樣品上之X-光光束之有效大小)為約4 mm。當樣品-偵測器距離為20 cm時使用 $\theta$ - $\theta$ 連續掃描模式，其使得有效 $2\theta$ 範圍為 $3.2^\circ$ - $30.0^\circ$ 。通常將樣品曝露於X-光光束歷時120秒。將在環境條件下運行之樣品使用未經研磨之原樣粉末製備成平板試樣。將約1-2 mg樣品輕輕壓在矽晶圓上得到平面。將在非環境條件上運行之樣品與導熱化合物一起安裝於矽晶圓上。接著以約 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 將樣品加熱至適當溫度且隨後保持恆溫約5 min，然後開始資料收集。

#### 差示掃描熱量測定(DSC)

在配備50個位置自動取樣器之TA儀器Q1000上收集DSC資料。使用合乎標準的鋼對該儀器進行能量及溫度校正。通常，將針孔鋁盤中之0.5-1.5 mg之各樣品以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 自 $25^\circ\text{C}$ 加熱至 $175$ - $200^\circ\text{C}$ 。在樣品上維持30 mL/min之氮氣吹掃。

#### 熱解重量分析(TGA)

在配備16個位置之自動取樣器之TA儀器Q500 TGA上收集TGA資料。使用合乎標準的阿盧梅爾鎳合金(Alumel)對該儀器進行溫度校正。通常將5-10 mg之各樣品裝載於預配衡之鉑坩堝及鋁DSC盤上，且以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 自環境溫度加熱至 $350^\circ\text{C}$ 。在樣品上維持60 mL/min之氮氣吹掃。

#### 偏光顯微法(PLM)

在具有用於圖像擷取之數位視訊相機之Leica LM/DM偏光顯微鏡上研究樣品。將少量各樣品置於安放於浸油中且用一玻璃片覆蓋之玻璃載片上，將個別粒子儘可能分開。用適當之放大率及部分偏振之光，與 $\lambda$ 假色濾光片耦合觀測樣品。

#### 熱台顯微法(HSM)

使用與Mettler-Toledo MTFP82HT熱台及用於圖像擷取之數位視訊相機組合之Leica LM/DM偏光顯微鏡進行熱台顯微法。將少量各樣品置於玻璃載片上，其中個別粒子儘可能分開。當通常以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 自環境溫度加熱時，用適當之放大率及部分偏振之光，與 $\lambda$ 假色濾光片耦合觀測樣品。

#### 重力蒸氣吸附(GVS)

吸附等溫線在兩個儀器之任何一個或兩個上測定。有些為使用由VTI FlowSystem 4軟體控制之VTI Corporation SGA-100吸濕分析器操作之實驗。樣品溫度在Polyscience恆溫浴幫助下維持於 $25^{\circ}\text{C}$ 。濕度係藉由混合乾燥及潮濕氬氣之流控制。作為% RH之函數的重量變化使用精度為 $\pm 0.0001\text{ g}$ 之Cahn數位記錄天平(Cahn Digital Recording Balance)D-200監測。

通常在環境條件下將10-20 mg樣品置於配衡之天平盤上。將樣品在 $50^{\circ}\text{C}$ 下乾燥1 h。在 $25^{\circ}\text{C}$ 下以5% RH之間隔在5-95% RH範圍內進行標準吸附等溫線，且在 $25^{\circ}\text{C}$ 下以5% RH之間隔在95-5% RH範圍內類似地進行解吸等溫線。樣

品平衡標準包括5 min內0.0100 wt%或對於各% RH資料點而言最大平衡時間180 min。

使用由CFRSorp軟體控制之Hiden IGASorp吸濕分析器獲得一些吸附等溫線。樣品溫度藉由Huber再循環水浴維持於25°C。濕度係藉由混合乾燥及潮濕氮氣之流控制，總流速為250 mL/min。相對濕度係藉由位於樣品近旁之已校正之Vaisala RH探針(動態範圍為0-95% RH)量測。作為% RH之函數之樣品的重量變化(質量鬆馳)一直由微量天平(精度±0.001 mg)監測。通常在環境條件下將10-20 mg樣品置於配衡網狀不鏽鋼籃中。在40% RH及25°C下(典型之環境條件)裝載及卸載樣品。如下文概述(2次掃描得到1個全循環)進行吸濕等溫線。在25°C下以10% RH之間隔在0-90% RH範圍內進行標準等溫線。

#### GVS通用方法參數

參數	值
吸附-掃描1	40-90
解吸/吸附-掃描2	85-乾燥，乾燥-40
間隔(% RH)	10
掃描次數	2
流速(mL/min)	250
溫度(°C)	25
穩定性(°C/min)	0.05
最少吸附時間(小時)	1
最大吸附時間(小時)	4
模式	AF2
精確度(%)	98

該軟體使用最小平方最小化程序連同質量鬆馳模型，以預測漸近值。在選擇下一% RH值之前，所量測到之質量鬆馳值必須在由軟體預測之值的5%內。最少平衡時間設

為 1 h 且最大設為 4 h。通常，在等溫線完成後回收樣品並由 XRPD 再分析。

藉由卡耳-費雪(Karl Fischer, KF)法測定水

使用 Hydranal Coulomat AG 試劑及氫氣吹掃在 Mettler Toledo DL39 Coulometer 上量測各樣品之水含量。將已稱重之固體樣品引入鉑 TGA 盤上之容器中，該盤與底封(subbaseal)相連以避免水進入。每次滴定使用大約 10 mg 樣品且進行重複測定。

根據 HPLC 之熱力學水溶性

藉由將足夠化合物懸浮於 0.25 mL 水中得到最大最終濃度  $\geq 10$  mg/mL 游離形式之母體化合物來測定水溶性。將懸浮液在 25°C 下平衡 24 h，且接著量測 pH 值。接著將懸浮液經由玻璃纖維 C 濾紙過濾進入 96 孔板。接著將濾液稀釋 101 倍。藉由 HPLC 關於約 0.1 mg/mL 於 DMSO 中之標準溶液進行定量化。注入不同體積之標準、經稀釋及未經稀釋樣品溶液。使用藉由對在與標準注入中基本峰相同滯留時間處可見之峰進行峰積分來測定之峰面積來計算溶解度。若在過濾板中存在足夠固體，則收集 XRPD。

熱力學水溶性方法之一般方法細節

方法類型：	使用梯度溶離之逆相
管柱：	Phenomenex Luna, C18(2)5 $\mu$ m, 50 $\times$ 4.6 mm
管柱溫度(°C)：	25
注入( $\mu$ L)：	5、8及50
偵測：波長，頻寬(nm)：	260, 80
流速(mL/min)：	2
A相：	於水中之0.1% TFA
B相：	於乙腈中之0.085% TFA

時間表：	時間(min)	% A相	% B相
	0.0	95	5
	1.0	80	20
	2.3	5	95
	3.3	5	95
	3.5	95	5
	4.4	95	5

### 根據 HPLC 之化學純度

純度分析係在配備二極體陣列偵測器之 Agilent HP1100 系列系統上且使用 ChemStation 軟體第 9 版來進行。使用以下詳述之兩種方法之一。

#### 方法 1

方法類型	使用梯度溶離之逆相		
管柱：	Kromasil 5 $\mu$ m C18, 150 $\times$ 4.6 mm		
管柱溫度(°C)：	26		
注入( $\mu$ L)：	10		
偵測：波長，頻寬(nm)：	302, 8		
流速(mL/min)：	1.0		
A相：	0.0256 M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 0.02 M 1-己烷磺酸鈉鹽		
B相：	乙腈		
時間表：	時間(min)	% A相	% B相
	0	90	10
	8	90	10
	40	10	90
	41	90	10
	49	90	10
	50	90	10

#### 方法 2

方法類型	使用梯度溶離之逆相		
管柱：	Phenomenex Luna C18(2), 150 $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu$ m		
管柱溫度(°C)：	25		
注入( $\mu$ L)：	5		
偵測：波長，頻寬(nm)：	255, 90		
流速(mL/min)：	1		
A相：	於水中之0.1% TFA		
B相：	於乙腈中之0.085% TFA		
時間表：	時間(min)	% A相	% B相
	0	95	5

	25	5	95
	25.2	95	5
	30	95	5

### 離子層析法

使用 IC Net 軟體第 2.3 版在 Metrohm 861 Advanced Compact IC 上收集資料。樣品製備為水中之 1000 ppm 儲備液。當樣品溶解度低時，使用適合之共溶劑，諸如 DMSO。在測試前用適當之溶劑將樣品稀釋至 50 ppm 或 100 ppm。藉由與具有已知濃度待分析之離子之標準溶液相比較來達成定量化。

### 陰離子之離子層析法

方法類型	陰離子交換
管柱：	Metrosep A Supp 5 - 250(4.0 × 250 mm)
管柱溫度(°C)：	環境溫度
注入(μL)：	20
偵測：	傳導性偵測器
流速(mL/min)：	0.7
溶離劑：	3.2 mM 碳酸鈉， 於水中之 1.0 mM 碳酸氫鈉

### 陽離子之離子層析法

方法類型	陽離子交換
管柱：	Metrosep C 2-250(4.0 × 250 mm)
管柱溫度(°C)：	環境溫度
注入(μL)：	20
偵測：	傳導性偵測器
流速(mL/min)：	1.0
溶離劑：	4.0 mM 酒石酸， 於水中之 0.75 mM 吡啶二羧酸

將約 50 mg 之 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環 [2.2.2] 辛-3-基) 苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽稱量入玻璃瓶中並加熱至 50°C。將 100 μl 每份之 1-丁醇/水 (5 體積% 水) 添加

至固體直至形成澄清溶液(500  $\mu$ l總量)。將樣品在50 $^{\circ}$ C下攪拌1小時且進行觀測。在50 $^{\circ}$ C下加熱一小時後，樣品保持澄清溶液且以1.4 $^{\circ}$ C/小時之速率自50 $^{\circ}$ C冷卻至25 $^{\circ}$ C。樣品在冷卻時保持澄清溶液且用封口膜(parafilm)覆蓋，刺針孔，並留置於環境溫度下蒸發。2週後，在部分蒸發之樣品中可見大的晶體。圖13為(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽之XRPD，其圖示觀測值(較淺色)及計算值(較深色)圖案。

實驗圖案係來自樣品(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽，而計算實例係來自如本文中所述且在圖10A及10B中說明之單晶X-光結構。兩種圖案均符合關於 $2\Theta$ 值，且可將強度及峰寬之較小差異歸因於儀器解析度及較佳定向結果。此外，可將較小差異歸因於由於觀測資料係於室溫下收集而計算資料來自120K下之結構所造成之溫度移動。

甲苯磺酸鹽，特定言之結晶單鹽，經證實且繞射圖案展示於圖14中，其中使用CuK $\alpha$ 輻射(40 kV, 40 mA)、 $\Theta$ - $\Theta$ 測角計、V20發散狹縫及接收狹縫，石墨第二單色器及閃爍計數器。在40 $^{\circ}$ C/75% RH下1週後，甲苯磺酸鹽之XRPD繞射圖顯示變化但樣品仍為形式1。或許，變化係由於更易水合之形式。

## VII. 生物學檢定

如在Mazurov等人之美國專利第6,953,855號中所述分析

化合物A及其立體異構體結合各種NNR亞型及調節各種NNR亞型之功能之能力，該案之內容以引用之方式併入本文中。化合物A(包括5HT<sub>3</sub>及蕁毒鹼)之受體選擇性概況係由NovaScreen® Biosciences Corporation實施。

$\alpha 7$  NNR反應之電生理學量測在兩種表現系統中進行：哺乳動物GH4C1細胞中之大鼠 $\alpha 7$  NNR細胞及爪蟾卵母細胞(Xenopus oocyte)中之人類 $\alpha 7$  NNR。

