(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101790529 B
(45)授权公告日 2012.09.05

(21)申请号 200880104662.6

(22)申请日 2008.08.26

(30)优先权数据
60/966,364 2007.08.27 US
61/051,065 2008.05.07 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2010.02.26

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2008/010100 2008.08.26

(87)PCT申请的公布数据
WO2009/029256 EN 2009.03.05

(73)专利权人 施万制药
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 大介·罗兰·齐藤 丹尼尔·D·朗
普里西拉·范迪克
蒂莫西·J·丘奇 姜岚
布赖恩·弗里曼

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任公司 11287
代理人 刘国伟

(51)Int.Cl.
C07D 451/02(2006.01)
A61K 31/46(2006.01)
A61P 1/04(2006.01)
A61P 1/08(2006.01)

(56)对比文件
WO 2004/089909 A1,2004.10.21, 说明书第1-38页.
WO 2004/089908 A2,2004.10.21, 说明书第1-70页.
Zhijian Lu et al..《Substituted Bridged Phenyl Piperidines:Orally Active Growth Hormone Secretagogues》.《BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS》.2003, 第13卷(第10期),1817-1820.

审查员 张建宏

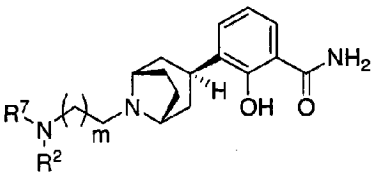
权利要求书 3 页 说明书 32 页

(54)发明名称

作为μ类阿片受体拮抗剂的8-氮杂双环[3.2.1]辛基-2-羟基苯甲酰胺化合物

(57)摘要

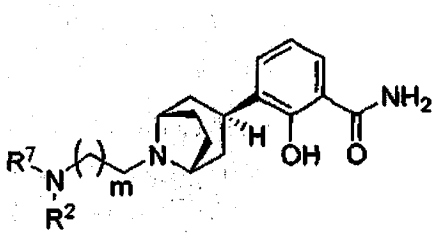
本发明提供式(I)的8-氮杂双环[3.2.1]辛基-2-羟基苯甲酰胺化合物:其中R^2、R^7和m定义于说明书中;或其医药上可接受的盐,所述化合物为μ类阿片受体的拮抗剂。本发明还提供包含所述化合物的医药组合物、使用所述化合物治疗与μ类阿片受体活性有关的病状的方法、和用于制备所述化合物的方法和中间体。



(I)

CN 101790529 B

1. 一种式 (I) 化合物，



(I)

其中：

R^7 是氢或 $-CH_2-R^1$；

R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基或苯基，其中 C_{3-12} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代；

R^2 选自 $-C(O)R^3$ 和 $-C(O)R^8$；

R^3 是经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$、$-S(O)_2R^b$ 和 $-C(O)R^c$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；

R^8 是任选地经 1 个或 2 个卤基取代的苯基；

R^a 是氢或 C_{1-3} 烷基；

R^b 是 C_{1-3} 烷基；

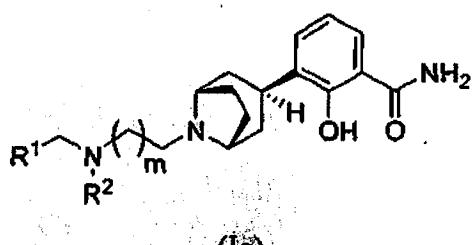
R^c 选自氢、C_{1-3} 烷基和苄基；且

m 为 1 或 2；

条件是当 R^7 为氢时，R^2 为 $-C(O)R^8$；

或其医药上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述式 (I) 化合物是式 (Ia) 的化合物：



(Ia)

其中：

R^2 是 $-C(O)R^3$；且

R^3 独立为经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$ 和 $-S(O)_2R^b$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；

或其医药上可接受的盐。

3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 R^1 是 C_{4-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基，其中 C_{3-6} 环烷基任选地经 1 个或 2 个氟取代。

4. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 R^1 是 1- 乙基丙基、叔丁基、环己基或 4,4- 二氟环己基。

5. 如权利要求 2 所述的化合物，其中，R^3 是经 1 个或 2 个 -OH 或经一个 $-S(O)_2CH_3$ 取代的 C_{1-3} 烷基。

6. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述化合物选自：

3- 内 -(8-{2-[((S)-2,3- 二羟基丙酰基)-(2- 乙基丁基)- 氨基] 乙基}-8- 氮杂双环

[3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-2-[(2- 乙基丁基)-(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-2-[(2- 乙基丁基)-(2- 甲烷磺酰基乙酰基) 氨基] 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟环己基甲基)-(2- 羟基乙酰基)- 氨基] 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-2-[(2,2- 二甲基丙基)-(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-{2-[((S)-(2,3- 二羟基丙酰基)-(2,2- 二甲基丙基) 氨基] 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

3- 内 -(8-{2-[环己基甲基 -(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

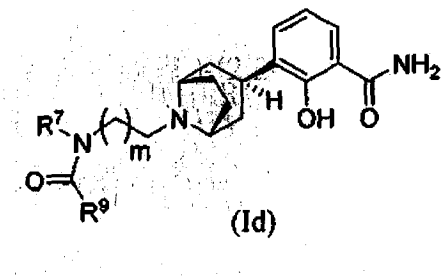
3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟环己基甲基)-((S)-2,3- 二羟基 -1- 氧代 - 丙基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;和

3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟环己基甲基)-(2- 甲烷磺酰基乙酰基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 ;

和其医药上可接受的盐。

7. 一种医药组合物,其包含如权利要求 1 至 6 中任一权利要求所述的化合物和医药上可接受的载体。

8. 一种制备下式 (Id) 化合物或其医药上可接受的盐的方法,



(Id)

其中

R^7 是氢或 $-CH_2-R^1$;

R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基或苯基,其中 C_{3-12} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代 ;

R^9 是 R^3 或 R^8 ;

R^3 是经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$、$-S(O)_2R^b$ 和 $-C(O)R^c$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基 ;

R^8 是任选地经 1 个或 2 个卤基取代的苯基 ;

R^a 是氢或 C_{1-3} 烷基 ;

R^b 是 C_{1-3} 烷基 ;

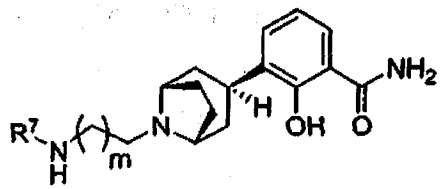
R^c 选自氢、C_{1-3} 烷基和苄基 ;且

m 为 1 或 2 ;

条件是当 R^7 为氢时,R^9 为 R^8 ;

所述方法包含：

(a) 使下式 (II) 的化合物：



(II)

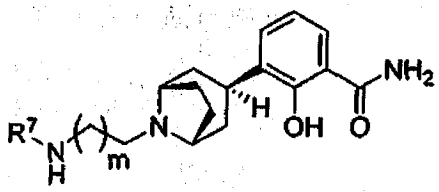
与式 $R^{9a}C(O)-L$ 的化合物反应，其中 R^{9a} 为 R^3、R^3 的经保护形式或 R^8，且 L 代表离去基团及

(b) 任选地使所述反应的产物去保护，以获得式 (Id) 化合物或其医药上可接受的盐。

9. 如权利要求 8 所述的方法，其中 $R^{9a}C(O)-L$ 代表羧酸。

10. 如权利要求 8 或 9 所述的方法，其中 R^7 为 $-CH_2-R^1$，R^9 为 R^3，且 R^{9a} 为 R^3 或 R^3 的经保护形式。

11. 一种式 (II) 化合物，



(II)

其中

R^7 是氢或 $-CH_2-R^1$；

R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基或苯基，其中 C_{3-12} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代；且

m 为 1 或 2。

12. 如权利要求 11 所述的化合物，其中 R^7 为 $-CH_2-R^1$。

13. 一种如权利要求 1 至 6 中任一权利要求所述的化合物用于制备医药的用途，所述医药用于治疗 μ 类阿片诱导的大肠功能障碍或手术后肠梗阻。

14. 一种如权利要求 7 所述的医药组合物用于制备药物的用途，所述药物用于治 疗哺乳动物的一种医学症状，所述医学症状可利用 μ 类阿片受体拮抗剂治疗而缓解。

15. 如权利要求 14 所述的用途，其中所述医学病状选自 μ 类阿片诱导的大肠功能障碍和手术后肠梗阻。

作为 μ 类阿片受体拮抗剂的 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛基 -2- 羟基苯甲酰胺化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及用作 μ 类阿片受体拮抗剂的 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛烷化合物。本发明还涉及包含所述化合物的医药组合物、使用所述化合物治疗或改善由 μ 类阿片受体活性介导的医学病状的方法、和用于制备所述化合物的方法及中间体。

背景技术

[0002] 现在通常已了解，内源性类阿片在胃肠生理学中起到复杂作用。类阿片受体在整个体内表达于中枢神经系统和包括胃肠 (GI) 道在内的周边区域二者中。

[0003] 以吗啡为典型实例的对类阿片受体起激动剂作用的化合物是用于治疗中等至严重疼痛的镇痛治疗的主要支持。不幸地，类阿片镇痛药的使用通常与对胃肠道的不利作用相关，其统称为类阿片诱导的大肠功能障碍 (OBD)。OBD 包括诸如便秘、胃排空时间减少、腹部疼痛及不适、胃气胀、恶心和胃食管反流等症状。中枢和周边类阿片受体二者很可能涉及使用类阿片后胃肠传输减缓。然而，有证据表明，胃肠道中的周边类阿片受体是造成类阿片对 GI 功能不利作用的主要原因。

[0004] 由于类阿片的副作用主要由周边受体调节，而痛觉丧失源于中枢，所以周边选择性拮抗可潜在地阻断不期望的胃肠相关副作用而不会干扰痛觉丧失的有益中枢作用或导致中枢神经系统戒断症状。

[0005] 在三种主要类阿片受体亚型（表示为 μ、δ 和 κ）中，认为大多数临床使用的类阿片镇痛药是经由 μ 类阿片受体活化以使痛觉丧失并改变 GI 蠕动来起作用。因此，预期周边选择性 μ 类阿片拮抗剂可用于治疗类阿片诱导的大肠功能障碍。优选地药剂在活体外将展示主要结合至 μ 类阿片受体且在活体内在 GI 动物模型中有活性。

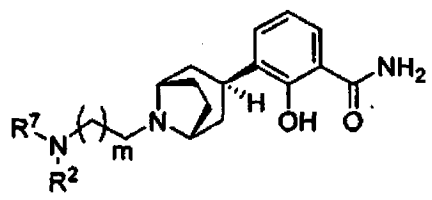
[0006] 手术后肠梗阻 (POI) 是腹部或其它手术后出现的胃肠道蠕动减少的病症。POI 的症状类似于 OBD 的症状。而且，由于手术患者在手术期间和之后通常用类阿片镇痛药治疗，因此 POI 的持续时间可因与类阿片使用有关的 GI 蠕动减少而增加。因此预计用于治疗 OBD 的 μ 类阿片拮抗剂在治疗 POI 中也有益。

发明内容

[0007] 本发明提供具有 μ 类阿片受体拮抗剂活性的新颖化合物。

[0008] 因此，本发明提供式 (I) 化合物：

[0009]



(I)

[0010] 其中：

[0011] R^7 是氢或 $-CH_2-R^1$；

[0012] R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基、或苯基，其中 C_{3-12} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代；

[0013] R^2 选自 $-C(O)R^3$、$-C(O)NHR^4$、$-C(O)OR^5$、$-S(O)_2R^6$、和 $-C(O)R^8$；

[0014] R^3 是经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$、$-S(O)_2R^b$、和 $-C(O)R^c$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；

[0015] R^4 和 R^5 各自独立为经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$ 和 $-S(O)_2R^b$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；

[0016] R^6 是 C_{1-3} 烷基；

[0017] R^8 是任选地经 1 个或 2 个卤基取代的苯基；

[0018] R^a 是氢或 C_{1-3} 烷基；

[0019] R^b 是 C_{1-3} 烷基；

[0020] R^c 选自氢、C_{1-3} 烷基和苄基；且

[0021] m 为 1 或 2；

[0022] 条件是当 R^7 为氢时，R^2 为 $-C(O)R^8$；

[0023] 或其医药上可接受的盐。

[0024] 本发明还提供包含本发明化合物和医药上可接受载剂的医药组合物。

[0025] 本发明还提供治疗与 μ 类阿片受体活性有关的疾病或病状（例如胃肠道蠕动减少的病症，例如类阿片诱导的大肠功能障碍和手术后肠梗阻）的方法，所述方法包含向哺乳动物投与治疗有效量的本发明化合物或医药组合物。

[0026] 本发明化合物也可用作研究工具，即，用以研究生物系统或试样、或用以研究其它化学化合物的活性。因此，在其另一方法方面中，本发明提供使用式 (I) 化合物、或其医药上可接受的盐或溶剂化物作为研究工具用于研究生物系统或试样或用于发现具有 μ 类阿片受体活性的新化合物的方法，所述方法包含使生物系统或试样与本发明化合物接触并确定由所述化合物对所述生物系统或试样所造成的影响。

[0027] 在单独和独特方面中，本发明还提供本文所述的合成方法和中间体，其用于制备本发明化合物。

[0028] 本发明还提供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医药中的用途，所述调配物或医药用于治疗哺乳动物与 μ 类阿片受体活性有关的疾病或病状，例如，胃肠道蠕动减少的病症。

附图说明

具体实施方式

[0029] 本发明提供式 (I) 的 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛烷 μ 类阿片受体拮抗剂、或其医药上可接受的盐或溶剂化物。以下取代基和数值均意欲提供本发明各方面的代表性实例。这些代表性数值意欲进一步界定所述方面而并非欲排除其它数值或限制本发明的范围。

[0030] 在特定方面中，R^7 为氢或 $-CH_2-R^1$。

[0031] 在又一特定方面中，R^7 为氢。

[0032] 在特定方面中，R^7 为 $-CH_2-R^1$，其中 R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基、或苯基，其中 C_{3-12}

环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代。

[0033] 在又一特定方面中，R^7 为 $-CH_2-R^1$，其中 R^1 是 C_{4-6} 烷基、C_{3-6} 环烷基、或苯基，其中 C_{3-6} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个氟取代。

[0034] 在其它特定方面中，R^7 为 $-CH_2-R^1$，其中 R^1 是 C_{4-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基，其中 C_{3-6} 环烷基任选地经 1 个或 2 个氟取代。在此方面中的代表性 R^1 基团包括（但不限于）1- 乙基丙基、叔丁基、环戊基、环己基、苯基、4,4- 二氟环己基、4- 氟环己基、2,4- 二氟苯基、和诸如此类。在再一方面中，R^7 为 $-CH_2-R^1$，其中 R^1 是 1- 乙基丙基、叔丁基、环己基、或 4,4- 二氟环己基。

[0035] 在特定方面中，R^2 选自 $-C(O)R^3$、$-C(O)NHR^4$、$-C(O)OR^5$、$-S(O)_2R^6$ 和 $-C(O)R^8$。

[0036] 在又一特定方面中，R^2 选自 $-C(O)R^3$、$-C(O)NHR^4$、$-C(O)OR^5$、和 $-S(O)_2R^6$。

[0037] 在又一特定方面中，R^2 选自 $-C(O)R^3$、$-C(O)NHR^4$、和 $-S(O)_2R^6$。

[0038] 在特定方面中，R^2 是 $-C(O)R^3$，其中 R^3 是经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$、$-S(O)_2R^b$、和 $-C(O)R^c$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基。

