

公 告 本

申請日期	87. 1. 14.
案 號	88103866 (中) / 00434 (分)
類 別	102C > 11/09, A61K 3/18

A4
C4

538021

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 名稱	中 文	新穎脘基化合物及其治療用途
	英 文	NOVEL AMIDINO COMPOUND AND THEIR USE IN THERAPY
二、發明 創作人	姓 名	1. 理查 曼斯汎德 賓斯 2. 馬丁 詹姆士 崔斯岱爾 3. 卡爾 維透德 法蘭茲曼 4. 安松尼 約瑟 法蘭德 5. 哈歐德 法蘭西斯 侯德森 6. 理查 葛雷漢 諾雷司 7. 岱爾 大衛 瑞斯 8. 大衛 艾倫 守爾
	國 籍	均英國
三、申請人	住、居所	1. 英國薩瑞郡雪雷市比萊爾路1號 2. 英國劍橋市史岱勳路1號 3. 英國倫敦市菟思山莊北史堤德路6號 4. 英國赫茲郡史蒂芬奇市甘奈兒梧得路 5. 英國肯德郡北肯漢市派克蘭雷區白寇符特路69號 6. 英國赫茲郡史蒂芬奇市甘奈兒梧得路 7. 英國肯特郡凱斯東市雷克斯路13號 8. 英國肯特郡北肯漢市彤奇巷9號
	姓 名 (名稱)	英商葛蘭素集團有限公司
三、申請人	國 籍	英國
	住、居所 (事務所)	英國米德賽克斯郡格林福德市柏克力大道葛蘭素大廈
三、申請人	代 表 人 姓 名	格拉罕 布瑞登

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

(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
 美國 1997年1月13日 08/783402 有 無主張優先權

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

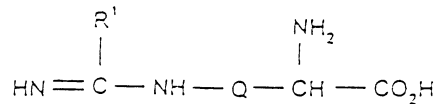
五、發明說明(1)

本發明係關於新穎脘基化合物，其製法及其用於治療之用途，特別作用可誘生性一氧化氮合成酶之選擇性抑制劑。

一氧化氮為可溶鳥糞核苷酸環化酶之內生刺激劑，涉及多種生物過程。產生過量一氧化氮也牽涉到多種病情，包含敗血性休克及多種發炎病。由 L-精胺酸以生物化學方式合成一氧化氮，係由一氧化氮 NO 合成酶催化。曾經敘述多種一氧化氮 NO 合成酶抑制劑並提示供治療用。

更為晚近，本領域之目的係提供對可誘生 NO 合成酶 (iNOS) 或神經元 NO 合成酶 (nNOS) 比較內皮 NO 合成酶 (eNOS) 具有選擇性的 NO 合成酶抑制劑。

如此，WO 93/13055 敘述下式選擇性 NO 合成酶抑制劑



及其鹽，及醫藥可接受性酯類及醯胺類，其中：

R₁ 為 C₁₋₆ 直鏈或分支鏈烷基，C₂₋₆ 烯基，C₂₋₆ 炔基，C₃₋₆ 環烷基或 C₃₋₆ 環烷基 C₁₋₆ 烷基；

Q 為含 3 至 6 個碳原子，且選擇性由一或多個 C₁₋₃ 烷基取代之伸烷基，伸烯基或伸炔基；

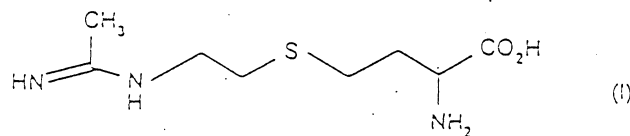
式 -(CH₂)_pX(CH₂)_q- 基，此處 p 為 2 或 3，q 為 1 或 2 及 X 為 S(O)_x，此處 x 為 0、1 或 2，O 或 NR²，此處 R² 為 H 或 C₁₋₆ 烷基；或

五、發明說明(2)

式 $-(\text{CH}_2)_r\text{A}(\text{CH}_2)_s-$ 基，此處 r 為 0、1 或 2， s 為 0、1 或 2，及 A 為 3 至 6 員碳環系環或雜環系環，其可選擇性由一或多個適當取代基取代，例如 C_{1-6} 烷基， C_{1-6} 烷氧基，羥基，鹵原子，硝基，氰基，三氟 C_{1-6} 烷基，胺基， C_{1-6} 烷基胺基，或二 C_{1-6} 烷基胺基。

