(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118384143 A
(43)申请公布日 2024.07.26

(21)申请号 202410485765.2
(22)申请日 2020.04.13
(30)优先权数据
62/833,140 2019.04.12 US
(62)分案原申请数据
202080030668.4 2020.04.13
(71)申请人 路易斯安娜州立大学监测委员会，农业和机械学院
地址 美国路易斯安那州
(72)发明人 C·D·尼克尔斯 G·比拉克 D·E·尼克尔斯
(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713
专利代理师 王建秀 刘小立
(51)Int.Cl.
A61K 31/137(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 17/06(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 27/02(2006.01)
C07C 217/60(2006.01)

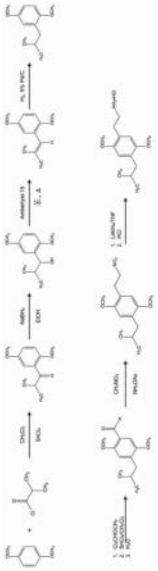
权利要求书2页 说明书20页 附图14页

(54)发明名称

用于治疗炎症性病症的化合物和方法

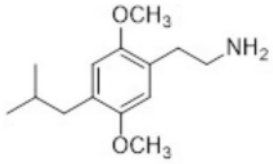
(57)摘要

本申请涉及式(I)化合物或其药学上可接受的酸加成盐在制备治疗有需要的受试者的炎症性病症的药物中的用途。本发明的特征在于具有抗炎特性的化合物和药物组合物。还提供了使用本发明的化合物或组合物治疗有需要的受试者的炎症性病症的方法。



CN 118384143 A

1.式(I)化合物或其药学上可接受的酸加成盐在制备治疗有需要的受试者的炎症性病症的药物中的用途,



(I)

。

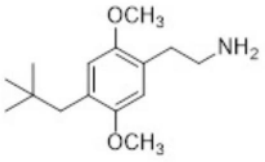
2.根据权利要求1所述的用途,其中所述药物以小于20μg/kg体重的量施用。

3.根据权利要求1或2所述的用途,其中所述药物以每周一至三次的频率施用。

4.根据权利要求1或2所述的用途,其中所述炎症性病症选自哮喘、慢性阻塞性肺病、神经炎症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、银屑病、II型糖尿病、炎性肠病、克罗恩病、多发性硬化、败血症和结膜炎。

5.根据权利要求1或2所述的用途,其中所述药物是口服、鼻内或通过吸入施用。

6.式(II)化合物:



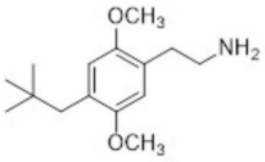
(II)

或其药学上可接受的酸加成盐。

7.一种药物组合物,其包含权利要求6的化合物和药学上可接受的赋形剂。

8.根据权利要求7所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于口服、鼻内或肺部施用。

9.根据权利要求6的式(II)化合物或其药学上可接受的酸加成盐在制备治疗有需要的受试者的炎症性病症的药物中的用途,



(II)

。

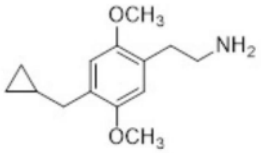
10.根据权利要求9所述的用途,其中所述药物以小于20μg/kg体重的量施用。

11.根据权利要求9或10所述的用途,其中所述药物以每周一至三次的频率施用。

12.根据权利要求9或10所述的用途,其中所述炎症性病症选自哮喘、慢性阻塞性肺病、神经炎症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、银屑病、II型糖尿病、炎性肠病、克罗恩病、多发性硬化、败血症和结膜炎。

13.根据权利要求9或10所述的用途,其中所述药物是口服、鼻内或通过吸入施用。

14.式(III)化合物:



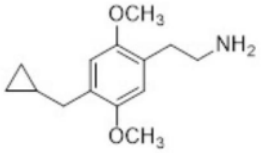
(III)

或其药学上可接受的酸加成盐。

15.一种药物组合物,其包含权利要求14的化合物和药学上可接受的赋形剂。

16.根据权利要求15所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于口服、鼻内或肺部施用。

17.根据权利要求14的式(III)化合物或其药学上可接受的酸加成盐在制备治疗有需要的受试者的炎症性病症的药物中的用途,



(III)。

18.根据权利要求17所述的用途,其中所述药物以小于20μg/kg体重的量施用。

19.根据权利要求17或18所述的用途,其中所述药物以每周一至三次的频率施用。

20.根据权利要求17或18所述的用途,其中所述炎症性病症选自哮喘、慢性阻塞性肺病、神经炎症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、银屑病、II型糖尿病、炎性肠病、克罗恩病、多发性硬化、败血症和结膜炎。

21.根据权利要求17或18所述的用途,其中所述化合物是口服、鼻内或通过吸入施用。

用于治疗炎症性病症的化合物和方法

[0001] 本申请是与母案发明名称相同的分案申请,母案的中国申请号是202080030668.4,国际申请号是PCT/US2020/027981,申请日是2020年4月13日。

[0002] 本申请要求于2019年4月12日提交的美国临时专利申请62/833,140的权益,其全部内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 一般而言,本发明的特征在于用于治疗炎症性病症的组合物和方法。

背景技术

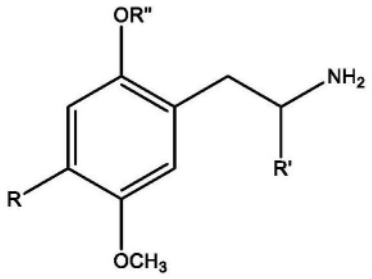
[0004] 炎症是一种自然且必要的生理过程,它发生在生物体暴露于外来刺激物例如病原体时。然而,炎症信号有时会被误导,并且可能在对生物体没有合理威胁的情况下发生。这种异常的炎症信号会导致宿主细胞组织损伤,并可能导致各种长期并发症。目前,炎症的关键途径,如TNF-α信号,正在使用生物药物靶向,如单克隆抗体(英夫利昔单抗和阿达木单抗)和可溶性TNF-α受体(依那西普)。

[0005] 然而,本领域需要开发小分子抗炎化合物,例如用于治疗炎症性病症。

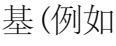
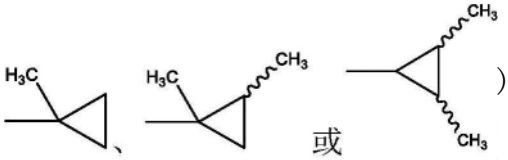
发明内容

[0006] 本发明公开了具有有效抗炎特性的化合物和药物组合物。还提供了使用本发明的化合物或组合物例如治疗有需要的受试者的炎症性病症的方法。

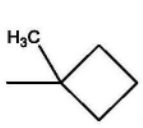
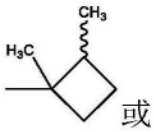
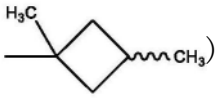
[0007] 本发明的一个方面特征是式(X)化合物:

[0008] 

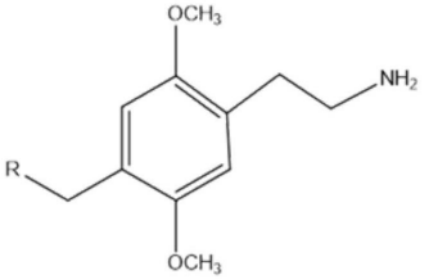
(X);

[0009] 或其药学上可接受的酸加成盐(例如盐酸盐)或前药,其中R'可以是H或CH_3;并且R"可以是H或CH_3。在特定实施方案中,R'可以是H。在其他实施方案中,R'可以是CH_3(例如,在R立体化学中)。在一些实施方案中,R"可以是H。在另外的实施方案中,R可以是小的支链烷基(例如,$-CH(CH_3)_2$、$-C(CH_3)_3$或$-CH(CH_2)_2$);,或者。在一些实施方案中,如果R是,它可以任选地被一个或多个CH_3基团取代,包括所有立体异构体(例如,

)。在一些实施方案中,如果R是,它可以任选地被

一个或多个CH_3基团取代，包括所有立体异构体（例如，、或）。

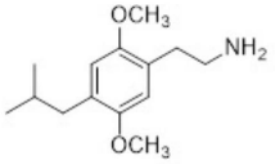
[0010] 本发明的一个方面特征是式(Y)化合物：

[0011] 

