



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101223166 B

(45) 授权公告日 2011. 10. 19

(21) 申请号 200580041518. 9

007D 417/14 (2006. 01)

(22) 申请日 2005. 10. 06

(30) 优先权数据

60/616, 805 2004. 10. 07 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 06. 04

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2005/035921 2005. 10. 06

(87) PCT申请的公布数据

WO2007/050050 EN 2007. 05. 03

(73) 专利权人 默沙东公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 N·D·科克福德 T·J·塞德斯

J·佩恩 J·R·罗普 D·黄

N·D·史密斯 S·F·潘 C·金

B·W·伊斯特曼 B·王

J·M·阿鲁达 J·M·韦尼耶 X·赵

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 刘冬 李连涛

(56) 对比文件

WO 2004/038374 A2, 2004. 05. 06, 说明书第
50 实施例 16, 第 55 页实施例 24, 25.

WO 01/16121 A1, 2001. 03. 08, 参见说明书第
69 页实施例 90, 说明书第 106-107 页实施例 182,
第 11 页第 1-9 行, 第 5 页 1-7 行.

Jeffrey R. Roppe, et al. 5-[(2-Methyl-1,
3-thiazol-4-yl)ethynyl]-2, 3'-bipyridine: a
highly potent, orally active metabotropic
glutamate subtype 5 (mGlu5) receptor
antagonist with anxiolytic activity.
Bioorganic & Medicinal Chemistry
Letters. 2004, 14(15), 3993-3996.

Nicholas D. P. Cosford.
[3H]-Methoxymethyl-MTEP and
[3H]-Methoxy-PEPy: Potent and Selective
Radioligands for the Metabotropic
Glutamate Subtype 5 (mGlu5) Receptor.
Bioorganic & Medicinal Chemistry
Letters. 2003, 13(3), 351-354.

审查员 王险

(51) Int. Cl.

C07D 417/06 (2006. 01)

C07D 471/04 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 33 页

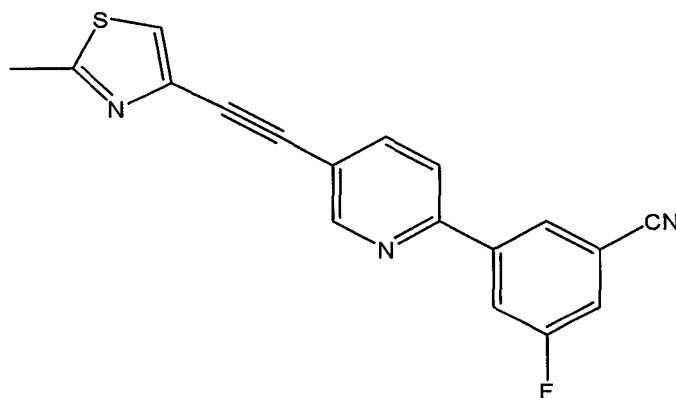
(54) 发明名称

噻唑基 MGLUR5 拮抗剂及其应用方法

(57) 摘要

鉴定独特的系列化合物, 其拥有药物样性质
方面的特殊优点, 这是因为其在效能和 / 或药代
动力学和 / 或选择性和 / 或体内受体占领特性方
面的优点。具体地说, 选择通过亚乙炔基连接于吡
啶环 3 位或嘧啶环 5 位的 1, 3- 噻唑 -2- 基环, 其
中该环由选择的取代基取代, 得到的化合物具有
优秀的药物样特性。本发明包括这些杂环化合物
的药物可接受盐形式, 尤其是氯化物盐和三氟乙
酸盐。

1. 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐：



(I)

所述化合物不包含任何放射性同位素,并且用于涉及口服给予患者的药物疗法。

2. 适用于口服给药的药物组合物,其包含权利要求 1 的化合物和药学上可接受的赋形剂。

3. 权利要求 2 的药物组合物,所述药物组合物呈片剂、胶囊或可分散的粉末或颗粒的形式。

噻唑基 MGLUR5 拮抗剂及其应用方法

[0001] 发明领域

[0002] 本发明涉及发现拥有作为 mGluR5 拮抗剂的增加活性的特定杂环化合物,进一步指这些杂环的特定盐。另外,本发明涉及使用这些化合物治疗和预防各种疾病和病症的治疗学方法。

[0003] 发明背景

[0004] 发现不饱和杂环化合物有各种作用。例如,发现这类化合物用作由配体激活受体介导的生理过程的调节剂。由配体激活的受体分布于整个神经、心脏、肾脏、消化和支气管系统等中。例如,在神经系统中,杂环化合物可作为神经递质、神经激素和神经调质受体的激动剂或拮抗剂起作用。已在各种物种中鉴定出配体激活的受体,包括人类、其它哺乳动物和脊椎动物及无脊椎动物。因此,这类化合物也可以调节种系发生中受体介导的过程,发现其在各种应用中的用途,例如作为药物、杀虫剂、杀真菌剂等。

[0005] 由兴奋性氨基酸例如 L-谷氨酸(谷氨酸)激活的受体是哺乳动物中枢神经系统中一类重要的兴奋性神经递质受体。解剖学、生物化学和电生理学分析提示,谷氨酸能系统涉及各种神经元过程,包括快兴奋性突触传递、神经递质释放调节、长时程增强、长时程抑制、学习和记忆、发育突触可塑性、缺氧缺血损伤和神经元细胞死亡、癫痫发作、视觉过程,以及几种神经变性疾病的病理。一般参见 Nakanishi 等, Brain Research Reviews 26: 230-235(1998); Monaghan 等, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 29: 365-402(1980)。这种扩展的功能项目,特别是与学习、神经毒性和神经病理相关的功能,已激发了近来描述和定义谷氨酸发挥其作用的机理的尝试。

[0006] 已观察到谷氨酸通过受体来介导其效应,该受体已分为主要两类:离子型和代谢型。离子型谷氨酸受体一般分为两类:N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)和非 NMDA 受体。两种受体均连接于完整阳离子通道并共享某些氨基酸序列同源性。GluR1-4 称为 AMPA(a-氨基-3-羟基-5-甲基异噻唑-4-丙酸)受体,因为 AMPA 优先激活由这些亚基组成的受体,而 GluR5-7 和 KA1-2 称为海人草酸受体,因为它们优先对海人草酸敏感。因而,“AMPA 受体”是可被 AMPA 激活的非 NMDA 受体。AMPA 受体包括 GluR1-4 家族,该家族形成同寡聚复合物和异寡聚复合物,显示出不同的电流-电压关系和钙通透性。由 GluR1-4 核酸序列编码的多肽可形成功能性配体门控离子通道。AMPA 受体包括具有 GluR1、GluR2、GluR3 和 / 或 GluR4 亚基的受体。NMDA 受体包括具有 NMDAR1、NMDAR2a、NMDAR2b、NMDAR2c、NMDAR2d 和 / 或 NMDAR3 亚基的受体。

[0007] 代谢型谷氨酸受体依据氨基酸序列同源性、转导机制和药理学特性分为三组,称为 I 组、II 组和 III 组。每组受体含有一种或多种受体类型。例如,I 组包括代谢型谷氨酸受体 1 和 5(mGluR1 和 mGluR5),II 组包括代谢型谷氨酸受体 2 和 3(mGluR2 和 mGluR3),III 组包括代谢型谷氨酸受体 4、6、7 和 8(mGluR4、mGluR6、mGluR7 和 mGluR8)。可能存在具体 mGluR 类型的几种亚型。例如,mGluR1 的亚型包括 mGluR1a、mGluR1b、mGluR1c 和 mGluR1d。

[0008] 解剖学研究表明,代谢型谷氨酸受体广泛和选择性分布于哺乳动物神经系统。例如,mGluR1 表达于小脑、嗅球、海马、侧间隔、丘脑、苍白球、内核、腹侧苍白球和黑

质 (Petrulia 等, (1997) J. Chem. Neuroanat, 13 :77-93 ;Shigemoto 等, (1992) J. Comp. Neurol., 322 :121-135)。相反, mGluR5 微弱表达于小脑,而高水平表达发现于纹状体和皮质 (Romano 等, (1995) J. Comp. Neurol., 355 :455-469)。在海马中, mGluR5 表现出广泛分布和分散表达。

[0009] 代谢型谷氨酸受体通常特征在于七个推定的跨膜区域, 开始于大的推定细胞外氨基末端区域, 然后是大的推定细胞内羧基末端区域。受体偶联于 G 蛋白, 并取决于受体组激活某些第二信使。因而, 例如 I 组 mGluR' s 激活磷脂酶 C。激活受体导致膜磷脂酰肌醇 (4, 5)-二磷酸水解为二脂酰甘油和肌醇三磷酸, 二脂酰甘油激活蛋白激酶 C, 肌醇三磷酸则又激活肌醇三磷酸受体, 促进 20 细胞内钙的释放。

[0010] 多种具有 mGluR5 拮抗剂活性的杂环化合物已描述于国际公开 No. W001/1612 和相关的国家阶段申请, 例如 09/387, 073 (已放弃) 和作为美国专利 No. 6, 774, 138 授权的 10/217, 800, 所述化合物调节 mGluR5 受体的活性, 用于治疗 mGluR5 介导的病症。因为一般兴奋性氨基酸受体, 尤其是代谢型谷氨酸受体的生理和病理重要性, 需要鉴定调节兴奋性氨基酸受体介导的过程的更有效方法, 和更有效的疾病治疗方法和预防方法。因此持续需要本领域技术人员鉴定新的和效能增加的可调节兴奋性氨基酸受体的化合物成员。

[0011] 发明概述

[0012] 鉴定一系列化合物, 该化合物落入 W001/16121 和美国专利 No. 6, 744, 138 描述和要求保护的化合物组的范围内, 但未在其中具体描述, 此系列化合物在药物样特性方面拥有特殊优点。本文所述化合物显示出作为药物使用的增加的潜力, 因为其拥有在效价和 / 或选择性和 / 或药代动力学特性和 / 或体内受体占领特性方面的独特优点。具体地说, 已公开选择通过亚乙炔基连接于吡啶环 3 位或嘧啶环 5 位的 1, 3- 噻唑 -2- 基环部分, 其中该环由选择的取代基取代, 得到的化合物具有优秀的药物样特性。本发明也公开这些杂环化合物的药物可接受盐形式, 特别氯化物盐和三氟乙酸盐。

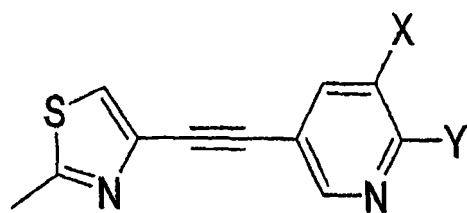
[0013] 发明的化合物用于各种应用。例如这些化合物可通过作为神经系统中谷氨酸受体拮抗剂用于调节生理过程。发明的化合物也可以用作杀虫剂和杀真菌剂。包含本发明化合物的药物组合物也具有广泛用途。

[0014] 根据本发明, 也提供了使用具体定义类型的杂环化合物调节兴奋性氨基酸受体活性的方法。在一个实施方案中, 提供了调节代谢型谷氨酸受体的方法。本发明也提供了使用杂环化合物治疗疾病的方法。预期的疾病包括脑缺血、慢性神经变性、精神障碍、精神分裂症、心境障碍、情绪失常、锥体外系运动功能障碍、肥胖症、呼吸障碍、运动原控制功能障碍、注意力缺陷障碍、注意力障碍、疼痛症、神经变性障碍、癫痫、惊厥性疾病、进食障碍、睡眠障碍、性功能障碍、昼夜节律障碍、戒毒、药物成瘾、强迫性障碍、焦虑、恐惧症、抑郁症、皮肤疾病、视网膜缺血、视网膜变性、青光眼、器官移植有关的疾病、哮喘、缺血和星形细胞瘤。本发明进一步公开了预防呼吸系统疾病、神经系统疾病、心血管系统疾病、智力低下 (包括脆性 X 染色体综合征相关的智力低下)、消化系统疾病例如胃食管反流病和肠易激综合征、内分泌系统疾病、外分泌系统疾病、皮肤疾病、癌症和眼系统疾病。

[0015] 发明详述

[0016] 根据本发明, 提供下式化合物和其药物可接受盐:

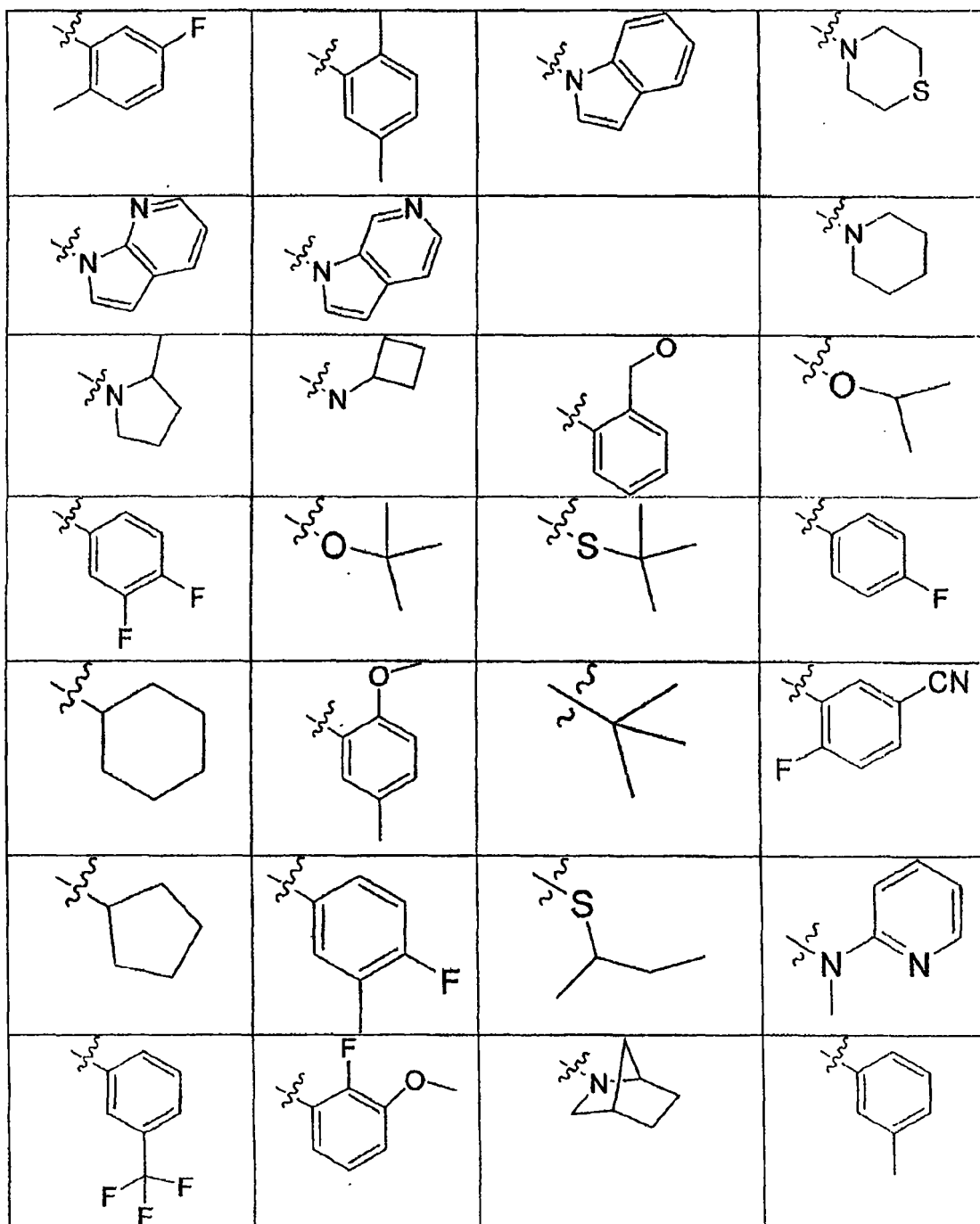
[0017]



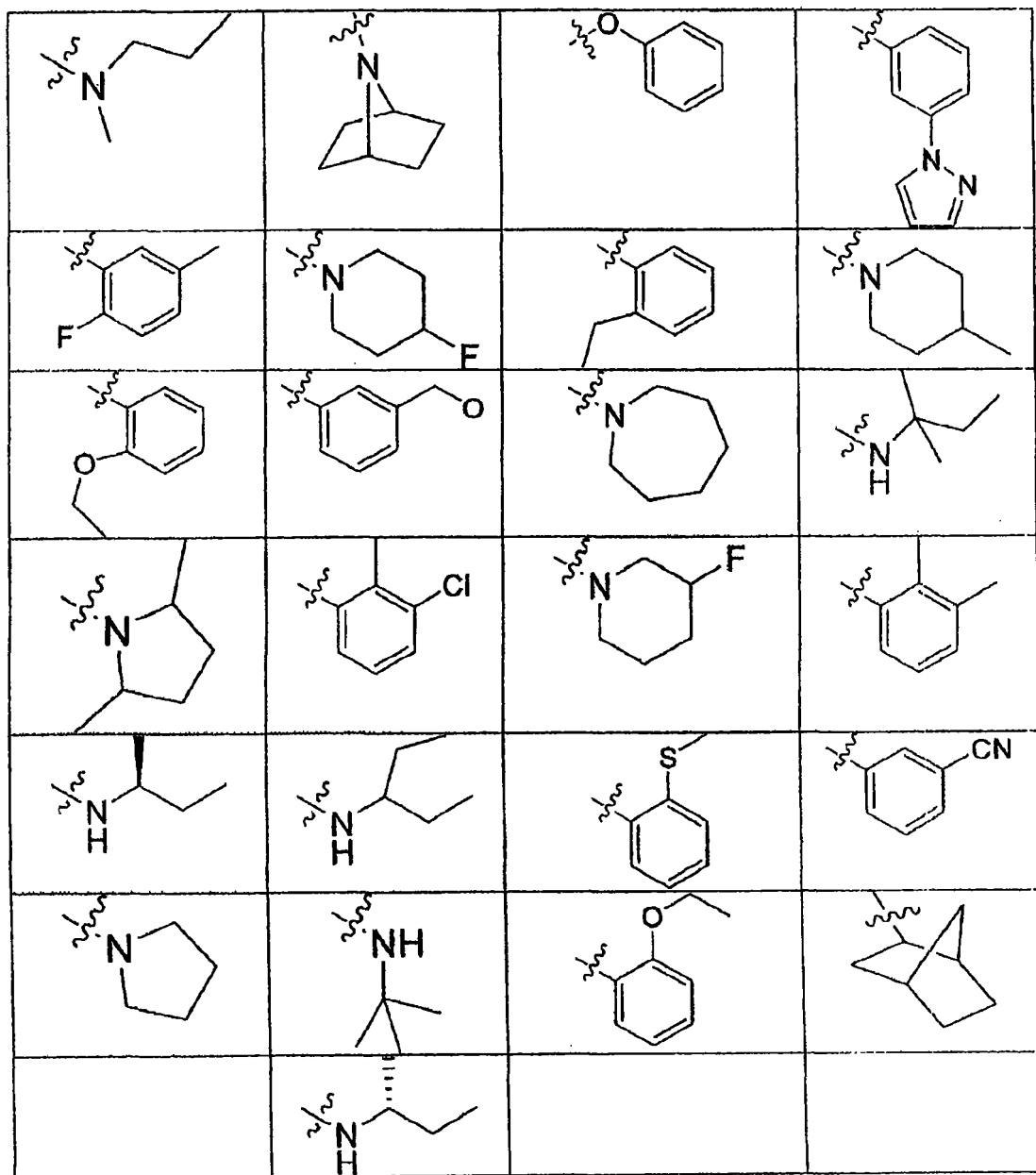
[0018] 其中 X 是 H, Y 选自：

[0019]

[0020]

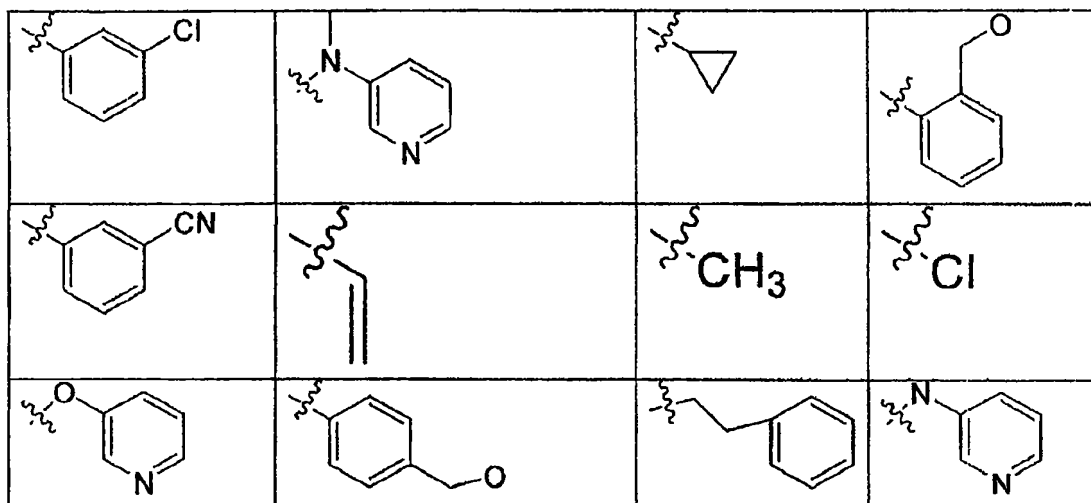


[0021]



[0022] 或其中 Y 是 H, X 选自 :

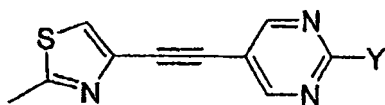
[0023]



[0024] 其中所述化合物不包含放射性同位素。

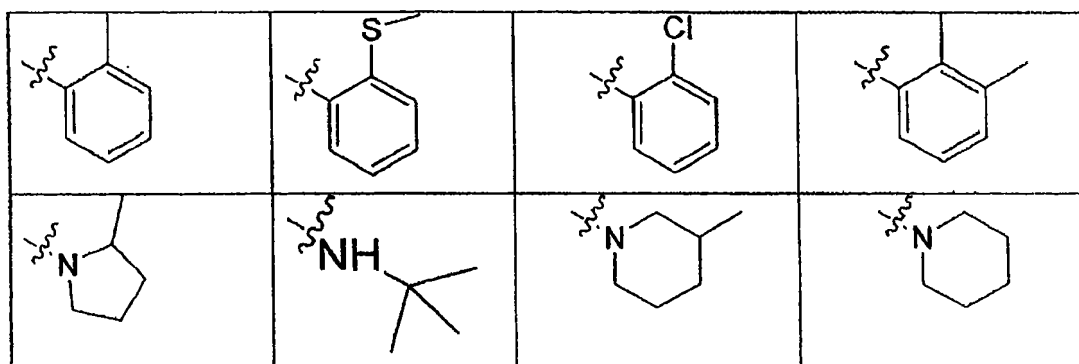
[0025] 根据本发明,也提供下式化合物和其药物可接受盐:

[0026]

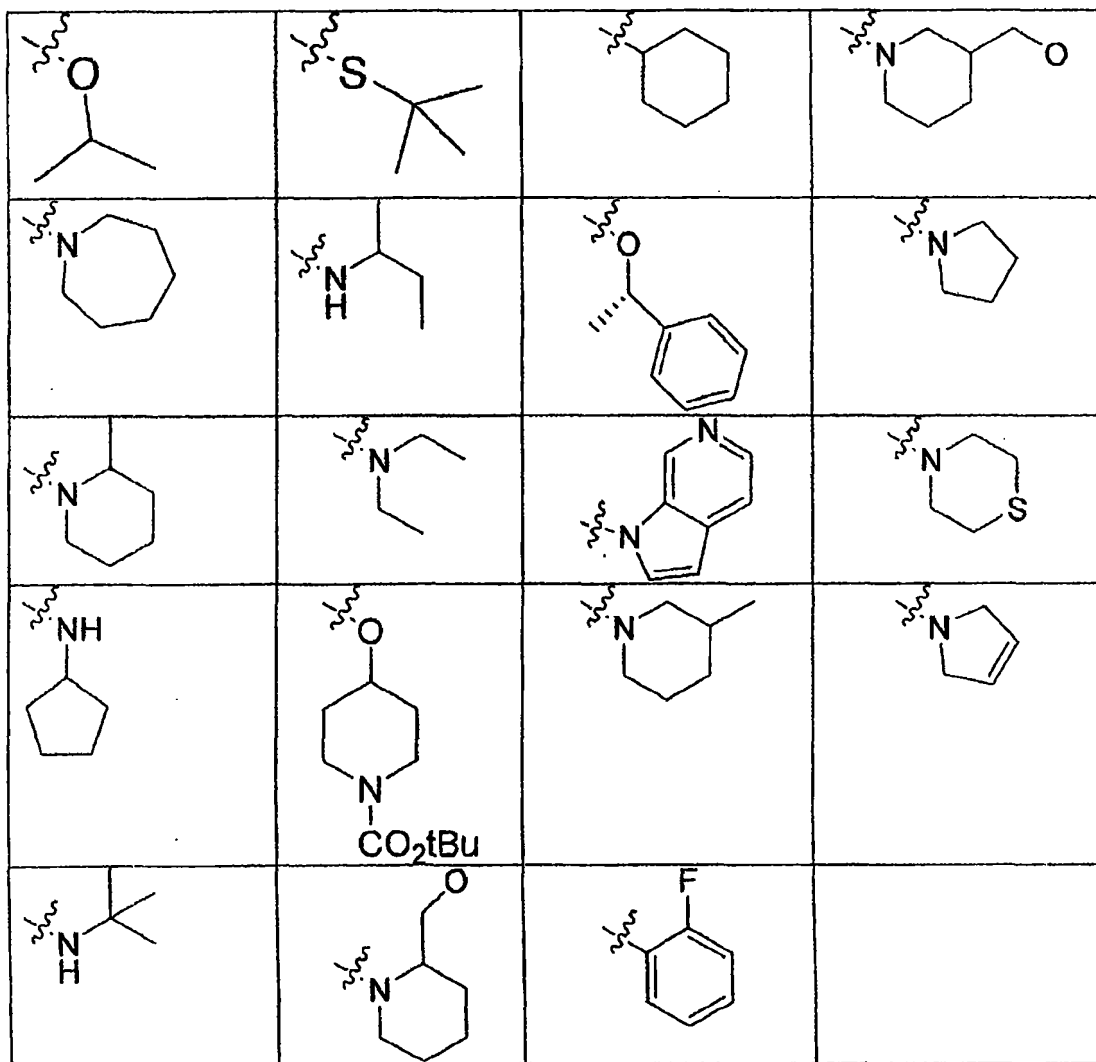


[0027] 其中 Y 选自:

[0028]



[0029]



[0030] 其中所述化合物不包含放射性同位素。

[0031] 本文使用的“烷基”指有 1-12 个碳原子的直链或支链烷基；“取代烷基”指带有一个或多个取代基的烷基，取代基例如羟基、烷氧基、巯基、芳基、杂环、卤素、三氟甲基、五氟乙基、氰基、氰基甲基、硝基、氨基、酰胺、脒、酰氨基、羧基、甲酰胺基、氨基甲酸酯、酯、磺酰基、氨基磺酰基等。

[0032] 本文使用的“卤素”指氟、氯、溴或碘基团。

[0033] 本领域技术人员可认识到，本发明化合物可含有一个或多个手性中心，因此可以外消旋混合物存在。对很多应用来说，优选进行立体选择性合成和 / 或进行合适的反应产物纯化步骤，以产生基本光学纯的原料。生产光学纯原料的合适立体选择性合成方法以及将消旋混合物纯化为光学纯级分的方法对本领域技术人员是熟知的。本领域技术人员可进一步认识到本发明化合物可以以多晶型存在，其中化合物可结晶为不同形式。合适的鉴定和分离多晶型的方法对本领域技术人员是已知的。

[0034] 根据本发明的另一个实施方案，提供包含上述杂环化合物和药物可接受载体的药物组合物。任选地，本发明化合物可转化为无毒酸加成盐，这依赖于其上的取代基。因此，

上述化合物（任选与药物可接受载体结合）可用来制备治疗各种指征的药物。

[0035] 用于实施本发明的药物可接受载体包括适合口服、舌下静脉、皮下、透皮、肌肉、皮内、鞘内、硬膜外、眼内、颅内、吸入、直肠、阴道等给药途径的载体。预期以乳膏、洗剂、片剂、胶囊、丸剂、分散剂、颗粒剂、栓剂、糖浆剂、酏剂、锭剂、可注射溶液、无菌水溶液或非水溶液、混悬液或乳剂、贴剂等形式给药。药物可接受载体包括葡萄糖、乳糖、阿拉伯胶、明胶、甘露醇、淀粉糊、三硅酸镁、滑石粉、玉米淀粉、角蛋白、胶体硅、土豆淀粉、尿素、葡聚糖等。

[0036] 本发明化合物可任选转换为无毒酸加成盐。这种盐一般通过使本发明化合物与合适的有机或无机酸反应来制备。代表性的盐包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、甲磺酸盐、醋酸盐、草酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、戊酸盐、油酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、反丁烯二酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、萘磺酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、苯磺酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、庚酸盐、己酸盐、十一酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乙磺酸盐等。盐也可以使用无机酸形成，例如硫酸盐、硫酸氢盐、半硫酸盐、盐酸盐、氯酸盐、高氯酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等。碱盐实例包括铵盐；碱金属盐例如钠盐、钾盐等；碱土金属盐例如钙盐、镁盐等；有机碱盐例如二环己基胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺、苯乙胺等；氨基酸盐例如精氨酸、赖氨酸盐等。这种盐可使用本领域技术人员熟知的方法容易地制备。

[0037] 根据本发明另外一个实施方案，提供了调节兴奋性氨基酸受体活性的方法，所述方法包括使所述受体与至少一种上述化合物接触。因此，预期用于本发明调节方法的化合物包括具有 A-L¹-B-L²-Z 结构（如以上和本文中的描述）的化合物或其对映异构体、非对映异构体或任何两种或更多种的混合物，或其药物可接受盐，其量足以调节所述兴奋性氨基酸受体的活性。

[0038] 本文使用的“兴奋性氨基酸受体”指一类细胞表面受体，该受体是中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质受体。另外，这种受体也介导抑制效应。兴奋性氨基酸受体是跨膜蛋白，介导氨基酸谷氨酸和可能的其它内源性氨基酸的刺激反应。兴奋性氨基酸对快和慢的神经传递至关重要，它们已经在各种疾病包括阿尔茨海默病、中风、精神分裂症、脑外伤、癫痫等中阐明。另外，兴奋性氨基酸对长时程增强和抑郁过程是不可缺少的，该过程是学习和记忆的基础突触机制。兴奋性氨基酸受体有三种主要亚型：(1) 代谢型受体；(2) 离子型 NMDA 受体；和 (3) 非 NMDA 受体，包括 AMPA 受体和谷氨酸受体。

[0039] 本文使用的“活性调节”指改变活性水平，使得和不使用本发明方法的活性比较时使用本发明方法的活性不同。调节兴奋性氨基酸受体的活性包括抑制或增强受体活性。抑制受体活性可通过各种方法完成，包括封闭配体结合位点、生物化学和/或生理-化学调节配体结合位点、结合激动剂识别区域、阻止受体中配体激活的构象变化、阻止激活的受体刺激第二信使例如 G 蛋白等。增强受体活性可通过各种方法完成，包括稳定配体结合位点、生物化学和/或生理-化学调节配体结合位点、结合激动剂识别区域、增强受体中配体激活的构象变化等。

[0040] 兴奋性氨基酸受体活性可涉及很多疾病状态。因此调节受体活性也指各种治疗学应用，例如治疗脑缺血、慢性神经变性、精神障碍、精神分裂症、心境障碍、锥体外系运动原功能失调、肥胖症、呼吸障碍、运动原控制和功能障碍、注意力缺陷障碍、注意力障碍、疼痛

症、神经变性障碍、癫痫、惊厥性疾病、进食障碍、睡眠障碍、性功能障碍、昼夜节律障碍、戒毒、药物成瘾、强迫性障碍、焦虑、恐惧症、抑郁症、皮肤疾病、视网膜缺血、视网膜变性、青光眼、器官移植有关的疾病、哮喘、缺血和星形细胞瘤等。

[0041] 预期用于本发明调节方法的化合物尤其用于治疗心境障碍例如焦虑、抑郁、精神病、戒毒、戒烟、记忆丧失、认知缺损、痴呆、阿尔茨海默病等；锥体外系运动原功能失调例如帕金森病、进行性肌肉上麻痹 (progressive supramuscular palsy)、亨廷顿病、吉累斯-德拉图雷特综合征、迟发性运动障碍等。

[0042] 预期用于本发明的化合物也尤其用于治疗疼痛例如神经性疼痛、慢性疼痛、急性疼痛、疼痛性糖尿病神经病变、疱疹后神经痛、癌症相关疼痛、化疗疼痛、与脊髓损伤相关的疼痛、与多发性硬化症相关的疼痛、灼痛和交感反射性营养不良、幻痛、中风后（中枢）疼痛、HIV 或 AIDS 相关的疼痛、三叉神经痛、下腰痛、肌筋膜病症、偏头痛、骨关节炎疼痛、术后痛、牙痛、烧伤后疼痛、全身性红斑狼疮相关的疼痛、受压性神经病变、疼痛性多发性神经病、眼痛、炎症相关的疼痛、组织损伤痛等。

[0043] 而且，预期用于本发明的化合物尤其用于治疗脑缺血、慢性神经变性、精神障碍、精神分裂症、心境障碍、情绪失常、锥体外系运动原功能失调、肥胖症、呼吸疾病、运动原控制和功能障碍、注意力缺陷障碍、注意力障碍、疼痛症、神经变性障碍、癫痫、惊厥性疾病、进食障碍、睡眠障碍、性功能障碍、昼夜节律障碍、戒毒、药物成瘾、强迫性障碍、焦虑、恐惧症、抑郁症、皮肤疾病、视网膜缺血、视网膜变性、青光眼、器官移植有关的疾病、哮喘、缺血和星形细胞瘤。本发明进一步公开了预防病症的方法，所述病症涉及呼吸系统疾病、神经系统疾病、心血管系统疾病、智力低下（包括脆性 X 染色体综合征相关的智力低下）、胃肠道系统疾病例如胃食管反流病和肠易激综合征、内分泌系统疾病、外分泌系统疾病、皮肤疾病、癌症和眼系统疾病。

[0044] “接触”可包括在溶液或固相中接触。

[0045] “药物可接受盐”指用于治疗的化合物的盐，其拥有所需的药理学活性，是生理学合适的。该盐可用有机酸制备，例如醋酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、庚酸盐、己酸盐、2-羟基乙烷磺酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、十一酸盐等。该盐也可用无机酸制备，例如硫酸盐、硫酸氢盐、氯盐、高氯酸盐、半硫酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等。另外，该盐可用碱式盐形成，包括 22 铝盐、碱金属盐例如钠盐、钾盐等；碱土金属盐例如钙盐、镁盐等；与有机碱例如二环己基胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺、苯乙胺等的盐；与氨基酸例如精氨酸、赖氨酸的盐等。

[0046] 发现本发明化合物的盐形式有几种优点。本文所述的杂环化合物的某些药物可接受盐形式与非盐形式相比达到较高的溶解性。另外，某些盐形式更适合药物用途。例如，2-(苯乙基)-1,3-噻唑的盐酸盐是油，而 2-(苯乙基)-1,3-噻唑的甲苯磺酸盐形式是固体，可溶于液体介质。化合物盐形式的特征依赖于治疗化合物的特性，和具体所用的盐。

[0047] 根据本发明另一个实施方案，提供了调节代谢型谷氨酸受体活性的方法，所述方法包括根据本发明调节兴奋性氨基酸受体活性的方法，使代谢型谷氨酸受体与一定浓度的上述杂环化合物接触，该浓度足调节所述代谢型谷氨酸受体的活性。

[0048] 本文使用的“代谢型谷氨酸受体”指一类细胞表面受体,该受体参与细胞对谷氨酸能配体的 G 蛋白偶联反应。目前已知以氨基酸序列同源性、转导机制和结合选择性为基础鉴别的三组代谢型谷氨酸受体,每种包含一种或多种受体类型。例如,I 组包括代谢型谷氨酸受体 1 和 5(mGluR1 和 mGluR5),II 组包括代谢型谷氨酸受体 2 和 3(mGluR2 和 mGluR3),III 组包括代谢型谷氨酸受体 4、6、7 和 8(mGluR4、mGluR6、mGluR7 和 mGluR8)。可发现每种 mGluR 类型的几种亚型;例如 mGluR1 的亚型包括 mGluR1a、mGluR1b 和 mGluR1c。

[0049] 根据本发明另外一个实施方案,提供了治疗各种疾病状态的方法,所述方法包括根据本发明调节兴奋性氨基酸受体活性的方法,给予患有疾病的患者治疗有效量的至少一种上述杂环化合物。

[0050] 本文使用的“治疗”指抑制或阻止疾病、障碍或病症的发展,和/或导致减轻、缓解或逆转疾病、障碍或病症。本领域技术人员可理解,各种方法和检测可用于评估疾病、障碍或病症的发展,同样地,各种方法和检测可用于评估疾病、障碍或病症的减轻、缓解或逆转。

[0051] 预期根据本发明治疗的疾病状态包括脑缺血、慢性神经变性、精神障碍、精神分裂症、心境障碍、情绪失常、锥体外系运动原功能失调、肥胖症、呼吸障碍、运动原控制和功能障碍、注意力缺陷障碍、注意力障碍、疼痛、神经变性、癫痫、惊厥性疾病、进食障碍、睡眠障碍、性功能障碍、昼夜节律障碍、戒毒、药物成瘾、强迫性障碍、焦虑、恐惧症、抑郁症、皮肤疾病、视网膜缺血、视网膜变性、青光眼、器官移植有关的疾病、哮喘、缺血和星形细胞瘤。

[0052] 预期根据本发明治疗的疾病状态进一步包括呼吸系统疾病、神经系统疾病、心血管系统疾病、消化系统疾病、内分泌系统疾病、外分泌系统疾病、皮肤疾病、癌症和眼系统疾病等。