[0039] 在特定方面中，R^2 是 $-C(O)R^3$，其中 R^3 是经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$ 和 $-S(O)_2R^b$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基。在再一特定方面中，R^2 是 $-C(O)R^3$，其中 R^3 是经 1 个或 2 个 -OH 或经一个 $-S(O)_2CH_3$ 取代的 C_{1-3} 烷基。在此方面中的代表性 R^2 基团包括（但不限于）$-C(O)CH_2OH$、$-C(O)CH(OH)CH_2OH$、和 $-C(O)CH_2S(O)_2CH_3$。在再一特定方面中，R^2 是 $-C(O)R^3$，其中 R^3 是经 $-C(O)R^c$ 取代的 C_{1-3} 烷基。

[0040] 在又一特定方面中，R^2 是 $-C(O)R^8$，其中 R^8 是任选地经 1 个或 2 个选自氟及氯的取代基取代的苯基。

[0041] 在特定方面中，R^a 是氢或 C_{1-3} 烷基。在又一特定方面中，R^a 是氢或甲基。在又一特定方面中，R^a 是氢。

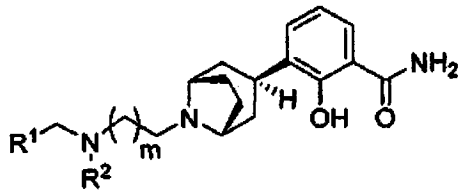
[0042] 在特定方面中，R^b 是 C_{1-3} 烷基。在另一特定方面中，R^b 为甲基。

[0043] 在特定方面中，R^c 是氢、C_{1-3} 烷基、或苄基。在又一特定方面中，R^c 是氢或苄基。

[0044] 在特定方面中，m 为 1 或 2。在另一特定方面中 m 为 1。

[0045] 在又一方面中，本发明提供式 (Ia) 化合物：

[0046]



(Ia)

[0047] 其中：

[0048] R^1 是 C_{4-10} 烷基、C_{3-12} 环烷基、或苯基，其中 C_{3-12} 环烷基和苯基各自任选地经 1 个或 2 个卤基取代；

[0049] R^2 选自 $-C(O)R^3$、$-C(O)NHR^4$、$-C(O)OR^5$、和 $-S(O)_2R^6$；

[0050] R^3、R^4 及 R^5 各自独立为经 1 个或 2 个选自 $-OR^a$ 和 $-S(O)_2R^b$ 的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；

[0051] R^6 是 C_{1-3} 烷基；

[0052] R^a 是氢或 C_{1-3} 烷基；

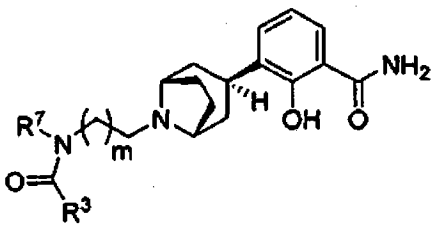
[0053] R^b 为 C_{1-3} 烷基；且

[0054] m 为 1 或 2；

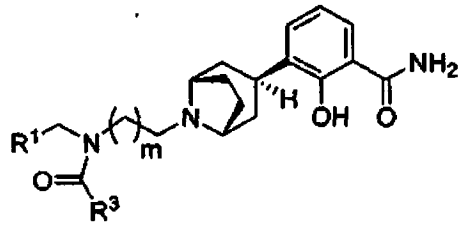
[0055] 或其医药上可接受的盐。

[0056] 在又一方面中，本发明提供式 (Ib) 或 (Ic) 的化合物：

[0057]



(Ib)



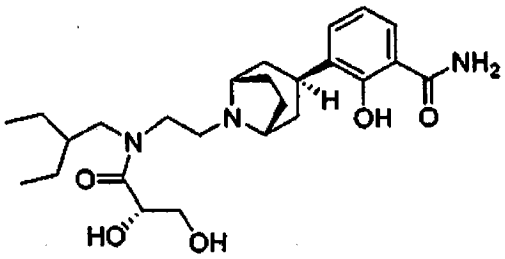
(Ic)

[0058] 其中 R^1、R^3、R^7 及 m 取以上所定义的任何值。

[0059] 本发明进一步提供本文实例 1-26 的化合物。

[0060] 针对实例 1 的化合物阐述本文所用化学命名约定：

[0061]



[0062] 其为 3- 内 -(8-{2-[((S)-2,3- 二羟基丙酰基)-(2- 乙基丁基)- 氨基] 乙基}-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺。另一选择为，使用自动命名 (AutoNom) 软件 (MDL 信息系统有限公司 (MDL Information Systems, GmbH)，德国法兰克福 (Frankfurt, Germany)) 中所执行的国际纯化学与应用化学联盟 (IUPAC) 约定，将所述化合物表示为 3-((1R,3R,5S)-8-{2-[((S)-2,3- 二羟基 - 丙酰基)-(2- 乙基丁基) 氨基] 乙基}-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺。因此，本文所用名称对应于国际纯化学与应用化学联盟 (IUPAC) 符号，其中经取代苯基相对于明确指出的 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛烷基团为内定向。本发明所有化合物皆为内定向。为了方便，本文所用术语“8- 氮杂双环辛烷”是指 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛烷。

[0063] 除相对于双环基团的内立体化学以外，本发明化合物在取代基 R^1 和 R^3 中可包含手性中心。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、和所述异构体的富立体异构体混合物。当指明化合物的立体化学 (包括相对于 8- 氮杂双环辛烷基团的定向及取代基 R^1 和 / 或 R^3 中的手性二者) 时，所属领域的技术人员应了解，除非另有说明，否则本发明组合物中可存在少量其它立体异构体，前体条件是所述组合物作为整体的任何效用不会因所述其它异构体的存在而消失。

[0064] 定义

[0065] 当阐述本发明化合物、组合物和方法时，除非另有说明，否则以下术语具有以下意义。

[0066] 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 至 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、2,2- 二甲基丙基、2- 甲基丁基、3- 甲基丁基、2- 乙基丁基、2,2- 二甲基戊基、2- 丙基戊基和诸如此类。

[0067] 术语“环烷基”是指可为单环或多环的单价饱和或部分饱和的碳环基团。除非另有定义，否则所述环烷基通常包含 3 至 12 个碳原子。代表性环烷基包括（例如）环丙基 (c- 丙基）、环丁基 (c- 丁基）、环戊基 (c- 戊基）、环己基 (c- 己基）、环庚基 (c- 庚基）、环辛基 (c- 辛基）、金刚烷基、环己烯基、和诸如此类。

[0068] 术语“卤基”是指氟、氯、溴或碘。

[0069] 术语“化合物”是指以合成方式制备或以任何其它方式（例如，通过活体内新陈代谢）制备的化合物。

[0070] 术语“治疗有效量”是指当投与给需要治疗的患者时足以实施治疗的量。

[0071] 本文所用术语“治疗”是指诸如哺乳动物等患者（尤其人类）的疾病、病症或医学病状的治疗，其包括：

[0072] (a) 防止出现所述疾病、病症或医学病状，即，患者的预防性治疗；

[0073] (b) 改善所述疾病、病症或医学病状，即，消除患者的所述疾病、病症或医学病状或使其消退，其包括抵抗其它治疗剂的作用；

[0074] (c) 抑制所述疾病、病症或医学病状，即，减缓或阻止患者所述疾病、病症或医学病状的发展；或

[0075] (d) 缓解患者所述疾病、病症或医学病状的症状。

[0076] 术语“医药上可接受的盐”是指自酸或碱所制得投与给患者（例如哺乳动物）可接受的盐。所述盐可衍生自医药上可接受的无机或有机酸和医药上可接受的碱。通常，本发明化合物的医药上可接受的盐是自酸制得。

[0077] 衍生自医药上可接受酸的盐包括（但不限于）乙酸、己二酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、氢溴酸、氢氯酸、乳酸、马来酸、苹果酸、苯乙醇酸、甲磺酸、粘酸、硝酸、草酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸、昔萘酸 (xinafoic acid)(1- 羟基 -2- 萘甲酸）、萘 -1,5- 二磺酸和诸如此类的盐。

[0078] 术语“氨基保护基”是指适用于防止在氨基氮处发生不期望反应的保护基。代表性氨基保护基包括（但不限于）甲酰基；酰基，例如烷酰基，例如乙酰基和三氟乙酰基；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- 芴基甲氧基羰基 (Fmoc)；芳基甲基，例如苄基 (Bn)、三苯甲基 (Tr) 和 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) 和叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBDMS)；和诸如此类。

[0079] 通用合成程序

[0080] 本发明化合物可自易于购得的起始材料使用以下一般方法及程序来制备。尽管以下方案中阐述本发明的具体方面，但所属领域的技术人员应了解，本发明的所有方面均可使用本文所述的方法或通过使用其它所属领域的技术人员所习知的方法、试剂和起始材料来制备。还应了解，其中给出典型或优选的工艺条件（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，否则还可使用其它工艺条件。最佳反应条件可随所用

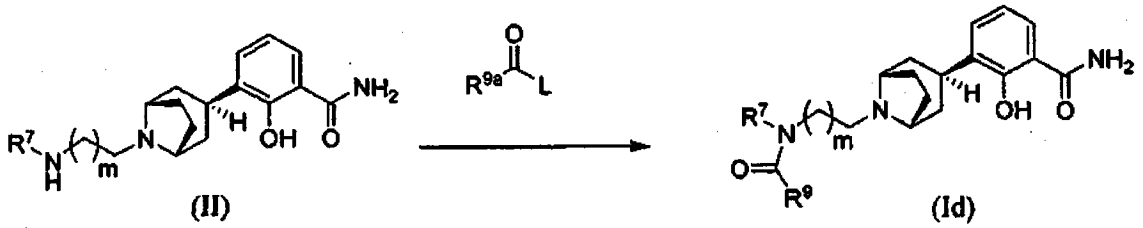
特定反应物或溶剂而变化，但这些条件可由所属领域的技术人员通过常规最优化程序来确定。

[0081] 此外，如所属领域的技术人员应了解，可能需要常规保护基以防止某些官能团发生不期望反应。用于具体官能团的适宜保护基以及保护及去保护的适宜条件的选择已为此项技术习知。例如，格林 (T.W.Greene) 和伍慈 (G.M.Wuts) 的有机合成中的保护基 (Protecting Groups in Organic Synthesis)（第三版，威利 (Wiley)，纽约 (New York)，1999）及本文所列举的参考文献中阐述若干保护基和其引入及去除。

[0082] 在一种合成方法中，本发明式 (Id) 化合物（其中 R^2 定义为 $-C(O)R^3$ 或 $-C(O)R^8$）是如方案 A 中所绘示制备。（除非另有说明，否则以下方案中所示的取代基和变量具有以上所提供的定义）。

[0083] 方案 A

[0084]



[0085] 在方案 A 中，R^9 代表 R^3 或 R^8，R^{9a} 代表 R^3、R^3 的经保护形式或 R^8，且 L 代表离去基团（例如氯），或 $R^{9a}C(O)-L$ 代表羧酸或羧酸盐。例如，为制备其中 R^3 为 $-CH_2OH$ 的化合物，有用试剂是乙酰氧基乙酰氯，其中 R^{9a} 是 $-CH_2OC(O)CH_3$ 且 L 是氯。当 R^{9a} 是 R^3 的经保护形式时，反应还包括去保护步骤（其未展示）。

[0086] 方案 A 的反应的最佳反应条件可随试剂 $R^{9a}C(O)-L$ 的化学性质而变，如所属领域的技术人员所习知。例如，当 L 是卤基离去基团（例如氯）时，所述反应通常通过使中间体 (II) 与介于约 1 当量与约 2 当量之间的式 $R^{9a}C(O)-L$ 化合物在惰性稀释剂（例如二氯甲烷）中接触来实施。任选地，所述反应是在碱（例如介于约 2 当量与约 6 当量之间的碱，例如 N,N- 二异丙基乙胺或三乙胺）的存在下实施。适宜惰性稀释剂还包括 1,1,2,2- 四氯乙烷、四氢呋喃、二甲基乙酰胺和诸如此类。反应通常在约 -50℃至约 30℃范围内的温度下实施约 1 刻钟至约 16 小时，或直至所述反应实质上完成为止。

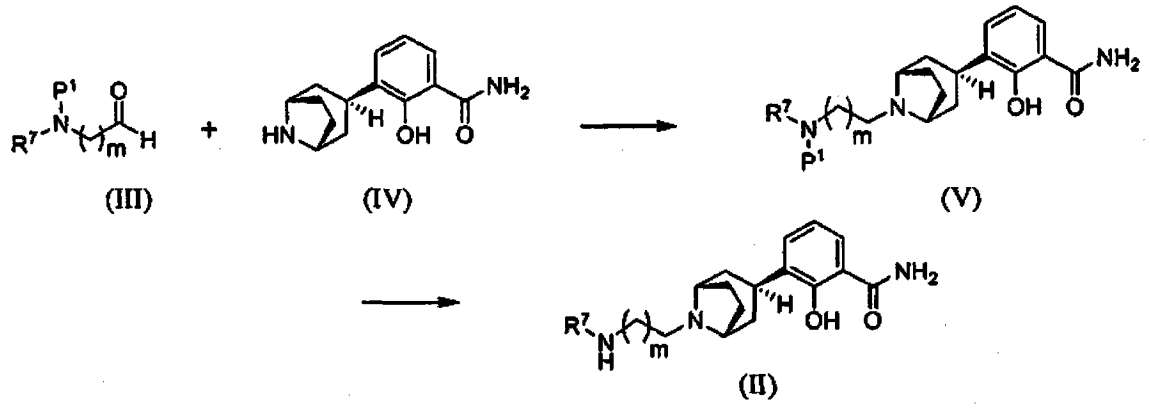
[0087] 当试剂 $R^{9a}C(O)-L$ 是羧酸或羧酸盐时，反应通常通过在惰性稀释剂中任选地在过量碱的存在下（二者皆如以上所述）且在介于约 1 当量与约 6 当量之间的活化剂（例如，N,N- 羰基二咪唑 (CDI)、六氟磷酸 N,N,N′,N′- 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基）脲鎓盐 (HATU) 或 1-(3- 二甲基氨基丙基)-3- 乙基碳化二亚胺 (EDC)）的存在下使中间体 (II) 与介于约 1 当量与约 5 当量之间的酸 $R^{9a}C(O)OH$ 或羧酸盐（例如 $R^{9a}C(O)OLi$）接触来实施。反应通常在约 25℃至约 100℃范围内的温度下实施约 2 小时至约 16 小时，或直至所述反应实质上完成为止。

[0088] 其中 R^2 是 $-C(O)NHR^4$、$-C(O)OR^5$ 或 $S(O)_2R^6$ 的本发明化合物可通过类似方法分别使用试剂 $R^4-N=C=O$、$R^5OC(O)-L'$ 和 $R^6-S(O)_2-L'$（其中 L′ 代表卤基离去基团）代替 $R^{9a}C(O)-L$ 来制备。

[0089] 用于制备式 (II) 中间体的一般程序绘示于方案 B 中。

[0090] 方案 B

[0091]

