

公 告 本

申請日期	87.8.27
案 號	87110508
類 別	C07D409/10

A4
C4

446705

(以上各欄由本局填註)

10/11 31/395

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 名稱	中 文	用作骨耗損抑制劑及透明質蛋白受體拮抗劑之新穎噁基 脲衍生物類
	英 文	Novel acylguanidine derivates as inhibitors of bone resorption and as vitronectin receptor antagonists
二、發明 創作人	姓 名	1. 白奧席 Dr. Anuschirwan 2. 羅森
	國 籍	
三、申請人	住、居所	
	姓 名 (名稱)	1. 2. G
	國 籍	1. 德 2. 美國籍
	住、居所 (事務所)	1. 德國梅茵河畔法蘭克福城D-65926 D-65926 Frankfurt am Main, Germany 2. 美國加州南舊金山帝安路1號 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990, U.S.A.
代 表 人 姓 名		1. 羅 瑟(Dr. Losert) 弗斯克(Dr. Fischer) 2. 魏達利(Daryl B. Winter, Ph.D.)

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
IPC分類：

A6
B6

本案已向：

國(地區) 申請專利, 申請日期: 案號: , 有 無主張優先權

歐洲
(指定德國)

西元1997年12月19日 97122520.6

有關微生物已寄存於: , 寄存日期: , 寄存號碼:

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

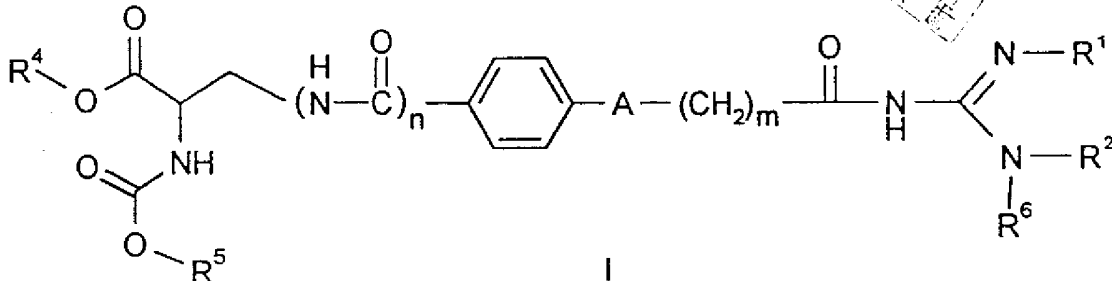
線

~2-2~

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(/)

本發明係關於式I之醯基胍衍生物類



其中其中 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 A 、 m 及 n 具有下述之定義，其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體，式I化合物為有價值之藥學活性成份，其為透明質蛋白受體拮抗劑及蝕骨細胞之骨耗損抑制劑，且適用於例如治療或預防至少一部分是由不欲程度之骨耗損所引起之疾病，例如骨質疏鬆症，本發明還關於式I化合物之製法，其用途，尤其是作為藥學活性成份，及含彼之藥學製劑。

人骨進行包括骨耗損及骨形成之固定動態更新步驟，這些步驟是由專門供這些目的之細胞控制，骨耗損是基於經由蝕骨細胞破壞骨質，大部分之骨疾病是基於骨形成及骨耗損之間的平衡遭破壞，骨質疏鬆症之特徵是損失骨質，活化的蝕骨細胞為直徑至多400微米且可去除骨質之多核細胞，活化的蝕骨細胞變成連接至骨質表面且分泌蛋白分解酵素及酸至所謂的"密封區"，即細胞膜與骨質之間的區域，酸性環境及蛋白酶造成骨破壞，式I化合物可抑制蝕骨細胞之骨耗損。

五、發明說明()

研究顯示蝕骨細胞與骨之連接是由蝕骨細胞表面上的整合酶受體控制，整合酶為受體之總稱，其中尤其是包括血小板上的纖維蛋白原受體 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 及透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ ，透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 為多種細胞例如內皮細胞、血管平滑肌肉系統之細胞、蝕骨細胞及腫瘤細胞在細胞表面上釋出的膜糖蛋白，在蝕骨細胞膜上釋出之透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ ，控制與骨連接及骨耗損之步驟，且因此導致骨質疏松症， $\alpha_v\beta_3$ 在此情形下連接至骨質蛋白質，例如骨蛋白質、骨涎蛋白質及血小板蛋白質，其中含三肽要素Arg-Gly-Asp(或RGD)。

Horton與同僚揭示RGD肽及抗透明質蛋白受體之抗體(23C6)，其可抑制蝕骨細胞對牙齒之破壞及蝕骨細胞之移轉(Horton et al., Exp. Cell. Res. 1991, 195, 368)，在J. Cell. Biol. 1990, 111, 1713中，Sato et al. 揭示一種從蛇毒液取得之RGD肽之小腹蛇毒素(echistatin)，可在組織培養液中作為骨耗損之抑制劑及作為蝕骨細胞與骨連接之抑制劑，Fischer et al. (Endocrinology 1993, 132, 1411)在大鼠中證實小腹蛇毒素也可在活體內抑制骨耗損。

進一步證實透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 在人類大動脈血管平滑肌肉系統的細胞上，可刺激這些細胞轉移至新血管內膜，最後導致動脈硬化及血管成形術後的再度狹窄(Brown et al., Cardiovascular Res. 1994, 28, 1815)。

Brooks et al. (Cell 1994, 79, 1157)證實對抗 $\alpha_v\beta_3$ 的抗體或 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗劑可在血管生成中經由引發血管細胞之吞

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

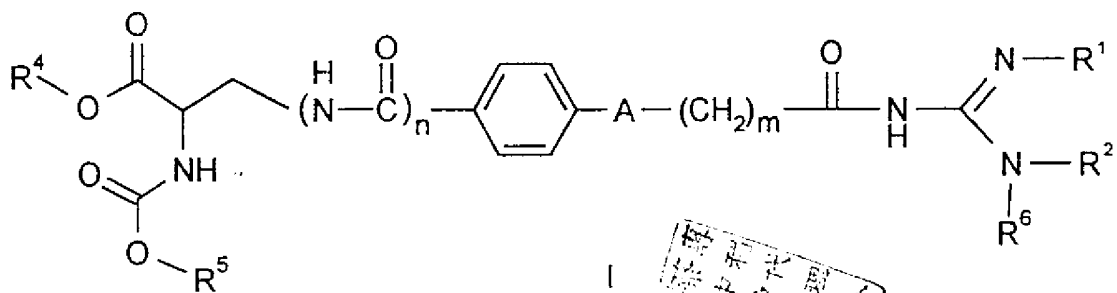
訂

五、發明說明 (3)

噬作用而造成腫瘤縮小, Cheresch et al. (Science 1995, 270, 1500)揭示對抗 $\alpha_v\beta_3$ 的抗體或 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗劑在大鼠眼中抑制bFGF引發的血管生成過程, 此性質可醫療性地用於治療視網膜病變, 透明質蛋白受體或與此相關的交互作用之改變, 因此提供改變不同疾病狀態之機會, 其中在治療及預防上持續需求合適的藥學活性成份。

專利申請案WO-A-94/12181揭示經取代之芳族或非芳族環系統且WO-A-94/08577揭示經取代之雜環作為纖維原蛋白受體拮抗劑及血小板聚集之抑制劑, EP-A-528 586與EP-A-528 587揭示經胺烷基取代或雜環基取代之苯基丙胺酸衍生物類, 且WO-A-95/32710揭示芳基衍生物類作為蝕骨細胞骨耗損之抑制劑, WO-A-96/00574揭示苯並二吡啶因, 且WO-A-96/00730揭示纖維原蛋白受體拮抗劑樣板, 尤其是連接至含氮的5員環之苯並二吡啶因, 作為透明質蛋白受體拮抗劑, 進一步的調查證實式I的醯基胍類為透明質蛋白受體及蝕骨細胞骨耗損的特別強烈抑制劑。

本發明係關於式I之化合物,



其中:

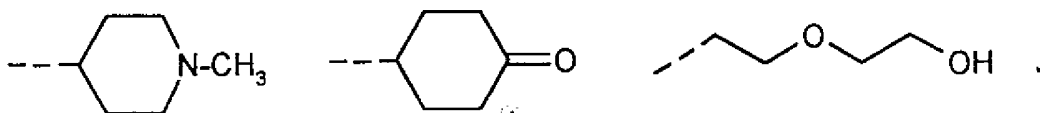
五、發明說明(4)

R^1 及 R^2 彼此獨立地為氫或(C₁-C₆)-烷基，其為未經取代或被 R^3 取代，

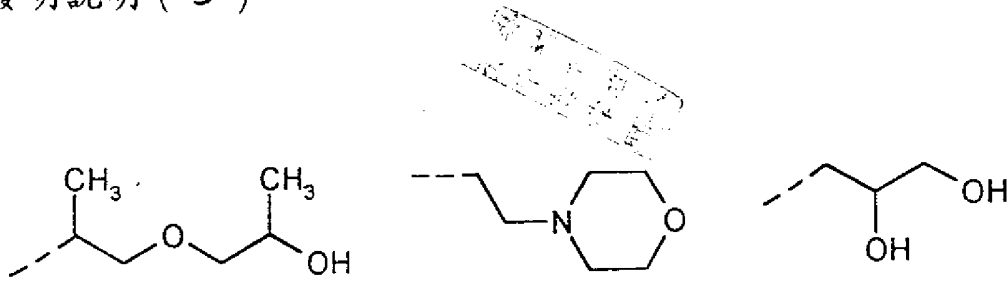
或其中基團 R^1 -及 R^2 -一起為飽和或不飽和的二價(C₂-C₉)-伸烷基，例如基團-(CH₂)_p-，其中p為2、3、4、5、6、7、8或9，其為未經取代或被一或多個選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之基團取代，其中5-至7-員飽和或不飽和環為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個基團 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，在(C₂-C₉)-伸烷基中可稠合成碳-碳鍵；

R^3 為(C₁-C₈)-烷基、(C₁-C₈)-烷氧基、(C₅-C₁₄)-芳基、(C₅-C₁₄)-芳基-(C₁-C₄)-烷基、鹵基、三氟甲基、羥基、硝基或胺基；

R^4 為氫、(C₁-C₆)-烷基-CO-O-(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₆)-烷基，其為未經取代或被一個選自包括羥基、(C₁-C₄)-烷氧基、(C₁-C₄)-烷基-S(O)₂、NR⁷R⁷及N⁺R⁷R⁷R⁷Q⁻之基團取代，其中R⁷、R⁷及R⁷彼此獨立地為氫、(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-芳基或(C₅-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基且Q為生理上可耐受之陰離子，或其中 R^4 為下列基團之一



五、發明說明(5)



其中基團連接之自由鍵用虛線表示；

R^5 為 (C_1-C_8) -烷基、 (C_6-C_{14}) -芳基- (C_1-C_6) -烷基或 (C_5-C_{14}) -雜芳基- (C_1-C_6) -烷基，其中芳基或雜芳基為未經取代或被一、二或三個 R^3 取代；

R^6 為氫、 (C_1-C_6) -烷基-O-CO、羥基、 (C_1-C_6) -烷基-O-CO-O或硝基；

A為 CH_2 、O、S或NH；

m為1、2或3；

n為0或1；

其全部的立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

可在式I化合物中出現數次之全部基團例如 R^3 ，可各彼此獨立地具有上述之定義且可相同或不同。

出現在取代基中的烷基可為直鏈或支鏈，飽和或單-或多元不飽和，此也適用於如果其帶有的取代基或以其他基團之取代基出現，例如在烷氧基、烷酯基或芳烷基，相同情形適用於伸烷基，合適的 (C_1-C_9) -烷基實例為：甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、這些基團之正異構物、異丙基、異丁基、異戊基、新戊基、異己基、3-甲基戊基、2,3,4-三甲基己基、第二丁基、第三丁

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明(6)

基、第三戊基，較佳的烷基為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基及第三丁基，相對應於上述單價基之二價基，例如亞甲基、伸乙基、1,3-伸丙基、1,2-伸丙基(=1-甲基伸乙基)、2,3-伸丁基(=1,2-二甲基伸乙基)、1,4-伸丁基、1,6-伸己基為伸烷基之實例。

不飽和的烷基為例如烯基例如乙烯基、1-丙烯基、烯丙基、丁烯基、3-甲基-2-丁烯基或炔基例如乙炔基、1-丙炔基或炔丙基，不飽和的伸烷基為伸烯基及伸炔基，同樣可為直鏈或支鏈，伸烯基之實例為伸乙烯基或伸丙烯基且伸炔基之實例為伸乙炔基或伸丙炔基。

環烷基可為單環、二環或三環，單環的環烷基為尤其是環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環辛基、環壬基、環癸基、環十一碳基或環十二碳基，但是其也可被例如(C₁-C₄)-烷基取代，可列舉的經取代環烷基實例為4-甲基環己基及2,3-二甲基環戊基。

鹵基為例如氟、氯、溴或碘。

(C₅-C₁₄)-芳基包括雜環(C₅-C₁₄)-芳基(=(C₅-C₁₄)-雜芳基)，其中環碳原子被雜原子例如氮、氧或硫取代，及碳環(C₆-C₁₄)-芳基，碳環(C₆-C₁₄)-芳基之實例為苯基、萘基、聯苯基、蒽基或芴基，其中1-萘基、2-萘基及尤其是苯基較佳，如果沒有另外說明，芳基尤其是苯基，可為未經取代或被一或多個基團較宜為一、二或三個基團取代，尤其是芳基可被選自包括(C₁-C₈)-烷基尤其是(C₁-C₄)-烷基、(C₁-C₈)-烷氧基尤其是(C₁-C₄)-烷氧基、鹵基例如氟、氯及溴、

五、發明說明(7)

硝基、胺基、三氟甲基、羥基、亞假二氧基、氟基、羥基羰基、胺基羰基、(C₁-C₄)-烷酯基、苯基、苯氧基、苄基及苄氧基之相同或不同基團取代，一般而言，在根據本發明之式I化合物中，只有至多兩個硝基可為取代基。

在經單取代之苯基中，取代基可位於2-位置、3-位置或4-位置，以3-位置及4-位置較佳，如果苯基被二取代，取代基可位於2,3-位置、2,4-位置、2,5-位置、2,6-位置、3,4-位置或3,5-位置，在二取代之苯基中，兩個取代基較宜排列在相對於連結部位之3,4-位置，在經三取代之苯基中，取代基可位於2,3,4-位置、2,3,5-位置、2,3,6-位置、2,4,5-位置、2,4,6-位置或3,4,5-位置。

除了碳環系統之外，(C₅-C₁₄)-芳基也可為單環或多環芳族環系統其中1、2、3、4或5個環碳原子可被雜原子取代，尤其是選自包括氮、氧及硫之相同或不同的雜原子，雜環(C₅-C₁₄)-芳基及(C₅-C₁₄)-雜芳基之實例為2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、吡唑基、噁唑基、異噁唑基、噻唑基、異噻唑基、四唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吲哚基、異吲哚基、吲唑基、酞嗪基、喹啉基、異喹啉基、喹啶基、喹唑啉基、嘧啶基、β-吡啶基、或這些基團之苯並稠合環戊-、環己-或環庚-稠合的衍生物，如同上述碳環芳基系統，雜環系統可被相同的取代基取代。

