

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580043384.4

[51] Int. Cl.

C07D 451/04 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61K 31/46 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 11 月 28 日

[11] 公开号 CN 101080406A

[22] 申请日 2005.12.21

[21] 申请号 200580043384.4

[30] 优先权

[32] 2004.12.22 [33] US [31] 60/638,800

[86] 国际申请 PCT/US2005/046295 2005.12.21

[87] 国际公布 WO2006/069125 英 2006.6.29

[85] 进入国家阶段日期 2007.6.18

[71] 申请人 施万制药

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 保罗·R·法瑟雷 罗兰·根德龙
亚当·戈德布卢姆 丹尼尔·D·朗
丹尼尔·马凯斯 德里克·S·特纳
崔锡基

[74] 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任
公司

代理人 王允方 刘国伟

权利要求书 8 页 说明书 67 页

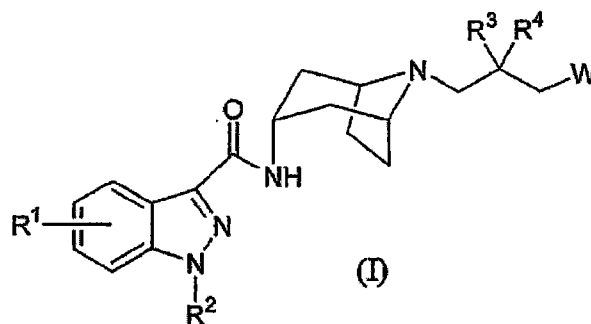
[54] 发明名称

吲唑-甲酰胺化合物

[57] 摘要

本发明提供新颖吲唑-甲酰胺 5-HT₄ 受体激动剂化合物。本发明还提供包含所述化合物的医药组合物、使用所述化合物治疗与 5-HT₄ 受体活性有关的疾病的方法、及用于制备所述化合物的方法及中间体。

1、一种式(I)化合物:



其中:

R^1 为氢、卤素、羟基、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基;

R^2 为 C_{3-4} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

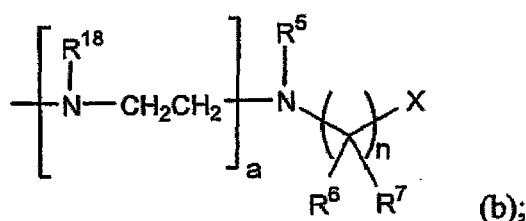
R^3 为羟基、 C_{1-3} 烷氧基、经羟基取代的 C_{1-4} 烷基或 $-OC(O)NR^aR^b$;

R^4 为氢或 C_{1-4} 烷基;

W 选自:

(a) Y, 其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$ 及 $-N(R^{8a})S(O)_2NR^{13}R^{14}$; 及

(b) 式(b)部分:



其中:

X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、 $-S(R^{11})O_2$ 、 $-N(R^8)C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-N(R^8)S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-OC(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-OR^{15}$ 、 $-NR^8R^{16}$ 、氰基、 $-SR^{15}$ 、 CF_3 、吡啶基、吡咯基、嘧啶基、硫吗啉基、噻唑烷基、1,1-二氧化异噻唑烷基、咪唑基、吡啶基、四氢呋喃基、吡咯烷基及哌啶基, 其中吡咯烷基视情况经氧代基取代及哌啶基视情况经 1-3 个卤素取代;

R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基或氰基取代;

R^6 及 R^7 每次出现时独立选自氢、羟基、卤素、氰基及 C_{1-4} 烷基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经 1-2 个选自羟基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素及氰基的取代基取代;

R^8 及 R^{8a} 为氢或 C_{1-4} 烷基;

或 R^5 与 R^8 、 R^5 与 R^6 或 R^6 与 R^8 一起形成 C_{2-5} 亚烷基, 其中 C_{2-5} 亚烷基视情况经

羟基、卤素、经羟基取代的 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 烷氧基取代；

或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ；

或 R^5 与 R^6 一起形成 $-(CH_2)_q-Q-(CH_2)_q$ ，其中 Q 为氧或硫及 q 独立为 0、1 或 2；

或 R^7 与 X 一起形成 $-NHC(O)NHC(O)-$ 或 $-C(O)NHC(O)NH-$ ；

R^9 选自氢、呋喃基、四氢呋喃基、吡啶基或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基或经 1-3 个卤素取代；

R^{10} 选自氢、 C_{1-4} 烷基、吡啶基及咪唑基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经 $-S(O)_2R^c$ 、 C_{3-6} 环烷基或经 1-3 个卤素取代，及咪唑基视情况经 C_{1-3} 烷基取代；

或 R^8 与 R^{10} 一起形成 C_3 亚烷基；

R^{11} 为氢、 $-NR^aR^b$ 或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代；

或 R^5 与 R^{11} 或 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

R^{12} 为 C_{1-4} 烷基；

R^{13} 及 R^{14} 独立为氢或 C_{1-4} 烷基；

R^{15} 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基取代；

或当 X 为 $-SR^{15}$ 时， R^5 与 R^{15} 一起形成 C_{1-4} 亚烷基；

R^{16} 为 $-(CH_2)_r-R^{17}$ ，其中 r 为 0、1、2 或 3；及 R^{17} 选自氢、羟基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-C(O)NR^aR^b$ 、 $-C(O)$ -吗啉基、吡啶基、吡咯基、嘧啶基、吗啉基及四氢呋喃基，其中 C_{1-3} 烷氧基视情况经羟基取代；条件是当 r 为 0 时， R^{17} 选自氢、 C_{1-3} 烷基、吡啶基及嘧啶基；及当 r 为 1 时， R^{17} 为氢或 R^{17} 与 $-(CH_2)_r$ -碳原子形成碳-碳键；

R^{18} 为 $-C(O)O-C_{1-3}$ 烷基、 $-S(O)_2-C_{1-3}$ 烷基或 $-C(O)-C_{1-3}$ 烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 独立为氢或 C_{1-3} 烷基；

a 为 0 或 1；及

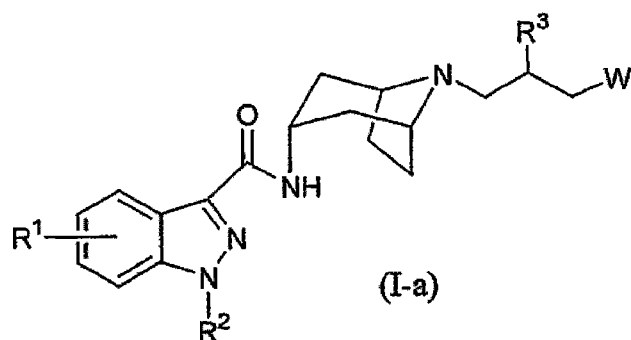
n 为整数 1、2、3、4 或 5；条件是当 n 为 1 时， X 为 $-SR^{15}$ ，或 X 与具有取代基 R^6 及 R^7 的碳原子形成碳-碳键；

或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体。

2、如权利要求 1 所述的化合物，其中 R^1 为氢或卤素， R^2 为异丙基或 C_{4-5} 环烷基，及 R^4 为氢。

3、如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中 R^3 为羟基、甲氧基、羟甲基、 $-OC(O)NHCH_3$ 或 $-OC(O)N(CH_3)_2$ ，或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ 。

4、如权利要求 1 所述的化合物，其是式(I-a)的化合物：



其中：

R^1 为氢、卤素或 C_{1-4} 烷基；

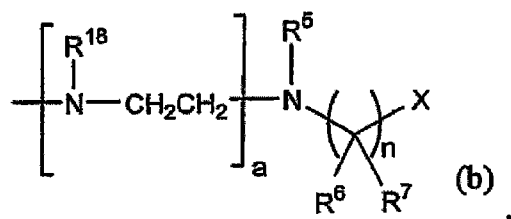
R^2 为异丙基或 C_{4-5} 环烷基；

R^3 为羟基、 C_{1-3} 烷氧基或 $OC(O)NR^aR^b$ ；

W 选自：

(a) Y，其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$ 及 $-N(R^{8a})S(O)_2NR^{13}R^{14}$ ；及

(b) 式(b)部分：



其中

X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、 $-S(R^{11})O_2$ 、 $-N(R^8)C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-N(R^8)S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-OC(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-OR^{15}$ 、 $-NR^8R^{16}$ 、氰基、 $-SR^{15}$ 、 CF_3 、吡啶基、吡咯基、1,1-二氧化异噻唑烷基、咪唑基及吡咯烷基，其中吡咯烷基视情况经氧代基取代；

R^5 为氢、 C_{1-3} 烷基或在末端位置处经羟基取代的 C_{1-3} 烷基；

R^6 与 R^7 每次出现时独立为氢、羟基、卤素或氰基；

R^8 及 R^{8a} 为氢或 C_{1-3} 烷基；

或 R^5 与 R^8 或 R^5 与 R^6 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起为 $-OCH_2CH_2-$ ；

R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基或 C_{1-3} 烷基；

R^{10} 为 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基视情况经 $-S(O)_2C_{1-3}$ 烷基或经 1-3 个卤素取代；

R^{11} 为氢、 $-NR^aR^b$ 或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代；

或 R^5 与 R^{11} 或 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

R^{12} 为 C_{1-3} 烷基；

R^{13} 、 R^{14} 及 R^{15} 独立为氢或 C_{1-3} 烷基；

R^{16} 为 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})$ -吗啉基、 $-\text{CH}_2$ -吡啶基、 $-\text{CH}_2$ -嘧啶基或 $-\text{CH}_2$ -四氢呋喃基;

R^{18} 为 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$;

R^a 及 R^b 独立为氢或 C_{1-3} 烷基;

a 为 0 或 1; 及

n 是整数 1、2 或 3; 条件是当 n 为 1 时, X 为 $-\text{SR}^{15}$, 或 X 与具有取代基 R^6 及 R^7 的碳原子形成碳-碳键;

或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体。

5、如权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的化合物, 其中 W 选自:

(a) Y , 其中 Y 选自 $-\text{N}(\text{R}^{8a})\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{8a})\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 及 $-\text{N}(\text{R}^{8a})\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$; 及

(b) 式(b)部分, 其中 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{OR}^{12}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{OR}^{15}$ 及氰基。

6、如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的化合物, 其中 W 选自 Y , 其中 R^{8a} 为氢或甲基; R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基或甲基; R^{10} 及 R^{12} 为甲基或乙基; 及 R^{13} 及 R^{14} 独立为氢或甲基。

7、如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的化合物, 其中 W 是式(b)部分, 其中:

(i) X 为氰基; 或

(ii) a 为 0, n 为 2, R^6 及 R^7 为氢, R^5 与 R^8 一起形成 C_2 亚烷基, 及 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 及 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 。

8、如权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的化合物, 其中 W 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ 、1-甲烷磺酰基哌嗪-4-基、1-二甲基氨基羰基哌嗪-4-基、1-(四氢呋喃-2-基)羰基哌嗪-4-基、3-(甲氧基羰基氨基)吡咯烷-1-基及 2-(甲氧基亚甲基)吡咯烷-1-基。

9、如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物选自由下述组成的群组:

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-((S)-2-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{3-[(2-氰基-乙基)甲基氨基]-2-羟丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[4-(四氢呋喃-2-羰基)哌嗪-1-基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)-酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-氨基甲酰基甲基吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(4-二甲基氨基甲酰基哌嗪-1-基)-2-羟

丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

[1-(2-羟基-3-[(1S,3R,5R)-3-[(1-异丙基-1H-吡啶-3-羰基)-氨基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-8-基)丙基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸甲酯;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(S)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(乙酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(甲酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(1,3-二甲基脒基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[(吡啶-4-羰基)氨基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(3-甲酰基氨基-2-羟丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]-酰胺; 及

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(甲磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺; 及

其医药上可接受的盐及溶剂化物及立体异构体。

10、一种医药组合物，其包含治疗有效量的权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物及医药上可接受的载剂。

11、如权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物，其用于治疗。

12、一种如权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物的用途，其用于制造药剂。

13、如权利要求 12 所述的用途，其中所述药剂是用于治疗哺乳动物中与 5-HT₄ 受体活性有关的医疗状况。

14、如权利要求 13 所述的用途，其中所述疾病或状况是胃肠道蠕动减少的病症。

15、一种治疗患有与 5-HT₄ 受体活性有关的医疗状况的哺乳动物的方法，所述方法包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的医药组合物，所述医药组合物包含医药上可接受的载剂及权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物。

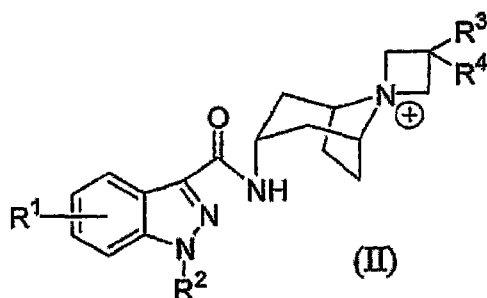
16、如权利要求 15 所述的方法，其中所述医疗状况选自肠易激综合征、慢性

便秘、功能性消化不良、胃排空障碍、胃食管反流病、胃轻瘫、术后肠梗阻、假性肠梗阻及药物诱发的传输迟缓组成的群组。

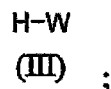
17、一种治疗哺乳动物胃肠道蠕动减少的病症的方法，所述方法包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的医药组合物，所述医药组合物包含医药上可接受的载剂及权利要求1至9中任一权利要求所述的化合物。

18、一种制备式(I)化合物或其盐或立体异构体的方法，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 及 W 如权利要求1所定义，所述方法包括：

(a) 使下式(II)化合物

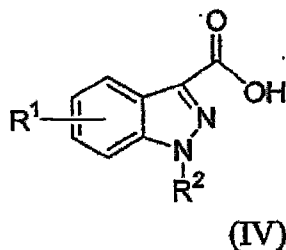


与下式(III)化合物反应

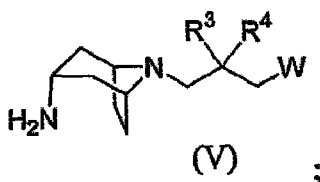


或

(b) 使下式(IV)化合物



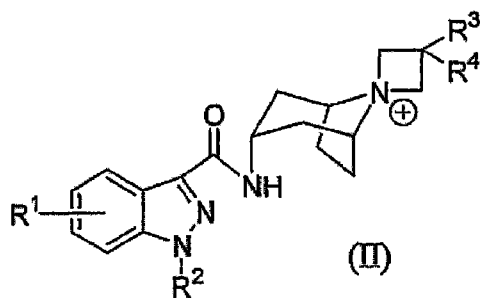
与下式(V)化合物反应



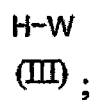
以提供式(I)化合物或其盐或立体异构体。

19、一种制备式(I)化合物或其盐或立体异构体的方法，其中 R^3 为羟基及 R^1 、 R^2 、 R^4 及 W 如权利要求1所定义，所述方法包括：

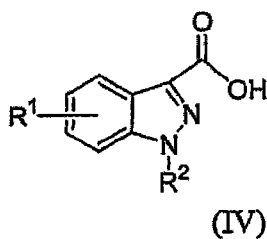
(a) 使下式(II)化合物



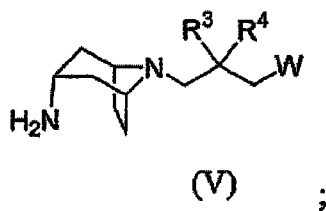
与下式(III)化合物反应



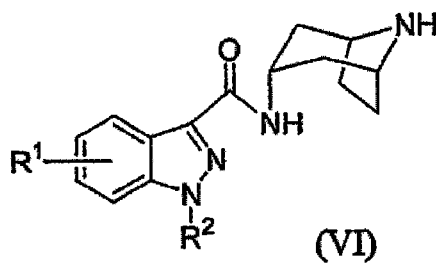
(b) 使下式(IV)化合物



与下式(V)化合物反应



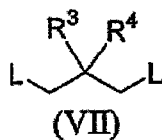
(c) 使下式(VI)化合物



或其盐与下式(III)化合物

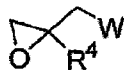


及式(VII)化合物反应,



其中 L 为离去基团; 或

(d) 使式(VI)化合物与式(VIII)化合物反应

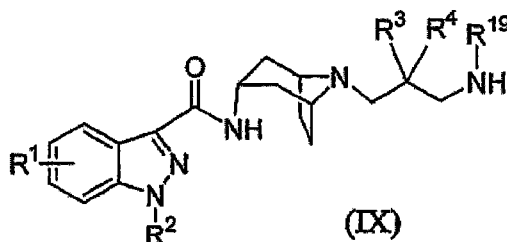


(VIII) ;

以提供式(I)化合物或其盐或立体异构体。

20、一种制备式(I)化合物或其盐或立体异构体的方法，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^{8a} 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{18} 、 a 、 n 、 W 及 X 如权利要求 1 所定义；条件是当 a 为 0 时， R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或氰基取代，或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ；所述方法包括：

使式(IX)化合物：



(IX)

其中 R^{19} 为 R^5 、 R^{8a} 或 R^{18} ；

与式(X)化合物反应，



(X)

其中：

L 为离去基团；及

(a) 当 R^{19} 为 R^{8a} 时， W'' 选自 $-C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^{10}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 及 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$ ；

(b) 当 R^{19} 为 R^{18} 时， W'' 为 $-(CH_2)_2-N(R^5)(CR^6R^7)_n-X$ ；及

(c) 当 a 为 0 时， R^{19} 为 R^5 ， W'' 为 $-(CR^6R^7)_n-X$ ，及 R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基或氰基取代，或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ；

以获得式(I)化合物。

21、一种通过权利要求 18、19 及 20 中任一权利要求所述的方法制得的产物。

22、一种研究包含 5-HT₄ 受体的生物系统或试样的方法，所述方法包括：

(a) 使所述生物系统或试样接触权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物；

及

(b) 测定所述化合物对所述生物系统所造成的影响。

吡啶-甲酰胺化合物

技术领域

本发明关于用作 5-HT₄ 受体激动剂的吡啶-甲酰胺化合物。本发明还关于包含所述化合物的医药组合物、使用所述化合物治疗或预防由 5-HT₄ 受体活性介导的医疗状况的方法、及用于制备所述化合物的方法及中间体。

背景技术

血清素(5-羟基色胺, 5-HT)是一种在整个体内广泛分布于中枢神经系统及周围系统二者中的神经递质。已经鉴别出至少 7 种血清素受体亚型且血清素与这些不同受体间的相互作用与各种生理功能有关。因此, 业内实质上对研发为靶特异性 5-HT 受体亚型的治疗剂感兴趣。

具体而言, 5-HT₄ 受体的特性及与其相互作用的药剂的鉴别是最近重大活动的焦点。(参见例如 Langlois 及 Fischmeister 的评论 *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 319-344。) 5-HT₄ 受体激动剂用于治疗胃肠道蠕动减少的病症。所述病症包括肠易激综合征(IBS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空障碍、胃食管反流病(GERD)、胃轻瘫、术后肠梗阻、假性肠梗阻、及药物诱发的传输迟缓。此外, 已建议一些 5-HT₄ 受体激动剂化合物可用于治疗中枢神经系统障碍, 其包括认知障碍、行为障碍、心境障碍、及自主神经功能控制障碍。

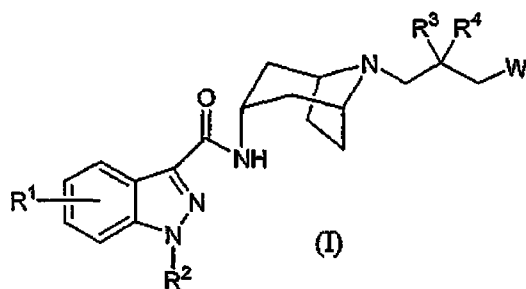
尽管医药制剂调节 5-HT₄ 受体活性的宽范围效用, 但目前几乎没有 5-HT₄ 受体激动剂化合物用于临床使用。

因此, 业内需要达成合意作用同时具有最小副作用的新 5-HT₄ 受体激动剂。较佳的制剂连同其他性质一起可具有经改良的选择性、效能、药物代谢性质、及/或作用持续时间。

发明内容

本发明提供具有 5-HT₄ 受体激动剂活性的新颖化合物。已发现, 除了其他性质以外, 本发明化合物为有效及选择性 5-HT₄ 受体激动剂。此外, 已发现本发明化合物展示合意的药物代谢性质, 此预计口服投与时具有良好的生物利用度。

因此, 本发明提供一种式(I)化合物:



其中：

R^1 为氢、卤素、羟基、 C_{1-4} 烷基、或 C_{1-4} 烷氧基；

R^2 为或 C_{3-4} 烷基、或 C_{3-6} 环烷基；

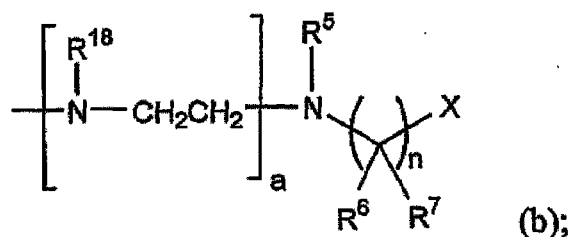
R^3 为羟基、 C_{1-3} 烷氧基、经羟基取代的 C_{1-4} 烷基、或 $-OC(O)NR^aR^b$ ；

R^4 为氢或 C_{1-4} 烷基；

W 选自

(a) Y，其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$ 、及 $-N(R^{8a})S(O)_2NR^{13}R^{14}$ ；及

(b) 式(b)部分：



其中：

X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、 $-S(R^{11})O_2$ 、 $-N(R^8)C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-N(R^8)S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-OC(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-OR^{15}$ 、 $-NR^8R^{16}$ 、氰基、 $-SR^{15}$ 、 CF_3 、吡啶基、吡咯基、嘧啶基、硫吗啉基、噻唑烷基、1,1-二氧化异噻唑烷基、咪唑基、吡啶基、四氢呋喃基、吡咯烷基及哌啶基，其中吡咯烷基视情况经氧代基取代及哌啶基视情况经 1-3 个卤素取代；

R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或氰基取代；

R^6 与 R^7 每次出现时独立选自氢、羟基、卤素、氰基、及 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经 1-2 个选自羟基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、及氰基的取代基取代；

R^8 及 R^{8a} 为氢或 C_{1-4} 烷基；

或 R^5 与 R^8 、 R^5 与 R^6 、或 R^6 与 R^8 一起形成 $C_{2.5}$ 亚烷基，其中 $C_{2.5}$ 亚烷基视情况经羟基、卤素、经羟基取代的 C_{1-3} 烷基、或 C_{1-3} 烷氧基取代；

或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ；

或 R^5 与 R^6 一起形成 $-(CH_2)_q-Q-(CH_2)_q$ ，其中 Q 为氧或硫及 q 独立为 0、1、或 2；

或 R^7 与 X 一起形成 $-NHC(O)NHC(O)-$ 或 $-C(O)NHC(O)NH-$ ；

R^9 选自氢、呋喃基、四氢呋喃基、吡啶基、或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经

羟基或经 1-3 个卤素取代;

R^{10} 选自氢、 C_{1-4} 烷基、吡啶基、及咪唑基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经 $-S(O)_2R^c$ 、 C_{3-6} 环烷基、或经 1-3 个卤素取代, 及咪唑基视情况经 C_{1-3} 烷基取代;

或 R^8 与 R^{10} 一起形成 C_3 亚烷基;

R^{11} 为 $-NR^aR^b$ 、或 C_{1-4} 烷基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代;

或 R^5 与 R^{11} 或 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_{2-5} 亚烷基;

R^{12} 为 C_{1-4} 烷基;

R^{13} 及 R^{14} 皆独立为氢或 C_{1-4} 烷基;

R^{15} 为氢或 C_{1-4} 烷基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基取代;

或当 X 为 $-SR^{15}$ 时, R^5 与 R^{15} 一起形成 C_{1-4} 亚烷基;

R^{16} 为 $-(CH_2)_r-R^{17}$, 其中 r 为 0、1、2 或 3; 及 R^{17} 选自氢、羟基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-C(O)NR^aR^b$ 、 $-C(O)$ -吗啉基、吡啶基、吡咯基、嘧啶基、吗啉基、及四氢呋喃基, 其中 C_{1-3} 烷氧基视情况经羟基取代; 条件是当 r 为 0 时, R^{17} 选自氢、 C_{1-3} 烷基、吡啶基、及嘧啶基; 及当 r 为 1 时, R^{17} 为氢或 R^{17} 与 $-(CH_2)_r$ -碳原子形成碳-碳键;

R^{18} 为 $-C(O)O-C_{1-3}$ 烷基、 $-S(O)_2-C_{1-3}$ 烷基、或 $-C(O)-C_{1-3}$ 烷基;

R^a 、 R^b 及 R^c 皆独立为氢或 C_{1-3} 烷基;

a 为 0 或 1; 及

n 是整数 1、2、3、4、或 5; 条件是当 n 为 1 时, X 为 $-SR^{15}$, 或 X 与具有取代基 R^6 及 R^7 的碳原子形成碳-碳键;

或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体。

本发明还提供一种包含本发明化合物及医药上可接受载剂的医药组合物。

本发明还提供一种治疗与 5-HT₄ 受体活性有关的疾病或病状 (例如胃肠道蠕动减少的病征) 的方法, 所述方法包括向哺乳动物投与治疗有效量的本发明化合物。

此外, 本发明提供一种治疗哺乳动物中与 5-HT₄ 受体活性有关的疾病或病状的方法, 所述方法包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的本发明医药组合物及医药上可接受的载剂。

本发明化合物还可用作研究工具, 即, 用以研究生物系统或试样、或用以研究其他化学化合物的活性。因此, 在此方法的另一方面中, 本发明提供一种使用式(I)化合物、或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体作为研究生物系统或试样或用于发现新 5-HT₄ 受体激动剂的研究工具的方法, 所述方法包括使一生物系统或试样接触本发明化合物并测定由所述化合物对所述生物系统或试样所造成的影响。