表現大鼠 $\alpha 7$  NNR之GH4C1細胞如Placzek等人，*Mol. Pharm.* 68(6): 1863-1876 (2005)中所述製備，其以引用的方式併入。促效劑活性之電生理學量測可使用Dynaflow快速灌注系統及使用此GH4C1細胞表現系統之膜片夾而達成。乙醯膽鹼及菸鹼均產生 $\alpha 7$ 介導之電流之濃度依賴性活化。來自文獻之促效劑EC<sub>50</sub>值與彼等使用此方法所獲得之值可比較(關於該方法，參見Dunlop等人，*Biochem Pharmacol* 待出版(2007)及Dynaflow在線材料([www.cellelectricon.com](http://www.cellelectricon.com))，其各自以引用之方式併入)。

將用Axopatch 700A放大器記錄之全細胞電流在1 kHz處過濾且由PCI卡(National Instrument)在5 kHz處製成樣品。與先前之研究相比，由於需要增加電流穩定性，所以改良生理食鹽水溶液。在室溫下於以下細胞外培養基中記錄細胞：130 mM NaCl，5 mM KCl，2 mM CaCl<sub>2</sub>，2 mM MgCl<sub>2</sub>，10 mM HEPES，用NaOH水溶液調節至pH 7.4。使硼矽酸電極(3-5 M $\Omega$ )充滿以下培養基：130 mM TRIS磷酸鹽，5 mM NaCl，2 mM MgCl<sub>2</sub>，10 mM HEPES，10 mM

EGTA，用KOH水溶液調節至pH 7.4(關於該教示，參見Wu等人，*J. Physiol.* 576: 103-118 (2006)，其以引用之方式併入)。在該等情況下，當用濃度為1000  $\mu\text{M}$ 之乙醯膽鹼(ACh)引出時，由NNR全細胞記錄所獲得之宏電流活性持續至多60 min。

採用來自Dynaflo之Celletricon應用軟體(application notes)之細胞處理程序。簡言之，當將細胞自培養器中移除後，將其用記錄培養基徹底洗滌三次且置於倒立式Zeiss顯微鏡台上。在確定全細胞記錄構型之前平均需要5 min。為避免細胞條件之改變，每次將細胞單獨負載於Dynaflo矽晶片中時記錄單細胞。在實驗條件下，在反應之細胞部分中偵測不到差別。超過95%之細胞對ACh反應，且考慮呈現可量測電流之每個細胞。在整個實驗中將細胞保持於-60 mV。每日自儲備溶液製備所有測試物溶液。每日在林格氏(Ringer's)溶液中製備新鮮乙醯膽鹼(ACh)儲備溶液且稀釋。由單Hill方程使用Prism 5.0軟體描述劑量反應曲線。

表現人類 $\alpha 7$  NNR之爪蟾卵母細胞如Papke及Papke, *Brit. J. Pharmacol.* 137: 49-61 (2002)中所述製備，該文以引用之方式併入。將成熟(>9 cm)雌性非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)非洲蟾蜍(Nasco, Ft. Atkinson, WI)用作卵母細胞來源。在手術前，藉由將蟾蜍置於1.5 g/L之3-胺基苯甲酸乙酯溶液中30 min來將該等動物麻醉。將卵母細胞自腹部所開之切口中移除。

為移除濾泡細胞層，在室溫下在無鈣巴恩氏(Barth's)溶液(88 mM NaCl, 1 mM KCl, 15 mM HEPES, pH 7.6, 0.81 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.38 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.1 mg/mL 建它黴素(gentamicin) 硫酸鹽)中用 1.25 mg/mL 來自 Worthington Biochemical Corporation(Freehold, NJ)之膠原酶處理收集到之卵母細胞歷時2小時。隨後，將5級卵母細胞分離且與 50 nL(5-20 ng)人類 $\alpha 7$  cRNA之各者一起注入。在注入2至7天後作記錄。每日在林格氏溶液中製備新鮮乙醯膽鹼(ACh)儲備溶液。

使用 OpusXpress 6000A(Axon Instruments, Union City CA)進行實驗。OpusXpress為提供自動刺穿及電壓箝制至多8個卵母細胞之整合系統。電壓及電流電極均充滿3 M KCl。在-60 mV之保持電位下將細胞電壓箝制。在50 Hz下收集資料且在20 Hz下過濾。用林格氏溶液將細胞浸泡灌注，且經由可拋棄式吸頭(其消除任何可能之交叉污染)自96孔板傳遞促效劑溶液。將流速設於2 mL/min。藥物施加交替在ACh對照組及實驗促效劑之間進行。施加之持續時間為12秒，隨後為181秒洗脫時間。

對於 $\alpha 7$ 受體將反應計算為淨電荷(參見Papke及Papke, *Brit. J. Pharmacol.* 137: 49-61 (2002)，如上文所引用)。各卵母細胞接收ACh之初始對照施加，接著實驗藥物施加，且接著後續之ACh之對照施加(300  $\mu$ M)。對實驗藥物施加之反應係相對於上述ACh對照反應計算，以便正規化資料，補償卵母細胞中之通道表現之變化量。注意到300  $\mu$ M

ACh誘發之最大淨電荷反應來自 $\alpha 7$ 受體，因此對ACh對照組之正規化使ACh最大反應之資料有效正規化。對於各實驗濃度而言，自至少四個卵母細胞之正規化反應計算平均及標準誤差 (SEM)。對於濃度 - 反應關係，使用Kaleidagraph 3.0.2(Abelbeck Software ; Reading, PA)繪製來自淨電荷分析之資料，且曲線自Hill方程產生。

根據以下實驗方案進行化合物A之行為表徵。物件辨識(OR)任務係根據Ennaceur及Delacour *Behav. Brain Res.* **100**: 85-92 (1988)中所述進行，該文以引用之方式併入。放射臂迷宮(RAM)範例係根據Levin等人，*Behav. Pharm.* **10**: 675-680 (1999)中所述進行，該文以引用之方式併入。前脈衝抑制(PPI)檢定係根據Suemaru等人，*Brit. J. Pharmacol.* **142(5)**: 843-850 (2004)中所述進行。阿撲嗎啡(apomorphine)誘發之運動活性(APO LOCO)之逆轉之檢定係根據Roux等人，*Curr. Protocols in Pharmacol.* Unit 5.17 (1999)中所述進行。

#### 活體外生物活性之概況

化合物A競爭性抑制經放射標記之MLA對大鼠腦海馬體 $\alpha 7$  NNR之結合，其中平衡常數( $K_i$ )值為約1 nM，表明其對於 $\alpha 7$  NNR亞型具有極高親和力。化合物A之立體異構體在大鼠 $\alpha 7$  NNR處具有以下 $K_i$ 值：2R,3S(42 nM)[先前報導為28 nM]；2R,3R(1 nM)；2S,3S(25  $\mu$ M)(參見圖1A)。如圖1A2中所說明，化合物A，即2S,3R對映異構體與其三個對映體類似物相比，在 $\alpha 7$ 亞型處展示活性，該三個對映體類

似物表示為具有弱活性之重疊點。化合物A不以任何顯著親和力( $K_i$ 值 $>2 \mu\text{M}$ )與 $\alpha 4\beta 2$  NNR結合。

(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽(化合物A)及其立體異構體之功能活性使用膜片夾電生理學技術檢測，其中大鼠 $\alpha 7$  NNR穩定表現於GH4C1(哺乳動物)細胞中。在此等實驗中，與其他個別異構體相比且與所有四種異構體之外消旋混合物相比，化合物A產生顯著不同之功能概況。如圖1A及1B中可見，化合物A比任何其他異構體或四種異構體之混合物在引出功能反應方面更有力且有效( $E_{\text{max}}=93\%$ 相對於乙醯膽鹼(ACh)； $EC_{50}=14 \text{ nM}$ )。實際上，化合物A(2S,3R異構體)為N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺能夠在1-50 nM之整個濃度範圍內提供有力促效作用之唯一異構體，其中10 nM為與如本文中所述之活體內活性相關，如圖1B中所示。

化合物A之功能活性亦在短暫表現人類 $\alpha 7$  NNR之爪蟾卵母細胞中經電生理學評估。在此系統中，化合物A具有33 nM之 $EC_{50}$ 值及100%之ACh反應之 $E_{\text{max}}$ 。在大於100 nM之濃度下施加(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺( $IC_{50}=200 \text{ nM}$ )後，隨後對ACh之對照反應有所減少。與先前所述之 $\alpha 7$ 完全促效劑(關於該報導，參見Astles等人，*Current Drug Targets CNS Neurological Disorders* 1(4): 337-348 (2002)，以引用之方

式併入)相反，在(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺之 $EC_{50}$ 與 $IC_{50}$ 值之間之分離表明造成 $\alpha 7$ 之半最大功能反應之濃度導致最小，而非完全之殘餘抑制。當將(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺施加於表現人類 $\alpha 4\beta 2$ 亞型之卵母細胞時，不存在可偵測之活化作用且在隨後對ACh之對照反應中無顯著減小，表明(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺對 $\alpha 4\beta 2$ 既非促效劑又非拮抗劑。

在負載肌肉型受體(在人類TE671/RD選殖細胞中之 $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ 亞型)，或神經節型受體(在大鼠嗜鉻細胞瘤PC12細胞之Shooter次選殖及人類SHSY-5Y選殖細胞中之 $\alpha 3\beta 4$ 亞型)之功能模型中，該等化合物展示較小促效劑活性或無促效劑活性，在此等亞型處產生 $\leq 10\%$ (人類肌肉)， $\leq 20\%$ (大鼠神經節)及 $\leq 10\%$ (人類神經節)之菸鹼反應。此等資料表明對於CNS亞型之選擇性超過PNS亞型。

由於 $\alpha 7$ 與5-羥色胺( $5HT_3$ )受體之間的序列相近且結構類似，且觀測到該2受體與其他菸鹼配位體具有交叉反應性，因此研究化合物A對 $5HT_3$ 受體之親和力。化合物A( $10\ \mu M$ )展示對小鼠 $5HT_3$ 受體之放射性配位體結合之59%抑制及對人類受體之25%抑制。對人類 $5HT_3$ 受體之功能活化作用之研究表明最小活化至無活化(亦即，在 $100\ \mu M$ 獲得為15%活化之最大反應)。

由於已觀測到與其他菸鹼配位體之相互作用，葷毒鹼受

體為所考慮之另一領域。當在競爭性結合抑制檢定中檢測M1、M2(非選擇性中樞神經及非選擇性周邊神經蕁毒鹼受體)時，化合物A展示最小相互作用至無相互作用。

資料顯示化合物A對於 $\alpha 7$  NNR配位體有選擇性。化合物A在彼等具有周邊神經系統特徵之菸鹼受體亞型處結合不佳或在蕁毒鹼或5HT<sub>3</sub>血清素能受體處結合不佳。因此，化合物A在治療中樞神經系統病症中具有治療可能性而不產生與周邊神經系統相互作用相關之副作用。

### 活體內生物活性概況

化合物A，即(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺或其醫藥學上可接受之鹽，在認知之兩種行為模型中展示顯著功效。化合物A在經腹膜內(腹膜內，圖3)及口服(經口，圖4)投藥後，在大鼠之物件辨識範例中展示有力活性，且亦展示經口投藥後在大劑量範圍上之活性(圖4)。以相同低劑量(0.3及1 mg/kg)腹膜內投與化合物A傾向於逆轉在OR任務中MK-801誘發之缺陷(圖5)，且以0.3 mg/kg經口投與化合物A之認知效應持續至少18小時(圖6)。在檢測工作記憶之放射臂迷宮(RAM)(圖7)範例中，化合物A顯著增加錯誤之前之正確選擇之數目。此等結果顯示(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺在治療與精神分裂症相關之認知缺陷及功能障礙(包括工作記憶)方面有潛力。