[0053] 本文使用的“给予”指提供给患者本文描述的杂环化合物和/或其盐;使用口服、舌下静脉、皮下、透皮、肌内、皮内、鞘内、硬膜外、眼内、颅内、吸入、直肠、阴道等给药方法。预期以乳膏、洗剂、片剂、胶囊、丸剂、分散剂、颗粒剂、栓剂、糖浆剂、酞剂、锭剂、可注射溶液、无菌水溶液或非水溶液、混悬液或乳剂、贴剂等的形式给予。活性成分可与无毒药物可接受载体组合,包括葡萄糖、乳糖、阿拉伯胶、明胶、甘露醇、淀粉糊、三硅酸镁、滑石粉、玉米淀粉、角蛋白、胶体硅、土豆淀粉、尿素、葡聚糖等。

[0054] 对于口服给药的目的,可使用包含各种赋形剂如碳酸钙、乳糖、磷酸钙、磷酸钠等的片剂、胶囊、含片、水或油混悬液、可分散粉末或颗粒、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆剂、酞剂和锭剂,赋形剂可与各种造粒剂和崩解剂例如玉米淀粉、土豆淀粉、海藻酸等,以及粘合剂例如西黄蓍胶、玉米淀粉、明胶、阿拉伯胶等一起使用。也可加入润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸、滑石粉等。意图口服使用的制剂可按照药物制剂制造领域已知的任何方法制备,这种制剂可包含一种或多种选自甜味剂(例如蔗糖、乳糖、糖精等)、矫味剂(例如薄荷、冬青油等)、着色剂和保护剂的物质,以提供药学上可口的制剂。

[0055] 口服使用的制剂也可包含合适的载体,包括乳剂、溶液、混悬液、糖浆等,任选包含添加剂例如润湿剂、乳化剂、混悬剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂等。片剂可无包衣,或它们以已知技术包衣来延迟在胃肠道中的崩解和吸收,由此在更长时间内提供持续作用。

[0056] 对于胃肠外给药的液体制剂,合适的载体包括无菌水溶液或非水溶液、混悬液或乳剂。对于胃肠外给药,用于实施本发明的溶液可包括无菌盐水溶液,或相应水可溶性药物可接受金属盐溶液,如前所述。对于胃肠外给药,用于实施本发明的化合物溶液也可包括非

水溶液、混悬剂、乳剂等。非水溶剂或载体的实例为丙二醇、聚乙二醇、植物油例如橄榄油和玉米油、明胶和可注射有机酯例如油酸乙酯。这种剂型也可包含辅料例如保护剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。它们可灭菌,例如,通过细菌阻隔滤膜过滤、加入灭菌剂到组合物中、辐射照射组合物或加热组合物。它们也可以无菌水或某些其它无菌可注射介质的形式临用前制备。

[0057] 水溶液也可适合用于静脉、肌内、鞘内、皮下和腹腔注射。所使用的无菌含水介质可通过本领域技术人员已知的标准技术容易地得到。介质可以灭菌,例如,通过细菌阻隔滤膜过滤、加入灭菌剂到组合物中、辐射组合物、加热组合物等。它们也可以无菌水或某些其它无菌注射介质的形式临用前制备。

[0058] 预期用于本发明的化合物可以栓剂的形式直肠或阴道给予。这些组合物可以通过混合药物和合适的非刺激性赋形剂来制备,赋形剂例如为可可豆脂、合成的聚乙二醇甘油酯等,这种原料在环境温度时为固体,而在腔内时液化和 / 或溶解以释放药物。

[0059] 用于接种的优选治疗组合物和剂量随临床适应症而不同。某些剂量改变必须取决于待治疗患者的状态,在任何情况下,医生将决定个体患者的合适剂量。除其它外,每单位剂量化合物的有效量取决于体重、生理和选择的接种方案。化合物单位剂量指化合物重量,不包括载体重量(当使用载体时)。

[0060] 用于实施本发明的传递化合物和组合物的途径取决于疾病和需要治疗的位置。由于本文所描述的化合物和组合物的药代动力学和药效动力学在某种程度上不同,在组织中达到治疗浓度的最优选方法是逐步增加剂量和监测临床疗效。对于这种逐步增加剂量的治疗方法,起始剂量将依赖于给药途径。

[0061] 根据本发明方法,药物制剂可以任何药物形式或组合物形式胃肠外引入、通过皮肤应用等。它可作为单独的药物使用,或其它药物制剂组合使用。单一或多治疗剂量方案可用于治疗方案。

[0062] 本文使用的短语“治疗有效量”在指使用杂环化合物和其药物可接受盐的本发明方法时,指提供足够高的循环浓度以赋予其接受者有益作用的化合物剂量。任何具体患者的具体治疗有效量水平将依赖于各种因素,包括所治疗的疾病、疾病程度、具体使用化合物的活性、给药途径、具体化合物的清除速率、疗程、具体化合物联合或一致使用的药物、患者的年龄、体重、性别、饮食和一般健康等医疗和科学领域技术人员熟知的因素。剂量水平一般在约 0.001-100mg/kg/ 天的范围内,优选在约 0.05-10mg/kg/ 天的范围内。

[0063] 在本发明再另一个实施方案中,提供了在具有疾病状态风险的患者中预防该疾病的方法,所述方法包括根据本发明调节兴奋性氨基酸受体活性的方法,给予所述患者治疗有效量的至少一种上述杂环化合物。

[0064] 本文使用的短语“预防疾病状态”指预防患者发生的疾病、障碍或病症,该患者有患此疾病的风险,但还未诊断为已患此疾病。本领域技术人员理解,各种方法可用于确定患者患病风险,患者是否有患病风险取决于各种本领域技术人员已知的因素,包括患者的遗传组成、年龄、体重、性别、饮食、一般健康、职业、暴露的环境条件、婚姻状况等。

[0065] 本领域技术人员可容易地鉴别各种测定,这些测定可用于评估兴奋性氨基酸受体的活性。对激活第二信使途径的受体种类,测量细胞内第二信使的受体激活改变的测定可用于监测受体活性。例如, G 蛋白偶联代谢型谷氨酸受体的抑制使用放射性配体结合测定

(见实施例 109)

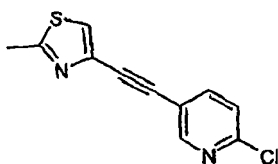
[0066] 同样地,导致胞内钙释放或细胞内钙浓度变化的兴奋性氨基酸受体激活也可用于评估兴奋性氨基酸受体的活性。检测胞内钙浓度瞬时增加的方法是本领域技术人员已知的(见例如 Ito 等, J. Neurochem. 56 :531-540 (1991) 和实施例 108)。G 蛋白偶联受体也可偶联到其它第二信使系统,例如磷脂酰肌醇水解(见例如 Berridge 等, (1982) Biochem. J. 206 : 587-5950 ;和 Nakajima 等, J. Biol. Chem. 267 :2437-2442 (1992) 和实施例 110)。

[0067] 以下实施例意在说明而不是以任何方式、形状或形式限制本发明,无论明示或暗示。虽然它们是可能用到的程序、方法或技术中典型的,可替代性使用其它本领域技术人员已知的程序、方法或技术。

[0068] 中间体 1

[0069] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0070]



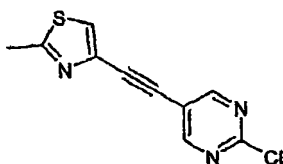
[0071] 在室温下,将 2-氯-5-碘吡啶 (40mmol, 10.0g)、2-甲基-4-[(三甲基甲硅烷基)乙炔基]-1,3-噻唑 (40mmol, 7.8g)、二氯化二(三苯基膦)合钼(II) (2mmol, 1.4g)、碘化铜(I) (4mmol, 760mg) 和三乙胺 (200mmol, 28mL) 加入到脱氧的 DMF (200mL) 中。反应加热到 60℃,通过注射器逐滴加入氟化四丁铵 (40mmol, 40mL 1.0M 四氢呋喃溶液)。持续搅拌 2.5 小时,反应物倒入分液漏斗,以 1:1 己烷:乙酸乙酯 (1000mL) 和水 (500mL) 分配。有机层以 5% NaCl 分 5 次洗涤(每次 250mL)。合并的水层以 1:1 己烷:乙酸乙酯 (500mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥,过滤,在真空下浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上色谱分离,用 1:1 乙酸乙酯:己烷洗脱,得到 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶的棕褐色固体。

[0072] ¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 8.57 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.32 (d, 1H), 2.75 (s, 3H). MS (ESI) 235.2 (M+H⁺).

[0073] 中间体 2

[0074] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0075]



[0076] 2-氯-5-溴嘧啶 (5.0g, 26mmol)、2-甲基-4-乙炔基-1,3-噻唑 (3.2g, 26mmol)、四(三苯基膦)合钼(0) (0.6g, 0.5mmol)、碘化铜(I) (0.1g, 0.5mmol) 和三乙胺 (13g, 130mmol) 在室温下加入到脱氧的甲苯 (50mL) 中。反应加热到 60℃。持续搅拌 2.5 小时,反应物倒入分液漏斗,以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (100mL) 分配。有机层以水洗涤 2 次(每次 250mL)。有机层以硫酸镁干燥,过滤,在真空下浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上色谱分离,以 1:1 乙酸乙酯:己烷洗脱,得到 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶的棕褐色

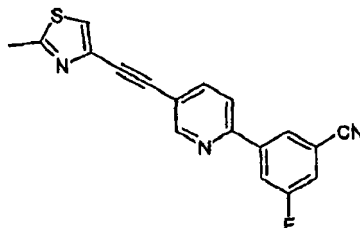
色固体。

[0077] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 300\text{MHz}) \delta$ 8.78 (s, 2H), 7.52 (s, 1H), 2.78 (s, 3H).

[0078] 实施例 1

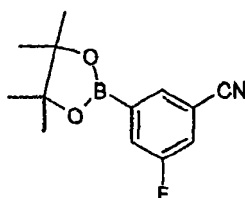
[0079] 3-氟-5-{5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶-2-基}苕腈

[0080]



[0081] 步骤 1: 3-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二杂氧戊硼烷-2-基)苕腈

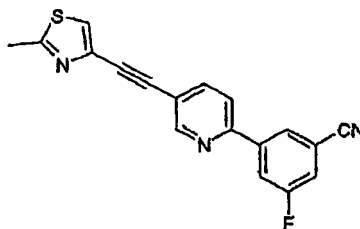
[0082]



[0083] 3-溴-5-氟苕腈 (30.0mmol, 9.23g)、二硼酸频哪醇酯 (30.0mmol, 7.62g)、 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (1:1 与二氯甲烷复合, 1.2mmol, 980mg) 和醋酸钾 (105mmol, 10.3g) 合并并在脱氧的二氧杂环己烷 (150mL) 中, 80°C 加热 4 小时, 以 GC/MS 分析确定反应完全。反应冷却到室温, 倒入装有乙酸乙酯 (300mL) 和水 (200mL) 的分液漏斗中。水层以乙酸乙酯 (75mL) 返提, 合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 在真空下浓缩。粗残留物进行下一步, 而不进一步纯化或鉴定。

[0084] 步骤 2: 3-氟-5-{5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶-2-基}苕腈

[0085]



[0086] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (30mmol, 7.02g)、3-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二杂氧戊硼烷-2-基)苕腈 (30mmol, 粗原料, 上述方法)、二氯化二(三苯基膦)合钯(II) (1.5mmol, 1.05g) 和碳酸钾 (120mmol, 16.6g) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 300mL) 中。反应加热到 80°C , 氮气下搅拌过夜, 然后在分液漏斗中用乙酸乙酯 (500mL) 和水 (300mL) 分配。有机层另外以水 (100mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (100mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 在真空下浓缩。粗残留物在 SiO_2 上色谱分离, 以 30% 乙酸乙酯 / 己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体。

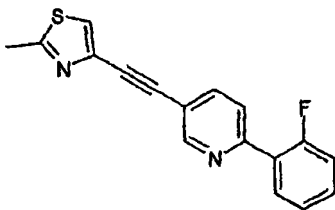
[0087] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz}) \delta$ 8.89 (m, 1H), 8.17 (dd, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.98 (dd, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.42 (m, 1H), 2.79 (s, 3H). MS (ESI) 320.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0088] 将 3- 氟 -5-[5-(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶 -2- 基} 苄腈溶于二氯甲烷中, 逐滴加入等摩尔量的盐酸醚溶液。真空挥发溶剂, 产生白色固体。MS (ESI) 320.0 (M+H⁺)。

[0089] 实施例 2

[0090] 2-(2- 氟苯基)-5-[(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶

[0091]



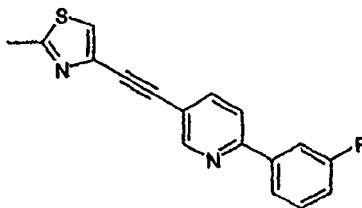
[0092] 2- 氯 -5-[(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶 (0.43mmol, 100mg)、2- 氟苯基硼酸 (0.47mmol, 66mg)、二氯化二 (三苯基膦) 合钯 (II) (0.03mmol, 18mg) 和碳酸钾 (1.72mmol, 238mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 3mL) 中。反应物通过微波辐射在 150℃ 加热 5 分钟, 然后以分液漏斗中用乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 在真空下浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上色谱分离, 以 10-40% 梯度的乙酸乙酯 / 己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

[0093] ¹H-NMR (CD₃OD, 500MHz) δ 9.13 (s, 1H), 8.69 (d, 1H), 8.30 (d, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.84 (dd, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.42-7.53 (m, 2H), 2.83 (s, 3H). MS (ESI) 295.13 (M+H⁺).