就单独及独特方面而言, 本发明还提供本文所述合成方法及中间体, 其用于制备本发明化合物。

本发明还提供如本文所述用于医学治疗的本发明化合物、以及本发明化合物在制造调配物或药剂中的用途, 所述调配物或药剂用于治疗哺乳动物中与 5-HT₄ 受体活性有关的疾病或病状 (例如胃肠道蠕动减少的病征)。

附图说明

具体实施方式

本发明提供式(I)的新颖唑啉-甲酰胺 5-HT₄ 受体激动剂、或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体。以下关于基团、取代基及范围的实例性及较佳数值仅为阐述性的；其不能排除其他经定义数值或其他在所述基团及取代基经定义范围内的数值。

在本发明具体方面中，R¹ 为氢、卤素、或 C₁₋₄ 烷基。

在其他具体方面中，R¹ 为氢、氟、氯、溴、或甲基；R¹ 为氢或卤素；或 R¹ 为氢。

在本发明具体方面中，R² 为 C₃₋₄ 烷基。代表性 R² 基团包括正-丙基、异丙基、正-丁基、仲丁基、及叔丁基。

在另一具体方面中，R² 为异丙基、或 C₄₋₅ 环烷基。

在又一具体方面中，R² 为异丙基。

在具体方面中，R³ 为羟基、C₁₋₃ 烷氧基、或-OC(O)NR^aR^b。

在另一具体方面中，R³ 为羟基、甲氧基、羟甲基、-OC(O)NHCH₃、或-OC(O)N(CH₃)₂。

在具体方面中，R⁴ 为氢或甲基；或 R⁴ 为氢。

在本发明一个方面中，R¹ 为氢或卤素，R² 为异丙基或 C₄₋₅ 环烷基，及 R⁴ 为氢。

在具体方面中，R³ 为羟基、C₁₋₃ 烷氧基、末端经羟基取代的 C₁₋₃ 烷基、或-OC(O)NR^aR^b；R³ 为羟基、C₁₋₃ 烷氧基、或-OC(O)NR^aR^b；或 R³ 为羟基。

在另一具体方面中，R³ 为羟基、甲氧基、羟甲基、-OC(O)NHCH₃、或-OC(O)N(CH₃)₂，或 R³ 与 R⁵ 或 R³ 与 R^{8a} 一起形成-OCH₂CH₂-。

在具体方面中，R⁵ 为氢、C₁₋₃ 烷基、或末端位置处经羟基、C₁₋₃ 烷氧基、或氰基取代的 C₁₋₃ 烷基。代表性 R⁵ 基团包括（但不限于）羟基、甲基、乙基、2-羟乙基、2-甲氧基乙基、氰基甲基、及 2-氰基乙基。

在其他具体方面中，R⁵ 为氢、C₁₋₃ 烷基、或在末端位置处经羟基取代的 C₁₋₃ 烷基；R⁵ 为氢或 C₁₋₃ 烷基；或 R⁵ 为氢或甲基。

在另一具体方面中，R⁵ 为氢或 C₁₋₃ 烷基，或 R⁵ 与 R⁸ 形成 C₂₋₃ 亚烷基。

在具体方面中，R³ 与 R⁵ 一起形成-OCH₂CH₂-。

在具体方面中，n 为 1、2 或 3 及 R⁵ 与 R⁶ 一起形成-CH₂CH₂O-或-CH₂CH₂OCH₂-。

或者，在另一具体方面中，n 为 2 及 R⁵ 与 R⁶ 一起形成 C₂₋₃ 亚烷基。

在具体方面中，R⁶ 及 R⁷ 皆独立为氢、羟基、卤素、C₁₋₃ 烷基、或经羟基取代的 C₁₋₃ 烷基。代表性 R⁶ 及 R⁷ 基团包括（但不限于）氢、羟基、氟、氯、羟乙基、及羟甲基。

在其他具体方面中, R^6 及 R^7 每次出现时独立为氢、羟基、卤素或氰基; 或 R^6 及 R^7 各自为氢。

在具体方面中, R^8 为氢或 C_{1-3} 烷基, 或 R^8 为氢或甲基。

在另一具体方面中, R^8 为氢或 C_{1-3} 烷基, 或 R^5 与 R^8 一起形成 C_{2-3} 亚烷基。

或者, 在另一具体方面中, R^5 与 R^8 一起形成 C_{2-3} 亚烷基。

在具体方面中, n 为 2 及 R^5 与 R^8 一起形成 C_2 亚烷基。

在具体方面中, n 为 2 及 R^5 与 R^8 一起形成 C_3 亚烷基。

或者, 在另一具体方面中, R^6 与 R^8 一起形成 C_{2-3} 亚烷基。

在具体方面中, R^{8a} 为氢或 C_{1-3} 烷基, 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$; R^{8a} 为氢或 C_{1-3} 烷基; 或 R^{8a} 为氢或甲基。

在具体方面中, R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基、或 C_{1-3} 烷基, 其中 C_{1-3} 烷基视情况经取代羟基。代表性 R^9 基团包括 (但不限于) 氢、四氢呋喃-2-基、甲基、乙基、丙基、异丙基、及 1-羟乙基。

在其他具体方面中, R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基、或 C_{1-3} 烷基, 例如甲基; 或 R^9 为氢或甲基。

在具体方面中, R^{10} 为氢或 C_{1-3} 烷基, 其中 C_{1-3} 烷基视情况经 $-SO_2R^c$ 、 C_{3-6} 环烷基、或经 1-3 个卤素取代, 其中 R^c 为 C_{1-3} 烷基。代表性 R^{10} 基团包括 (但不限于) 甲基、乙基、丙基、异丙基、及甲烷磺酰基甲基。

在另一具体方面中, R^{10} 为 C_{1-3} 烷基, 其中 C_{1-3} 烷基视情况经 $-S(O)_2C_{1-3}$ 烷基或经 1-3 个卤素取代。

在其他具体方面中, R^{10} 为 C_{1-3} 烷基; R^{10} 为甲基或乙基; 或 R^{10} 为甲基。

在具体方面中, R^{11} 为 $-NR^aR^b$ 、或 C_{1-3} 烷基, 其中 C_{1-3} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代。

在其他具体方面中, R^{11} 为 $-NH_2$ 、 $-NH(CH_3)$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、甲基、乙基、或 $-CF_3$; 或 R^{11} 为甲基。

在另一具体方面中, n 为 2 及 R^5 与 R^{11} 一起形成 C_2 亚烷基。

在又一具体方面中, n 为 2 或 3 及 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_2 亚烷基。

在具体方面中, R^{12} 为 C_{1-3} 烷基; 或 R^{12} 为甲基或乙基。

在具体方面中, R^{13} 与 R^{14} 皆独立为氢或 C_{1-3} 烷基; 或 R^{13} 与 R^{14} 皆独立为氢、甲基、或乙基。

在具体方面中, R^{15} 为氢、 C_{1-3} 烷基、或在末端位置处经羟基取代的 C_{1-3} 烷基。代表性 R^{15} 基团包括 (但不限于) 氢、甲基、乙基、及 2-羟乙基; 例如氢、甲基、及乙基。

在其他具体方面中, R^{15} 为氢或 C_{1-3} 烷基; 或 R^{15} 为氢、甲基、或乙基; 或 R^{15} 为氢或甲基。

在具体方面中, R^{16} 为 $-(CH_2)_r-R^{17}$, 其中 r 为 0、1、或 2。在另一具体方面中, R^{16}

为 $-(CH_2)_r-R^{17}$, 其中 r 为 1 或 2。代表性 R^{16} 基团包括 (但不限于) $-CH_2-C(O)NR^aR^b$ 、 $-CH_2-C(O)$ -吗啉基、 $-CH_2$ -吡啶基、 $-CH_2$ -嘧啶基、及 $-CH_2$ -四氢呋喃基。

在具体方面中, R^{17} 选自羟基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-C(O)NR^aR^b$ 、 $-C(O)$ -吗啉基、吡啶基、嘧啶基、吗啉基、及四氢呋喃基。

在具体方面中, R^{18} 为 $-C(O)OCH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、或 $-C(O)CH_3$; 或 R^{18} 为 $-C(O)OCH_3$ 。

在具体方面中, R^a 、 R^b 、及 R^c 皆独立为氢、甲基、或乙基; 或 R^a 、 R^b 及 R^c 皆独立为氢或甲基。

在具体方面中, a 为 0。在另一具体方面中, a 为 1。

在具体方面中, n 为整数 1、2、3、或 4 (包括 1、2 或 3), 例如 2 或 3。在另一具体方面中, n 为 2。

在本发明具体方面中, W 是选自:

(a) Y , 其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、及 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$; 及

(b) 式(b)部分, 其中 X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^8)C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-N(R^8)S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-OR^{15}$ 、及氰基。

在又一具体方面中, W 是 Y 。

在具体方面中, W 选自 Y , 其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)OR^{12}$ 、及 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$; 或 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、及 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$ 。在其他具体方面中, W 选自 Y , 其中 Y 是 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$; Y 是 $-N(R^{8a})C(O)R^9$; 或 Y 是 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 。

就本发明另一方面而言, W 选自 Y , 其中 Y 是如本文所定义; R^{8a} 为氢或甲基; R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基、或甲基; R^{10} 及 R^{12} 皆为甲基或乙基; 及 R^{13} 及 R^{14} 皆独立为氢或甲基。

或者, W 是式(b)部分。在具体方面中, W 是式(b)部分, 其中(i) X 为氰基; 或(ii) a 为 0, n 为 2, R^6 及 R^7 为氢, R^5 与 R^8 一起形成 C_2 亚烷基, 及 X 是选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、及 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 。

在另一具体方面中, W 是式(b)部分, 其中 a 为 0, n 为 2, R^6 与 R^7 皆为氢, 及 R^5 与 R^8 一起形成 C_2 亚烷基。在此而言, 代表性 X 值包括 (但不限于) $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、及 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 。

在本发明又一方面中, W 是式(b)部分; a 为 0 或 1; n 为 1、2 或 3; R^5 为氢或甲基; 或 R^5 与 R^8 一起形成 C_{2-5} 亚烷基; 或 R^3 与 R^5 一起为 $-OCH_2CH_2-$; R^6 及 R^7 各自皆为氢; 或 R^5 与 R^6 一起形成 C_{2-5} 亚烷基; 及 X 如本文所定义。

在再一具体方面中, W 选自 $-NHC(O)H$ 、 $-N(CH_3)C(O)H$ 、 $-NHC(O)CH_3$ 、 $-N(CH_3)C(O)CH_3$ 、 $-N(CH_3)S(O)_2CH_3$ 、 $-N(CH_3)C(O)NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)CH_2CH_2CN$ 、1-甲烷磺酰基哌嗪-4-基、1-二甲基氨基羰基-哌嗪-4-基、1-(四氢呋喃-2-基)羰基哌嗪-4-基、3-(甲氧基羰基-氨基)吡咯烷-1-基、及 2-(甲氧基亚甲基)吡咯烷-1-基。

在具体方面中, W 是式(b)部分, 其中 X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、

$-\text{S}(\text{R}^{11})\text{O}_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{OR}^{12}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{12}$ 、 $-\text{OR}^{15}$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^{16}$ 、氰基、 $-\text{SR}^{15}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、吡啶基、吡咯基、1,1-二氧化异噻唑烷基、咪唑基、及吡咯烷基，其中吡咯烷基视情况经氧代基取代。

在另一具体方面中，W 是式(b)部分，其中 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 、 $-\text{S}(\text{R}^{11})\text{O}_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{OR}^{12}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{SO}_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{12}$ 、 $-\text{OR}^{15}$ 、及氰基。

在其他具体方面中，W 是式(b)部分，其中 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 、 $-\text{S}(\text{R}^{11})\text{O}_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{OR}^{15}$ 、及氰基；或 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、及氰基。

在另一具体方面中，W 是式(b)部分，其中 X 选自 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{R}^9$ 、 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 、及 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{C}(\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ ；或 X 是 $-\text{N}(\text{R}^8)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{10}$ 。

在本发明一个方面中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、及 a 皆如本文所定义；

W 选自 Y 及式(b)部分，及

R^5 为氢、 C_{1-3} 烷基、或在末端位置处经羟基取代的 C_{1-3} 烷基；

R^6 与 R^7 每次出现时独立为氢、羟基、卤素或氰基；

R^8 及 R^{8a} 为氢或 C_{1-3} 烷基；

或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起为 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ ；

或 R^5 与 R^6 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

或 R^5 与 R^8 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基、或 C_{1-3} 烷基；

R^{10} 为 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基视情况经 $-\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基、或经 1-3 个卤素取代；

R^{11} 为 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代；

或 R^5 与 R^{11} 或 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

R^{12} 为 C_{1-3} 烷基；

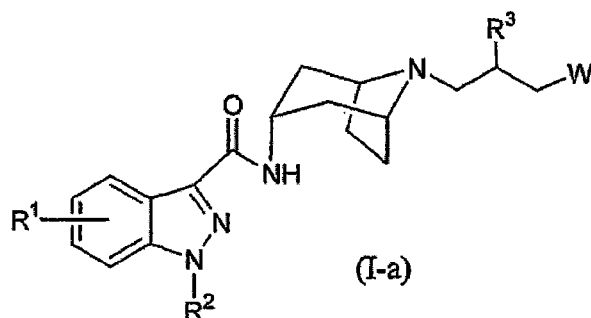
R^{13} 、 R^{14} 、及 R^{15} 皆独立为氢或 C_{1-3} 烷基；

R^{16} 为 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})$ -吗啉基、 $-\text{CH}_2$ -吡啶基、 $-\text{CH}_2$ -嘧啶基、或 $-\text{CH}_2$ -四氢呋喃；

R^{18} 为 $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、或 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ；及

n 为整数 1、2、或 3。

另一方面，本发明提供一种式(I)化合物，其为下式(I-a)的化合物：



其中

R^1 为氢、卤素或 C_{1-4} 烷基；

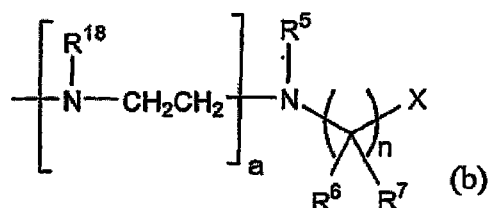
R^2 为异丙基或 C_{4-5} 环烷基；

R^3 为羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或 $OC(O)NR^aR^b$ ；

W 是选自：

(a) Y，其中 Y 选自 $-N(R^{8a})C(O)R^9$ 、 $-N(R^{8a})S(O)_2R^{10}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^{8a})C(O)NR^{13}R^{14}$ 、及 $-N(R^{8a})S(O)_2NR^{13}R^{14}$ ；及

(b) 式(b)部分：



其中

X 选自 $-N(R^8)C(O)R^9$ 、 $-N(R^8)S(O)_2R^{10}$ 、 $-S(R^{11})O_2$ 、 $-N(R^8)C(O)OR^{12}$ 、 $-N(R^8)C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-N(R^8)S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-OC(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-OR^{15}$ 、 $-NR^8R^{16}$ 、氰基、 $-SR^{15}$ 、 CF_3 、吡啶基、吡咯基、1,1-二氧化异噻唑烷基、咪唑基、及吡咯烷基，其中吡咯烷基视情况经氧代基取代；

R^5 为氢、 C_{1-3} 烷基、或在末端位置处经羟基取代的 C_{1-3} 烷基；

R^6 与 R^7 每次出现时独立为氢、羟基、卤素或氰基；

R^8 及 R^{8a} 为氢或 C_{1-3} 烷基；

或 R^5 与 R^8 或 R^5 与 R^6 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

或 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起为 $-OCH_2CH_2-$ ；

R^9 为氢、四氢呋喃基、吡啶基、或甲基；

R^{10} 为 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基视情况经 $-S(O)_2C_{1-3}$ 烷基、或经 1-3 个卤素取代；

R^{11} 为 $-NR^aR^b$ 、或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基视情况经 1-3 个卤素取代；

或 R^5 与 R^{11} 或 R^6 与 R^{11} 一起形成 C_{2-5} 亚烷基；

R^{12} 为 C_{1-3} 烷基；

R^{13} 、 R^{14} 及 R^{15} 皆独立为氢或 C_{1-3} 烷基；

R^{16} 为 $-CH_2-C(O)NR^aR^b$ 、 $-CH_2-C(O)-$ 吗啉基、 $-CH_2-$ 吡啶基、 $-CH_2-$ 噻啶基、或 $-CH_2-$

四氢呋喃基；

R^{18} 为 $-C(O)OCH_3$ 、 $-S(O)_2CH_3$ 、或 $-C(O)CH_3$ ；

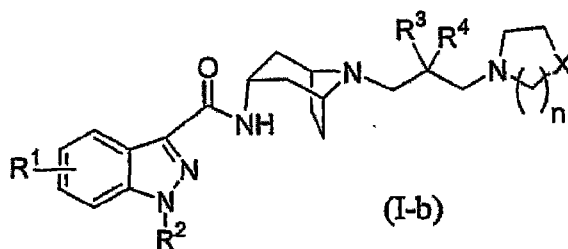
R^a 及 R^b 独立为氢或 C_{1-3} 烷基；

a 为 0 或 1；及

n 是整数 1、2、或 3；条件是当 n 为 1 时， X 为 $-SR^{15}$ ，或 X 与具有取代基 R^6 及 R^7 的碳原子形成碳-碳键；

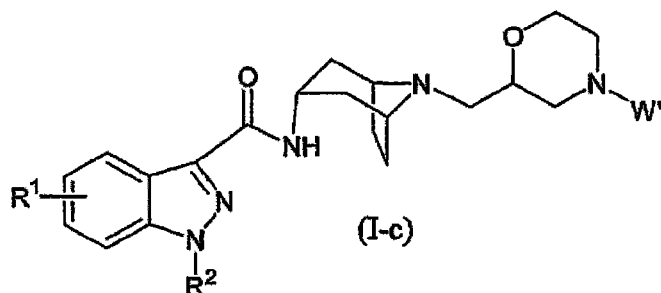
或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体。

本发明进一步提供式(I-b)化合物：



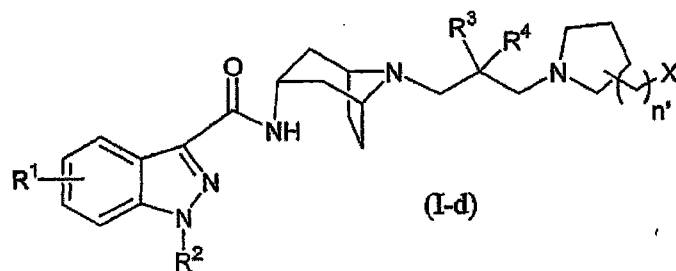
其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 n 及 X 取任一本文所定义的值。

本发明进一步提供式(I-c)化合物：



其中 W' 选自 $-C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^{10}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 、及 $-(CR^6R^7)_n-X$ ；及 R^1 、 R^2 、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、及 R^{14} 取任一本文所定义的值。

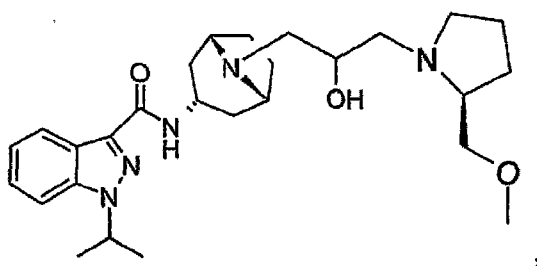
本发明进一步提供式(I-d)化合物：



其中 n' 是整数 0、1、或 2，及 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、及 X 取任一本文所定义的值。

在又一方面中，本发明提供本文表 I 至 X 中所列举的化合物。

阐述用于实例 1 化合物的本文所用化学命名约定：



其根据 AutoNom 软件（由 MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Germany) 提供）被命名为 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-((S)-2-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺。命名(1S,3R,5R)阐述与二环环系统相连绘示成实及虚楔形的键的相对定向。或者，将所述化合物命名为 N-[(3-内桥)-8-(3-((S)-2-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)-2-羟丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]-1-(1-甲基乙基)-1H-吡唑-3-甲酰胺。

尤其应提及下列化合物：

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-((S)-2-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[3-[(2-氰基-乙基)甲基氨基]-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-[4-(四氢呋喃-2-羰基)哌嗪-1-基]丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-氨基甲酰基甲基吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[3-(4-二甲基氨基甲酰基哌嗪-1-基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

[1-(2-羟基-3-[(1S,3R,5R)-3-[(1-异丙基-1H-吡唑-3-羰基)-氨基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-8-基]丙基)吡咯烷-3-基]氨基甲酸甲酯；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[(S)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺；

1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲磺酰基甲基氨基)丙基]-8-

氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(乙酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(甲酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(1,3-二甲基脲基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[(吡啶-4-羰基)氨基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺;

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(3-甲酰基氨基-2-羟丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]-酰胺; 及

1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(甲磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺。

如上文所述,本发明化合物可包含一或多个手性中心。因此,除非另有说明,否则本发明包括外消旋混合物、纯立体异构体、及所述异构体富立体异构体混合物。当展示一特定立体异构体时,熟悉该项技术者应了解,除非另有说明,否则本发明组合物中存在少量的其他立体异构体,条件是所述组合物的效应总体上不会因所述其他异构体的存在而被削弱。

定义

当阐述本发明化合物、组合物及方法时,除非另有说明,否则以下术语具有以下意义。

术语“烷基”是指可为直链或具支链或其组合的单价饱和烃基团。除非另有定义,否则所述烷基通常包含 1-10 个碳原子。代表性烷基包括(例如)甲基、乙基、正-丙基(n-Pr)、异丙基(i-Pr)、正-丁基(n-Bu)、仲丁基、异丁基、叔丁基、正-戊基、正-己基、正-庚基、正-辛基、正-壬基、正-癸基及诸如此类。

术语“亚烷基(alkylenyl)”或“亚烷基(alkylene)”是指可为直链或具支链或其组合的二价饱和烃基团。代表性“亚烷基”基团包括(例如)亚甲基、亚乙基、亚正-丙基、亚异丙基、亚正-丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、及诸如此类。

术语“烷氧基”是指单价基团-O-烷基,其中烷基如上文所定义。代表性烷氧基包括(例如)甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基及诸如此类。

术语“化合物”是指以合成方式制备或以任何其他方式(例如通过新陈代谢)制备的化合物。

术语“环烷基”是指可为单环或多环的单价饱和碳环基团。除非另有定义,否则所述环烷基基团通常包含 3-10 个碳原子。代表性环烷基基团包括(例如)环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基及诸如此类。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

术语“治疗有效量”是指当投与需要治疗的患者时足以达到所述治疗的量。

本文所用术语“治疗”是指治疗患者（例如哺乳动物（尤其人类））中的疾病、病症或医疗状况，其包括：

- (a) 防止出现所述疾病、病症或医疗状况，即，患者的预防性治疗；
- (b) 改善所述疾病、病症或医疗状况，即，消除患者中所述疾病、病症或医疗状况或使其消退；
- (c) 抑制所述疾病、病症或医疗状况，即，减缓或阻止患者中所述疾病、病症或医疗状况的发展；或
- (d) 缓解患者中所述疾病、病症或医疗状况的症状。

术语“医药上可接受的盐”是指由容许投与患者（例如哺乳动物）的酸或碱所形成的盐。所述盐可衍生自医药上可接受的无机或有机酸且可衍生自医药上可接受的碱。通常，本发明化合物医药上可接受的盐是自酸制得。

衍生自医药上可接受的酸的盐包括（但不限于）乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙烷磺酸、富马酸、葡萄糖酸、谷氨酸、氢溴酸、氢氯酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲烷磺酸、粘酸、硝酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸、羧萘甲酸（xinafoic acid）（1-羟基-2-萘甲酸）、亚萘基-1,5-二磺酸及诸如此类。

术语“溶剂化物”是指由一或多个溶质分子（即本发明化合物或其医药上可接受的盐）与一或多个溶剂分子形成的络合物或聚集体。所述溶剂化物通常为具有实质上固定溶质与溶剂摩尔比的结晶固体。

代表性溶剂包括（例如）水、甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸及诸如此类。当所述溶剂为水时，所形成的溶剂化物为水合物。

应了解，术语“或其医药上可接受的盐或溶剂化物或立体异构体”意欲包括盐、溶剂化物及立体异构体的所有变换形式，例如式(I)化合物立体异构体的医药上可接受盐的溶剂化物。

术语“氨基保护基团”是指适用于防止氨基氮处不期望反应的保护基团。代表性氨基保护基团包括（但不限于）甲酰基；酰基，例如烷酰基，例如乙酰基；烷氧基羰基，例如叔丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧基羰基，例如苄氧基羰基(Cbz)和 9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)；芳基甲基，例如苄基(Bn)、三苯甲基(Tr)及 1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；甲硅烷基，例如三甲基甲硅烷基(TMS)及叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)；及诸如此类。

一般合成程序

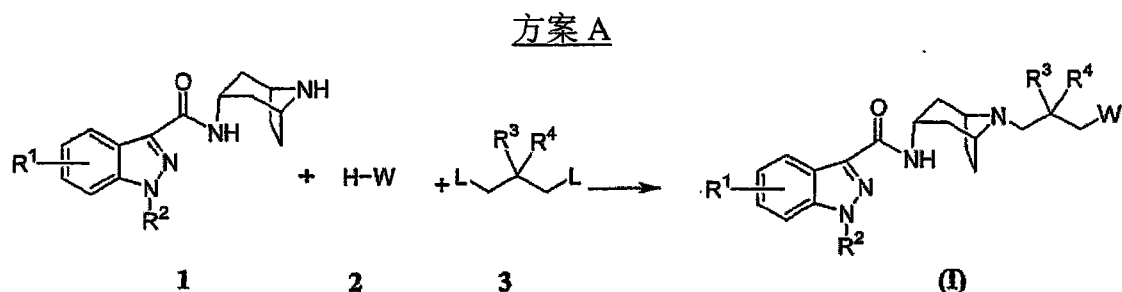
本发明化合物可使用一般方法和程序自易于购得的起始材料来制备。尽管以下方案中将阐述本发明的特定方面，但熟悉该项技术者应了解，本发明的所有方面皆可使用本文所述的方法或通过使用其他熟悉该项技术者所习知的方法、反应物及起始材料来制备。还应了解，其中给出典型或较佳工艺条件（即，反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂，压力等），但除非另有说明，否则也可使用其他工艺条件。最佳反应条