對於欲用於治療精神分裂症中之認知功能障礙之化合

物，其不應減少典型或非典型抗精神病藥對抗精神分裂症之陽性症狀之效果。因此，除其認知增強性質之外，化合物A亦不得不展示在逆轉精神分裂症之陽性症狀之阿撲嗎啡-誘發之運動活性(APO LOCO)(圖8)及前脈衝抑制(PPI)(圖9)模型方面之有效性。因此，預期(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺提供對抗與精神分裂症相關之陽性以及認知症狀之額外益處。

同樣，所觀察到的特異性藥理學反應可根據且視所選擇之特定活性化合物或是否存在本發明的醫藥學載劑，以及調配物類型及所用投藥方式而改變，且根據本發明之實務涵蓋結果中之該等預期變化或差異。

儘管本文已說明本發明之特定實施例且進行詳細描述，但本發明不限於此。上述實施方式僅係作為本發明之示例提供且不應將其解釋為對本發明構成任何限制。多種修改對於彼等熟習此項技術者將係顯而易見的，且所有不背離本發明精神之修改擬包括於隨附申請專利範圍之範疇內。

### 【圖式簡單說明】

圖1A1-1A4說明在哺乳動物GH4C1細胞中表現之大鼠 $\alpha 7$ 受體對(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺；外消旋體，即(2S,3R)、(2R,3S)、(2R,3R)及(2S,3S)之混合物；個別立體異構體；及乙醯膽鹼(ACh)之反應。

圖1B說明在哺乳動物GH4C1細胞中表現之大鼠 $\alpha 7$ 受體對

(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺；外消旋體，即(2S,3R)、(2R,3S)、(2R,3R)及(2S,3S)之混合物；及個別立體異構體之功能反應在有效血漿濃度範圍內之比較。

圖 2A 說明在爪蟾卵母細胞中表現之人類  $\alpha 7$  受體對 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺之反應。

圖 2B 說明以指示濃度施用化合物之後，人類  $\alpha 7$  受體之控制反應。將在實驗之促效劑-誘發之反應前 5 min 獲得之對照組 300  $\mu\text{M}$  ACh 反應之資料正規化至淨電荷。各點表示至少 4 個卵母細胞之正規化反應之平均值  $\pm$  SEM。

圖 3 說明在物件辨識(object recognition, OR)範例中之認知效果評估，證明 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺在 0.3 及 1 mg/kg 經腹膜內投藥，\* $p < 0.5$  時具有積極效果。

圖 4 說明在 OR 範例中之認知效果評估，證明 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺在較寬之劑量範圍內(0.3 - 10 mg/kg)經口投藥具有積極效果，\* $p < 0.5$ 。

圖 5A 及 5B 說明在 OR 任務中，經腹膜內投與 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺對於預防由 MK-801(亦稱為地卓西平(dizocilpine)，一種市售 NMDA 受體之非競爭性拮抗劑)誘發之認知缺乏之作用。

圖 6 說明，媒劑處理組在最終亞急性投藥(經口)試驗後 30 min、6 h 或 24 h 時，物件 A 與物件 B 在 OR 任務中所需平均時間相比並無顯著不同(分別為  $p=0.17$ ， $p=0.35$  及  $p=0.12$ )。或者，在最終亞急性投與  $0.3 \text{ mg/kg}$  (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺後 30 min、2 h、6h 及 18 h 時，個體研究物件 B(新穎)比物件 A(熟習)所需之時間顯著較長( $P<0.05$ )。此外，在最終投藥後 2h(75%)及 6 h(71%)時，用  $0.3 \text{ mg/kg}$  (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺處理之動物中之辨識指數與在最終投藥後 30 分鐘時媒劑處理組之辨識指數(54%)相比顯著改良。

圖 7 說明在放射臂迷宮(RAM)範例中之認知效果評估。在每日實驗時間(daily session)之前 30 分鐘經口投與 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺 ( $0.1$ 、 $0.3$  及  $1.0 \text{ mg/kg}$ )。在投藥第二週時，用  $0.3 \text{ mg/kg}$  (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺處理之組中對該任務之表現顯著改良。

圖 8 說明抗精神病藥效果之研究，量測為由多巴胺過度刺激誘發之過動行為，展示在大鼠皮下投藥後，(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺 ( $0.3$  及  $1.0 \text{ mg/kg}$ ；皮下)減弱由阿樸嗎啡(apomorphine)( $1.0 \text{ mg/kg}$ )誘發之運動過動。

圖 9 說明抗精神病藥評估(前脈衝抑制)，其表明在皮下

投藥後阿樸嗎啡誘發之缺陷經(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺預處理得以逆轉。

圖 10A 說明 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽之 x-光結晶分析結果，確定此物質之絕對立體化學。所述化合物為部分水合鹽酸鹽，如不對稱單元中所示具有完全有序之氯陰離子及部分佔據之水分子。

圖 10B 說明 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽之 x-光結晶分析結果，確定此物質之絕對立體化學，以編號方案描繪供參考。該視圖係沿單位晶胞之結晶 *b*-軸方向俯視。分子內氫鍵展示為虛線。

圖 11A 說明 (2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺對氯苯甲酸鹽之 x-光結晶分析結果，確定此物質之絕對立體化學。

圖 11B 說明 (2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺對氯苯甲酸鹽之 x-光結晶分析結果，確定此物質之絕對立體化學，以編號方案描繪供參考。

圖 12 說明表徵四種 N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺之立體異構體之完全層析圖，其中 2S,3R 表示在滯留時間 5.3 分鐘之峰，2R,3S 表示在滯留時間 7.3 分鐘之峰，2R,3R 表示在滯留時間 8.2 分鐘

之峰，且2S,3S表示滯留時間為12.4分鐘。如本文中所述，需要分析流動相以提供足夠解析，在1.0 ml/min產生己烷：乙醇：二正丁基胺為60:40:0.2之組成，其中管柱溫度為20°C，且在270 nm進行UV偵測。

圖 13 為 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽之XRPD，其圖示觀測值(較淺色)及計算值(較深色)圖案。兩種圖案關於 $2\theta$ 值均符合，且可將強度及峰寬之較小差異歸因於儀器解析度及較佳定向結果。如本文中所述，可將進一步之較小差異歸因於由於觀測資料係於室溫下收集而計算資料來自120K下之結構所造成之溫度移動。

圖 14 為 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單甲苯磺酸鹽之XRPD。

公告本
-----

第097129030號專利申請案

中文申請專利範圍替換本(102年9月)

SEP 18 2013	修正
年 月 日	補充

## 十、申請專利範圍：

1. 一種(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺之酸式鹽，其大體上不含(2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺及(2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，其中該酸係選自鹽酸、硫酸、磷酸、順丁烯二酸、甲苯磺酸、半乳糖二酸(黏酸)、D-扁桃酸、D-酒石酸、甲磺酸、R-及S-10-樟腦磺酸、酮戊二酸或馬尿酸。
2. 如請求項1之酸式鹽，其中(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺與該酸之化學計量為2:1、1:1或1:2。
3. 如請求項2之酸式鹽，其中該化學計量為1:1。
4. 如請求項1至3中任一項之酸式鹽，其對映體或非對映體過量係90%或以上。
5. 如請求項4之酸式鹽，其對映體或非對映體過量係95%或以上。
6. 如請求項5之酸式鹽，其對映體或非對映體過量係98%或以上。
7. 如請求項6之酸式鹽，其對映體或非對映體過量係99%或以上。
8. 如請求項7之酸式鹽，其對映體或非對映體過量係99.5%

或以上。

9. 一種 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽，其大體上不含 (2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽及 (2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺鹽酸鹽。
10. 如請求項9之鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係90%或以上。
11. 如請求項10之鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係95%或以上。
12. 如請求項11之鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係98%或以上。
13. 如請求項12之鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係99%或以上。
14. 如請求項13之鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係99.5%或以上。
15. 一種 (2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽，或其水合物或溶劑合物，其大體上不含 (2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并咪喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽及 (2R,3R)-N-(2-((3-吡啶

基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽。

16. 如請求項15之單鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係90%或以上。
17. 如請求項16之單鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係95%或以上。
18. 如請求項17之單鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係98%或以上。
19. 如請求項18之單鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係99%或以上。
20. 如請求項19之單鹽酸鹽，其對映體或非對映體過量係99.5%或以上。
21. 一種(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺之酸式鹽，其不含(2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺及(2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺，其中該酸係選自鹽酸、硫酸、磷酸、順丁烯二酸、甲苯磺酸、半乳糖二酸(黏酸)、D-扁桃酸、D-酒石酸、甲磺酸、R-及S-10-樟腦磺酸、酮戊二酸或馬尿酸。
22. 一種(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺鹽酸鹽，其不含(2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-

2-甲醯胺鹽酸鹽、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺鹽酸鹽及(2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺鹽酸鹽。

23. 一種(2S,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽，或其水合物或溶劑合物，其不含(2S,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽、(2R,3S)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽及(2R,3R)-N-(2-((3-吡啶基)甲基)-1-氮雜雙環[2.2.2]辛-3-基)苯并呋喃-2-甲醯胺單鹽酸鹽。

十一、圖式：

結合親和力  
大鼠海馬體

混合物:	1 nM
<b>2S,3R</b> (化合物A):	1 nM
<b>2R,3S:</b>	42 nM
<b>2R,3R:</b>	1 nM
<b>2S,3S:</b>	25 $\mu$ M