發明人發現屬於 WO 93/13055 範圍之化合物亦為選擇性 iNOS 抑制劑，具有優點包括半生期長，於活體內投藥時具有口服生體利用性。

因此，根據本發明提供一種式 (I) 化合物



或其鹽、溶劑合物或生理功能衍生物。

式 (I) 於胺基酸基包含非對稱中心，雖然以精胺酸之天然 L 或 (S) 組態為佳，但預期式 (I) 包含 (S) 及 (R) 對映異構物呈大體純質形式，或以任一種比例混合。

如此於替代例中，本發明提供一種選自下列之化合物：

(R/S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-DL-高半胱胺酸

(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸；及

(R)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-D-高半胱胺酸

及其鹽、溶劑合物及生理功能衍生物。

較佳態樣中，本發明提供 (S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸或其鹽、溶劑合物或生理功能衍生物。

五、發明說明 (3)

特佳態樣中，本發明提供(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸或其鹽。

適合醫藥用之式(I)化合物之鹽類及溶劑合物為其中相對離子或結合溶劑為醫藥可接受性者。但含有非醫藥可接受性相對離子或相關溶劑之鹽類及溶劑合物屬於本發明之範圍，例如作為製備其它式(I)化合物及其醫藥可接受性鹽、溶劑合物及生理功能衍生物之中間物。

"生理功能衍生物"一詞表示具有與自由態式(I)化合物相同生理功能之式(I)化合物之化學衍生物，例如經由於體內轉化而可具有相同功能。根據本發明，生理功能衍生物範例包含酯類，醯胺類及胺甲酸酯類；較佳酯類及醯胺類。

根據本發明之適當鹽類包含與有機及無機酸或鹼生成之鹽類。醫藥可接受性酸加成鹽包含由下列各種酸生成之鹽：氫氯酸，氫溴酸，硫酸，檸檬酸，酒石酸，磷酸，乳酸，丙酮酸，乙酸，三氟乙酸，丁二酸，草酸，反丁烯二酸，順丁烯二酸，草醯乙酸，甲烷磺酸，乙烷磺酸，對-甲苯磺酸，苯磺酸及羥乙基磺酸。醫藥可接受性鹼鹽包含銨鹽，鹼金屬鹽如鈉及鉀鹽，鹼土金屬鹽如鈣及鎂鹽，及與有機鹼如二環己基胺及N-甲基-D-葡萄糖胺形成的鹽。

式(I)化合物之醫藥可接受性酯類及醯胺類具有酸基轉化成C₁₋₆烷基，芳基，芳基C₁₋₆烷基或胺基酸酯或醯胺。式(I)化合物之醫藥可接受性醯胺類及胺基甲酸酯類具有胺基轉化成C₁₋₆烷基，芳基，芳基C₁₋₆烷基或胺基酸醯胺或胺基甲酸酯。

五、發明說明 (4)

如前述，式(I)化合物如下 NOS 抑制檢定分析驗證為 NO 合成酶抑制劑。

因此，式(I)化合物及其醫藥可接受性鹽類、溶劑合物及生理功能衍生物可用於預防及治療適合使用 NO 合成酶抑制劑，特別 iNOS 抑制劑的臨床病情。此等病情包含發炎情況，休克狀態，免疫障礙，及胃腸活動力障礙。式(I)化合物及其醫藥可接受性鹽類、溶劑合物及生理功能衍生物也可用於預防及治療中樞神經系統病包含偏頭痛。

休克狀態表示因過量產生 NO 引起的病症，例如敗血性休克，出血性休克，創傷性休克，或因猛暴性肝衰竭引起的休克，或使用細胞激素如 TNF，IL-1 及 IL-2 治療，或細胞激素誘生劑如 5,6-二甲基黃烯酮乙酸治療引起的休克。

發炎病情及免疫障礙範例包含關節疾病例如關節炎(例如類風濕性關節炎，骨關節炎，彌補術關節衰竭)，或胃腸道(例如潰瘍性結腸炎，柯恩氏病，及其它發炎性腸病)，胃炎及因感染引起的黏膜發炎，因非類固醇抗炎藥誘發的腸病變)，肺臟方面(例如成人呼吸窘迫症候群，氣喘，囊性纖維化，或慢性阻塞性肺疾)，心臟方面(例如心肌炎)，神經組織方面(例如多發性硬化)，胰臟方面(例如糖尿病及其併發症)，腎臟方面(例如腎小球性腎炎)，皮膚方面(例如皮炎，乾癬，濕疹，蕁麻疹)，眼方面(例如青光眼)以及移植器官(例如排斥)，及多器官病(例如系統性紅斑性狼瘡)及病毒或細菌感染的發炎後遺症。