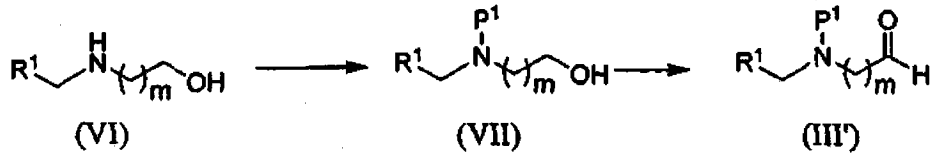


[0092] 其中 P^1 代表氨基保护基。在方案 B 中，中间体 (IV) 通过与醛 (III) 反应还原 N- 烷基化来提供经保护中间体 (V)。所述反应通常是通过在适宜惰性稀释剂（例如二氯甲烷）中在介于约 0.9 当量与约 2 当量之间的还原剂的存在下使中间体 (IV) 与介于约 1 当量与约 2 当量之间的式 (III) 醛接触来实施。所述反应通常在约 0℃至周围温度范围内的温度下实施约半个小时至约 3 小时，或直至所述反应实质上完成为止。典型还原剂包括三乙酰氧基硼氢化钠、硼氢化钠和氰基硼氢化钠。产物 (V) 通过常用方法分离。(V) 的去保护使用标准程序。例如，当保护基 P^1 为 Boc 时，(V) 通常用酸（例如三氟乙酸）处理以提供中间体 (II)。当保护基为苄氧基羰基 (Cbz) 时，(V) 可通过利用（例如）碳上氢氧化钯催化剂催化氢化来去保护。

[0093] 制备式 (III′) 中间体（其中 R^7 为 $-CH_2-R^1$）的实例性方法绘示于方案 C 中：

[0094] 方案 C

[0095]

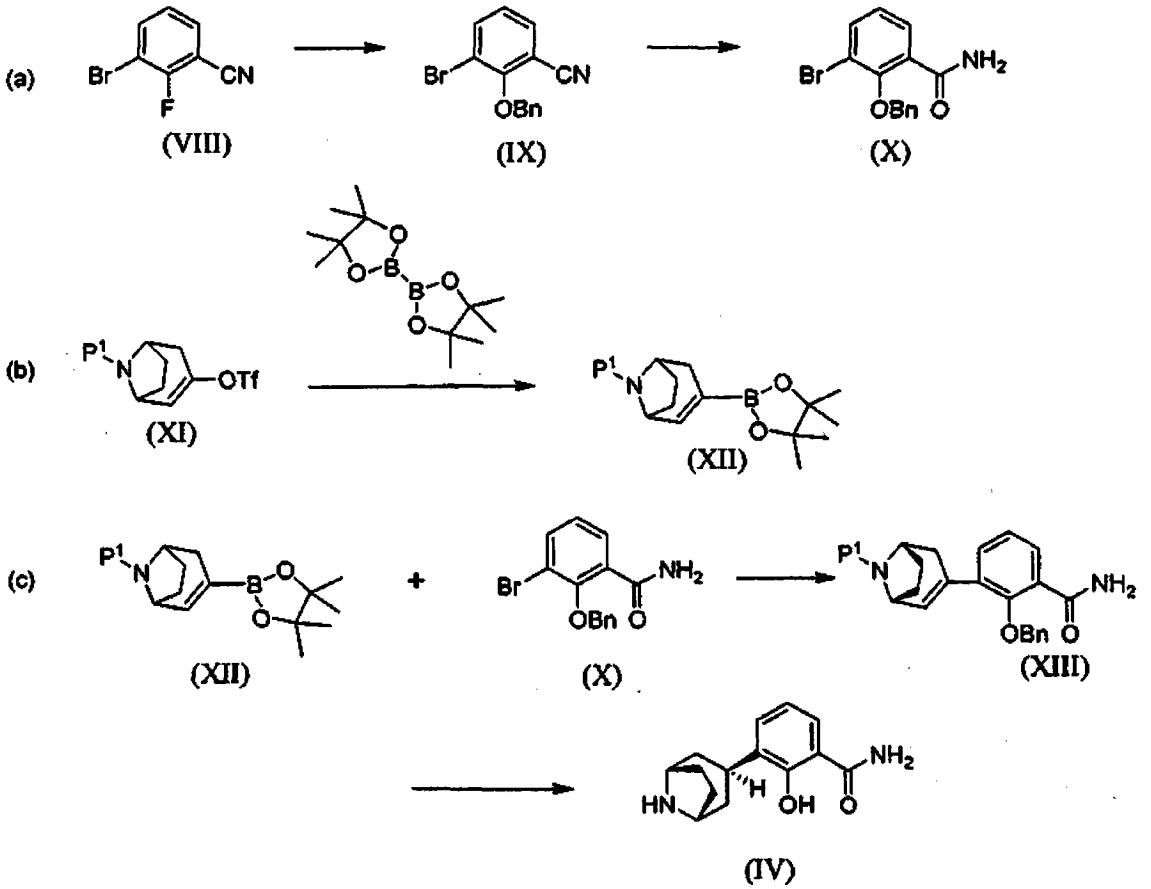


[0096] 其中所有变量取上文所定义的值。首先，通过习用程序将氨基保护基添加至中间体 (VI) 以形成中间体 (VII)，在（例如）三氧化硫吡啶络合物的存在下将其氧化，提供式 (III′) 的中间体。

[0097] 8- 氮杂双环辛基 -2- 羟基苯甲酰胺中间体 (IV) 可通过双环硼酸乙烯基酯 (XII) 与苄氧基 - 溴 - 苯甲酰胺 (X) 的铃木 (Suzuki) 偶合来制备，如以下方案 D 的步骤 (c) 中所示。

[0098] 方案 D

[0099]



[0100] 苯甲酰胺中间体 (X) 可自 3- 溴 -2- 氟 - 苄腈 (VIII) 通过步骤 (a) 中所示途径制备，其中 (VIII) 首先通过与苄醇反应转化成中间体 (IX)（其中 Bn 代表保护基苄基）。然后使腈 (IX) 水解成相应的酰胺，提供中间体 (X)。水解反应可通过使 (IX) 与过量水在二烷基亚膦酸钯催化剂（通常称为帕金 (Parkin 催化剂)）的存在下实施。所述反应通常在回流温度下实施约 2 小时至约 20 小时，或直至反应实质上完成为止。

[0101] 双环硼酸乙烯基酯 (XII) 可通过经保护双环辛烯中间体 (XI)（其中 P^1 代表氨基保护基，通常为 Boc 或苄基，且 -Otf 代表三氟甲烷磺酸酯 (trifluoromethane sulfonate)（通常写为 triflate)）与双（戊酰）二硼反应来制备，如步骤 (b) 中所示。所述反应通常通过在催化量的钯催化剂和膦配体（例如 [1,1′ - 双（二苯基膦基）二茂铁] 二氯钯 (II) (Pd(dppf)Cl_2) 和 1,1′ - 双（二苯基膦基）二茂铁 (dppf)）的存在下使 (XII) 与介于约 1 当量与约 1.2 当量之间的双（戊酰）二硼接触来实施。所述反应通常在介于约 40℃与约 80℃之间的温度下实施约 4 小时与约 20 小时之间，或直至反应实质上完成为止。

[0102] 用于步骤 (b) 中的经保护双环辛烯中间体 (XI)（其中 P^1 为苄基）是方便地自 8- 苄基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 酮制得：

[0103]



[0104] 其通过使所述辛酮与介于约 1 当量与约 1.5 当量之间的 N- 苯基 - 双（三氟甲烷磺酰亚胺）和介于约 1 当量与约 1.5 当量之间的碱（例如双（三甲基甲硅烷基）酰胺钠）接触来实施。所述反应通常在介于约 -20℃与约 -10℃之间的温度下实施约一个半小时至约 2 小时之间，或直至反应实质上完成为止。

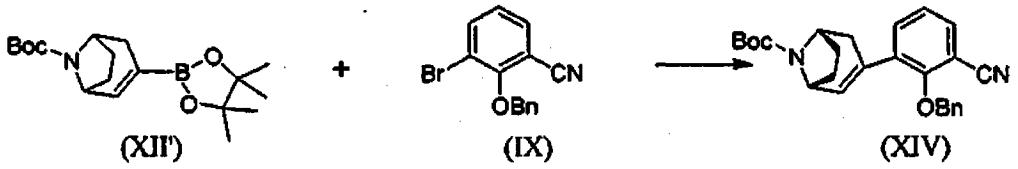
[0105] 为制备其中 P^1 为 Boc 的中间体 (XI)，首先将经苄基保护的辛酮通过与二碳酸二叔丁基酯（通常写为 Boc_2O）反应并催化氢化来转化成经 Boc 保护的形式。然后使 Boc 保护的辛酮与 N- 苯基 - 双（三氟甲烷磺酰亚胺）和碱反应，如上文所述。Boc 中间体的反应通常在低于约 -70℃的温度下实施约 2 与约 5 小时之间，或直至反应实质上完成为止。

[0106] 最后，使双环硼酸乙烯基酯 (XII) 与苯甲酰胺中间体 (X) 偶合以提供经保护中间体 (XIII)，使其在一或多个步骤中还原并去保护，提供 8- 氮杂双环辛基 -2- 羟基苯甲酰胺中间体 (IV)。所述反应通常通过使 (XII) 与约 1 当量中间体 (X) 在钯催化剂（例如双（三苯基膦）氯化钯 (II)($PdCl_2(PPh_3)_2$)）的存在下接触来实施。所述反应通常在回流温度下实施约 4 与约 20 小时之间，或直至反应实质上完成为止。当 P^1 为 Boc 时，通常首先通过利用三氟乙酸实施常规处理来去除 Boc 保护基且然后通过钯催化氢化使双环辛烯同时还原并去保护。当使用苄基保护基用于 P^1 时，双键还原和两个苄基的去除可在单一氢化步骤中实施。

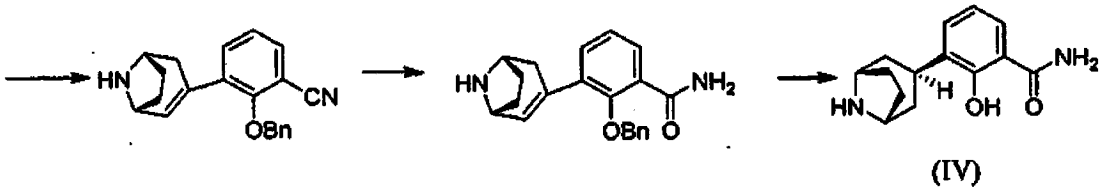
[0107] 使用 Boc 保护的中间体 (XII′) 制备中间体 (IV) 的替代方法绘示于方案 E 中：

[0108] 方案 E

[0109]



[0110]

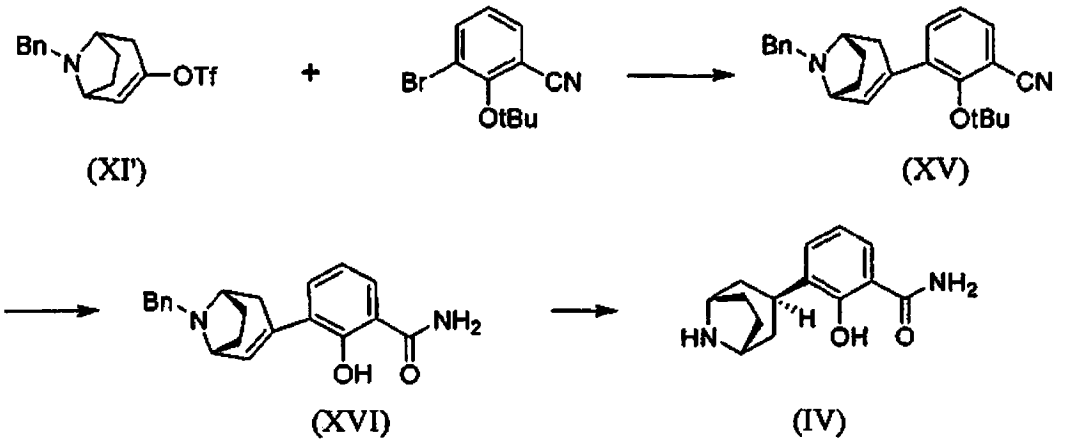


[0111] 其中颠倒铃木偶合与腈至酰胺的转化的顺序。如方案 E 中所示及以下实例中所述，使 2- 苄氧基 -3- 溴 - 苄腈中间体 (IX) 偶合至双环硼酸酯 (XII′) 以形成腈中间体 (XIV)。在后续步骤中，将 Boc 基团自腈中间体去保护，将氰基水解，且最后将双键还原并去除苄基保护基以形成 2- 羟基苯甲酰胺 (IV)。

[0112] 制备中间体 (IV) 的又一替代方法绘示于方案 F 中：

[0113] 方案 F

[0114]



[0115] 首先，使经苄基保护的双环辛烯中间体 (XI′) 与 2- 丁氧基 -3- 溴 - 苄腈、中间体 (IX) 的丁氧基类似物反应以形成腈中间体 (XV)。所述反应通常通过使中间体 (XI′) 与介于约 1 当量与约 1.5 当量之间的 2- 丁氧基 -3- 溴 - 苄腈在惰性稀释剂 (例如四氢呋喃) 中在介于约 1 当量与约 1.5 当量之间的异丙基氯化镁和过渡金属催化剂的存在下实施。所述反应通常在回流温度下实施约一个半小时至约 3 小时，或直至反应实质上完成为止。中间体 (XV) 在酸性溶液中回流以同时使氰基水解成酰胺并去除叔丁基羟基保护基，以提供中间体 (XVI)。最后，(XVI) 在单一步骤中通过与介于约 10 当量与约 15 当量之间的甲酸铵在钯催化剂的存在下反应转化成苯甲酰胺产物 (IV)，其同时将双环辛烯还原并去除苄基氨基保护基。

[0116] 关于制备本发明代表性化合物或其中间体的具体反应条件和其它程序的进一步细节阐述于以下实例中。

[0117] 因此，在一个方法方面中，本发明提供制备式 (Id) 化合物、或其盐或经保护衍生物的方法，所述方法包含使式 (II) 化合物与式 $R^{9a}C(O)$-L 化合物反应，并任选地去除保护基，以提供式 (Id) 化合物、或其盐或经保护衍生物。

[0118] 在额外方面中，本发明提供式 (II) 化合物和式 (IV) 化合物，其中变量 R^7 和 m 取在以上所揭示本发明方面中所阐述的任何数值。

[0119] 医药组合物

[0120] 本发明 8- 氮杂双环辛烷 -2- 羟基苯甲酰胺化合物通常以医药组合物或调配物的形式投与给患者。所述医药组合物可通过任何可接受的投与途径投与给患者，所述投与途径包括 (但不限于) 经口、直肠、阴道、鼻、吸入、局部 (包括经皮) 和非经肠投与模式。

[0121] 因此，在本发明组合物的一个方面中，本发明涉及医药组合物，其包含医药上可接受的载剂或赋形剂和治疗有效量的式 (I) 化合物或其医药上可接受的盐。任选地，所述医药组合物可视需要含有其它治疗剂和 / 或调配剂。当讨论组合物时，“本发明化合物”在本文中也可称为“活性剂”。本文所用术语“本发明化合物”意欲包括式 (I) 化合物以及式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 和 (Id) 中所体现的物质。除非另有说明，否则“本发明化合物”另外包括所述化合物的医药上可接受的盐和溶剂化物。

[0122] 本发明医药组合物通常含有治疗有效量的本发明化合物或其医药上可接受的盐。通常，所述医药组合物将含有约 0-1 重量％至约 95 重量％的活性剂；优选约 5 重量％至约 70 重量％；且更优选约 10 重量％至约 60 重量％的活性剂。