在這些雜芳基系列中，含1、2或3個且尤其是1或2個選自包括N、O、S雜原子之單環或二環芳族環系統，較宜

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明(8)

為未經取代或被1、2或3個選自包括(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、氟、氯、硝基、胺基、三氟甲基、羥基、(C₁-C₄)-烷酯基、苯基、苯氧基、苄氧基及苄基之取代基取代，在此特別較佳的為含1、2或3個且尤其是1或2個選自包括N、O、S雜原子之單環或二環芳族5-至10-員環系統，其可被1至2個選自包括(C₁-C₄)-烷基、(C₁-C₄)-烷氧基、苯基、苯氧基、苄基及苄氧基之取代基取代。

如果R¹-及R²-兩個基團一起代表二價飽和或不飽和的(C₂-C₉)-伸烷基，這兩個基團與和其連接之兩個氮原子及與這兩個氮原子連接之胍基中間碳原子形成一個單環1,3-二氮雜雜環，並經由其2-位置連接至(CH₂)_m-CO-NH基之氮原子。

可相同於(C₂-C₉)-伸烷基之敘述及在胍基氮原子被取代之此1,3-二氮雜雜環基之實例為2-咪唑基、4,5-二氫-2-咪唑基、1,4,5,6-四氫-2-嘧啶基或4,5,6,7-四氫-1H-1,3-二吡啶因-2-基，如果5-至7-員環在(C₂-C₉)-伸烷基中稠合成碳-碳鍵，則R¹及R²兩個基團與和其連接之兩個氮原子及與這兩個氮原子連接之胍基中間碳原子形成一個二環雜環，並連接至(CH₂)_m-CO-NH基之氮原子，其可如同上述被取代，此稠合(或縮合)的5-至7-員環可為飽和、單-或二不飽和或芳族，因此例如可縮合成環戊烷環、環己烷環、環己烯環、環己二烯環、環庚烷或苯環，可連接至(CH₂)_m-CO-NH基之氮原子之此二環雜環實例為1,3a,4,5,6,6a,-六氫-1,3-二氮雜戊烯-2-基、1H-2-苯並咪唑基、3a,4,5,6,7,7a-六氫-1H-苯並咪唑-

五、發明說明(9)

2-基、4,5,6,7-四氫-1H-苯並咪唑-2-基、4,7-二氫-1H-苯並咪唑-2-基或1H-咪唑[4,5-b]吡啶-2-基，如果縮合環被取代及/或如果(C₂-C₉)-伸烷基被取代，其較宜彼此獨立地被相同或不同的R³基單-或二取代，如果烷基代表R¹及/或R²被取代，其較宜彼此獨立地被相同或不同的R³基單-或二取代，尤其是單取代。

在式I化合物中含的光學活性碳原子可彼此獨立地有R組態或S組態，式I化合物可存在為純對掌異構物形式或純的非對掌異構物或對掌異構物混合物形式，例如外消旋形式或非對掌異構物混合物之，本發明關於純的對掌異構物及對掌異構物混合物及非對掌異構物與非對掌異構物混合物，本發明包括式I的兩種或兩者以上立體異構物之混合物，及混合物中立體異構物之全部比例。

式I化合物可視需要存在為E異構物或Z異構物，本發明同時關於純的E異構物及純的Z異構物及全部比例下的E/Z混合物，本發明也關於式I化合物之全部互變形式，例如，除了式I所示以外，也包括其中醯基胍單位存在為-CO-N=C(NHR¹)-NR²R⁶基，及可動的氫原子在不同位置之全部其他形式，包括E/Z異構物之非對掌異構物可經由例如層析法分離成個別的異構物，可用習知的方法例如在對掌性相的層析法或解離法，將外消旋物分離成兩個對掌異構物。

式I化合物在生理上可耐受之鹽類為特別是藥理上可被利用或無毒的生理上可被利用之鹽類，此種含酸基例如羧

五、發明說明(10)

基之式I化合物鹽類為例如鹼金屬鹽類或鹼土金屬鹽類，例如鈉鹽、鉀鹽、鎂鹽及鈣鹽，及與藥理上可耐受之四級銨離子之鹽類及與氨及生理上可耐受之有基胺類例如三乙胺、乙醇胺或參-(2-羥乙基)胺之酸加成鹽，含鹼性基之式I化合物與例如無機酸例如氫氯酸、硫酸或磷酸，或與有機羧酸及磺酸例如乙酸、檸檬酸、苯甲酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、甲基磺酸或對甲苯基磺酸形成酸加成鹽，含鹼性基及酸性基之式I化合物，例如胍基及羧基，可存在為兩性離子(甜菜鹼)，其同樣也包括在本發明之範圍內。

包含在式I化合物其中 R^4 為烷基並經正電荷的銨離子取代之生理上可耐受之陰離子 Q^- ，為特別是單價陰離子或相當的多價陰離子之無毒生理上可利用且尤其是藥理上可利用之無機或有機酸，例如陰離子或陰離子相當物之其中一種適合形成酸加成鹽之上述酸， Q^- 因此可為例如包括氯化物、硫酸鹽、磷酸鹽、醋酸鹽、檸檬酸鹽、苯甲酸鹽、馬來酸鹽、富馬酸鹽、酒石酸鹽、甲基磺酸鹽或對甲苯基磺酸鹽之其中一種陰離子(或陰離子相當物)。

式I化合物之鹽類可得自熟諳此藝者已知的慣用方法，例如將式I化合物與無機酸或有機酸或鹼在溶劑或分散劑中混合，或從其他鹽類經由陽離子交換或陰離子交換，本發明也包括式I化合物的全部鹽類，其因為有低的生理耐受度，不直接適合作為藥劑使用，但適合作為中間物供進行式I化合物之其他化學改良，或作為起始物質供製備生理上可耐受之鹽類。

五、發明說明(//)

本發明還包括式I化合物之全部溶劑化物，例如水合物或與醇類之加合物，以及式I化合物之衍生物，例如酯類、藥物前體及其他生理上可耐受之衍生物，以及式I化合物之活性代謝物，本發明特別關於式I化合物之藥物前體，其在生理情形下可轉化成式I化合物，式I化合物之合適的藥物前體，也就是具有在所要方式下改良的性質之式I化合物的化學性改良衍生物，為熟諳此藝者已知，關於藥物前體之更詳細資料可參見例如Fleisher et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 19 (1996) 115-130; *Design of Prodrugs*, H. Bundgaard, Ed., Elsevier, 1985; H. Bundgaard, *Drugs of the Future* 16 (1991) 443; Saulnier et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 4 (1994) 1985; Safadi et al., *Pharmaceutical Res.* 10 (1993) 1350, 式I化合物之合適的藥物前體為特別是羧酸基尤其是COOH基之酯藥物前體，其存在為當COOR⁴中的R⁴為氫，及可醃基化的含氮基團例如胺基及尤其是胍基之醃基藥物前體與胺基甲酸鹽藥物前體，在醃基藥物前體或胺基甲酸鹽藥物前體中，位於這些基團中的氮原子上之氫原子被醃基或胺基甲酸鹽基取代一或多次例如兩次，醃基藥物前體與胺基甲酸鹽藥物前體之合適的醃基及胺基甲酸鹽基為例如R¹⁰-CO及R¹¹O-CO，其中R¹⁰為氫、(C₁-C₁₈)-烷基、(C₃-C₁₄)-環烷基、(C₃-C₁₄)-環烷基-(C₁-C₈)-烷基、(C₅-C₁₄)-芳基，其中1至5個碳原子可被雜原子例如N、O、S或(C₅-C₁₄)-芳基-(C₁-C₈)-烷基取代，其中芳基部份之1至5個碳原子可

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(一)

被雜原子例如N、O、S取代，且 R^{11} 具有除了氫以外之 R^{10} 定義。

在式I化合物中， R^1 及 R^2 較宜為氫或一起為飽和或不飽和且尤其是飽和的二價(C₂-C₅)-伸烷基，尤其是(C₂-C₄)-伸烷基，特別是(C₂-C₃)-伸烷基，其為未經取代或被一或兩個相同或不同且選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在伸烷基中稠合成碳-碳鍵，在式I化合物中， R^1 及 R^2 特別較宜為氫或 $-(CH_2)_p-$ ，其中p為2、3、4或5，較宜為2、3或4，特別較宜為2或3，且其為未經取代或被一或兩個相同或不同且選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在 $-(CH_2)_p-$ 中稠合成碳-碳鍵，關於 R^1 及 R^2 之全部定義，更宜如果 R^1 及 R^2 異於氫，此外較宜如果 R^1 及 R^2 一起為二價伸烷基或此段定義之 $-(CH_2)_p-$ 。

R^3 較宜為(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₄)-烷氧基。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

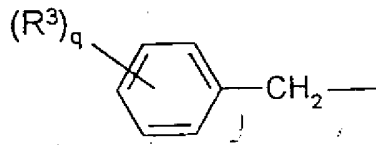
訂

線

五、發明說明(/)

R^4 較宜為氫或未經取代或經取代之 (C_1-C_6) -烷基，尤其較宜為氫或 (C_1-C_6) -烷基，其為未經取代或被選自包括 (C_1-C_4) -烷氧基、 (C_1-C_4) -烷基- $S(O)_2$ -及 NR^7R^7 之取代基取代，其中 R^7 及 R^7 彼此獨立地為氫或 (C_1-C_4) -烷基， R^4 非常較宜為氫或未經取代或經取代之 (C_1-C_4) -烷基，或較宜為氫或 (C_1-C_4) -烷基，其為未經取代或如同上述經取代。

R^5 較宜為 (C_1-C_8) -烷基或式II之基團



其中 R^3 可相同或不同且可位於苯基的任何所要位置，其中 q 為0、1或2，較宜為0或1，特別較宜為0， R^5 特別較宜為 (C_1-C_4) -烷基或式II之基團，其中 q 為0或1， R^5 非常特別較宜為式II之基團，其中 q 為0或1，也就是未經取代之苜基或在相鄰位置、相間位置或相對位置被 R^3 單取代之苜基。

R^6 較宜為氫或 (C_1-C_6) -烷基-O-CO，特別較宜為氫或 (C_1-C_4) -烷基-O-CO，尤其是氫。

A較宜為 CH_2 或O。

較佳的式I化合物為彼等化合物，其中一或多個基團具有較佳之定義，特別較佳的式I化合物為彼等化合物，其中 R^1 及 R^2 為氫或一起為飽和或不飽和的二價 (C_2-C_5) -伸烷基，尤其是氫或一起為 $-(CH_2)_p-$ ，其中 p 為2、3、4或5，其中 (C_2-C_5) -伸烷基及 $-(CH_2)_p-$ 為未經取代或被選自包括鹵基、

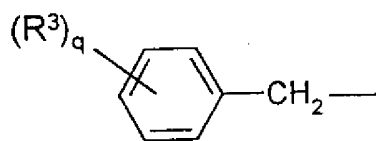
五、發明說明(14)

(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，且其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被R³取代，尤其是被一或兩個R³取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在(C₂-C₅)-伸烷基及-(CH₂)_p-中稠合成碳-碳鍵；

R³為(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₄)-烷氧基；

R⁴為氫或(C₁-C₆)-烷基，其為未經取代或被選自包括(C₁-C₄)-烷氧基、(C₁-C₄)-烷基-S(O)₂-及NR⁷R⁷之取代基取代，其中R⁷及R⁷彼此獨立地為氫或(C₁-C₄)-烷基；

R⁵為(C₁-C₈)-烷基或式II之基團



其中q為0或1，且R³可位於苯基的任何所要位置；

R⁶為氫或(C₁-C₆)-烷基-O-CO；

A為CH₂或O；

m為1、2或3；

n為0或1；

其全部的立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

非常特別較佳的式I化合物為彼等化合物，其中

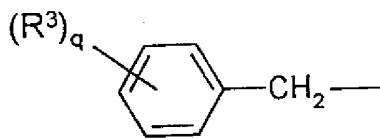
五、發明說明(15)

R^1 及 R^2 為氫或一起為飽和或不飽和的二價(C₂-C₄)-伸烷基，尤其是氫或一起為-(CH₂)_p-，其中p為2、3或4，其中(C₂-C₄)-伸烷基及-(CH₂)_p-為未經取代或被選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，且其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在(C₂-C₄)-伸烷基及-(CH₂)_p-中稠合成碳-碳鍵；

R^3 為(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₄)-烷氧基；

R^4 為氫或(C₁-C₆)-烷基；

R^5 為(C₁-C₄)-烷基或式II之基團



其中q為0或1，且 R^3 可位於苯基的任何所要位置；

R^6 為氫或(C₁-C₄)-烷基-O-CO；

A為CH₂或O；

m為1、2或3；

n為0或1；

其全部的立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

五、發明說明(16)

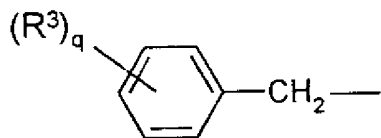
尤其較佳的式I化合物為彼等化合物，其中：

R^1 及 R^2 為氫或一起為飽和或不飽和的二價(C_2-C_3)-伸烷基，尤其是氫或一起為 $-(CH_2)_p-$ ，其中p為2或3，其中(C_2-C_3)-伸烷基及 $-(CH_2)_p-$ 為未經取代或被選自包括鹵基、(C_1-C_6)-烷基、(C_1-C_6)-烷氧基、(C_6-C_{14})-芳基、(C_6-C_{14})-芳基- (C_1-C_6) -烷基、(C_5-C_{14})-雜芳基、(C_5-C_{14})-雜芳基- (C_1-C_6) -烷基、(C_3-C_{12})-環烷基及(C_3-C_{12})-環烷基- (C_1-C_6) -烷基及氧基之取代基取代，且其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在(C_2-C_3)-伸烷基及 $-(CH_2)_p-$ 中稠合成碳-碳鍵；

R^3 為(C_1-C_4)-烷基或(C_1-C_4)-烷氧基；

R^4 為氫或(C_1-C_4)-烷基；

R^5 為(C_1-C_4)-烷基或式II之基團



其中q為0或1，且 R^3 可位於苯基的任何所要位置；

R^6 為氫或(C_1-C_4)-烷基-O-CO；

A為 CH_2 ；

m為1；

n為1；

五、發明說明(17)

其全部的立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

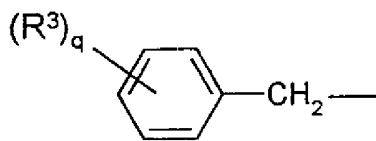
尤其較佳的式I化合物也為彼等化合物，其中：

R^1 及 R^2 為氫或一起為飽和或不飽和的二價(C₂-C₃)-伸烷基，尤其是氫或一起為-(CH₂)_p-，其中p為2或3，其中(C₂-C₃)-伸烷基及-(CH₂)_p-為未經取代或被選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，且其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在(C₂-C₃)-伸烷基及-(CH₂)_p-中稠合成碳-碳鍵；