[0094] 实施例 3

[0095] 2-(3- 氟苯基)-5-[(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶

[0096]



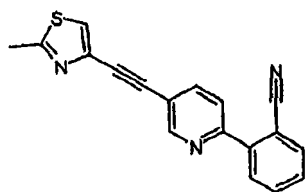
[0097] 2- 氯 -5-[(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶 (0.43mmol, 100mg)、3- 氟苯基硼酸 (0.47mmol, 66mg)、二氯化二 (三苯基膦) 合钯 (II) (0.03mmol, 18mg) 和碳酸钾 (1.72mmol, 238mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 3mL) 中。反应通过微波辐射在 150℃ 加热 5 分钟, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上色谱分离, 以 10-40% 乙酸乙酯梯度的己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中以盐酸盐沉淀。

[0098] ¹H-NMR (CD₃OD, 500MHz) δ 8.99 (s, 1H), 8.58 (d, 1H), 8.28 (d, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.74 (m, 2H), 7.60 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 2.73 (s, 3H). MS (ESI) 295.13 (M+H⁺).

[0099] 实施例 4

[0100] 2-{5-[(2- 甲基 -1,3- 噻唑 -4- 基) 乙炔基] 吡啶 -2- 基} 苄腈

[0101]

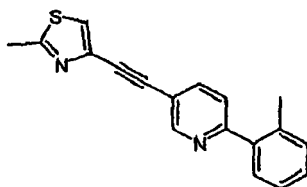


[0102] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg)、2-氰基苯基硼酸 (1.2mmol, 176mg)、二氯化二(三苯基膦)合钯(II) (0.05mmol, 35mg) 和碳酸钾 (3.5mmol, 500mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 5mL) 中。反应通过微波辐射在 150℃ 加热 5 分钟, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上色谱分离, 以 0-60% 梯度的乙酸乙酯 / 己烷洗脱, 得到标题化合物的白色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。MS (ESI) 301.4 (M+H⁺)。

[0103] 实施例 5

[0104] 2-(2-甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0105]



[0106] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg)、2-甲基苯基硼酸 (2.0mmol, 272mg)、二氯化二(三苯基膦)合钯(II) (0.05mmol, 35mg) 和碳酸钾 (3.5mmol, 500mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 5mL) 中。反应在 80℃ 加热 18 小时, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在上 SiO₂ 色谱分离, 以 0-60% 梯度的乙酸乙酯 / 己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

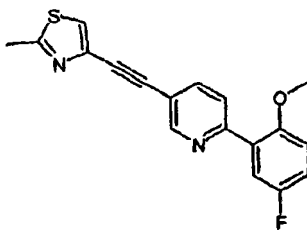
[0107]

¹H-NMR (CD₃OD, 500MHz) δ 9.14 (s, 1H), 8.76 (d, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.44-7.61 (m, 4H), 2.76 (s, 3H), 2.26 (s, 3H). MS (ESI) 291.2 (M+H⁺).

[0108] 实施例 6

[0109] 2-(5-氟-2-甲氧苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0110]



[0111] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg)、2-甲氧基-5-氟苯基硼酸 (2.0mmol, 340mg)、二氯化二(三苯基膦)合钯(II) (0.05mmol, 35mg) 和

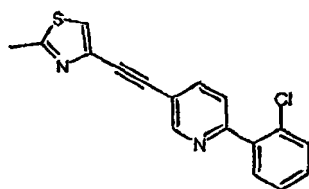
碳酸钾 (3.5mmol, 500mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 5mL) 中。反应在 80℃ 加热 18 小时, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO_2 上色谱分离, 以 0-60% 乙酸乙酯梯度的己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

[0112] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz) δ 9.08 (s, 1H), 8.73 (d, 1H), 8.34 (d, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 2.77 (s, 3H), MS (ESI) 325.4 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0113] 实施例 7

[0114] 2-(2-氯苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0115]



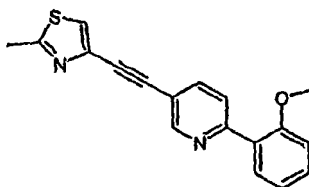
[0116] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg)、2-甲氧基-5-氟苯基硼酸 (2.0mmol, 312mg)、二氯化二(三苯基膦)合钯 (II) (0.05mmol, 35mg) 和碳酸钾 (3.5mmol, 500mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 5mL) 中。反应在 80℃ 加热 18 小时, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO_2 上色谱分离, 以 0-60% 乙酸乙酯梯度的己烷洗脱, 得到标题化合物的棕褐色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

[0117] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz) δ 9.15 (s, 1H), 8.73 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.57-7.69 (m, 3H), 7.59 (m, 1H), 2.77 (s, 3H). MS (ESI) 310.9 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0118] 实施例 8

[0119] 2-(2-甲氧苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0120]



[0121] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg)、2-甲氧基苯基硼酸 (2.0mmol, 304mg)、二氯化二(三苯基膦)合钯 (II) (0.05mmol, 35mg) 和碳酸钾 (3.5mmol, 500mg) 在室温下加入到脱氧的 DME: 水 (1:1, 5mL) 中。反应在 80℃ 加热 18 小时, 然后在分液漏斗中以乙酸乙酯 (100mL) 和水 (30mL) 分配。有机层另外以水 (20mL) 洗涤, 合并的水层以乙酸乙酯 (50mL) 返提。合并的有机层以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO_2 上色谱分离, 以 0-60% 乙酸乙酯梯度的己烷洗脱, 得到标题化合物的浅黄色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

[0122] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz) δ 9.02 (s, 1H), 8.73 (d, 1H), 8.34 (d, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.68-7.77 (m, 2H), 7.32 (d, 1H), 7.24 (dd, 1H), 3.99 (s, 3H), 2.77 (s, 3H).

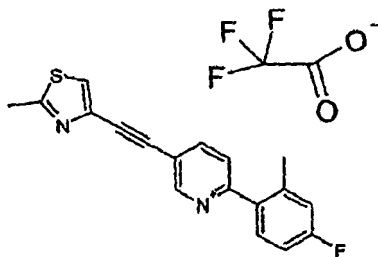
MS (ESI) 307.2 ($M+H^+$).

[0123] 用实施例 8 中描述的制备 2-(2-甲氧苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶的类似方法,制备下列化合物:

[0124] 实施例 9

[0125] 三氟乙酸 2-(4-氟-2-甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶鎓

[0126]

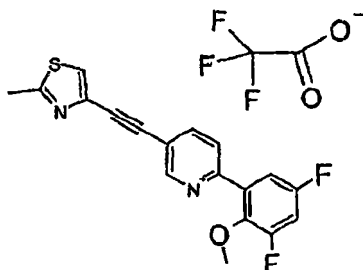


[0127] MS (ESI) 310 ($M+H^+$).

[0128] 实施例 10

[0129] 三氟乙酸 2-(3,5-二氟-2-甲氧基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶鎓

[0130]

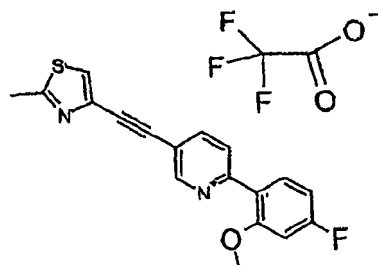


[0131] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz). 8.71 (m, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.98 (m, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.12 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.80 (s, 3H). MS (ESI) 343 ($M+H^+$).

[0132] 实施例 11

[0133] 三氟乙酸 2-(4-氟-2-甲氧苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶鎓

[0134]



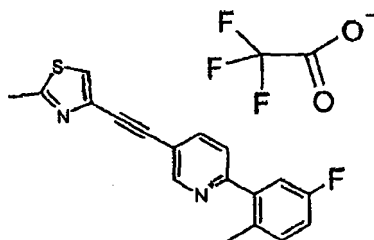
[0135] MS (ESI) 326 ($M+H^+$).

[0136] 实施例 12

[0137] 三氟乙酸 2-(5-氟-2-甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡

啉鎓

[0138]

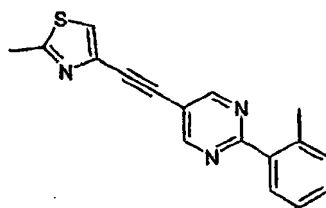


[0139] MS (ESI) 309 (M+H⁺) 。

[0140] 实施例 13

[0141] 2-(2-甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0142]



[0143] 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶 (200mg, 0.85mmol)、2-甲基苯基硼酸 (250mg, 1.7mmol)、Pd₂dba₃ (20mg, 0.021mmol)、[2'-(二环己基膦)联苯-2-基]二甲胺 (15mg, 0.038mmol) 和氟化钠 (1.72mmol, 238mg) 加入到脱氧的二氧化杂环己烷 (3mL) 中。反应在 100°C 加热 4 小时。粗反应物在 HPLC (C18 柱) 上进行色谱。

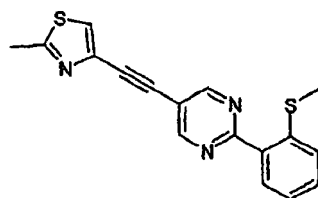
[0144] ¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 8.96 (s, 2H), 8.15 (d, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.3-7.4 (m, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.62 (s, 3H). MS (ESI) 292.02 (M+H⁺) 。

[0145] 使用实施例 13 中所述的制备 2-(2-甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶的类似方法, 制备以下化合物:

[0146] 实施例 14

[0147] 5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]-2-[2-(甲硫基)苯基]嘧啶

[0148]

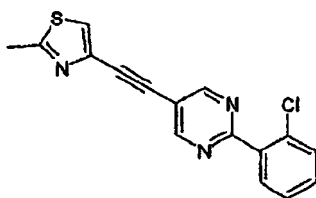


[0149] ¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 9.0 (s, 2H), 7.89 (d, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.1-7.3 (m, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.49 (s, 3H). MS (ESI) 323.90 (M+H⁺) 。

[0150] 实施例 15

[0151] 2-(2-氯苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0152]

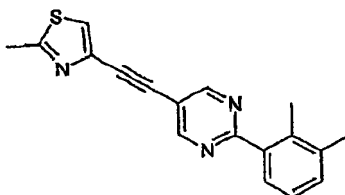


[0153] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz}) \delta 9.0 (\text{s}, 2\text{H}), 7.81 (\text{d}, 1\text{H}), 7.3-7.5 (\text{m}, 4\text{H}), 2.78 (\text{s}, 3\text{H})$.
MS (ESI) 311.88 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0154] 实施例 16

[0155] 2-(2,3-二甲基苯基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0156]

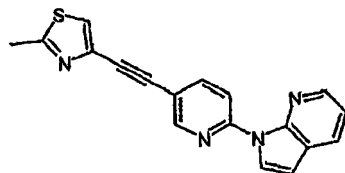


[0157] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz}) \delta 9.0 (\text{s}, 2\text{H}), 7.81 (\text{d}, 1\text{H}), 7.1-7.5 (\text{m}, 4\text{H}), 2.78 (\text{s}, 3\text{H}), 2.4 (\text{s}, 6\text{H})$. MS (ESI) 305.95 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0158] 实施例 17

[0159] 1-{5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶-2-基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0160]



[0161] 60°C 下向搅拌的 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (2.0mmol, 236mg) 的 DMF 溶液 (20mL) 中加入 NaH (2.5mmol, 100mg, 60% wt 分散于矿物油中)。30 分钟后, 加入 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (0.5mmol, 117mg), 反应加热至 75°C , 氮气下搅拌过夜。反应物以乙酸乙酯: 己烷 (1:1, 100mL) 和水 (50mL) 分配。有机层以 5% NaCl (4X50mL) 洗涤, 然后以硫酸镁干燥, 过滤, 真空下浓缩。粗残留物在 SiO_2 上色谱分离, 以 3% MeOH/DCM 洗脱, 得到标题化合物的白色固体, 该固体溶于醚, 在 1N 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

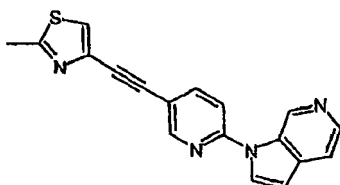
[0162]

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 500\text{MHz}) \delta 8.88 (\text{m}, 2\text{H}), 8.65 (\text{d}, 1\text{H}), 8.54 (\text{d}, 1\text{H}), 8.30 (\text{dd}, 1\text{H}), 8.05 (\text{d}, 1\text{H}), 7.94 (\text{s}, 1\text{H}), 7.83 (\text{dd}, 1\text{H}), 7.24 (\text{d}, 1\text{H}), 2.82 (\text{s}, 3\text{H})$. MS (ESI) 317.4 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0163] 实施例 18

[0164] 1-{5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶-2-基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶

[0165]



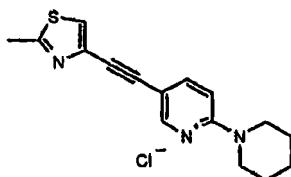
[0166] 氢溴酸 6-氮杂吲哚 (198mg, 1.0mmol)、2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (1.0mmol, 234mg) 和碳酸铯 (3.2mmol, 1.04g) 合并于 DMF (15mL) 中, 120℃ 加热 18 小时。反应冷却至室温, 在分液漏斗中以 1:1 己烷:乙酸乙酯 (100mL) 和水 (50mL) 分配。有机层以 5% NaCl (4x25mL) 洗涤, 然后以硫酸镁干燥, 过滤, 真空浓缩。粗残留物在 SiO₂ 上纯化, 以 0% -6% 梯度的 iPrOH/DCM 洗脱, 得到标题化合物的白色固体, 该固体溶于醚, 在 1M 盐酸醚中作为盐酸盐沉淀。

[0167] ¹H-NMR (CD₃OD, 500MHz) δ 10.1 (s, 1H), 8.83 (m, 2H), 8.43 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 8.22 (d, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.26 (d, 1H), 2.79 (s, 3H). MS (ESI) 317.2 (M+H⁺).