圖1A.1

在哺乳動物細胞中全細胞記錄大鼠 $\alpha 7$   
化合物A對其立體異構體

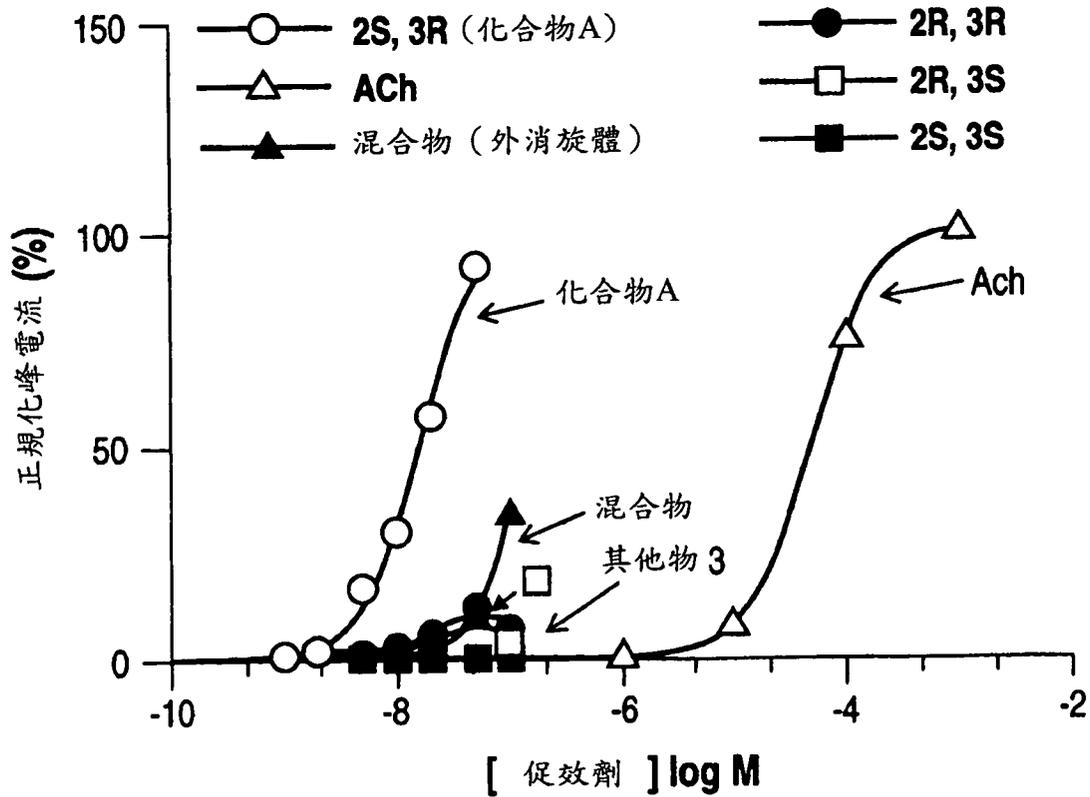


圖1A.2

在 $\alpha 7$ 大鼠GH4C1細胞系中之化合物A

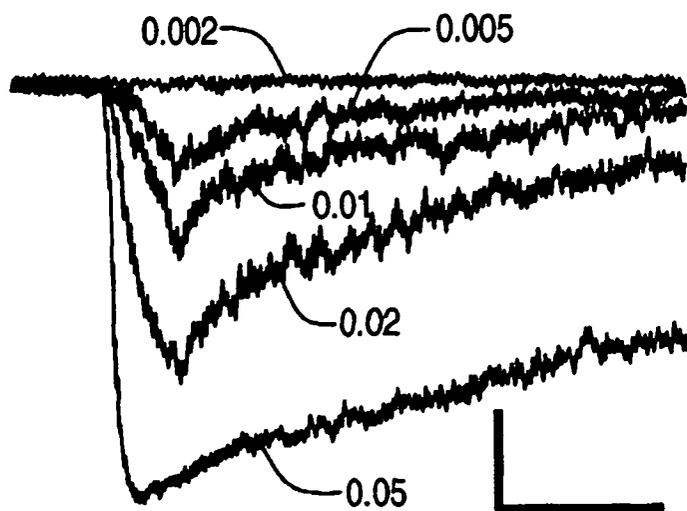


圖 1A. 3

在 $\alpha 7$ 大鼠GH4C1細胞系中之ACh

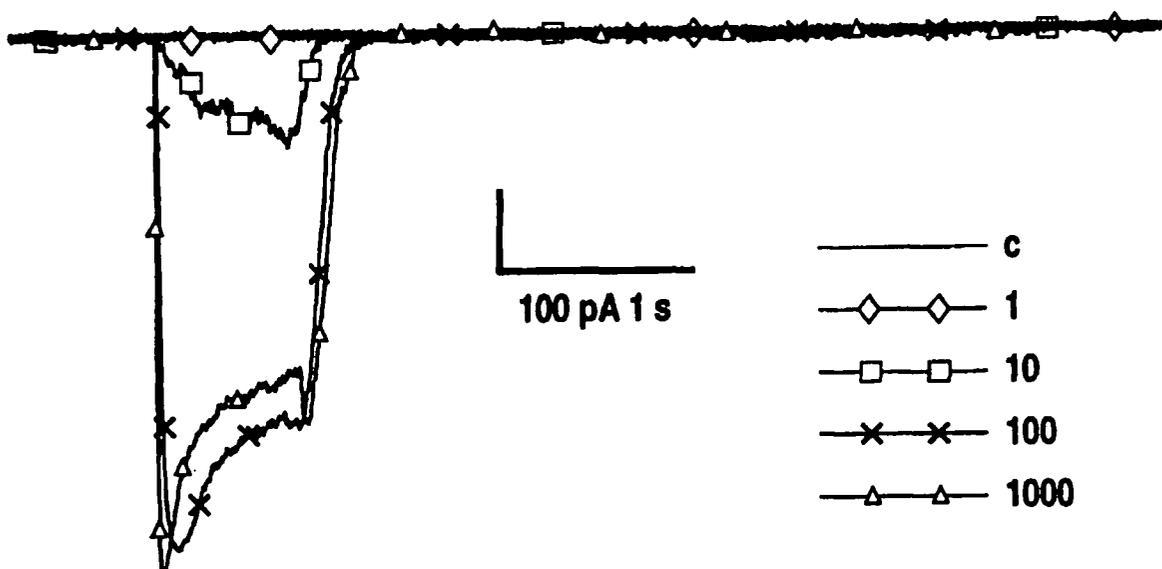


圖 1A. 4

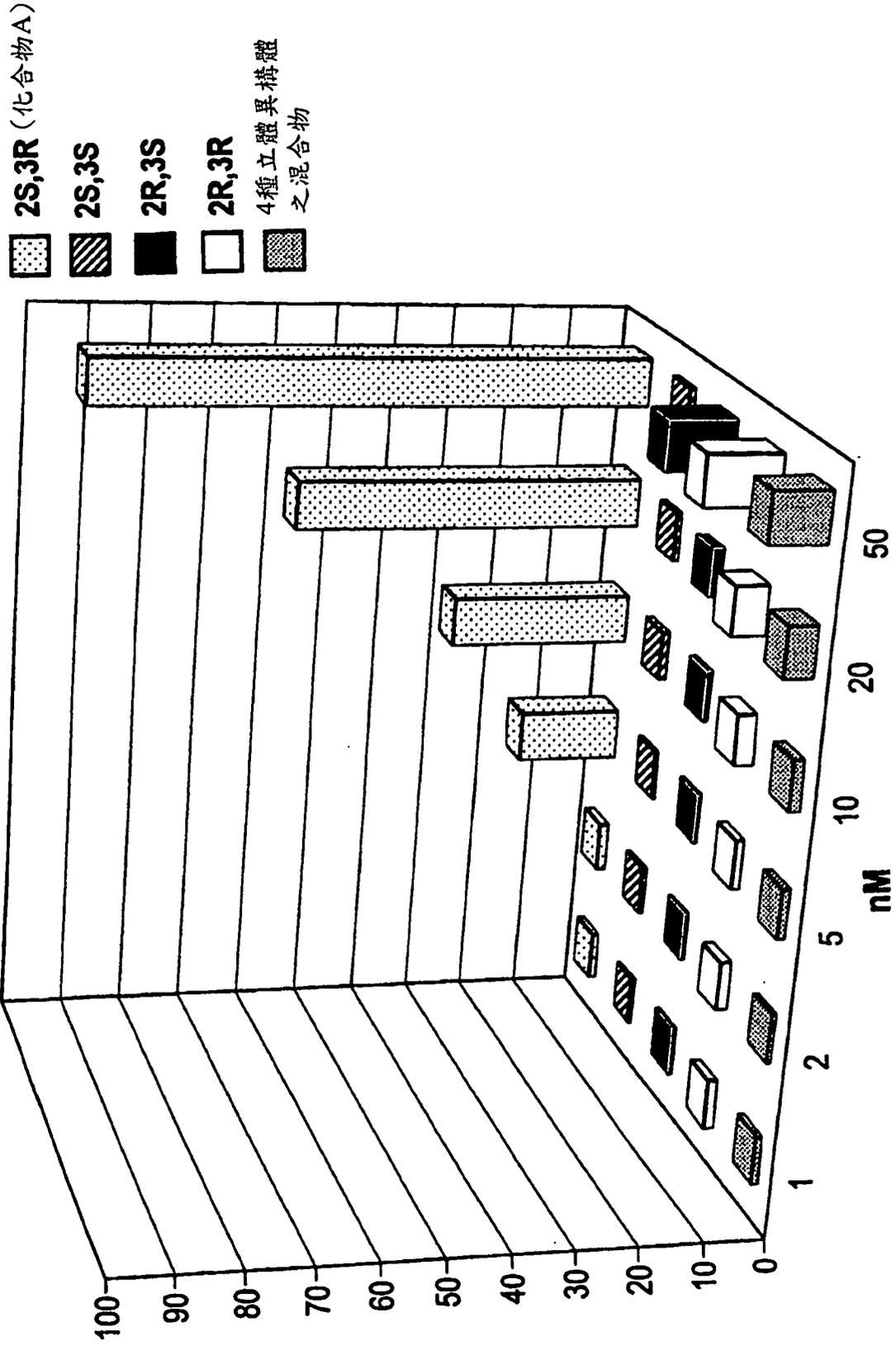