件可随所用特定反应物或溶剂变化,但所述条件可由熟悉该项技术者通过例行最优化程序来确定。

此外,如熟悉该项技术者所了解,可能需要常用保护基团来防止某些官能团发生不期望反应。用于特定官能团的适宜保护基团以及用于保护及去保护的适宜条件的选择已为该项技术习知。例如, T. W. Greene 及 G. M. Wuts 的 *Protecting Groups in Organic Synthesis* (第三版, Wiley, New York, 1999) 及本文所列举的参考文献中阐述若干保护基团及其引入和去除。

除非另有说明,否则以下方案中所阐述的取代基和变量皆具有以上所提供的定义。

在一种合成方法中,式(I) (其中 R^3 定义成羟基或经羟基取代的 C_{1-4} 烷基) 的化合物是如方案 A 中所示制备:



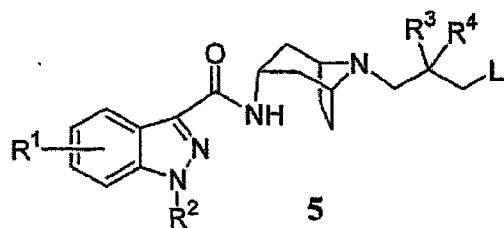
通过使中间体 1 与中间体 2 及中间体 3 (其中 L 为离去基团,例如氯、溴、碘、甲烷磺酰氧基、对-甲苯磺酰氧基或三氟甲烷-磺酰氧基) 反应来获得式(I)化合物。

所述反应通常通过在惰性稀释剂(例如甲醇或乙醇)中在过量碱(例如介于约 3 与约 6 当量之间的碱,例如 N,N-二异丙基乙基胺)的存在下使中间体 1 接触各自介于约 1 与约 3 当量间的中间体 2 和 3 来实施。所述反应通常在介于约 50°C 至约 80°C 之间的温度下实施约 12 小时至约 24 小时,或直至所述反应实质上完成为止。视情况,可分批添加等摩尔当量的中间体 2 和 3。

通过常用程序分离并纯化式(I)产物。例如,所述产物可在降低压力下浓缩以干燥,吸收于弱酸水溶液中并通过 HPLC 色谱纯化。

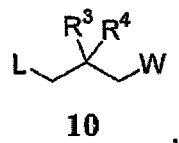
应了解,在方案 A 的过程中及在下文所述使用中间体 1 的其他过程中,中间体 1 可以游离碱或盐形式提供,同时如熟悉该项技术者所习知适当调整反应条件(若需要)。

在方案 A 中,中间体 1 与中间体 2 和 3 的反应是在单步中完成。或者,所述反应可以逐步方式实施。使用类似于上文所阐述的那些反应条件,可首先使中间体 1 和 3 偶合以形成中间体 5:



其然后与中间体 2 反应以提供式(I)化合物。

或者,可首先使中间体 2 偶合至中间体 3 形成中间体 10:



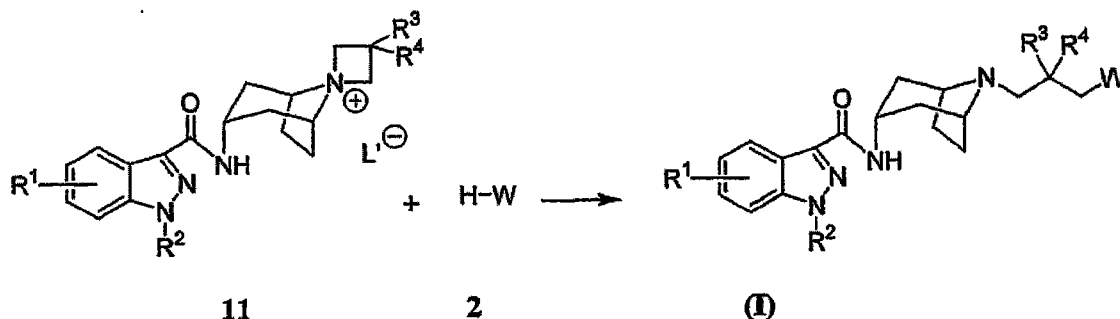
其随后与吡唑-甲酰胺-托烷中间体 1 反应,以获得式(I)化合物。

式(I)化合物也可通过 N-烷基化可根据方案 A 制得的式(I)其中 R^2 定义成氢的化合物形式来制备。所述 N-烷基化反应通常通过使式(I) (其中 R^2 为氢) 的化合物接触介于约 1 与约 4 当量之间的式 $\text{L}'\text{-R}^2$ (其中 L' 为离去基团,例如碘或溴) 的化合物来实施。此反应通常在极性非质子溶剂(例如二甲基甲酰胺)中在介于约 2 与约 4 当量强碱(例如叔丁醇钾或氢化钠)的存在下实施。通常,所述反应是在介于约 60°C 与约 100°C 之间的温度下实施约 6 与约 24 小时之间,或直至所述反应实质上完成为止。

在另一替代方案中,式(I) (其中 R^1 不为氢) 的化合物是通过常用过程(例如芳族卤化)自式(I) (R^1 为氢) 化合物来制备。

在另一合成方法中,式(I) (其中 R^3 为羟基、 C_{1-3} 烷氧基或 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 及具有取代基 R^3 的碳原子不为手性) 的化合物可通过使氮杂环丁烷中间体 11 (如方案 B 中所绘示):

方案 B

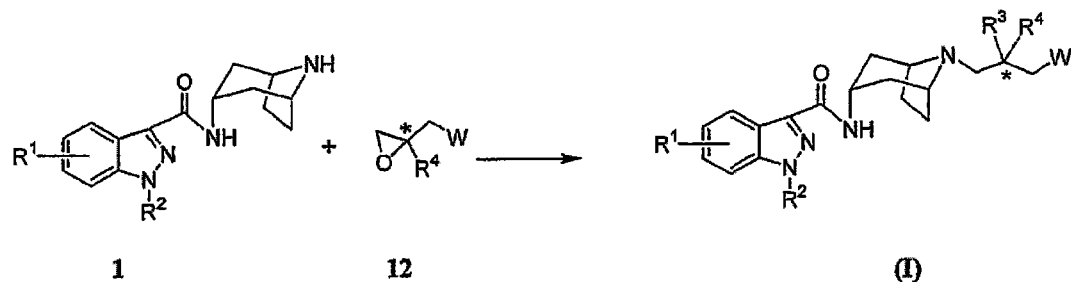


(其中 L' 为抗衡离子,例如卤化物(例如, Cl^- 、 Br^-) 或三氟乙酸盐) 与中间体 2 (即 H-W) 反应以提供式(I)化合物。

所述反应通常通过在惰性稀释剂(例如乙醇、甲醇或二甲基甲酰胺)中在过量碱(例如介于约 2 与约 4 当量的碱,例如 N,N-二异丙基乙基胺、1,8-二氮杂环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)或三乙胺)的存在下使中间体 11 接触介于约 1 与约 4 当量之间的中间体 2 来实施。所述反应通常是在介于约 50°C 至约 80°C 之间的温度下实施约 1 小时至约 16 小时,或直至所述反应实质上完成为止。所述产物是通过常用方法分离及纯化。

在又一合成方法中,式(I) (其中 R^3 为羟基) 的化合物可如方案 C 中所绘示制备,其中星号表示手性中心,其是通过使中间体 1 与中间体 12 反应来获得式(I)化合物。

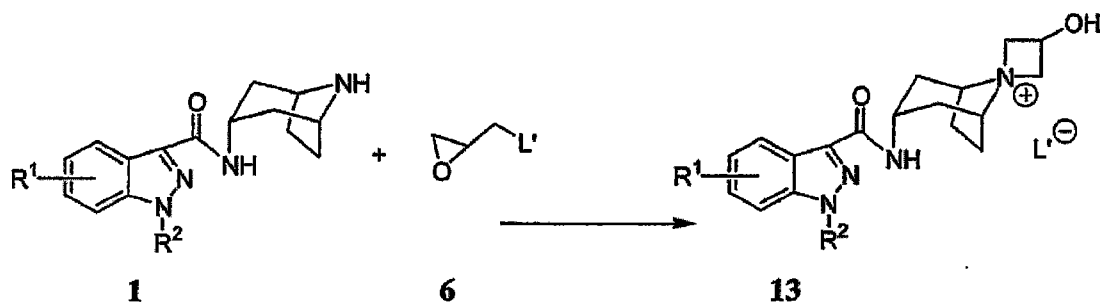
方案 C



当使用式 12 中间体的单一对映异构体时, 方案 C 的反应用于制备式(I)化合物在具有取代基 R^4 的碳处具有手性中心的单一对映异构体。通常, 在方案 C 的反应中, 中间体 1 是在惰性稀释剂(例如乙醇或甲苯)中接触介于约 1 与约 1.2 当量之间的环氧化物 12。所述反应通常是在介于约 50℃至约 100℃之间的温度下实施约 12 小时至约 24 小时, 或直至所述反应实质上完成为止。所述产物是通过常用方法分离及纯化。

以上方案 A、B 及 C 中所用中间体皆自易于购得的起始材料制得。例如, 当 R^3 为羟基时, 式 13 的氮杂环丁烷中间体可通过方案 D 中所绘示的程序制备。

方案 D



中间体 1 与中间体 6 环氧乙烷化合物(其中 L' 代表卤素离去基团, 例如溴、氯或碘)(例如, L' 为溴, 且所述环氧乙烷化合物为 2-溴甲基环氧乙烷, 通常称为环氧溴丙烷)反应形成中间体 13, 即氮杂环丁烷盐。此反应通常通过在极性稀释剂(例如乙醇)中使 1 接触介于约 2 与约 4 当量之间的环氧乙烷化合物来实施。所述反应通常在周围温度下实施介于约 24 与约 48 小时之间或直至所述反应实质上完成为止。

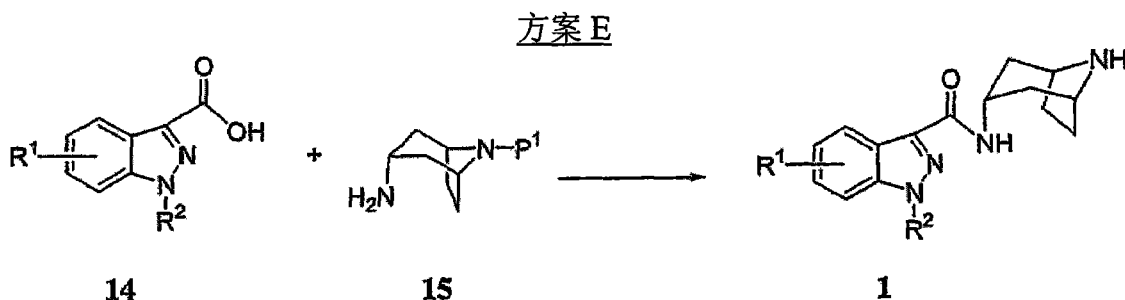
为形成氮杂环丁烷中间体 11(其中 R^3 为 C_{1-3} 烷氧基), 使上述中间体 13 在惰性稀释剂中在介于约 1 与约 3 当量强碱(例如叔丁醇钾或氢化钠)的存在下接触自稍小于 1 当量至约 1 当量的 C_{1-3} 烷基卤化物。所述反应通常在周围温度下实施介于约 1 刻钟至 1 小时之间, 或直至所述反应实质上完成为止。适宜惰性稀释剂包括四氢呋喃、甲苯、二甲基甲酰胺、及诸如此类。

中间体 11(其中 R^3 为形式-OC(O)NR^aR^b 的氨基甲酸部分)可自式 13(其中 R^3 为羟基)的中间体来制备。例如, 为制备式 11 其中 R^3 为-OC(O)N(H)CH₃ 或-OC(O)N(CH₃)₂ 的化合物, 使中间体 13 在惰性稀释剂中在介于约 1 与约 3 当量之间的碱(例如 N,N-二异丙基乙基胺)和催化量的强碱(例如叔丁醇钾或氢化钠)的存在下分别接触介于约 1 与约 3 当量之间的甲基异氰酸酯或二甲基氨基甲酰氯。所述反应通

常在周围温度下实施介于约4小时与约24小时之间,或直至所述反应实质上完成为止。

或者,式(I)其中 R^3 为形式 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 的氨基甲酸部分的化合物可自式(I)其中 R^3 为羟基的化合物制得。例如,为制备式(I)其中 R^3 为 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_3$ 或 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 的化合物,使式(I)其中 R^3 为羟基的化合物在类似于上述条件下分别接触介于约1与约3当量之间的甲基异氰酸酯或二甲基氨基甲酰氯,以制备式(I)其中 R^3 为 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 的化合物。

一种制备式1中间体的方法展示于方案E中。



中间体1可通过使中间体14与中间体15(其中 P^1 代表氨基保护基团)反应来获得中间体1。

通常,此反应是首先通过使14在芳族稀释剂(例如甲苯、苯、二甲苯、或诸如此类)中接触至少1当量、较佳介于约1与约2当量之间的活化剂(例如亚硫酸二氯或草酰氯)来将14转化成酰基氯来实施。所述反应通常在介于约80°C至约120°C之间的温度下实施约15分钟至约4小时,或直至所述反应实质上完成为止。

通常将所述酰基氯溶液添加于约1当量氨基托烷15的两相混合物中以形成经保护中间体,所述中间体可通过标准程序萃取。15的两相混合物通常通过将15溶于芳族稀释剂(例如甲苯、苯、二甲苯、或诸如此类)中、并添加包含过量碱(例如氢氧化钠或氢氧化钾)、较佳约2至5当量碱的水溶液来制备。所述反应通常在介于约80°C至约120°C之间的温度下实施约15分钟至约4小时,或直至所述反应实质上完成为止。

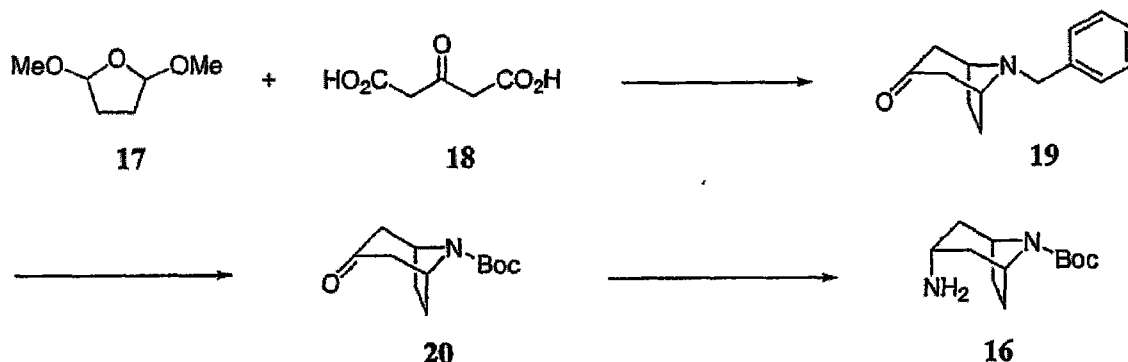
或者,中间体15与羧酸14的酰胺偶合可在偶合剂(例如1,3-二环己基碳化二亚胺(DCC)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺(EDC)、或六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三吡咯烷基磷(PyBop))的存在下、视情况结合1-羟基-7-氮杂本并三唑(HOAt)实施。在又一替代方案中,中间体15与羧酸14的酰胺偶合可通过将14转化成活化的酯来实施。

保护基团 P^1 使通过标准程序去除以提供中间体1。例如,当所述保护基团为Boc,通常通过用酸(例如三氟乙酸)处理、提供所述中间体的酸式盐来去除。中间体1的酸式盐可通过用碱常用处理转化成游离碱。另一实例,保护基团Cbz是方便地通过在适宜金属催化剂(例如碳载钯)上氢解来去除。

用于此应用中所述反应中的经保护氨基托烷15是自易于购得的起始材料制备。例如,当保护基团 P^1 为Boc时,经保护氨基托烷16可通过方案F中所阐述的程序制

备。

方案 F



例如,所述经保护氨基托烷中间体 16 可通过使 2,5-二甲氧基四氢呋喃 17 与 1,3-丙酮二甲酸 18 反应来提供 8-苄基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-酮 19,其通常称为 N-苄基托品酮。N-苄基托品酮然后与稍过量二碳酸二-叔丁酯在过渡金属催化剂的存在下反应提供经保护 Boc 中间体 20,其经还原来提供经保护氨基托烷中间体 16。

首先,使 2,5-二甲氧基四氢呋喃 17 在酸性水溶液中在缓冲剂(例如磷酸氢钠)的存在下接触介于约 1 与 2 当量之间、较佳约 1.5 当量的苄基胺及稍过量(例如约 1.1 当量)的 1,3-丙酮二甲酸 18。将反应混合物加热至介于约 60°C 与约 100°C 之间以确保产物(即 8-苄基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-酮 19,通常称为 N-苄基托品酮)中的任何羧化中间体脱羧。

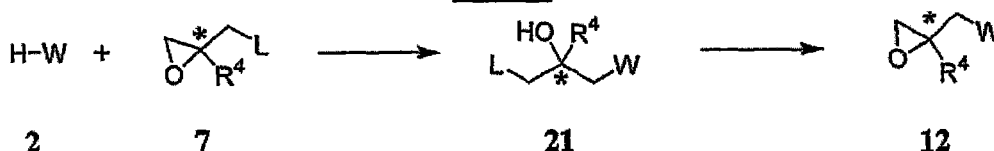
中间体 19 通常与稍过量的二碳酸二叔丁酯(例如,约 1.1 当量)在氢气氛下在过渡金属催化剂的存在下反应以提供 Boc 经保护的中间体 20,即 3-氧代-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯。所述反应通常在周围温度下实施约 12-约 72 小时。

最后,使中间体 20 在惰性稀释剂(例如甲醇)中在过渡金属催化剂的存在下接触大量过量(例如大于 25 当量)甲酸铵以提供为内桥构型的中间体 16。产物 16 可通过常用程序(例如碱性萃取)来纯化。

1H-吡啶甲酸即中间体 14 可通过类似于那些文献 Harada 等人的 *Chem. And Pharm Bull* (1995,43, 1912-30) 中所报告及以下实例中所阐述的程序容易的制备。

用于方案 C 的环氧乙烷中间体 12 可如方案 G 中所示制备:

方案 G

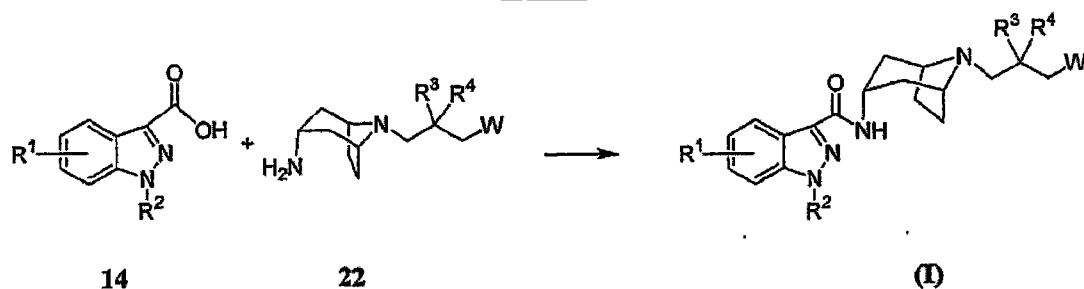


其中中间体 2 与中间体 7 一种经取代环氧乙烷(其中 L 为卤素离去基团)反应以提供中间体 21,然后使中间体 21 重新环化以提供中间体 12。此反应通常通过使所述胺中间体 2 在极性稀释剂(例如乙醇)中接触介于约 1 与约 2 当量之间的中间体 7 来实施。所述反应通常在周围温度下实施介于约 12 与约 24 小时之间,或直至所述反应

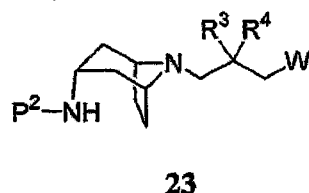
实质上完成为止。线性中间体 **21** 通常通过常用程序作为固体分离。通常将所述固体 **21** 在摩尔过量碱（例如氢氧化钠）的存在下溶于惰性稀释剂（例如四氢呋喃）中以提供环化中间体 **12**。

在又一替代合成方法中，式(I)化合物可通过使经取代 1H-吡唑甲酸 **14** 与式 **22** 的中间体偶合来制备，如方案 H 中所绘示。

方案 H

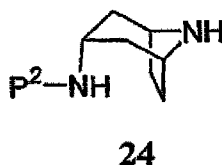


所述羧酸 **14** 与中间体 **22** 的反应通常在上述用于方案 E 的酰胺偶合条件下实施。式 **22** 中间体可通过式 **23** 中间体的去保护来制备：



其中 P^2 代表氨基保护基团。

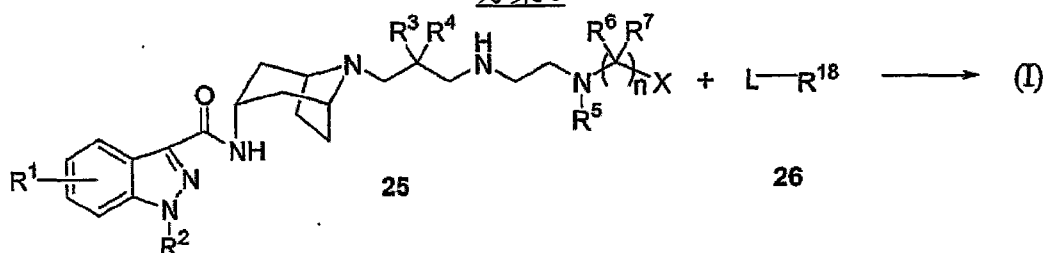
式 **23** 中间体可使用类似于上文所述反应的程序及/或使用熟悉该项技术者习知的替代反应自易于获得的起始材料来制备。例如，中间体 **23** 可使用中间体 **24** 来制备：



中间体 **24** 可通过用氨基保护基团 P^2 保护氨基偶氮二环辛烷 **15** 的氨基氮并然后自所述氮杂二环辛烷基团的氮去除 P^1 来形成。保护基团 P^1 及 P^2 皆经选择以便其是在不同条件下去除。例如，当 P^1 选择为 Boc 时，则 Cbz 可作为 P^2 。在方案 A 和 C 中所阐述的反应中用经保护氨基托烷 **24** 代替中间体 **1** 来提供式 **23** 中间体。

在又一替代合成方法中，式(I)其中 W 是式(b)部分及 a 为 1 的化合物可如以下在方案 J 中所示制备：

方案 J



其中中间体 25 与中间体 26 (其中 L 为离去基团, 例如卤素 (例如, 氯) 或乙氧基, 或 $L-R^{18}$ 为羧酸, 即, L 代表羟基) 反应获得式(I)化合物。

实例性中间体 26 反应物包括甲烷磺酰氯及乙酰氯、及诸如此类。用于方案 J 反应的最佳反应条件可随反应物的化学性质而变, 如熟悉该项技术者所习知的。例如, 当 L 为卤素离去基团 (例如氯) 时, 所述反应通常通过使中间体 25 在惰性稀释剂 (例如二氯甲烷) 中在过量碱 (例如介于约 3 与约 6 当量的碱, 例如 N,N-二异丙基乙基胺或 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)) 的存在下接触介于约 1 与约 4 当量之间的中间体 26 来实施。适宜惰性稀释剂还包括 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、三氯甲烷、1,1,2,2-四氯乙烷、四氢呋喃、及诸如此类。所述反应通常在介于约-100°C 至约 30°C 的温度下实施约 1 刻钟至约 2 小时, 或直至所述反应实质上完成为止。

当中间体 26 为羧酸时, 方案 J 代表酰胺偶合反应, 其通常通过使中间体 25 在惰性稀释剂 (例如, N,N-二甲基甲酰胺) 中在偶合剂 (例如六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三吡咯烷基磷(PyBOP)) 的存在下接触介于约 1 与约 4 当量之间的羧酸来实施。所述反应通常在周围温度下实施约 1 刻钟至约 2 小时, 或直至所述反应实质上完成为止。适宜替代偶合剂包括 1,3-二环己基碳化二亚胺(DCC)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺(EDC)、及 PyBOP 与 1-羟基-7-氮杂苯并三唑(HOAt)结合。

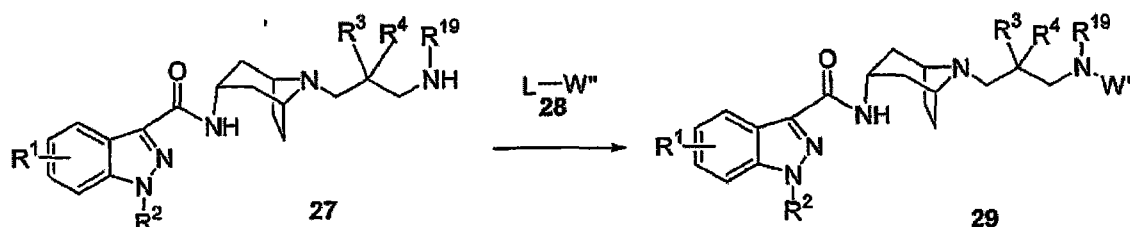
或者, 中间体 25 与羧酸的酰胺偶合可通过将所述羧酸转化成活化酯 (例如 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯或对-硝基苯基酯) 或酸性咪唑、其然后与中间体 25 反应获得式(I)化合物来实施。

当中间体 26 为液体 (例如甲酸乙酯) 时, 所述反应可通过将中间体 25 溶于大量过量中间体 26 中、并然后在介于约 50°C 与约 100°C 之间的温度加热约 12-约 24 小时以提供式(I)化合物来实施。然后产物 (即式(I)化合物) 可通过常用程序分离并纯化。