[0168] 实施例 19

[0169] 5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]-2-哌啶-1-基吡啶

[0170]



[0171] 200mg (0.85mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶、0.25mL (2.5mmol, 3eq) 哌啶和 2mL DMF 合并。反应混合物在 90℃ 加热 16 小时, 以 pH10PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 10% -50% 的乙酸乙酯 / 己烷) 得到 5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]-2-哌啶-1-基吡啶 (L-001106455)。单盐酸盐通过将游离碱溶于乙醚, 加入 1eq 的 HCl, 过滤分离制备。LC-MS 计算得 C₁₆H₁₇N₃S283, 测得 m/e 284.3 (M+H)⁺。

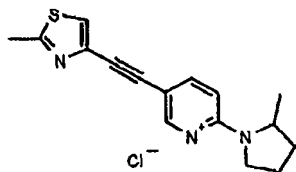
[0172]

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.20 (s, 1H), 7.92-7.93 (m, 2H), 7.30 (d, 1H), 3.73 (m, 4H), 2.68 (s, 3H), 1.61-1.66 (m, 6H).

[0173] 实施例 20

[0174] 2-(2-甲基吡咯烷基-1-基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0175]



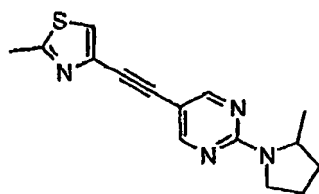
[0176] 200mg (0.85mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶、0.30mL (2.5mmol, 3eq) 2-甲基吡咯烷和 2mL NMP 合并。反应混合物以微波在 180℃ 加热 30 分钟, 以 pH10PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 10% -50% 的乙酸乙酯 / 己烷) 得到 2-(2-甲基吡咯烷基-1-基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (L-001120970)。单盐酸盐通过将游离碱溶于乙醚, 加入 1eq 的 HCl, 过滤分离制备。LC-MS

计算得 $C_{16}H_{17}N_3S283$, 测得 $m/e284.0 (M+H)^+$ 。

[0177] 实施例 21

[0178] 2-(2-甲基吡咯烷基-1-基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0179]

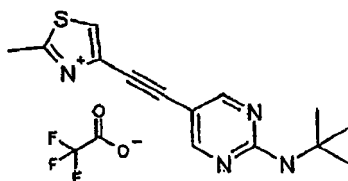


[0180] 117mg (0.50mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶、0.50mL (5mmol, 10eq) 2-甲基吡咯烷和 1mL NMP 合并。反应混合物 200℃加热 15 分钟, 以 pH10PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 10% -40% 的乙酸乙酯/己烷) 得到 2-(2-甲基吡咯烷基-1-基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶 (L-001152863)。LC-MS 计算得 $C_{15}H_{16}N_4S284$, 测得 $m/e285.3 (M+H)^+$ 。

[0181] 实施例 22

[0182] N-(叔丁基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶-2-胺

[0183]



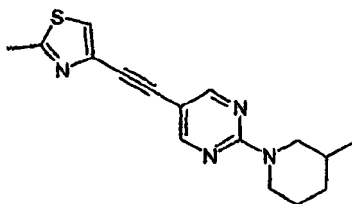
[0184] 117mg (0.50mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶、0.50mL (5mmol, 10eq) 叔丁基胺和 1mL NMP 合并。反应混合物在 180℃加热 10 分钟。纯化反应混合物而不检查。制备型反相 HPLC (梯度 30% -100% 的 MeCN/水) 得到 N-(叔丁基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶-2-胺的 TFA 盐。LC-MS 计算得 $C_{14}H_{16}N_4S272$, 测得 $m/e273.2 (M+H)^+$ 。

[0185] 使用如实施例 22 所述的制备 N-(叔丁基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶-2-胺的类似方法制备以下化合物。

[0186] 实施例 23

[0187] 2-(3-甲基哌啶-1-基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0188]

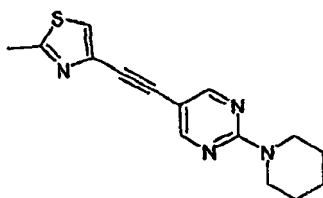


[0189] 1H -NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ 8.46 (s, 2H), 7.35 (s, 1H), 4.63 (m, 2H), 2.94 (t, 1H), 2.75 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 1.88 (bs), 1.78 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.22 (m, 1H), 0.98 (d, 3H). MS (ESI) 299.16 ($M+H^+$).

[0190] 实施例 24

[0191] 5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]-2-哌啶-1-基嘧啶

[0192]

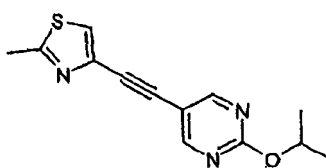


[0193] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ 8.46 (s, 2H), 7.35 (s, 1H), 3.85 (m, 4H), 2.75 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 1.63 (m, 4H). MS (ESI) 285.14 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0194] 实施例 25

[0195] 2-异丙氧基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0196]



[0197] 50mg 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶、200mg 碳酸钾和 5mL 异丙醇合并。反应混合物在 80°C 加热 1 小时。RPHPLC 得到 5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]-2-异丙氧基-1-基嘧啶。

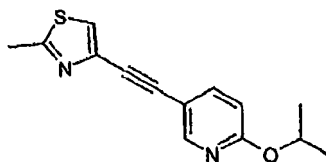
[0198] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8.20 (s, 1H), 8.70 (s, 2H), 7.45 (s, 1H), 5.36 (m, 1H), 2.81 (s, 3H), 1.44 (d, 6H). MS (ESI) 259.88 ($\text{M}+\text{H}^+$)

[0199] 使用如实施例 25 所述的制备 2-异丙氧基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶的类似方法制备以下化合物。

[0200] 实施例 26

[0201] 三氟乙酸 2-异丙氧基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶鎓

[0202]

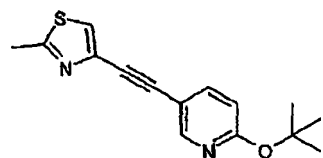


[0203] MS (ESI) 259 ($\text{M}+\text{H}^+$)

[0204] 实施例 27

[0205] 2-叔丁氧基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0206]

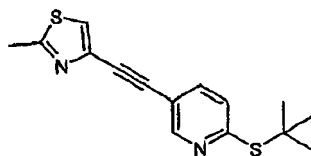


[0207] $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) δ 8.315-8.310 (d, 1H), 7.644-7.622 (dd, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.61-6.60 (d, 1H), 2.73 (s, 1H), 1.59 (s, 9H). MS (ESI) 273.06 (M^++H).

[0208] 实施例 28

[0209] 2-(叔丁硫基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0210]

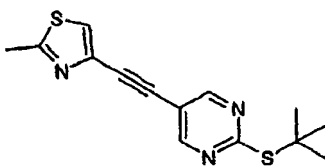


[0211] ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 8.580–8.576 (d, 1H), 7.56–7.54 (dd, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.18–7.17 (d, 1H), 2.69 (s, 3H), 1.49 (s, 9H). MS 289.14 (M^+H).

[0212] 实施例 29

[0213] 2-(叔丁硫基)-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶, 白色固体

[0214]

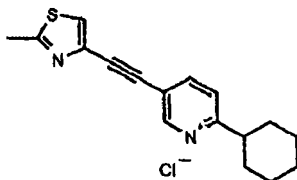


[0215] ^1H NMR (MeOD , 500MHz) 8.73 (s, 2H), 7.98 (s, 1H), 2.86 (s, 3H), 1.63 (s, 9H). MS (ESI) 290.03 (M^+H).

[0216] 实施例 30

[0217] 2-环己基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0218]



[0219] 将 200mg (0.85mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶、50mg (0.043mmol, 0.05eq) 四(三苯基膦)合钯(0) 和 2mL 0.5M 溴化环己基锌的四氢呋喃溶液 (1mmol, 1.1eq) 合并。反应混合物在 150℃ 微波加热 5 分钟, 以 pH7PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 0%–40% 的乙酸乙酯/己烷) 得到 2-环己基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (L-001106449)。单盐酸盐通过将游离碱溶于乙醚, 加入 1eq 的 HCl, 过滤分离制备。LC-MS 计算得到 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{S}$ 282, 测得 m/e 283.3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

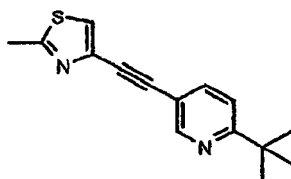
[0220]

^1H -NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.87 (s, 1H), 8.30 (d, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.71 (d, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 1.35–1.91 (m, 10H).

[0221] 实施例 31

[0222] 2-叔丁基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶

[0223]



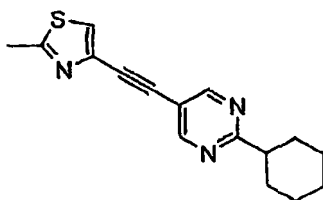
[0224] 将 200mg (0.85mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶、50mg (0.043mmol, 0.05eq) 四(三苯基膦)合钯(0) 和 2mL 的 0.5M 溴化叔丁基锌的四氢呋喃溶液 (1mmol, 1.1eq) 合并。反应混合物在 150℃ 微波加热 5 分钟, 以 pH10PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 5% -50% 的乙酸乙酯/己烷) 得到 2-叔丁基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶 (L-001109555)。LC-MS 计算得到 $C_{15}H_{16}N_2S$ 256, 测得 m/e 257.0 (M+H)⁺。

[0225] 1H -NMR (500MHz, $CDCl_3$)
 δ 8.74 (s, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.12 (d, 1H), 2.77 (s, 3H), 2.12 (m, 1H), 0.97 (d, 9H) -

[0226] 实施例 32

[0227] 2-环己基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶

[0228]