圖1B

A

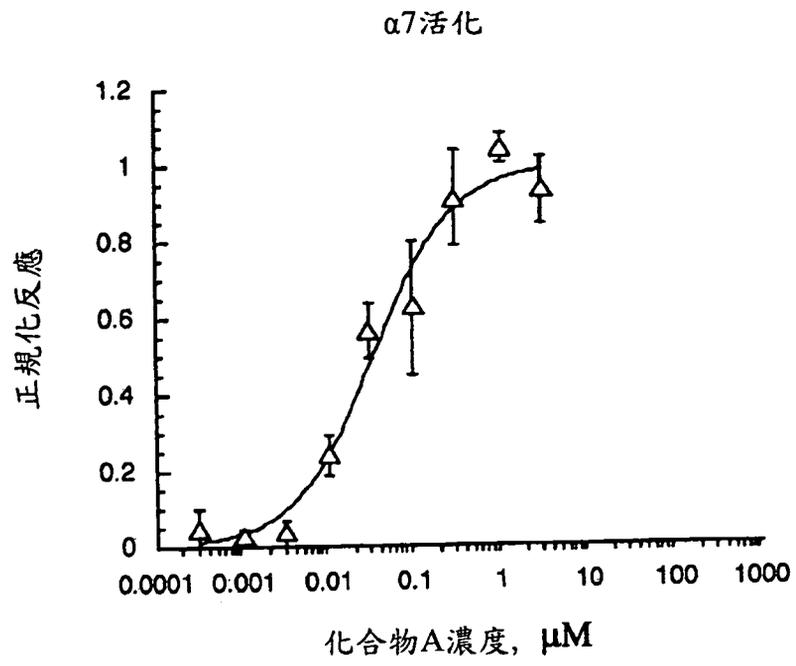


圖2A

B

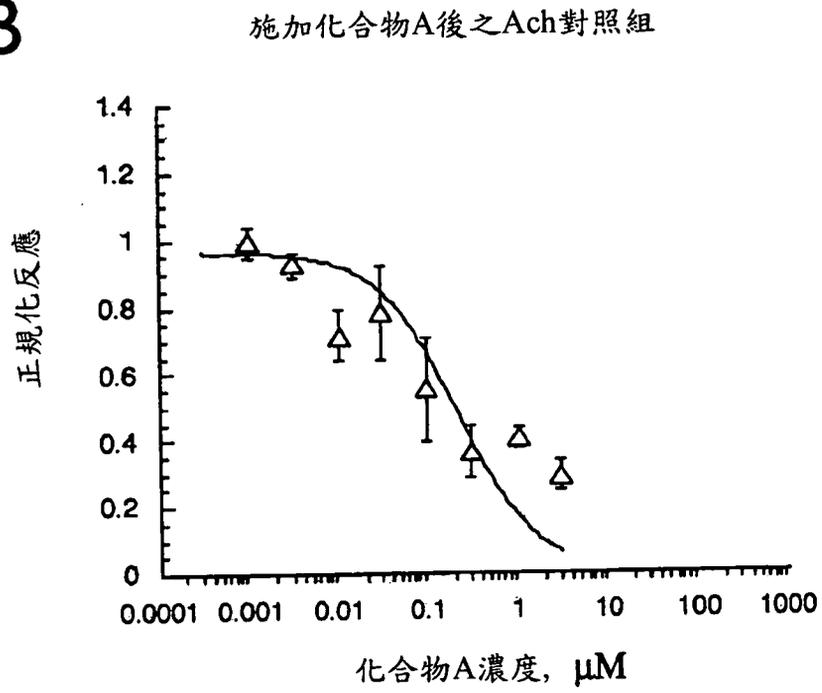


圖2B

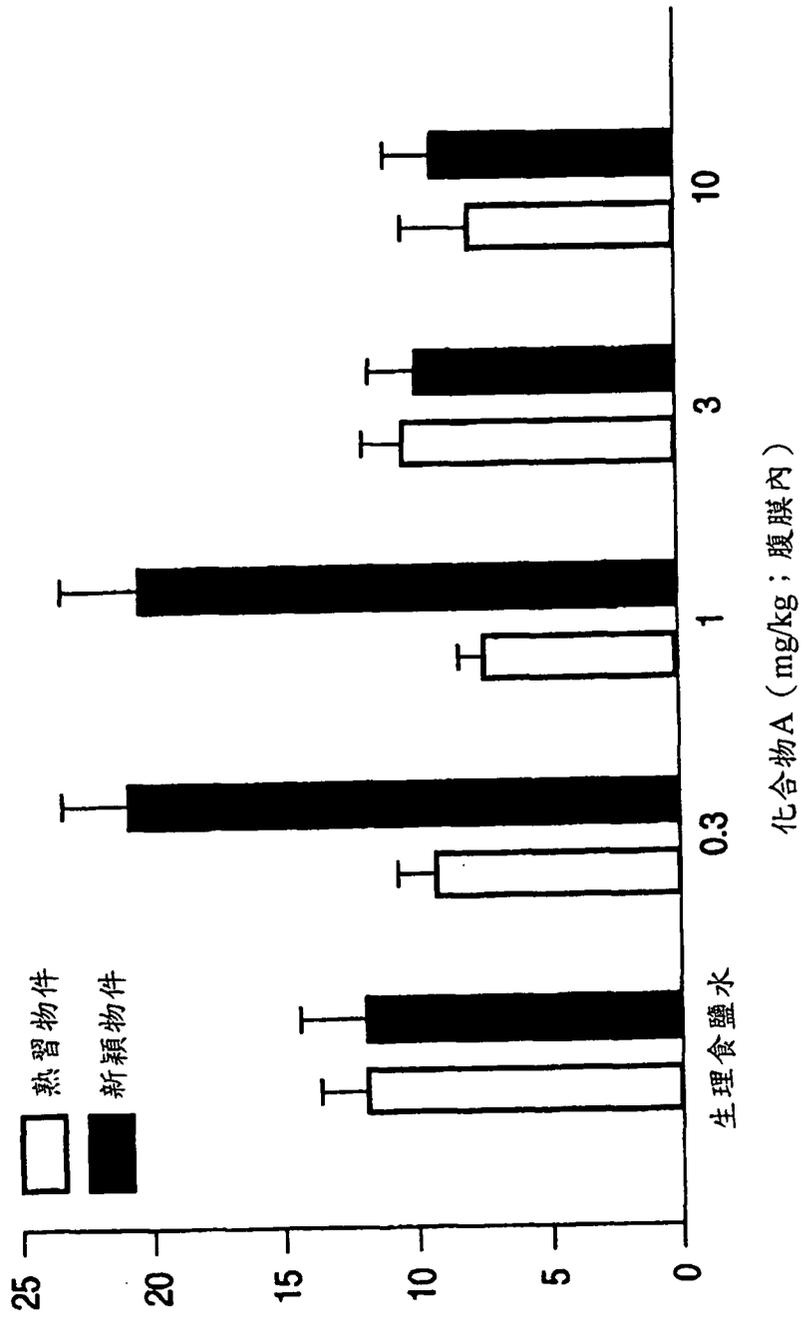
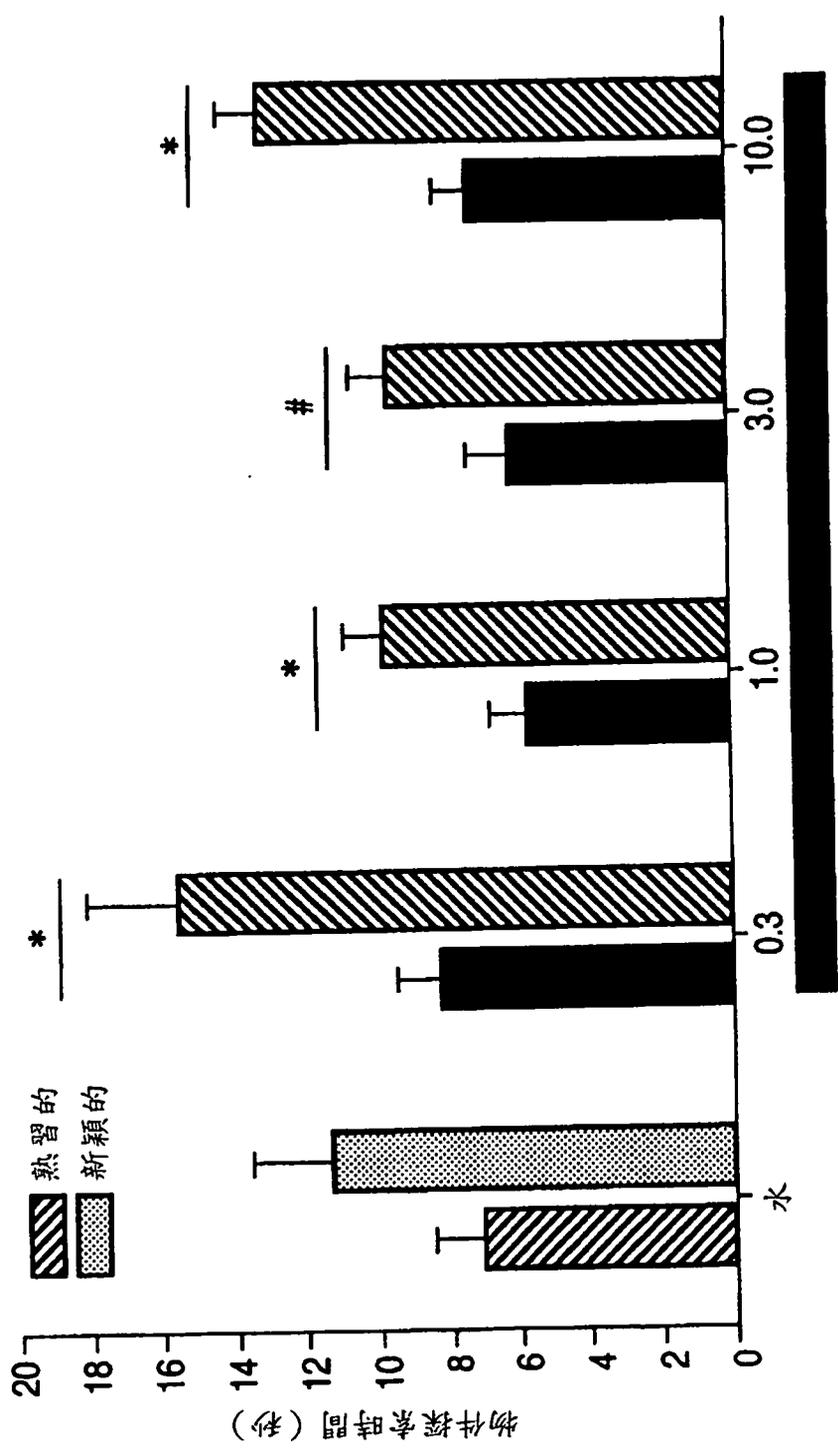
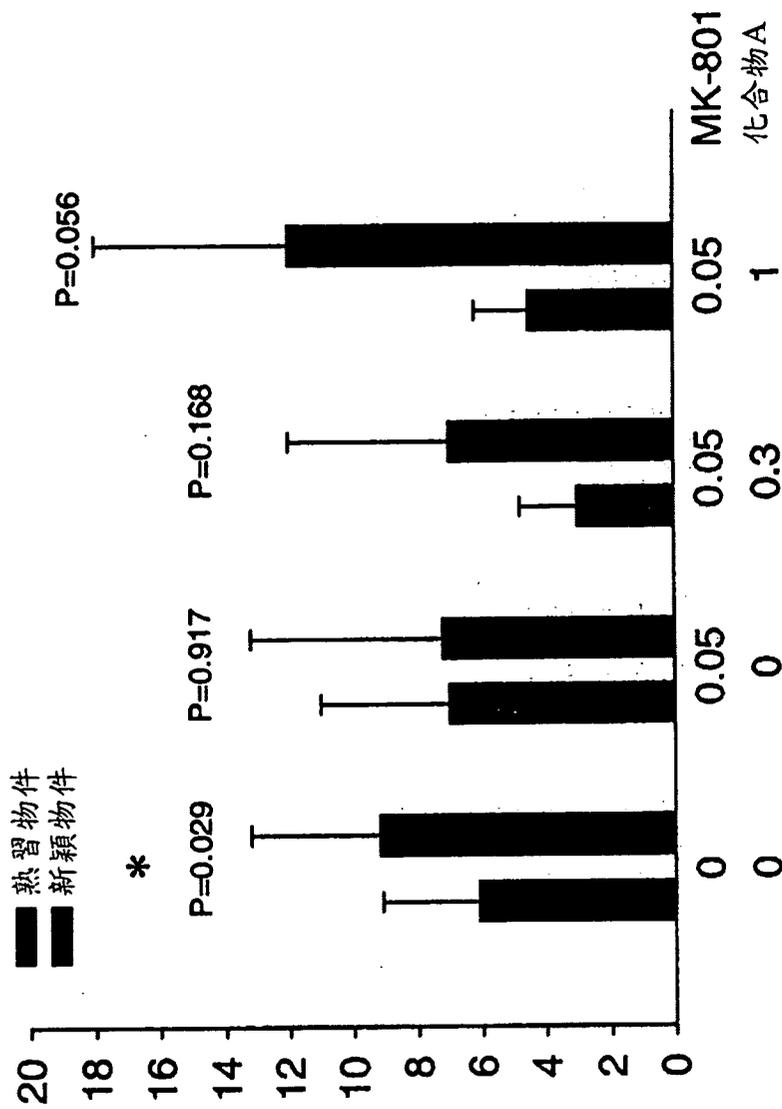


圖3



治療 (mg/kg; 口服)

圖4



治療 (mg/kg; 腹膜內)