R^3 為(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₄)-烷氧基；

R^4 為氫或(C₁-C₄)-烷基；

R^5 為(C₁-C₄)-烷基或式II之基團



II

其中q為0或1，且 R^3 可位於苯基的任何所要位置；

R^6 為氫或(C₁-C₄)-烷基-O-CO；

A為氧；

m為1；

五、發明說明(18)

n為1；

其全部之立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

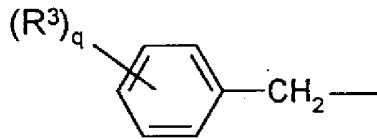
尤其較佳的式I化合物還可為彼等化合物，其中：

R^1 及 R^2 為氫或一起為飽和或不飽和的二價(C₂-C₃)-伸烷基，尤其是氫或一起為-(CH₂)_p-，其中p為2或3，其中(C₂-C₃)-伸烷基及-(CH₂)_p-為未經取代或被選自包括鹵基、(C₁-C₆)-烷基、(C₁-C₆)-烷氧基、(C₆-C₁₄)-芳基、(C₆-C₁₄)-芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₅-C₁₄)-雜芳基、(C₅-C₁₄)-雜芳基-(C₁-C₆)-烷基、(C₃-C₁₂)-環烷基及(C₃-C₁₂)-環烷基-(C₁-C₆)-烷基及氧基之取代基取代，且其中5-至7-員飽和或不飽和環其為未經取代或被 R^3 取代，尤其是被一或兩個 R^3 取代，且其為碳環或含一或兩個環氮原子之雜環，可在(C₂-C₃)-伸烷基及-(CH₂)_p-中稠合成碳-碳鍵；

R^3 為(C₁-C₄)-烷基或(C₁-C₄)-烷氧基；

R^4 為氫或(C₁-C₄)-烷基；

R^5 為(C₁-C₄)-烷基或式II之基團



II

其中q為0或1，且 R^3 可位於苯基的任何所要位置；

R^6 為氫或(C₁-C₄)-烷基-O-CO；

A為氧；

五、發明說明(19)

m為3；

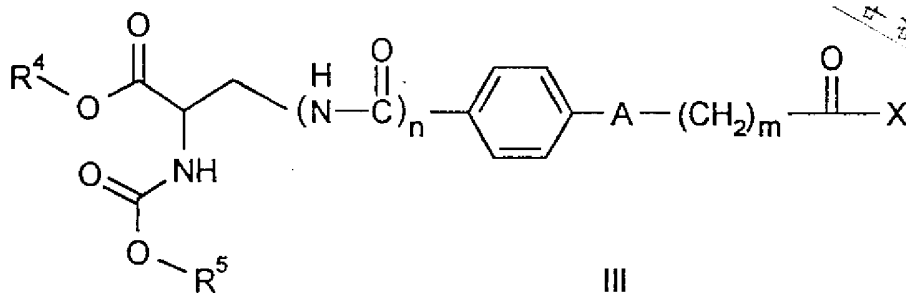
n為0；

其全部的立體異構形式及全部比例之混合物，及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體。

較佳的式I化合物還可為其中連接 R^4O-CO- 及 $R^5OCO-NH-$ 兩個基團之碳原子有S組態。

本發明也關於式I化合物之製法，此化合物通常可經由例如在會聚合成中製備，經由連接兩個或多個逆向合成衍生自式I之部份，在製備式I化合物中，通常適宜或需要加入在各合成步驟中可能導致不欲的反應或副反應之官能基，以前驅物之形式加入並隨後轉化成所要的官能基，或暫時用適合解決合成問題之保護基包覆官能基，這些為熟諳此藝者所熟知(Greene, Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, 1991)。

因此式I化合物之製備可經由例如用本身已知的方法，將式III之羧酸或羧酸衍生物



其中 R^4 、 R^5 、A、n及m相同於式I所述之定義，或者是官能基可存在為前驅物之形式，隨後轉化成存在於式I化合物之

五、發明說明(之)

宜在本身已知的方法並在質子或非質子極性但惰性之有機溶劑中進行，在此情形下，經證明合適在甲醇、異丙醇、第三丁醇、二甲基甲醯胺或四氫呋喃並在0°C至這些溶劑沸點之溫度，例如在甲酯(X=甲氧基)或乙酯(X=乙氧基)與胍類之反應，COX型化合物與不含鹽的胍類之反應適宜在非質子惰性溶劑例如二甲基甲醯胺、四氫呋喃、二甲氧基乙烷或二噁烷中進行，如果需要可加入鹼例如第三丁醇鉀或甲醇鈉，但是在式III化合物與胍類之反應中，例如當使用鹼例如氫氧化鈉時，也可用水作為溶劑，如果X為氯，反應較宜在添加酸清除劑下進行，例如加入鹼或在多餘的胍(衍生物)存在下，供結合所得的氫鹵酸，處理反應混合物且如果需要時，經由熟諳此藝者熟知的慣用方法純化反應產物。

用標準方法將視需要仍然存在於從式III與IV化合物所得的產物之保護基去除，例如用三氟乙酸處理將第三丁酯基轉化成羧酸基，經由氫化將苄基去除或用二級胺將苄基甲酯基去除，並用標準方法進行下一反應，例如醯基化反應，如果需要時，用以之方法轉化成樣裡上可耐受之鹽類或藥物前體。

連接至特定式I醯基胍衍生物類之式III及IV之起始物質，為可商業化供應或經由文獻中揭示或類似的方法製備，式III起始成份之製備乙實例的方式說明在下列圖示中，本發明不受限於這些合成或這些起始成份，熟諳此藝者進行

五、發明說明 (>>)

所示合成之修改，以製備根據本發明之其他化合物，將不會造成任何困難。

據此例如在吡啶及六氫吡啶存在下，式V之羧基苯甲醛可與式VI之丙二酸酯鹽反應，得到式VII之肉桂酸衍生物，其例如在Pd/C存在下氫化後，得到式VIII之化合物且活化的羧酸基可與式IX之2,3-二胺基丙酸衍生物縮合，得到式X之化合物(圖示1)，縮合反應可在例如TOTU或其他慣用的羧酸活化劑存在下進行，在式X中，Z為苄酯基，但是除了Z以外，其他基可存在於氮原子上，其可暫時保護2-位置之胺基或其也可存在於根據本發明之式I化合物且可保留在分子內，同樣地，除了第三丁酯外，可存在其他酯類，其可暫時保護酸基或其也可存在於根據本發明之式I化合物且可保留在分子內，類似於式VII之化合物也可得自其他方法，經由例如Wittig反應將羧基轉化成烯。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

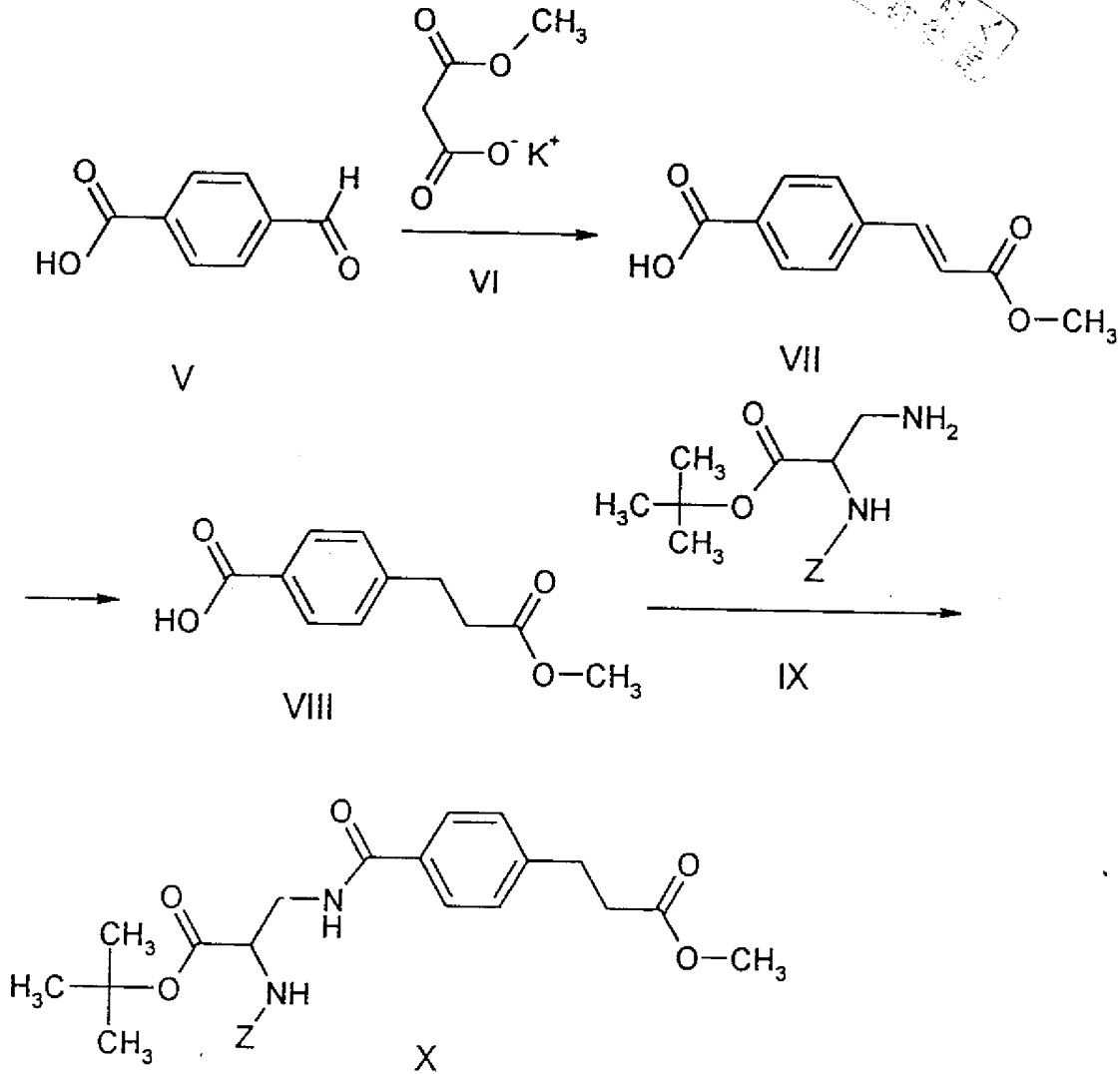
裝

訂

線

五、發明說明 (23)

圖示1



式XI之對羥基苯甲酸可與式IX之2,3-二氨基丙酸衍生物反應，得到式XII之化合物，上述說明適用於式IX化合物及縮合反應，可在標準情形下用鹵基羧酸衍生物，例如用

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

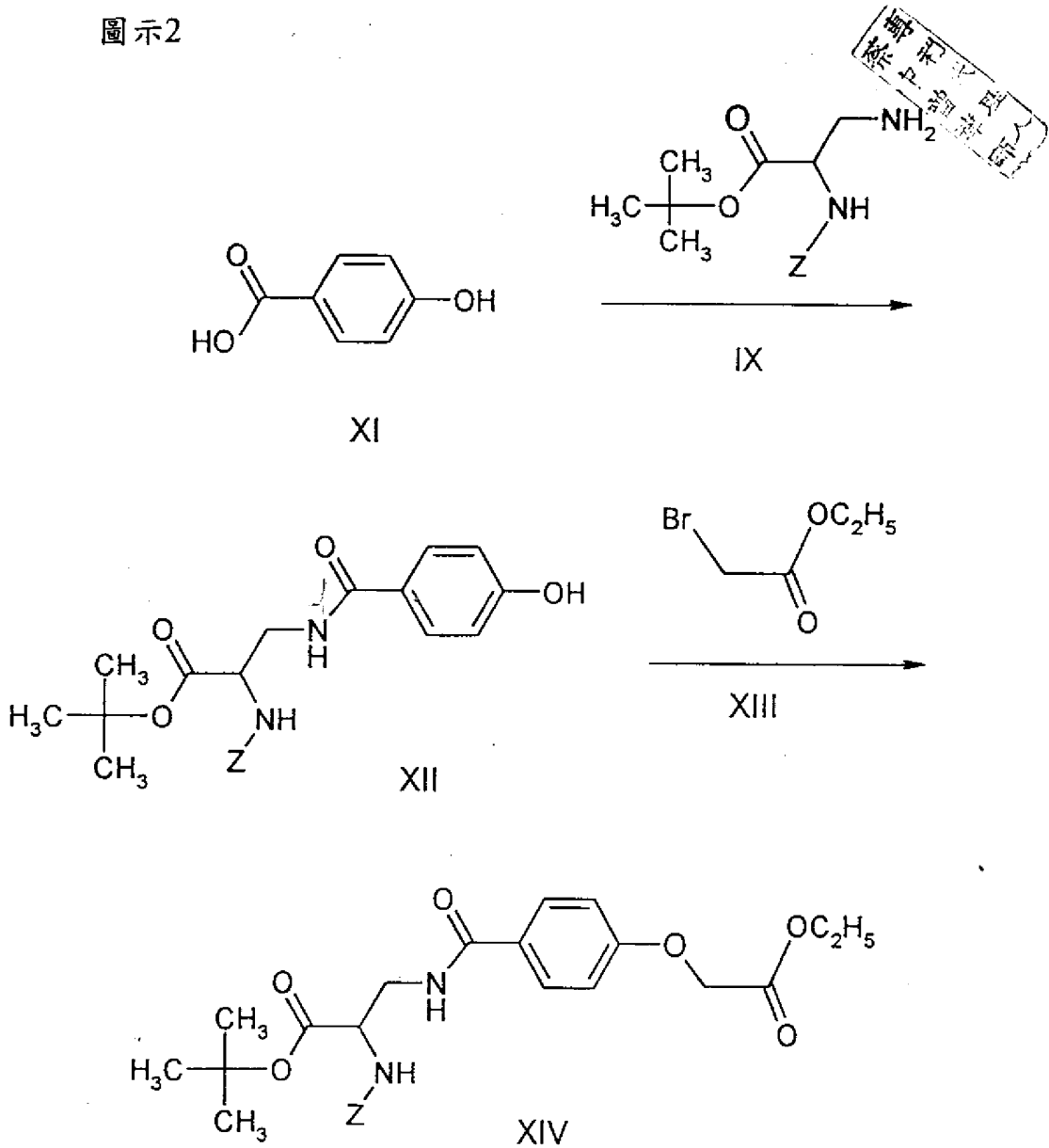
訂

線

五、發明說明 (24)