此外，有證據顯示動脈粥瘤硬化因 iNOS 產生過量 NO 及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

後

五、發明說明 (5)

窒息或缺血(有或無再灌注)例如腦病變或缺血性心臟病。

胃腸活動力病變包含腸絞塞例如手術後腸絞塞及敗血病之腸絞塞障礙。

中樞神經系統病一詞表示產生過量 NO 促成的疾病例如偏頭痛，精神病，焦慮不安，精神分裂，睡眠障礙，腦缺血，中樞神經系統(CNS)創傷，癲癇，多發性硬化，愛滋病(AIDS)性癡呆，慢性神經變性病(例如 Lewy Body 性癡呆，亨丁頓氏病，巴金森氏病，或阿茲海默氏病)及急慢性疼痛，以及有關非腎上腺素激性非膽鹼激性神經相關病症，例如異常勃起、肥胖及攝食過度。

急性疼痛實例包含肌肉骨頭痛，手術後疼痛及手術疼痛。慢性疼痛實例包含慢性發炎性疼痛(例如類風濕性關節炎及骨關節炎)，神經病變疼痛(例如疱疹後神經痛，糖尿病相關神經病變，三叉神經痛，功能性腸障礙相關疼痛例如刺激性腸症候群，非心源性胸痛及交感神經維持的疼痛)以及癌症及纖維肌肉痛引起的疼痛。

此外，抑制 NO 合成酶具有下列優點：預防 HIV 感染引起淋巴細胞損失，增加放射性治療過程腫瘤對放射性的敏感度，及減少腫瘤生長、腫瘤進行、血管新生及腫瘤轉移。

如此，本發明提供一種於哺乳類例如人類治療適合使用一氧化氮合成酶抑制劑例如 iNOS 抑制劑的臨床病情之預防或治療方法，該方法包括投予治療有效量之式(I)化合物，或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物。特別，本發明提供一種預防或治療發炎及/或免疫病症如關

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

象

五、發明說明(6)

節炎或氣喘之方法。較佳態樣中，本發明提供一種預防或治療選自關節炎，氣喘，腸絞塞及偏頭痛。

替代例中，也提供一種式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物用於治療，特別用於哺乳類例如人類治療適合一氧化氮合成酶抑制劑，例如 iNOS 抑制劑的臨床病情的預防或治療。特別，提供一種式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物供預防或治療發炎及/或免疫病症如關節炎或氣喘。較佳態樣中，提供一種式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物供預防或治療關節炎、氣喘、腸絞塞及偏頭痛。

達成治療效果需要的式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物數量當然隨特定化合物、投藥途徑、接受治療的個體，及接受治療的特定障礙或疾病而異。本發明化合物可經口或藉注射以 0.1 至 1500 毫克/千克/日，較佳 0.1 至 500 毫克/千克/日之劑量投藥。成人之劑量範圍通常為 5 毫克至 35 毫克/日，及較佳 5 毫克至 2 克/日。錠劑或其它以分立單元提供的劑型，方便地含有可以此種劑量或其數倍劑量發揮效果的本發明化合物，例如每單位含有 5 毫克至 500 毫克，通常約 10 毫克至 200 毫克。

本發明也提供式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物用於製造適合使用一氧化氮合成酶抑制劑如 iNOS 抑制劑的臨床病情，例如發炎及/或免疫病症如關節炎或氣喘之預防或治療用藥之用途。較佳態樣中，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

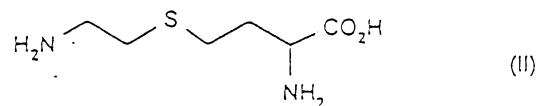
五、發明說明(7)

提供一種式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物用於製造選自關節炎、氣喘、腸絞塞及偏頭痛等臨床病情之預防或治療用藥。

後文中，"活性成分"表示式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽、溶劑合物或生理功能衍生物。