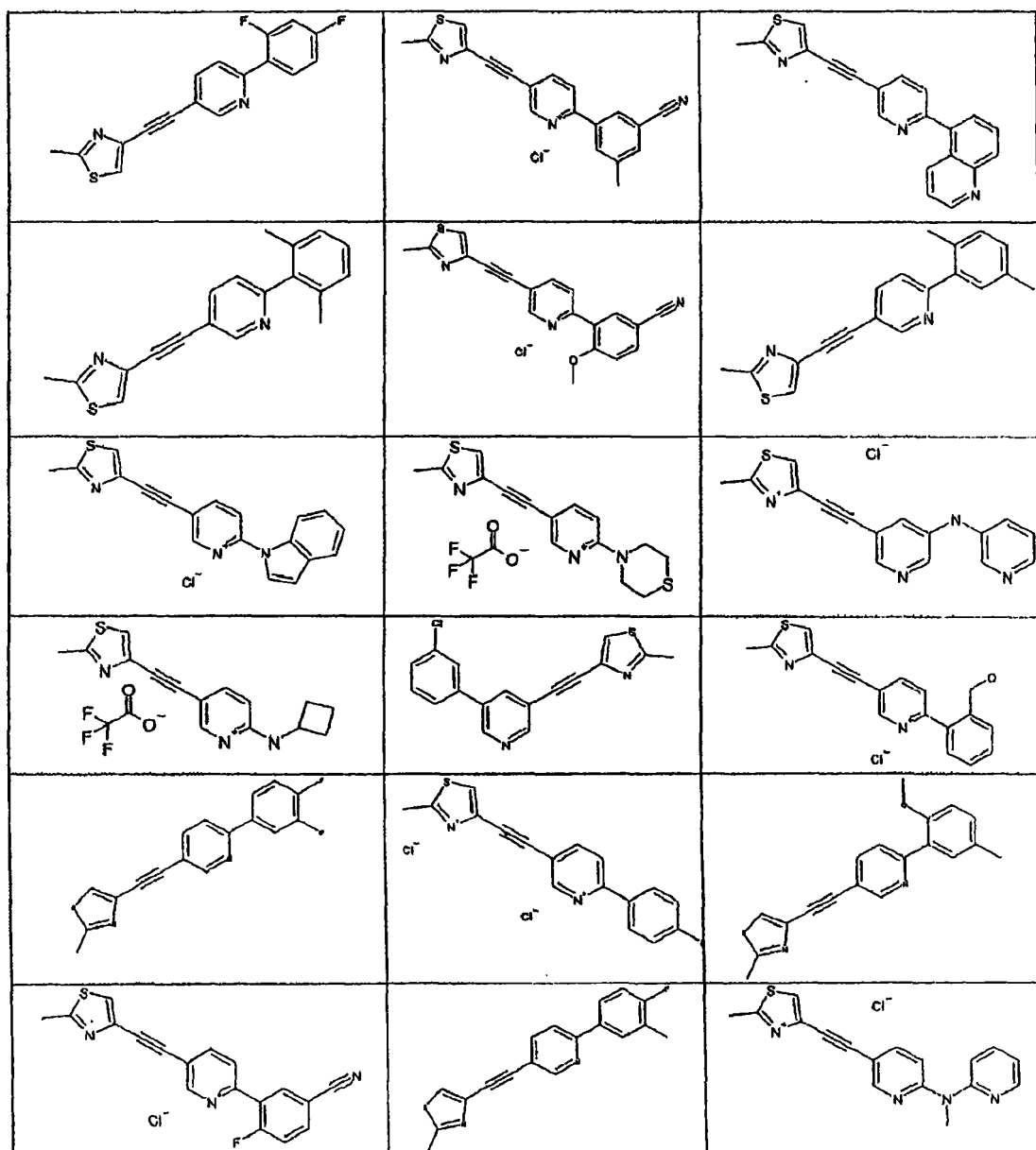


[0229] 将 200mg (0.85mmol, 1eq) 2-氯-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶、50mg (0.043mmol, 0.05eq) 四(三苯基膦)合钯(0) 和 2mL 的 0.5M 溴化环己基锌的四氢呋喃溶液 (1mmol, 1.1eq) 合并。反应混合物在 150℃ 微波加热 5 分钟, 以 pH10PBS 猝灭, 以 DCM 提取。硅胶色谱 (梯度 10% -40% 的乙酸乙酯/己烷) 得到 2-环己基-5-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]嘧啶 (L-001152744)。LC-MS 计算得到 $C_{16}H_{17}N_3S$ 283, 测得 m/e 284.1 (M+H)⁺。

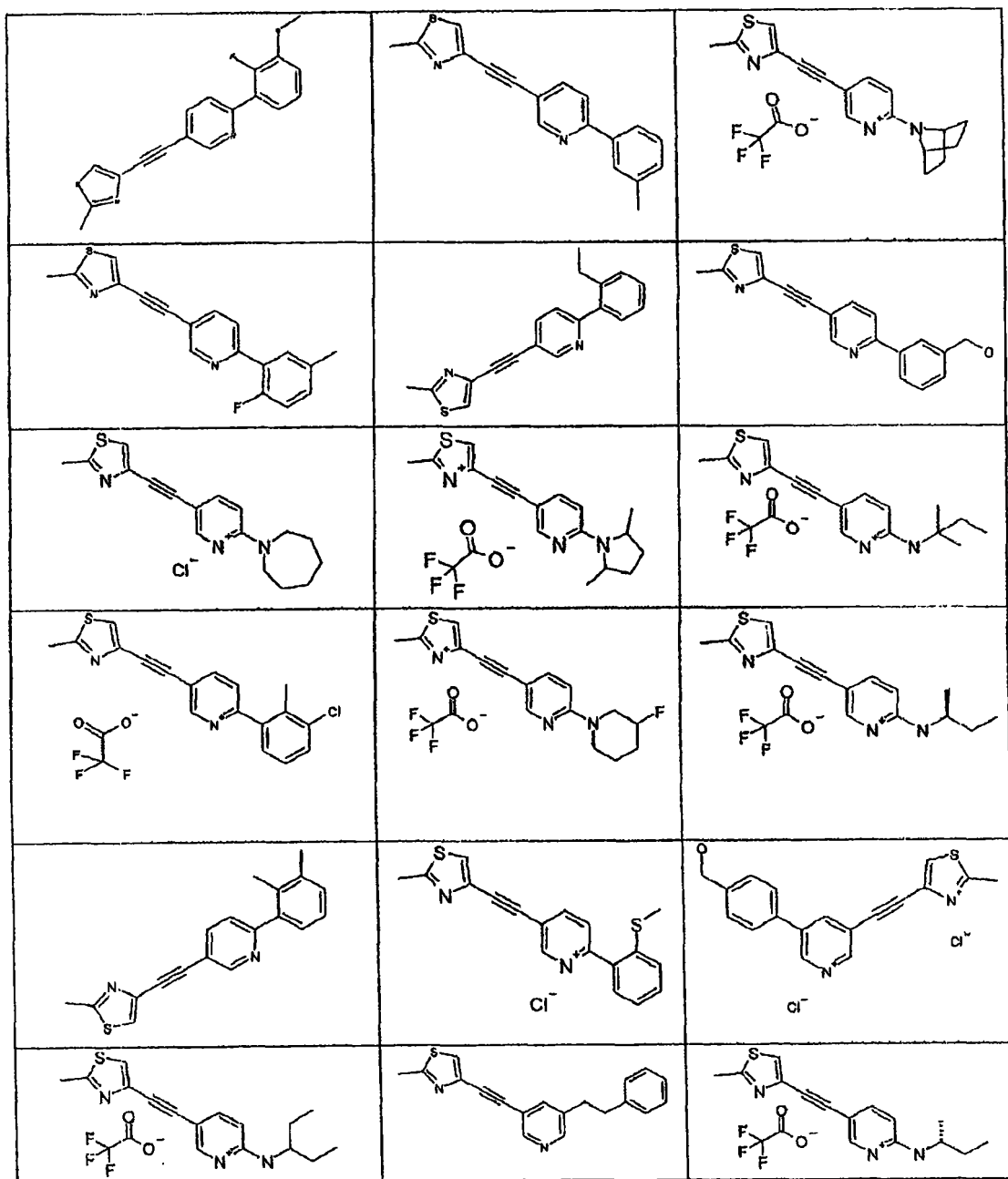
[0230] 实施例 33-107

[0231] 使用类似于上述和本领域技术人员熟知的合成技术, 制备以下化合物:

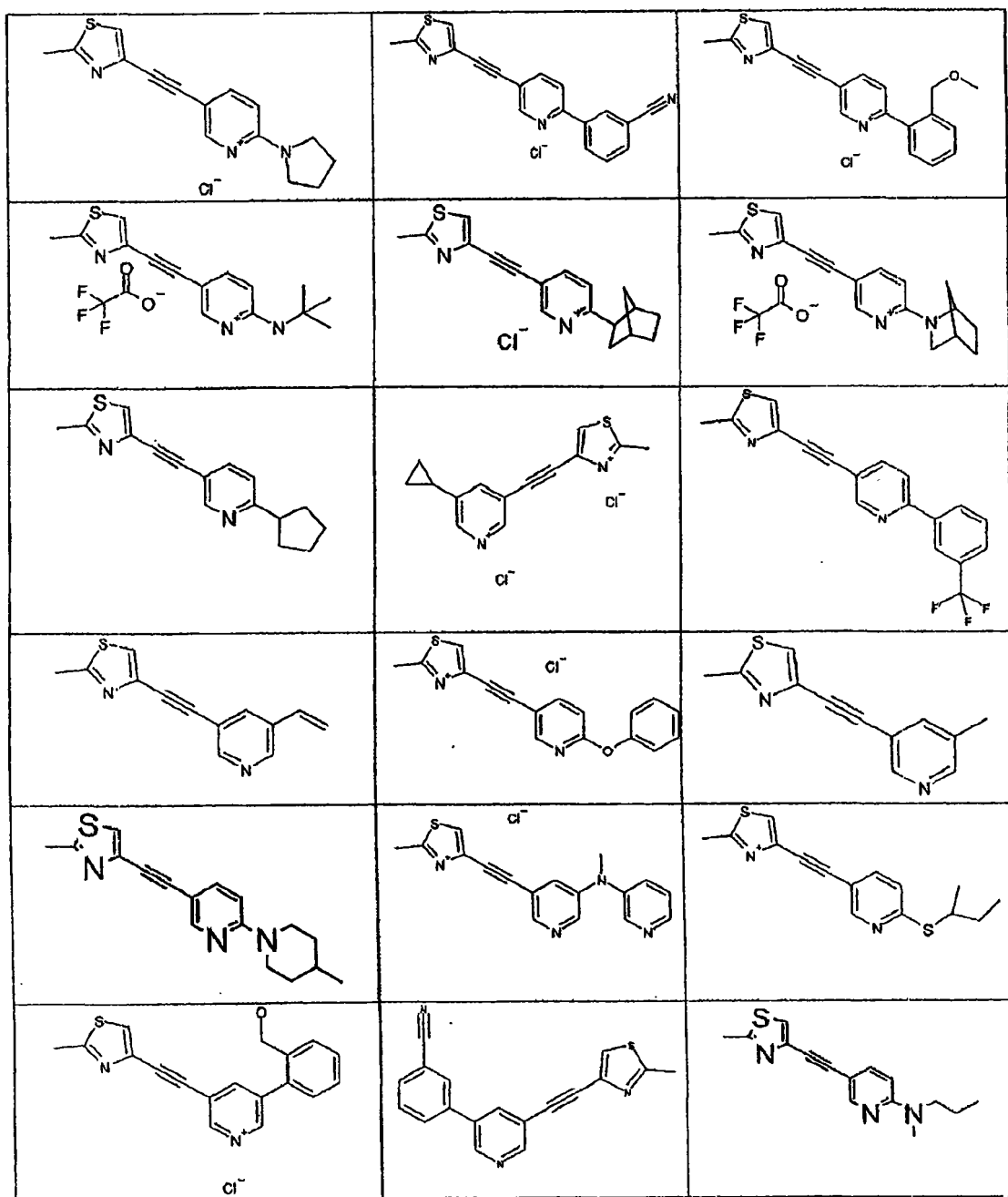
[0232]



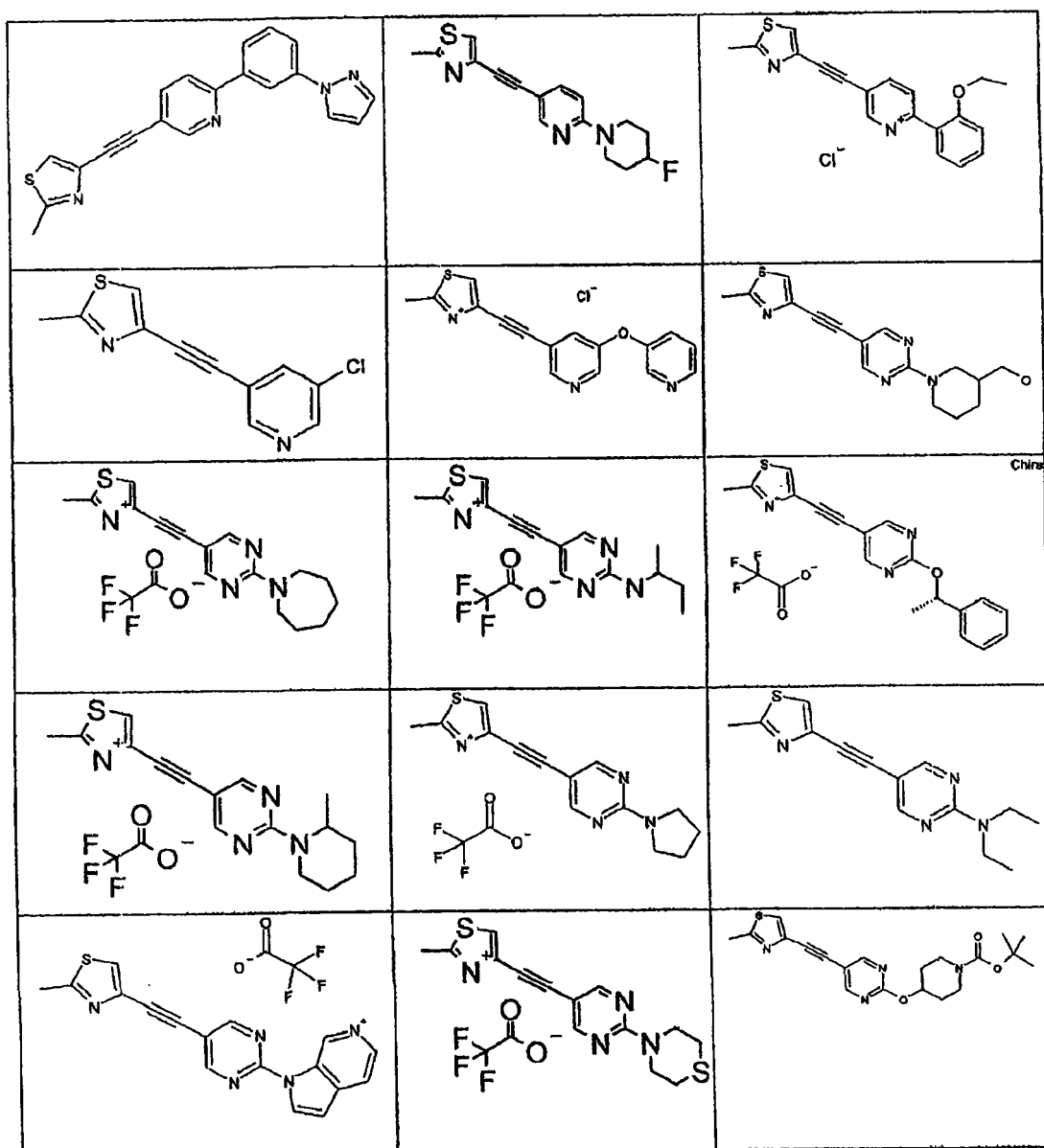
[0233]