式XIII之溴乙酸酯將式XII化合物烷基化，得到式XIV化合物(圖示2)，對胺基苯甲酸及對巰基苯甲酸可相對應地反應。

圖示2



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

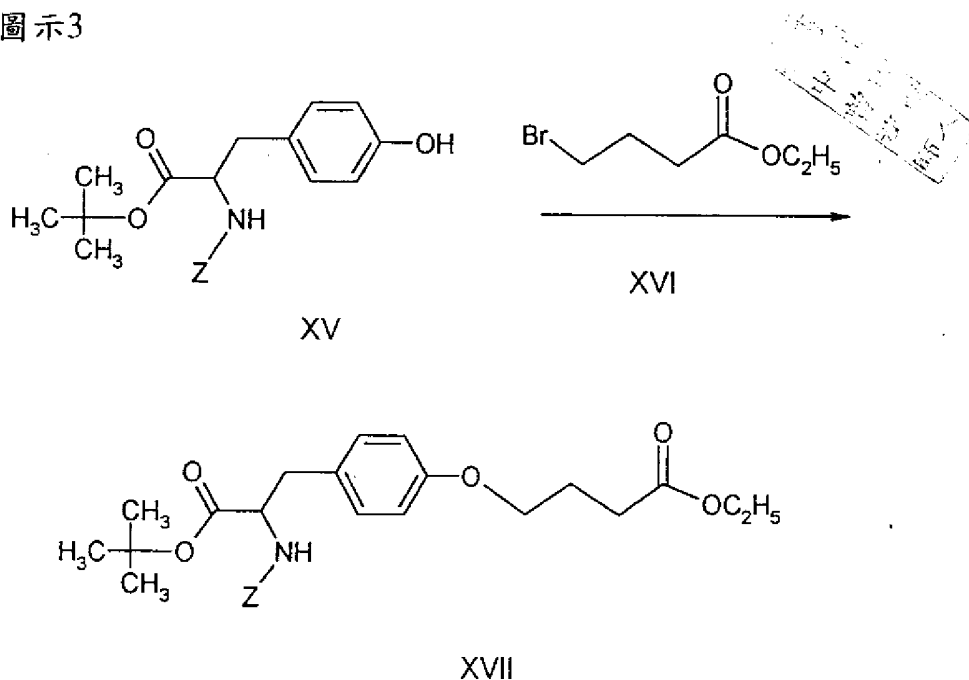
裝 訂 線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (25)

在標準情形下用鹵基羧酸衍生物，例如用式XVI之溴丁酸酯將式XV之酪胺酸衍生物烷基化，得到式XVII化合物(圖示3)，在式XV中，Z為苄酯基，但是除了Z以外，其他基可存在於氮原子上，其可暫時保護胺基或其也可存在於根據本發明之式I化合物且可保留在分子內，同樣地，除了第三丁酯外，可存在其他酯類，其可暫時保護酸基或其也可存在於根據本發明之式I化合物且可保留在分子內，類似於式XVII之化合物可根據或類似於上述製備方法製備。

圖示3



式X、XIV及XVII化合物為其中X為甲氧基或乙氧基之式III化合物實例，這些化合物及得自上述合成方法之類似化合物，含有一個活化羧酸衍生物之基團並可直接與式IV化合物反應，但是得自上述合成方法之化合物，也可先在

五、發明說明 (26)

標準情形下經由分解甲酯基或乙酯基或存在於式X、XIV及XVII化合物相關位置之其他酯基而轉化成相對應之羧酸，然後用例如TOTU或DCCI在當場活化後或轉化成活化的酸衍生物後，使其與式IV之胍類反應，如果是活化的羧酸衍生物，其係要製備例如醯基氯(式III, X=Cl)，此可例如使用亞硫醯氯進行，如果是要從羧酸製備例如甲酯(X=甲氧基)，此可經由在甲醇中使用氣態氫氣酸處理而進行，其他活化的酸衍生物可用本身已知的方法從醯基氯或直接從其基質之羧酸(X=OH)製備，例如咪唑類(X=1-咪唑基)是經由用羧基二咪唑(參見Staab, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1, 351-367 (1962))處理酸類，或混合酞類例如經由與氯甲酸酯類例如氯甲酸乙酯或與甲苯磺醯基氯在安類例如三乙胺存在下，在惰性溶劑中反應，多種適合供製備活化的羧酸衍生物之方法，詳細地列在J. March, Advanced Organic Chemistry, Third Edition, John Wiley & Sons, 1985, 350頁之文獻來源中。

式I化合物為有用的藥學活性成份，其適合例如供治療及預防骨疾病、腫瘤疾病或心血管疾病，式I化合物及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體可用藥至動物，較宜為哺乳動物，且尤其是人類作為治療或預防之藥劑，其可單獨或與其他成份之混合物用藥，或以藥學製劑之形式經由口服或不經腸道之方式用藥，且作為活性成份時，其中含有有效劑量之至少一種式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類

五、發明說明 (27)

及/或其藥物前體以及慣用的在藥學上無毒的載劑及/或添加物。

本發明因此也關於式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體作為藥劑之用途，式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體製造藥劑供治療及預防上述或下列疾病之用途，例如供治療及預防骨疾病，以及式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體製造藥劑供治療及預防這些疾病之用途，本發明還關於一種藥學製劑其中含有效劑量之至少一種式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體以及慣用的在藥學上無毒的載劑及/或添加物。

此藥劑可經由口服用藥，例如以丸劑、片劑、塗漆片劑、包衣片劑、粒劑、硬質及軟質明膠膠囊劑、溶液、糖漿、乳液、懸浮液或氣溶膠混合物之形式，但是也可經由直腸用藥，例如以栓劑之形式，或不經腸道用藥，例如以注射液或灌輸液、微膠囊、植入物或桿狀體之形式，或皮下用藥，例如以軟膏、溶液或酊劑之形式，或以其他方式用藥，例如以氣溶膠或鼻噴霧劑之形式。

根據本發明之藥學製劑可用本身已知的方法製備，除了式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體外，還使用藥學上惰性之無機或有機載劑，對於製造丸劑、片劑、包衣片劑及硬質明膠膠囊劑，可使用例如乳糖、玉米澱粉或其衍生物、滑石、硬脂酸或其鹽類等，軟質明膠膠囊劑及栓劑之載劑為例如脂肪、蠟、半固態及液態多

五、發明說明 (28)

元醇類、天然或硬化油類等，製造溶液例如注射液或乳液或糖漿之合適載劑為例如水、醇類、甘油、多元醇類、蔗糖、轉化糖、葡萄糖、蔬菜油等，微膠囊、植入物或桿狀體之合適載劑為例如甘醇酸與乳酸之共聚物，藥學製劑中通常含約0.5至90重量%的式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類。

除了活性成份及載劑以外，此藥學製劑還可含添加劑，例如填充劑、分解劑、黏著劑、潤滑劑、濕化劑、安定劑、乳化劑、防腐劑、甜化劑、染色劑、矯味劑或芳香劑、增量劑、稀釋劑、緩衝物質、以及溶劑或溶解劑或試劑供達到儲存效應、供改變等滲壓力之鹽類、塗劑或抗氧化劑，其也可含二或多種式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體，而且除了至少一種式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體外，其也可含一或多種其他治療或預防的活性成份，此藥學製劑通常含0.2至500毫克且較宜為1至200毫克之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類及/或其藥物前體之活性成份。

式I化合物為透明質蛋白受體之拮抗劑並具有例如抑制蝕骨細胞在骨表面形成之能力及因此可抑制蝕骨細胞之骨耗損，式I化合物之活性可用例如在抑制透明質蛋白結合至含透明質蛋白受體的細胞之測試法證實，此測試法之細節如下，作為透明質蛋白受體之拮抗劑，式I化合物及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體通常適合供治療及預防在細胞-細胞交互作用過程或細胞-基質交互作用過程中，建立

五、發明說明(29)

在透明質蛋白受體與其配位體之交互作用之疾病，或可被此形式之交互作用抑制性影響之疾病，或供預防、減輕或治癒需要此形式之交互作用抑制性之疾病，如在開始時之說明，此種交互作用在例如骨耗損、血管生成或血管平滑肌肉系統之細胞增殖中扮演重要角色，式I化合物及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體，因此適合例如供減輕或治癒至少一部分是由不欲程度之骨耗損、血管生成或血管平滑肌肉系統之細胞增殖造成之疾病。

可用根據本發明之式I化合物治療及預防之骨疾病為特別是骨質疏鬆症、高鈣血症、例如由轉移酶造成之骨質減少症、牙齒疾病、甲狀旁腺機能亢進症、類風濕性關節炎中的關節周圍糜爛及Paget氏症，此外，式I化合物可用於減輕、防止或治療由糖皮質激素、類固醇或腎上腺皮質類固醇的治療或缺乏性荷爾蒙造成之骨疾病，全部這些疾病之特徵是骨流失，其係建立在骨形成及骨破壞之間的平衡且其利於被蝕骨細胞骨耗損之抑制性影響。

除了作為蝕骨細胞骨耗損抑制劑之用途外，式I化合物及其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體可作為腫瘤成長及腫瘤轉移之抑制劑、消炎劑、供治療或預防心血管疾病例如動脈硬化症及或狹窄、或供治療或預防腎病變或視網膜病變，例如糖尿病引起的視網膜病變。

當使用式I化合物時，其劑量可在大範圍內變化，且通常使其適於各單獨病例之單獨病情，其決定於例如使用的化合物或需要治療的疾病之本質與嚴重性及是否為急性或

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (30)

慢性情形或是否進行預防，在口服用藥之情形下，每日劑量通常為0.01至100毫克/公斤，較宜為0.1至50毫克/公斤，尤其是為0.1至5毫克/公斤，例如0.3至0.5毫克/公斤使在體重約75公斤之成人達到有效之結果(在各情形下以每公斤體重之毫克數)，而且在靜脈用藥時，每日劑量通常為0.01至100毫克/公斤，較宜為0.05至10毫克/公斤(在各情形下以每公斤體重之毫克數)，每日劑量可以分成數次使用，尤其是在用藥相當大量之情形下，例如分成2、3或4組份用藥，如果適當時，決定於個別之行為，可能需要向上或向下調整所述之每日劑量。

除了作為藥學活性成份之外，式I化合物也可作為活性成份之媒劑或載劑使用，以便輸送特定的活性成份至活性部位(=藥劑標的；參見例如Targeted Drug Delivery, R. C. Juliano, Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 100, Ed. Born, G. V. R. Et al., Springer Verlag)，需要輸送之活性成份為特別是彼等可用於治療上述疾病者。

式I化合物及其鹽類還可供診斷目的使用，例如在活體外之診斷，及在其中需要阻止透明質蛋白或影響細胞-細胞或細胞-基質交互作用之生化調查中作為輔劑，其還可作為中間物使用供製備其他化合物，尤其是其他藥學活性成份，其可得自式I化合物，例如經由改良或加入基團或官能基。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

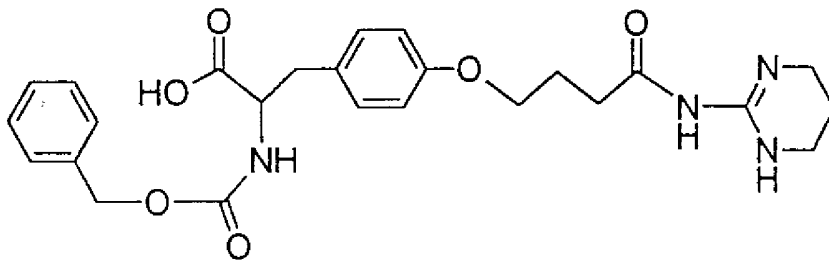
五、發明說明(31)

實例

產物是經由質譜(MS)及/或NMR光譜鑑定，經由層析法純化之化合物其使用的溶離液含例如醋酸或三氟醋酸，且然後冷凍乾燥，或其中在最後合成步驟中，例如使用三氟醋酸去除第三丁基保護基，決定於如何進行冷凍乾燥，在某些情形下仍然含從溶離液或最後合成步驟產生之酸，且得到部份或全部以使用的酸形成之鹽類，例如醋酸鹽或三氟醋酸鹽之形式。

實例1

(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸



a) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-乙酯基丙氧基)苯基)丙酸第三丁酯

將7.42克(0.02莫耳)的N-苄酯基-L-酪胺酸第三丁酯與9.77克(0.03莫耳)的碳酸鉀及3.9克(0.02莫耳)的4-溴丁酸乙酯在約60毫升的丙酮中迴流6小時，將反應混合物冷卻後，在真空下將溶劑去除，使殘留物分佈在醋酸乙酯及水

五、發明說明 (33)

(1/1), 將液層分離後, 有機相各用水及飽和的氯化鈉溶液清洗兩次, 經由硫酸鈉乾燥病在真空下濃縮, 油性殘留產物在矽膠上經由快速層析法純化(二氯甲烷/乙腈25/1), 產量: 9.4克(97%)的黏性油。

$R_f=0.36$ (矽膠, 二氯甲烷/甲醇99/1)。

b) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸第三丁酯

將6.72克(0.06莫耳)的第三丁醇鉀添加至8.13克(0.06莫耳)的1-胺基-1,4,5,6-四氫嘧啶鹽酸鹽在100毫升無水二甲基甲醯胺之溶液, 在室溫下攪拌30分鐘後, 在此溶液中加入7.2克(0.015莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-乙酯基丙氧基)苯基)丙酸第三丁酯並在室溫下攪拌12小時, 在真空下將溶劑去除後, 在殘留物中加入300毫升醋酸乙酯及100毫升水, 並將有機層分離, 用飽和的氯化鈉溶液清洗兩次, 經由硫酸鈉乾燥並濃縮, 所得的粗產物立即在矽膠上層析(二氯甲烷/甲醇/冰醋酸100/5/1), 得到5.4克(60.6%)之不定形產物。

c) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸

將5.4克(0.009莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸第三丁酯醋酸鹽溶解在20毫升三氟醋酸/水(95/5), 使溶液在室溫下攪拌30分鐘, 然後在真空下將反應溶液濃縮, 將殘留物溶解在水中並將溶液冷凍乾燥, 產量: 5.2克(98%)。

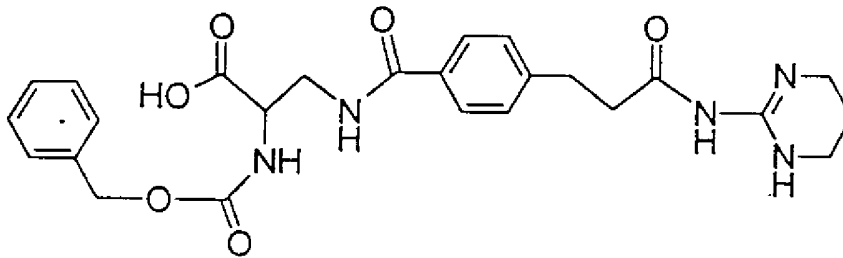
五、發明說明()

MS (ES⁺): m/e =483.3 (M+H⁺, 100%)。

¹H-NMR (DMSO): δ = 1.67 - 1.78 (m, 2H); 2.01 (t, 2H); 2.59 (t, 2H); 2.62 - 3.05 (m, 2H); 3.30 - 3.43 (m, 4H); 3.98 (t, 2H); 4.02 - 4.20 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.15 (d, 2H); 7.20 - 7.40 (m, 5H); 7.60 (d, 1H); 9.10 (s, 2H).