根據本發明之又一態樣，提供一種製備式(I)化合物或其鹽、溶劑合物或生理功能衍生物之方法，該方法包括：

(i)式(II)化合物



或其對映異構物、鹽或經保護衍生物與式(III)化合物



或其鹽反應，其中L為離去基，最適合C₁₋₆烷氧基，如乙氧基或烷硫基，芳烷硫基或芳硫基例如苄硫基或1-或2-萘基甲硫基；接著為下列各步驟可以任一種順序進行：

- (ii)選擇性去除保護基；
- (iii)選擇性由對映異構物混合物中分離一種對映異構物；
- (iv)將產物選擇性轉化成對應鹽、溶劑合物或其生理功能衍生物。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

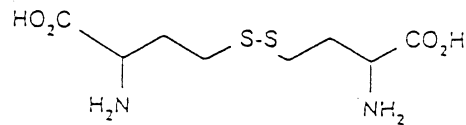
訂

五、發明說明(8)

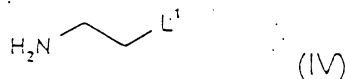
當 L 為 C₁₋₆ 烷氧基時，如上步驟(i)之反應可於鹼性 pH 例如 pH 8 至 11，適合 pH 10.5，及於適當溫度例如 -5 °C 至 20 °C，適合 0 至 5 °C 進行。當 L 為烷硫基，芳烷硫基，或芳硫基時，反應可於有機溶劑如四氫呋喃或 C₁₋₄ 醇如乙醇於中等溫度如 10 至 40 °C，適合於周圍溫度進行。

式(III)化合物及其鹽類為市面可得，或可藉業界人士眾所周知的有機化學方法製備，例如由 Shearer 等述於四面體函件 1997, 38, 179-182。

式(II)化合物及其鹽，及經保護衍生物可由高胱胺酸：



或其經保護衍生物製備，該製法係將雙硫鍵割裂形成高半胱胺酸或其經保護衍生物；及與式(IV)化合物



或其經保護衍生物偶合，其中 L¹ 為離去基如鹵原子如溴或烷基，芳基或芳烷基磺酸酯如甲苯磺醯基。

割裂高胱胺酸或其經保護衍生物之雙硫鍵聯形成高半胱胺酸或其經保護衍生物可藉業界人士眾所周知之方法，例如使用鈉於液態氨，二硫赤絲醇或硼氫化鈉進行。

五、發明說明(9)

高半胱胺酸之經保護衍生物，例如 N-第三丁氧羰基高半胱胺酸第三丁酯可與式(IV)化合物於反應條件下於適當有機溶劑(例如甲苯)於鹼如 1,8-二吡雙環[5.4.0]十一碳-7-烯或類似化學劑(業界人士已知)媒介的反應反應。

高胱胺酸，式(IV)化合物及其經保護衍生物為市售，或可藉業界人士眾所周知的有機化學方法製備。

製備式(I)化合物使用的保護基可以習知方式使用，例如使用 Theodora W Green 述於"有機合成保護基"第二版(約翰威利父子公司，1991年)之方法，其中也敘述保護基之去除方法。

前述反應中，第一胺類適合使用鹼基如第三丁氧羰基或苄氧羰基保護，可於酸性條件下例如使用氫氟酸或氫溴酸處理，或藉氫解去除。

如業界人士了解，使用此等保護基包含於式(II)化合物正交保護胺基，以輔助於其它基存在下選擇性去除一個基，如此可選擇性官能化單一胺基官能基。例如苄氧羰基可藉氫解選擇性去除。業界人士了解其它習知手段可利用的正交保護策略，如 Theodora W Green(參見上文)所述。

本發明之對映異構化合物可藉下列方法獲得：(a)例如利用光學活性層析柱，酶光學分割方法，或製備與分離適當非對映異構物而分離對應外消旋混合物中之各種成分；或(b)藉前述方法由適當光學活性中間物直接合成。

式(I)化合物選擇性轉化成對應鹽可方便地經由與適當酸或鹼反應進行。式(I)化合物選擇性轉化成對應溶劑合物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (10)

或生理功能衍生物，可藉業界人士眾所周知的方法進行。

根據又一態樣，本發明提供製備式(I)化合物之新穎中間物，例如如上定義之式(II)化合物，或其對映異構物、鹽或經保護衍生物；特別選自下列之化合物：

- (S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (R,S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (R,S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；
- (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；
- (R,S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (R,S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (R,S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；及
- (R,S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯。

某些式(I)化合物之經保護基衍生物也可用作製備式(I)化合物，特別選自下列化合物之中間物：

- (S)-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
- (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (11)