[0123] 任何常规载剂或赋形剂均可用于本发明的医药组合物中。特定载剂或赋形剂、

或载剂或赋形剂的组合的选择将取决于正用于治疗特定患者的投与模式或医学病状的类型或疾病状态。就这一点来说，用于特定投与模式的适宜医药组合物的制备同样在制药技术领域的技术人员的范围内。另外，本发明医药组合物中所用载剂或赋形剂是市售品。出于进一步阐述的目的，常规调配技术阐述于雷明顿 (Remington)：制药科学与实践 (The Science and Practice of Pharmacy)（第 20 版，利平科特威廉斯和怀特 (LippincottWilliams&White, Baltimore)，马里兰 (Maryland)(2000)）；及 H.C. 安西尔 (H.C.Ansel) 等人的医药剂型和药物递送系统 (Pharmaceutical Dosage Forms and Drug DeliverySystems)（第 7 版，利平科特威廉斯和怀特，马里兰 (1999)）中。

[0124] 可用作医药上可接受载剂的材料的代表性实例包括（但不限于）以下物质：糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素（例如微晶纤维素）和其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉末状磺蓍胶；麦芽；明胶；滑石粉；赋形剂，例如可可油和栓剂蜡；油，例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油；二醇，例如丙二醇；多元醇，例如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；酯，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，例如氢氧化镁和氢氧化铝；海藻酸；无致热源的水；等渗盐水；林格氏溶液 (Ringer's solution)；乙醇；磷酸盐缓冲溶液；和其它用于医药组合物中的无毒相容物质。

[0125] 医药组合物通常通过将活性剂与医药上可接受的载剂和一或多种可选成份进行彻底充分地混合或掺合来制备。然后可使用常规程序和设备使所得均匀掺合的混合物成形或装填成片剂、胶囊、药丸和诸如此类。

[0126] 本发明医药组合物优选地以单位剂型包装。术语“单位剂型”是指适于患者剂量给药的物理离散单位，即，每一单位含有经计算以产生合意的治疗效果的预定量的活性剂，其单独或与一或多种额外单位组合。例如，所述单位剂型可为胶囊、片剂、药丸和诸如此类、或适用于非经肠投与的单位包装。

[0127] 在一个实施例中，本发明医药组合物适于经口投与。用于经口投与的适宜医药组合物可为胶囊、片剂、药丸、菱形片剂、扁囊剂、糖衣药丸、粉剂、颗粒形式；或为存于水性或非水性液体中的溶液或悬浮液；或作为水包油或油包水液体乳液；或作为酏剂或糖浆；和诸如此类；其各自均含有预定量的本发明化合物作为活性成份。

[0128] 当期望以固体剂型（即，作为胶囊、片剂、药丸和诸如此类）经口投与时，本发明医药组合物通常将包含活性剂和一或多种医药上可接受的载剂（例如，柠檬酸钠或磷酸氢钙）。任选地或另一选择为，所述固体剂型还可包含：填充剂或增量剂，例如淀粉、微晶纤维素、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、和 / 或硅酸；结合剂，例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和 / 或阿拉伯胶；保湿剂，例如甘油；崩解剂，例如琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和 / 或碳酸钠；溶解阻滞剂，例如石蜡；吸收促进剂，例如季铵化合物；润湿剂，例如鲸蜡醇和 / 或甘油单硬脂酸酯；吸收剂，例如高岭土和 / 或膨润土；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、和 / 或其混合物；着色剂；和缓冲剂。

[0129] 释放剂、润湿剂、涂布剂、甜味剂、矫味剂和加香剂、防腐剂和抗氧化剂也可存在于本发明医药组合物中。医药上可接受的抗氧化剂实例包括：水溶性抗氧化剂，例如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、偏硫酸氢钠、亚硫酸钠和诸如此类；油溶性抗氧化剂，例如抗

坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基苯甲醚、丁基化羟基甲苯、卵磷脂、没食子酸丙酯、α－生育酚、和诸如此类；和金属螯合剂，例如柠檬酸、乙二胺四乙酸、山梨醇、酒石酸、磷酸和诸如此类。用于片剂、胶囊、药丸和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、聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯、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、羧甲基乙基纤维素、乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素、和诸如此类。

[0130] 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；或其它聚合物基质、脂质体和/或微球体进行调配来提供活性剂的缓慢或控制释放。此外，本发明医药组合物可任选地包含遮光剂且可经调配以便其任选地以延迟方式仅（或优先）在胃肠道的某一部分中释放活性成份。可使用的包埋组合物实例包括聚合物质和蜡。若合适，活性成份也可呈含有一或多种上述赋形剂的微胶囊形式。

[0131] 出于说明目的，用于经口投与的适宜液体剂型包括医药上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。液体剂型通常包含活性剂和惰性稀释剂，例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂，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、蓖麻油和芝麻油）、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇及山梨糖醇酐的脂肪酸酯、和其混合物。除活性成份外，悬浮液可含有悬浮剂，例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇和山梨糖醇酐酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍胶、和其混合物。

[0132] 本发明化合物也可非经肠投与（例如，静脉内、皮下、肌内或腹膜内注射）。对于非经肠投与，活性剂通常与适用于非经肠投与的媒剂混合，其包括（例如）无菌水溶液、盐水、低分子量醇（例如丙二醇）、聚乙二醇、植物油、明胶、脂肪酸酯（例如油酸乙酯）和诸如此类。非经肠调配物也可含有一或多种抗氧化剂、增溶剂、稳定剂、防腐剂、润湿剂、乳化剂、缓冲剂或分散剂。所述调配物可通过使用无菌可注射介质、无菌剂、过滤、辐照或加热使其无菌。

[0133] 另一选择为，本发明的医药组合物经调配以通过吸入投与。通过吸入投与的适宜医药组合物通常应为气溶胶或粉剂形式。所述组合物通常使用习知递送装置投与，例如计量剂量的吸入器、干粉末吸入器、喷雾器或类似递送装置。

[0134] 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活性成份和适宜推进剂，例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它适宜气体。此外，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和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。

[0135] 本发明化合物也可使用已知经皮递送装置和赋形剂经皮投与。例如，活性剂可与渗透增强剂（例如丙二醇、聚乙二醇单月桂酸酯、氮杂环烷-2-酮和诸如此类）混合并纳入贴片或类似递送系统中。视需要，包括胶凝剂、乳化剂和缓冲剂在内的额外赋形剂可用于所述经皮组合物中。

[0136] 视需要，本发明化合物可与一或多种其它治疗剂组合投与。在此实施例中，本发明化合物与另一种治疗剂物理混合以形成包含两种试剂的组合物；或者每一种试剂以分开且不同组合物存在，所述组合物可同时或相继投与给患者。

[0137] 例如，式Ⅰ化合物可使用常规程序和设备与第二治疗剂组合以形成包含式Ⅰ化合

物和第二治疗剂的组合物。此外，治疗剂可与医药上可接受的载剂组合以形成包含式 I 化合物、第二治疗剂和医药上可接受载剂的医药组合物。在此实施例中，通常将组合物的各个组份混合或掺合以产生物理混合物。然后将物理混合物以治疗有效量使用本文所述的任何途径投与。另一选择为，治疗剂在投与给患者之前可保持分开且不同。在此实施例中，投与之前试剂并未物理混合在一起，而是同时或以分开时间作为分开组合物投与。所述组合物可单独包装或可包装在一起作为试剂盒。试剂盒中的两种治疗剂可通过相同投与途径或通过不同投与途径投与。

[0138] 任何与本发明化合物相容的治疗剂皆可用作第二治疗剂。尤其是，经由与 μ 类阿片受体拮抗不同机制起作用的促动力剂可与本发明化合物组合使用。例如，5-HT_4 受体激动剂可用作第二治疗剂，例如替加色罗 (tegaserod)、伦扎必利 (renzapride)、莫沙必利 (mosapride)、普卢卡必利 (prucalopride)、1- 异丙基 -1H- 吲唑 -3- 甲酸 {(1S,3R,5R)-8-[2-(4- 乙酰基哌嗪 -1- 基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 } 酰胺、1- 异丙基 -2- 氧代 -1,2- 二氢喹啉 -3- 甲酸 {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2- 羟基 -3-(甲烷磺酰基 - 甲基 - 氨基) 丙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 } 酰胺、和 4-(4-{[(2- 异丙基 -1H- 苯并咪唑 -4- 羰基) 氨基] 甲基 }- 哌啶 -1- 基甲基) 哌啶 -1- 甲酸甲酯和其医药上可接受的盐。

[0139] 额外有用的促动力剂及用于胃肠病症的其它药剂包括 (但不限于)5-HT_3 受体激动剂 (例如，胖穆斯塔格 (pumosetrag))、5-HT_{1A} 受体拮抗剂 (例如，AGI 001)、α-2-δ 配体 (例如，PD-217014)、氯离子通道开放剂 (例如，鲁比前列酮 (lubiprostone))、多巴胺 (dopamine) 拮抗剂 (例如，伊托必利 (itopride)、灭吐灵 (metaclopramide)、多潘立酮 (domperidone))、GABA-B 激动剂 (例如，巴氯芬 (baclofen)、AGI 006)、κ 类阿片激动剂 (例如，阿西马朵林 (asimadoline))、毒蕈碱 M_1 及 M_2 拮抗剂 (例如，阿考替胺 (acotiamide))、促胃动素激动剂 (例如，米坦西诺 (mitemcinal))、鸟苷酸环化酶活化剂 (例如，MD-1100) 和葛瑞林 (ghrelin) 激动剂 (例如，Tzp 101、RC 1139)。

[0140] 此外，本发明化合物可与类阿片治疗剂组合。所述类阿片剂包括 (但不限于) 吗啡 (morphine)、杜冷丁 (pethidine)、可待因 (codeine)、双氢可待因 (dihydrocodeine)、奥施康定 (oxycontin)、羟可酮 (oxycodone)、氢可酮 (hydrocodone)、舒芬太尼 (sufentanil)、芬太尼 (fentanyl)、瑞芬太尼 (remifentanil)、丁丙诺啡 (buprenorphine)、美沙酮 (methadone)、和海洛因 (heroin)。

[0141] 所述治疗剂的许多额外实例已为所属技术习知且任何所述习知治疗剂皆可与本发明化合物组合使用。当包括第二试剂时，其是以治疗有效量存在，即，当与本发明化合物共同投与时产生治疗有益作用的任何量。与本发明化合物组合投与的其它治疗剂的适宜剂量通常在约 0.05μg/ 天至约 100mg/ 天的范围内。

[0142] 因此，本发明医药组合物任选地包括上述第二治疗剂。

[0143] 以下实例阐述本发明的代表性医药组合物 :

[0144] 调配物实例 A :经口投与的硬明胶胶囊

[0145] 将本发明化合物 (50g)、喷雾干燥的乳糖 (200g) 和硬脂酸镁 (10g) 充分掺合。将所得组合物装载于硬明胶胶囊中 (260mg 组合物 / 胶囊)。

[0146] 调配物实例 B :经口投与的硬明胶胶囊

[0147] 将本发明化合物(20mg)、淀粉(89mg)、微晶纤维素(89mg)、和硬脂酸镁(2mg)充分掺合且然后通过45网目美国筛(U.S.sieve)。将所得组合物装载于硬明胶胶囊中(200mg组合物/胶囊)。

[0148] 调配物实例C:经口投与的明胶胶囊

[0149] 将本发明化合物(10mg)、聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯(50mg)、和淀粉粉末(250mg)充分掺合且然后装载于明胶胶囊中(310mg组合物/胶囊)。

[0150] 调配物实例D:经口投与的片剂

[0151] 使本发明化合物(5mg)、淀粉(50mg)、和微晶纤维素(35mg)穿过45网目美国筛并充分混合。将聚乙烯吡咯烷酮溶液(10wt%于水中,4mg)与所得粉末混合,且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。然后将已预先通过60网目美国筛的羧甲基淀粉钠(4.5mg)、硬脂酸镁(0.5mg)和滑石粉(1mg)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100mg的片剂。

[0152] 调配物实例E:经口投与的片剂

[0153] 将本发明化合物(25mg)、微晶纤维素(400mg)、烟雾状二氧化硅(10mg)、和硬脂酸(5mg)充分掺合且然后压制以形成片剂(440mg组合物/片剂)。

[0154] 调配物实例F:经口投与的单痕片剂

[0155] 将本发明化合物(15mg)、玉米淀粉(50mg)、交联羧甲纤维素钠(25mg)、乳糖(120mg)、和硬脂酸镁(5mg)充分掺合且然后压制以形成单痕片剂(215mg组合物/片剂)。

[0156] 调配物实例G:经口投与的悬浮液

[0157] 将以下成份充分混合以形成经口投与的悬浮液,其每10mL悬浮液包含100mg活性成份:

[0158]

成份	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
砂糖	25.5 g
山梨醇(70%溶液)	12.85 g
维格姆(*Veegum*) K(范得比尔特(Vanderbilt)公司)	1.0 g
矫味剂	0.035 mL
着色剂	0.5 mg
蒸馏水	补足至100 mL

[0159] 调配物实例H:干粉组合物

[0160] 将本发明微粉化化合物(1mg)与乳糖(25mg)掺合且然后装填于明胶吸入药包中。所述药包的内容物使用粉末吸入器投与。

[0161] 调配物实例J:可注射调配物

[0162] 将本发明化合物(0.1g)与0.1M柠檬酸钠缓冲液(15mL)混合。使用1N盐酸水溶

液或1N氢氧化钠水溶液将所得溶液的pH调节至pH 6。然后添加于柠檬酸盐缓冲剂中的无菌生理盐水以提供20mL的总体积。

[0163] 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）均可用于上文所讨论的医药组合物中。

[0164] 效用

[0165] 本发明的8-氮杂双环辛烷化合物是μ类阿片受体的拮抗剂且因此预计可用于治疗由μ类阿片受体介导的或与μ类阿片受体活性相关的医学病状，即，通过利用μ类阿片受体拮抗剂治疗改善的医学病状。尤其是，预计本发明化合物可用于治疗与使用类阿片镇痛药相关的不利作用，即，诸如便秘、胃排空减少、腹痛、胃气胀、恶心、和胃食管反流等症状，其统称为类阿片诱导的大肠功能障碍。预计本发明的μ类阿片受体拮抗剂还可用于治疗手术后肠梗阻，这是一种腹部或其它手术后出现的胃肠道蠕动减少的病症。此外，已经建议可将μ类阿片受体拮抗剂化合物用于缓解类阿片诱导的恶心和呕吐。而且，那些展示一些中枢渗透的μ类阿片受体拮抗剂可用于治疗对麻醉药、酒精或赌博的依赖性或成瘾，或用于预防、治疗、和/或缓解肥胖。

[0166] 由于本发明化合物在动物模型中增加胃肠(GI)道的蠕动性，因此预计所述化合物可用于治疗哺乳动物（包括人类）中因蠕动减少而造成的胃肠道病症。出于说明目的，所述胃肠蠕动性病症包括慢性便秘、便秘型肠易激综合症(C-IBS)、糖尿病性和特发性胃轻瘫、和功能性消化不良。

[0167] 因此，在一个方面中，本发明提供一种增加哺乳动物胃肠道蠕动性的方法，所述方法包含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和本发明化合物。

[0168] 当本发明化合物用于治疗胃肠道蠕动性减少病症或其它由μ类阿片受体介导的病状时，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，但可使用其它投与形式。例如，尤其当用于治疗手术后肠梗阻时，本发明化合物可非经肠投与。每剂量所投与活性剂的数量或每天所投与的总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、实际投与的化合物和其相对活性、个别患者的年龄、体重和反应、患者症状的严重程度和诸如此类。

[0169] 用于治疗胃肠道蠕动减少的病症或其它由μ类阿片受体介导的病症的适宜剂量通常应在约0.0007mg/kg/天至约20mg/kg/天活性剂的范围内（包括约0.0007mg/kg/天至约1.4mg/kg/天）。对于平均70kg的人来说，此将是约0.05mg/天至约100mg/天活性剂的量。