實例2

(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸



a) 4-(2-甲酯基乙烯基)苯甲酸

將18.74克(0.12莫耳)的丙二酸單甲酯鉀鹽懸浮在18毫升吡啶中，在室溫及攪拌下加入15.01克(0.1莫耳)的4-羧基苯甲醛及0.85克(0.01莫耳)的六氫吡啶，使混合物迴流至停止釋出CO₂(約2小時)，然後再度加入60毫升吡啶，並使混合物在迴流下攪拌1小時，在攪拌下在反應混合物中加入500毫升冰及110毫升濃氫氯酸，完成添加後，使混合物再攪拌20分鐘，吸氣過濾產物，用水清洗並從亦丙醇再結晶，產量: 12.85克(62%)。

五、發明說明()

修正
補充
本88年10月12日

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ = 3.75 (s, 3H, OCH_3); 6.76 (d, $J=15$ Hz, 1H, CHCOOCH_3); 7.73 (d, $J=15$ Hz, 1H, Ar-CH); 7.84 (d, $J=9$ Hz, 2H, Ar-H); 7.98 (d, $J=9$ Hz, 2H, Ar-H); 13.11 (s, 寬峰, 1H, COOH)。

MS (Cl^+): $m/e = 207.2$ ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%)。

HPLC: RP18, Nucleosil 300-5-C18, 250x4 mm; 緩衝液A: H_2O , 0.1%三氟醋酸(TFA); 緩衝液B: 乙腈(80%體積/體積)/ H_2O (20%體積/體積), 0.1% TFA; 梯度: 先5分鐘90%緩衝液A/10%緩衝液B, 然後20分鐘用90%緩衝液B, 然後5分鐘用90%緩衝液B; 流速1毫升/分鐘; $R_t=18.05$ 分鐘。

b) 4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸

將8克(38.8毫莫耳)的4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸懸浮在250毫升二噁烷中, 在室溫下經由Pd/C (10%強度) 在1巴氫氣下氫化7小時, 將混合物過濾並在真空下將溶劑去除, 產量: 8.05克(100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ = 2.67 (t, $J=8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOCH}_3$); 2.93 (t, $J=8$ Hz, 2H, Ar- CH_2); 3.59 (s, 3H, OCH_3); 7.35 (d, 2H, Ar-H); 7.86 (d, $J=9$ Hz, 2H, Ar-H); 12.80 (s, 寬峰, 1H, COOH)。

MS (Cl^+): $m/e = 209.2$ ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%)。

HPLC: RP18, Nucleosil 300-5-C18, 250x4 mm; 緩衝液A: H_2O , 0.1%三氟醋酸(TFA); 緩衝液B: 乙腈(80%體積/體積)/

五、發明說明()

修正
補充 488 410 12 日

H₂O(20%體積/體積), 0.1% TFA; 梯度: 先5分鐘90%緩衝液A/10%緩衝液B, 然後20分鐘用90%緩衝液B, 然後5分鐘用90%緩衝液B; 流速1毫升/分鐘; R_t=17.03分鐘。

c) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將354毫克(1.7毫莫耳)的4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸及500毫克(1.7毫莫耳)的(2S)-3-胺基-2-苄酯基胺基丙酸第三丁酯溶解在3毫升二甲基甲醯胺中並加入557毫克(1.7毫莫耳)的O-((氰基(乙酯基)甲基)胺基)-1,1,3,3-四甲基尿四氟硼酸鹽(TUTO)及204毫克(1.7毫莫耳)的二異丙基乙基胺, 使混合物在室溫及pH 7-8下攪拌7小時, 在真空下將溶劑去除, 使殘留物溶解在醋酸乙酯且溶液各用KHSO₄溶液及NaHCO₃溶液清洗3次直到中和, 將有機層分離並乾燥, 在真空下蒸餾將溶劑去除, 產量: 770毫克(93%)。

MS (ES⁺): m/e =485.2 (M+H⁺, 100%)。

d) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將1.25克(9.2毫莫耳)的2-胺基-1,4,5,6-四氫嘧啶鹽酸鹽及1.03克(9.2毫莫耳)第三丁醇鉀溶解在3毫升無水二甲基甲醯胺中並在室溫下攪拌30分鐘, 然後加入在1

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · 訂 · 線

五、發明說明()

修正
補充
88.10.12

毫升二甲基甲醯胺中的740毫克(1.53毫莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯，使混合物在室溫下攪拌4小時，用冰醋酸將pH調整為4，在真空下將溶劑去除，在矽膠上用二氯甲烷/甲醇/冰醋酸/水(9/1/0.1/0.1)層析殘留物，產氣：190毫克(38%)。

MS (ES⁺): m/e = 552.3 (M+H⁺, 100%)。

e) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸

將190毫克(0.34毫莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸第三丁酯溶解在5毫升95%強度三氟醋酸中並在室溫下攪拌1小時，經由在真空下蒸餾並與甲醇一起蒸發而將三氟醋酸去除，將殘留物溶解在冰醋酸中，用水稀釋並冷凍乾燥，產量：170毫克(100%)。

MS (ES⁺): m/e = 496.3 (M+H⁺, 100%)。

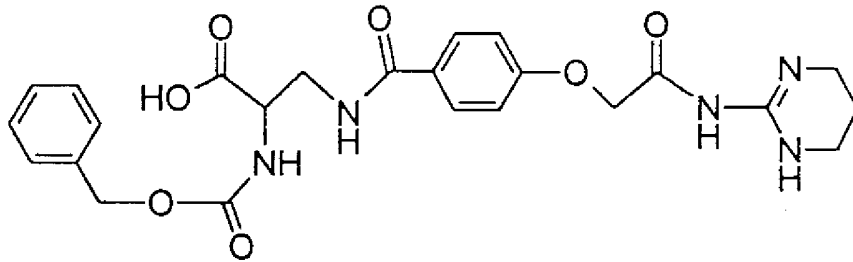
¹H-NMR (DMSO): δ= 1.77 - 1.95 (m, 2H); 2.80 (t, 2H); 2.93 (t, 2H); 3.38 (m, broad, 4H); 3.61 (t, 2H); 4.26 (dd, 1H); 5.03 (s, 2H); 7.33 (s, broad, 7H); 7.59 (d, 1H); 7.75 (d, 2H); 8.49 (t, 1H); 9.06 (s, 2H); 11.90 (s, 1H).

實例3

五、發明說明 ()

修正
案 88.10.12

(2S)-2-苄酯基氨基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸



a) 4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸苄酯

將4.5克(0.02莫耳)的對-羥基苯甲酸苄酯及9.7克(0.03莫耳)的碳酸鉍懸浮在約60毫升的丙酮中並加入2.3毫升(0.025莫耳)的溴醋酸乙酯，然後使混合物迴流至到反應完全，處理時，使反應溶液經由澄清層過濾並將過濾液濃縮至乾，將殘留物溶解在醋酸乙酯，混合物各用10%強度檸檬酸溶液及飽和的NaCl溶液清洗三次，有機相經由硫酸鈉乾燥，過濾並濃縮，使殘留物從異丙醚/庚烷再結晶，產量：5.5克。

b) 4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸

將5克的4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸苄酯溶解在甲醇/醋酸乙酯並在600毫克觸媒(Pd/C, 10%強度)存在下氫化，用惰性氣體沖提後，將觸媒過濾並在真空下將過濾液濃縮，殘留物與異丙醚/庚烷(9/1)一起碾製，吸氣過濾，產量：3.3克。

五、發明說明()

10-12

c) (2S)-2-(苄酯基胺基)-3-(4-(甲酯基甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將420毫克(0.002莫耳)的4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸、270毫克(0.002莫耳)的1-羥基苯並三唑及588毫克(0.002莫耳)的(2S)-3-胺基-2-苄酯基胺基丙酸第三丁酯溶解在5毫升二甲基甲醯胺，將溶液冷卻至0°C並加入453毫克(0.0022莫耳)的N,N'-二環己基碳化醯亞胺，然後在0°C下攪拌10分鐘，並在室溫下攪拌2小時，對於處理，將膜過濾並將過濾液濃縮至乾，在矽膠上純化殘留物(二氯甲烷/乙腈20/1)而得到純的化合物，產量：820毫克。

d) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將438毫克的(2S)-2-(苄酯基胺基)-3-(4-(甲酯基甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯、606毫克的第三丁醇鉀及732毫克的2-胺基-1,4,5,6-四氫嘧啶鹽酸鹽溶解在10毫升無水二甲基甲醯胺中，使溶液在室溫下攪拌14小時，然後在真空下濃縮至乾，將殘留物溶解在醋酸乙酯中並用水萃取溶液，將有機相乾燥並在真空下濃縮，在矽膠上經由層析純化粗產物(二氯甲烷/甲醇100/7.5)，產量：370毫克。

五、發明說明()

修正
補充
第88#10#12#

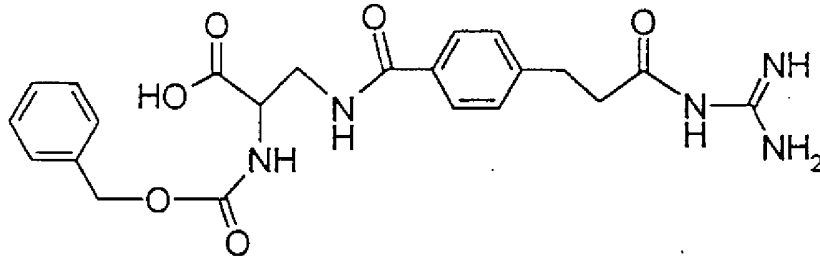
e) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸

將87毫克得自步驟d)之第三丁酯在室溫下及2毫升95%強度三氟醋酸中攪拌15分鐘，在真空下濃縮後，使混合物與乙醚一起碾製，將殘留物過濾及乾燥，產量：79毫克。

MS (ES⁺): m/e = 498.2 (M+H⁺, 100%)。

實例4

(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸



a) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將4莫耳濃度胍鹽酸鹽及4莫耳濃度第三丁醇鉀在二甲基甲醯胺中的1.3毫升溶液，在攪拌下加入在2毫升二甲基甲醯胺中的309克(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯(實例2c)，使反應混合物在室溫下攪拌16小時，然後用醋酸將混合物調

五、發明說明 ()

修正
本88年0月12日
補充

整成pH 4並濃縮，在矽膠上層析殘留物(二氯甲烷/甲醇/冰醋酸/水90/10/0.1/0.1)，產量：60毫克。

MS (ES⁺): m/e = 512.3 (M+H⁺, 100%)。

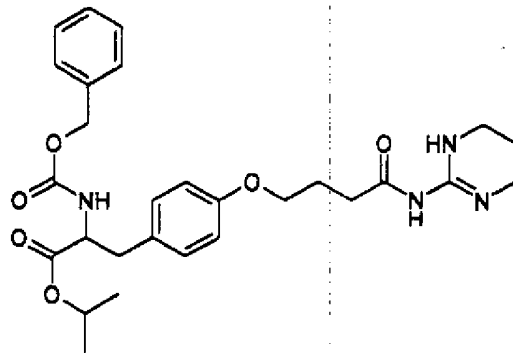
b) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸

將60毫克的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯溶解在2毫升90%強度三氟醋酸中，使溶液在室溫下攪拌1小時，混合物與乙醚一起攪拌，將溶液傾析，使殘留物溶解在冰醋酸，用水稀釋溶液，過濾並冷凍乾燥，產量：55毫克。

MS (ES⁺): m/e = 456.2 (M+H⁺, 100%)。

實例5

異丙基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯鹽酸鹽



使23.88克(0.04莫耳)實例1化合物(呈三氟醋酸鹽)懸浮於400毫升異丙醇。於此懸浮液中於-15°C及惰

五、發明說明 ()

修正
補充

性氣體環境下加入先前製得之硫醯基氯化物於異丙醇之溶液（為製備此溶液，已先在 -10 至 -15°C 及惰性氣體環境下於五分鐘內將 10.4 毫升硫醯基氯化物加入 160 毫升異丙醇中並在 -10°C 下另行攪拌 20 分鐘）。完成添加後，溫度在 30 分鐘內升至室溫。之後，此時澄清溶液在攪拌下於 60°C 下加熱 7 小時。持續攪拌而無攪拌過夜。藉由TLC對照組，顯示反應完全。溶劑藉由真空下之轉動式蒸餾去除。使殘留物懸浮於 100 毫升異丙醇及在真空下去除異丙醇。固態殘留物與二乙醚一起研製及藉由吸濾分離。使粗產物懸浮於 120 毫升異丙醇中，與 2.4 克木炭一起加熱至迴流及過濾。冷卻後，無色產物藉由過濾分離。產率： 16.2 克灰白色固體。

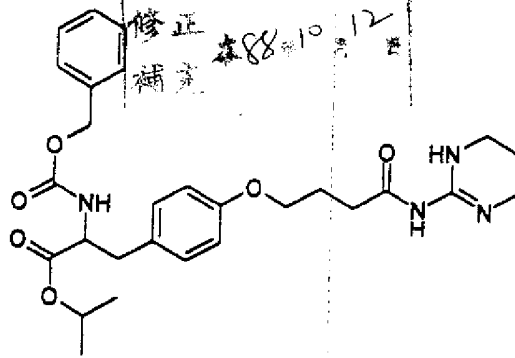
MS (ES⁺): $m/e = 525$ (M+H⁺, 100 %).

¹H-NMR (DMSO): $\delta = 1.1$ (dd, 6H); $1.8, 1.95$ and 2.5 (m, each 2H); 2.85 (m, 2H); 3.35 (t, 4H); 3.95 (t, 2H); 4.15 (m, 1H); 4.9 (sep, 1H); 5.0 (s, 2H); 6.9 and 7.1 (d, each 2H); 7.3 (m, 5H); 7.7 (d, 1H).

實例6

乙基(2S)-2-苄氧羰胺基-3(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯鹽酸鹽

五、發明說明 ()



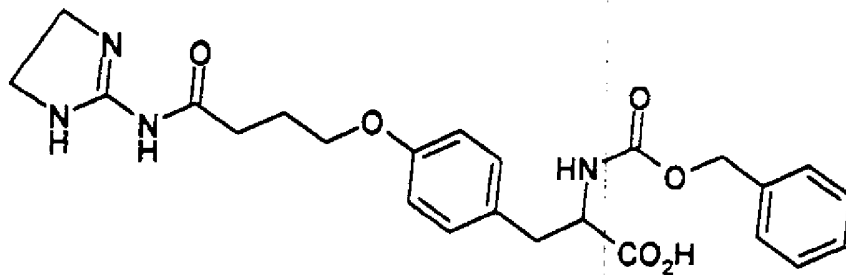
在 -10°C 下將0.14毫升(1.15當量)硫醯基氯化物加入5毫升乙醇中並在此溫度下攪拌10分鐘。之後1克(1.66毫莫耳)實例1化合物呈於10毫升乙醇之懸浮液加入。攪拌下使混合物回溫至室溫及再攪拌5小時。此時已變澄清之溶液於真空下蒸發，使殘留物溶於水中及過濾後進行冷凍乾燥。產率：0.85克無色非晶形固體。

MS (ES⁺): m/e = 511 (M+H⁺, 100 %).