(Y)；

[0012] 或其药学上可接受的酸加成盐（例如盐酸盐）或前药，其中R可为$CH(CH_3)_2$、$C(CH_3)_3$、$CH(CH_2)_2$）；或。

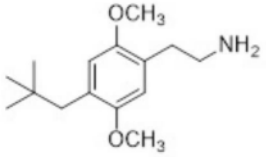
[0013] 一方面，本发明的特征是式(I)化合物：

[0014] 

(I)；

[0015] 或其药学上可接受的酸加成盐（例如盐酸盐）或前药。

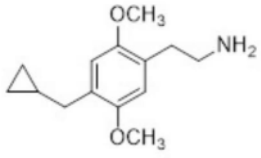
[0016] 在另一方面，本发明的特征在于式(II)化合物：

[0017] 

(II)；

[0018] 或其药学上可接受的酸加成盐（例如盐酸盐）或前药。

[0019] 在又一方面，本发明的特征在于式(III)化合物：

[0020] 

(III)；

[0021] 或其药学上可接受的酸加成盐（例如盐酸盐）或前药。

[0022] 在另一方面，本发明包括前述方面中任一方面（例如，式(I)、(II)或(III)的化合物）或其酸加成盐或前药以及药学上可接受的赋形剂的组合物。这种药物组合物可以配制用于口服、鼻内或肺部施用。

[0023] 在另一方面，本文提供了一种在有需要的受试者中治疗炎症性病症的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的任何前述方面的化合物或药物组合物。在一些实施方案

中,化合物以导致循环药物血浆水平为以下的量施用:小于20ng/mL(例如,0.05至20ng/mL,例如,0.1至15ng/mL、0.5至10ng/mL、或1至5ng/mL,例如0.05至0.1ng/mL、0.1至0.2ng/mL、0.2至0.3ng/mL、0.3至0.4ng/mL、0.4至0.5ng/mL、0.5至1.0ng/mL、1.0至5ng/mL、5至10ng/mL、10至15ng/mL或15至20ng/mL,例如约0.05ng/mL、0.1ng/mL、

[0024] 0.2ng/mL、0.5ng/mL、1.0ng/mL、2.0ng/mL、2.5ng/mL、5.0ng/mL、7.5ng/mL、10ng/mL、12ng/mL、15ng/mL或20ng/mL)。在一些实施方案中,化合物的循环药物血浆水平低于检测限(例如,0.1ng/mL或更少)。在一些实施方案中,施用的化合物的量为20μg/kg体重或以下(例如,小于20μg/kg、小于15μg/kg、小于10μg/kg或小于5μg/kg体重,例如1到20μg/kg体重,例如1至5μg/kg、5至10μg/kg、10至15μg/kg或15至10μg/kg,例如约5μg/kg、约10μg/kg、约15μg/kg或约20μg/kg)。在一些实施方案中,化合物以每周一次或多次的频率施用(例如,每周一次、每周两次、每周三次、每周四次、每周五次、每周六次、每周七次或更多,例如每天一次、每天两次、每天三次等)。在一些实施方案中,间歇地施用化合物,例如每隔一天、每隔一周、每月一次等。

[0025] 在任何前述实施方案或任何本文所述方法的一些实施方案中,炎症性病症是哮喘、慢性阻塞性肺病、神经炎症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、银屑病、II型糖尿病、炎性肠病、克罗恩病、多发性硬化、败血症或结膜炎。

[0026] 在本文提供的任何方法中,化合物可以通过任何合适的施用途径施用,例如口服、鼻内或吸入。在一些实施方案中,本发明的化合物或其药物组合物通过多种途径中的一种或多种施用,包括鼻、口腔、口服、通过吸入(例如,作为口腔喷雾剂、雾化器、鼻喷雾剂或气雾剂)、静脉内、肌内、动脉内、髓内、鞘内、皮下、心室内、经皮、皮间、直肠、阴道内、腹膜内、局部(例如,通过粉剂、软膏、乳膏、凝胶、洗剂和/或滴剂)、粘膜、肠内、玻璃体、瘤内、舌下;通过气管内滴注、支气管滴注和/或通过门静脉导管。在一些实施方案中,组合物通过全身静脉注射施用。在具体实施方案中,静脉内和/或口服施用组合物。

[0027] 定义

[0028] 为了便于理解本发明,在下面和整个公开内容中定义了许多术语。除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。这里的术语用于描述本发明的特定实施方案,但它们的使用不限制本发明,除非在权利要求中概述。

[0029] 如本文所用,“酸加成盐”是指任何药学上可接受的盐。

[0030] 如本文所用,术语“前药”是指药学上活性物质的无活性前体形式,其能够被酶促活化为或转化为更具活性的母体形式。参见例如Wilman,“Prodrugs in Cancer Chemotherapy”

[0031] Biochemical Society Transactions,14,pp.375-382,615th Meeting Belfast (1986)和Stella et al.,“Prodrugs:A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery,”Directed Drug Delivery,Borchardt et al.,(ed.),pp.247-267,Humana Press(1985)。

[0032] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体”是指药物组合物中的赋形剂或稀释剂。例如,药学上可接受的载体可以是能够悬浮或溶解活性化合物(例如,本文所述的组合物)的载体。药学上可接受的载体必须与制剂的其他成分相容并且对接受者无害。在本公开中,

药学上可接受的载体必须为本文所述的化合物提供足够的药学稳定性。载体的性质因施用方式而异。

[0033] 如本文所用,术语“治疗(treat)”或“治疗(treating)”是指为了治疗目的施用化合物或药物组合物。“治疗病症”或用于“治疗性治疗”是指对已经患有疾病的患者施用治疗以减轻疾病或其一种或多种症状以改善患者的状况(例如,通过减轻炎症的一种或多种症状)。术语“治疗性”包括减轻某些炎症过程(即炎症的后果,而不是炎症的症状)的有害临床影响的作用。本发明的方法可用作一级预防措施,即预防病症或降低发展病症的风险。预防是指对可能尚未完全发展为病况或病症但易患该病症或处于该病症风险中的患者的预防性治疗。因此,在权利要求和实施方案中,本发明的方法可用于治疗或预防目的。

[0034] 术语“施用(administration)”或“施用(administering)”是指将一定剂量的化合物或药物组合物给予受试者的方法。

[0035] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指在受试者中有效诱导期望效果或治疗患有本文所述病况或病症(例如炎症性病症)的受试者的量,例如药物剂量。在本文中还应理解,“治疗有效量”可解释为以一个或多个剂量或以任何剂量或途径服用,和/或单独服用或与其他治疗药物联合服用的产生期望治疗和/或预防效果的量。例如,在施用本文所述的用于治疗病症或病况的组合物的情况下,有效量的化合物是例如与未施用化合物所获得的应答相比足以预防、减缓或逆转病症或病况进展的量。

[0036] 诸如“一”、“一个”和“该”之类的术语并非旨在仅指单个实体,而是包括可以使用特定实例进行说明的一般类别。

[0037] 如本文所用,术语“约”是指在所描述的值之上或之下10%以内的值。

附图说明

[0038] 下列附图说明了本发明的特定实施方案并且不限制本发明所涵盖的各种实施方案。

[0039] 图1A是显示2,5-二甲氧基-4-异丁基苯乙胺(2C-iBu)的合成的图。图1B是显示2C-iBu的液相色谱-UV(LCUV)表征的一组图。图1C是显示2C-iBu的液相色谱-质谱(LCMS)表征的一组图。

[0040] 图2A-2G是一系列图表,显示了成年雄性Brown Norway大鼠中作为乙酰甲胆碱激发的函数的增强暂停(ΔPenh)的变化,其细节在实施例3中描述。大鼠未经处理(幼稚;圆形),用卵清蛋白处理(OVA;正方形),或用各种实验化合物与OVA组合处理(三角形)。实验化合物包括1.0mg/kg的R-DOI(图2A;*p<0.05,从OVA到幼稚的显著差异;#p<0.05OVA vs.OVA+R-DOI)、1.0mg/kg的25-I-NBOMe(图2B;*p<0.05,从OVA到幼稚的显著差异;