[0170] 在本发明一个方面中，本发明化合物用于治疗类阿片诱导的大肠功能障碍。当用于治疗类阿片诱导的大肠功能障碍时，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。优选地，治疗类阿片诱导的大肠功能障碍的剂量应在约0.05mg/天至约100mg/天的范围内。

[0171] 在本发明另一方面中，本发明化合物用于治疗手术后肠梗阻。当用于治疗手术后肠梗阻时，本发明化合物通常应以单一日剂量或每天多个剂量经口或静脉内投与。优选地，治疗手术后肠梗阻的剂量应在约0.05mg/天至约100mg/天的范围内。

[0172] 本发明还提供治疗患有与μ类阿片受体活性有关的疾病或病状的哺乳动物的方

法，所述方法包含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。

[0173] 如上文所述，本发明化合物是 μ 类阿片受体拮抗剂。因此，本发明进一步提供在哺乳动物中拮抗 μ 类阿片受体的方法，所述方法包含将本发明化合物投与给所述哺乳动物。

[0174] 本发明的 μ 类阿片受体拮抗剂任选地与另一种治疗剂或多种治疗剂组合投与，尤其与经由非 μ 类阿片机制起作用的促动力剂组合。因此，在另一方面中，本发明的方法和组合物进一步包含治疗有效量的另一促动力剂。

[0175] 此外，本发明化合物还用作研究工具用于调查或研究具有 μ 类阿片受体的生物系统或试样、或用于发现具有 μ 类阿片受体活性的新化合物。任何具有 μ 类阿片受体的适宜生物系统或试样均可用于可在活体外或活体内实施的所述研究中。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、天竺鼠、兔子、狗、猪等）和诸如此类。包含 μ 类阿片受体的生物系统或试样与本发明化合物接触的效果是使用常规程序和设备来确定，例如本文所阐述的放射性配体结合分析和功能分析或所属技术中习知的其它功能分析。所述功能分析包括（但不限于）配体介导的细胞内环腺苷单磷酸 (cAMP) 的变化、配体介导的酶腺苷酸环化酶的活性变化、配体介导的鸟苷三磷酸 (GTP) 类似物（例如 [^{35}S]GTPγS（鸟苷 5′ -O-（γ-硫）三磷酸）或 GTP-Eu) 经由受体催化将 GTP 类似物变成 GDP 类似物而纳入隔离膜的变化、和配体介导的游离细胞内钙离子的变化。本发明化合物用于所述研究的适宜浓度通常在约 1 毫微克分子至约 500 毫微克分子范围内。

[0176] 当使用本发明化合物作为研究工具来发现具有 μ 类阿片受体活性的新化合物时，将一种测试化合物或一组测试化合物的结合或功能数据与本发明化合物的 μ 类阿片受体结合或功能数据相比较以鉴别出具有优良结合或功能活性的测试化合物（若有）。本发明的此方面作为单独实施例包括产生比较数据（使用适宜分析）和分析所述测试数据以鉴别出感兴趣的测试化合物二者。

[0177] 在其它性质中，已发现本发明化合物在 μ 受体功能分析中展示有效结合至 μ 类阿片受体且具有较少或没有激动作用。因此，本发明化合物是有效的 μ 类阿片受体拮抗剂。此外，已证实，本发明化合物在动物模型中与中枢神经系统活性相比主要具有外周活性。因此，预计所述化合物改善类阿片诱导的胃肠蠕动性减少，而不会干扰痛觉丧失的有益中枢作用。本发明化合物的所述性质以及效用可使用所属领域的技术人员习知的各种活体外和活体内分析来证实。在以下实例中进一步详细阐述代表性分析。

[0178] 实例

[0179] 提供以下合成和生物学实例以阐明本发明，而其不应解释为以任何方式限制本发明的范围。在以下实例中，除非另有说明，否则下列缩写具有以下含义。下文未定义的缩写具有其通常已接受的涵义。

[0180] AcOH = 乙酸

[0181] Boc = 叔丁氧基羰基

[0182] $(Boc)_2O$ = 二碳酸二叔丁酯

[0183] DCM = 二氯甲烷

[0184] DIPEA = N,N-二异丙基乙胺

[0185] DMF = N,N-二甲基甲酰胺

[0186] DMSO = 二甲亚砜

[0187] EtOAc = 乙酸乙酯

[0188] EtOH = 乙醇

[0189] HATU = 六氟磷酸N,N,N′,N′-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)脲鎓盐

[0190] TFA = 三氟乙酸

[0191] THF = 四氢呋喃

[0192] 试剂(包括仲胺)和溶剂皆自商业供应商(阿德里奇(Aldrich)、弗卢卡(Fluka)、西格玛(Sigma)等)购得,且未经进一步纯化即使用。除非另有说明,否则反应在氮气气氛下实施。反应混合物的进程是通过薄层色谱(TLC)、分析型高效液相色谱(分析型HPLC)、和质谱来监测,其细节将在下文中给出且与反应的具体实例分开。按照各反应中的具体阐述来处理反应混合物;经常通过萃取和其它纯化方法(例如,温度-和溶剂-依赖性结晶、和沉淀)纯化所述反应混合物。另外,通常通过制备型HPLC(一种阐述于下文中的一般方法)纯化反应混合物。反应产物的表征按照通过质谱和^{1}H-NMR谱按常规实施。对于NMR量测来说,将试样溶于氘代溶剂(CD_3OD、$CDCl_3$或DMSO-d_6)中,并利用瓦里安吉米(Varian Gemini)2000仪器(400MHz)在标准观察条件下获得^{1}H-NMR谱。化合物的质谱识别是通过电喷射电离法(ESMS)利用API 150EX型适用生物系统(Applied Biosystems)(加利福尼亚福斯特城(Foster City,CA))仪器或1200LC/MSD型安捷仑(Agilent)(加利福尼亚帕洛阿尔托(Palo Alto,CA))仪器来实施。

[0193] 制备1:2-苄氧基-3-溴苄腈

[0194] 于0℃下向含悬浮于DMF(60mL,800mmol)中的氢化钠(1.44g,60.0mmol)的烧瓶中在5分钟内添加苄醇(6.21mL,60.0mmol)。将反应混合物于0℃下搅拌30分钟且然后添加于DMF(20mL)中的3-溴-2-氟苄腈(10.0g,50.0mmol)。使反应混合物升温至室温并于80℃下搅拌2小时,冷却至室温,并用乙酸乙酯(150mL)和水(150mL)萃取。有机层用水(150mL)和盐水(150mL)洗涤,收集,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将粗产物用乙酸乙酯:己烷(1:3;50mL)悬浮。将所得悬浮液剧烈搅拌1小时,过滤,并干燥。将母液浓缩并重结晶。将晶体组合并在真空下干燥,获得标题化合物(10.3g)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,300MHz)δ(ppm):8.04(dd,J=1.6,8.2Hz,1H),7.87(dd,J=1.6,7.6Hz,1H),7.56-7.51(m,2H),7.47-7.37(m,3H),7.29(t,J=7.9Hz,1H),5.20(s,1H)。

[0195] 制备2:2-苄氧基-3-溴苯甲酰胺

[0196] 将制备1的产物(10.3g,0.0357mol)溶于乙醇(20mL,0.4mol)、水(3.2mL,0.18mol)和1,4-二噁烷(4mL,0.05mol)中。添加氢(二甲基膦酸-kP)[氢双(二甲基膦基-kP)]钯(II)(30mg,0.00007mol)并将反应混合物加热至回流过夜。向热溶液中添加水(约25mL)。将反应混合物冷却至室温。将所得晶体过滤,溶于乙酸乙酯中,用硫酸钠干燥,过滤,并蒸发以获得固体(9.1g)。将初始滤液蒸发至约30mL并于0℃下冷却2小时。将所得晶体过滤并干燥以提供额外产物(1.65g)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,300MHz)δ(ppm):7.79(br,1H)7.71(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.62(br,1H),7.52-7.46(m,3H),7.40-7.30(m,

3H),7.29(t,J = 7.8Hz,1H),4.96(s,1H)。

[0197] 制备 3 :3- 三氟甲烷磺酰基氧基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -8- 甲酸叔丁基酯

[0198] 将 3- 氧代 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛烷 -8- 甲酸叔丁基酯 (15.8g,70.0mmol) 与 THF(150mL) 的溶液冷却至 -78℃并在 5 分钟内逐滴添加于 THF(84mL) 中的 1.0M 四甲基硅氮烷钠。将反应混合物搅拌 1 小时且然后添加 N- 苯基双 (三氟甲烷 - 磺酰亚胺)(25.0g,70.0mmol) 并将反应混合物搅拌 1 小时。使溶液升温至室温,添加 1.0N NaOH(100mL),并将反应混合物搅拌 15 分钟。蒸发掉大约 75mL 溶剂。将所得溶液用乙酸乙酯 : 己烷 (100mL : 100mL) 和水 (100mL) 稀释,萃取并用 1.0N NaOH(2x200mL) 洗涤。有机层用饱和 NaCl 溶液 (200mL) 洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得呈深色油状物的标题化合物 (18.2g),其未经进一步纯化即使用。

[0199] 制备 4 :3-(4,4,5,5- 四甲基 -1,3,2- 二氧硼烷 -2- 基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -8- 甲酸叔丁基酯

[0200] 将制备 3 的产物 (7.65g,0.0214mol) 溶于 1,4- 二噁烷 (75mL,0.96mol)。向反应混合物中添加双 (戊酰) 二硼 (5.71g,0.0225mol)、和乙酸钾 (6.30g,0.0642mol)、1,1′ - 双 (二苯基膦基)- 二茂铁 (0.5g,0.8mmol) 和 [1,1′ - 双 (二苯基膦基) 二茂铁]- 二氯钯 (II) 与二氯甲烷的络合物 (1 : 1)(0.5g,0.6mmol)。将反应混合物用氮气吹扫,于 80℃下搅拌过夜,并冷却至室温。溶液通过硅藻土过滤并浓缩。粗产物通过快速管柱色谱用于己烷中的 (5-10％) 乙酸乙酯溶析来纯化,获得呈油状物的标题化合物 (4.2g)。

[0201] 制备 5 :3- 内 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0202] a.3-(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -3- 基)-2- 苄氧基苯甲酰胺 (A) 和 3-(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 (B)

[0203] 向烧瓶中添加 2- 苄氧基 -3- 溴苯甲酰胺 (1.60g,5.23mmol)、3-(4,4,5,5- 四甲基 -1,3,2- 二氧硼烷 -2- 基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -8- 甲酸叔丁基酯 (1.75g,5.23mmol)、THF(30mL)、于水中的 2.0M 碳酸钠 (10.4mL)、和双 (三苯基膦) 氯化钯 (II) (92mg,0.13mmol)。将所得混合物用氮气吹扫,加热至回流过夜,并冷却至室温。然后将反应混合物浓缩,用 DCM(25mL) 稀释并用水 (25mL) 洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。向反应混合物中添加 DCM(10mL) 和 TFA(10mL) 并将混合物于室温下搅拌 1 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物的混合物。(A) :(m/z) :$C_{21}H_{22}N_2O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,335.17 ;试验值 336.0 ;(B) :(m/z) :$C_{14}H_{16}N_2O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,245.12 ;试验值 245.6。

[0204] b.3- 内 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0205] 在氮气气氛下向烧瓶中添加 10％ Pd/C(0.1 : 0.9,钯 : 炭黑,0.040g)。添加于甲醇 (10mL) 中的上除步骤的产物 3-(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -3- 基)-2- 苄氧基苯甲酰胺 TFA 盐 (0.400g,0.892mmol) 和 3-(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -2- 烯 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐 (0.220g,0.614mmol) 并将反应混合物于氢气氛下搅拌过夜,通过硅藻土过滤,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,以提供呈其 TFA 盐的标题化合物 (0.346g)。(m/z) :$C_{14}H_{18}N_2O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 247.14 ;试验值,247.2。

[0206] 制备 6 :3- 内 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0207] a.3-(2-苄氧基-3-氰基苯基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-8-甲酸叔丁基酯

[0208] 向烧瓶中添加2-苄氧基-3-溴苄腈(1.29g,4.47mmol)、3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼烷-2-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-8-甲酸叔丁基酯(1.50g,4.47mmol)和THF(30mL)、于水中的2.0M碳酸钠(8.95mL)、和双(三苯基膦)氯化钯(II)(78mg,0.11mmol)。将反应混合物用氮气吹扫,加热至回流过夜,冷却至室温,并浓缩。将所得溶液用DCM(25mL)稀释并用水(25mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将粗产物通过快速管柱色谱用于己烷中的乙酸乙酯(0-50%)溶析来纯化,以获得部分纯化的产物(1.2g)。(m/z):$C_{26}H_{28}N_2O_3$的$[M+H]^+$计算值416.21;(-叔丁基361.2);试验值361;(-Boc 317.2);试验值317。

[0209] b.3-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-苄氧基苯甲酰胺

[0210] 向于DCM(10mL)中的上述步骤的产物(1.20g,0.00287mol)中添加TFA(10mL)。将反应混合物搅拌1小时,浓缩,用乙醇(2x20mL)洗涤,并浓缩。添加乙醇(10mL)和水(4mL),随后添加氢(二甲基膦酸-kP)[氢双(二甲基膦基-kP)]钯(II)(20mg,0.05mmol)。将反应混合物于75℃下加热过夜,冷却至室温,浓缩,并通过制备型HPLC纯化,获得呈其TFA盐的标题化合物(0.520g)。(m/z):$C_{21}H_{22}N_2O_2$的$[M+H]^+$计算值,335.17;试验值,336.0。

[0211] c.3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基]-2-羟基苯甲酰胺

[0212] 于氮气气氛下向烧瓶中添加10% Pd/C(0.1:0.9,钯:炭黑,0.050g)。添加上述步骤的产物(0.520g,1.16mmol)并将反应混合物于氢气氛下搅拌过夜,通过硅藻土过滤,浓缩,并通过制备型HPLC纯化,以提供呈其TFA盐的标题化合物(0.310g)。(m/z):$C_{14}H_{18}N_2O_2$的$[M+H]^+$计算值247.14;试验值,247.2。

[0213] 制备7:3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0214] a.8-苄基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼烷-2-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯

[0215] 将三氟甲烷磺酸8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基酯(13.2g,0.0380mol)溶于1,4-二噁烷(200mL,2mol)中并添加双(戊酰)二硼(10.1g,0.0399mol)、乙酸钾(11.2g,0.114mol)、1,1′-双(二苯基膦基)二茂铁(0.8g,0.002mol)和[1,1′-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)与二氯甲烷的络合物(1:1)(0.9g,0.001mol)。反应混合物用氮气吹扫并于80℃下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,通过硅藻土过滤,浓缩,并通过快速管柱色谱用二氯甲烷溶析来纯化,获得呈褐色油状物的标题中间体(6.0g)。

[0216] b.8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-苄氧基苯甲酰胺

[0217] 向烧瓶中添加2-苄氧基-3-溴苯甲酰胺(3.8g,12mmol)、上述步骤的产物(4.0g,12mmol)、THF(80mL)和于水中的2.0M碳酸钠(24.6mL),随后添加双(三苯基膦)氯化钯(II)(220mg,0.31mmol)。将反应混合物用氮气吹扫并加热至回流过夜。将反应混合物冷却至室温,浓缩,用乙酸乙酯(50mL)稀释并用水(50mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过快速管柱色谱用二氯甲烷:甲醇(1%至4%梯度,含有0.5%三乙胺)溶析来纯化,以获得部分纯化的产物(5.1g)。(m/z):$C_{28}H_{28}N_2O_2$的$[M+H]^+$计算值,445.22;试验值,445.2。