¹H-NMR (DMSO): δ = 1.12 (t, 3H); 1.81 (t, 2H); 1.90 (s, 3H); 1.96 (t, 2H); 2.41 (t, 2H); 2.70-3.01 (m, 2H); 3.29 (t, broad, 4H); 3.95 (t, 2H); 4.08 (q, 2H); 4.12 - 4.26 (m, 1H); 4.99 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.15 (d, 2H); 7.32 (m, 5H); 7.75 (d, 1H).

實例7

(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸



五、發明說明 ()

修正
補正
88-10-12

a) 第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯

將340毫克4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺、13.6毫克咪唑及26.8毫克碘化鋰加入970毫克第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-乙氧羰基丙氧基)苯基)丙酸酯(實例1a)於5毫升無水二甲基甲醯胺之溶液中。溶液在40°C下攪拌4小時，加入額外之170毫克4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺及溶液在55°C下再攪拌3小時。真空中去除溶劑後，殘留物以乙基醋酸酯處理，過濾，以10%強度水性KHCO₃溶液萃取，在MgSO₄上乾燥，過濾，真空中濃縮並以二異丙基醚沉澱。粗產物藉由矽凝膠層析法(二氯甲烷/甲醇/冰醋酸90/10/1)純化，取得250毫克非晶形產物。

MS (ES⁺): m/e = 525.2 (M+H, 100%)。

b) (2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸

將200毫克第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯溶於5毫升三氟醋酸/水(95/5)及在室溫下攪拌溶液15分鐘。再於真空中濃縮反應溶液。使殘留物溶於水中及將溶液冷凍乾燥。產率：100%。

MS (ES⁺): m/e = 469.2 (M+H⁺, 100%)。

¹H-NMR (DMSO): δ = 2.00 (t, 2H); 2.62 (t, 2H); 2.67 - 2.81 (m, 1H); 2.93 - 3.03 (m, 1H); 3.70 (s, 4H); 3.98 (t, 2H); 4.04 - 4.19 (m, 1H); 4.99 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.18 (d, 2H); 7.23 - 7.40 (m, 5H); 7.60 (d, 1H); 9.03 (s, 2H)。

~45~

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明()

修正
補充 86年10月12日

藥學測試

根據本發明化合物之骨耗損抑制性可藉由例如蝕骨細胞耗損測試法("PIT ASSAY")測定，例如類似於WO-A-95/32710。

根據本發明化合物對透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 之抑制活性可用例如下列方法測定。

測定293細胞與人類透明質蛋白結合抑制性之測試法(Vn/293細胞測試法)

1.純化人類透明質蛋白

根據Yatohyo et al., Cell Structure and Function, 1988, 23, 281-292之方法，從人類血漿分離透明質蛋白並經由親和層析法純化。

2.細胞測試法

根據FACS法，選用人類胚胎腎細胞系之293細胞，其被共同轉移DNA序列透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 之 α_v 與 β_3 次單位，供高速釋出(>500,000 $\alpha_v\beta_3$ 受體/細胞)，培養選用的細胞並根據FACS法再度分類，以便得到每個細胞之釋出率>1,000,000份 $\alpha_v\beta_3$ 之安定細胞系(15D)。

將平底之Linbro 96-槽組織培養皿用在磷酸鹽緩衝化鹽水溶液(PBS)中的人類透明質蛋白(0.01毫克/毫升，0.05毫升/槽)在4°C下覆蓋過夜，然後用0.5%強度BSA(牛血清白蛋白)封蓋，製備 10^{-10} 莫耳/升至 2×10^{-3} 莫

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明()

修正
補充
88年10月

耳/升在含葡萄糖的DMEM介質中的測試物質溶液，且在各情形下將0.05毫升/槽之溶液添加至培養皿，將釋出高量 $\alpha_v\beta_3$ 之細胞(例如15D)懸浮在含葡萄糖的DMEM介質中，並將懸浮液調整至含量為25,000細胞/0.05毫升介質，將此細胞懸浮液添加至各槽並使培養皿在37°C下培養90分鐘，用溫熱的PBS清洗培養皿3次，以便去除未連接的細胞，將連接的細胞溶解在含0.25%Triton X-100的檸檬酸鹽緩衝液(25毫莫耳濃度，pH 5.0)中，然後加入己糖胺酶基質之對-硝基苯基-N-乙酰基- β -D-胺基葡萄糖苷，使培養皿在37°C下培養90分鐘，用甘胺酸(50毫莫耳濃度)/EDTA (5毫莫耳濃度)緩衝液(pH 10.4)將反應停止，在405-650毫微米下測量各槽之吸收，根據標準方法分析數據。

得到下列測試結果：

化合物	Vn/293細胞測試 IC ₅₀ (微莫耳濃度)
實例1	0.028
實例2	0.017
實例3	1.35
實例4	0.336

藥理數據

五、發明說明()

補充

於說明書所述之"293細胞結合至人類透明質蛋白之抑制(Vn/293細胞試驗)"試驗中,實例7化合物顯現 IC_{50} 值 $0.032\mu M$ 。

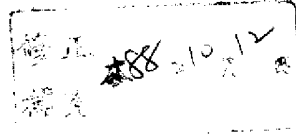
實例1及6化合物於"骨耗損之TPTX大鼠模型中經PTH誘發之高血鈣"模型中經測試。

於此活體內模型,骨耗損之刺激藉由灌注副甲狀腺荷爾蒙(PTH)於經切除副甲狀腺(thyroparathyroidectomized, TPTX)之大鼠中被誘發。骨耗損之改變藉由測定血清鈣濃度(其直接與骨耗損程度相關)監控。

重150-200克之雄性史柏格達利大鼠(法國OFA-IFFA CREDO)由供應商切除副甲狀腺。允許大鼠自由食用含7克Ca/公斤(UAR)之標準商業之粒化食物及Eau de Volvic水。對整夜饑餓之動物進行手術後八天藉由測定血清鈣濃度來測試切除副甲狀腺手術是否成功。當血清鈣含量 <80 毫克/升時,大鼠被視為TPTX。

為使用PTH處理,將大鼠PTH(1-34)(Bachem)溶於2% Cys-HCl之 $0.15 M$ 氯化鈉溶液並經由滲透性小泵(ALZET 2001D)以 $200 pmol/kg/h$ 之量傳輸。整夜饑餓之TPTX大鼠在氯胺酮(75毫克/公斤)及乙醯丙吡(acepromazin, 2.5毫克/公斤)麻醉下將小泵插入腹膜內腔。對照組中, TPTX大鼠納入填充有PTH載劑之小泵。

五、發明說明()



為測定試驗化合物之影響，經PTH處理之TPTX大鼠在開始PTH灌注（化合物組）後於時間0及3小時時投予下述劑量之試驗化合物二次。以相同方式投予載劑至經PTH處理之TPTX大鼠（PTH組）及投予載劑至未經PTH處理之TPTX大鼠（對照組）。實驗進行總計6小時。處理程序結束後，在斬首後採全血。在3000 rpm下將血樣本離心15分鐘（CR422 Jouan）取得血清。

在540 nm下使用IEMS實驗系統微盤讀數器以比色法（Ciba-Corning）測定血清鈣之總濃度（血鈣）。各組中血鈣平均值的差異藉由Dunnnett's試驗分析其變異。根據下式計算試驗化合物之活性為影響%：

$$\text{影響\%} = \frac{\text{血鈣}_{(\text{化合物組})} - \text{血鈣}_{(\text{PTH組})}}{\text{血鈣}_{(\text{PTH組})} - \text{血鈣}_{(\text{對照組})}} \times 100$$

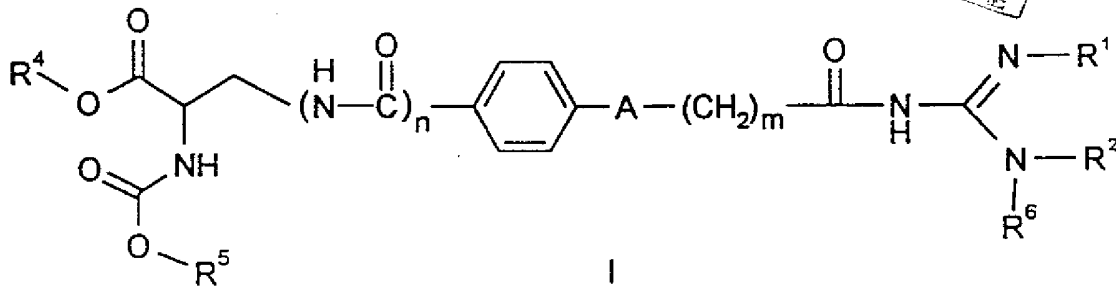
皮下投予10毫克/公斤實例1化合物二次所觀察到之影響%為-74%。

經口投予30毫克/公斤實例6化合物二次所觀察到之影響%為-35%。

四、中文發明摘要(發明之名稱：

用於骨耗損抑制劑及透明質蛋白受
體拮抗劑之新穎醯基胍衍生物類

本發明係關於式I之醯基胍衍生物類



其中 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、A、m及n具有申請專利範圍所述之定義，其生理上可耐受之鹽類及其藥物前體，式I化合物為有價值之藥學活性成份，其為透明質蛋白受體拮抗劑及蝕骨細胞之骨耗損抑制劑，且適用於例如治療或預防至少一部分是由不欲程度之骨耗損所引起之疾病，例如骨質疏鬆症，本發明還關於式I化合物之製法，其用途，尤其是作為藥學活性成份，及含彼之藥學製劑。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

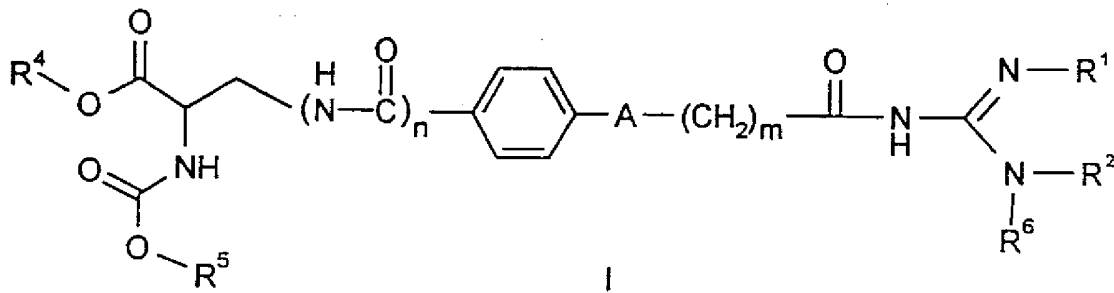
訂

線

四、英文發明摘要 (發明之名稱:)

Novel acylguanidine derivatives as inhibitors of bone resorption and as vitronectin receptor antagonists

The present invention relates to acylguanidine derivatives of the formula I



in which R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 , A, m and n have the meanings indicated in the patent claims, their physiologically tolerable salts and their prodrugs. The compounds of the formula I are valuable pharmaceutical active ingredients. They are vitronectin receptor antagonists and inhibitors of bone resorption by osteoclasts and are suitable, for example, for the therapy or prophylaxis of diseases which are caused at least partially by an undesired extent of bone resorption, for example of osteoporosis. The invention furthermore relates to processes for the preparation of compounds of the formula I, their use, in particular as pharmaceutical active ingredients, and pharmaceutical preparations comprising them.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

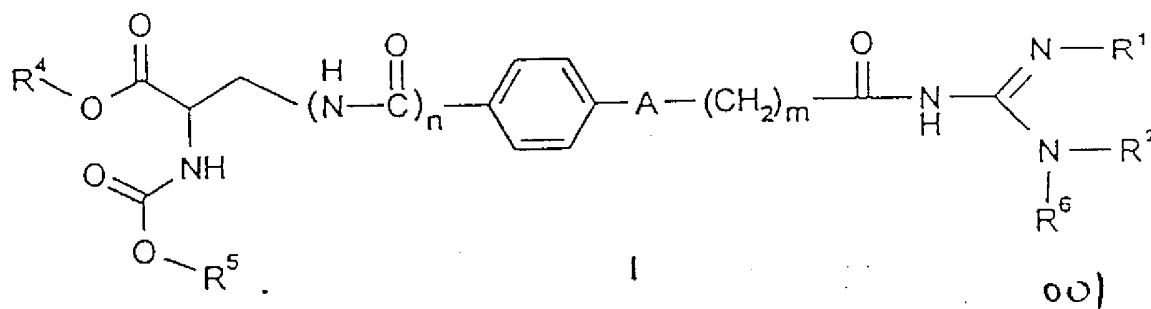
六、申請專利範圍

公告本

專利申請案第87110508號
ROC Patent Appln. No. 87110508
修正之申請專利範圍中文本-附件(一)
Amended Claims in Chinese - Encl. I
(民國89年8月10日送呈)
(Submitted on August 10, 2000)

修正
89年8月10日
補充

1. 一種式I化合物



其中：

R¹及R²一起形成一二價(C₂-C₄)-伸烷基；R⁴為氫或(C₁-C₆)-烷基；R⁵為苯基-(C₁-C₆)-烷基；R⁶為氫；A為CH₂或O；

m為1、2或3；

n為0或1；

及其生理上可耐受之鹽類。

2. 根據申請專利範圍第1項之式I化合物，其中：

R¹及R²一起形成一二價(C₂-C₃)-伸烷基；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

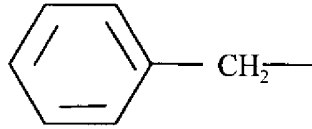
訂

線

六、申請專利範圍

R^4 為氫或 (C_1-C_4) -烷基；

R^5 為式II之基團



II

202

R^6 為氫；

A 為 CH_2 ；

m 為 1；

n 為 1；

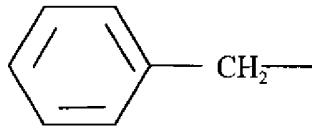
及其生理上可耐受之鹽類。

3. 根據申請專利範圍第1項之式I化合物，其中：

R^1 及 R^2 一起形成一二價 (C_2-C_3) -伸烷基；

R^4 為氫或 (C_1-C_4) -烷基；

R^5 為式II之基團



II

003

R^6 為氫；

A 為氧；

m 為 1；

n 為 1；

及其生理上可耐受之鹽類。

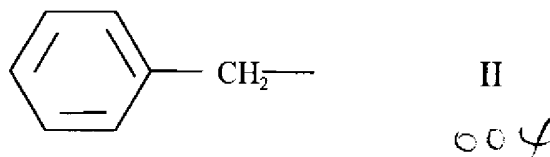
六、申請專利範圍

4. 根據申請專利範圍第1項之式I化合物，其中：

R^1 及 R^2 一起形成一二價(C₂-C₃)-伸烷基；

R^4 為氫或(C₁-C₄)-烷基；

R^5 為式II之基團



R^6 為氫；

A為氧；

m為3；

n為0；

及其生理上可耐受之鹽類。

5. (2S)-2-苄氧羰基胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸及其生理上可耐受之鹽類。