[0041] #p<0.05,从OVA到OVA+25-I-NBOMe的显著差异;^p<0.05,从OVA+25-I-NBOMe至幼稚的显著差异)、1.0mg/kg的DOB(图2C;#p<0.05,从OVA到OVA+DOB的显著差异;*p<0.05,从OVA到幼稚的显著差异;^p<0.05,从OVA+DOB到幼稚的显著差异)、0.5mg/kg的2C-B-Fly.HCl(图2D;*p<0.05,从OVA到幼稚以及从2C-B-Fly.HCl+OVA到幼稚的显著差异)、0.5mg/kg的2CB2(图2E;#p<0.05,从OVA到OVA+TCB2的显著差异;*p<0.05,从OVA到幼稚的显著差异;^p<0.05,从OVA+TCB2到幼稚的显著差异)、0.5mg/kg的DOTFM(图2F;

[0042] ^p<0.05,从OVA+DOTFM到幼稚的显著差异)和2C-iBu(图2G;*p<0.05,从OVA+2C-

iBu.HCl到幼稚的显著差异)。每个实验化合物的结构显示在相应图的左侧。

[0043] 图3是总结了各种DOx和2C化合物的功能特性的构效关系表。*:无效(-)、中等有效(+)、强烈有效(++);**:基于2019年1月进行的文献检索的数据;(NT)未测试;(NR)未报告,即公开可用的表征数据不足。

[0044] 图4是剂量反应曲线,其显示在大鼠OVA过敏性哮喘模型中作为2C-iBu浓度的函数的ΔPenh的%抑制。

[0045] 图5A是显示R-DOI对头部抽动响应(head twitch response)(HTR)的影响的图。对于整个三十分钟的测试阶段,数据以组平均值±SEM的形式呈现。药物剂量是指当量游离碱重量。**p<0.01,与载体对照组有显著差异(Tukey检验)。

[0046] 图5B是显示由R-DOI诱导的HTR的时程研究结果的图。在两分钟的时间段内,数据以组平均值±SEM的形式呈现。药物剂量是指当量游离碱重量。

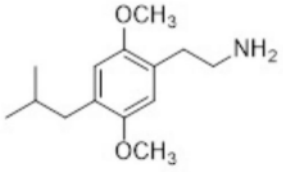
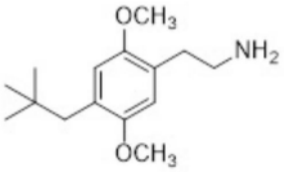
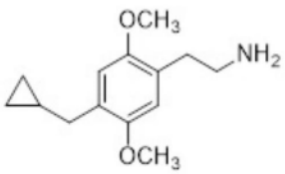
[0047] 图6A是显示2C-iBu对HTR的影响的图。对于整个三十分钟的测试阶段,数据以组平均值±SEM的形式呈现。药物剂量是指当量游离碱重量。*p<0.05,**p<0.01,与载体对照组有显著差异(Tukey检验)。

[0048] 图6B是显示由2C-iBu诱导的HTR的时程研究结果的图。在两分钟的时间段内,数据以组平均值±SEM的形式呈现。药物剂量是指当量游离碱重量。

[0049] 图7是显示由1.0mg/kg R-DOI和3.0mg/kg 2C-iBu诱导的HTR的时程研究结果的图。在五分钟的时间段内,数据以组平均值±SEM的形式呈现。药物剂量是指当量游离碱重量。*p<0.01,组间显著差异,(Sidak多重比较检验)。

具体实施方式

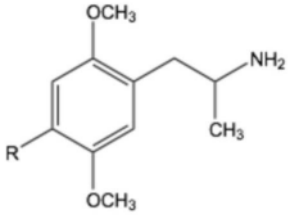
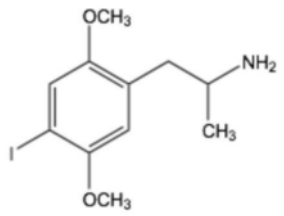
[0050] 本发明的特征在于具有式(I)、(II)和(III)结构的2C化合物:

[0051] 
(I)、

(II)、

(III);

[0052] 及其酸加成盐和前药。本文还提供了包含所述2C化合物的药物组合物和使用所述化合物和药物组合物的治疗方法,例如治疗有需要的受试者的炎症性病症的方法。

[0053] I.化合物

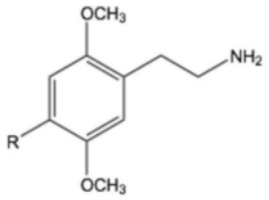
[0054] 致幻性苯乙胺包括具有苯丙胺结构的化合物,其在主环的侧链上有α甲基。这类化合物称为DOx,其结构如下所示,其中R可以是任何合适的基团(例如,甲基、碘、乙基等)。特定的DOx化合物,例如药物(R)-DOI,可以是血清素5-HT_2受体的有效激动剂。

[0055] 
DOx

(R)-DOI

[0056] DOx化合物与5-HT_2受体的结合亲和力通常在低纳摩尔范围内(例如,0.1-10nM;

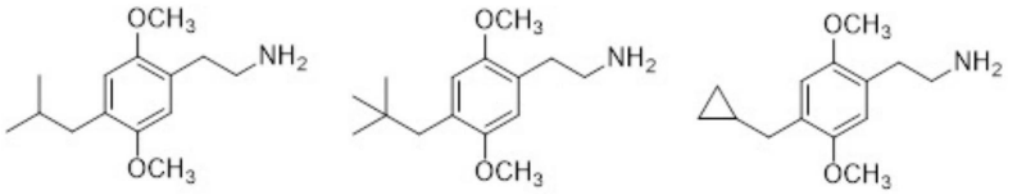
[0057] Nichols,WIREs Membr.Transp.Signal 2012,1:559-579,通过引用并入本文),以及5-HT_{2A}受体处的效应物通路激活例如Gq通路的EC_{50}值可以在低纳摩尔范围内(例如,1-10nM;图3)。

[0058] 第二类化合物在本文中被称为"2Cx化合物",这是指与DOx类相比不存在侧链α甲基。因此,2C侧链包括两个且仅两个碳原子(2C)。2Cx化合物与5-HT_2受体的结合亲和力通常在纳摩尔范围内(例如,1-10nM;Johnson等人,Pharmacol.Biochem.Behav.1990,35(1):211-7,通过引用并入本文),以及5-HT_{2A}受体处的效应物通路激活例如G1通路的EC_{50}值可以在低纳摩尔范围内(例如,1-10nM)并且往往表现出比其DOx对应物更低的效力(图3)

[0059] 

2C化合物

[0060] 本发明提供2C化合物,其中R为$CH_2CH(CH_3)_2$(式(I))、$CH_2C(CH_3)_3$(式(II))、或$CH_2CH(CH_2)_2$(式(III)):

[0061] 

式(I) **式(II)** **式(III)**

[0062] 本发明部分基于发现:这些2C化合物可以具有激活5-HT_{2A}受体的高效力、高抗炎效力,但重要的是,与DOx化合物相比,其影响行为的效力通常更低。因此,本文公开的化合物可提供抗炎功效而不引起由中枢神经系统(CNS)中的作用介导的行为效应。

[0063] 本文还公开了这些化合物的药学上可接受的酸加成盐及其前药。

[0064] II.药物组合物

[0065] 任何上述化合物(例如,式(I)、(II)或(III)的2C化合物)的药物组合物包括含有与无毒的药学上可接受的赋形剂混合的化合物的口服片剂。这些赋形剂可以是例如惰性稀释剂或填充剂(例如蔗糖、山梨糖醇、糖、甘露糖醇、微晶纤维素、淀粉包括马铃薯淀粉、氯化钠或乳糖);造粒剂和崩解剂(例如,纤维素衍生物包括微晶纤维素、淀粉包括马铃薯淀粉、交联羧甲基纤维素钠、海藻酸盐或海藻酸);粘合剂(例如,蔗糖、葡萄糖、山梨糖醇、阿拉伯胶、海藻酸、海藻酸钠、明胶、淀粉、预胶化淀粉、微晶纤维素、硅酸铝镁、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮或聚乙二醇);以及润滑剂、助流剂和抗粘剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸锌、硬脂酸、二氧化硅、氢化植物油或滑石)。其他药学上可接受的赋形剂可以是着色剂、调味剂、增塑剂、湿润剂、缓冲剂等。

[0066] 在一些实施方案中,药学上可接受的赋形剂是至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%纯的。在一些实施方案中,赋形剂被批准用于人类和兽医用途。在