二胺基-5-硫庚酸酯；

(R,S)-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；

(R,S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；

及其鹽及溶劑合物。

欲更了解本發明，舉出下列實例供舉例說明。

合成例實例 1

(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸或(S)-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸之合成

(i) (S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸

於液態氮(130 毫升)冷卻至 -80°C 內加入 L-高胱胺酸(3 克)，接著加入鈉金屬(1.06 克)至藍色持續 15 分鐘。經此時間後，加入甲苯磺酸 N-苄氧羰基-乙醇胺鹽(8.16 克)，及反應於周圍溫度攪拌至氮氣揮發為止。殘餘物溶解於水(80 毫升)，及以 0.5M EDTA 鈉鹽(2 毫升)處理。溶液 pH 以 2N 硫酸調整至 7.0，過濾去除生成的白色沉澱，以冷水及丙酮洗滌，及於真空乾燥器脫水獲得標題化合物呈白色固體 5.3 克。

質譜 M+H 313

(ii) (S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸

(S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸(5.3 克)以 45% 溴

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

檢

五、發明說明 (12)

化氫於乙酸(23 毫升)處理 1 小時。形成棘手膠體，添加醚至混合物確保產物完全沉澱。傾析去除液體，固體溶解於 SVM。熱溶液以吡啶處理至沉澱持續不退，使混合物冷卻至室溫。所得沉澱經過濾去除，及由 SVM/水再結晶獲得標題化合物呈白色固體 2.2 克，mp 222 °C (分解)。

(iii) (S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸

(S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸(2.17 克)於 0-5 °C 攪拌入 1N 氫氧化鈉(16.75 毫升)至 pH 10.5。溶液內分成數份加入乙胺酸乙酯氫氨酸鹽(2.07 克)，pH 以 1N NaOH 維持於 10.5。反應完成時，pH 以 1N HCl 調整至 3，混合物施用至杜威(Dowex) AGX8 H⁺離子交換柱。柱洗滌至中性，然後以 2.5M 吡啶洗滌，然後再度以水洗滌至中性。以 0.5M 氨溶離，及於蒸發後收集所得寧德林(ninhydrin)陽性部分。所得殘餘物以 1N HCl 處理至 pH 4.5，蒸發至乾。然後殘餘物以乙醇處理及蒸發至乾，然後以乙醚處理，及乙醚蒸發至乾，獲得標題化合物之一鹽酸鹽呈硬質白色發泡體。

產物之顯微分析與 1.75 水合物符合一致：實測值(計算值)：C 33.56 (33.45)；H 7.11 (7.49)，N 13.74 (14.63)

實例 2

(R/S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-D,L-高半胱胺酸係藉類似實例 1 所述方法始於 D,L-高胱胺酸製備。

產物之 ¹H NMR 係與提示之結構符合一致。

實例 2a

實例 2 外消旋產物使用光學活性 Crownpac(+)-HPLC 柱及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (13)

於 pH 2 以三氟乙酸溶離，而大體光學分割成兩種組成對映異構物 [同實例 1 及 4 之 (S) 產物及實例 3 之 (R) 產物]。

(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸

產物之顯微分析係與二-三氟乙酸鹽水合物 $C_8H_{17}N_3O_2S \cdot (CF_3CO_2H)_2 \cdot H_2O$ 符合一致。

實測值 (計算值)：C 31.06 (30.97)；H 4.53 (4.55)，N 9.08 (9.03) CD 光譜 (0.1N 鹽酸水液) 210 (+0.80) nm。

(R)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-D-高半胱胺酸

產物之顯微分析係與鹽形式符合一致。1.67 三氟乙酸鹽 .0.3 鹽酸鹽 .1.5 水合物 $C_8H_{17}N_3O_2S \cdot (CF_3CO_2H)_{1.67} \cdot HCl_{0.3} \cdot 1.5 H_2O$

實測值 (計算值)：C 30.18 (30.40)；H 4.92 (4.97)，N 9.53 (9.41)，S 7.41 (7.18)，Cl 1.86 (2.38)，F 21.36 (21.28)。CD 光譜 (0.1N 鹽酸水液) 210 (-0.64) nm。

實例 3

(R)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-D-高半胱胺酸係藉類似實例 1 使用之方法始於 D-高胱胺酸製備。

實例 4(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸之合成(i) (S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸

於冷卻至 $-80^\circ C$ 之液態氮 (430 毫升) 內加入 L-高胱胺酸 (10 克，37.45 毫莫耳)。移開冷卻浴，及以 25 分鐘時間逐份加入鈉金屬 (3.18 克，138.26 毫莫耳)，使溫度升高至回