中间体 25 可使用本文所述的方案 A、B、C 和 H 或使用熟悉该项技术者习知的替代反应自易于购得的起始材料来制备。

在另一替代合成中, 式(I)化合物 (其中当 a 为 0 时, R^5 为氢或视情况经取代的 C_{1-4} 烷基, 或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$) 可如以下方案 K 中所示制备:

方案 K



其中中间体 27 (其中 R^{19} 为 R^5 、 R^{8a} 或 R^{18}) 与中间体 28 (其中 L 为离去基团, 例如卤素, 及 W'' 是与中间体 27 的末端氮原子一起将提供 W 的残基) 反应以提供式(I)化合物。当 R^{19} 为 R^{8a} 时, W'' 为 $-C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^{10}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、或 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 。当 R^{19} 为 R^{18} 时, W'' 为 $-(CH_2)_2-N(R^5)(CR^6R^7)_n-X$ 。当 a 为 0 时, R^{19} 为

R^5 , W'' 为 $-(CR^6R^7)_n-X$, 及 R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基, 其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或氰基取代, 或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ 。

所述反应通常是通过使中间体 27 在惰性稀释剂(例如二氯甲烷或诸如此类)中在碱(例如 N,N -二异丙基乙基胺或诸如此类)的存在下接触介于约 1 与约 3 当量之间的中间体 28 来实施。所述反应通常在介于约 0°C 至约 100°C 的温度下实施约 6 小时至约 24 小时, 或直至所述反应实质上完成为止。将产物通过常用程序分离并纯化以提供式(I)化合物。

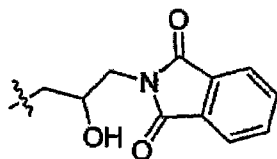
式 27 中间体可通过氮杂环丁烷中间体 11 与胺 30 反应



30

(其中 R^{19} 为 R^5 、 R^{8a} 或 R^{18}) 以提供中间体 27 来制备。例如, 中间体 30 可为甲胺、或诸如此类。

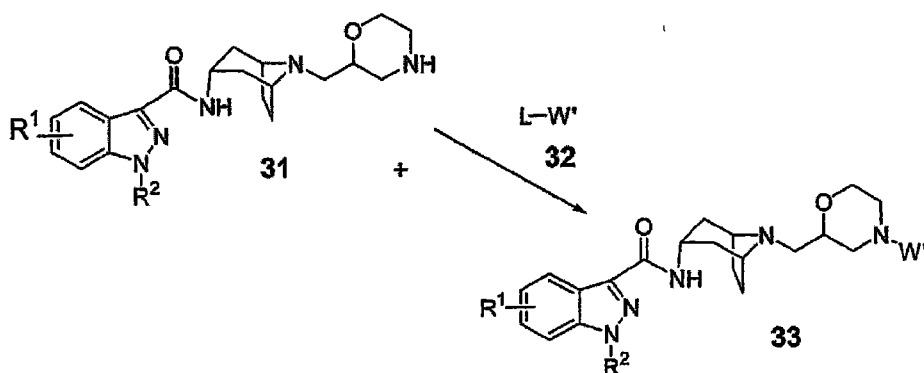
或者, 式 27 (其中 R^3 为 $-OH$) 的中间体可通过中间体 1 与具有经保护氮原子的环氧乙烷基甲基化合物反应并然后去保护来制备。一种有用的反应物是 2-环氧乙烷基甲基-异吲哚-1,3-二酮(通常称为环氧基丙基邻苯二甲酰亚胺), 其与中间体 1 反应以形成一个其中经邻苯二甲酰亚胺基取代的 2-羟丙基:



连接至 1 的氮杂二环辛烷环氮的中间体。然后通过在内中回流去除所述邻苯二甲酰亚胺基以形成其中 R^3 为 $-OH$ 及 R^4 与 R^{19} 皆为氢的中间体 27。

此外, 对于上述方案 K 中的合成, 式(I)其中 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ 、及 W 选自 Y 或式(b)部分(其中 a 为 0)的化合物可如以下方案 L 中所示制备:

方案 L

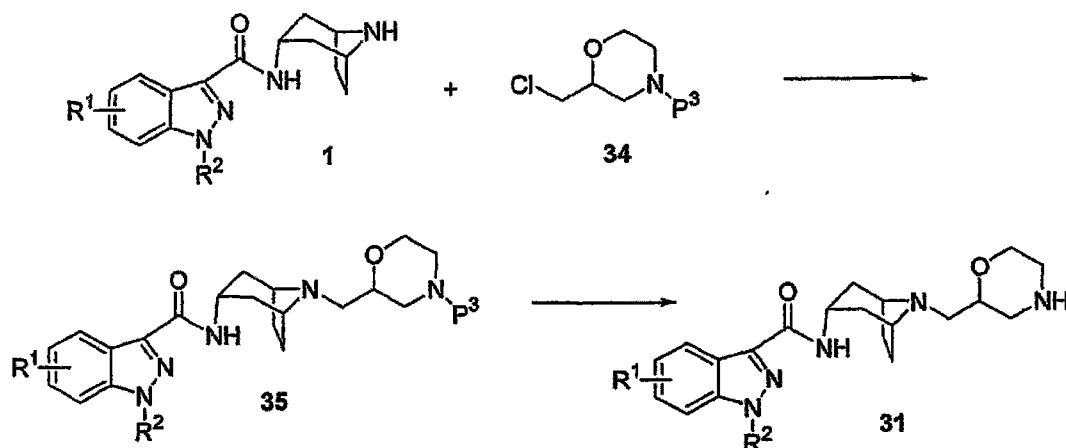


其中中间体 31 与中间体 32(其中 L 为离去基团, 例如卤素, 及 W' 选自 $-C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^{10}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$ 及 $-(CR^6R^7)_n-X$, 以便 W' 代表与中间体 31 吗啉环的氮原子一起将提供本文所定义 W 的残基)反应以提供式(I)化合物。

所述反应通常是通过使中间体 31 在惰性稀释剂（例如甲醇或乙醇）中在碱（例如 N,N-二异丙基乙基胺）的存在下接触介于约 1 与约 3 当量之间的中间体 32 来实施。所述反应通常在介于约 60°C 至约 95°C 之间的温度下实施约 6 小时至约 24 小时，或直至所述反应实质上完成为止。式(1)的产物是通过常用程序进行分离及纯化。例如，所述产物可在降低压力下浓缩以干燥、吸收于弱酸水溶液中并通过 HPLC 色谱纯化。

一种制备式 31 中间体的方法展示于以下方案 M 中：

方案 M



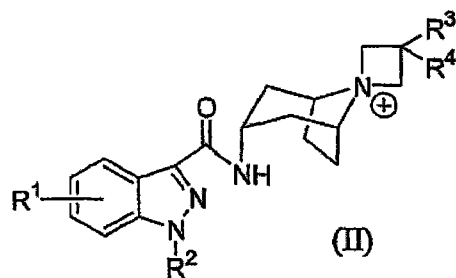
其中中间体 1 与中间体 34（其中 P³ 代表氨基保护基团，例如 BOC）反应以提供中间体 35，其然后去保护来提供中间体 31。所述反应通常通过使中间体 1 在惰性稀释剂（例如乙腈）中在碳酸钾的存在下在介于约 60°C 至约 95°C 之间的温度接触介于约 1 与约 3 当量之间的中间体 34 约 12 小时至约 24 小时、或直至所述反应实质上完成为止来实施。将中间体 35 分离，并然后去除 P³ 来提供中间体 31。

伯胺或仲胺中间体 2、30、32 及 H-W 皆可自市场上购得或可根据文献或教科书中所述的标准程序（例如 J. March, *Advanced Organic Chemistry*（第四版，Wiley, New York, 1992）及如本文所例示者）自普通起始材料容易地合成。

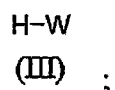
关于制备本发明代表性化合物或其中间体的特定反应条件及其他程序的其他细节阐述于以下实例中。

因此，在方法方面中，本发明提供一种制备式(I)化合物（其中 R¹、R²、R³、R⁴ 及 W 皆如式(I)中所定义）或其盐或立体异构体的方法，所述方法包括：

(a) 使下式(II)的化合物：

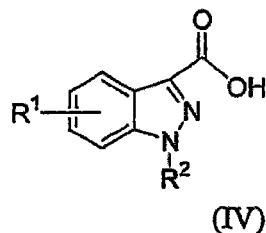


与下式(III)化合物反应

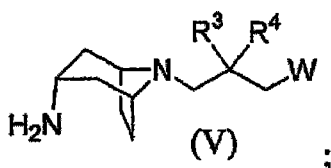


或

(b) 使下式(IV)化合物:



与下式(V)化合物反应

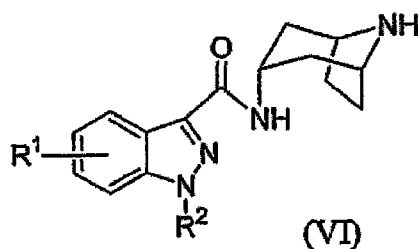


以提供式(I)化合物或其盐或立体异构体。

本发明还提供制备式(I)化合物（其中 R³ 为羟基及 R¹、R²、R⁴ 及 W 皆如式(1)中所定义）或其盐或立体异构体的方法，所述方法包括：

上文所定义的步骤(a)或步骤(b)，或

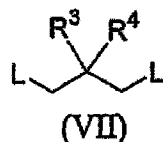
(c) 使下式(VI)化合物:



或其盐与下式(III)化合物:



及下式(VII)化合物:



（其中 L 为离去基团）反应；

或

(d) 使式(VI)化合物与下式(VIII)化合物反应

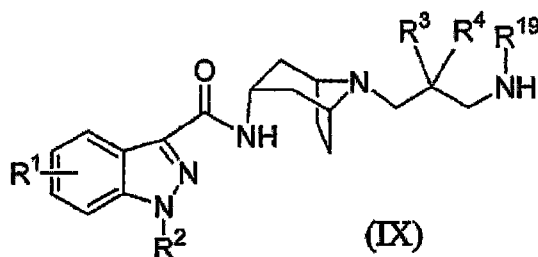


(VIII) ;

来提供式(I)化合物或其盐或立体异构体。

本发明还提供一种制备式(I)化合物（其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^{8a} 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{18} 、 a 、 n 、 W 及 X 皆如式(I)中所定义；条件是当 a 为 0 时， R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或氰基取代，或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ）或其盐或立体异构体的方法，所述方法包括：

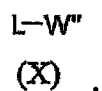
使下式(IX)化合物：



(IX)

其中 R^{19} 为 R^5 、 R^{8a} 或 R^{18} ；

与下式(X)化合物反应



(X) ,

其中：L 为离去基团；及

(a) 当 R^{19} 为 R^{8a} 时， W'' 选自 $-C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^{10}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 、 $-C(O)NR^{13}R^{14}$ 、及 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$ ；

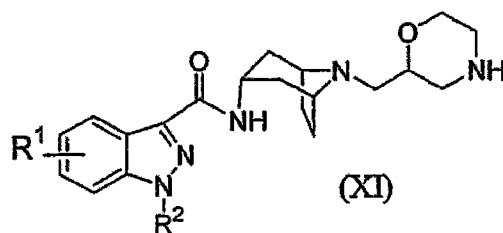
(b) 当 R^{19} 为 R^{18} 时， W'' 为 $-(CH_2)_2-N(R^5)(CR^6R^7)_n-X$ ；及

(c) 当 a 为 0 时， R^{19} 为 R^5 ， W'' 为 $-(CR^6R^7)_n-X$ ，及 R^5 为氢或 C_{1-4} 烷基，其中 C_{1-4} 烷基视情况经羟基、 C_{1-3} 烷氧基、或氰基取代，或 R^3 与 R^5 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ；

以得到式(I)化合物。

此外，对于上述方法，本发明还提供一种制备式(I)化合物（其中 R^3 与 R^5 或 R^3 与 R^{8a} 一起形成 $-OCH_2CH_2-$ ； W 选自 Y 及式(b)部分，其中 a 为 0；及 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^6 、 R^7 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 n 及 X 皆如式(I)所定义）或其盐或立体异构体的方法，所述方法包括：

使下式(XI)化合物：



(XI)

与下式(XII)化合物反应

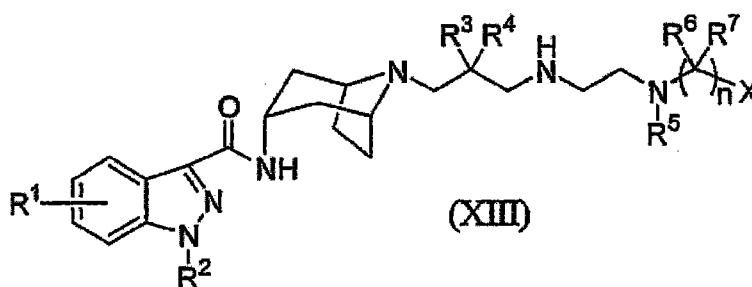


其中 L 为离去基团, 及 W 选自 $-\text{C(O)R}^9$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{R}^{10}$ 、 $-\text{C(O)OR}^{12}$ 、 $-\text{C(O)NR}^{13}\text{R}^{14}$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ 及 $-(\text{CR}^6\text{R}^7)_n\text{-X}$;

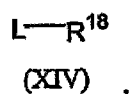
获得式(I)化合物。

本发明进一步提供制备式(I)化合物(其中 W 是式(b)部分及 a 为 1; R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^{18} 、 n 及 X 皆如式(I)所定义)或其盐或立体异构体的方法, 所述方法包括:

使下式(XIII)化合物:



与下式(XIV)化合物反应



其中 L 为离去基团; 获得式(I)化合物。在其他实施例中, 本发明是关于本文所述的其他方法; 且是关于通过本文所述的任何方法制得的产物。

医药组合物

本发明咪唑-甲酰胺化合物通常以医药组合物的形式投与患者。所述医药组合物可通过任何可接受的投与途径投与所述患者, 其包括(但不限于)经口、直肠、阴道、鼻、吸入、局部(包括经皮)及非经肠模式投与。

因此, 在本发明组合物的一个方面中, 本发明是关于医药组合物, 其包含医药上可接受的载剂或赋形剂及治疗有效量的式(I)化合物或其医药上可接受的盐。视情况, 若期望, 所述医药组合物可包含其他治疗剂及/或调配剂。

本发明医药组合物通常包含治疗有效量的本发明化合物或其医药上可接受的盐。通常, 所述医药组合物应包含约 0.1-约 95 重量%的活性剂; 较佳约 5-约 70 重量%; 且更佳约 10-约 60 重量%的活性剂。

任何常用载剂或赋形剂皆可用于本发明医药组合物中。特定载剂或赋形剂、或载剂或赋形剂组合的选择应取决于正用于治疗特定患者或医疗状况类型或疾病状态的投与模式。就此而言, 用于特定投与模式的适宜医药组合物的制备在熟悉制药技术者的范围内。因此, 所述组合物的成份是自(例如) Sigma、P.O. Box 14508、St. Louis、MO 63178 购得的市售品。出于进一步阐述的目的, 常用调配技术阐述于 *Remington: The*

Science and Practice of Pharmacy (第20版, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000)); 及 H.C. Ansel 等人的 *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* (第7版, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)) 中。

可用作医药上可接受载剂材料的代表性实例包括(但不限于)以下:(1) 糖, 例如乳糖、葡萄糖及蔗糖;(2) 淀粉, 例如玉米淀粉及马铃薯淀粉;(3) 纤维素(例如微晶纤维素)及其衍生物(例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素及乙酸纤维素;(4) 粉末状黄耆胶;(5) 麦芽;(6) 明胶;(7) 滑石粉;(8) 赋形剂, 例如可可油及栓剂蜡;(9) 油类, 例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油及豆油;(10) 二醇类, 例如丙二醇;(11) 多元醇类, 例如甘油、山梨醇、甘露醇及聚乙二醇;(12) 酯类, 例如油酸乙酯及月桂酸乙酯;(13) 琼脂;(14) 缓冲剂, 例如氢氧化镁及氢氧化铝;(15) 海藻酸;(16) 无致热源的水;(17) 等渗盐水;(18) 林格氏溶液(Ringer's solution); (19) 乙醇;(20) 磷酸盐缓冲溶液; 及(21) 其他用于医药组合物的无毒相容物质。

本发明医药组合物通常是通过将本发明化合物与医药上可接受的载剂及一或多种可选成份彻底及充分混合或掺合来制备。若需要或期望, 可随后使用常用程序及设备使所得经均匀掺合的混合物形成或装填成锭剂、胶囊、药丸及诸如此类。

本发明医药组合物较佳以单位剂型包装。术语“单位剂型”是指适于患者剂量给药的物理离散单位, 即, 每一单位包含经计算预定量的活性剂以单独或与一或多种额外单位组合产生合意治疗效果。例如, 所述单位剂型可微胶囊、锭剂、药丸及诸如此类。

在一较佳方面中, 本发明医药组合物适于口服投与。用于口服投与的适宜医药组合物可为胶囊、锭剂、药丸、菱形锭剂、扁囊剂、糖衣药丸、粉末、颗粒的形式; 或作为含水或无水液体中的溶液或悬浮液; 或作为水包油或油包水液体乳液; 或作为酞剂或糖浆; 及诸如此类; 各自皆包含预定量的本发明化合物作为活性成份。

当期望以固体剂型(即, 作为胶囊、锭剂、药丸及诸如此类)口服投与时, 本发明医药组合物通常应包含本发明化合物作为活性成份及一或多种医药上可接受的载剂(例如柠檬酸钠或磷酸氢钙)。视情况或或者, 所述固体剂型还可包含:(1) 填充剂或增量剂, 例如淀粉、微晶纤维素、乳酸、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、及/或硅酸;(2) 结合剂, 例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖及/或阿拉伯胶;(3) 保湿剂, 例如甘油;(4) 崩解剂, 例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐及/或碳酸钠;(5) 溶液阻滞剂, 例如石蜡;(6) 吸收促进剂, 例如季铵化合物;(7) 润湿剂, 例如鲸蜡醇及/或甘油单硬脂酸酯;(8) 吸收剂, 例如高岭土及/或膨润土;(9) 润滑剂, 例如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠、及/或其混合物;(10) 着色剂; 及(11) 缓冲剂。

隔离剂、润湿剂、涂布剂、甜味剂、矫味剂及加香剂、防腐剂及抗氧化剂也可存在于本发明医药组合物中。医药上可接受抗氧化剂的实例包括:(1) 水溶性抗氧化剂, 例如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠及诸如此类;(2)

油溶性抗氧化剂,例如棕榈酸抗坏血酯、丁基化羟基苯甲醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚、及诸如此类;及(3)金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸、及诸如此类。用于锭剂、胶囊、药丸及诸如此类的涂布剂包括那些用于肠溶包膜的试剂,例如乙酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯(PVAP)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、甲基丙烯酸-甲基丙烯酸酯共聚物、乙酸偏苯三酸纤维素(CAT)、羧甲基乙基纤维素(CMEC)、乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素(HPMCAS)、及诸如此类。

若期望,本发明医药组合物也可使用(例如)各种比例的羟丙基甲基纤维素;或其他聚合物基质、脂质体及/或微球体经调配来提供活性成份的缓冲或控制释放。

此外,本发明医药组合物可视情况包含遮光剂且可经调配以便其以延迟方式仅(或优先)在胃肠道的某一部分释放活性成份。可使用的包埋组合物实例包括聚合物质及蜡。若合适,所述活性成份亦可呈含有一或多种上述赋形剂的微胶囊形式。

用于口服投与的适宜液体剂型包括(例如)医药上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆及酏剂。适宜液体剂型通常包含所述活性成份和惰性稀释剂,例如水或其他溶剂、增溶剂及乳化剂,例如,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(例如,棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇及山梨糖醇酐脂肪酸酯及其混合物。除所述活性成份外,悬浮液可含有悬浮剂,例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇及山梨糖醇酐酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂及黄蓍胶、及其混合物。

或者,本发明医药组合物经调配通过吸入投与。通过吸入投与的适宜医药组合物通常应为气溶胶或粉末形式。所述组合物通常使用习知递送装置(例如经计量剂量吸入器、干粉吸入器、喷雾器或类似递送装置)投与。

当使用压力容器通过吸入投与时,本发明医药组合物通常应包含所述活性成份及适宜推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适宜气体。

此外,所述医药组合物可为胶囊或药包(由例如明胶制成)形式,其包含本发明化合物及适用于粉末吸入器的粉末。适宜粉末基质包括(例如)乳糖或淀粉。

本发明化合物也可使用习知经皮递送装置及赋形剂经皮投与。例如,本发明化合物可与渗透增强剂(例如丙二醇、聚乙二醇单月桂酸酯、氮杂环烷-2-酮及诸如此类)混合并纳入贴片或类似递送系统中。若合意,包括胶凝剂、乳化剂及缓冲剂在内的额外赋形剂可用于所述经皮组合物中。

以下调配物可说明本发明的代表性医药组合物。

调配物实例 A

如下制备用于口服投与的硬明胶胶囊：

成份	数量
----	----

本发明化合物	50 mg
乳糖(喷雾干燥)	200 mg
硬脂酸镁	10 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后装于硬明胶胶囊中(每一胶囊含 260 mg 组合物)。

调配物实例 B

如下制备用于口服投与的硬明胶胶囊：

成份	数量
本发明化合物	20 mg
淀粉	89 mg
微晶纤维素	89 mg
硬脂酸镁	2 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后通过 45 网目美国筛并装填于硬明胶胶囊中(每一胶囊含 260 mg 组合物)。

调配物实例 C

如下制备用于口服投与的胶囊：

成份	数量
本发明化合物	10 mg
聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯	50 mg
淀粉粉末	250 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后装于明胶胶囊中(每一胶囊含 310 mg 组合物)。

调配物实例 D

如下制备用于口服投与的锭剂：

成份	数量
本发明化合物	5 mg
淀粉	50 mg
微晶纤维素	35 mg
聚乙烯吡咯烷酮(10 wt.%存于水中)	4 mg
羧甲基淀粉钠	4.5 mg
硬脂酸镁	0.5 mg
滑石粉	1 mg

代表性程序：使所述活性成份、淀粉及纤维素通过 45 网目美国筛并充分混合。将聚乙烯吡咯烷酮的溶液与所得粉末混合，并然后使此混合物通过 14 网目美国筛。将如此制得的颗粒于 50-60℃ 下干燥并通过 18 网目美国筛。然后将羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁及滑石粉(预先通过 60 网目美国筛)添加于所述颗粒。混合后，将混合物在压片机上压制以提供重 100 mg 的锭剂。

调配物实例 E

如下制备用于口服投与的锭剂：

成份	数量
本发明化合物	25 mg
微晶纤维素	400 mg
发烟二氧化硅	10 mg
硬脂酸	5 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后压制以形成锭剂(每一锭剂含 440 mg 组合物)。

调配物实例 F

如下制备用于口服投与的有一条划痕的锭剂：

成份	数量
本发明化合物	15 mg
玉米淀粉	50 mg
交联羧甲基纤维素钠	25 mg
乳糖	120 mg
硬脂酸镁	5 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后压制以形成有一条划痕的锭剂(每一锭剂含 215 mg 组合物)。

调配物实例 G

如下制备用于口服投与的悬浮液：

成份	数量
本发明化合物	0.1 g
富马酸	0.5 g
氯化钠	2.0 g
对羟基苯甲酸甲酯	0.15 g
对羟基苯甲酸丙酯	0.05 g
颗粒化糖	25.5 g
山梨醇(70%溶液)	12.85 g
Veegumk(Vanderbilt 公司)	1.0 g
矫味剂	0.035 mL
着色剂	0.5mg
蒸馏水	补足至 100 mL

代表性程序：将所述成份混合以形成每 10 mL 悬浮液包含 10 mg 活性成份的悬浮

液。

调配物实例 H

如下制备通过吸入投与的干燥粉末：

成份	数量
本发明化合物	1.0 mg
乳糖	25 mg

代表性程序：将所述活性成份微粉化并然后与乳糖掺合。然后将此经掺合混合物装于明胶吸入药包。所述药包的内容物使用粉末吸入器投与。

调配物实例 I

如下制备在经计量剂量吸入器中通过吸入投与的干燥粉末：

代表性程序：通过将 10 g 活性化合物作为平均尺寸小于 10 μm 的微粉化粒子分散于由将 0.2 g 卵磷脂溶于 200 mL 软化水所形成的溶液中来制备含 5 wt.% 本发明化合物及 0.1 wt.% 卵磷脂的悬浮液。将悬浮液喷雾干燥并将所得材料微粉化成评价直径小于 1.5 μm 的粒子。将所述粒子装于具有压力 1,1,1,2-四氟乙烷的药包中。

调配物实例 J

如下制备一种可注射调配物：

成份	数量
本发明化合物	0.2 g
乙酸钠缓冲溶液(0.4 M)	40 mL
HCl(0.5 N)或 NaOH(0.5 N)	足量至 pH 4
水(经蒸馏，无菌)	补足至 20 mL

代表性程序：将上述成份掺合并使用 0.5 N HCl 或 0.5 N NaOH 将 pH 调节至 4 ± 0.5 。

调配物实例 K

如下制备用于口服投与的胶囊：

成份	数量
本发明化合物	4.05 mg
微晶纤维素(AvicelPH 103)	259.2 mg
硬脂酸镁	0.75 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后装于明胶胶囊(1 号尺寸，白色，不透明)中(每一胶囊含 264 mg 组合物)。

调配物实例 L

如下制备通过吸入投与的胶囊：

成份	数量
本发明化合物	8.2 mg
微晶纤维素(AvicelPH 103)	139.05 mg
硬脂酸镁	0.75 mg

代表性程序：将所述成份充分掺合并然后装于明胶胶囊(1 号尺寸，白色，不透明)