一些实施方案中,赋形剂由美国食品和药物管理局批准。在一些实施方案中,赋形剂是药物级的。在一些实施方案中,赋形剂符合美国药典(USP)、欧洲药典(EP)、英国药典和/或国际药典的标准。

[0067] 在一些实施方案中,药物组合物以适合肺部施用(例如通过口腔)的制剂形式制备、包装和/或销售。这样的制剂可以包括含有活性成分并且直径在约0.5nm至约7nm或约1nm至约6nm范围内的干颗粒。此类组合物方便地为干粉形式,用于使用包括干粉储器的装置施用,推进剂流可被引导至该储器以分散粉末,和/或使用自推进溶剂/粉末分配容器例如包括溶解和/或悬浮在密封容器中的低沸点推进剂中的活性成分的装置施用。此类粉末包括其中至少98重量%的颗粒具有大于0.5nm的直径并且至少95数量%的颗粒具有小于7nm的直径的颗粒。或者,至少95重量%的颗粒具有大于1nm的直径并且至少90数量%的颗粒具有小于6nm的直径的颗粒。干粉组合物可包括固体细粉稀释剂,例如糖,并且方便地以单位剂量提供。

[0068] 低沸点推进剂通常包括在大气压下沸点低于65°F的液体推进剂。推进剂可以构成组合物的50%至99.9%(w/w),活性成分可以构成组合物的0.1%至20%(w/w)。推进剂可进一步包括附加成分,例如液体非离子和/或固体阴离子表面活性剂和/或固体稀释剂(其可具有与包含活性成分的颗粒相同数量级的粒度)。

[0069] 配制用于肺部递送的药物组合物可以提供溶液和/或悬浮液的液滴形式的活性成分。此类制剂可以作为水性和/或稀释的醇溶液和/或悬浮液制备、包装和/或出售,任选地是无菌的,其包括活性成分,并且可以使用任何雾化和/或雾化装置方便地施用。此类制剂还可包括一种或多种附加成分,包括但不限于调味剂如糖精钠、挥发油、缓冲剂、表面活性剂和/或防腐剂如羟基苯甲酸甲酯。通过这种施用途径提供的液滴的平均直径可以在约0.1nm至约200nm的范围内。

[0070] 本文描述为用于肺部递送的制剂可用于药物组合物的鼻内递送。适合鼻内给药的另一种制剂是粗粉,其包括活性成分并且平均颗粒为约0.2μm至500μm。这种制剂以吸入鼻烟的方式施用,即通过鼻道从靠近鼻子的粉末容器快速吸入。

[0071] 例如,适合经鼻施用的制剂可以包括少至约0.1%(w/w)和多至100%(w/w)的活性成分,并且可以包括一种或多种本文所述的附加成分。药物组合物可以以适合肺部施用的制剂制备、包装和/或销售。或者,适用于口腔施用的制剂可包括包含活性成分的粉末和/或气溶胶化和/或雾化溶液和/或悬浮液。此类粉末状、气溶胶化和/或雾化制剂在分散时可具有约0.1nm至约200nm范围内的平均颗粒和/或液滴尺寸,并且还可包含本文所述的任何附加成分中的一种或多种。

[0072] 药物组合物可以是使用常规方法制成的片剂和/或锭剂的形式,并且可以包含从0.1%到20%(w/w)的活性成分,余量包括可口服溶解和/或可降解的组合物,并且任选地,一种或多种本文所述的附加成分。片剂可以是未包衣的或者它们可以通过已知技术进行包衣,任选地以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,从而在更长的时间内提供持续的作用。例如,包衣可以适于以预定模式释放化合物(例如,为了实现控释制剂)或者它可以适于直到通过胃之后才释放化合物。包衣可以是糖衣、膜包衣(例如基于羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、甲基羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、丙烯酸酯共聚物、聚乙二醇和/或聚乙烯吡咯烷酮)或肠溶衣(例如基于甲基丙烯酸共聚物、邻苯二甲酸醋酸纤维素、邻苯二甲酸羟

丙基甲基纤维素、琥珀酸醋酸羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸聚醋酸乙烯酯、虫胶和/或乙基纤维素)。附加地或替代地,可以将延时材料例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯掺入片剂中。

[0073] 固体片剂组合物可包括适于保护化合物免受不希望的化学变化(例如,在化合物释放之前的化学降解)的包衣。包衣可以以与Encyclopedia of Pharmaceutical Technology(J.Swarbrick和J.C.Boylan编辑,1988-1999,Marcel Dekker,纽约)中描述的方式类似的方式施加在固体剂型上。

[0074] 用于口服的药物组合物也可以呈现为咀嚼片,或硬明胶胶囊,其中化合物与惰性固体稀释剂(例如,马铃薯淀粉、乳糖、微晶纤维素、磷酸钙或高岭土)混合,或为软明胶胶囊,其中化合物与水或油介质混合,例如花生油、液体石蜡或橄榄油。可以使用例如混合器、流化床设备或喷雾干燥设备以常规方式使用上述片剂和胶囊中的成分制备粉末和颗粒。

[0075] 适合通过加水制备水悬浮液的粉剂、可分散粉剂或颗粒剂是化合物口服施用的方便剂型。作为悬浮液的制剂提供了与分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂的混合物中的化合物。合适的分散剂或润湿剂是例如天然存在的磷脂(例如,卵磷脂或环氧乙烷与脂肪酸、长链脂肪醇或衍生自脂肪酸的偏酯的缩合产物)和己糖醇或己糖醇酸酐(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯等)。合适的悬浮剂是例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、藻酸钠等。

[0076] 药物组合物还可以通过注射、输注或植入(静脉内、肌肉内、皮下等)以剂型、制剂或通过含有常规的、无毒的药学上可接受的载体和佐剂的合适的递送装置或植入物肠胃外施用。此类组合物的配制和制备是药物制剂领域技术人员公知的。制剂可以在Hayes(Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第I卷和第II卷,第二十二版,费城,2012)中找到。

[0077] 肠胃外使用(例如,静脉内施用)的组合物可以以单位剂型(例如,单剂量安瓿)提供,或以包含若干剂量且其中可添加合适防腐剂的小瓶提供(见下文)。组合物可以是溶液、悬浮液、乳液、输注装置或用于植入的递送装置的形式,或者它可以作为干粉呈现,以在使用前用水或另一种合适的载体重构。除了化合物(例如,具有式(I)、(II)或(III)的结构的化合物)之外,组合物可以包括合适的肠胃外可接受的载体和/或赋形剂。可以将化合物掺入微球、微胶囊、纳米颗粒、脂质体等中以用于控制释放。此外,组合物可包括悬浮剂、增溶剂、稳定剂、pH调节剂和/或分散剂。

[0078] 如本文所述,根据本发明的药物组合物可以是适合于无菌注射的形式。为了制备这样的组合物,将化合物溶解或悬浮在肠胃外可接受的液体载体中。可以使用的可接受的载体和溶剂包括水、通过加入适量的盐酸、氢氧化钠或合适的缓冲剂调节至合适pH的水、1,3-丁二醇、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。水性制剂还可包含一种或多种防腐剂(例如,对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯)。在其中一种化合物仅很少溶于水或微溶于水的情况下,可以加入溶解促进剂或增溶剂,或者溶剂可以包括10-60%w/w的丙二醇等。

[0079] III.方法

[0080] 本文提供使用本文所述的化合物或药物组合物治疗受试者的炎症性病症的方法。治疗炎症性病症的方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物

组合物。例如,治疗炎症性病症的方法包括施用本发明的化合物(例如,具有式(I)、(II)或(III)结构的2C化合物,或其酸加成盐或前药)或其药物组合物。或者,本文的方法通过施用此类化合物或其药物组合物来治疗炎症性病症。

[0081] 治疗效果所需的化合物或组合物的确切量可因受试者而异,这取决于受试者的物种、年龄、体重和一般状况、疾病的严重程度、特定组合物、其施用方式、其活动方式等。根据本公开的药物组合物通常以剂量单位形式配制以易于施用和剂量均匀。然而,应当理解,本公开的组合物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定受试者的特定治疗有效水平将取决于多种因素,包括所治疗的特定炎症性病症及其严重程度;所用特定化合物的活性;采用的具体组合物;受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;所用特定化合物的施用时间、施用途径和排泄率;治疗的持续时间;与所使用的特定化合物组合使用或同时使用的药物;以及医学领域众所周知的类似因素。