[0218] c.3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基]-2-羟基苯甲酰胺

[0219] 于氮气气氛下向烧瓶中添加珀尔曼 (Pearlman) 催化剂 (0.1 ： 0.4,氢氧化钯：炭黑,0.500g) 且然后添加上述步骤的产物 (4.0g,0.0094mol) 和于甲醇 (40mL) 中的三氟乙酸 (0.92mL)。将反应混合物在氢 (30psi) 下搅拌过夜,通过硅藻土过滤,浓缩并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (530mg) 和 3- 外 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 (90mg)。(m/z) :$C_{14}H_{18}N_2O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 247.14 ;试验值,247.2。

[0220] 制备 8 :3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺

[0221] a. 2-(2- 乙基丁基氨基) 乙醇

[0222] 将 3- 溴甲基戊烷 (6.0g,36.4mmol) 和乙醇胺 (13mL,218mmol) 于乙醇 (45mL) 中的混合物于 75℃下加热 16 小时。将反应混合物浓缩并将所得残余物用 DCM(70mL) 稀释。有机层用水 (70mL) 进行分配且水层用 DCM 萃取。将有机层合并,经硫酸镁干燥,过滤,并浓缩以获得呈油状物的标题化合物 (4.90g)。^1H NMR(d6-DMSO,400MHz) δ (ppm) :3.44(t, J ＝ 5.6Hz,2H),2.54(t, J ＝ 6.0Hz,2H),2.40(d, J ＝ 5.6Hz,2H),1.31-1.25(m,5H),0.83(t, J ＝ 6.8Hz,6H)。

[0223] b.(2- 乙基丁基)-(2- 羟基乙基)- 氨基甲酸叔丁基酯

[0224] 于 0℃下向上述步骤的产物 (3.0g,20.7mmol) 于 DCM(30mL) 中的溶液中在 5 分钟内逐滴添加二碳酸二叔丁基酯 (4.06g,18.6mmol) 的溶液。将所得混合物升温至室温并在氮气气氛下过夜搅拌。将粗制反应混合物用 DCM(50mL) 稀释并相继用 1N HCl 水溶液 (2x50mL)、饱和 $NaHCO_3$(2x50mL) 和盐水 (2x50mL) 洗涤。有机层经硫酸镁干燥,过滤并浓缩,以获得标题化合物 (5.4g)。^1H NMR(d_6-DMSO,400MHz) δ (ppm) :4.62(br s,1H)3.44(t, J ＝ 6.0Hz,2H),3.2(m,2H),3.09(d, J ＝ 7.2Hz,2H),1.50(m, 与溶剂重叠,1H),1.38(s,9H),1.25-1.87(m,4H),0.83(t, J ＝ 7.2Hz,6H)。

[0225] c.(2- 乙基丁基)-(2- 氧代乙基) 氨基甲酸叔丁基酯

[0226] 于 0℃下向上述步骤的产物 (3.4g,13.9mmol) 于 DCM(20mL) 中的溶液中相继添加 DMSO(1.63g,20.9mmol)、DIPEA(4.48g,34.7mmol) 和三氧化硫吡啶络合物 (5.5g,34.7mmol)。将反应混合物搅拌 16 小时,用 DCM(20mL) 稀释并相继用 1N HCl 水溶液 (50mL)、饱和 $NaHCO_3$(50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤并浓缩。粗制物质通过硅胶过滤并用 DCM 溶析。浓缩后,获得呈褐色油状物的标题化合物 (2.34g)。(m/z) :$C_{13}H_{25}NO_3$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,244.18 ;试验值,244.0。

[0227] d.2-[3- 内 -(3- 氨基甲酰基 -2- 羟基苯基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -8- 基]- 乙基 -(2- 乙基丁基)- 氨基甲酸叔丁基酯

[0228] 向烧瓶中添加 3- 内 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐 (0.260g,0.722mmol)、(2- 乙基丁基)-(2- 氧代乙基) 氨基甲酸叔丁基酯 (0.211g,0.866mmol)、和于 DCM(8.7mL) 中的 DIPEA(126μL,0.72mmol),随后添加三乙酰氧基硼氢化钠 (0.184g,0.866mmol)。将反应混合物浓缩并通过制备型 HPLC 纯化,以提供呈其 TFA 盐的标题化合物 (0.360g)。(m/z) :$C_{27}H_{43}N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,474.33 ;试验值 474.4。

[0229] e.3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺

[0230] 将上述步骤的产物(0.360g,0.760mmol)溶于DCM(10mL)中。添加三氟乙酸(10mL)并将反应混合物搅拌2小时,浓缩,并溶于水(5mL)和乙腈(5g)中。将所得溶液冷冻并冻干,获得标题化合物(220mg),其未经进一步纯化即使用。(m/z):$C_{22}H_{35}N_3O_2$的$[M+H]^+$计算值374.27;试验值373.8。

[0231] 制备9:3-内-(8-2-[(4,4-二氟环己基甲基)氨基]-乙基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0232] a.(4,4-二氟环己基)甲醇

[0233] 向冷却至0℃的4,4-二氟环己烷甲酸乙酯(7.1g,37mmol)于THF(50mL)中的反应混合物中在10分钟内逐滴添加于THF中的2.0M四氢铝酸锂(18.5mL)。将反应混合物于0℃下搅拌1小时。逐滴添加水(5mL),随后添加1.0N NaOH(5mL)。反应混合物通过硅藻土过滤,蒸发掉THF,将所得水溶液用盐水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(50mL)萃取。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得呈澄清油状物的标题化合物(5.6g),其未经进一步纯化即使用。

[0234] b.甲烷磺酸4,4-二氟环己基甲基酯

[0235] 向冷却至0℃的上述步骤的产物(5.5g,0.037mol)和于DCM(50mL)中的三乙二胺(4.11g,0.0366mol)中逐滴添加甲烷磺酰氯(3.12mL,0.0403mol)。将反应混合物于0℃下搅拌30分钟,升温至室温,并用水(100mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得呈白色固体的标题化合物(8.5g),其未经进一步纯化即使用。

[0236] c.2-[(4,4-二氟环己基甲基)氨基]乙醇

[0237] 将上述步骤的产物(8.4g,0.037mol)和乙醇胺(20mL,0.4mol)于乙醇(20mL)中的溶液于65℃下搅拌过夜。将反应混合物浓缩,并用乙酸乙酯(50mL)和水(150mL)萃取。将有机层用水(100mL)且然后用盐水(50mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得标题化合物(3.3g)。

[0238] d.(4,4-二氟环己基甲基)-(2-羟基乙基)氨基甲酸叔丁基酯

[0239] 向上述步骤的产物(3.0g,16mmol)和DIPEA(2.70mL)于DCM(80mL)中的溶液中逐滴添加于DCM(20mL)中的二碳酸二叔丁基酯(2.7g,12mmol)。将反应混合物搅拌1小时,用0.1N HCl(150mL)洗涤,且然后用水(100mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得呈黄色油状物的标题化合物(4.0g)。

[0240] e.(4,4-二氟环己基甲基)-(2-氧代乙基)-氨基甲酸叔丁基酯

[0241] 向冷却至-20℃的DIPEA(4.75mL)和上述步骤的产物(4.0g,0.0136mol)于DCM(20mL)中的溶液中添加于DMSO(20g)中的三氧化硫-吡啶络合物(4.34g,0.0273mol)。将反应混合物搅拌1小时且然后添加DCM(50mL)。将反应混合物用于水中的10%AcOH(100mL)和水(100mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩以获得油状物。将粗产物通过快速管柱色谱用10%至40%于己烷中的乙酸乙酯溶析来纯化,获得呈油状物的标题化合物(2.8g)。

[0242] f.3-内-(8-2-[(4,4-二氟环己基甲基)氨基]-乙基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)2-羟基苯甲酰胺

[0243] 向3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺TFA盐(0.10g,0.278mmol)(制备6)、上述步骤的产物(0.130g,0.447mmol)和DIPEA(70.7μL,0.406mmol)

于DCM(5mL)中的溶液中添加三乙酰氧基硼氢化钠(0.0946g,0.447mmol)。将反应混合物搅拌1小时并然后浓缩。添加DCM(5mL),随后添加三氟乙酸(5mL,0.06mol)。将反应混合物搅拌30分钟,浓缩并通过制备型HPLC纯化,获得其TFA盐的标题化合物呈(0.102g)。(m/z):$C_{23}H_{33}F_2N_3O_2$的$[M+H]^+$计算值,422.25;试验值,422.0。

[0244] 制备10:3-内-(8-[2-(2,2-二甲基丙基氨基)乙基]-8-氮杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0245] a.2,2-二甲基丙基-(2-氧代乙基)-氨基甲酸苄基酯

[0246] 向特戊醛(1.00mL,0.00921mol)于DCM(30mL)中的溶液中添加2,2-二乙氧基-乙胺(1.35mL,0.00921mol),随后添加三乙酰氧基硼氢化钠(2.15g,0.0101mol)。将反应混合物于室温下搅拌1小时且然后添加DIPEA(1.43g,0.0110)mol)。将反应混合物冷却至0℃,并逐滴添加氯甲酸苄基酯(1.88g,0.0110mol)。将反应混合物搅拌1小时,浓缩,并添加于水中的6M TFA(20mL)。将反应混合物搅拌2小时并在真空下去除TFA。将所得水溶液用饱和NaCl(15mL)稀释。将产物用乙酸乙酯(25mL)萃取。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗产物通过快速管柱色谱用于己烷中的10-20%乙酸乙酯溶析,获得油状物(2.2g),将其进一步通过快速管柱色谱纯化,获得呈黄色油状物的标题化合物(0.72g)。

[0247] b.2-[3-内-(3-氨基甲酰基-2-羟基苯基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-8-基]-乙基-(2,2-二甲基-丙基)氨基甲酸苄基酯

[0248] 向3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺TFA盐(0.10g,0.278mmol)(制备6)、上述步骤的产物(80.4mg,0.305mmol)于DCM(5mL,0.08mol)中的溶液中添加DIPEA(48.3μL,0.27mmol),随后添加三乙酰氧基硼氢化钠(70.6mg,0.333mmol)。将反应混合物搅拌1小时,浓缩,并通过制备型HPLC纯化,获得呈其TFA盐的标题化合物(0.15g)。(m/z):$C_{29}H_{39}N_3O_4$的$[M+H]^+$计算值,494.29;试验值494.6。

[0249] c.3-内-(8-[2-(2,2-二甲基丙基氨基)乙基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0250] 向上述步骤的产物(0.150g,0.247mmol)于甲醇(5mL,0.1mol)中的溶液中添加10%Pd/C(0.1:0.9,钯:炭黑,15mg)。将反应混合物于氢气氛下搅拌2小时,通过硅藻土过滤,并浓缩,获得呈白色固体的标题化合物(0.12g)。(m/z):$C_{22}H_{35}N_3O_2$的$[M+H]^+$计算值,360.26;试验值360.4。

[0251] 制备11:3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0252] a.3-溴-2-叔丁氧基-苄腈

[0253] 将3-溴-2-氟-苄腈(40.0g,0.200mol)和四氢呋喃(200mL)的混合物骤冷至0℃并搅拌5分钟。于0℃下逐滴添加叔丁醇钾溶液(130mL,0.210mol),并在搅拌的同时在90分钟内使反应升温至室温。将反应用水(200mL)和2M Na_2CO_3(100mL)骤冷并用EtOAc(3x200mL)萃取。有机层经Na_2SO_4干燥并通过旋转蒸发去除溶剂,以提供呈浅黄色油状物的标题化合物。

[0254] b.3-(8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-叔丁氧基-苄腈

[0255] 于0℃下向3-溴-2-叔丁氧基-苄腈(30.73g,0.121mol)于THF(100mL)中的溶液中逐滴添加于THF中的2M异丙基氯化镁(60mL)。将反应混合物搅拌1小时且然后添加四(三苯基膦)钯(0)(2.33g,0.002mol),随后添加于THF(23mL)中的三氟-甲烷磺酸8-苄

基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基酯(35.00g,0.101mol)。将反应混合物于80℃下回流1小时,冷却至室温,用盐水洗涤,并用EtOAc(2x)萃取。有机层经硫酸钠干燥并蒸发掉溶剂,以提供标题化合物(39.2g),其未经进一步纯化即使用。(m/z):$C_{25}H_{28}N_2O$的$[M+H]^+$计算值373.22;试验值373.2。

[0256] c.3-(8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-羟基-苯甲酰胺

[0257] 将三氟乙酸(50mL)和硫酸(20mL)添加于粗制3-(8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-叔丁氧基-苄腈(37.53g,0.101mol)中并将反应混合物于65℃下加热过夜,倾倒于冰水上并中和至pH 7。水层用EtOAc(3x)萃取并蒸发掉溶剂。反应混合物通过硅胶色谱(10分钟7% MeOH:DCM,10分钟10% MeOH:DCM,在30分钟内升至20% MeOH:DCM)纯化,以提供标题化合物(22.15g)。(m/z):$C_{21}H_{22}N_2O_2$的$[M+H]^+$计算值,335.17;试验值335.4。

[0258] d.3-内-(8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基苯甲酰胺

[0259] 将乙醇(1.23L)缓慢添加于钯(6.15g,0.058mol)(10% Pd,50%水)中。将反应混合物搅拌5分钟,添加于EtOH(40mL)中的3-(8-苄基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-3-基)-2-羟基-苯甲酰胺(6.15g,0.018mol),且然后缓慢添加甲酸铵(12.30g,0.195mol)。将反应混合物于60℃下加热约3小时并通过硅藻土过滤,用EtOH洗涤。通过旋转蒸发去除溶剂,以提供标题化合物的甲酸盐(5.46g)。(m/z):$C_{14}H_{19}N_2O_2$的$[M+H]^+$计算值247.14;试验值,247.4。^1H NMR(DMSO-d_6,600MHz)δ(ppm):8.54(s,1H),8.45(s,1H),7.96(s,1H),7.75(d,J=7.8Hz,1H),7.48(d,J=7.32Hz,1H),6.82(t,J=7.64Hz,1H),3.92(s,2H),3.35(m,2H),2.37(m,2H),1.95(m,2H),1.80(m,4H)。分析二维核欧佛豪瑟效应谱(Two-dimensional Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)(NOESY)数据且发现与内构型一致。

[0260] 制备12:3-内-(8-2-[(4,4-二氟-环己基甲基)-氨基]-乙基-8-氮杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-2-羟基-苯甲酰胺

[0261] a.(4,4-二氟-环己基甲基)-(2-羟基-乙基)-氨基甲酸苄基酯

[0262] 将氯甲酸苄基酯(4.8mL,33.2mmol)添加于2-[(4,4-二氟-环己基甲基)-氨基]-乙醇(6.41g,33.2mmol)和DIPEA(5.8mL)于DCM(200mL)中的溶液中并将反应混合物搅拌1小时。将反应混合物用0.1N HCl(150mL)且然后用水(100mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩以获得呈澄清油状物的标题产物(9.1g),使其过夜部分结晶。

[0263] b.(4,4-二氟-环己基甲基)-(2-氧代-乙基)-氨基甲酸苄基酯

[0264] 将DIPEA(9.68mL,0.056mol)和上述步骤的产物(9.1g,0.028mol)于DCM(40mL)中的溶液于-20℃下冷却并添加于二甲亚砜(20mL)中的三氧化硫-吡啶络合物(8.85g,0.056mol)。将反应混合物搅拌1小时并添加DCM(50mL)。将反应混合物用于水中的10% AcOH(100mL)且然后用水(100mL)洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩以获得油状物。粗产物通过硅胶色谱用于己烷中的10-40%乙酸乙酯纯化,获得呈油状物的标题化合物(6.3g)。