中(每一胶囊含 148 mg 组合物)。

应了解,本发明化合物适用于特定投与模式的任何形式(即,游离碱、医药盐或溶剂化物)皆可用于上文所讨论的医药组合物中。

效用

本发明的吡啶-甲酰胺化合物是 5-HT₄ 受体激动剂且因此预计可用于治疗由 5-HT₄ 受体介导的或与 5-HT₄ 受体活性有关的医疗状况,即,通过用 5-HT₄ 受体激动剂治疗来缓解的医疗状况。所述医疗状况包括(但不限于)肠易激综合征(IBS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空障碍、胃食管反流病(GERD)、胃轻瘫、糖尿病性及特发性胃病、术后肠梗阻、假性肠梗阻及药物诱发的传输迟缓。此外,已建议一些 5-HT₄ 受体激动剂化合物可用于治疗包括认知障碍、行为障碍、心境障碍及自主神经功能控制障碍在内的中枢神经系统障碍。

具体而言,预计本发明化合物增加胃肠(GI)道的蠕动性且因此预计可用于治疗哺乳动物(包括人类)中由蠕动降低造成的 GI 道病症。所述 GI 蠕动性病症包括(例如)肠易激综合征、慢性便秘、功能性消化不良、糖尿病性胃轻瘫及特发性胃轻瘫。

当本发明化合物用于治疗 GI 道蠕动性降低病症或其他由 5-HT₄ 受体介导的病状时,本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多剂量经口投与,但可使用其他投与形式。每剂量所投与活性剂的数量或每天所投与的总数量通常将由医生根据包括下列的相关情况决定:欲治疗的病状、所选投与途径、实际投与的化合物及其相对活性、个体患者的年龄、体重和反应、患者症状的严重程度及诸如此类。

治疗 GI 道蠕动性降低病症或其他由 5-HT₄ 受体介导的病症的适宜剂量通常应介于约 0.0007-约 20 mg/kg/天之间的活性剂、较佳约 0.0007-约 1 mg/kg/天。对于平均 70 kg 的人而言,此将总计约 0.05-约 70 mg/天的活性剂。

在本发明一个方面中,本发明化合物用于治疗慢性便秘。当用于治疗慢性便秘时,本发明化合物通常将以单一日剂量或每天多个剂量经口投与。较佳地,治疗慢性便秘的剂量将介于约 0.05-约 70 mg/天之间。

在本发明另一方面中,本发明化合物用于治疗肠易激综合征。当用于治疗肠易激综合征时,本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多个剂量经口投与。较佳地,治疗肠易激综合征的剂量应介于约 0.05-约 70 mg/天之间。

在本发明另一方面中,本发明化合物用于治疗糖尿病性胃轻瘫。当用于治疗糖尿病性胃轻瘫时,本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多个剂量经口投与。较佳地,治疗糖尿病性胃轻瘫的剂量应介于约 0.05-约 70 mg/天之间。

在本发明又一方面中,本发明化合物用于治疗特发性胃轻瘫。当用于治疗特发性胃轻瘫时,本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多个剂量经口投与。较佳地,治疗糖尿病性胃轻瘫的剂量应介于约 0.05-约 70 mg/天之间。

在本发明又一方面中,本发明化合物用于治疗功能性消化不良。当用于治疗功能性消化不良时,本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多个剂量经口投与。较佳地,

治疗功能性消化不良的剂量应介于约 0.05-约 70 mg/天之间。

本发明还提供一种治疗患有与 5-HT₄ 受体活性有关的疾病或病状的哺乳动物的方法，所述方法包括向所述哺乳动物投与治疗有效量的本发明化合物或包含本发明化合物的医药组合物。

由于本发明化合物是 5-HT₄ 受体激动剂，故所述化合物也可用作调查或研究具有 5-HT₄ 受体的生物系统或试样或用于发现新 5-HT₄ 受体激动剂的研究工具。而且，由于与对其他 5-HT 亚型的受体、尤其 5-HT₃ 受体的结合相比，本发明化合物展示对 5-HT₄ 受体的结合选择性，故所述化合物尤其适用于研究生物系统或试样中 5-HT₄ 受体的选择性激动作用。任何具有 5-HT₄ 受体的适宜生物系统或试样皆可用于在活体外或活体内实施的研究中。适用于所述研究的代表性生物系统或试样包括（但不限于）细胞、细胞提取物、质膜、组织试样、哺乳动物（例如小鼠、大鼠、豚鼠、兔子、狗、猪等）及诸如此类。

在本发明此方面中，使包含 5-HT₄ 受体的生物系统或试样接触 5-HT₄ 受体激动量的本发明化合物。然后使用适宜常用程序及设备（例如放射性配体结合分析和功能性分析）测定 5-HT₄ 受体激动效果。所述功能性分析包括配体介导的细胞内环腺苷一磷酸(cAMP)的变化、配体介导的酶腺苷酸环化酶(其合成 cAMP)的活性变化、配体介导的鸟苷三磷酸(GTP)类似物（例如 [³⁵S]GTPγS(鸟苷 5'-O-(γ-硫)三磷酸)或 GTP-Eu）经由受体催化将 GTP 类似物替换成 GDP 类似物而纳入隔离膜的变化、配体介导的游离细胞内钙离子的变化(利用例如自 Molecular Devices 公司购得的 FLIPR®或荧光联合成像板读数器测量)、及促细胞分裂的蛋白酶(MAPK)活性的测量。在任何上文所列举任一功能性分析或类似性质分析中，本发明化合物可激发或增加 5-HT₄ 受体激活。本发明化合物的 5-HT₄ 受体激动量通常应介于约 1 纳摩尔至约 500 纳摩尔之间。

此外，本发明化合物可用作发现新 5-HT₄ 受体激动剂的研究工具。就此方面而言，将 5-HT₄ 受体对于测试化合物或测试化合物组的结合或功能性数据与所述 5-HT₄ 受体对于本发明化合物的结合或功能性数据相比较以确定具有优良结合或功能活性（若有）的测试化合物。本发明的此方面作为单独方面包括产生比较数据(使用适宜分析)并分析所述测试数据二者以确定感兴趣的测试化合物。

除其他性质以外，已发现本发明化合物是 5-HT₄ 受体的有效激动剂且在放射性配体结合分析中对 5-HT₄ 受体亚型展示优于 5-HT₃ 受体亚型的选择性。此外，较佳本发明化合物的药物代谢性质已在大鼠模型中经证实。

该等性质以及本发明化合物的效用可使用熟悉该项技术者习知的活体外及活体内分析来证实。在以下实例中已进一步详细阐述代表性分析。

实例

提供以下合成及生物学实例以阐述本发明，且不能以任何限制本发明范围的方式对本发明加以解释。在下面实例中，除非另有说明，否则下列缩写具有以下涵义。下文未定义的缩写具有其通常被接受的涵义。

Boc	=	叔-丁氧基羰基
(Boc) ₂ O	=	二碳酸二叔丁酯
DCM	=	二氯甲烷
DMF	=	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	=	二甲亚砜
EtOAc	=	乙酸乙酯
mCPBA	=	间-氯过苯甲酸
MeCN	=	乙腈
MTBE	=	叔丁基甲基醚
PyBop	=	六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三吡咯烷基磷
R _f	=	保持系数
RT	=	室温
TFA	=	三氟乙酸
THF	=	四氢呋喃

反应物(包括仲胺)及溶剂皆自商业供应商(Aldrich、Fluka、Sigma 等)购得, 且未经进一步纯化即使用。除非另有说明, 否则反应是在氮气气氛下实施。反应混合物的进程通过薄层色谱(TLC)、分析型高效液相色谱(分析型 HPLC)、及质谱监控, 其细节将在下文中给出且与反应的具体实例分开。如各反应中特定阐述处理反应混合物。通常, 所述反应混合物是通过萃取及其他纯化方法(例如温度-及溶剂-相关性结晶及沉淀)来纯化。此外, 反应混合物通常通过制备型 HPLC 来纯化。下文将阐述一种普通制备型 HPLC 方法。反应产物的表征通常通过质谱及 ¹H-NMR 谱来实施。对于 NMR 测量而言, 将试样溶于氘代溶剂(CD₃OD、CDCl₃ 或 DMSO-d₆)中, 并利用 Varian Gemini 2000 仪器(300 MHz)在标准观察条件下获得 ¹H-NMR 谱。化合物的质谱识别是通过电喷射电离法(ESMS)利用 Perkin Elmer 仪(PE SCIEX API 150 EX)来实施。

分析型 HPLC 的一般方法

将粗化合物以 0.5-1.0 mg/mL 的浓度溶于 50%MeCN/H₂O(含有 0.1%TFA)中, 并使用以下条件分析:

管柱: Zorbax Bonus-RP(粒径 3.5 μm, 2.1×50 mm)

流速: 0.5 mL/min

梯度: 0.5-4.0 分钟(线性), 含 0.1%TFA 的 5%MeCN/H₂O 至含 0.1%TFA 的 75%MeCN/H₂O

检测器波长: 214、254 及 280 nm。

制备型 HPLC 纯化的一般方法

将粗制化合物以 50-100 mg/mL 浓度溶解于 50%存于水中的乙酸中、过滤并使用以下程序精制:

管柱: YMC Pack-Pro C18 (50a x 20 mm; ID = 5 μm)

流速: 40 mL/min

流动相: A = 90% MeCN/10% H₂O/0.1% TFA B = 98% H₂O/2% MeCN/0.1%

TFA 梯度: 在 30 分钟内 10% A/90% B 至 50% A/50% B(线性)

检测器波长: 214 nm。

仲胺的制备

硫吗啉-1,1-二氧化物是自硫吗啉通过将所述仲胺保护成 N-Boc 硫吗啉((Boc)₂O, MeOH)、氧化成砷(mCPBA、CH₂Cl₂, 0°C)、并使 N-Boc 基团去保护以提供游离胺(CF₃CO₂H、CH₂Cl₂)来制备。(m/z): C₄H₉NO₂S 的[M+H]⁺计算值, 136.04; 实验值, 135.9。

哌嗪的 N-磺酰基衍生物是自 N-Boc 哌嗪通过与相应的磺酰氯(iPr₂Net, CH₂Cl₂, 0°C)反应、并使 N-Boc 基团去保护(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂)来制备。1-甲烷磺酰基-哌嗪: ¹H-NMR(CDCl₃; 中性): δ (ppm) 3.1 (t, 4H), 2.9 (t, 4H), 2.7 (s, 3H)。1-(甲基磺酰基)甲烷磺酰基-哌嗪: ¹H-NMR(CD₃OD): δ (ppm) 2.90 (s, 3H), 3.02 (m, 4H), 3.38 (m, 4H), 4.61 (s, 2H)。

3-乙酰基氨基吡咯烷的外消旋或单一手性异构体形式是通过用乙酰氯处理 N¹-Boc-3-氨基吡咯烷(外消旋化合物, 3R 或 3S)(iPr₂Net、CH₂Cl₂, 0°C)、并使所述 N-Boc 基团去保护(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂)来制备。3-(乙酰胺基)吡咯烷: ¹H-NMR(DMSO-d₆; TFA 盐): δ (ppm) 4.2 (五重峰, 1H), 3.3-3.1 (m, 3H), 2.9 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.8 (br s, 4H)。

3-((R)-2-羟基丙酰胺基)吡咯烷是在使 N¹-Boc-3-氨基吡咯烷酰胺化(1-乳酸, PyBOP, DMF, RT)、并使 N-Boc 基团去保护(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂)后制得。(m/z): C₇H₁₄N₂O₂ 的[M+H]⁺计算值, 159.11; 实验值, 159.0。 ¹H-NMR(CD₃OD; TFA 盐): δ (ppm) 4.4 (五重峰, 1H), 4.1 (q, 1H), 3.5-3.4 (m, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 2.3 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.3 (d, 3H)。

(3R)-氨基吡咯烷的 N³-烷烃磺酰基衍生物是通过用丙酰基磺酰氯或环己基甲基磺酰氯处理 N¹-Boc-(3R)-氨基吡咯烷(i-Pr₂NEt, CH₂Cl₂, 0°C)、并使 N-Boc 基团(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂)去保护获得。

3-(N-乙酰基-N-甲基酰胺基)哌啶是自经 N³-Cbz 保护的 3-氨基-哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(De Costa, B.等人 *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 4334-43)在以下四个合成步骤后制得: i) MeI、n-BuLi、THF, 于-78°C至室温; ii) H₂(1 个大气压)、10%Pd/C、EtOH; iii) AcCl、i-Pr₂NEt、CH₂Cl₂; iv) CF₃CO₂H、CH₂Cl₂。 m/z: C₈H₁₆N₂O 的[M+H]⁺计算值: 157.13; 实验值, 157.2。 ¹H-NMR(CD₃OD; TFA 盐): δ (ppm) 4.6 (m, 1H), 3.3 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 3.0 (m, 1H), 2.9 (s, 3H), 2.8 (m, 1H), 2.0 (s, 3H), 1.9-1.7 (m, 4H)。

3-(N-乙酰基-酰胺基)哌啶是自 3-氨基-哌啶-1-甲酸叔丁酯在 N-乙酰化及 N-Boc 基团去保护后制得: i) AcCl、i-Pr₂NEt、CH₂Cl₂; ii) CF₃CO₂H、CH₂Cl₂。 ¹H-NMR (CD₃OD; TFA 盐): δ (ppm) 3.9 (m, 1H), 3.3 (dd, 1H), 3.2 (m, 1H), 2.9 (dt, 1H), 2.75 (dt, 1H), 2.0-1.9 (m, 2H), 1.9 (s, 3H), 1.8-1.4 (m, 2H)。

3-氨基哌啶的 N³-烷烃磺酰基衍生物是通过手性或外消旋形式的 3-氨基-哌啶-1-甲

酸叔丁酯与相应烷烃磺酰氯(*i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂)反应并去保护 N-Boc 基团(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂)来合成。(3S)-3-(乙烷磺酰基酰胺基)哌啶: ¹H-NMR (CD₃OD): δ (ppm) 1.29(t, 3H, *J*₁ = 7.4 Hz), 1.50-1.80 (m, 2H), 1.90-2.10 (m, 2H), 2.89 (m, 2H), 3.05 (q, 2H, *J*₁ = 7.4 Hz), 3.27 (m, 2H), 3.40 (d(br)的 d, 1H), 3.52 (m, 1H)。3S-甲基磺酰基甲烷磺酰基酰胺基-哌啶: ¹H-NMR(CD₃OD): δ (ppm) 2.13-2.30 (m, 2H), 2.40-2.57 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 3.21 (m, 2H), 3.30 (br d, 1H), 3.74 (m, 1H)。

3-(甲基氨基)-1-乙酰基吡咯烷是自 3-(甲基氨基)-1-苄基吡咯烷(TCI America)在四个步骤后制得: i) (Boc)₂O, MeOH, rt; ii) H₂ (1 个大气压), 10%Pd/C, EtOH; iii) AcCl, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂; iv) CF₃CO₂H, CH₂Cl₂。(m/z): C₇H₁₄N₂O 的[M+H]⁺计算值: 143.12; 实验值, 143.0。

3-(甲基氨基)-1-(甲烷磺酰基)吡咯烷是自 3-(甲基氨基)-1-苄基吡咯烷在四个步骤后制得: i) (Boc)₂O, MeOH, rt; ii) H₂ (1 个大气压), 10%Pd/C, EtOH; iii) CH₃S(O)₂Cl, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂; iv) CF₃CO₂H, CH₂Cl₂。(m/z): C₆H₁₄N₂O₂S 的[M+H]⁺计算值: 179.08; 实验值, 179.2。3R-甲基氨基-1-(甲烷磺酰基)吡咯烷是以类似方式自(3R)-(甲基氨基)-1-苄基吡咯烷制得。

四氢-3-噻吩-1,1-二氧化物的衍生物是根据 Love 的 *B. J. Org. Chem.* (1961, 26, 4394-9) 方法通过使 3-环丁烯砜与必需伯胺在甲醇(催化剂 KOH, 室温)中反应而制得。N-甲基-3-四氢噻吩-胺-1,1-二氧化物(TFA 盐): ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) 9.4 (br s, 2H), 4.0-3.8 (五重峰, 1H), 3.6-3.5 (dd, 1H), 3.4-3.3 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.5 (s, 3H), 2.4 (m, 1H), 2.1 (m, 1H)。N-2-(1-羟基)乙基-3-四氢噻吩胺-1,1-二氧化物: (m/z): C₆H₁₃NO₃S 的[M+H]⁺计算值: 180.07; 实验值, 180.2。

N-甲基-四氢-2H-噻喃-4-胺-1,1-二氧化物是自四氢-4H-噻喃-4-酮制得: i) MeNH₂, NaBH₄; ii) (Boc)₂O, MeOH; iii) mCPBA, CH₂Cl₂, 0°C; iv) CF₃CO₂H, CH₂Cl₂。(m/z): C₆H₁₃NO₂S 的[M+H]⁺计算值 164.07; 实验值, 164.9。¹H-NMR (CD₃OD; TFA 盐): δ (ppm) 3.4-3.1 (m, 5H), 2.7 (s, 3H), 2.4 (br d, 2H), 2.1(brm, 2H)。

1-乙酰基-3-(甲基氨基)哌啶是自经 N³-Cbz 保护的 3-甲基氨基-哌啶制得: i) AcCl, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂; ii) H₂ (1 个大气压), 10%Pd/C, EtOH。¹H-NMR (CD₃OD): δ (ppm) 4.0 (m, 1H), 3.6 (m, 1H), 3.4-3.2 (m, 2H), 3.0 (m, 1H), 2.6 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 1.8-1.6 (m, 4H)。

1-(甲烷磺酰基)-3-(甲基氨基)哌啶是自经 N³-Cbz 保护的 3-甲基氨基-哌啶制得: i) CH₃S(O)₂Cl, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂; ii) H₂ (1 个大气压), 10%Pd/C, EtOH。(m/z): C₇H₁₆N₂O₂S 的[M+H]⁺计算值 193.10; 实验值, 193.0。¹H-NMR (DMSO-d₆; TFA 盐): δ (ppm) 3.4 (dd, 1H), 3.2 (m, 2H), 3.10 (s, 3H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.6-1.4 (m, 2H)。

脯氨酸二甲基酰胺及亚氨基二乙腈是分别自 Bachem 及 Aldrich 购得。

哌嗪的 N-衍生物(例如 1-(甲氧基羰基)哌嗪、1-(二甲基氨基羰基)哌嗪及 1-(二甲基氨基磺酰基)哌嗪)是通过哌嗪分别与氯甲酸甲酯、氯甲酸二甲基氨基酯或二甲基氨

基氨磺酰基氯反应来制备。

1-甲基氨基-2-甲基磺酰基乙烷是通过甲胺与甲基乙烯基砜在甲醇中反应获得。N-[2-(2-甲氧基乙基氨基)乙基]-N-甲基-甲烷磺酰胺是自部分经 *N-Boc* 保护的乙烷二胺起始在四个如下顺序的反应步骤后获得：i) 甲基磺酰氯，三乙胺；ii) MeI, CS_2CO_3 ；iii) NaH, 1-溴-2-甲氧基乙烷；iv) $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ 。

异哌啶甲酰胺(哌啶-4-甲酰胺)及脯氨酸酰胺皆自 Aldrich 购得。2-羟甲基吗啉是自 Tyger Scientific Product 购得。

4-哌啶基氨基甲酸甲酯是自经 *N-Boc* 保护的 4-氨基哌啶与氯甲酸甲酯反应、随后 *N-Boc* 基团去保护来制得。

4-哌啶醇-二甲基氨基甲酸酯、及 N-二甲基-N'-(3-哌啶基)脲是通过二甲基氨基甲酰氯分别与经 *N-Boc* 保护的 4-哌啶醇或 $\text{N}_1\text{-Boc-3-氨基哌啶}$ 反应来制备。

3-(甲基氨基)-1-(二甲基氨基磺酰基)吡咯烷是通过 3-(N-甲基-N-Boc-胺基)吡咯烷与二甲基氨磺酰氯反应来获得。

2-(3-吡咯烷基)异噻唑烷-1,1-二氧化物是通过经 $\text{N}_1\text{-Boc}$ 保护的 3-氨基吡咯烷与 3-氯丙基磺酰氯在三乙胺的存在下反应、并随后 TFA 处理以使 Boc 基团去保护来合成。

实例 1: 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-((S)-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

a. 8-苄基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-酮的制备

在搅拌的同时将浓盐酸(30 mL)添加于 2,5-二甲氧基四氢呋喃(82.2 g, 0.622 mol)存于水(170 mL)中的非均相溶液。在单独烧瓶中冷却至 0°C(冰浴)，将浓盐酸(92 mL)缓慢添加于苄胺(100 g, 0.933 mol)存于水(350 mL)中的溶液中。将所述 2,5-二甲氧基四氢呋喃溶液搅拌大约 20 分钟，用水(250 mL)稀释，并然后添加苄胺溶液，随后添加 1,3-丙酮二羧酸(100 g, 0.684 mol)存于水(400 mL)中的溶液并然后添加存于水(200 mL)中的磷酸氢二钠(44 g, 0.31 mol)。将 pH 使用 40%NaOH 自 pH 1 调节至 pH 约 4.5。将所得不透明及浅黄色溶液搅拌过夜。然后使用 50%盐酸将溶液自 pH 7.5 酸化至 pH 3，加热至 85°C 并搅拌 2 小时。将溶液冷却至室温，使用 40%NaOH 碱化至 pH 12，并用 DCM (3 x 500 mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤、干燥(MgSO_4)、过滤并在降低压力下浓缩，以定量产率获得粘性褐色油状物目标中间体(根据分析型 HPLC 约 95%纯度)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm) 7.5-7.2 (m, 5H, C_6H_5), 3.7 (s, 2H, CH_2Ph), 3.45 (宽 s, 2H, CH-NBn), 2.7-2.6 (dd, 2H, CH_2CO), 2.2-2.1 (dd, 2H, CH_2CO), 2.1-2.0 (m, 2H, CH_2CH_2), 1.6 (m, 2H, CH_2CH_2)。 (m/z): $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 216.14；实验值，216.0。

b. 3-氧代-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的制备

向 8-苄基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-酮(75 g, 0.348 mol)存于 EtOAc(300 mL)中的溶液添加二碳酸二叔丁酯(83.6 g, 0.383 mol, 1.1 eq)存于 EtOAc(300 mL)中的溶液。将所得溶液和冲洗液(100 mL EtOAc)在氮气流下添加于 1 L 含 23 g 氢氧化钯(20 wt.%Pd, 干基，在碳上，约 50%用水润湿；例如 Pearlman 的催化剂)的 Parr 氢化容器中。将反应容器

脱气(真空及 N₂ 交替五次)并加压至 60 psi H₂ 气。将反应溶液搅拌 2 小时并再填充 H₂ (若需要)以将 H₂ 压力保持在 60 psi 直至如通过二氧化硅薄层色谱检测反应完成为止。然后将溶液通过 Celite® 垫过滤并在降低压力下浓缩, 定量获得呈粘性黄色至橙色油状物的目标中间体。其不需进一步处理即可用于下一步骤。¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) 4.5 (宽峰, 2H, CH-NBoc), 2.7 (宽峰, 2H, CH₂CO), 2.4-2.3 (dd, 2H, CH₂CH₂), 2.1 (宽 m, 2H, CH₂CO), 1.7-1.6 (dd, 2H, CH₂CH₂), 1.5 (s, 9H, (CH₃)₃COCON)。

c. (1S,3R,5R)-3-氨基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的制备

在经由机械搅拌器搅拌的同时在 N₂ 流下向先前步骤的产物(75.4 g, 0.335 mol)存于甲醇(1 L)中的溶液中添加甲酸铵(422.5 g, 6.7 mol)、水(115 mL)及 65 g 活性碳载钯(10 %基于干基, 约 50%用水润湿; Degussa type E101NE/W)。24 及 48 小时后, 每次添加额外部分的甲酸铵(132 g, 2.1 mol)。当反应进程终止(如通过分析型 HPLC 所检测)后, 添加 Celite® (>500g)并将所得稠悬浮液过滤并然后将所收集的固体用甲醇(约 500 mL)冲洗。将滤液合并并在降低压力下浓缩直至去除所有甲醇为止。然后将所得不透明两相溶液用 1M 磷酸稀释至最终体积约 1.5-2.0 L 及 pH 为 2 并用二氯甲烷(3 x 700 mL)洗涤。将水层使用 40%NaOH 水溶液碱化至 pH 12, 并用二氯甲烷(3 x 700 mL)萃取。将合并的有机层经 MgSO₄ 干燥、过滤并通过旋转蒸发浓缩, 然后高真空留下 52 g(70 %)为白色或浅黄色固体的目标中间体, 其通常称为 N-Boc-内桥-3-氨基托烷。根据¹H-NMR 分析, 产物的内桥与外桥胺的异构体比率大于>99(通过分析型 HPLC >96%纯度)。¹H NMR(CDCl₃) δ (ppm) 4.2-4.0 (宽 d, 2H, CHNBoc), 3.25 (t, 1H, CHNH₂), 2.1-2.05 (m, 4H), 1.9 (m, 2H), 1.4 (s, 9H, (CH₃)₃OCON), 1.2-1.1 (宽峰, 2H)。(m/z): Cl₂H₂₂N₂O₂ 的 [M+H]⁺计算值 227.18; 实验值, 227.2。分析型 HPLC(等梯度方法; 在 5 分钟内 2:98 (A:B) 至 90:10 (A:B)): 保持时间= 3.68 分钟。

d. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸的制备

根据 Harada 等人在 *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1995**, 43,1912-30 中阐述的程序, 首先通过使所述酸在含数滴浓硫酸的甲醇中回流将吡啶-1H-3-甲酸转化成甲酯(>95%纯度)。(m/z): [M+H]⁺ 177.0; ¹H-NMR 谱(CD₃OD; δ (ppm) 8.0 (1H, d), 7.5 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 3.9 (3H, s))。将所述酯用异丙碘及叔丁醇钾在回流 THF 中处理, 此获得 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸甲酯。TLC (R_f = 0.45 在 3/1 己烷/EtOAc 中)。¹H-NMR (CD₃OD): δ (ppm) 8.1-8.0 (1H, d), 7.6 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 5.0 (1H, 五重), 3.9 (s, 3H), 1.5 (6H, d)。将所述 N¹-异丙基甲酯在周围温度下在 1M NaOH/THF 中水解, 提供目标中间体。(m/z): [M+Na]⁺226.6。¹H-NMR (CD₃OD): δ (ppm) 8.1-8.0 (1H, d), 7.6 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 5.0 (1H, quin), 1.5 (6H, d)。

e. (1S,3R,5R)-3-[1-异丙基-1H-吡啶-3-羰基]氨基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的制备