[0082] 在任何本文所述方法的一些实施方案中,炎症性病症是哮喘、慢性阻塞性肺病、神经炎症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、银屑病、II型糖尿病、炎性肠病、克罗恩病、多发性硬化、败血症或结膜炎。

[0083] 可以将本文所述的组合物施用于受试者,例如人类患者,或可选地,施用于其他哺乳动物,例如驯养动物、猫、狗、小鼠或大鼠。

[0084] 本文所述的组合物可以通过任何途径施用。在一些实施方案中,本发明的化合物或其药物组合物通过多种途径中的一种或多种施用,包括鼻、口腔、口服、通过吸入(例如,作为口腔喷雾剂、鼻喷雾剂或气雾剂)、静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、皮下、心室内、经皮、皮间、直肠、阴道内、腹膜内、局部(例如,通过粉剂、软膏、乳膏、凝胶、洗剂和/或滴剂)、粘膜、肠内、玻璃体、瘤内、舌下;通过气管内滴注、支气管滴注和/或通过门静脉导管。在一些实施方案中,组合物通过全身静脉注射施用。在具体实施方案中,静脉内和/或口服施用组合物。

[0085] 本发明的化合物可以治疗有效量施用(例如,导致所需治疗效果的量,例如在足以减轻炎症的剂量和引起精神活性作用的剂量(约十倍的差异)之间的治疗窗口内)。在一些实施方案中,化合物以导致循环药物血浆水平为以下的量施用:小于20ng/mL(例如,0.05至20ng/mL,例如,0.1至15ng/mL、0.5至10ng/mL、或0.1至5ng/mL,例如0.05至0.1ng/mL、0.1至0.2ng/mL、0.2至0.3ng/mL、0.3至0.4ng/mL、0.4至0.5ng/mL、0.5至1.0ng/mL、1.0至5ng/mL、5至10ng/mL、10至15ng/mL或15至20ng/mL,例如约0.05ng/mL、0.1ng/mL、0.2ng/mL、0.5ng/mL、1.0ng/mL、2.0ng/mL、2.5ng/mL、5.0ng/mL、7.5ng/mL、10ng/mL、12ng/mL、15ng/mL或20ng/mL),例如在人类受试者中。在一些实施方案中,化合物的循环药物血浆水平低于检测限(例如,0.1ng/mL或更少)。在一些实施方案中,治疗有效量的化合物可以小于约20μg/kg体重(例如,小于20μg/kg、小于15μg/kg、小于10μg/kg或小于5μg/kg体重,例如1到20μg/kg体重,例如1至5μg/kg、5至10μg/kg、10至15μg/kg或15至10μg/kg,例如约5μg/kg、约10μg/kg、约15μg/kg或约20μg/kg)。

[0086] 在某些实施方案中,根据本公开的组合物可以以足以递送以下范围的剂量水平施用:每天约0.0001μg/kg至约100μg/kg、约0.01μg/kg至约50μg/kg、约0.1μg/kg至约40μg/kg、约0.5μg/kg至约30μg/kg、约0.01μg/kg至约10μg/kg、约0.1μg/kg至约10μg/kg或约1μg/kg至约25μg/kg受试者体重,每天一次或多次,以获得期望的治疗效果。可以每天三次、每天

两次、每天一次、每隔一天、每三天、每周、每两周、每三周或每四周递送期望剂量。在一些实施方案中,化合物以每周一次至三次的频率施用(例如,每周一次、每周两次、每周三次、每周四次、每周五次、每周六次、每周七次或更多,例如每天一次、每天两次、每天三次等)。在一些实施方案中,间歇地施用化合物,例如每隔一天、每隔一周、每月一次等。在某些实施方案中,可以使用多次施用(例如,两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次、十一、十二、十三、十四或更多次施用)来递送期望剂量。

[0087] 本文所述的组合物可与一种或多种其他治疗剂、预防剂、诊断剂或成像剂组合使用。"与……组合"并不意味着必须同时施用和/或配制用于一起递送的药剂,尽管这些递送方法在本公开的范围内。药物组合物可以与一种或多种其他期望的治疗或医学程序同时、之前或之后施用。一般而言,每种药剂将以针对该药剂确定的剂量和/或时间表施用。在一些实施方案中,本公开内容包括药物、预防、诊断或成像组合物与改善其生物利用度、减少和/或改变其代谢、抑制其排泄和/或改变其在体内分布的药剂组合的递送。

[0088] 还应理解,组合使用的化合物或组合物可以在单一组合物中一起施用或在不同组合物中分开施用。一般而言,预期组合使用的药剂以不超过它们单独使用的水平的水平使用。在一些实施方案中,组合使用的水平将低于单独使用的水平。

[0089] 实施例

[0090] 提出以下实施例是为了向本领域的普通技术人员提供如何实施、制备和评估本文要求保护的组合物和方法的描述,并且旨在纯粹是本发明的示例而不是旨在限制发明人视为其发明的范围。

[0091] 实施例1.2C-iBu的合成和表征

[0092] 2C-iBu的合成是对如Oberlender等人,J.Med.Chem.1984,27(6),788-792中所述的DOiBu合成路线的修改;通过引用并入本文。简而言之,醛10用硝基甲烷和乙酸铵处理,得到相应的硝基乙烯,为亮黄色针状。用LiAlH4溶液还原硝基乙烯和标准后处理产生胺,将其转化为其盐酸盐并结晶。该合成路线如图1A所示。

[0093] 使用LCUV和LCMS分析评估2C-iBu的纯度。用25%甲醇/25%乙腈/50%H2O将10mM2C-iBu在DMSO中的储备溶液稀释至200μM。通过以相同方式稀释等体积的DMSO制备空白样品。

[0094] 使用以下方法通过LCUV和LCMS分析2C-iBu的稀释样品:

[0095] LCUV

[0096] 流动相A:12mM甲酸铵/6mM甲酸水溶液

[0097] 流动相B:6mM甲酸铵/3mM甲酸水溶液/乙腈(1/9,v/v)

[0098] 色谱柱:Thermo DASH aQ C18,3微米,2.1x 20mm(#25003-022150)

[0099] 梯度程序:

[0100] 表1:

[0101]

时间(min)	%B	流速(mL/min)
0	0	1.5
1.5	90	1.5
2.1	90	1.5
2.2	0	1.5

3.0	0	1.5

[0102] 使用Dionex UltiMate 3000二极管阵列检测器进行检测

[0103] 波长:UV-Vis_1:205nm+/-10nm

[0104] UV-Vis_2:230nm+/-10nm

[0105] UV-Vis_3:260nm+/-10nm

[0106] UV-Vis_4:300nm+/-10nm

[0107] LCMS

[0108] 流动相A:0.1%甲酸水溶液

[0109] 流动相B:0.1%甲酸的乙腈溶液

[0110] 色谱柱:Acquity HSS T3,1.8微米,2.1x 100mm(#186003539)

[0111] 梯度程序:

[0112] 表2:

[0113]

时间(min)	%B	流速(mL/min)
0	5	0.5
1.0	5	0.5
7.0	95	0.5
7.5	95	0.5
8.0	5	0.5
10.0	5	0.5

[0114] 使用Xevo G2 QTof(Waters)质谱仪进行检测

[0115] 采集方法:正极,灵敏度模式,MS^E

[0116] 源温度:150℃

[0117] 脱溶剂温度:475℃

[0118] 毛细管电压:1.5kV

[0119] 采样锥电压:125V

[0120] 提取锥电压:7.0V

[0121] 锥气:100L/h

[0122] 脱溶剂气:500L/h

[0123] 质量范围:100-1000Da

[0124] 图1B显示了在1.1分钟洗脱的单个主要峰。在1.27分钟洗脱的一个小的额外峰出现在2C-iBu色谱图中,而在空白样品中未观察到;然而,LCMS分析并未表明任何显著的分析物在色谱图中的洗脱时间晚于母体。

[0125] 如图1C所示,在LCMS色谱图中观察到4.11分钟的较早洗脱峰,质谱中有219m/z离子。母体化合物在221m/z处具有丰富的母离子,这可能是由于MS源中氨基丢失所致。4.11分钟处的峰可能代表比以相同方式裂解的母体化合物少两个质量单位的杂质。结论是2C-iBu在本研究中使用的方法的检测限内纯度>99%。