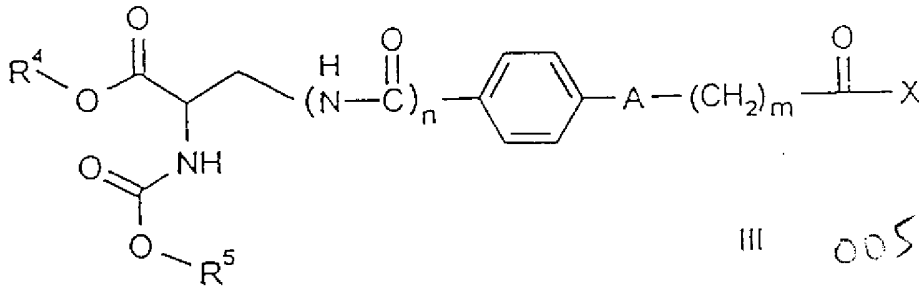
6. (2S)-2-苄氧羰基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基胺基)丙酸及其生理上可耐受之鹽類。

7. 一種製備根據申請專利範圍第1項之式I化合物的方法，其中將式III之羧酸或羧酸衍生物

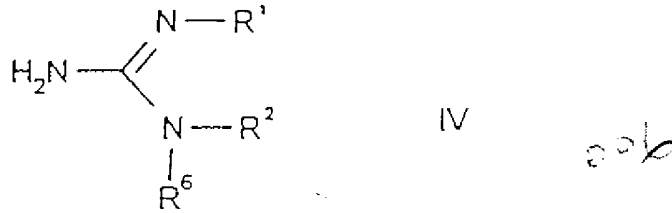
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · 訂 · 線

六、申請專利範圍



其中 R^4 、 R^5 、 A 、 n 及 m 相同於根據申請專利範圍第1至6項所述之定義，或者是官能基可存在為前驅物之形式或經保護的形式，且 X 為親核性可取代之釋離基，與式IV之脲或脲衍生物反應



其中 R^1 、 R^2 及 R^6 相同於根據申請專利範圍第1至6項所述之定義，或者是官能基可存在為前驅物之形式或經保護的形式。

8. 一種用作透明質蛋白受體拮抗劑之醫藥組成物，其中含至少一種根據申請專利範圍第1項之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類作為活性成份，以及藥學上無毒的載劑及/或添加劑。

六、申請專利範圍

9. 根據申請專利範圍第1至6項中任一項之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類，其作為透明質蛋白受體拮抗劑之用途。
10. 根據申請專利範圍第1至6項中任一項之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類，其作為骨耗損之抑制劑或供治療或預防骨質疏鬆症之用途。
11. 根據申請專利範圍第1至6項中任一項之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類，其作為腫瘤成長及腫瘤轉移抑制劑之用途。
12. 根據申請專利範圍第1至6項中任一項之式I化合物及/或其生理上可耐受之鹽類，其作為消炎劑或供治療或預防心血管疾病、再狹窄症、動脈硬化症、腎病變或視網膜病變之用途。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · · · · · 訂 · · · · · 線

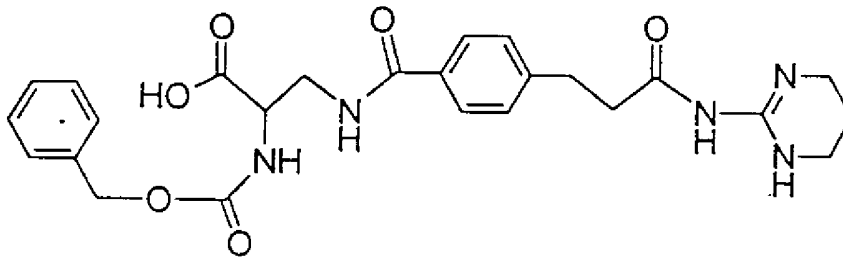
五、發明說明 ()

MS (ES⁺): m/e =483.3 (M+H⁺, 100%)。

¹H-NMR (DMSO): δ = 1.67 - 1.78 (m, 2H); 2.01 (t, 2H); 2.59 (t, 2H); 2.62 - 3.05 (m, 2H); 3.30 - 3.43 (m, 4H); 3.98 (t, 2H); 4.02 - 4.20 (m, 1H); 4.97 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.15 (d, 2H); 7.20 - 7.40 (m, 5H); 7.60 (d, 1H); 9.10 (s, 2H).

實例2

(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲
醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸



a) 4-(2-甲酯基乙烯基)苯甲酸

將18.74克(0.12莫耳)的丙二酸單甲酯鉀鹽懸浮在18毫升吡啶中，在室溫及攪拌下加入15.01克(0.1莫耳)的4-羧基苯甲醛及0.85克(0.01莫耳)的六氫吡啶，使混合物迴流至停止釋出CO₂(約2小時)，然後再度加入60毫升吡啶，並使混合物在迴流下攪拌1小時，在攪拌下在反應混合物中加入500毫升冰及110毫升濃氫氯酸，完成添加後，使混合物再攪拌20分鐘，吸氣過濾產物，用水清洗並從亦丙醇再結晶，產量: 12.85克(62%)。

五、發明說明()

修正
補充
本88年10月12日

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ = 3.75 (s, 3H, OCH_3); 6.76 (d, J = 15 Hz, 1H, CHCOOCH_3); 7.73 (d, J = 15 Hz, 1H, Ar-CH); 7.84 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H); 7.98 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H); 13.11 (s, 寬峰, 1H, COOH)。

MS (Cl^+): m/e = 207.2 ($\text{M} + \text{H}^+$, 100%)。

HPLC: RP18, Nucleosil 300-5-C18, 250x4 mm; 緩衝液A: H_2O , 0.1%三氟醋酸(TFA); 緩衝液B: 乙腈(80%體積/體積)/ H_2O (20%體積/體積), 0.1% TFA; 梯度: 先5分鐘90%緩衝液A/10%緩衝液B, 然後20分鐘用90%緩衝液B, 然後5分鐘用90%緩衝液B; 流速1毫升/分鐘; R_t = 18.05分鐘。

b) 4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸

將8克(38.8毫莫耳)的4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸懸浮在250毫升二噁烷中, 在室溫下經由Pd/C (10%強度) 在1巴氫氣下氫化7小時, 將混合物過濾並在真空下將溶劑去除, 產量: 8.05克(100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ = 2.67 (t, J = 8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOCH}_3$); 2.93 (t, J = 8 Hz, 2H, Ar- CH_2); 3.59 (s, 3H, OCH_3); 7.35 (d, 2H, Ar-H); 7.86 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H); 12.80 (s, 寬峰, 1H, COOH)。

MS (Cl^+): m/e = 209.2 ($\text{M} + \text{H}^+$, 100%)。

HPLC: RP18, Nucleosil 300-5-C18, 250x4 mm; 緩衝液A: H_2O , 0.1%三氟醋酸(TFA); 緩衝液B: 乙腈(80%體積/體積)/

五、發明說明()

修正
補充 488 410 12 日

H₂O(20%體積/體積), 0.1% TFA; 梯度: 先5分鐘90%緩衝液A/10%緩衝液B, 然後20分鐘用90%緩衝液B, 然後5分鐘用90%緩衝液B; 流速1毫升/分鐘; R_t=17.03分鐘。

c) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將354毫克(1.7毫莫耳)的4-(2-甲酯基乙基)苯甲酸及500毫克(1.7毫莫耳)的(2S)-3-胺基-2-苄酯基胺基丙酸第三丁酯溶解在3毫升二甲基甲醯胺中並加入557毫克(1.7毫莫耳)的O-((氰基(乙酯基)甲基)胺基)-1,1,3,3-四甲基尿四氟硼酸鹽(TUTO)及204毫克(1.7毫莫耳)的二異丙基乙基胺, 使混合物在室溫及pH 7-8下攪拌7小時, 在真空下將溶劑去除, 使殘留物溶解在醋酸乙酯且溶液各用KHSO₄溶液及NaHCO₃溶液清洗3次直到中和, 將有機層分離並乾燥, 在真空下蒸餾將溶劑去除, 產量: 770毫克(93%)。

MS (ES⁺): m/e =485.2 (M+H⁺, 100%)。

d) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將1.25克(9.2毫莫耳)的2-胺基-1,4,5,6-四氫嘧啶鹽酸鹽及1.03克(9.2毫莫耳)第三丁醇鉀溶解在3毫升無水二甲基甲醯胺中並在室溫下攪拌30分鐘, 然後加入在1

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · · · · · 訂 · · · · · 線

五、發明說明()

修正
補充
88.10.12

毫升二甲基甲醯胺中的740毫克(1.53毫莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯，使混合物在室溫下攪拌4小時，用冰醋酸將pH調整為4，在真空下將溶劑去除，在矽膠上用二氯甲烷/甲醇/冰醋酸/水(9/1/0.1/0.1)層析殘留物，產氣：190毫克(38%)。

MS (ES⁺): m/e = 552.3 (M+H⁺, 100%)。

e) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸

將190毫克(0.34毫莫耳)的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)乙基)苯甲醯基)胺基)丙酸第三丁酯溶解在5毫升95%強度三氟醋酸中並在室溫下攪拌1小時，經由在真空下蒸餾並與甲醇一起蒸發而將三氟醋酸去除，將殘留物溶解在冰醋酸中，用水稀釋並冷凍乾燥，產量：170毫克(100%)。

MS (ES⁺): m/e = 496.3 (M+H⁺, 100%)。

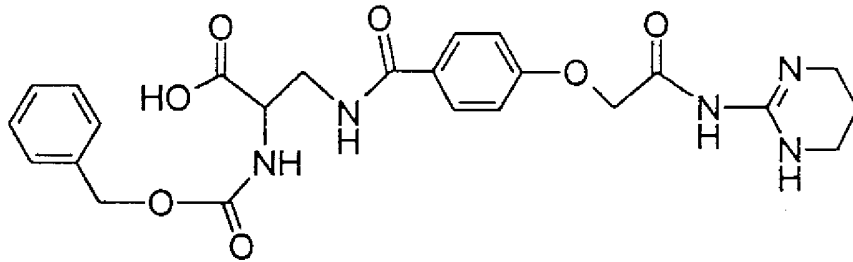
¹H-NMR (DMSO): δ= 1.77 - 1.95 (m, 2H); 2.80 (t, 2H); 2.93 (t, 2H); 3.38 (m, broad, 4H); 3.61 (t, 2H); 4.26 (dd, 1H); 5.03 (s, 2H); 7.33 (s, broad, 7H); 7.59 (d, 1H); 7.75 (d, 2H); 8.49 (t, 1H); 9.06 (s, 2H); 11.90 (s, 1H).

實例3

五、發明說明 ()

修正
案88.10.12
備查

(2S)-2-苄酯基氨基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸



a) 4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸苄酯

將4.5克(0.02莫耳)的對-羥基苯甲酸苄酯及9.7克(0.03莫耳)的碳酸鉍懸浮在約60毫升的丙酮中並加入2.3毫升(0.025莫耳)的溴醋酸乙酯，然後使混合物迴流至到反應完全，處理時，使反應溶液經由澄清層過濾並將過濾液濃縮至乾，將殘留物溶解在醋酸乙酯，混合物各用10%強度檸檬酸溶液及飽和的NaCl溶液清洗三次，有機相經由硫酸鈉乾燥，過濾並濃縮，使殘留物從異丙醚/庚烷再結晶，產量：5.5克。

b) 4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸

將5克的4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸苄酯溶解在甲醇/醋酸乙酯並在600毫克觸媒(Pd/C, 10%強度)存在下氫化，用惰性氣體沖提後，將觸媒過濾並在真空下將過濾液濃縮，殘留物與異丙醚/庚烷(9/1)一起碾製，吸氣過濾，產量：3.3克。

五、發明說明 ()

10-12

c) (2S)-2-(苄酯基胺基)-3-(4-(甲酯基甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將420毫克(0.002莫耳)的4-(甲酯基甲氧基)苯甲酸、270毫克(0.002莫耳)的1-羥基苯並三唑及588毫克(0.002莫耳)的(2S)-3-胺基-2-苄酯基胺基丙酸第三丁酯溶解在5毫升二甲基甲醯胺，將溶液冷卻至0°C並加入453毫克(0.0022莫耳)的N,N'-二環己基碳化醯亞胺，然後在0°C下攪拌10分鐘，並在室溫下攪拌2小時，對於處理，將膜過濾並將過濾液濃縮至乾，在矽膠上純化殘留物(二氯甲烷/乙腈20/1)而得到純的化合物，產量：820毫克。

d) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將438毫克的(2S)-2-(苄酯基胺基)-3-(4-(甲酯基甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯、606毫克的第三丁醇鉀及732毫克的2-胺基-1,4,5,6-四氫嘧啶鹽酸鹽溶解在10毫升無水二甲基甲醯胺中，使溶液在室溫下攪拌14小時，然後在真空下濃縮至乾，將殘留物溶解在醋酸乙酯中並用水萃取溶液，將有機相乾燥並在真空下濃縮，在矽膠上經由層析純化粗產物(二氯甲烷/甲醇100/7.5)，產量：370毫克。

五、發明說明()

修正
補充
第88#10#12#

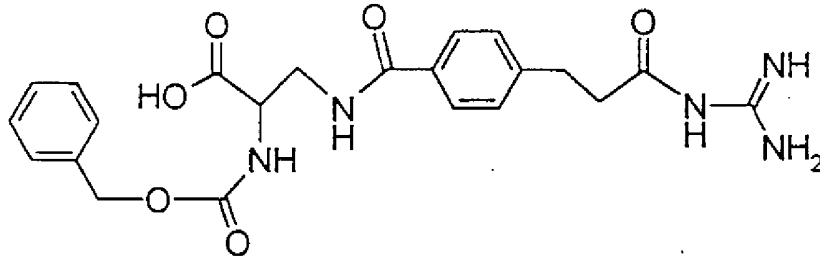
e) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-((1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)甲氧基)苯甲醯基胺基)丙酸

將87毫克得自步驟d)之第三丁酯在室溫下及2毫升95%強度三氟醋酸中攪拌15分鐘，在真空下濃縮後，使混合物與乙醚一起碾製，將殘留物過濾及乾燥，產量：79毫克。

MS (ES⁺): m/e = 498.2 (M+H⁺, 100%)。

實例4

(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸



a) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯

將4莫耳濃度胍鹽酸鹽及4莫耳濃度第三丁醇鉀在二甲基甲醯胺中的1.3毫升溶液，在攪拌下加入在2毫升二甲基甲醯胺中的309克(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(2-甲酯基乙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯(實例2c)，使反應混合物在室溫下攪拌16小時，然後用醋酸將混合物調

五、發明說明 ()