将 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸(56.35 g; 0.276 mol)存于甲苯(500 mL)中的悬浮液搅拌并加热 5 分钟, 之后添加亚硫酸二氯(30.2 mL; 0.414 mol)。于 100°C 下加热 15 分钟

后, 混合物变成均相溶液, 将其在相同温度下再继续搅拌 90 分钟。在单独反应烧瓶中, 将步骤 c 中制得的(1S,3R,5R)-3-氨基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(62.43 g; 0.276 mol)溶于 250 mL 甲苯中并随后添加溶于 250 mL 水中的氢氧化钠(66.3 g)。将此两相混合物在冰浴中冷却。将以上所制得吡啶酰基氯溶液冷却至室温, 并在 15 分钟内添加于所述两相溶液中, 将其在冰浴中剧烈搅拌。搅拌 1.5 小时后, 将反应混合物转移至分液漏斗中。首先, 将水层与甲苯层(保留)分离, 并用 EtOAc (2 x 500 mL)萃取。将甲苯层在降低压力下浓缩, 并将所得残余物溶于有机萃取物(1 L; EtOAc)中。将溶液用 1 M H₃PO₄(400 mL)、饱和 NaHCO₃(400 mL)、且然后盐水溶液(400 mL)洗涤。经 MgSO₄ 干燥后, 将有机溶液在降低压力下蒸发以干燥, 获得 119.2 g 目标中间体。¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) 1.41 (s, 9H), 1.51 (d, 6H), 1.82 (m, 2H), 1.97 (bs, 4H), 2.09 (m, 2H), 4.10 (m, 3H), 5.10 (sept, 1H), 7.23 (t, 1H), 7.42 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 8.18 (d, 1H)。 (m/z): C₂₃H₃₂N₄O₃ 的[M+H]⁺计算值, 413.26; 实验值, 413.1。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 2-95% MeCN/H₂O) = 4.85 分钟。

f. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的制备

将步骤(e)的产物(1S,3R,5R)-3-[1-异丙基-1H-吡啶-3-羰基]氨基]-8-氮杂二环-[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯溶于二氯甲烷(200 mL)中, 在冰浴中冷却并然后与 200 mL 三氟乙酸混合。将反应混合物于周围温度下搅拌 1 小时。然后在搅拌的同时将其滴加至烧瓶中的乙醚(2 L)中, 此获得 102.7 g 为其单(三氟乙酸)盐形式的目标中间体(两步产率为 87%)。¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) 1.54 (d, 6H), 2.05 (m, 2H), 2.24 (m, 6H), 4.03 (s, 2H), 4.12 (q, 1H), 5.09 (sept, 1H), 7.28 (t, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.81 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.54 (bd, 2H)。 (m/z): C₁₈H₂₄N₄O 的[M+H]⁺计算值, 313.20; 实验值, 313.1。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 2-95% MeCN/H₂O) = 2.65 分钟。

g. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-((S)-2-甲氧基甲基吡咯烷-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成将(S)-2-甲氧基甲基吡咯烷(0.15 mmol)添加于 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺单三氟乙酸盐(64 mg, 0.15 mmol)及二异丙基乙基胺(0.078 mL, 0.45 mmol)存于甲醇(1.5 mL)中的搅拌溶液中。随后添加 1,3-二溴丙醇(0.015 mL, 0.15 mmol)并将反应混合物于 65°C 下加热 16 小时。将反应混合物在真空中浓缩, 用乙酸/水 1:1 (1 mL)稀释并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的双三氟乙酸盐。(m/z): C₂₇H₄₁N₅O₃ 的[M+H]⁺计算值, 484.33; 实验值 484.3。保留时间(分析型 HPLC) = 2.04 分钟。

实例 2-4

使用类似于实例 1 中所阐述的那些方法, 只是在步骤(g)中用适宜反应物代替(S)-2-甲氧基甲基吡咯烷, 制得实例 2-4 的化合物。

实例 2: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[4-(四氢呋喃-2-羰基)哌嗪-1-基]丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成; (m/z): C₃₀H₄₄N₆O₄ 的[M+H]⁺计算值, 553.35; 实验值 553.7。保持时间(分析型 HPLC) = 2.02 分钟。

实例 3: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环-[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成; (m/z): $C_{26}H_{40}N_6O_4S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 533.29; 实验值 533.3。保持时间(分析型 HPLC) = 2.03 分钟。

实例 4: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{3-[(2-氰基-乙基)甲基氨基]-2-羟丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺的合成; (m/z): $C_{25}H_{36}N_6O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 453.30; 实验值 453.2。保持时间(分析型 HPLC) = 2.00 分钟。

实例 4: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{3-[(2-氰基-乙基)甲基氨基]-2-羟丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺的替代合成

a. 3-羟基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}氨基}-螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷]的制备

于室温下将环氧溴丙烷(0.06 mL, 0.70 mmol)添加于实例 1 步骤(f)中所制备的 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺三氟乙酸盐(200 mg, 0.47 mmol)及 DIPEA(0.082 mL, 0.47 mmol)存于乙醇(4 mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌 12 小时并然后进一步添加环氧溴丙烷(2 x 0.06 mL, 0.70 mmol)。再经过 72 小时后, 将反应混合物在真空中浓缩以获得粗制油, 其不需进一步纯化即可使用。

或者, 也可以以下方式制备 3-羟基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}氨基}-螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷]。于室温下将环氧溴丙烷(1.65 mL, 19.23 mmol)添加于实例 1 步骤(f)中所制备的 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺三氟乙酸盐(3.00 g, 9.62 mmol)存于乙醇(50 mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌 96 小时并然后进一步添加环氧溴丙烷(0.165 mL, 1.92 mmol)。再过 4 小时后, 将反应混合物在真空中浓缩获得粗制油(4.29 g), 其不需进一步纯化即可使用。(m/z): $C_{21}H_{29}N_4O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 369.23; 实验值, 368.9。 $[M]^+1H$ NMR (DMSO): 1.47 (d, 6H), 2.19-2.40 (m, 8H), 3.85-4.05 (m, 3H), 4.21-4.43 (m, 3H), 4.57-4.73 (m, 2H), 5.10 (sept, 1H), 6.22 (d, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.82 (d, 1H), 8.03 (m, 1H), 8.16 (d, 1H)。

b. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸(((1S,3R,5R))-8-{3-[(2-氰基-乙基)甲基氨基]-2-羟丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺的合成

将 3-甲基氨基丙腈(0.066 mL, 0.71 mmol)添加于先前步骤的产物 3-羟基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}氨基}-螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷(0.47 mmol)及存于甲醇(4 mL)中的二异丙基乙基胺(0.245 mL, 1.41 mmol)中。将反应混合物在加热器中于 65°C 下摇动 16 小时。进一步添加 3-甲基氨基丙腈(2 x 0.066 mL, 0.71 mmol)且 20 小时后将反应混合物冷却、在真空中浓缩、用乙酸/水 1:1 (3 mL)稀释并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的双三氟乙酸盐。(m/z): $C_{25}H_{36}N_6O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 453.30; 实验值 453.2。保持时间(分析型 HPLC) = 2.00 分钟。

实例 5: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(4-二甲基氨基甲酰基哌嗪-1-基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

将哌嗪-4-二甲基脒(23 mg, 0.15 mmol)溶于实例 4 中所制备的 3-羟基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}氨基}螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷(42 mg, 0.10 mmol)及二异丙基乙基胺(0.017 mL, 0.15 mmol)存于乙醇(2 mL)中的溶液中。将反应混合物在加热器中于 80℃下摇动 16 小时。将反应混合物在真空中浓缩、用 50 % 存于水(1.5 mL)中的乙酸稀释并通过制备型 HPLC(5-75%梯度)纯化, 获得为白色固体的目标化合物的双三氟乙酸盐(56 mg)。(m/z): $C_{28}H_{43}N_7O_3$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 526.35; 实验值 526.4。保持时间(分析型 HPLC) = 1.92 分钟。

实例 6: 1-(2-羟基-3-{(1S,3R,5R)-3-[1-(1-异丙基-1H-吡啶-3-基)羰基]-氨基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-8-基}丙基)吡咯烷-3-基}氨基甲酸甲酯的合成

将吡咯烷-3-NH-甲基氨基甲酸酯(单 TFA 盐; 39 mg, 0.15 mmol)溶于实例 4 步骤(a)中所制备的 3-羟基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}氨基}螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷(32mg, 0.075mmol)及二异丙基乙基胺(0.065 mL, 0.37 mmol)存于 DMF(2 mL)中的溶液中。将反应混合物在加热器中于 80℃下摇动 16 小时。将反应混合物在真空中浓缩、用 50% 存于水(1.5 mL)中的乙酸稀释并通过制备型 HPLC(5-75%梯度)纯化, 获得为白色固体的目标化合物的双三氟乙酸盐(35 mg)。(m/z): $C_{27}H_{40}N_6O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 513.32; 实验值 513.4。保持时间(分析型 HPLC) = 1.98 分钟。

实例 7: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

a. 3-甲氧基-3'-{[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基}-氨基}螺氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷的合成

于室温下将环氧溴丙烷(2.81 mL, 32.86 mmol)添加于实例 1 步骤(f)中所制造的 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺 TFA 盐(7.00 g, 16.43 mmol)及二异丙基乙基胺(2.86 mL, 16.43 mmol)的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌 72 小时并在真空中浓缩以获得杂有二异丙基乙基胺盐的粗制油(11.7 g, 以质量计假定 63% 产物)。将所述粗制油的样品(1.5 g)悬浮于二氯甲烷(45 mL)中并冷却至 0℃。添加叔丁醇钾(472 mg, 4.21 mmol)且随后添加碘甲烷(0.145 mL, 2.32 mmol)并使反应混合物加热至室温。30 分钟后, 将反应混合物冷却至 0℃并添加额外量的叔丁醇钾(2 x 236 mg, 2.10 mmol)及碘甲烷(2 x 0.145 mL, 2.32 mmol)。1 小时后, 分析型 HPLC 表明大约 90 % 的起始材料转化成主要产物。将反应混合物通过添加水(20 mL)骤冷并用二氯甲烷(50 mL)稀释。将层分离并将水层进一步用二氯甲烷(50 mL)及氯仿(25 mL)萃取。将有机层合并、干燥($MgSO_4$)、过滤并在真空中浓缩, 获得无需进一步纯化即可使用的粗制产物(1 g, 85% 纯度, 通过 HPLC)。

b. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

将 N-甲基磺酰基哌嗪(70 mg, 0.252 mmol)添加于上述步骤的产物(64 mg)及二异

丙基乙基胺(0.131 mL, 0.755 mmol)存于乙醇(1.5 mL)中的溶液中。将反应混合物在加热器中于 80℃下摇动 16 小时。将反应混合物在真空中浓缩、用乙酸/水 1:1(1 mL)稀释并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的双三氟乙酸盐。(m/z): $C_{27}H_{42}N_6O_4S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 547.31; 实验值 547.2。

实例 8: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

a. 1-氯-(R)-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙烷的制备

于室温下将(S)-表氯醇(3.10 mL, 39.5 mmol)添加于哌嗪磺酰胺.TFA(10.0 g, 35.9 mmol)及二异丙基乙基胺(6.26 mL, 35.9 mmol)存于乙醇(150 mL)中的溶液中。将反应混合物搅拌 18 小时并添加额外量的(R)-表氯醇(0.28 mL, 3.6 mmol)并再搅拌 3 小时。将反应混合物在真空中浓缩并将白色固体悬浮于乙醇(150 mL)中并搅拌 2 天。将所述固体通过过滤收集并用冷乙醇洗涤, 获得为白色固体的目标化合物(5.69 g), 其无需进一步纯化即可使用。(m/z): $C_8H_{17}ClN_2O_3S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 257.07; 实验值 257.2。 1H NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) 2.37 (dd, 1H), 2.45 (dd, 1H), 2.50-2.58 (m, 4H), 2.86 (s, 3H), 3.09 (m, 4H), 3.55 (dd, 1H), 3.65 (dd, 1H), 3.84 (m, 1H), 5.09 (d, 1H)。

b. 1-[(2R)-环氧乙烷基甲基]-4-甲烷磺酰基哌嗪的制备

将氢氧化钠(1.07 g, 26.7 mmol)添加于剧烈搅拌的上述步骤的产物 1-氯-(R)-2-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙烷(5.69 g, 22.2 mmol)存于 THF/水(150mL/35mL)中的溶液中。将反应混合物搅拌 35 分钟, 在真空中浓缩至大约 50 mL 体积, 用氯仿(200 mL)稀释, 并用 1M NaOH(2 x 70 mL)及盐水(70 mL)洗涤。将有机层干燥($MgSO_4$)、过滤并在真空中浓缩获得白色结晶固体, 其然后自热 EtOAc/己烷 1:1 (800 mL)重结晶, 获得为白色结晶固体的目标中间体(2.62 g)。(滤液可进一步重结晶以获得额外的产物材料。) ESMS($C_8H_{16}N_2O_3S$): 计算值 221.10; 实验值 221.3 (m/z): $[M+H]^+$; 1H NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) 2.22 (dd, 1H), 2.45-2.60 (m, 5H), 2.69-2.75 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 3.02 (m, 1H), 3.11 (m, 4H)。

c. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(4-甲烷磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

将上述步骤的产物 1-[(2R)-环氧乙烷基甲基]-4-甲烷磺酰基哌嗪(585 mg, 2.66 mmol)存于甲苯(12 mL)中的溶液添加于 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺(830 mg, 2.66 mmol)中并将混合物于 98℃下搅拌 16 小时。将反应混合物冷却, 在真空中浓缩, 用 50%存于水中含 10%TFA 的乙酸(12 mL)稀释并通过制备型 HPLC 纯化, 获得为白色固体的目标化合物的双三氟乙酸盐(525 mg)。(m/z): $C_{26}H_{40}N_6O_4S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 533.29; 实验值 533.5。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 2-40%MeCN/ H_2O) = 4.03 分钟; 1H NMR (CD_3OD): δ (ppm) 1.55 (d, 6H), 2.41 (m, 6H), 2.55-2.63 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 3.10-3.40 (m, 6H), 3.82 (bs, 4H), 4.16-4.24 (m, 3H), 4.66 (m, 1H), 4.99 (sept, 1H), 7.22 (t, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.62 (d, 1H), 8.12 (d, 1H)。

实例 9: 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[(S)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]-辛-3-基]酰胺的合成

a. 1-氯-(S)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙烷的制备

于室温下将(S)-表氯醇(48.0 mL, 0.612 mol)添加于哌嗪磺酰胺(87.3 g, 0.532 mol)存于乙醇(1.33 L)中的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌 18 小时并将所形成的白色固体沉淀通过过滤收集并用乙醇洗涤, 获得为白色固体的目标中间体(107.76 g), 其无需进一步纯化即可使用。(m/z): $C_8H_{17}ClN_2O_3S$ 的[M+H]⁺计算值, 257.07; 实验值 257.2。 ¹H NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) 2.37 (dd, 1H), 2.45 (dd, 1H), 2.50-2.58 (m, 4H), 2.86 (s, 3H), 3.09 (m, 4H), 3.55 (dd, 1H), 3.65 (dd, 1H), 3.84 (m, 1H), 5.09 (d, 1H)。

b. 1-[(2S)-环氧乙烷基甲基]-4-甲磺酰基哌嗪的制备

于 0°C 下将氢氧化钠(22.15 g, 0.534 mol)添加于剧烈搅拌的上述步骤的产物(118.13 g, 0.461 mol)存于 THF/水(1200 mL/ 300 mL)中的溶液中。将反应混合物搅拌 90 分钟并分层。将有机层在真空中浓缩并用二氯甲烷(1500 mL)稀释并用先前分离的水层与 1M NaOH(500 mL)的混合物洗涤。将有机层进一步用 1M NaOH(500 mL)及盐水(500 mL)洗涤、干燥(MgSO₄)、过滤并在真空中浓缩获得白色结晶固体, 其自热 EtOAc/己烷 1:1 (800 mL)重结晶获得为白色结晶固体的目标化合物(43.33 g)。(滤液可进一步重结晶以获得额外的产物材料。)(m/z): $C_8H_{16}N_2O_3S$ 的[M+H]⁺计算值, 221.10; 实验值 221.3。 ¹H NMR(DMSO-d₆): δ (ppm) 2.22 (dd, 1H), 2.45-2.60 (m, 5H), 2.69-2.75 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 3.02 (m, 1H), 3.11 (m, 4H)。

c. 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[(S)-2-羟基-3-(4-甲磺酰基哌嗪-1-基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]-辛-3-基]酰胺的合成

将上述步骤的产物 1-[(2S)-环氧乙烷基甲基]-4-甲磺酰基哌嗪(0.44 g, 9.10 mmol)存于甲苯(30 mL)中的溶液添加于 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺(2.83 g, 9.10 mmol)中并将混合物于 98°C 下搅拌 16 小时。将反应混合物冷却, 在真空中浓缩, 用 50% 存于水中含 10% TFA 的乙酸(20 mL)稀释并通过制备型 HPLC 纯化, 获得为白色固体的目标化合物的双三氟乙酸盐(1.83 g)。(m/z): $C_{26}H_{40}N_6O_4S$ 的[M+H]⁺计算值, 533.29; 实验值 533.5。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 2-40% MeCN/H₂O) = 4.03 分钟; ¹H NMR (CD₃OD): δ (ppm) 1.55 (d, 6H), 2.41 (m, 6H), 2.55-2.63 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 3.10-3.40 (m, 6H), 3.82 (bs, 4H), 4.16-4.24 (m, 3H), 4.66 (m, 1H), 4.99 (sept, 1H), 7.22 (t, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.62 (d, 1H), 8.12 (d, 1H)。

实例 10: 1-异丙基-1H-吡唑-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-氨基甲酰基甲基吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成

a. 2-氯甲基吗啉的制备

2-氯甲基吗啉是根据文献(Araki, K. 等人, *J. Med. Chem.* 1993, 36, 1356-63; Nishimura, Y 等人, *Chem & Pharm. Bull.* 1990, 38, 2190-6)中报导的程序来合成, 且其仲胺通过用(Boc)₂O(溶于甲醇中, 于室温下)处理保护成 N-Boc 基团。

b. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-(叔-丁氧基羰基)吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的制备

向实例 1 步骤(f)中所制备的 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺单三氟乙酸盐(2 g; 4.7 mmol)溶于 50 mL 乙腈中的溶液中添加碳酸钾(1.3 g, 9.4 mmol)及上述步骤的产物 2-氯甲基吗啉(1.2 g, 5.1 mmol)。将反应混合物于 85℃下搅拌 24 小时,并冷却至室温,然后用水(100 mL)骤冷。将混合物用二氯甲烷(300 mL)稀释,并转移至分液漏斗中。摇晃后,将有机层收集起来并用盐水溶液(100 mL)洗涤。将其经 MgSO_4 干燥,并在真空中蒸发,获得为浅黄色油状物的目标中间体,其无需进一步纯化即可使用。(m/z): $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_4$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值, 512.33; 实验值 512.4。

c. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的制备

将上述步骤的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-(叔-丁氧基-羰基)吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺溶于二氯甲烷(20 mL)中,并随后添加三氟乙酸。于室温下搅拌 30 分钟后,将混合物在真空中蒸发,获得浅黄色油。将其溶于 50% 乙腈水溶液(5% TFA)中,并通过制备型 HPLC 分离,获得目标中间体的三氟乙酸盐。(m/z): $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_2$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值, 412.27; 实验值 412.6。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 10-40% MeCN/ H_2O) = 3.9 分钟。

d. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(4-氨基甲酰基甲基吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成

将上述步骤的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(吗啉-2-基甲基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺(0.1 g, 0.19 mmol)溶于含二异丙基乙基胺(0.066 mL, 0.38 mmol)的乙醇(10 mL)中,并随后添加溴乙酰胺(26 mg, 0.21 mmol)。将混合物于 90℃下加热 12 小时,并在真空中浓缩,获得浅黄色油。将其分离获得目标化合物的双三氟乙酸盐。(m/z): $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值, 469.29; 实验值 469.2。保持时间(分析型 HPLC) = 2.28 分钟。

实例 11: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲烷磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成

a. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的制备

向含实例 4 步骤(a)中所制备的 3-羟基-3'-[[1-异丙基-1H-吡啶-3-基]羰基]氨基]螺[氮杂环丁烷-1,8'-(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷(0.365 g, 0.8 mmol)的乙醇(5 mL)溶液中添加存于 THF 中的甲胺(41%, 0.27 mL)。将混合物于 90℃下搅拌 3 天,并在真空中浓缩,获得目标中间体。产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。

b. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲烷磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成

向含上述步骤的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-(甲基氨基)

丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺(0.4 g, 1 mmol)的二氯甲烷(5 mL)冷溶液中添加1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯(0.18 mL, 1.2 mmol)并然后添加甲烷磺酰氯(0.082 mL, 1.05 mmol)。将混合物在冰浴中搅拌 1 小时, 然后通过水骤冷, 并在真空中浓缩。将残余物溶于 50% 乙酸水溶液中, 并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的单三氟乙酸盐。(m/z): $C_{23}H_{35}N_5O_4S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 478.25; 实验值 478.2。保持时间(分析型 HPLC) = 3.0 分钟。

实例 12: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(乙酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

向含实例 11 步骤(a)中所制备的 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-甲基氨基]丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺(0.4 g, 1 mmol)的 DMF(5 mL)溶液中添加二异丙基乙基胺(0.21 mL, 1.2 mmol)且然后添加乙酰氯(0.075 mL, 1.05 mmol)。将混合物于冰浴中搅拌 1 小时, 然后用水骤冷, 并在真空中浓缩。将残余物溶于 50% 乙酸水溶液中, 并通过制备型 HPLC 纯化, 以获得目标化合物的单三氟乙酸盐。(m/z): $C_{24}H_{35}N_5O_3$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 442.28; 实验值 442.2。保持时间(分析型 HPLC) = 2.9 分钟。

实例 13: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(甲酰基-甲基氨基)-2-羟丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

将含实例 11 步骤(a)的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[2-羟基-3-甲基氨基]丙基]-8-氮杂二环-[3.2.1]辛-3-基}酰胺(0.4 g, 1 mmol)的无水甲酸乙酯(5 mL)溶液于 80°C 下搅拌 2 小时。将混合物在真空中浓缩, 溶于 50% 乙酸水溶液, 并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的单三氟乙酸盐。(m/z): $C_{23}H_{33}N_5O_3$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 428.27; 实验值 428.2。保持时间(分析型 HPLC) = 1.4 分钟。

实例 14: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(甲烷磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

a. (S)-1-(苄基-甲基-氨基)-3-氯丙-2-醇

将 N-苄基甲胺(13.95 mL, 108.1 mmol)及(S)-2-氯甲基环氧乙烷(通常称为(5)-表氯醇)(8.48 mL, 108.1 mmol)溶于己烷(40 mL)中, 并搅拌 16 小时。然后将溶液用快速色谱(SiO_2 , 用 10% 甲醇/90% 二氯甲烷洗脱)分离。将含产物的部分浓缩, 获得为油状物的目标中间体(19.7 g)。 1H -NMR ($DMSO-d_6$, 299.96 MHz): δ (ppm) 2.01 (s, 3H), 2.2-2.4 (m, 2H), 3.21-3.5 (m, 3H), 3.53-3.6 (m, 1H), 3.65-3.75 (m, 1H), 4.95 (d, 1H), 7.0-7.25 (m, 5H)。(m/z): $C_{11}H_{16}ClNO$ 的 $[M+H]^+$ 计算值, 214.10; 实验值 214.1。

b. ((S)-3-氯-2-羟丙基)甲基氨基甲酸叔丁酯的制备

将上述步骤的产物(S)-1-(苄基-甲基-氨基)-3-氯丙-2-醇(8.4 g, 39.3 mmol)溶于乙酸乙酯(75 mL)中, 并然后添加二碳酸二叔丁酯(9.3 g, 43.23 mmol)及氢氧化钡(2.5 g)。将混合物于氢(60 个大气压)下摇晃 12 小时。将混合物通过 Celite® 垫过滤, 并在降低压力下浓缩以干燥。将所得油状物通过二氧化硅过滤, 用己烷、随后二氯甲烷、随后乙

醚洗脱。将醚层浓缩获得为油状物的目标中间体(7.1 g)。¹H-NMR (DMSO *d*₆, 299.96 MHz): δ (ppm) 1.35-1.46 (s, 9H), 2.81-2.85 (s, 3H), 2.95-3.1 (m, 1H), 3.3-3.6 (m, 3H), 3.67-3.85 (m, 1H), 5.25-5.4 (m, 1H)。(*m/z*): C₉H₁₈ClNO₃ 的[M+H-Boc]⁺计算值, 123.10; 实验值 123.1。

c. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的制备

向 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺单三氟乙酸盐(1.3 g, 3.0 mmol)溶于 12 mL 甲醇中的溶液中添加二异丙基乙基胺(1.57 mL, 9.0 mmol)及上述步骤的产物((S)-3-氯-2-羟丙基)甲基氨基甲酸叔丁酯(1 g, 4.49 mmol)。将混合物于 90℃下搅拌 32 小时, 在真空中蒸发, 获得浅黄色油状物。将其通过快速二氧化硅管柱色谱用 10% 存于二氯甲烷中的甲醇洗脱来纯化, 获得目标中间体(1.2 g)。

d. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(S)-2-羟基-3-(甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的制备