圖5A

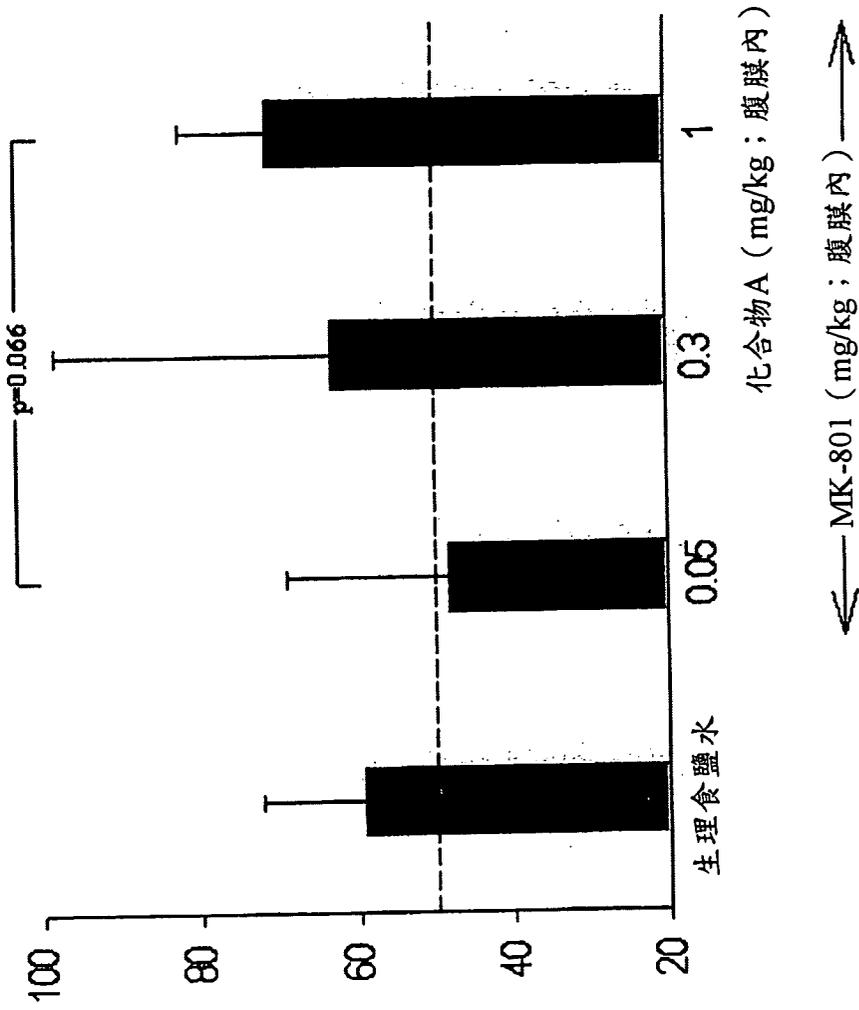
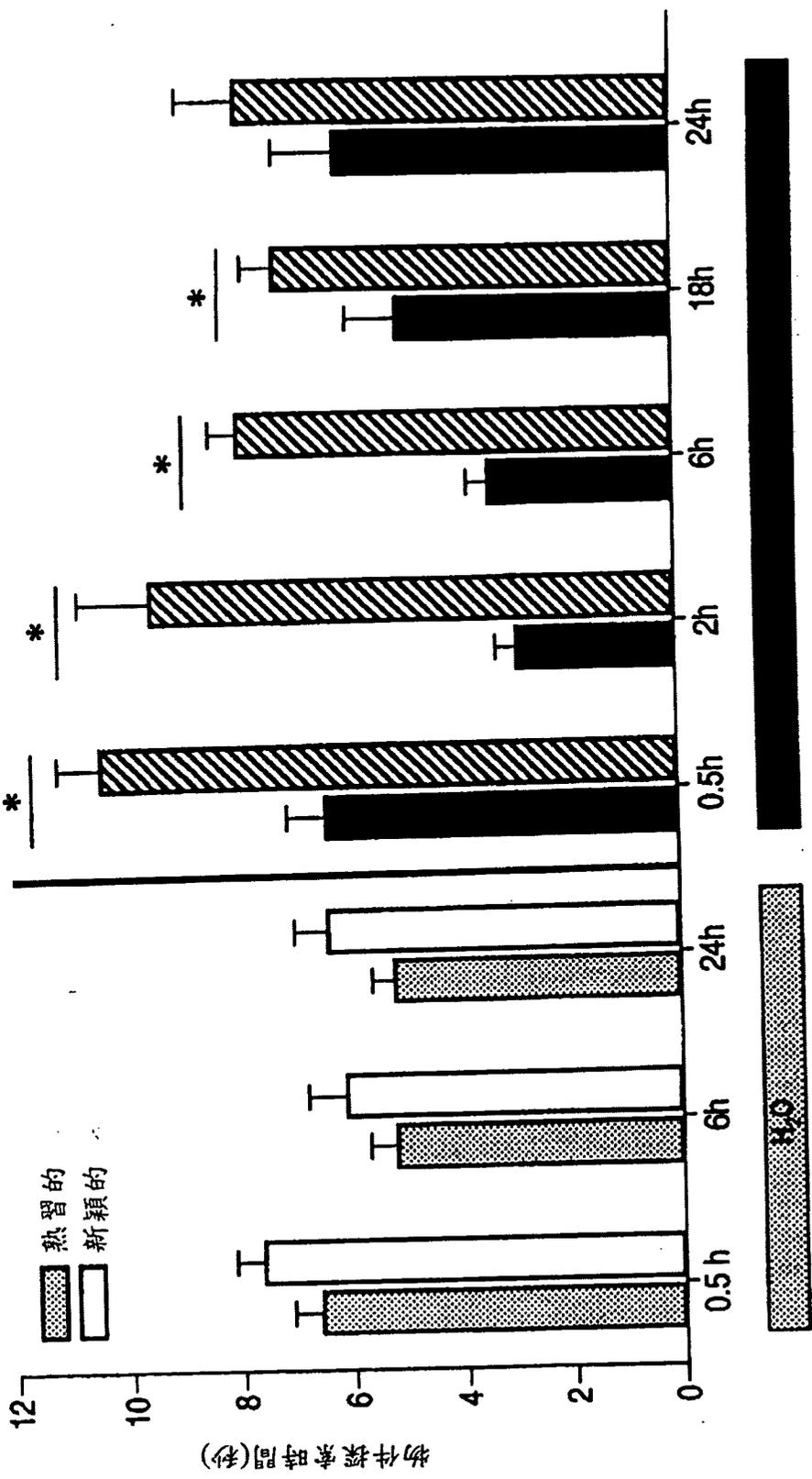


圖 5B



治療 (mg/kg; 口服)

圖6

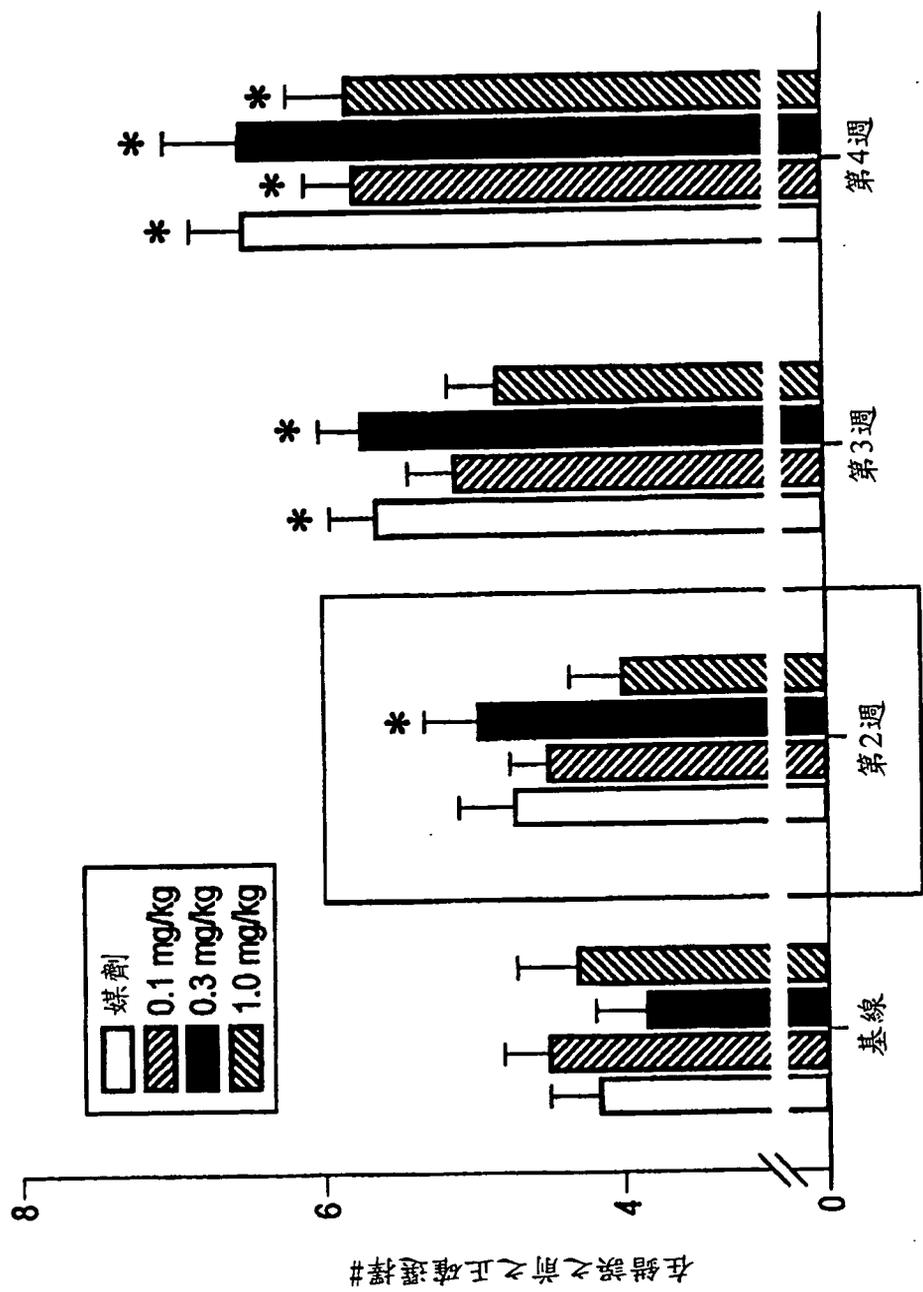
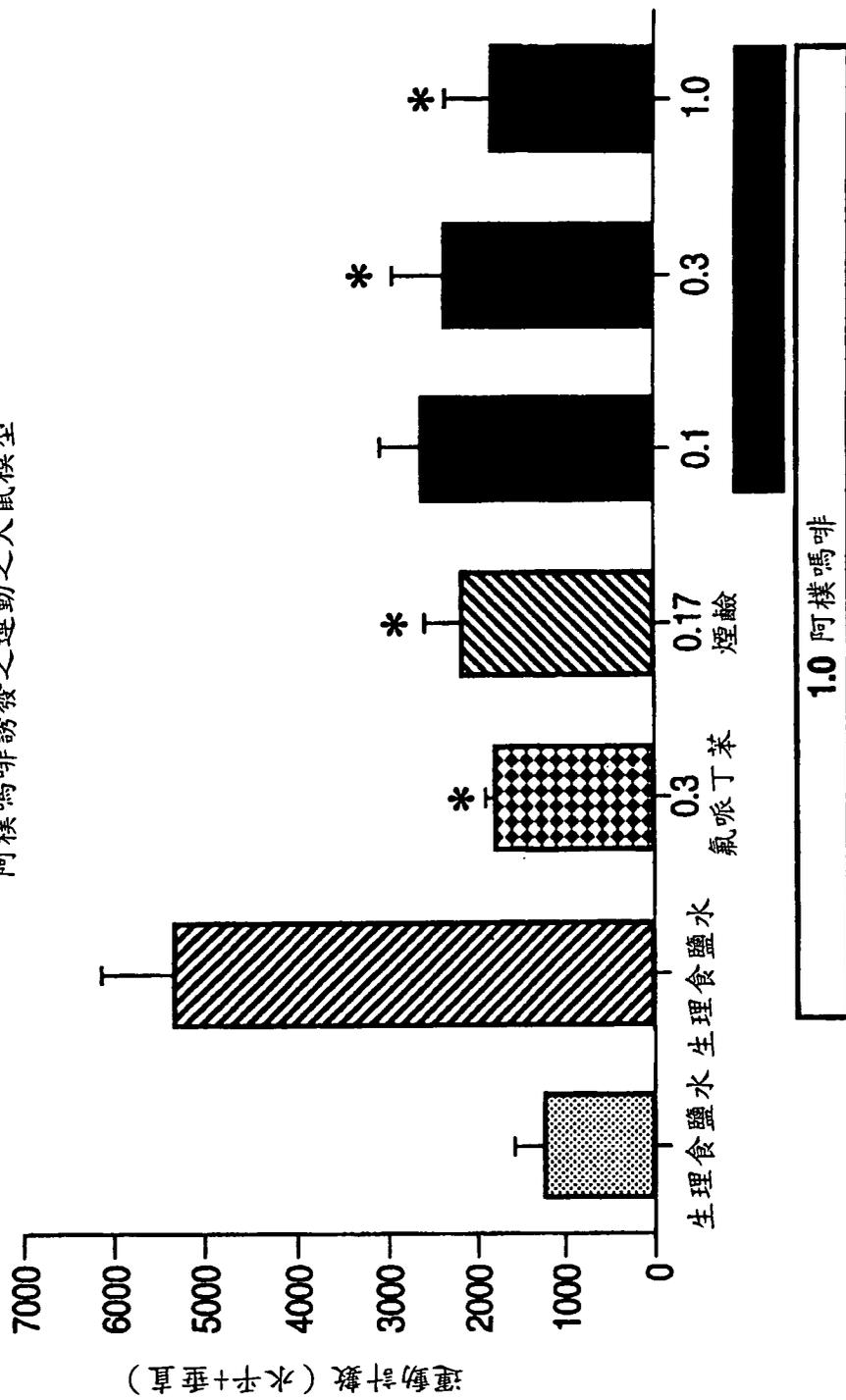