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (14)

流溫度。又持續回流攪拌 30 分鐘，隨後加入甲苯磺酸 N-苄氧羰基-乙醇胺鹽(25 克，74.9 毫莫耳)，及反應於周圍溫度攪拌隔夜至氯氣揮發去除。殘餘物於 40 °C 與水(250 毫升)共同攪拌 10 分鐘，冷卻至室溫及過濾。溶液之 pH 以 2M 硫酸調整至 7.0，所得白色沉澱經過濾出，以冷水及丙酮洗滌及於真空乾燥器脫水獲得(S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸呈白色固體，Mp 240 °C (分解)。

(ii) (S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸

(S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸(15.5 克，49.67 毫莫耳)添加至氫氧化鈉(6.357 克，159 毫莫耳)於水(110 毫升)，接著加入二噁烷(55 毫升)。混合物內加入二碳酸二第三丁酯(16.26 克，74.5 毫莫耳)，及混合物於室溫於氯氣下攪拌隔夜。於此段時間後，過濾去除沉澱固體，加入甲苯(300 毫升)及分離各層。水層經冷卻，及使用 1N HCl 調整為酸性至 pH 約 3。酸化部分以甲苯(4 × 100 毫升)及乙酸乙酯(3 × 100 毫升)萃取，合併有機部分以硫酸鎂脫水。於減壓下濃縮合併有機層獲得(S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸呈白色膠體。

質譜 M+H 413

(iii) (S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸甲酸鹽

於氯氣氣下於冷卻至 5 °C 之甲醇(50 毫升)內全部一次加入鈹黑(0.678 克)。冷溶液內以 1 分鐘時間加入甲醇(50 毫

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

後

五、發明說明 (15)

升)及甲酸(11毫升, 196毫莫耳)之混合物, 接著以2分鐘時間加入(S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸(2克, 4.85毫莫耳)於甲醇(50毫升)。任混合物於周溫攪拌隔夜, 加入更多量鈹黑(257毫克), 及又持續攪拌3小時。反應混合物經海夫洛(Hyflo)過濾, 及於減壓下濃縮。殘餘物分配於水與乙酸乙酯, 水層以更多量乙酸乙酯洗滌, 水層濃縮獲得(S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸甲酸鹽呈白色固體。

質譜 M+H 279(65%), 223(100%)

(iv) (S)-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸鹽酸鹽

於室溫於氮下於(S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸甲酸鹽(2.154克, 6.59毫莫耳)於乙醇(50毫升)內加入S-(1-萘基甲基)硫乙肱酸鹽鹽酸鹽(3.70克, 14.75毫莫耳), 接著加入乙醇(50毫升)。於周圍溫度攪拌, 2小時後固體溶解及溶液攪拌隔夜。反應經真空濃縮, 殘餘物以水處理, 水相以乙醚(4 × 50毫升)洗滌。真空濃縮水液部分獲得(S)-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸鹽酸鹽呈白色吸濕性固體。

質譜 M+H 320(75%), 264(100%), 220(15%)

(v) (S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸

於(S)-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸鹽酸鹽(3.086克, 8.69毫莫耳)緩慢加入4N鹽酸

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (16)

1-二噁烷(20毫升)，反應混合物於周圍溫度攪拌隔夜。反應經真空濃縮，殘餘物溶解於水及以乙醚(3×20毫升)洗滌。水層經真空濃縮獲得標題化合物呈鹽酸鹽，呈吸濕性固體。

質譜 M+H 220 ; $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O}) \delta$: 2.1-2.35 (5H, m), 2.76 (2H, t), 2.87 (2H, t), 3.51 (2H, t), 4.12 (1H, t)。

實例 5(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸之合成(i) (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯

於 N-第三丁氧羰基半胱胺酸第三丁酯(經由以二硫赤絲醇還原 N-第三丁氧羰基胱胺酸第三丁酯製備)(291 毫克，1 毫莫耳)於無水甲苯(20 毫升)之溶液內加入 N-苄氧羰基乙醇胺甲苯磺酸鹽(349 毫克，1 毫莫耳)及 1,8-二吡雙環[5.4.0]十一碳-7-烯(150 微升，1 毫莫耳)，混合物於室溫於氮下激烈攪拌隔夜。混合物分配於各 50 毫升乙酸乙酯及 50 毫升 1N 鹽酸水液。合併額外有機萃出物，萃出物以碳酸氫鈉水液、水及鹽水洗滌，然後脫水及蒸發。藉柱式層析純化獲得標題化合物。