将上述步骤的产物 1-异丙基-1H 吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺溶于 10 mL 二氯甲烷中, 随后添加三氟乙酸(10 mL)。将混合物搅拌 10 分钟, 并在真空中浓缩。将浓缩物用乙醚洗涤, 在真空中干燥, 获得目标中间体的双三氟乙酸盐, 其无需进一步处理即可用于下一步骤。

e. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-羟基-3-(甲磺酰基甲基氨基)丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

向含上述步骤的产物(0.54 g, 0.86 mmol)的二氯甲烷(4 mL)冷溶液中添加 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯(0.448 mL, 3 mmol)且然后甲磺酰氯(0.07 mL, 0.9 mmol)。将混合物在冰浴中搅拌 1 小时, 然后通过水骤冷, 并在真空中浓缩。将残余物溶于 50% 乙酸水溶液中, 并通过制备型 HPLC 纯化, 获得目标化合物的单三氟乙酸盐。(*m/z*): C₂₃H₃₅N₅O₄S 的[M+H]⁺计算值, 478.25; 实验值 478.2。保持时间(分析型 HPLC) = 3.0 分钟。

实例 15: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[(吡啶-4-羰基)氨基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的合成

a. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-2-羟基-丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺的制备

将 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺(3.15 g, 10 mmol)的乙醇溶液(100 mL)于 22℃在 250 mL 烧瓶中搅拌。添加 2-环氧乙烷基甲基-异吡啶-1,3-二酮(通常称为环氧丙基-邻苯二甲酰亚胺)(3.07 g, 15 mmol)并将溶液于 80℃下加热 48 小时。将反应混合物冷却至室温并添加乙酸乙酯(200 mL)。用饱和 NaHCO₃ 及饱和 NaCl 溶液洗涤完水相后, 将有机相合并并经 MgSO₄ 干燥。过滤后, 在真空中去除挥发物, 获得为黄色固体的目标中间体(5.5 g)。(*m/z*): C₂₉H₃₉N₅O₄ 的[M+H]⁺计算值,

516.26; 实验值 516.5。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 10-70%MeCN/H₂O) = 3.18 分钟。

b. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(2-羟基-3-甲基氨基丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的制备

将上述步骤的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸{(1S,3R,5R)-8-[3-(1,3-二氧代-1,3-二氢-异吡啶-2-基)-2-羟基-丙基]-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基}酰胺(3.0 g, 5.8 mmol)的乙醇溶液(80 mL)于 22℃下在 250 mL 烧瓶中搅拌。添加无水肼溶液(3.07 g, 15 mmol)并将混合物于 80℃下加热 16 小时。将反应混合物冷却至室温并过滤以去除不溶材料。在真空中蒸发滤液获得为黄色固体的目标中间体(2.5 g)。(m/z): C₂₉H₃₉N₅O₄ 的[M+H]⁺计算值, 386.26; 实验值 386.2。保持时间(分析型 HPLC: 在 6 分钟内 10-70%MeCN/H₂O) = 1.85 分钟。

c. 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[(吡啶-4-羰基)氨基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺的合成

经微量移液管向上述步骤产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(2-羟基-3-甲基氨基丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺(42 mg, 0.10 mmol)于 0℃下冷却的搅拌二氯甲烷溶液(5 mL)中添加为固体的吡啶-4-甲酰氯(21 mg, 0.12 mmol)及二异丙基乙基胺(0.021 mL, 0.12 mmol)。将反应混合物于 0℃下搅拌 5 分钟, 然后加热至室温并搅拌 16 小时。将其在真空中浓缩, 用 50%乙酸水溶液(1.5 mL)稀释用通过制备型 HPLC(5-75%梯度)纯化, 获得为白色固体的目标化合物的单三氟乙酸盐(22 mg)。(m/z): C₂₇H₃₄N₆O₃ 的[M+H]⁺计算值, 491.28; 实验值 491.1。保持时间(分析型 HPLC) = 1.91 分钟。

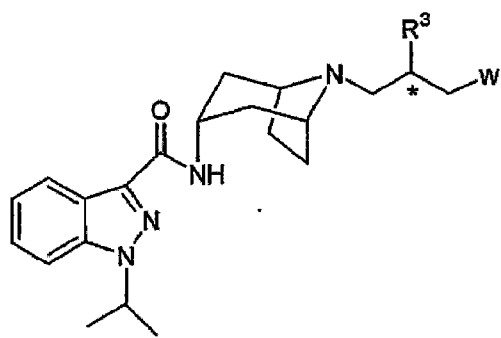
实例 16: 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸[(1S,3R,5R)-8-(3-甲酰基氨基-2-羟基丙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]酰胺的合成

经微量移液管向实例 15 的产物 1-异丙基-1H-吡啶-3-甲酸((1S,3R,5R)-8-{2-羟基-3-[(吡啶-4-羰基)氨基]丙基}-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基)酰胺(42 mg, 0.10 mmol)的 DMF 溶液(5 mL)中添加甲酸乙酯(0.01 mL, 1.2 mmol)。将反应混合物密封并于 80℃下摇晃 16 小时。将其在真空中浓缩, 用 50%乙酸水溶液(1.5mL)稀释并通过制备型 HPLC(5-75%梯度)纯化, 获得为白色固体的目标化合物的单三氟乙酸(35 mg)。(m/z): C₂₂H₃₁N₅O₃ 的[M+H]⁺计算值 414.25; 实验值 414.1。保持时间(分析型 HPLC) = 2.04 分钟。

实例 17: 本发明化合物

使用实例 1-16 的程序和其变体, 可制备表 I 至 X 的化合物并通过质谱表征。在含作为纯立体异构体制备的化合物的表中, 用星号标记的碳原子的手性绘示于以星号为标题的列中。在表 I 至 X 中的化合物中, 吡啶-甲酰胺基团相对于氮杂二环-辛烷基团呈内桥构型。

表 I



编号	R ³	*	W	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ OH	C ₂₄ H ₃₇ N ₅ O ₃	444.30	444.2
2	OH		N(CH ₃)CH ₂ C(O)NH ₂	C ₂₄ H ₃₆ N ₆ O ₃	457.29	457.2
3	OH		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ CN	C ₂₅ H ₃₆ N ₆ O ₂	453.30	453.2
4	OH		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ OCH ₃	C ₂₅ H ₃₉ N ₅ O ₃	458.32	458.3
5	OH		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ - 吡啶-2-基	C ₂₉ H ₄₀ N ₆ O ₂	505.33	505.3
6	OH		N(CH ₂ CH ₂ OH)(CH ₂) ₂ OH	C ₂₅ H ₃₉ N ₅ O ₄	474.31	474.3
7	OH		N(CH ₂ CH ₂ OCH ₃)(CH ₂) ₂ OCH ₃	C ₂₇ H ₄₃ N ₅ O ₄	502.34	502.3
8	OH		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ N(CH ₃)SO ₂ CH ₃	C ₂₆ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	535.31	535.4
9	OCH ₃		N(CH ₃)(CH ₂) ₂ CN	C ₂₆ H ₃₈ N ₆ O ₂	467.32	467.2
10	OH		N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃	C ₂₃ H ₃₅ N ₅ O ₄ S	478.25	478.2
11	OH		N(CH ₃)C(O)CH ₃	C ₂₄ H ₃₅ N ₅ O ₄	442.28	442.2
12	OH		N(CH ₃)C(O)N(CH ₃) ₂	C ₂₅ H ₃₈ N ₆ O ₃	471.31	471.2
13	OH		N(CH ₃)C(O)OCH ₃	C ₂₄ H ₃₅ N ₅ O ₄	458.28	458.2

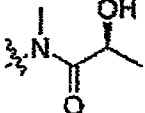
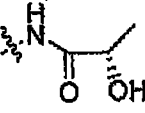
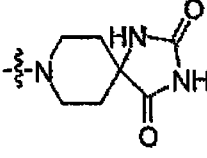
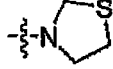
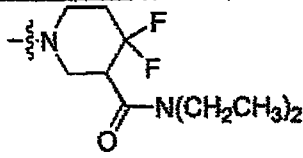
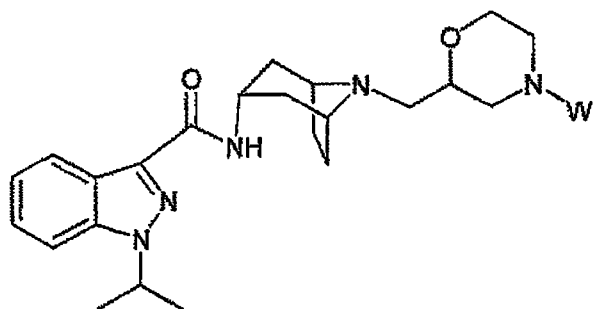
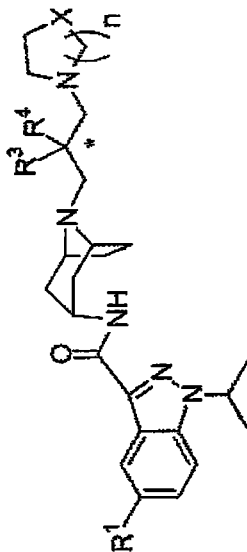
14	OH		$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})$ -吡啶-4-基	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$	505.29	505.2
15	OH		$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{H}$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_3$	428.27	428.2
16	OH		$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$	$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$	457.29	457.2
17	OH		$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$	$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_3$	443.28	443.2
18	OH			$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4$	472.29	472.2
19	OH		$\text{NHC}(\text{O})$ -吡啶-4-基	$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_3$	491.28	491.1
20	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{OCH}_3$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4$	444.26	444.2
21	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_3$	428.27	428.1
22	OH		$\text{NHS}(\text{O})_2$ -甲基咪唑-4-基	$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_4\text{S}$	530.26	530.1
23	OH		$\text{NHS}(\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$	493.26	493.1
24	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$	457.29	457.2
25	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{NHCH}_3$	$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_3$	443.28	443.2
26	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$	$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_3$	429.26	429.1
27	OH		$\text{NHC}(\text{O})\text{H}$	$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_3$	414.25	414.1
28	OH			$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4$	458.28	458.2
29	OH	R	$\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$	478.25	478.2
30	OH	S	$\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$	478.25	478.2
31	OH	R	$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_3$	442.28	442.2
32	OH	S	$\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4$	442.28	442.2
33	OH		$\text{NHS}(\text{O})_2$ -吡啶-3-基	$\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$	527.25	527.2
34	OH		$\text{NHS}(\text{O})_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$	464.24	464.2
35	OH			$\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_4$	538.32	538.4
36	OH			$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$	458.26	458.2
37	OH			$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$	589.37	589.4

表 II



编号	W'	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	$(\text{CH}_2)_2\text{NHC(O)OCH}_3$	$\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_4$	513.32	513.2
2	$(\text{CH}_2)_3\text{S(O)}_2\text{N(CH}_3)_2$	$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$	561.32	561.2
3	$(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$	$\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_3$	470.32	470.2
4	$(\text{CH}_2)_2$ -吡咯-1-基	$\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_2$	505.33	505.2
5	$(\text{CH}_2)_2\text{N(CH}_3)\text{S(O)}_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$	547.31	547.2
6	$(\text{CH}_2)_2\text{OC(O)N(CH}_3)_2$	$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_4$	527.34	527.3
7	$(\text{CH}_2)_2\text{C(O)NHCH}_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_3$	511.34	511.3
8	$(\text{CH}_2)_2\text{C(O)NH}_2$	$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_3$	483.31	483.2
9	$(\text{CH}_2)_3\text{C(O)N(CH}_3)_2$	$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_3$	525.36	525.3
10	$(\text{CH}_2)_2\text{OH}$	$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_3$	456.30	456.2
11	$(\text{CH}_2)_2\text{CF}_3$	$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2$	508.29	508.2
12	$(\text{CH}_2)_2\text{CN}$	$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_2$	465.30	465.2
13	$\text{CH}_2\text{C(O)N(CH}_3)_2$	$\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_3$	497.33	497.2
14	CH_2CN	$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_2$	451.28	451.2
15	$\text{CH}_2\text{C(O)NH}_2$	$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$	469.29	469.2
16	$\text{CH(CN)C(O)N(CH}_3)_2$	$\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_3$	522.32	522.2
17	$\text{S(O)}_2\text{CH}_3$	$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$	490.25	490.2
18	C(O)OCH_3	$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4$	470.28	470.2
19	$\text{S(O)}_2\text{CF}_3$	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$	544.22	544.1
20	C(O)CH_3	$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_3$	454.28	454.2

表 III

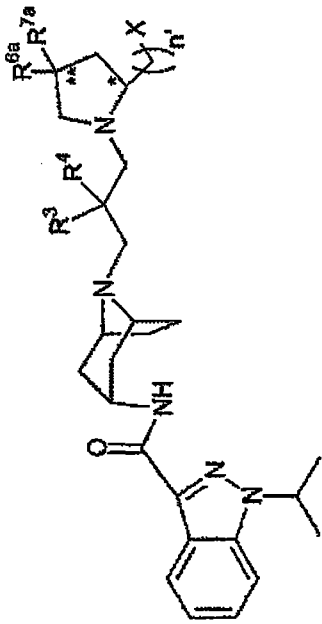


编号	R¹	R³	*	R⁴	n	X	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	H	OH		H	2	S	C ₂₃ H ₃₇ N ₅ O ₂ S	472.28	472.2
2	H	OH		H	2	N-吡啶-2-基	C ₃₀ H ₄₁ N ₇ O ₂	532.34	532.3
3	H	OH		H	2	NCH ₂ -吡啶-4-基	C ₃₁ H ₄₃ N ₇ O ₂	546.36	546.3
4	H	OH		H	2	N-噻啶-2-基	C ₂₉ H ₄₀ N ₈ O ₂	533.34	533.3
5	H	OH		H	2	N-吡啶-4-基	C ₃₀ H ₄₁ N ₇ O ₂	532.34	532.3
6	H	OH		H	2	NC(O)-四氢呋喃-2-基	C ₃₀ H ₄₄ N ₆ O ₄	553.35	553.3
7	H	OH		H	2	NCH ₂ C(O)N(CH ₃) ₂	C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₃	540.37	540.3
8	H	OH		H	2	NCH ₂ -四氢呋喃-2-基	C ₃₀ H ₄₆ N ₆ O ₃	539.37	539.3
9	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	533.29	533.3
10	H	OH		H	2	NC(O)OCH ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.3
11	H	OH		H	2	NCH ₂ C(O)-吗啉-4-基	C ₂₈ H ₄₇ N ₇ O ₄	582.38	582.3
12	H	OH		H	3	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.4
13	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2

编号	R ¹	R ³	*	R ⁴	n	X	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
14	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH ₂ -环己烷	C ₃₂ H ₅₀ N ₆ O ₄ S	615.37	615.4
15	H	OH		H	2	NS(O) ₂ N(CH ₃) ₂	C ₂₇ H ₄₃ N ₇ O ₄ S	562.32	562.4
16	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH(CH ₃) ₂	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.4
17	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH ₂ S(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₆ S ₂	611.27	611.2
18	H	OH		H	2	NC(O)N(CH ₃) ₂	C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₃	526.35	526.4
19	H	OCH ₃		H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2
20	H	OH	R	H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	533.29	533.5
21	H	OH		H	2	NC(O)OCH ₃	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₄	513.32	513.4
22	H	OH		H	2	S(O) ₂	C ₂₅ H ₃₇ N ₅ O ₄ S	504.27	504.2
23	H	OH	S	H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	533.29	533.5
24	H	OH		H	2	NS(O) ₂ CH ₂ CF ₃	C ₂₇ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₄ S	601.28	601.2
25	H	OH		CH ₃	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.6
26	Br	OH	S	H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₆ H ₃₉ BrN ₆ O ₄ S	611.20	611.4
27	H	OH		CH ₃	2	NC(O)OCH ₃	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.2
28	H	OC(O)N(CH ₃) ₂		H	2	NC(O)-四氢呋喃-2-基	C ₃₃ H ₄₉ N ₇ O ₅	624.39	624.4
29	H	OC(O)N(CH ₃) ₂		H	2	S(O) ₂	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₅ S	575.30	575.2
30	H	OC(O)N(CH ₃) ₂		H	2	NC(O)OCH ₃	C ₃₀ H ₄₅ N ₇ O ₅	584.36	584.2
31	H	OC(O)N(CH ₃) ₂		H	2	NC(O)CH ₃	C ₃₀ H ₄₅ N ₇ O ₄	568.36	568.4

编号	R ¹	R ³	*	R ⁴	n	X	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
32	H	OC(O)N(CH ₃) ₂		H	2	NC(O)N(CH ₃) ₂	C ₃₁ H ₄₈ N ₈ O ₄	597.39	597.4
33	H	OH		H	2	NC(O)NH ₂	C ₂₆ H ₃₉ N ₇ O ₃	498.32	498.2
34	H	OH		H	2	NC(O)NHCH ₃	C ₂₇ H ₄₁ N ₇ O ₃	512.34	512.4
35	H	OC(O)NHCH ₃	R	H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₅ S	590.31	590.6
36	H	OC(O)NHCH ₃	S	H	2	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₅ S	590.31	590.6

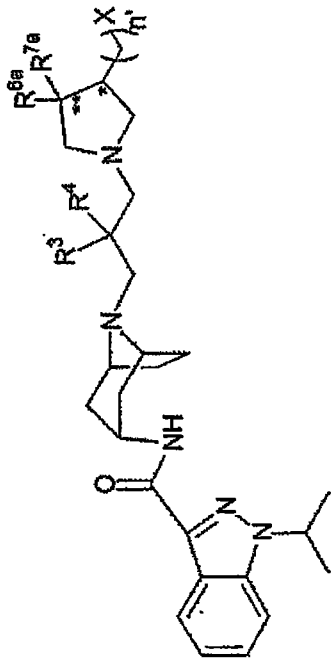
表 IV



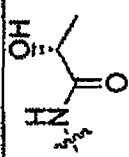
编号	R ³	R ⁴	n'	X	*	**	R ^{6a}	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	H	0	C(O)N(CH ₃) ₂	S		H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511.34	511.3
2	OH	H	1	OCH ₃	S		H	H	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484.33	484.3
3	OH	H	0	吡啶-4-基			H	H	C ₃₀ H ₄₀ N ₆ O ₂	517.33	517.3

编号	R ³	R ⁴	n'	X	*	**	R ^{6a}	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
4	OH	H	0	C(O)NH ₂	R		H	H	C ₂₆ H ₃₈ N ₆ O ₃	483.31	484.3
5	OH	H	0	C(O)NH-C(CH ₃) ₃	S		F	F	C ₃₀ H ₄₄ F ₂ N ₆ O ₄	575.35	575.2
6	OH	H	0	C(O)N(CH ₂ CH ₃) ₂	S	S	F	H	C ₃₀ H ₄₅ FN ₆ O ₃	557.36	557.2
7	OH	H	0	C(O)N(CH ₂ CH ₃) ₂	S		F	F	C ₃₀ H ₄₄ F ₂ N ₆ O ₃	575.35	575.4
8	OH	H	0	C(O)NHC(CH ₃) ₃	S	S	F	H	C ₃₀ H ₄₅ FN ₆ O ₃	557.36	557.4
9	OCH ₃	H	0	C(O)NH ₂	R		H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
10	OH	CH ₃	0	C(O)NH ₂	R		H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
11	OH	CH ₃	0	C(O)N(CH ₃) ₂	R		H	H	C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₃	525.36	525.4
12	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	0	C(O)NH ₂	R		H	H	C ₂₉ H ₄₃ N ₇ O ₄	554.35	554.2
13	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	0	C(O)N(CH ₃) ₂	S		H	H	C ₃₁ H ₄₇ N ₇ O ₄	582.38	582.4
14	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	1	OH	S		H	H	C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₅	541.35	541.4

表 V



编号	R ³	R ⁴	n'	X	*	**	R ^{6a}	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	H	0	N(CH ₃)C(O)CH ₃			H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511.34	511.3
2	OH	H	0	NHC(O)CH ₃	R		H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
3	OH	H	0	NHC(O)CH ₃	S		H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
4	OH	H	0	NHS(O) ₂ CH ₃	R		H	H	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	533.29	533.2
5	OH	H	0	NHS(O) ₂ CH ₂ CH ₃	R		H	H	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2
6	OH	H	0	NHS(O) ₂ N(CH ₃) ₂	R		H	H	C ₂₇ H ₄₃ N ₇ O ₄ S	562.32	562.2
7	OH	H	0	NHS(O) ₂ CH ₂ C ₆ H ₁₁	R		H	H	C ₃₂ H ₅₀ N ₆ O ₄ S	615.37	615.4
8	OH	H	1	NHS(O) ₂ CH ₃			H	H	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2
9	OH	H	1	NHS(O) ₂ CH ₂ CH ₃			H	H	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.2
10	OH	H	1	NHS(O) ₂ N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₈ H ₄₅ N ₇ O ₄ S	576.34	576.4

编号	R ³	R ⁴	n'	X	*	**	R ^{6a}	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
11	OH	H	1	NHS(O) ₂ CH ₂ S(O) ₂ CH ₃			H	H	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₆ S ₂	625.29	625.2
12	OCH ₃	H	0	N(CH ₃)C(O)CH ₃			H	H	C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₃	525.36	525.4
13	OH	H	1	NHC(O)OCH ₃			H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.4
14	OH	H	0	NHC(O)OCH ₃			H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₄	513.32	513.4
15	OH	H	0	NHC(O)N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₃	526.35	526.4
16	OH	H	0	NHC(O)CH ₃			H	H	C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
17	OH	H	0	NHC(O)CF ₃	R		H	H	C ₂₇ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₃	551.30	551.2
18	OH	H	0	NHC(O)CF ₃	S		H	H	C ₂₇ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₃	551.30	551.2
19	OH	H	0	NHC(O)CF ₃	S		H	H	C ₂₇ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₃	551.30	551.2
20	OH	H	0	N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃			H	H	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2
21	OH	H	0	N(CH ₃)S(O) ₂ N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₈ H ₄₅ N ₇ O ₄ S	576.34	576.2
22	OH	CH ₃	0	N(CH ₂ CH ₃)C(O)CH ₃			H	H	C ₃₀ H ₄₆ N ₆ O ₃	539.37	539.4
23	OH	H	0	N(CH ₃)C(O)OCH ₃			H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.2
24	OH	H	0	N(CH ₃)C(O)N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₃	540.37	540.4
25	OH	H	1	NHC(O)N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₃	540.37	540.4
26	OH	H	0	NHS(O) ₂ CH ₃			H	H	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	533.29	533.2
27	OH	H	0				H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.4

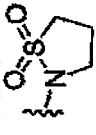
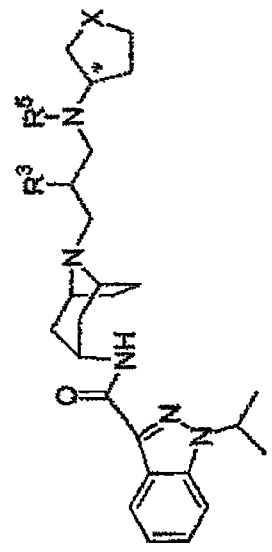
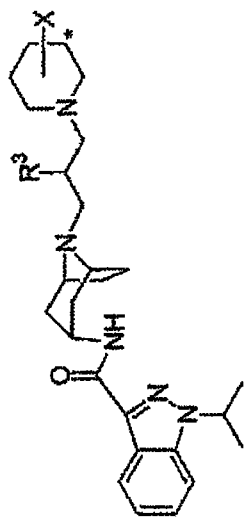
编号	R ³	R ⁴	n'	X	*	**	R ^{6a}	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
28	OH	H	0	NHS(O) ₂ N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₇ H ₄₃ N ₇ O ₄ S	562.32	562.4
29	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	0	N(CH ₂ CH ₃)C(O)CH ₃			H	H	C ₃₂ H ₄₉ N ₇ O ₄	596.39	596.2
30	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	0	N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃			H	H	C ₃₀ H ₄₇ N ₇ O ₅ S	618.35	618.4
31	OH	H	0	N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃	S	S	H	OH	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₅ S	563.30	563.2
32	OH	H	0	N(CH ₃)C(O)OCH ₃	S	S	H	OH	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₅	543.33	543.4
33	OH	H	0	N(CH ₃)C(O)N(CH ₃) ₂	S	S	H	OH	C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₄	556.36	556.4
34	OH	H	0	OC(O)N(CH ₃) ₂			H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.2
35	OH	H	0				H	H	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	559.31	559.3

表 VI



编号	R ³	R ⁵	*	X	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	CH ₃		S(O) ₂	C ₂₈ H ₃₉ N ₅ O ₄ S	518.28	518.2
2	OH	CH ₃		NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.4
3	OH	CH ₃		NC(O)OCH ₃	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.4
4	OH	CH ₃		NC(O)N(CH ₃) ₂	C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₃	540.37	540.4
5	OH	CH ₃		NS(O) ₂ CH ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.8
6	OC(O)N(CH ₃) ₂	CH ₃		NS(O) ₂ CH ₃	C ₃₀ H ₄₇ N ₇ O ₅ S	618.35	618.4
7	OH	CH ₂ CH ₂ OH		S(O) ₂	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₅ S	548.29	548.2
8	OH	CH ₃		NC(O)CH ₃	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511.34	511.4
9	OH	CH ₃	R	NS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2