[0126] 实施例2.受体药理学

[0127] HEK细胞稳定表达人5-HT_{2A}受体(Braden等,Mol.Pharmacol.2006,70(6):1956-1964;通过引用并入本文)用于确定2C-iBu(表3)和其他化合物(图3)的Gq介导的钙瞬变的

EC_{50}和E_{MAX}值。将细胞在实验前24小时以～50000个细胞/孔接种到96孔聚-D-赖氨酸板并在补充有4％透析胎牛血清的Opti-MEM减少血清培养基中在37℃下培养。在实验当天,将细胞用补充有20mM HEPES的HBSS洗涤一次,加载75μL的用HBSS-HEPES缓冲液稀释的3μM Fluo-4AM(分子探针),室温温育1.5小时,用HBSS-HEPES洗涤两次,并在25℃下保持在50μL HBSS-HEPES中。将载有染料的细胞的板置于FlexStation III酶标仪(Molecular Devices,LLC)中以监测荧光(激发,488nm;发射,525nm;截止,515nm)。扫描开始后30秒,将测试化合物以2x浓度加入50μL的HBSS-HEPES中,同时以2秒的间隔再监测荧光200秒。在获得每个样品的钙动员轨迹后,对测试化合物的钙响应被量化为从基线荧光水平(表示为F)变化的百分比(峰值荧光-基线荧光水平,表示为ΔF);ΔF/F(％)。作为对照,单独缓冲液信号列入基线响应,血清素激动剂峰值信号列入100％响应。使用Graph-Pad Prism 3.0(GraphPad Software,Inc.)执行条形图和曲线拟合程序。

[0128] 为了测量2C-iBu对β-抑制蛋白-2的募集,将HTLA细胞用5-HT_{2A}R-Tango构建体瞬时转染,如Kroeze等人所述(Nat.Struct.Mol.Biol.2015,22:362-369;通过引用并入本文)。接下来,如Kroeze等人所述,通过测量发光来进行PRESTO-Tango募集试验,以确定EC_{50}和E_{MAX}值。结果示于下表3中。

[0129] 表3.受体药理学汇总

[0130]

	单位	Ca^{2+}	β-抑制蛋白-2
EC_{50}	nM	1.3×10^{-9}	5.75×10^{-8}
E_{MAX}	参考配体血清素的%	103%	77%

[0131] DOx vs 2C化合物的直接比较

[0132] 使用上述方法在钙动员和β抑制蛋白的募集方面直接将2C化合物与DOx化合物进行比较。使用GraphPad Prism软件分析数据以确定作为5-HT响应的百分比的E_{MAX}和pEC_{50}。结果显示在下表4和5中。

[0133] 表4.钙动员

[0134]

	E_{MAX} (%)	pEC_{50}		E_{MAX} (%)	pEC_{50}
5-HT	100.00	-8.39			
			2C-NP	76.00	-6.81
DOiBu	90.57	-8.35	**2C-iBu**	87.95	-8.66
R-DOB	79.80	-8.84	**2C-B**	78.00	-8.11
R-DOI	112.40	-8.78	**2C-I**	72.80	-8.14
R-2,5-DMA	108.38	-6.37	**2C-H**	69.50	-6.34
DOiP	73.17	-8.29	**2C-iP**	52.07	-7.59

[0135] 表5.β抑制蛋白募集

[0136]

	E_{MAX} (%)	pEC_{50}		E_{MAX} (%)	pEC_{50}
5-HT	100.00	-6.70			
			2C-NP	*	*
DOiBu	70.19	-8.23	**2C-iBu**	57.44	-7.87
R-DOB	98.14	-7.87	**2C-B**	39.46	-5.99
R-DOI	71.77	-8.22	**2C-I**	*	*
R-2,5-DMA	65.51	-5.12	**2C-H**	10.98	-7.07
DOiP	20.40	-8.24	**2C-iP**	3.46	-7.80

[0137] *未检测活性

[0138] 实施例3.过敏性哮喘模型

[0139] 如Nau等人所述的对过敏性哮喘和全身体积描记方案的卵清蛋白模型的改型(Am.J.Physiol.Lung Cell Mol.Physiol.2015,308(2):L191-L198;通过引用并入本文)用于确定ΔPenh,这是成年雄性Brown Norway大鼠对乙酰甲胆碱激发反应的气道高反应性(AHR)的量度。如图2A-2G所示的结果代表在大鼠卵清蛋白过敏性哮喘测定中测量的PenH变化,图2C除外,其是在小鼠中针对雾化吸入药物测量的。使用2因素ANOVA进行统计,其中用Tukey事后检验进行多重比较。

[0140] 过敏性哮喘被定义为气道的慢性炎症性疾病。这种疾病的特征是气道炎症、持续性气道AHR和间歇性、可逆性气道阻塞。啮齿动物的慢性过敏原暴露已显示重现哮喘的一些标志,包括过敏原依赖性致敏、以嗜酸性粒细胞流入气道粘膜为特征的Th2依赖性过敏性炎

症和AHR。

[0141] 如图2A所示,用(R)-DOI治疗证明了在预防AHR方面的全部功效以响应过敏原OVA,如通过大鼠中的PenH测量的。幼稚(蓝线)和(R)-DOI+OVA(红线)组之间的PenH值之间没有统计学差异。如图2B所示,与R-DOI相比,含有氨基修饰的25I-NBOMe表现出降低的效力。尽管25I-NBOMe降低了PenH,但PenH比幼稚对照显著升高。如图2C所示,将R-DOI中碘的4-位改变为溴(从而获得DOB)不降低效力。然而,环化2,5,二甲氧基并去除α碳降低了效力(图2D),正如环化和硬化侧链以获得TCB-2(图2E)一样。尽管TCB-2降低了PenH,但它仍然比幼稚对照显著升高。如图2F所示,用三氟甲基取代4位消除了效力。在PenH值方面,OVA和药物+OVA组之间没有统计学差异。图2G显示,与(R)-DOI相比,去除α碳和在4-位放置异丁基以获得2C-iBu不会导致效力降低。该结果代表了完全有效的抗炎作用,以阻止支气管炎症,否则会引起对乙酰甲胆碱的反应增加。

[0142] 0.5mg/kg剂量的各种DOx和2Cx化合物在大鼠中预防AHR的功效的总结在图3中提供。计算每个测试组、幼稚、OVA治疗和OVA+药物治疗动物的对乙酰甲胆碱增量剂量的响应的PenH值曲线下面积(PenH-AUC)。PenH-AUC值降低超过对照值(仅OVA)的75%被注释为强功效。中等功效是25-75%的抑制,低于25%的抑制被注释为无效。除了该信息之外,还提供了在基于5-HT_{2A}R异源细胞的钙瞬变测定中测试化合物的相对于R-DOI EC_{50}值(比率)。此外还提供了每种化合物相对于R-DOI对人体的精神活性剂量的估计比率。图3说明了苯乙胺类化合物对炎症介导的过敏原诱导的AHR的治疗功效的非相关性质,以及这些化合物在人类中经历的精神获得障碍所需剂量或这些化合物在钙瞬变测定中对5-HT_{2A}R的效力和强度的报告证据。

[0143] ΔPenh的抑制作为2C-iBu浓度的函数是通过将2C-iBu仅通过鼻腔雾化施用至雄性成年Brown Norway大鼠来研究的,如上所述。结果示于图4。对于ΔPenh,在2C-iBu的给定剂量下,每个治疗组的曲线下面积绘制在Y轴上,而2C-iBu的浓度绘制在X轴上。ED_{50}为0.0027mg/kg,与(R)-DOI一样有效力。总之,本实施例中显示的结果表明2C-iBu表现出与(R)-DOI相似的效力。

[0144] 实施例4.行为研究

[0145] 头部抽搐反应(HTR)可用作啮齿类动物的行为代体,用于人类致幻作用,因为它可以可靠地区分致幻和非致幻5-HT_{2A}受体激动剂。与致幻剂的鉴别刺激作用类似,HTR可作为5-HT_{2A}激活的行为读数,并可用于比较5-HT_{2A}受体激动剂的体内效力。在C57BL/6J小鼠中使用(R)-DOI和2C-iBu进行HTR研究。