[0265] c.2-[(3-内-(3-氨基甲酰基-2-羟基-苯基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-8-基]-乙基-(4,4-二氟-环己基甲基)-氨基甲酸苄基酯

[0266] 将三乙酰氧基硼氢化钠 (142mg,0.67mmol) 添加于 3- 内 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基 - 苯甲酰胺 TFA 盐 (220mg,0.61mmol)、(4,4- 二氟 - 环己基甲基)-(2- 氧代 - 乙基)- 氨基甲酸苄基酯 (218mg,0.67mmol) 和 DIPEA(110μL,0.61mmol) 于 DCM(10mL) 中的溶液中。将反应混合物搅拌 1 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得 TFA 盐 (0.260g)。粗产物用 DCM(10mL) 溶解并用 1M $NaHCO_3$(10mL) 洗涤。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,获得标题化合物 (215mg)。(m/z) :$C_{31}H_{39}F_2N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,556.29 ;试验值 556.2。

[0267] d.3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0268] 将于甲醇 (10mL) 中的上述步骤的产物 (215mg,0.39mol) 添加于氢氧化钯 (20mg,0.14mmol) 中。将反应于氢气氛下搅拌过夜。反应通过硅藻土过滤并浓缩,获得标题化合物 (160mg)。(m/z) :$C_{23}H_{33}F_2N_3O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,422.25 ;试验值,422.2。

[0269] 制备 13 :3- 内 -[8-(3- 氨基 - 丙基)-8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基]-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0270] a.3- 内 -[3-(3- 氨基甲酰基 -2- 羟基 - 苯基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -8- 基]- 丙基 - 氨基甲酸苄基酯

[0271] 将三乙酰氧基硼氢化钠 (249mg,1.17mmol) 添加于 3- 内 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基 - 苯甲酰胺甲酸盐 (286mg,0.98mmol) 和 (3- 氧代 - 丙基)- 氨基甲酸苄基酯 (223mg,1.08mmol) 于 DMF(3mL) 中的混合物中。将反应混合物搅拌 1 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (460mg)。(m/z) :$C_{25}H_{31}N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,438.23 ;试验值 438.2。

[0272] b.3- 内 -[8-(3- 氨基 - 丙基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基]-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0273] 向上述步骤的产物 (460mg,0.83mmol) 于甲醇 (10mL) 中的溶液中添加湿珀尔曼催化剂 (0.1 ： 0.4 ： 0.5,氢氧化钯 ： 炭黑 ： 水,46mg,0.03mmol)。将反应混合物放置于氢气氛下并搅拌过夜,通过硅藻土过滤,并浓缩,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (310mg)。(m/z) :$C_{17}H_{25}N_3O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,304.19 ;试验值 304.2。

[0274] 制备 14 :3- 内 -8-[2-(环己基甲基 - 氨基)- 乙基]-8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0275] 将三乙酰氧基硼氢化钠 (453mg,2.14mmol) 添加于环己基甲基 -(2- 氧代 - 乙基)- 氨基甲酸苄基酯 (309mg,1.06mmol)、3- 内 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基 - 苯甲酰胺甲酸盐 (250mg,0.86mmol) 和 DMF(5mL) 的混合物中。将反应混合物搅拌 2 小时,并用乙酸乙酯 (10mL) 和饱和 $NaHCO_3$(10mL) 萃取。收集有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将所得固体用甲醇 (10mL) 溶解,并放置于氮气气氛下。添加湿珀尔曼催化剂 (0.1 ： 0.4 ： 0.5,氢氧化钯 ： 炭黑 ： 水,0.25mg),并将反应混合物于氢气氛下搅拌过夜,通过硅藻土过滤,并浓缩,以提供未经进一步纯化即使用的标题中间体 (270mg)。(m/z) :$C_{23}H_{35}N_3O_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,386.27 ;试验值 386.6。

[0276] 实例 1 :3- 内 -(8-{2-[((S)-2,3- 二羟基丙酰基)-(2- 乙基丁基)- 氨基] 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0277] 向 3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺 TFA(20mg,0.033mmol)(制备 8)、(S)-2,2- 二甲基 -1,3- 二氧环戊烷 -4- 甲酸锂 (5.56mg,0.0366mmol) 和 DIPEA(17μL,0.10mmol) 于 DMF(0.3mL) 中的溶液中添加六氟磷酸 N,N,N′,N′- 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) 脲鎓盐 (13.9mg,0.0366mmol)。将反应混合物搅拌 2 小时并浓缩。添加乙酸 (0.5mL) 和水 (0.5mL) 并将反应混合物于 75℃下搅拌过夜,冷却至室温,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (8.0mg)。(m/z) :$C_{25}H_{39}N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,462.29 ;试验值 462.3。^1H NMR(CD_3OD 400MHz)7.7(dd,1H),7.6(d,1H),6.9(t,1H),4.6(t,1H),4.2(m,1H),4.1-4.0(m,2H),3.8(3,2H),3.7-3.6(m,1H),3.6-3.3(m,3H),3.3-3.2(m,2H),2.8-2.6(m,2H),2.4-2.2(m,4H),2.2-2.0(m,2H),1.7-1.6(m,1H),1.5-1.3(m,4H),1.1-0.9(m,6H)。

[0278] 实例 2 :3- 内 -(8-2-[(2- 乙基丁基)-(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0279] 向 3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺 TFA(65mg,0.11mmol)(制备 8) 和 DIPEA(22μL,0.13mmol) 于 DCM(2mL) 中的溶液中添加乙酰氧基乙酰氯 (14μL,0.13mmol)。将反应混合物搅拌 1 小时并浓缩。添加甲醇 (5mL),随后添加 6N NaOH(200μL)。将反应混合物于室温下搅拌 1 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (33mg)。(m/z) :$C_{24}H_{37}N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 432.28 ;试验值 :432.8。

[0280] 实例 3 :3- 内 -(8-2-[(2- 乙基丁基)-(2- 甲烷磺酰基乙酰基) 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0281] 向 3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺 TFA(20mg,0.033mmol)(制备 8)、甲烷磺酰基 - 乙酸 (5.05mg,0.0366mmol) 和 DIPEA(17μL,0.10mmol) 于 DMF(10.3mL) 中的溶液中添加六氟磷酸 N,N,N′,N′- 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) 脲鎓盐 (15mg,0.040mmol)。将反应混合物搅拌 2 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (8.8mg)。(m/z) :$C_{25}H_{39}N_3O_5S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,494.26 ;试验值 494.6。

[0282] 实例 4 :3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟环己基甲基)-(2- 羟基乙酰基)- 氨基] 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0283] 向 3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟环己基甲基) 氨基] 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐 (15mg,0.028mmol)(制备 9) 和 DIPEA(12μL,0.071mmol) 于 DCM(5mL) 中的溶液中添加乙酰氧基乙酰氯 (4.6μL,0.0439mmol)。将反应混合物搅拌 1 小时并浓缩。添加甲醇 (2mL),随后添加 6N NaOH(60μL)。将反应混合物于室温下搅拌 1 小时,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (9.2mg)。(m/z) :$C_{25}H_{35}F_2N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 480.26 ;试验值 480.2。

[0284] 实例 5 :3- 内 -(8-2-[(2,2- 二甲基丙基)-(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0285] 根据实例 4 的程序使用 3- 内 -(8-[2-(2,2- 二甲基丙基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐 (制备 10) 代替 3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基) 氨基] 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐,制得呈

其 TFA 盐的标题化合物。(m/z) :$C_{23}H_{35}N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 418.26 ;试验值 :418.8。

[0286] 实例 6 :3- 内 -(8-{2-[((S)-2,3- 二羟基丙酰基)-(2,2- 二甲基丙基) 氨基] 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0287] 根据实例 1 的程序使用 3- 内 -(8-[2-(2,2- 二甲基 - 丙基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺 TFA(制备 10) 代替 3- 内 -(8-[2-(2- 乙基丁基氨基) 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基苯甲酰胺 TFA,制得呈其 TFA 盐的标题化合物。(m/z) :$C_{24}H_{37}N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 448.27 ;试验值 :448.2。

[0288] 实例 7 :3- 内 -(8-{2-[环己基甲基 -(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0289] a. 乙酸 [环己基甲基 -(2- 羟基乙基) 氨基甲酰基]- 甲基酯

[0290] 于 0℃下向 2-(环己基甲基氨基)- 乙醇 (600mg,3.8mmol) 于 DCM(6mL) 中的溶液中在 5 分钟内添加 DIPEA(588mg,4.6mmol) 且然后乙酰氧基乙酰氯 (467mg,3.44mmol)。将所得混合物升温至室温,在氮气氛下搅拌过夜,用 DCM 稀释并相继用 1NHCl 水溶液、饱和 $NaHCO_3$ 和盐水洗涤。有机层经硫酸镁干燥,过滤并浓缩,以获得标题化合物 (914mg)。(m/z) :$C_{13}H_{23}NO_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,258.16 ;试验值,258.0。

[0291] b. 乙酸 [环己基甲基 -(2- 氧代 - 乙基)- 氨基甲酰基]- 甲基酯

[0292] 于 0℃下向上述步骤的产物 (916g,3.56mmol) 于 DCM(10mL) 中的溶液中相继添加 DMSO(417mg,5.34mmol)、DIPEA(1.12g,8.9mmol) 和三氧化硫吡啶络合物 (1.42g,8.9mmol)。将反应混合物搅拌 72 小时,用 DCM 稀释并相继用 1N HCl 水溶液和盐水洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤并浓缩。粗物质通过快速色谱 (于己烷中的 20-100% EtOAc) 纯化,获得标题中间体。浓缩后,获得呈深橙色油状物的标题化合物 (260mg) 且未经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0293] c. 乙酸 ({2-[3- 内 -(3- 氨基甲酰基 -2- 羟基苯基)-8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -8- 基] 乙基 } 环己基甲基 - 氨基甲酰基)- 甲基酯

[0294] 向 3- 内 -(8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺 TFA 盐 (32mg,0.09mmol) 于 DCM(0.3mL) 中的悬浮液中添加乙酸 [环己基甲基 -(2- 氧代 - 乙基)- 氨基甲酰基]- 甲基酯 (34mg,0.13mmol) 和 DIPEA(23mg,0.18mmol)。将反应混合物搅拌 30 分钟,且然后添加三乙酰氧基硼氢化钠 (28mg,0.13mmol) 并将混合物搅拌 1 小时。将反应混合物用 DCM 稀释 (1mL) 并用饱和碳酸氢钠 (2mL) 洗涤。将有机层浓缩,获得标题化合物,其未经进一步纯化即用于下一步骤中。(m/z) :$C_{27}H_{39}N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,486.29 ;试验值,486.4。

[0295] d.3- 内 -(8-{2-[环己基甲基 -(2- 羟基乙酰基) 氨基]- 乙基 }-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基苯甲酰胺

[0296] 将上述步骤的油性残余物溶于乙醇 (0.3mL) 中并用于水 (0.08mL) 中的 $LiOH \cdot H_2O$(10mg,0.5mmol) 处理 2 小时。浓缩溶剂并将残余物溶于水中的 50% 乙酸 (1.2mL) 中,过滤,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (22.7mg)。(m/z) :$C_{25}H_{37}N_3O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,444.28 ;试验值,445.0。

[0297] 实例 8 :3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基)-((S)-2,3- 二羟基 -1- 氧代 - 丙基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0298] 向 3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1]

辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺 (60.0mg,0.14mmol) 和 (S)-2.2- 二甲基 -1,3- 二氧环戊烷 -4- 甲酸锂 (32mg,0.21mmol) 于 DMF(2mL) 中的溶液中添加六氟磷酸 N,N,N′,N′ - 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) 脲鎓盐 (65mg,0.17mmol)。将反应混合物搅拌过夜并浓缩。将所得固体于 1 ∶ 1AcOH ∶水中于 70℃下搅拌过夜并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (65mg)。(m/z) :$C_{26}H_{37}F_2N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 510.27 ;试验值 510.6。

[0299] 实例 9 :3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基)-(2- 甲烷磺酰基 - 乙酰基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0300] 向 3- 内 -(8-2-[(4,4- 二氟 - 环己基甲基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺 (310mg,0.74mmol) 于 DMF(2.1mL) 中的溶液中添加 DIPEA(154μL,0.88mmol),随后添加甲烷磺酰基 - 乙酸 (112mg,0.81mmol) 且然后添加六氟磷酸 N,N,N′,N′ - 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) 脲鎓盐 (336mg,0.88mmol)。将反应混合物搅拌过夜,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (199mg)。^{1}H NMR(CD_3OD,400mHz) δ (ppm)7.69(dd,J = 8.0Hz,1.5Hz,1H),7.70-7.64(m,2H),7.44-7.34(m,3H),7.32(dd,J = 7.5Hz,1.8Hz,1H),6.84(t,J = 7.8Hz,1H),6.6-6.1(m,1H),4.12(dd,J = 17.8Hz,8.4Hz,2H),3.80-3.68(m,2H),3.18-3.06(m,1H),2.46-2.30(m,2H),2.29-2.14(m,2H),2.03-1.93(m,1H)。(m/z) :$C_{26}H_{37}F_2N_3O_5S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值 542.24 ;试验值 542.6。

[0301] 实例 10 和 11

[0302] 根据实例 9 的方法使用适宜 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺衍生物,制得以下化合物的 TFA 盐 :

[0303] 实例 10 :3- 内 -(8-2-[(2,2- 二甲基 - 丙基)-(2- 甲烷磺酰基 - 乙酰基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺 (m/z) :$C_{24}H_{37}N_3O_5S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,480.25 ;试验值 480.0。

[0304] 实例 11 :3- 内 -(8-2-[环己基甲基 -(2- 甲烷磺酰基 - 乙酰基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺 (m/z) :$C_{26}H_{39}N_3O_5S$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,506.26 ;试验值 506.2。

[0305] 实例 12 :3- 内 -(8-2-[环己基甲基 -((S)-2,3- 二羟基 -1- 氧代 - 丙基)- 氨基]- 乙基 -8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺

[0306] 根据实例 8 的方法使用适宜 8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基)-2- 羟基 - 苯甲酰胺衍生物,制得标题化合物的 TFA 盐。(m/z) :$C_{26}H_{39}N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,474.29 ;试验值 474.2。

[0307] 实例 13 :3- 内 -[8-(3- 苯甲酰基氨基 - 丙基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基]-2- 羟基 - 苯甲酰胺

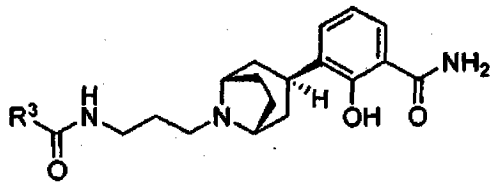
[0308] 将苯甲酰氯 (5.56μL,0.05mmol) 添加于 3- 内 -[8-(3- 氨基 - 丙基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基]-2- 羟基 - 苯甲酰胺 TFA(20mg ;0.05mmol) 和 DIPEA(16.7μL,0.10mmol) 于乙腈 (0.50mL) 和 DCM(0.50mL) 中的溶液中。将反应混合物搅拌 30 分钟,浓缩,并通过制备型 HPLC 纯化,获得呈其 TFA 盐的标题化合物 (16mg)。(m/z) :$C_{24}H_{29}N_3O_3$ 的 $[M+H]^+$ 计算值,408.22 ;试验值 408.2。