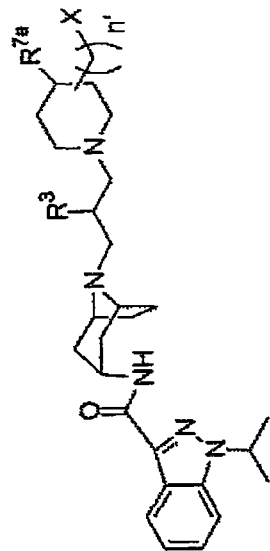
表 VII



编号	R ³	X	*	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	4-OH		C ₂₆ H ₁₉ N ₅ O ₃	470.32	470.3
2	OH	4-吡咯烷-1-基		C ₃₀ H ₄₆ N ₆ O ₂	523.38	523.3
3	OH	4-N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃		C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.2
4	OH	3-NHS(O) ₂ CH ₃	S	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.4
5	OH	3-NHS(O) ₂ CH ₂ -S(O) ₂ CH ₃	S	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₆ S ₂	625.29	625.2
6	OH	3-C(O)NH ₂		C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	497.4
7	OH	4-NHS(O) ₂ CH ₃		C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.2
8	OH	3-NHC(O)CH ₃		C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511.34	511.4
9	OH	3-NHC(O)OCH ₃		C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₄	527.34	527.4
10	OH	3-NHC(O)N(CH ₃) ₂		C ₂₉ H ₄₃ N ₇ O ₃	540.37	540.4
11	OH	3-N(CH ₃)C(O)CH ₃		C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₃	525.36	525.4
12	OH	3-N(CH ₃)C(O)OCH ₃		C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₄	541.35	541.4

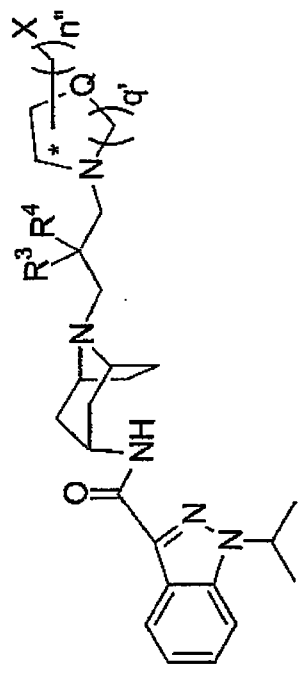
编号	R ³	X	*	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
13	OH	3-N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃		C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.4
14	OH	3-OC(O)N(CH ₃) ₂		C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₄	541.35	541.4
15	OH	3-NHS(O) ₂ CH ₃		C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	547.31	547.4
16	OH	3-NHS(O) ₂ N(CH ₃) ₂	S	C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₄ S	576.34	576.3
17	OH	3-NHS(O) ₂ CH(CH ₃) ₂	S	C ₂₉ H ₄₆ N ₆ O ₄ S	575.34	575.3
18	OH	3-NHS(O) ₂ CH ₂ CH ₃	S	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.2
19	OC(O)N(CH ₃) ₂	3-C(O)N(CH ₂ CH ₃) ₂		C ₃₄ H ₅₃ N ₇ O ₄	624.43	624.4
20	OC(O)N(CH ₃) ₂	3-C(O)NH ₂		C ₃₀ H ₄₅ N ₇ O ₄	568.36	568.4
21	OC(O)N(CH ₃) ₂	4-OH		C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₄	541.35	541.4
22	OC(O)N(CH ₃) ₂	4-(2-氧代吡咯烷-1-基)		C ₃₃ H ₄₉ N ₇ O ₄	608.39	608.4
23	OH	3-N(CH ₃)S(O) ₂ N(CH ₃) ₂		C ₂₉ H ₄₇ N ₇ O ₄ S	590.35	590.4
24	OH	3-N(CH ₃)C(O)N(CH ₃) ₂		C ₃₀ H ₄₇ N ₇ O ₃	554.38	554.4
25	OH	2-C(O)NH ₂		C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₃	497.33	498.2
26	OH	3-NHS(O) ₂ N(CH ₃) ₂		C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₄ S	576.34	576.2

表 VIII



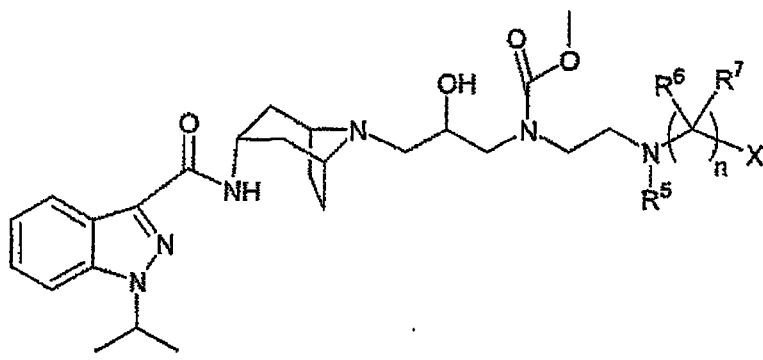
编号	R ³	(CH ₂) _n	X	R ^{7a}	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	2-CH ₂	OH	H	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484.33	484.3
2	OH	2-(CH ₂) ₂	OH	H	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498.35	498.3
3	OH	4-(CH ₂) ₂	OH	H	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498.35	498.3
4	OH	4-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	OH	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₅ S	577.32	577.2
5	OCH ₃	4-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	H	C ₂₉ H ₄₆ N ₆ O ₄ S	575.35	575.2
6	OH	4-CH ₂	N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃	H	C ₂₉ H ₄₆ N ₆ O ₄ S	575.34	575.4
7	OH	4-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	H	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₄ S	561.32	561.2
8	OC(O)N(CH ₃) ₂	4-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	H	C ₃₁ H ₄₆ N ₇ O ₅ S	632.36	632.4
9	OC(O)N(CH ₃) ₂	2-CH ₂	OH	H	C ₃₀ H ₄₆ N ₆ O ₄	555.37	555.4

表 IX

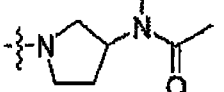
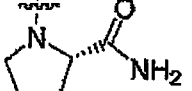
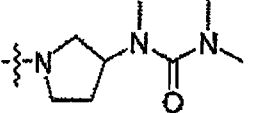
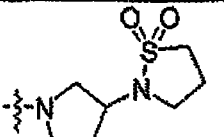


编号	R ³	R ⁴	q'	Q	*	(CH ₂) _n	X	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1	OH	H	2	S		键	3-C(O)N(CH ₂ CH ₃) ₂	C ₃₀ H ₄₆ N ₆ O ₃ S	571.35	571.3
2	OH	H	1	S	R	键	4-C(O)N(CH ₂ CH ₃) ₂	C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₃ S	557.33	557.4
3	OH	H	2	O		2-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	C ₂₇ H ₄₂ N ₆ O ₅ S	563.30	563.2
4	OH	H	2	O		3-CH ₂	N(CH ₃)S(O) ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₅ S	577.32	577.2
5	OH	CH ₃	2	O		2-CH ₂	NHS(O) ₂ CH ₃	C ₂₈ H ₄₄ N ₆ O ₅ S	577.32	577.2
6	OH	H	2	O		3-CH ₂	OH	C ₂₆ H ₃₉ N ₅ O ₄	486.31	486.4
7	OC(O)N(CH ₃) ₂	H	2	O		3-CH ₂	OH	C ₂₉ H ₄₄ N ₆ O ₅	557.35	557.4

表 X



编号	$-N(R^5)(CR^6R^7)_n-X$	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
1		$C_{33}H_{51}N_7O_5$	626.41	626.4
2		$C_{33}H_{51}N_7O_6$	642.40	642.4
3		$C_{32}H_{49}N_7O_5$	612.39	612.4
4		$C_{33}H_{52}N_8O_5$	641.42	641.4
5		$C_{31}H_{49}N_7O_6S$	648.36	648.4
6		$C_{31}H_{48}N_8O_5$	613.38	613.4
7		$C_{31}H_{47}N_7O_5$	598.37	598.4
8		$C_{31}H_{47}N_7O_6$	614.37	614.4
9		$C_{31}H_{50}N_8O_6S$	663.37	663.4

编号	$-N(R^5)(CR^6R^7)_n-X$	分子式	计算 [M+H]	实验 [M+H]
10		$C_{32}H_{49}N_7O_5$	612.39	612.4
11		$C_{30}H_{45}N_7O_5$	584.36	584.1
12		$C_{33}H_{52}N_8O_5$	641.42	641.4
13		$C_{32}H_{49}N_7O_6S$	660.36	660.4
14	$-N(CH_3)(CH_2)_2NHS(O)_2CH_3$	$C_{29}H_{47}N_7O_6S$	622.34	622.4

实例 18:对 5-HT_{4(C)}人类受体的放射性配体结合分析

a. 膜制备物 5-HT_{4(C)}

使经人类 5-HT_{4(C)}受体 cDNA 稳定转染的 HEK-293(人类胚肾)细胞(Bmax =约 6.0 pmol/mg 蛋白质, 如使用 [³H]-GR113808 膜放射性配体结合分析所测定)在 T-225 烧瓶中在 Dulbecco 氏改良依格培养基 (Modified Eagles Medium) (DMEM)中于 5%CO₂ 及增湿培养器中在 37℃下生长, 所述培养基包含 4,500 mg/L D-葡萄糖及吡哆醇盐酸盐 (GIBCO-Invitrogen 公司, Carlsbad CA: 目录编号 11965)且补充有 10%胎牛血清(FBS) (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 10437)、2 mM L-谷氨酰胺及(100 单位)青霉素-(100 μg)链霉素/ml (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 15140)。通过向所述培养基中添加 800 μg/mL 遗传霉素(GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 10131)使细胞在持续选择压力下生长。

细胞生长至大约 60-80%铺满(< 35 继代培养传代)。于收获前 20-22 小时, 将细胞洗涤两次并补给无血清 DMEM。膜制备的所有步骤皆在冰上实施。通过轻度机械搅拌使细胞单层浮起, 再使用 25 mL 吸液管使细胞分离 (trituration)。通过以 1000 rpm (5 分钟)离心来收集细胞。

对于膜制备而言, 将细胞沉淀物重新悬浮于冰冷的 50 mM pH 为 7.4 的 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸(HEPES)(膜制备缓冲液)(40 mL/自 30-40 T225 烧瓶获得的所有细胞)并使用均质破碎器(设定 19,2 x 10 s)在冰上均质化。将所得匀浆于 4℃下以 1200 g 离心 5 分钟。将沉淀物丢弃并以 40,000 g (20 分钟)离心上清液。通过用膜制备缓冲液重新悬浮并以 40,000 g (20 分钟)离心来将沉淀物洗涤一次。将最终沉淀物重新悬浮于 50 mM pH 为 7.4 的 HEPES(分析缓冲液)(相当于 1 个 T225 烧瓶/1 mL)中。所述膜悬浮液

的蛋白质浓度通过 Bradford 方法(Bradford, 1976)测定。将膜以等份试样冷冻存储于 -80°C 下。

b. 放射性配体结合分析

放射性配体结合分析是在 1.1 mL 96-深孔聚丙烯分析板(Axygen)中以 400 μ L 的总分析体积实施, 其中在含 0.025% 牛血清蛋白(BSA)的 50 mM HEPES (pH 为 7.4) 中包含 2 μ g 膜蛋白。用于测定放射性配体 K_d 值的饱和结合研究是使用 [3 H]-GR113808 (Amersham 公司, Bucks, UK: 目录编号 TRK944; 比活性约 82 Ci/mmol) 以 8-12 个介于 0.001 nM - 5.0 nM 之间的不同浓度来实施。用于测定化合物 pK_i 值的置换分析是用 [3 H]-GR113808 以 0.15 nM 及 11 个介于 10 pM - 100 μ M 之间的不同化合物浓度来实施。

所容纳的测试化合物为 10 mM 存于 DMSO 中的母液且其以 400 μ M 稀释至 50 mM 含 0.1% BSA 的 HEPES (pH 7.4, 25°C 下) 中, 并随后在相同缓冲液中进行连续稀释 (1:5)。在 1 μ M 未标记 GR113808 的存在下测定非特异性结合。将分析物于室温下培养 60 分钟, 并随后通过在预浸于 0.3% 聚乙烯亚胺中的 96-孔 GF/B 玻璃纤维滤板(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)上快速过滤终止结合反应。用过滤缓冲液(冰冷 50mM HEPES, pH 7.4)将滤板洗涤三次以去除未结合放射活性。将板干燥, 将 35 μ L Microscint-20 液体闪烁流体(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)添加于各个孔中并在 Packard Topcount 液体闪烁计数器(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)中对板计数。

通过非线性回归分析利用 GraphPad Prism 软件包(GraphPad Software 公司, San Diego, CA)使用针对单一位置竞争的 3 参数模型来分析结合数据。确定 BOTTOM(曲线最小值)为非特异性结合的数值, 如在 1 μ M GR113808 的存在下所测定。在 Prism 中自最佳拟合 IC_{50} 值及放射性配体的 K_d 值使用以下 Cheng-Prusoff 公式(Cheng 及 Prusoff, *Biochemical Pharmacology*, 1973, 22, 3099-108)计算测试化合物的 K_i 值: $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$, 其中 $[L]$ = [3 H]-GR113808 浓度。结果以 $-\log_{10}K_i$ 值 (pK_i) 表示。

在此分析中具有较高 pK_i 值的测试化合物对 5-HT₄ 受体具有较高结合亲和性。在此分析中所测试的本发明化合物具有介于约 6.9 至约 9.5 之间、通常介于约 7.0 至约 8.6 之间的 pK_i 值。

实例 19: 对 5-HT_{3A} 人类受体的放射性配体结合分析: 测定受体亚型选择性

a. 膜制备物 5-HT_{3A}

经人类 5-HT_{3A} 受体 cDNA 稳定转染的 HEK-293(人类胚肾)细胞是自 Michael Bruess 博士(University of Bonn, GDR)获得(B_{max} = 约 9.0 pmol/mg 蛋白质, 如使用 [3 H]-GR65630 膜放射性配体结合分析所测定)。使细胞在 T-225 烧瓶或细胞工厂中在 50% Dulbecco 改良依格培养基(DMEM) (GIBCO-Invitrogen 公司, Carlsbad, CA: 目录编号 11965)及补充有 10% 热灭活胎牛血清(FBS) (Hyclone, Logan, UT: 目录编号 SH30070.03)及(50 单位)青霉素-(50 μ g)链霉素/ml (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 15140)的 50% Ham's F12 (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 11765)中于 5% CO₂ 中及增

湿培养器中在 37°C 下生长。

细胞生长至大约 70-80% 铺满(< 35 继代培养传代)。膜制备的所有步骤皆在冰上实施。为收获细胞, 将培养基抽出并将细胞用无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -的 Dulbecco 磷酸盐缓冲盐水溶液(dPBS)冲洗。通过轻缓的机械搅拌使细胞单层上升。通过以 1000 rpm (5 分钟) 离心来收集细胞。膜制备的随后步骤遵循上述用于表达 5-HT_{4(C)}受体的膜的方案。

b. 放射性配体结合分析

放射性配体结合分析是在 96-孔聚丙烯分析板中以 200 μL 的总分析体积实施, 其中在含 0.025% BSA 分析缓冲液的 50 mM HEPES (pH 为 7.4) 中包含 1.5-2 μg 膜蛋白。用于测定放射性配体 K_d 值的饱和结合研究是使用 [³H]-GR65630 (PerkinElmer Life Sciences 公司, Boston, MA: 目录编号 NET1011, 比活性约 85 Ci/mmol) 以 12 个介于 0.005 nM 至 20 nM 之间的不同浓度来实施。用于测定化合物 pK_i 值的置换分析是用 [³H]-GR65630 以 0.50 nM 及 11 个介于 10 pM - 100 μM 之间的不同化合物浓度来实施。所容纳的测试化合物为 10 mM 存于 DMSO 中的母液 (参见第 3.1 节), 且其以 400 μM 稀释至 50 mM 含 0.1% BSA 的 HEPES (pH 7.4, 25°C 下) 中, 并随后在相同缓冲液中进行连续(1:5)稀释。在 10 μM 未标记 MDL72222 的存在下测定非特异性结合。将分析物于室温下培养 60 分钟, 然后通过预浸于 0.3% 聚乙烯亚胺中的 96-孔 GF/B 玻璃纤维滤板(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)上快速过滤终止结合反应。用过滤缓冲液(冰冷 50mM HEPES, pH 7.4)将滤板洗涤三次以去除未结合放射活性。将板干燥, 将 35 μL Microscint-20 液体闪烁流体(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)添加于各个孔中并在 Packard Topcount 液体闪烁计数器(Packard BioScience 公司, Meriden, CT)中对板计数。

使用上述非线性回归程序分析结合数据以确定 K_i 值。确定 BOTTOM(曲线最小值)为非特异性结合的数值, 如在 10 μM MDL72222 的存在下所测定。Cheng-Prusoff 公式中的数量[L]定义为 [³H]-GR65630 浓度。

5-HT₄ 受体亚型相对于 5-HT₃ 受体亚型的选择性计算为 $K_i(5\text{-HT}_{3A})/K_i(5\text{-HT}_{4(C)})$ 的比率。在此分析中测试的本发明化合物通常具有介于约 10 至约 40,000 之间、更通常介于约 100 至约 4000 之间的 5-HT₄/5-HT₃ 受体亚型选择性。

实例 20: 利用表达人类 5-HT_{4(C)}受体的 HEK-293 细胞进行全细胞 cAMP 聚集闪烁板分析

在此分析中, 测试化合物的功能效力是通过测量当表达 5-HT₄ 受体的 HEK-293 细胞接触不同浓度的测试化合物时所产生环状 AMP 的数量来测定。

a. 细胞培养

制备以下列两种不同密度表达所述受体的经克隆人类 5-HT_{4(C)}受体 cDNA 稳定转染的 HEK-293(人类胚肾)细胞: (1)以约 0.5-0.6 pmol/mg 蛋白质的密度, 如使用 [³H]-GR113808 膜放射性配体结合分析所测定, 及(2)以约 6.0 pmol/mg 蛋白质的密度。使细胞在 T-225 烧瓶中在 Dulbecco 改良依格培养基(DMEM)中在 5% CO₂ 中和增湿培

养器中于 37°C 下生长, 所述培养基包含 4,500 mg/L D-葡萄糖且补充有 10%胎牛血清 (FBS) (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 10437)及(100 单位)青霉素-(100 µg)链霉素/ml (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 15140)。通过向所述培养基中添加 800 µg/mL 遗传霉素(GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 10131)使细胞在持续选择压力下生长。

b. 细胞制备

使细胞生长至大约 60-80%铺满。在分析前 20-22 小时, 将细胞洗涤两次并补给含 4,500 mg/L D-葡萄糖(GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 11965)的无血清 DMEM。为收获细胞, 将培养基抽出并将 10 mL Versene (GIBCO-Invitrogen 公司: 目录编号 15040)添加于各个 T-225 烧瓶中。将细胞于室温下培养 5 分钟并随后通过机械搅拌自烧瓶移出。将细胞悬浮液转移至含等体积经预热(37°C)dPBS 的离心管中并以 1000 rpm 离心 5 分钟。将上清液丢弃并将沉淀物重新悬浮于经预热(37°C)刺激缓冲液(10mL 等量/2-3 个 T-225 烧瓶)中。记录此时间并将其标记为时间 0。利用 Coulter 计数器对所述细胞计数(计数超过 8 µm, 烧瓶产量为 $1-2 \times 10^7$ 个细胞/烧瓶)。将细胞以 5×10^5 个细胞/毫升的浓度重新悬浮于经预热(37°C)刺激缓冲液(如闪烁板套组中所提供)中并于 37°C 下预培养 10 分钟。

在放射免疫分析方法中使用闪烁板腺苷酸环化酶活化分析系统利用 ^{125}I -cAMP (SMP004B, PerkinElmer Life Sciences 公司, Boston, MA)根据制造商的说明书来实施 cAMP 分析。

如上所述使细胞生长并进行制备。在此分析中最终细胞浓度为 25×10^3 个细胞/孔且最终分析体积为 100 µL。所容纳的测试化合物为 10 mM 存于 DMSO 中的母液, 其以 400 µM 稀释至 50 mM 含 0.1%BSA 的 HEPES (pH 7.4, 25°C 下)中, 并随后在相同缓冲液中进行连续(1:5)稀释。利用 11 个介于 10 pM 至 100 µM(最终分析浓度)之间的不同化合物浓度实施环状 AMP 聚集分析。计算各个板上的 5-HT 浓度-响应曲线(10 pM 至 100 µM)。将细胞边振荡边于 37°C 下培养 15 分钟并通过向各个孔中添加 100 µl 冰冷检测缓冲液(如闪烁板套组中所提供)来使反应终止。将板密封并于 4°C 下培养过夜。通过闪烁近似光谱使用 Topcount (Packard BioScience 公司, Meriden, CT)定量结合放射活性。

根据制造商用户手册中所提供的说明书自 cAMP 标准曲线外推得出每毫升反应物所产生的 cAMP 的量。通过非线性回归分析利用 GraphPad Prism 软件包使用 3 参数 S 形剂量响应曲线(斜率限制为 1)分析数据。效能数据报告为 pEC_{50} 值, 即 EC_{50} 值的底数为 10 的对数的负值, 其中 EC_{50} 是 50%最大响应时的有效浓度。

在此分析中展示较高 pEC_{50} 值的测试化合物对于激动 5-HT₄ 受体具有较高效能。在此分析中测试的本发明化合物(例如在密度为约 0.5-0.6 pmol/mg 蛋白质的细胞系(1)中)具有介于约 6.5 至约 9.0 之间、通常介于约 7.5 至约 8.5 之间的 pEC_{50} 值。

实例 21: 口服生物利用度的活体外模型: Caco-2 渗透分析

实施 Caco-2 渗透分析以模拟口服投与后测试化合物穿过肠并到达血流中的能力。

测定存于溶液中的测试化合物透过设计为模仿人类小肠单层紧密连接的细胞单层的速率。

Caco-2(结肠, 腺癌; 人类)细胞是自 ATCC (American Type Culture Collection; Rockville, MD)获得。为进行渗透研究, 将细胞以 63,000 个细胞/cm² 的密度接种在预先润湿的 transwell 聚碳酸酯滤膜(Costar; Cambridge, MA)上。21 天后在培养物中形成细胞单层。在 transwell 板中进行细胞培养之后, 将含所述细胞单层的膜与所述 transwell 板分开并插入扩散室(Costar; Cambridge, MA)中。将所述扩散室插入装配有循环外部恒温调节的 37°C 水以供温度控制的加热器中。空气歧管向扩散室的每一半输送 95% O₂/5% CO₂ 并跨越所述细胞单层产生层流图案; 此可有效减少未搅动边界层。

利用浓度为 100 μM 的测试化合物实施所述渗透研究且利用 ¹⁴C-甘露醇监视所述单层的完整性。所有试验皆于 37°C 下实施 60 分钟。在 0、30 及 60 分钟时自所述室的提供侧及接受侧取样。通过 HPLC 或液体闪烁计数分析试样以获得测试化合物及甘露醇浓度。计算渗透系数(K_p), 以 cm/sec 表示。

在此分析中, 认为大于约 10 × 10⁻⁶ cm/sec 的 K_p 值表示合意生物利用度。在此分析中测试的本发明化合物通常展示介于约 5 × 10⁻⁶ cm/sec 与约 50 × 10⁻⁶ cm/sec 之间、更通常介于约 15 × 10⁻⁶ cm/sec 与约 40 × 10⁻⁶ cm/sec 之间的 K_p 值。

实例 22: 在大鼠中的药物动力学研究

在 pH 介于约 5 与约 6 之间的 0.1% 乳酸中制备测试化合物的水溶液调配物。以 2.5 mg/kg 的剂量经静脉内投与(IV)或以 5 mg/kg 的剂量通过口服管饲(PO)给雄性斯普拉-道来氏大鼠 (Sprague-Dawley rat) (CD 株, Charles River 实验室, Wilmington, MA) 投用测试化合物。IV 投药体积为 1 mL/kg 且对于 PO 投与为 2 mL/kg。在服药前、及服药后 2 分钟(仅 IV)、5 分钟、15 分钟及 30 分钟时且在 1 小时、2 小时、4 小时、8 小时及 24 小时时自动采集连续血样。通过具有 1 ng/mL 定量下限的液体色谱-质谱分析(LC-MS/MS) (MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA)测定血浆中测试化合物的浓度。

通过非房室分析(模型 201 用于 IV 且模型 200 用于 PO)使用 WinNonlin (4.0.1 版, Pharsight, Mountain View, CA)评估标准药物动力学参数。测试化合物血浆浓度对时间的曲线中的最大值表示为 C_{max}。利用线性梯形法则计算自投药时间至最后可测量浓度之间的浓度对时间曲线下面积(AUC(0-t))。口服生物利用度(F(%)) (即, PO 投与的 AUC(0-t)与 IV 投与的 AUC(0-t)的剂量标准化比率)如下计算:

$$F(\%) = \text{AUC}_{\text{PO}} / \text{AUC}_{\text{IV}} \times \text{剂量}_{\text{IV}} / \text{剂量}_{\text{PO}} \times 100\%$$

认为在此分析中参数 C_{max}、AUC(0-t)及 F(%)展示较大值的测试化合物当经口投与时具有更大生物利用度。在此分析中所测试本发明化合物通常具有介于约 0.05 至约 0.45 μg/mL 之间、更通常介于约 0.10 至约 0.35 μg/mL 之间的 C_{max} 值; 及介于约 0.05 至约 0.9 μg·hr/mL 之间、通常介于约 0.25 至约 0.8 μg·hr/mL 之间的 AUC(0-t)值。例如, 实例 2 的化合物在大鼠模型中具有 0.055 μg/mL 的 C_{max} 值、0.427 μg·hr/mL 之间的

AUC(0-t)值及约 30%的口服生物利用度(F(%))。

尽管已参照本发明的具体实施例阐述了本发明，但熟悉该项技术者应了解，可进行各种改变且可替换等效物，此并不背离本发明的真实精神及范围。此外，可进行各种修改以使具体情况、材料、物质的组成、过程、过程步骤适合本发明的目的、精神及范围。所有这些修改形式均涵盖于随附权利要求书的范围中。此外，上文所引用的所有出版物、专利及专利文献的全文皆如同单独以引用方式并入一般以引用的方式并入本文中。