[0146] 材料和方法

[0147] 以下方法用于获得本实施例中报告的结果。

[0148] 动物

[0149] 从Jackson Laboratories(Bar Harbor,ME,USA)获得的雄性C57BL/6J小鼠(6-8周大)以每笼最多四只装在逆光循环的气候控制的室中(灯在1900h开,在0700h关)并提供随意获取食物和水,行为测试期间除外。测试在1000和1800h之间进行。

[0150] 药物

[0151] 药物剂量基于当量游离碱重量。测试物质溶解在无菌等渗盐水中,并以5mL/kg的体积皮下注射(SC)。

[0152] 头部抽搐反应研究

[0153] 根据已知方法,使用头戴式磁体和磁力计检测线圈评估HTR。简而言之,将小鼠麻醉,在头皮上做一个小切口,并使用牙科水泥将一个小的钕磁铁附着在颅骨的背面。经过两周的恢复期后,HTR实验在光线充足的室内进行,阶段之间至少有七天,以避免遗留效应。在测试前立即注射测试化合物。给小鼠注射药物或载体,然后在被磁力计线圈包围的玻璃圆柱体中记录HTR活动。使用带有LabChart v 7.3.2(ADInstruments,Colorado Springs,CO,USA)的Powerlab/8SP对线圈电压进行低通滤波(2-10kHz截止频率)、放大和数字化(20kHz采样率),然后进行离线滤波(40-200Hz带通)。根据以下标准手动识别头部抽搐:1)正弦小波;2)至少三个连续头部运动的证据(通常表现为双极峰值),频率≥40Hz;3)幅度超过背景噪声水平;4)持续时间<0.15s;和5)紧接在每个响应之前和之后的稳定线圈电压。

[0154] 实验设计和数据分析

[0155] 实验1.五组小鼠(n=6/组,总共30只)用载体或R-DOI(0.1、0.3、1或3mg/kg)处理,并评估HTR活性30分钟。实验2.五组小鼠(n=6-7/组,总共34只)用载体或2C-iBu(0.3、1、3或10mg/kg)处理,并评估HTR活性30分钟。实验3.两组小鼠(n=7/组,总共14只)用R-DOI(1mg/kg)或2C-iBu(3mg/kg)处理,并评估HTR活性210分钟。

[0156] 对于实验1和实验2,检查整个三十分钟记录的头部抽搐,使用单因素方差分析(ANOVA),分析头部抽搐计数。此外,使用单因素ANOVA在两分钟的时间段内分析HTR计数,时间作为重复测量。选定组之间的事后成对比较使用Tukey的学生化范围(studentized range)方法进行。超过0.05的α水平证明了显著性。

[0157] 通过非线性回归(Prism 7.00,GraphPad Software,San Diego,CA,USA)计算中位有效剂量(ED_{50}值)和95%置信区间(95%CI)。高斯分布用于拟合双相HTR剂量反应数据:

[0158] $$E = 基线 + 范围 \times e^{-\left[\frac{\log[A]-midA}{斜率}\right]^2}$$

[0159] $$midA = \log ED_{50} + 斜率\sqrt{-\ln(0.5)}$$

[0160] 在这些方程中,E是药物作用,基线是对照组的反应,范围是基线到曲线顶部的距离,[A]是药物剂量,midA是对应于曲线顶部的剂量的对数。为了确定各个化合物之间是否存在效力差异,使用额外平方和F检验比较了ED_{50}值。超过0.05的α水平证明了显著性。

[0161] 对于实验3,在5分钟的时间段内检查HTR计数。为了确定药物反应的半衰期,数据的下降阶段用单相指数衰减函数拟合。R-(-)-DOI(1mg/kg)或ELEU02产生的反应使用单因素ANOVA分析,时间作为重复测量。使用Sidak的多重比较检验进行组间事后成对比较。超过0.05的α水平证明了显著性。

[0162] 结果

[0163] 实验1

[0164] 表6.R-DOI诱导的HTR

[0165]

剂量(mg/kg)	平均	SEM	N
0	8.7	1.1	6
0.1	46.5	4.4	6
0.3	78.8**	10.6	6
1	128.0**	13.2	6

3	116.0**	24.1	6

[0166] **p<0.01vs.载体对照,Tukey检验。

[0167] R-DOI的施用产生了HTR计数的剂量依赖性增加(F(4,25)=13.70,p<0.0001;图5A和

[0168] 表6)。R-DOI诱导的HTR遵循倒U形的剂量反应函数,在施用1mg/kg后出现峰值反应(128.0±13.2[平均值±SEM]计数/30分钟)。

[0169] R-DOI以0.20(95%CI 0.11-0.35)mg/kg的ED_{50}诱导HTR。基于摩尔质量,R-DOI的ED_{50}为0.63(95%CI 0.35-1.10)μmol/kg。有趣的是,当R-(-)-DOI在其他相同的实验条件下IP施用时,它诱导HTR的ED_{50}为0.66(95%CI 0.47-0.93)μmol/kg。使用额外平方和F检验比较ED_{50}值证实R-DOI的效力不受其施用途径的显著影响(F(1,52)=0.03,p=0.87)。

[0170] 对R-DOI的响应也在两分钟的时间段内进行了分析。如图5B所示,对R-DOI的响应是时间依赖性的(药物×时间:F(56,350)=2.93,p<0.0001)。注射和最大作用之间的间隔与R-DOI的剂量成反比。最大响应发生在施用0.3mg/kg后24-26分钟、施用1mg/kg后4-6分钟和施用3mg/kg后2-4分钟。

[0171] 实验2

[0172] 表7.2C-iBu诱导的HTR

[0173]

剂量(mg/kg)	平均	SEM	N
0	6.6	1.6	7
0.3	30.8	3.7	6
1	74.4**	4.9	7
3	111.1**	4.7	7
10	43.4*	14.8	7

[0174] *p<0.05,**p<0.01vs.载体对照,Tukey检验。

[0175] 2C-iBu的施用产生了HTR计数的剂量依赖性增加(F(4,29)=28.36,p<0.0001;图6A)。与R-DOI相似,2C-iBu诱导的HTR遵循倒U形的剂量反应函数,在施用3mg/kg后出现峰值反应(111.1±4.7计数/30分钟)。

[0176] 2C-iBu以0.70(95%CI 0.52-0.93)mg/kg的ED_{50}诱导HTR。基于摩尔质量,2C-iBu的ED_{50}为2.17(95%CI 1.63-2.89)μmol/kg,这意味着它的行为效力比R-DOI低约3倍。额外平方和F检验证实2C-iBu的行为效力明显低于R-DOI(F(1,58)=12.92,p=0.0007)。

[0177] 对2C-iBu的响应也在两分钟的时间段内进行了分析。如图6B所示,对2C-iBu的响应是时间依赖性的(药物×时间:F(56,406)=3.80,p<0.0001)。注射和最大作用之间的间隔与2C-iBu的剂量成反比。最大响应发生在1mg/kg施用后24-28分钟、3mg/kg施用后18-24分钟和10mg/kg施用后2-4分钟。

[0178] 实验3

[0179] 接下来,表征了由R-DOI和2C-iBu产生的响应的时间过程。在本实验中,小鼠接受了最大有效剂量的R-DOI(1mg/kg SC)和2C-iBu(3mg/kg SC),并连续监测HTR活性210分钟。

[0180] 由1mg/kg R-DOI诱导的HTR在施用后5-10分钟达到峰值(23.3±3.5计数/5min),然后在剩余的测试阶段逐渐减小(图7)。使用单相指数衰减函数拟合峰值后的数据显示响应的半衰期为84.64min(95% CI:77.65-93.0min;r^2=0.684)。

[0181] 由3mg/kg 2C-iBu诱导的HTR在施用后20-25min达到峰值(20.1±3.5计数/5min),然后在剩余的测试阶段逐渐减小(图7)。使用单相指数衰减函数拟合峰值后的数据显示响应的半衰期为111.4min(95% CI:100.1-125.4min;r^2=0.5709)。

[0182] 除了分析R-DOI和2C-iBu产生的响应的时间过程之外,我们还直接比较了它们的影响。虽然没有药物治疗的主效应(F(1,12)=0.33,p=0.58),但存在时间的主效应(F(41,192)=39.55,p<0.0001)和药物治疗和时间之间的显著相互作用(F(41,492)=4.36,p<0.0001)。事后成对比较表明,R-DOI和2C-iBu在第一个和第二个五分钟时间段内的效应之间只有显著差异(p<0.0001,Sidak的多重比较检验)。