修正
本88年0月12日
補充

整成pH 4並濃縮，在矽膠上層析殘留物(二氯甲烷/甲醇/冰醋酸/水90/10/0.1/0.1)，產量: 60毫克。

MS (ES⁺): m/e = 512.3 (M+H⁺, 100%)。

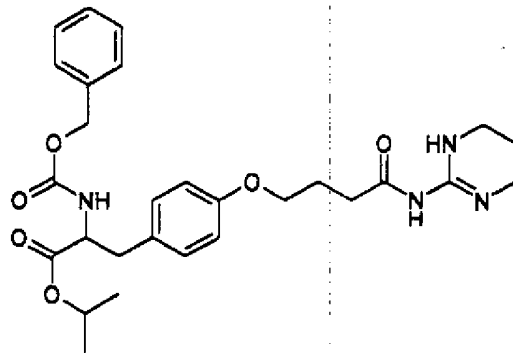
b) (2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸

將60毫克的(2S)-2-苄酯基胺基-3-(4-(3-胍基-3-氧丙基)苯甲醯基胺基)丙酸第三丁酯溶解在2毫升90%強度三氟醋酸中，使溶液在室溫下攪拌1小時，混合物與乙醚一起攪拌，將溶液傾析，使殘留物溶解在冰醋酸，用水稀釋溶液，過濾並冷凍乾燥，產量: 55毫克。

MS (ES⁺): m/e = 456.2 (M+H⁺, 100%)。

實例5

異丙基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯鹽酸鹽



使23.88克(0.04莫耳)實例1化合物(呈三氟醋酸鹽)懸浮於400毫升異丙醇。於此懸浮液中於-15°C及惰

五、發明說明 ()

修正
補充

性氣體環境下加入先前製得之硫醯基氯化物於異丙醇之溶液（為製備此溶液，已先在 -10 至 -15°C 及惰性氣體環境下於五分鐘內將 10.4 毫升硫醯基氯化物加入 160 毫升異丙醇中並在 -10°C 下另行攪拌 20 分鐘）。完成添加後，溫度在 30 分鐘內升至室溫。之後，此時澄清溶液在攪拌下於 60°C 下加熱 7 小時。持續攪拌而無攪拌過夜。藉由TLC對照組，顯示反應完全。溶劑藉由真空下之轉動式蒸餾去除。使殘留物懸浮於 100 毫升異丙醇及在真空下去除異丙醇。固態殘留物與二乙醚一起研製及藉由吸濾分離。使粗產物懸浮於 120 毫升異丙醇中，與 2.4 克木炭一起加熱至迴流及過濾。冷卻後，無色產物藉由過濾分離。產率： 16.2 克灰白色固體。

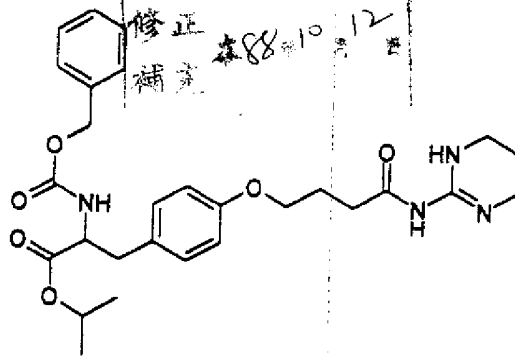
MS (ES^+): $m/e = 525$ ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): $\delta = 1.1$ (dd, 6H); 1.8 , 1.95 and 2.5 (m, each 2H); 2.85 (m, 2H); 3.35 (t, 4H); 3.95 (t, 2H); 4.15 (m, 1H); 4.9 (sep, 1H); 5.0 (s, 2H); 6.9 and 7.1 (d, each 2H); 7.3 (m, 5H); 7.7 (d, 1H).

實例6

乙基(2S)-2-苄氧羰胺基-3(4-(3-(1,4,5,6-四氫嘧啶-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯鹽酸鹽

五、發明說明 ()



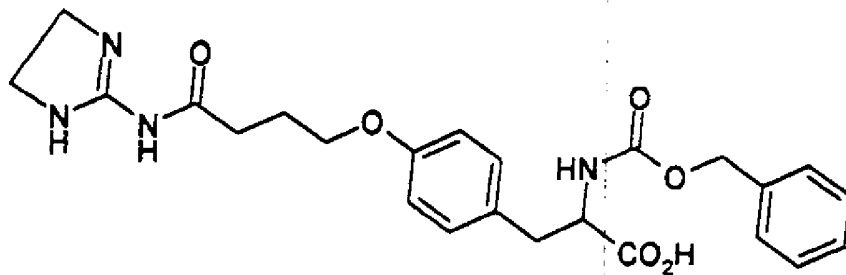
在 -10°C 下將0.14毫升(1.15當量)硫醯基氯化物加入5毫升乙醇中並在此溫度下攪拌10分鐘。之後1克(1.66毫莫耳)實例1化合物呈於10毫升乙醇之懸浮液加入。攪拌下使混合物回溫至室溫及再攪拌5小時。此時已變澄清之溶液於真空下蒸發，使殘留物溶於水中及過濾後進行冷凍乾燥。產率：0.85克無色非晶形固體。

MS (ES⁺): m/e = 511 (M+H⁺, 100 %).

¹H-NMR (DMSO): δ = 1.12 (t, 3H); 1.81 (t, 2H); 1.90 (s, 3H); 1.96 (t, 2H); 2.41 (t, 2H); 2.70-3.01 (m, 2H); 3.29 (t, broad, 4H); 3.95 (t, 2H); 4.08 (q, 2H); 4.12 - 4.26 (m, 1H); 4.99 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.15 (d, 2H); 7.32 (m, 5H); 7.75 (d, 1H).

實例7

(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸



五、發明說明 ()

修正
補正
88-10-12

a) 第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯

將340毫克4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺、13.6毫克咪唑及26.8毫克碘化鋰加入970毫克第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-乙氧羰基丙氧基)苯基)丙酸酯(實例1a)於5毫升無水二甲基甲醯胺之溶液中。溶液在40°C下攪拌4小時，加入額外之170毫克4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺及溶液在55°C下再攪拌3小時。真空中去除溶劑後，殘留物以乙基醋酸酯處理，過濾，以10%強度水性KHCO₃溶液萃取，在MgSO₄上乾燥，過濾，真空中濃縮並以二異丙基醚沉澱。粗產物藉由矽凝膠層析法(二氯甲烷/甲醇/冰醋酸90/10/1)純化，取得250毫克非晶形產物。

MS (ES⁺): m/e = 525.2 (M+H, 100%)。

b) (2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸

將200毫克第三丁基(2S)-2-苄氧羰胺基-3-(4-(3-(4,5-二氫-1H-咪唑-2-基胺甲醯基)丙氧基)苯基)丙酸酯溶於5毫升三氟醋酸/水(95/5)及在室溫下攪拌溶液15分鐘。再於真空中濃縮反應溶液。使殘留物溶於水中及將溶液冷凍乾燥。產率：100%。

MS (ES⁺): m/e = 469.2 (M+H⁺, 100%)。

¹H-NMR (DMSO): δ = 2.00 (t, 2H); 2.62 (t, 2H); 2.67 - 2.81 (m, 1H); 2.93 - 3.03 (m, 1H); 3.70 (s, 4H); 3.98 (t, 2H); 4.04 - 4.19 (m, 1H); 4.99 (s, 2H); 6.81 (d, 2H); 7.18 (d, 2H); 7.23 - 7.40 (m, 5H); 7.60 (d, 1H); 9.03 (s, 2H)。

~45~

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明()

修正
補充 86年10月12日

藥學測試

根據本發明化合物之骨耗損抑制性可藉由例如蝕骨細胞耗損測試法("PIT ASSAY")測定，例如類似於WO-A-95/32710。

根據本發明化合物對透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 之抑制活性可用例如下列方法測定。

測定293細胞與人類透明質蛋白結合抑制性之測試法(Vn/293細胞測試法)

1.純化人類透明質蛋白

根據Yatohyo et al., Cell Structure and Function, 1988, 23, 281-292之方法，從人類血漿分離透明質蛋白並經由親和層析法純化。

2.細胞測試法

根據FACS法，選用人類胚胎腎細胞系之293細胞，其被共同轉移DNA序列透明質蛋白受體 $\alpha_v\beta_3$ 之 α_v 與 β_3 次單位，供高速釋出(>500,000 $\alpha_v\beta_3$ 受體/細胞)，培養選用的細胞並根據FACS法再度分類，以便得到每個細胞之釋出率>1,000,000份 $\alpha_v\beta_3$ 之安定細胞系(15D)。

將平底之Linbro 96-槽組織培養皿用在磷酸鹽緩衝化鹽水溶液(PBS)中的人類透明質蛋白(0.01毫克/毫升，0.05毫升/槽)在4°C下覆蓋過夜，然後用0.5%強度BSA(牛血清白蛋白)封蓋，製備 10^{-10} 莫耳/升至 2×10^{-3} 莫

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明()

修正
補充
88年10月

耳/升在含葡萄糖的DMEM介質中的測試物質溶液，且在各情形下將0.05毫升/槽之溶液添加至培養皿，將釋出高量 $\alpha_v\beta_3$ 之細胞(例如15D)懸浮在含葡萄糖的DMEM介質中，並將懸浮液調整至含量為25,000細胞/0.05毫升介質，將此細胞懸浮液添加至各槽並使培養皿在37°C下培養90分鐘，用溫熱的PBS清洗培養皿3次，以便去除未連接的細胞，將連接的細胞溶解在含0.25%Triton X-100的檸檬酸鹽緩衝液(25毫莫耳濃度，pH 5.0)中，然後加入己糖胺酶基質之對-硝基苯基-N-乙酰基- β -D-胺基葡萄糖苷，使培養皿在37°C下培養90分鐘，用甘胺酸(50毫莫耳濃度)/EDTA (5毫莫耳濃度)緩衝液(pH 10.4)將反應停止，在405-650毫微米下測量各槽之吸收，根據標準方法分析數據。

得到下列測試結果：

化合物	Vn/293細胞測試 IC ₅₀ (微莫耳濃度)
實例1	0.028
實例2	0.017
實例3	1.35
實例4	0.336

藥理數據

五、發明說明()

補充

於說明書所述之"293細胞結合至人類透明質蛋白之抑制(Vn/293細胞試驗)"試驗中,實例7化合物顯現 IC_{50} 值 $0.032\mu M$ 。

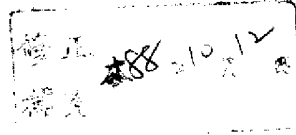
實例1及6化合物於"骨耗損之TPTX大鼠模型中經PTH誘發之高血鈣"模型中經測試。

於此活體內模型,骨耗損之刺激藉由灌注副甲狀腺荷爾蒙(PTH)於經切除副甲狀腺(thyroparathyroidectomized, TPTX)之大鼠中被誘發。骨耗損之改變藉由測定血清鈣濃度(其直接與骨耗損程度相關)監控。

重150-200克之雄性史柏格達利大鼠(法國OFA-IFFA CREDO)由供應商切除副甲狀腺。允許大鼠自由食用含7克Ca/公斤(UAR)之標準商業之粒化食物及Eau de Volvic水。對整夜饑餓之動物進行手術後八天藉由測定血清鈣濃度來測試切除副甲狀腺手術是否成功。當血清鈣含量 <80 毫克/升時,大鼠被視為TPTX。

為使用PTH處理,將大鼠PTH(1-34)(Bachem)溶於2% Cys-HCl之 $0.15 M$ 氯化鈉溶液並經由滲透性小泵(ALZET 2001D)以 $200 pmol/kg/h$ 之量傳輸。整夜饑餓之TPTX大鼠在氯胺酮(75毫克/公斤)及乙醯丙吡(acepromazin, 2.5毫克/公斤)麻醉下將小泵插入腹膜內腔。對照組中,TPTX大鼠納入填充有PTH載劑之小泵。

五、發明說明()



為測定試驗化合物之影響，經PTH處理之TPTX大鼠在開始PTH灌注（化合物組）後於時間0及3小時時投予下述劑量之試驗化合物二次。以相同方式投予載劑至經PTH處理之TPTX大鼠（PTH組）及投予載劑至未經PTH處理之TPTX大鼠（對照組）。實驗進行總計6小時。處理程序結束後，在斬首後採全血。在3000 rpm下將血樣本離心15分鐘（CR422 Jouan）取得血清。

在540 nm下使用IEMS實驗系統微盤讀數器以比色法（Ciba-Corning）測定血清鈣之總濃度（血鈣）。各組中血鈣平均值的差異藉由Dunnnett's試驗分析其變異。根據下式計算試驗化合物之活性為影響%：

$$\text{影響\%} = \frac{\text{血鈣}_{(\text{化合物組})} - \text{血鈣}_{(\text{PTH組})}}{\text{血鈣}_{(\text{PTH組})} - \text{血鈣}_{(\text{對照組})}} \times 100$$

皮下投予10毫克/公斤實例1化合物二次所觀察到之影響%為-74%。

經口投予30毫克/公斤實例6化合物二次所觀察到之影響%為-35%。

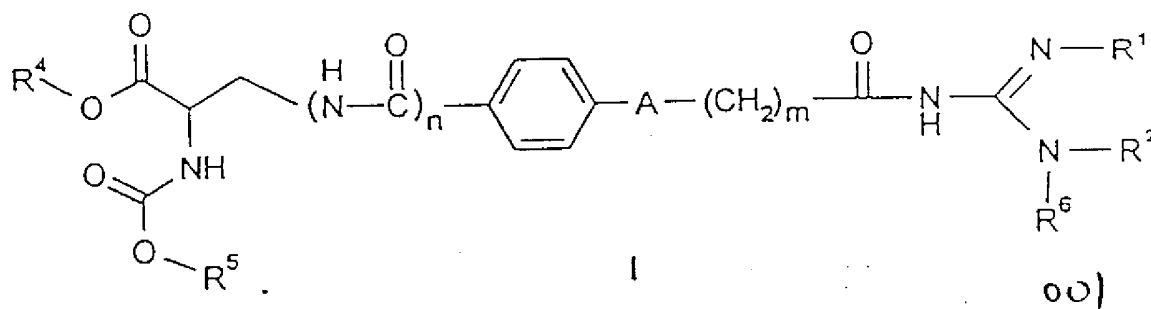
六、申請專利範圍

公告本

專利申請案第87110508號
 ROC Patent Appln. No. 87110508
 修正之申請專利範圍中文本-附件(一)
 Amended Claims in Chinese - Encl. I
 (民國89年8月10日送呈)
 (Submitted on August 10, 2000)

修正
 本89年8月10日
 補充

1. 一種式I化合物



其中：

R^1 及 R^2 一起形成一二價(C_2-C_4)-伸烷基；

R^4 為氫或(C_1-C_6)-烷基；

R^5 為苯基-(C_1-C_6)-烷基；

R^6 為氫；

A為 CH_2 或O；

m為1、2或3；

n為0或1；

及其生理上可耐受之鹽類。

2. 根據申請專利範圍第1項之式I化合物，其中：

R^1 及 R^2 一起形成一二價(C_2-C_3)-伸烷基；