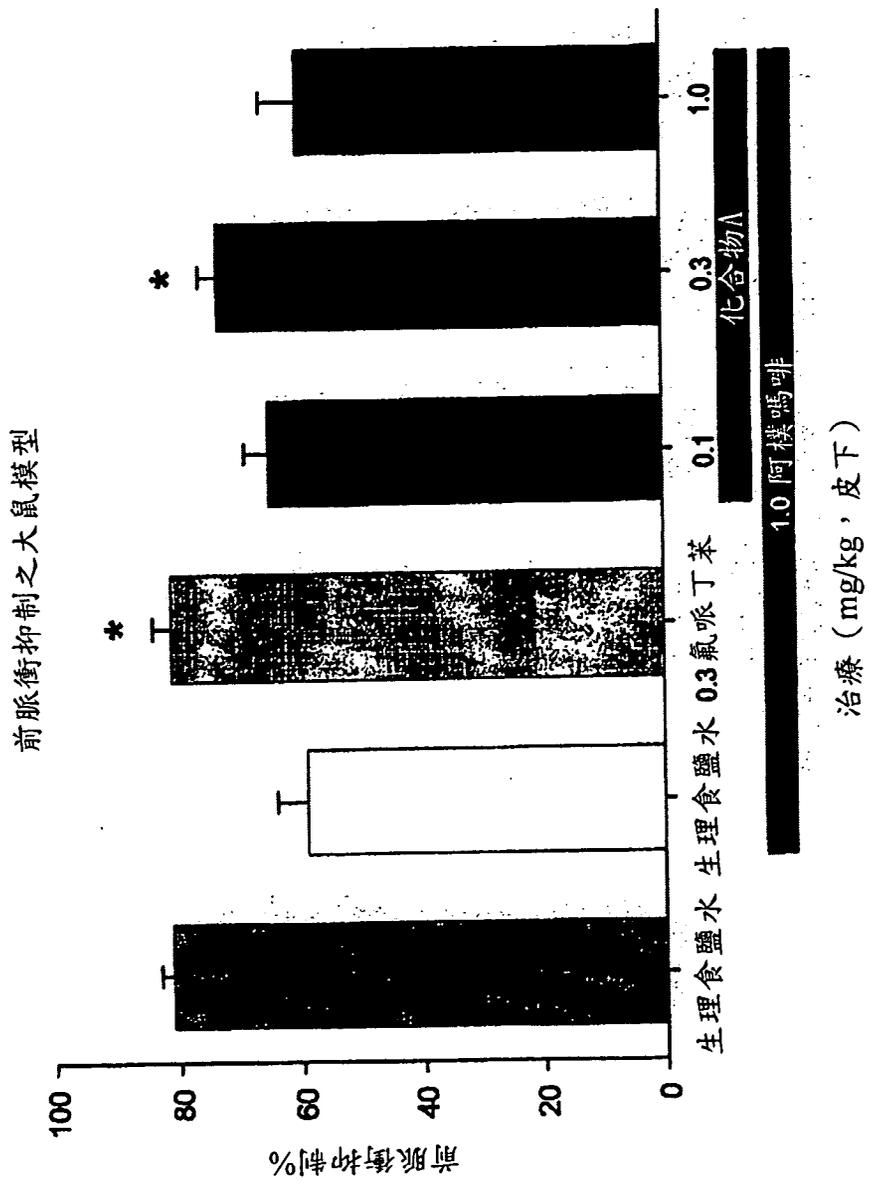
圖7

阿撲嗎啡誘發之運動之大鼠模型



治療

圖8



\* 與生理食鹽水+1.0 mg/kg阿撲嗎啡有顯著不同

圖9

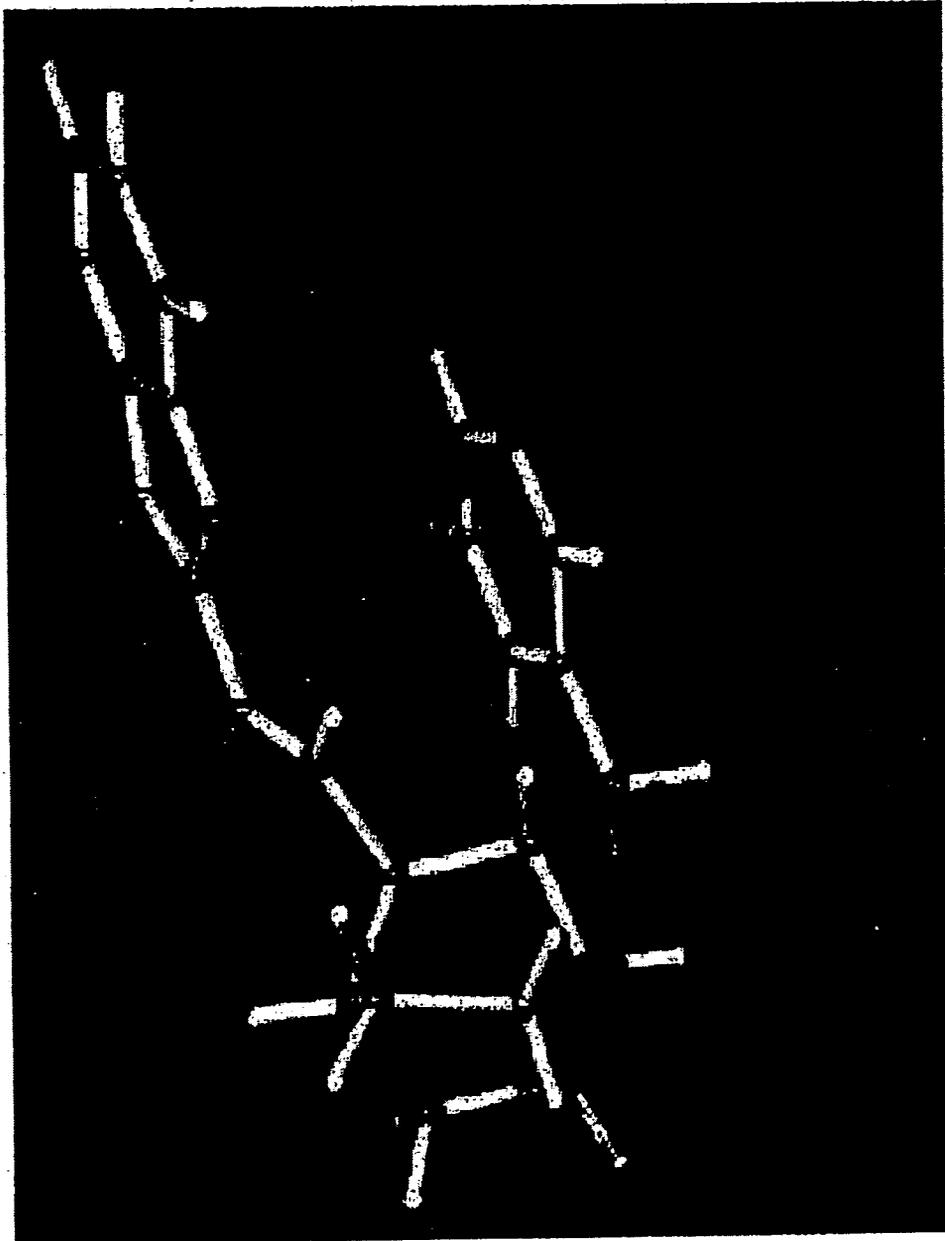


圖 10A

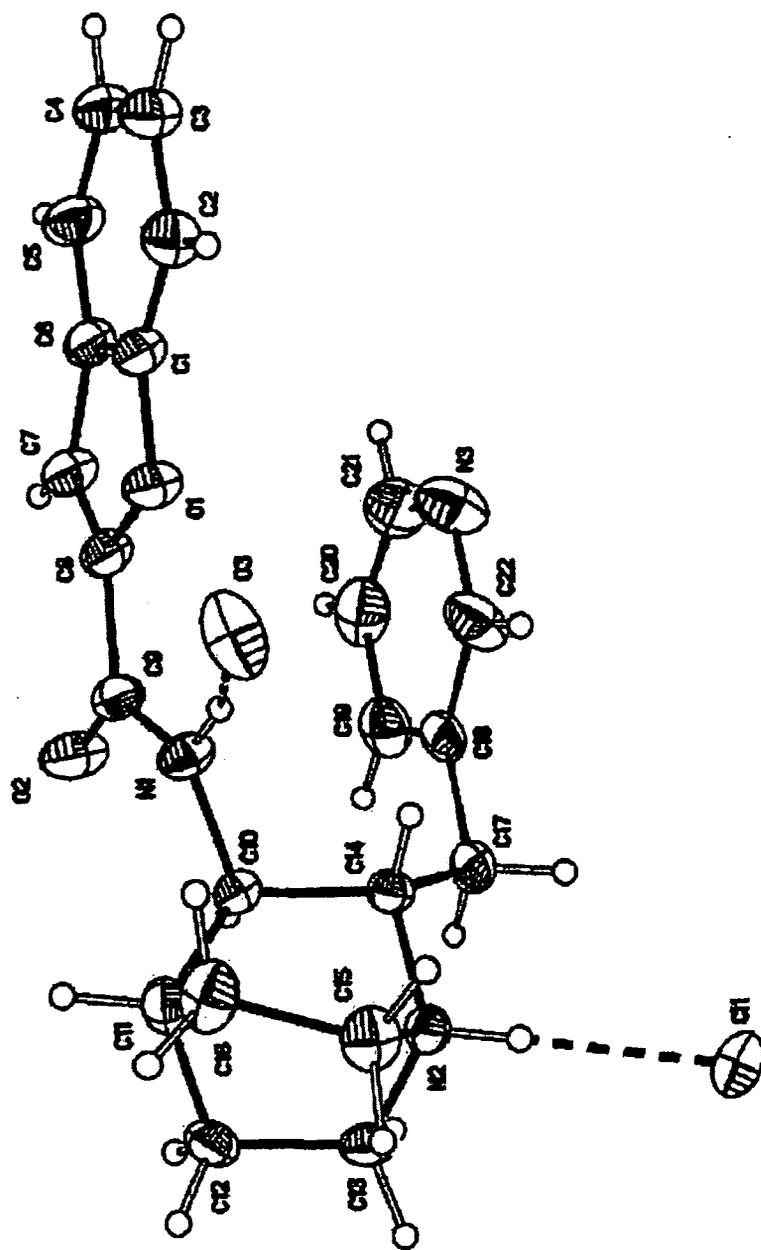


圖 10B