質譜 M+H 469(25%)，369(100%)

替代方法中，實例 4 步驟(ii)產物使用 N,N-二甲基甲醯胺二-O-第三丁基縮醛或 O-第三丁基 1,1,1-三氯乙腈酸鹽轉化獲得標題化合物呈白色結晶固體。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (17)

(ii) (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯甲酸鹽

於(S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7-N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯(1克, 2.1毫莫耳)於乙醇(50毫升)之溶液內加入氫氧化鈉/碳(20%, 0.5克)及甲酸銨(1.34克)。懸浮液回流 2.5 小時, 冷卻及經過氧化矽柱塞過濾, 以 1 ; 1 乙醇-水徹底洗滌, 及蒸發獲得標題化合物呈甲酸鹽。

質譜 M+H 335

(iii) (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯鹽酸鹽

步驟(ii)所得粗製(S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯甲酸鹽以 50 毫升四氫呋喃調成漿液, 液體經清洗及與 S-(1-萘基甲基)硫乙肟酸鹽鹽酸鹽(0.5克, 2毫莫耳)混合, 及於室溫攪拌 24 小時。蒸發去除溶劑, 殘餘物分配於各 25 毫升醚及水, 接著以醚洗 2 次; 合併水液回萃出物, 及蒸發獲得白色糊狀物。凍乾兩次獲得標題化合物呈白色吸濕性固體。

質譜 M+H 376(100%), 320(15%), 276(12%)。

(iv) (S)-S-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸

(S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-(1-亞胺基乙基)-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯鹽酸鹽使用 4N 鹽酸於二噁烷藉實例 4 步驟(v)所述方法脫去保護, 獲得(S)-S-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸。

五、發明說明 (18)

標題化合物之特徵資料符合實例 4 產物。

生物活性1. 於大鼠主動脈環之 eNOS 及 iNOS 之抑制

於大鼠主動脈環原位抑制 eNOS 及 iNOS 係藉測量因 NO 合成的抑制引起環張力增高而評估。供研究基本張力(反映 eNOS)，如前述準備附有完整內皮的胸腔主動脈環(Rees et al., (1989) Br. J. Pharmacol. 96, 418-424)及對抑制劑於閾值濃度之 phenylephrine(ED₁₀ 約等於 10nM)存在下獲得累進濃度曲線。欲研究誘生平滑肌張力(反映 iNOS)，剝除內皮之環如前述於約 ED₉₀ 之 phenylephrine 存在下曝露於 LPS(0.1 微克/毫升，得自傷寒桿菌)歷 6 小時(Rees et al. (1990) Biochem. Biophys. Res. Commun. 173, 541-547)。於此期間因誘生 iNOS 造成張力漸漸損失。然後對抑制劑獲得累進濃度如下。

結果示於下表：

	iNOS IC ₅₀ (μM)	eNOS %抑制@300 μM	選擇性 iNOS 相對於 eNOS
實例 1	0.73	43	>500 倍
實例 2	0.45	53	>500 倍
實例 3	6.6	20	>150 倍

相反地，相同試驗中 2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基半胱胺酸鹽酸鹽(WO 93/13055 之實例 4)對 iNOS 之選擇性相對於 eNOS 僅為 33 倍。

2. 於大鼠皮質切片之 nNOS 抑制作用

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (19)

化合物於大鼠腦切片對 nNOS 之影響係如 Furfine et al (1994) J. Biol. Chem. 269, 26677-26683 及 Lizasoain et al (1995) J. Neurochem. 64, 636-642 所述測定。

KCl (54 mM) 刺激 NO 合成之測量方式係於 37 °C 於 McIlwain 剝碎 (0.2 毫米 × 0.2 毫米) 大鼠大腦皮質切片將 14C-精胺酸轉成 14C-瓜胺酸經歷 2 小時時間，接著於無化合物或高 KCl 存在下前培育 1 小時測量。

實例 1 化合物測得 IC₅₀ 為 220 μM，提示 iNOS 相對 nNOS 之選擇性約 300 倍。

3. iNOS 抑制劑化合物之口服生體利用率之測量方法

動物處理：

小鼠 (每個時間點 3 頭) 經靜脈給藥 (10 毫克/千克) 及以水溶液試驗化合物口服給藥 (50 毫克/千克)。投藥後於固定時間間隔採血樣，藉離心準備血漿。樣本儲存於 -20 °C 至分析。