[0309] 实例 14 至 18

[0310] 根据实例 13 的程序使用适宜酰氯（实例 14 至 16）或根据实例 9 的程序使用 3- 内 -[8-(3- 氨基 - 丙基)-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基]-2- 羟基 - 苯甲酰胺 TFA 和适宜酸（实例 17 与 18），制得下表 1 的化合物的 TFA 盐。

[0311] 表 1

[0312]



[0313]

实例编号	R^3	式	计算值 $[M+H]^+$	试验值 $[M+H]^+$
14	3- 氯苯基	$C_{24}H_{28}ClN_3O_3$	442.18	442.2

[0314]

15	3,5- 二氟苯基	$C_{24}H_{27}F_2N_3O_3$	444.20	444.2
16	3,5- 二氯苯基	$C_{24}H_{27}Cl_2N_3O_3$	476.14	476.2
17	3- 氟苯基	$C_{24}H_{29}N_3O_3$	426.21	426.2
18	3- 氯 -2- 氟苯基	$C_{24}H_{27}ClFN_3O_3$	460.17	460.2

[0315] 实例 19 :N-{2-[3- 内 -(3- 氨基甲酰基 -2- 羟基 - 苯基)-8- 氮杂 - 双环 [3.2.1] 辛 -8- 基]- 乙基 }-N-(2- 乙基 - 丁基)- 琥珀酰胺酸

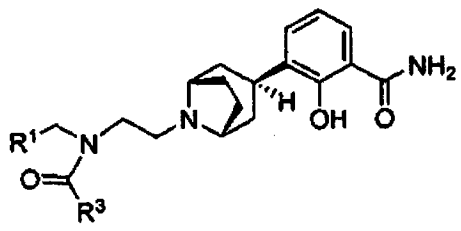
[0316] 向琥珀酐 (32mg,0.32mmol) 中添加六氟磷酸 N, N, N′ , N′ - 四甲基 -O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) 脲鎓盐 (120mg,0.32mmol)，随后添加 3- 内 -8-[2-(2- 乙基 - 丁基氨基)- 乙基]-8- 氮杂双环 [3.2.1] 辛 -3- 基 -2- 羟基 - 苯甲酰胺 (58.9mg,0.16mmol) 和 DIPEA(81mg,0.63mmol) 于 DMF(0.5mL) 中的溶液。将所得混合物于室温下搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩，溶于 1 ： 1AcOH ： H_2O(1.5mL) 中，过滤并通过制备型 HPLC 纯化，以提供呈其 TFA 盐的标题化合物 (43.8mg)。(m/z) :$C_{26}H_{39}N_3O_5$ 的 $[M+H]^+$ 计算值，474.29 ；试验值 474.2。

[0317] 实例 20 至 26

[0318] 根据实例 19 的一般程序，制得下表 2 的化合物的 TFA 盐 ：

[0319] 表 2

[0320]



[0321]

实例编号	R^1	R^3	式	计算值 $[M+H]^+$	试验值 $[M+H]^+$
20	1- 乙基丙基	$-CH_2C(O)OH$	$C_{25}H_{37}N_3O_5$	460.27	460.2
21	1- 乙基丙基	$-CH_2C(O)O-$ 苄基	$C_{32}H_{43}N_3O_5$	550.32	550.2
22	4,4- 二 F- 环己基	$-CH_2C(O)O-$ 苄基	$C_{33}H_{41}F_2N_3O_5$	598.30	598.2
23	4,4- 二 F- 环己基	$-CH_2C(O)OH$	$C_{26}H_{35}F_2N_3O_5$	508.25	508.2
24	4,4- 二 F- 环己基	$-(CH_2)_2C(O)OH$	$C_{27}H_{37}F_2N_3O_5$	522.27	522.2
25	叔丁基	$-CH_2C(O)O-$ 苄基	$C_{31}H_{41}N_3O_5$	536.30	536.2
26	叔丁基	$-CH_2C(O)OH$	$C_{24}H_{35}N_3O_5$	446.26	446.2

[0322] 分析 1 :针对人类 μ 、人类 δ 和天竺鼠 κ 类阿片受体的放射性配体结合分析

[0323] a. 膜制备物

[0324] 使经人类 μ 类阿片或天竺鼠 κ 受体 cDNA 稳定转染的 CHO-K1(中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary))细胞在培养基中在5% CO_2 下增湿培养器中于37℃下生长,所述培养基含有补充有 10% FBS 的哈姆 (Ham)-F12 培养基、100 单位 /ml 青霉素 -100μg/mL 链霉素和800μg/mL遗传霉素 (Geneticin)。使用 [^{3}H]- 二丙诺啡 (Diprenorphine)(比活性为约 50-55Ci/mmol) 在膜放射性配体结合分析中确定受体表达水平 (B_{max} 分别为约 2.0pmol/mg 和约 0.414pmol/mg 蛋白质)。

[0325] 使细胞生长至 80-95%铺满(< 25 代继代培养)。对于细胞系继代培养,将细胞单层于室温下培养 5 分钟,并通过在补充有 5mM EDTA 的 10mL PBS 中机械搅拌来收获。重新悬浮之后,将细胞转移至 40mL 新鲜生长培养基中以 1000rpm 离心 5 分钟,并以适当分流比重新悬浮于新鲜生长培养基中。

[0326] 对于膜制备,通过与于 PBS 中的 5mM EDTA 一起轻缓的机械搅拌、随后离心 (2500g 持续 5 分钟)来收获细胞。将沉淀物重新悬浮于 pH 为 7.4 的分析缓冲液 (50mM4-(2- 羟基乙基)哌嗪 -1- 乙烷磺酸 N-(2- 羟基乙基)哌嗪 -N′ -(2- 乙烷磺酸)(HEPES)) 中,并用波吕特龙 (polytron) 破碎器在冰上均质化。将所得匀浆离心 (1200g 持续 5 分钟),将沉淀物丢弃并将上清液离心 (40,000g 持续 20 分钟)。沉淀物通过重新悬浮于分析缓冲液中洗涤一次,随后进行额外离心 (40,000g 持续 20 分钟)。将最终沉淀物重新悬浮于分析缓冲液(相当于 1 个 T-225 烧瓶 /1mL 分析缓冲液)中。使用生物放射性伯乐蛋白质分析试剂盒 (Bio-Rad Bradford Protein Assay kit) 测定蛋白质浓度并将膜以冷冻等份试样存储于 -80℃下,直至需要为止。

[0327] 人类 δ 类阿片受体 (hDOP) 膜是自铂金 - 埃尔默 (Perkin-Elmer) 购得。经报告,在 [^{3}H]- 纳曲哚 (Natrindole) 放射性配体结合分析中通过饱和分析所测定所述膜的 K_d 和 B_{max} 分别为 0.14nM(pK_d = 9.85) 和 2.2pmol/mg 蛋白质。使用生物放射性伯乐蛋白质分析试剂盒测定蛋白质浓度。将膜以冷冻等份试样存储于 -80℃下,直至需要为止。

[0328] b. 放射性配体结合分析

[0329] 放射性配体结合分析是在爱思进 (Axygen)1.1mL 深孔 96- 孔聚丙烯分析板中以 200μL 的总分析体积实施,其中在补充有 0.025%牛血清蛋白 (BSA) 的分析缓冲液中包含适当量的膜蛋白(对于 μ、δ 和 κ 分别为约 3、约 2 及约 20μg)。用于测定放射性配体 Kd 值的饱和结合研究是使用 [^{3}H]- 二丙诺啡以 0.001nM-5nM 范围内的 8-12 个不同浓度实施。用于测定化合物 pK_i 值的置换分析是利用 [^{3}H]- 二丙诺啡(对于 μ、δ 及 κ 分别为 0.5、1.2 及 0.7nM)、且以 10pM-100μM 范围内的 7 个化合物浓度来实施。

[0330] 利用格夫潘迪普瑞择木 (GraphPad Prism) 软件包(格夫潘迪软件 (GraphPad Software) 公司,圣地亚哥 (San Diego),加利福尼亚 (CA)) 使用针对单一位点竞争的 3 参数模型通过非线性回归分析来分析结合数据。将曲线最小值确定为非特异性结合的数值,如在 10μM 纳洛酮 (naloxone) 存在下所测定。测试化合物的 K_i 值是在普瑞择木 (Prism) 中根据最佳拟合 IC_{50} 值、和放射性配体的 K_d 值使用陈 - 普鲁索夫等式 (Cheng-Prusoff equation)($K_i = IC_{50}/(1+([L]/K_d))$(其中 [L] = [^{3}H]- 二丙诺啡的浓度)来计算。结果以 $-\log_{10}K_i$ 值 (pK_i) 表示。

[0331] 在所述分析中具有较高 pK_i 值的测试化物对 μ、δ 或 κ 类阿片受体具有较高结合亲和力。在所述分析中测试实例 1-26 的化合物。所有化合物对人类 μ 类阿片受体皆具

有介于约 8.4 与约 10.7 之间的 pK_i 值。例如，实例 1、2 和 6 的化合物的 pK_i 值分别为 10.0、10.0 和 9.6。本发明化合物对人类 δ 和天竺鼠 κ 类阿片受体也展示介于约 7.5 与约 10.2 之间的 pK_i 值。

[0332] 分析 2：在从表达人类 μ- 类阿片受体的 CHO-K1 细胞制得的膜中激动剂介导的 μ- 类阿片受体的活化

[0333] 在此分析中，通过测量受体活化后在从表达人类 μ- 类阿片受体的 CHO-K1 细胞制得的膜中所存在的结合 [^{35}S]GTPγS 的量来测定测试化合物的效能和固有活性值。

[0334] a. μ 类阿片受体膜制备物：

[0335] 人类 μ 类阿片受体 (hMOP) 膜是如上所述来制备或自铂金埃尔默 (Perkin Elmer) 购得。据报告，在 [^{3}H]- 二丙诺啡放射性配体结合分析中通过饱和分析所测定的购买的膜的 pK_d 和 B_{max} 分别为 10.06 和 2.4pmol/mg 蛋白质。使用生物放射性伯乐蛋白质分析试剂盒测定蛋白质浓度。将膜以冷冻等份试样存储于 -80℃下，直至需要为止。

[0336] b. 人类 μ [^{35}S]GTPγS 核苷酸交换分析

[0337] 如上所述制得膜，且在开始分析之前，将等份试样于分析缓冲液 (50mM HEPES，在 25℃下 pH 为 7.4) 中稀释至浓度为 200μg/mL，然后使用波吕特龙 (Polytron) 匀浆器匀浆 10 秒钟。测试化合物是作为于 DMSO 中的 10mM 储备溶液接收，稀释于含 0.1% BSA 的分析缓冲液中至 400μM，且然后制成连续 (1 ： 5) 稀释液以产生在 40pM-80μM 范围内的 10 个化合物浓度。GDP 和 [^{35}S]GTPγS 分别于分析缓冲液中稀释至 40μM 和 0.4nM。分析以 200μL 的总体积实施，其中含稀释于 10mM $MgCl_2$、50mM NaCl 和 0.0125% BSA 中的 10μg 膜蛋白、在 10pM-20μM 范围内的测试化合物、10μM GDP、和 0.1nM [^{35}S]GTPγS（最终分析浓度）。在每一板上包括 DAMGO(Tyr-D-Ala-Gly-（甲基）Phe-Gly- 醇）浓度 - 反应曲线（在 12.8pM-1μM 范围内）。

[0338] 分析板是在即将分析之前添加 50μL NaCl/$MgCl_2$/GDP 溶液、50μL 测试化合物和 50μL [^{35}S]GTPγS 之后制得。通过添加 50μL 膜蛋白开始分析且将其于室温下培养 30 分钟。通过在用 0.3% 聚氮丙啶预先封闭的 96- 孔 GF/B 过滤板上过滤终止反应，使用帕克菲特梅特 (Packard Filtermate) 收获器收获，并用冰冷的分析缓冲液 (3x200μL) 洗涤。将沉淀物干燥过夜，然后经由液体闪烁分析在帕克桃浦康特 (Packard Topcount) 仪器上测定所结合计数。媒剂：DMSO 不超过最终分析浓度的 1%。

[0339] 结合 [^{35}S]GTPγS 的数量与 μ 类阿片受体被测试化合物活化的程度成正比。固有活性 (IA)（表示为百分数）测定为对于测试化合物活化所观察到的结合 [^{35}S]GTPγS 的数量与对于 DAMGO（假定其为完全激动剂 (IA ＝ 100)）活化所观察到的数量的比率。在此分析中所测试的本发明化合物展示固有活性小于约 10。例如，实例 1、3 和 6 的化合物的 IA 值分别为 -1、-4 和 9。因此，本发明化合物已经展示对于人类 μ 类阿片受体起到拮抗剂的作用。

[0340] 分析 3：活体内效能的大鼠模型

[0341] 在此分析中，测试化合物的效能是在胃肠传输模型中评价，所述模型评价周边活性。此研究经色瑞文斯 (Theravance) 公司的国际实验动物管理和使用委员会 (InstitutionalAnimal Care and Use Committee) 批准且符合美国国家科学院 (National Academy ofSciences) 出版的实验动物护理和使用指南 (Guide for the Care and Use of

LaboratoryAnimals) (©1996)。

[0342] a. 大鼠胃排空分析

[0343] 在大鼠胃排空分析中评价测试化合物以测定其逆转洛哌丁胺 (loperamide) 诱导的延迟胃排空的活性。使大鼠禁食一整夜，然后通过静脉内、皮下、肌内或口服投与途径以 0.001 毫克 / 千克至约 30 毫克 / 千克 (mg/kg) 范围内的剂量投与测试化合物或媒剂。测试化合物的投与是在以 1mg/kg 的剂量皮下投与洛哌丁胺或媒剂之后实施。投与洛哌丁胺或媒剂 5 分钟后，通过口服管饲投与无营养不能吸收的碳粗粉且在 60 分钟的试验持续时间内允许动物自由饮水。然后通过二氧化碳窒息将动物无痛处死，随后实施胸廓切开术并仔细检查胃。将胃在食道下端括约肌和幽门括约肌处结扎以防止在组织去除期间另外排空。然后在去除结扎线之后测定胃重量。

[0344] b. 数据分析和结果

[0345] 使用格夫潘迪普瑞择木 (GraphPad Prism) 软件包（格夫潘迪软件 (GraphPad Software) 公司，圣地亚哥 (San Diego)，加利福尼亚 (CA)）分析数据。通过非线性回归分析使用 S 形剂量反应（可变斜率）模型构造百分数逆转曲线并计算最佳拟合 ID_{50} 值。将曲线最小值和最大值分别确定为洛哌丁胺对照值（表示 0％逆转）和媒剂对照值（表示 100％逆转）。结果表示为 ID_{50}，其是使洛哌丁胺的作用逆转 50％所需的剂量（以毫克 / 千克表示）。经口投与的实例 1、4 和 6 的化合物在胃排空模型中分别展示 ID_{50} 值为 0.11mg/kg、0.014mg/kg 和 0.42mg/kg。

[0346] 尽管已参照本发明的特定实施例对本发明进行了阐述，但所属领域的技术人员应了解，可对其实施多种改变并且可取代多种等效物，此并不背离本发明的真实精神和范围。另外，可做出许多修改以使特定情况、材料、物质组成、方法、一个方法步骤或多个步骤适应本发明的目的、精神和范围。所有这些修改形式均意欲涵盖于本发明随附权利要求书的范围中。此外，上文所引用的所有出版物、专利和专利文献的全文均如同单独以引用方式并入一般以引用的方式并入本文中。