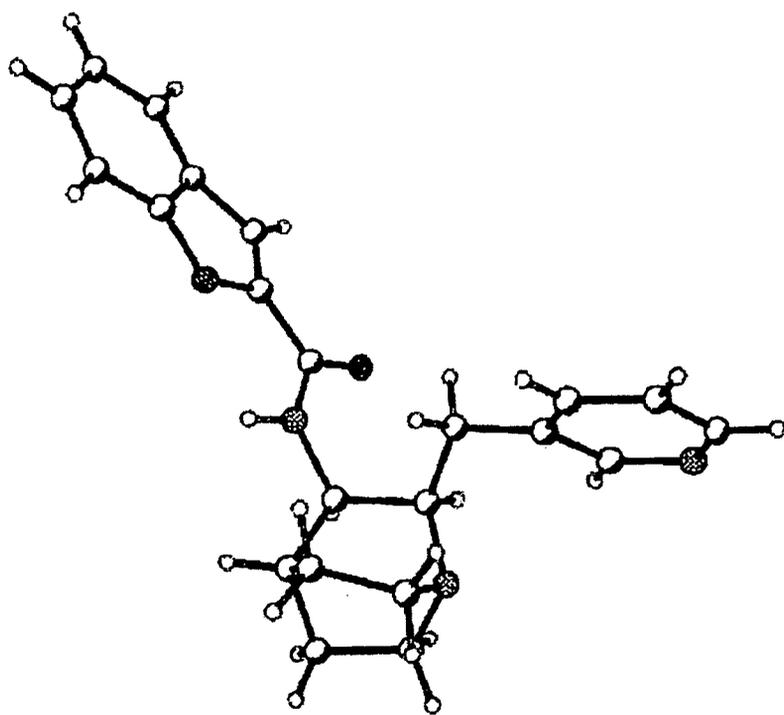


圖11A

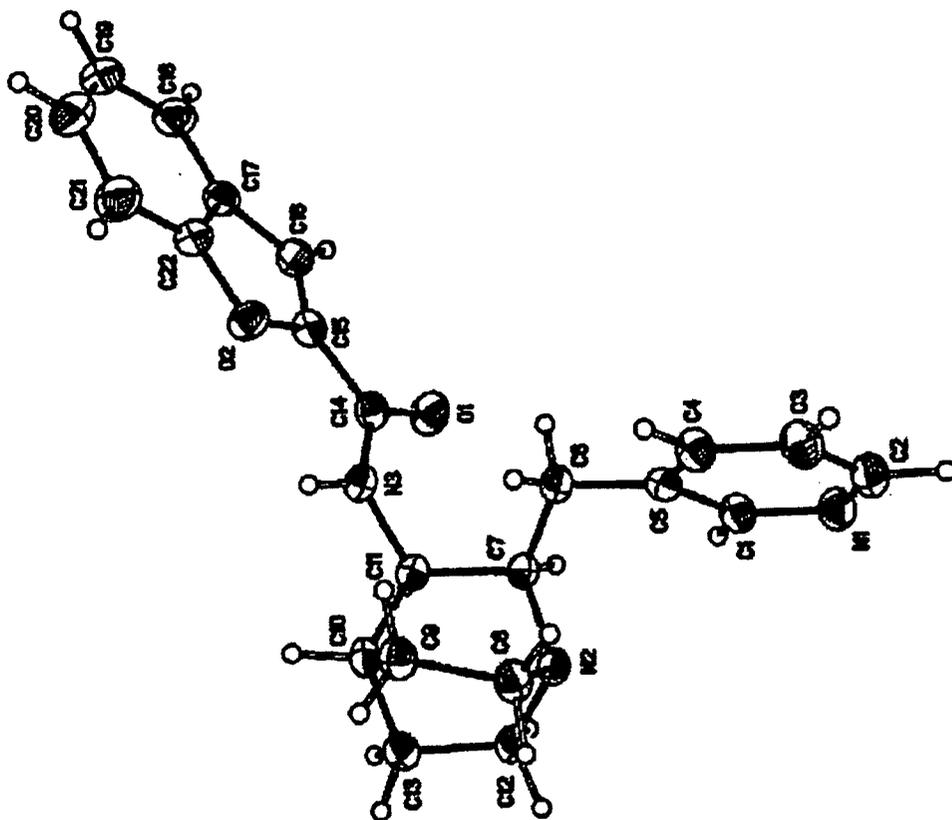


圖11B

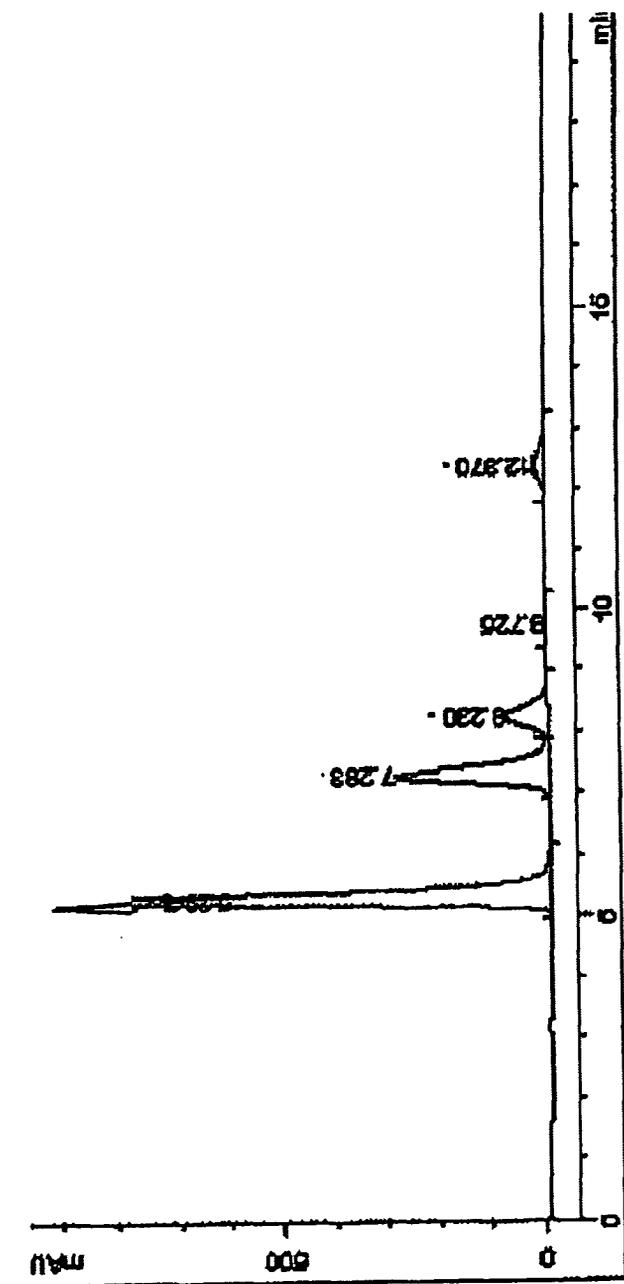


圖12

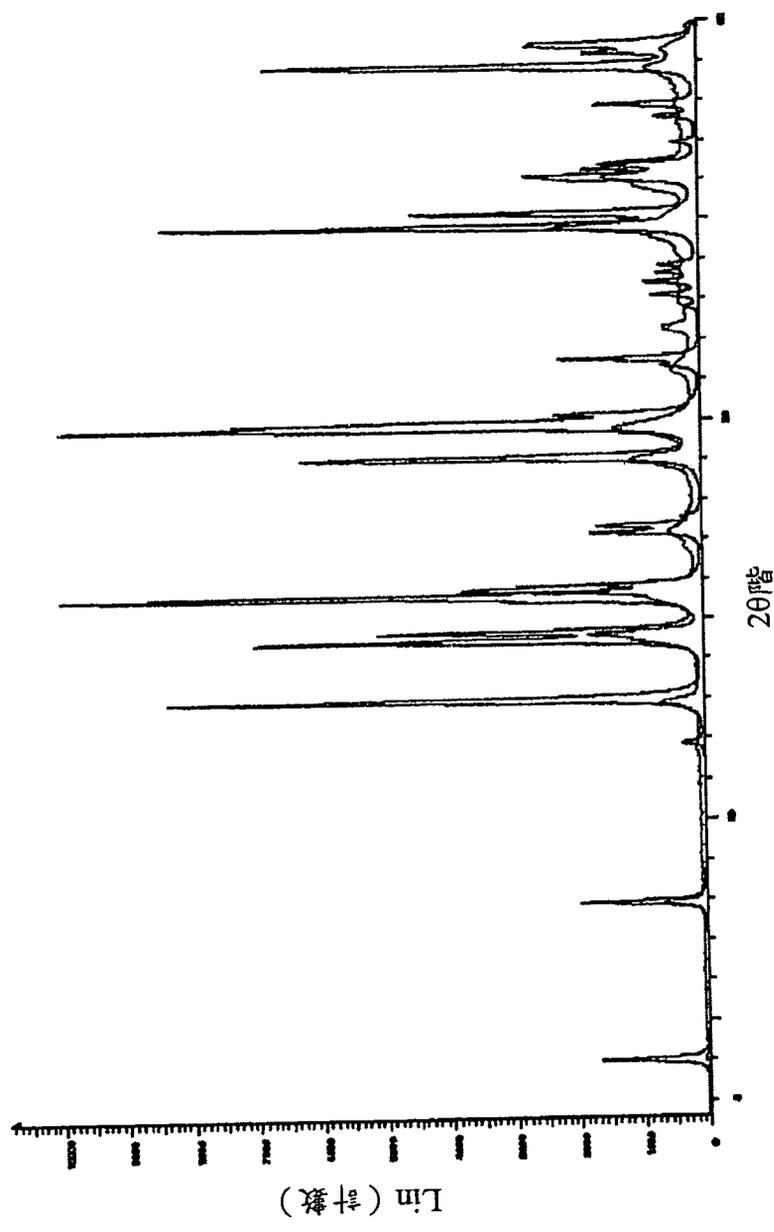


圖13

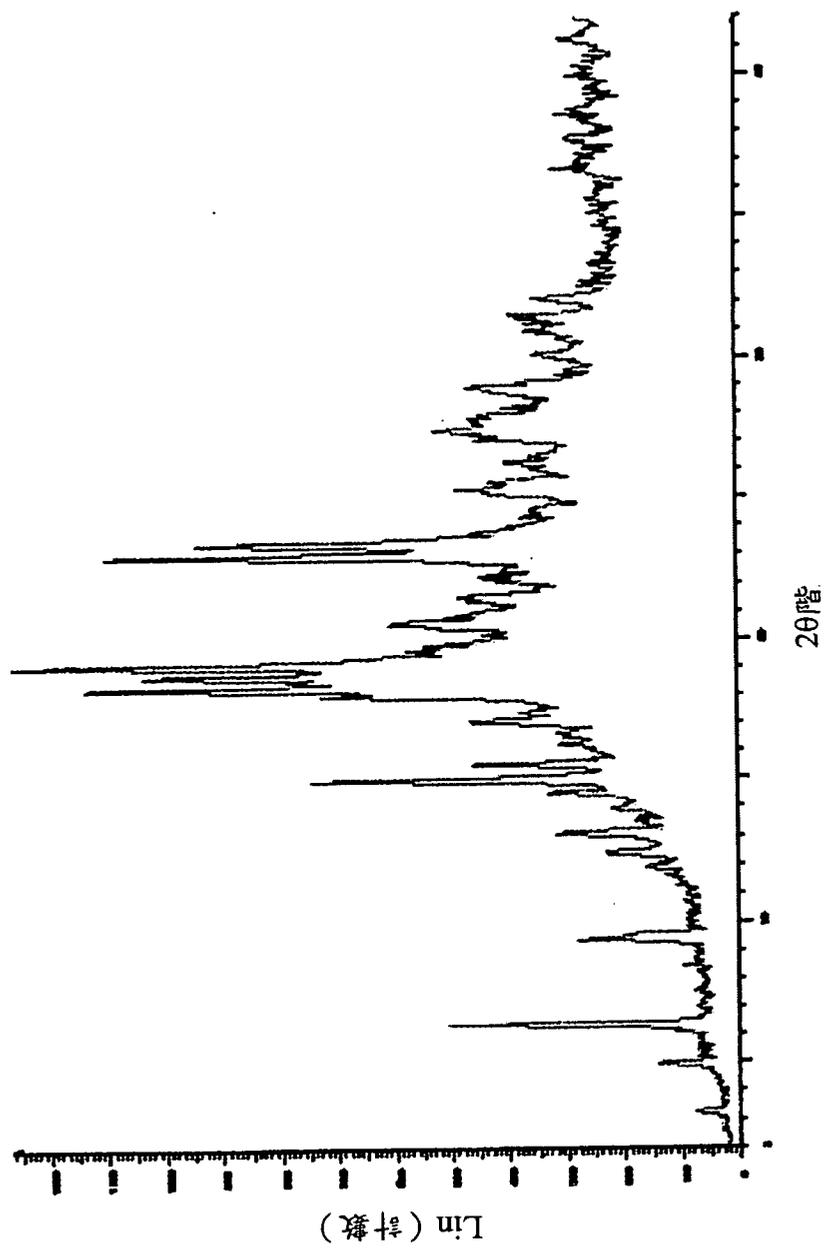


圖14