血漿內化合物之分析：

血漿 (50 微升) 脫去蛋白質，及化合物使用第四銨劑衍生。然後樣品注射至 HPLC 系統，使用質譜檢測測定化合物濃度。

藥力學分析：

如上方法所得血漿濃度輸入藥力學軟體包封 (PKCAL v 1.2s)，及資料使用未分腔室方法匹配。化合物之口服生體利用率係藉比較軟體對口服算出的曲線下方面積 (AUC) 值與靜脈投藥之 AUC 值測定。將靜脈投藥之末相時間點配合獲得半生期。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (20)

發現(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸具有口服生體利用率 55%，及半生期 5.7 小時。

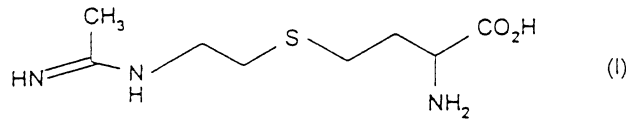
於大鼠以靜脈注射及口服劑量 10 毫克/千克重複試驗，(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸具有生體利用率 92%。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

四、中文發明摘要 (發明之名稱： 新穎脘基化合物及其治療用途)

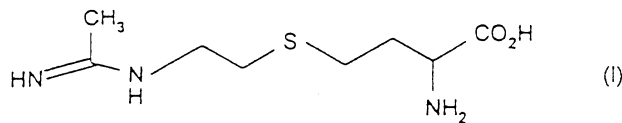
本發明係關於新穎式(I)脘基化合物



其製法及其用於治療之用途，特別用作可誘生性一氧化氮合成酶之選擇性抑制劑。

英文發明摘要 (發明之名稱： NOVEL AMIDINO COMPOUND AND THEIR USE IN THERAPY)

The present invention relates to novel amidino compounds of formula (I),



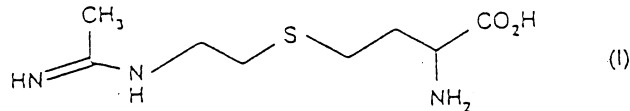
to a process for their manufacture and to their use in therapy, in particular their use as selective inhibitors of inducible nitric oxide synthase.

六、申請專利範圍

公告本

修正
本 92 年 4 月 4 日
補充

1. 一種式(I)化合物：

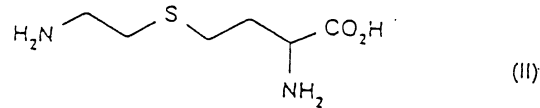


或其醫藥可接受性鹽。

2. 如申請專利範圍第 1 項之式(I)化合物，其係選自：
(R/S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-DL-高半胱胺酸
(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸；及
(R)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-D-高半胱胺酸
或其醫藥可接受性鹽。
3. 如申請專利範圍第 1 項之式(I)化合物，其為(S)-[2-(1-亞胺基乙基胺基)乙基]-L-高半胱胺酸或其醫藥可接受性鹽。
4. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之式(I)化合物，或其醫藥可接受性鹽，其係供用於醫藥治療。
5. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之式(I)化合物，或其醫藥可接受性鹽，其係供用於製造一氧化氮合成酶抑制劑適應症臨床病情之預防或治療用藥。
6. 如申請專利範圍第 5 項之式(I)化合物，其中該臨床病情係選自關節炎，氣喘，腸絞塞及偏頭痛。
7. 一種製備式(I)化合物或其醫藥可接受性鹽之方法，該方法包括：

(i)式(II)化合物

六、申請專利範圍



或其對映異構物、鹽或經保護衍生物與式(III)化合物



或其鹽反應，其中 L 為離去基；接著為下列各步驟可以任一種順序進行：

- (ii) 選擇性去除保護基；
 - (iii) 選擇性由對映異構物混合物中分離一種對映異構物；
 - (iv) 將產物選擇性轉化成對應之醫藥可接受性鹽。
8. 一種化合物，其係選自：
- (S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (R,S)-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (R,S)-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；
 - (S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺

六、申請專利範圍

基-5-硫庚酸酯；

(S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；

(R,S)-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；

(R,S)-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸；

(R,S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-7N-苄氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯；及

(R,S)-第三丁基-2N-第三丁氧羰基-2,7-二胺基-5-硫庚酸酯。