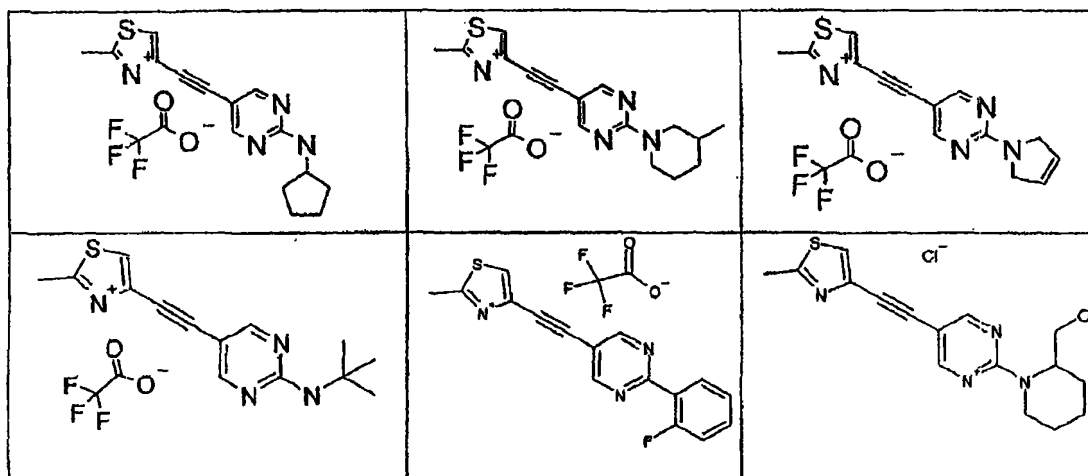
[0234]



[0235]



[0236]



[0237] (实施例由表格的每行从左至右。)

[0238] 实施例 108

[0239] 钙流动检测

[0240] 化合物活性通过稳定表达于鼠成纤维细胞 Ltk 细胞株的 hmGluR5a 受体 (hmGluR5a/L38-20 细胞系) 检测。一般见 Daggett 等, Neuropharmacology 34: 871-886 (1995)。受体活性由胞内钙 ($[Ca^{2+}]_i$) 的改变检测, 胞内钙用荧光钙敏感染料 fura-2 测定。hmGluR5a/L38-20 细胞株接种在 96 孔板上, 加入 $3 \mu M$ fura-2, 保持 1 小时。从细胞中洗掉未结合的染料, 细胞平板转移至定制的 96 通道荧光计 (SIBIA-SAIC, La Jolia, CA), 该荧光计整体嵌入全自动平板处理和液体传递系统。细胞在 350 和 385nm 以配有光学过滤器的氙光源激发。从样品收集的发射光通过二色镜和 510nm 干扰过滤器, 进入冷却的 CCD 照相机 (Princeton Instruments)。图象对 (Image pairs) 大约每 1 秒捕捉一次, 比例图片在减去背景后产生。20 秒的基底读数后, EC_{80} 浓度的谷氨酸 ($10 \mu M$) 加入到孔中, 反应再评估 60 秒。在筛选化合物存在下谷氨酸激发的 $[Ca^{2+}]_i$ 增长与谷氨酸独自存在下的反应 (阳性对照) 对比。

[0241] 实施例 109

[0242] 结合啮齿动物脑膜的 $[^3H]$ -mGluR5 拮抗剂

[0243] 根据 Anderson JJ, Rao SP, Rowe B, Giracello DR, Holtz G, Chapman DF, Tehrani L, Bradbury MJ, Cosford ND, Varney MA, $[^3H]$ Methoxymethyl-3-[(2-methyl-1, 3-thiazol-4-yl)ethynyl]pyridine binding to metabotropic glutamate receptor subtype 5 in rodent brain: invitro and invivo characterization. J Pharmacol Exp Ther. 2002 Dec; 303 (3): 1044-51, 使用完整大鼠脑或 mGlu5^{+/+} 或 mGlu5^{-/-} 完整大鼠脑制备膜 (如 Ransom RW and Stec NL (1988) Cooperative modulation of $[^3H]$ MK-801 binding to the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex by L-glutamate, glycine, and polyamines. J Neurochem 51: 830-836 所述)。

[0244] 结合测定如 Schaffhauser H, Richards JG, Cartmell J, Chaboz S, Kemp JA, Klingelschmidt A, Messer J, Stadler H, Woltering T and Mutel V (1998) Invitro binding characteristics of a new selective group II metabotropic glutamate receptor radioligand, $[^3H]$ LY354740, in rat brain. Mol Pharmacol 53: 228-233.) 中所述在室温下

进行,有轻微改变。简单地说,膜解冻,以测定缓冲液(50mM HEPES,2mM MgCl_2 ,pH7.4)洗涤一次,接着以40,000x g离心20分钟。将沉淀重悬在测定缓冲液中,用Polytron简单地匀化。

[0245] 对蛋白线性试验,增加浓度的膜蛋白一式三份加入到96孔板中,通过加入20nM ^3H 甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶启动结合。将该测定物孵育2小时,使用10 μM MPEP检测到非特异性结合。使用96孔板Brandel细胞收集器,通过快速滤过玻璃纤维过滤器(Unifuter-96GF/B板, Packard)终止结合。随后加入闪烁体,由液体闪烁谱仪检测放射活性。使用牛血清白蛋白作标准物,用BioRad-DC蛋白测定法测定蛋白。

[0246] 以增加浓度的 ^3H 甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶(1pM-100nM)一式三份进行饱和结合试验。通过在不同时间点(0-240分钟)加入10nM ^3H 甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶到膜,随后过滤,测定结合的时间过程。通过在不同时间点加入100 μM 未标记的甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶到与10nM ^3H 甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶预孵育3小时的膜中,测定解离。对于竞争性试验,将100 μg 膜蛋白和10nM ^3H 甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶一式两份加入到含有增加浓度的测试化合物(甲氧基甲基-3-[(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)乙炔基]吡啶或MPEP)的孔中。 ^3H -3-甲氧基-5-(吡啶-2-基乙炔基)吡啶在上述方法中可作为放射性配体。(见Cosford, N. D. P.; Roppe, J.; Tehrani, L.; Seiders, T. J.; Schweiger, E. J. 等. ^3H -Methoxymethyl-MTEP and ^3H -methoxy-PEPy): Potent and selective radioligands for the Metabotropic Glutamate Subtype 5 (mGlu5) Receptor. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 351-354.)。

[0247] 实施例 110

[0248] 磷脂酰肌醇水解(IP)检测

[0249] 肌醇磷酸测定如Berridge等(1982)(Berridge等(1982)Biochem. J. 206: 587-5950;和Nakajima等, J. Biol. Chem. 267: 2437-2442(1992))所描述的方法进行,有轻微改变。表达hmGluR5(hmGluR5/L38-20细胞)的鼠成纤维Ltk细胞株以 8×10^5 细胞/孔的密度接种于24孔板。1 μCi 的 ^3H -肌醇(Amersham PT6-271; Arlington Heights, Ill.; 比活性=17.7Ci/mmol)加入到各孔中,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育16小时。细胞冲洗两次,在0.5ml标准Hepes缓冲盐溶液(HBS; 125mM NaCl, 5mM KCl, 0.62 μM MgSO_4 , 1.8mM CaCl_2 , 20mM HEPES, 6mM葡萄糖, pH7.4)中孵育45分钟。细胞株以含10mM LiCl的HBS冲洗,加入400i11缓冲液到各孔中。细胞株在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20分钟。对于测试,加入50mL的10x用于实施本发明的化合物[HBS/LiCl(100mM)中制备],孵育10分钟。加入10pM谷氨酸激活细胞,板置于37 $^{\circ}\text{C}$ 保持1小时。

[0250] 通过加入1mL冰冷的甲醇到各孔中结束孵育。为分离肌醇磷酸(IP),从孔中刮离细胞,置于标有数字的玻璃试管中。加入三氯甲烷(1mL)到各管,混匀各管,离心分离各相。IP在Dowex阴离子交换柱(AG1-X8100-200目甲酸盐形式)上分离。上部水层(750 μL)加入到Dowex柱中,PCT/US00/23923109柱以蒸馏水(3mL)冲洗。弃去冲洗液,以60mM甲酸钠/5mM Borax(10mL)冲洗柱,冲洗液也作为废液弃去。最后以800mM甲酸钠/0.1M甲酸

(4mL) 冲洗柱, 样品收集在闪烁体管中。向各管中加入闪烁体, 摇匀, 2 小时后以闪烁计数仪计数。将某些示例性化合物处理的细胞中的磷脂酰肌醇水解与对照处理细胞中的磷脂酰肌醇水解对比。使用这种方法, 对实施例 1 得到的 IC_{50} 值为 33nM, 对实施例 18 得到的 IC_{50} 值为 2nM。

[0251] 实施例 111

[0252] 代表性化合物的活性

[0253] 某些先前实施例中公开的化合物的活性如下所列 (N. D. = 未检测) :

[0254]

实施例	钙流动测定 (nM)	Ki (nM)
1	3	20
2	1.0	2.0
3	0.9	2.7
4	2.2	2.6
5	6.3	1.0
6	4.4	1.2
7	1.1	0.7
8	1.0	0.9
9	1.1	N. D.
10	0.7	N. D.
11	1.3	N. D.
12	0.6	1.1
13	0.6	0.6
14	0.8	7.5
15	1.0	2.6
16	0.4	8.6
17	0.4	3.8
18	4.9	19.3
19	1.8	2.8
20	1.0	1.4
21	1.5	1.5
22	1.2	0.9
23	1.6	1.6
24	0.3	2.6
25	1.4	9.0
26	0.1	2.0
27	1.4	1.0
28	1.7	0.9
29	0.5	10
30	2.2	2.3
31	2.9	12.2
32	1.0	4.8
33	19	7
34	18	15
35	17	5
36	14	3
37	14	10
38	13	8
39	13	4
40	12	9

[0255]

41	11	5
42	11	17
43	11	0.65
44	11	2
45	11	7
46	11	2
47	11	19
48	9	12.5
49	9	5.5
50	9	12
51	8	9
52	8	2
53	8	8
54	8	1.5
55	7	4
56	7	13
57	7	7.5
58	7	1.5
59	6	4
60	6	1.5
61	6	12
62	6	11
63	6	4
64	6	0.8
65	6	8
66	5	9
67	5	7
68	5	7
69	5	14
70	5	5
71	5	4.5
72	5	7
73	4	2
74	4	7.5
75	4	4
76	3.5	3
77	3	13
78	3	1.4
79	3	16
80	3	3
81	3	6
8.2	3	2
83	2	12
84	2	7
85	2	1
86	2	7
87	2	N. D.
88	2	4
89	1.6	2

[0256]

90	1.5	4
91	1	1
92	12	7
93	11	3
94	9	6
95	8	9
96	5	5
97	5	13
98	4	8
99	2.8	33
100	2.3	23
101	2	24
102	2	26
103	1.6	1.6
104	1.5	6
105	1	1
106	N. D.	6
107	16	9

[0257] Nd = 未检测

[0258] 注意钙流动和结合检测中的相对高值,如实施例 18,由 IP 测定(如实施例 110 所报导)中的检测结果平衡。

[0259] 虽然已参考某些优选实施方案详细描述了本发明,应理解的是修改和变化应在描述和要求保护的精神和范围内。