[0183] 这些数据表明,在5-HT_{2A}受体介导的精神活动的啮齿动物模型中,2C-iBu在引发头部抽搐反应方面的效力比R-DOI低三倍。此外,与R-DOI相比,2C-iBu在引发头部抽搐行为方面表现出显著的达到峰值响应的时间延迟。另一方面,实施例3证明2C-iBu在降低啮齿动物哮喘炎症模型中的AHR方面的治疗效力类似于R-DOI。因此,虽然2C-iBu在炎症疾病模型中保留了感兴趣的治疗特性,但这些结果表明,该化合物在引发不良心理作用方面与R-DOI不同。

[0184] 实施例5.5-HT受体结合研究

[0185] 本实施例描述了在各种5-HT受体的结合测定中测试R-DOI和2C-iBu。使用Cerep Eurofins Discovery的标准条件和金标准过滤方法,使用表8中所示的配体,在来自膜制备的重组表达的人类受体处评估平衡时的放射性配体结合,这是根据Auld等人所述的普遍接受的方法(Receptor Binding Assays for HTS and Drug Discovery.2012.In:Sittampalam et al.,editors.Assay Guidance Manual[Internet],Bethesda(MD):Eli Lilly&Company and the National Center for Advancing Translational Sciences;2004)。在竞争性结合条件下,以几种浓度滴定和测试每种测试化合物以确定半数最大抑制浓度(IC50)及其表观结合亲和力(平衡解离常数(Ki))。IC50值(引起对照特异性结合的半最大抑制的浓度)和Hill系数(nH)通过使用Hill方程曲线拟合以平均重复值生成的竞争曲线的非线性回归分析确定。该分析使用Cerep开发的软件(Hill软件)进行,并通过与商业软件Windows®版SigmaPlot®4.0(©1997,SPSS Inc.)生成的数据进行比较来验证。使用Cheng Prusoff方程计算抑制常数(Ki)。pKi值计算为平衡解离常数Ki(摩尔浓度单位)以10为底的负对数,列于下表8。表9显示了在大体相似的实验条件下测试的每种受体的一种参考配体的实例pIC50。通常,两种测试化合物的pKi值表明,与内源性配体血清素相比,对其主要或共同主要受体靶标的亲和力更大。R-DOI对5-HT受体的表观亲和力的特异性为_2A>_2C>_2B>>_1A=_1B。2C-iBu对5-HT受体的表观亲和力的特异性为_2C>_2A>_2B>_1A=_1B=_1C>_7>_6。

[0186] 表8:

[0187]

测定	(2C-iBu)pKi	(R-DOI)pKi
5-HT1A(h)(激动剂放射性配体,[3H]8-OH-DPAT)	7.1	5.9
5-HT1B(拮抗剂放射性配体,[125I]CYP)	7.3	5.6
5-HT1D(激动剂放射性配体,[3H]血清素)	7.2	未测试
5-HT2A(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	8.9	10.4
5-HT2B(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	7.8	8.6

5-HT2C(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	9.6	9.2
5-HT6(h)(激动剂放射性配体,[3H]LSD)	5.9	未测试
5-HT7(h)(激动剂放射性配体,[3H]LSD)	6.5	未测试

[0188] 表9:

[0189]

测定	配体	pIC50
5-HT1A(h)(激动剂放射性配体,[3H]8-OH-DPAT)	8-OH-DPAT	8.7
5-HT1B(拮抗剂放射性配体,[125I]CYP)	血清素	6.7
5-HT1D(激动剂放射性配体,[3H]血清素)	血清素	8.7
5-HT2A(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	血清素	8
5-HT2B(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	血清素	8.7
5-HT2C(h)(激动剂放射性配体,[125I](±)DOI)	血清素	8.6
5-HT6(h)(激动剂放射性配体,[3H]LSD)	血清素	6.8
5-HT7(h)(激动剂放射性配体,[3H]LSD)	血清素	9.4

[0190] 实施例6.R-DOI和2C-ibu的毒性研究

[0191] 进行了体外蛋白质结合、吸收和微粒体内在清除研究,以比较R-DOI和2C-iBu之间的许多体外ADME/毒性指标。每种测定都经过标准化,方法经过验证,以满足药物开发中非GLP研究的接受标准,并按照Chung等人所述的普遍接受的方法(In Vitro and In Vivo Assessment of ADME and PK Properties During Lead Selection and Lead Optimization-

[0192] Guidelines,Benchmarks and Rules of Thumb.2015;In:Sittampalam et al.Assay Guidance Manual[Internet].Bethesda(MD):Eli Lilly&Company and the National Center for Advancing Translational Sciences;2004)。

[0193] 使用人血浆中的测试化合物(R-DOI或2C-iBu)进行体外蛋白质结合测定。R-DOI和2C-iBu均以1.0x 10^{-5}M的浓度进行测试。结果显示在下表10中。

[0194] 表10:蛋白质结合测定结果

[0195]

	%蛋白质结合			%恢复		
	1st	2nd	平均	1st	2nd	平均
R-DOI	47.5	49.6	49	126	126	126
2C-iBu	73.7	74.5	74	107	105	106

[0196] 使用在pH 6.5/7.4下与Caco-2细胞温育的测试化合物(R-DOI或2C-iBu)进行体外吸收测定。R-DOI和2C-iBu均以1.0x 10^{-5}M的浓度进行测试。结果显示在下表11中。

[0197] 表11:吸收测定结果

[0198]

	渗透率(10^{-8} cm/s)			%恢复		
	1st	2nd	平均	1st	2nd	平均
A-B 渗透率						
R-DOI	23.66	23.20	23.4	72	72	72
2C-ibu	10.90	10.57	10.7	45	48	46
B-A 渗透率						
R-DOI	19.15	19.27	19.2	87	88	87
2C-ibu	7.87	7.92	7.9	70	72	71

[0199] 使用在不同时间(0分钟、15分钟、30分钟、45分钟和60分钟)与人肝微粒体温育的测试化合物(R-DOI或2C-iBu)进行体外代谢测定以测试内在清除率。R-DOI和2C-iBu均以1.0x 10^{-7}M的浓度进行测试。结果显示在下表12中。

[0200] 表12:体外代谢结果

[0201]

[0202]

	温育时间	%剩余化合物			半衰期(分钟)			CIint
		1st	2nd	平均	1st	2nd	平均	
R-DOI	0	100	100	100	138.7	187.6	>60	<115.5
	15	90.0	101.6	96				
	30	79.6	105.3	92				
	45	77.0	82.1	80				
	60	74.3	{91.4}	74				
2C-iBu	0	100	100	100	>60	1016.4	>60	<115.5
	15	91.0	{126.7}	91				
	30	113.6	114.2	114				
	45	105.3	106.5	106				
	60	94.1	94.2	94				

[0203] 总之,两种化合物在PBS和模拟肠液水性环境中的最大测试浓度为200微摩尔时具有完全溶解度。与R-DOI相比,2C-iBu显示出亲水特性降低,生理pH值下的logD从R-DOI的1.04增加到2C-iBu的1.64。这种物理化学性质的差异可能是观察到的2Ci-Bu血浆蛋白结合能力与R-DOI相比增强以及Caco-2 A-B/B-A渗透率曲线适度变化的驱动因素之一。R-DOI和2C-iBu都是代谢稳定的化合物,在人肝微粒体内在清除测定中Clint<115.5。

[0204] 实施例7.治疗炎症性关节炎的概念论证研究

[0205] 胶原诱导性关节炎是人类风湿性关节炎的动物模型。用II型胶原蛋白(CII)(例如牛CII)免疫小鼠。该模型概括了许多表征人类风湿性关节炎的先天性和适应性免疫机制,并已用于测试随后开发为人类疗法的治疗方法。

[0206] 在C57/B16小鼠中分三个步骤诱导关节炎。在第0天用完全弗氏佐剂中的牛CII皮

下施用(s.c.)免疫小鼠。在第21天,用悬浮在不完全弗氏佐剂中的CII进行s.c.施用第二次免疫。最后,在第24天,将25μg脂多糖通过腹腔注射施用。

[0207] 对小鼠通过尾静脉注射2C化合物每周给药两次,在施用的剂量和频率下,其剂量已被证实为非行为有效,例如,根据本文所述的方法。对照小鼠未用CII免疫且未接受治疗或安慰剂。在10%到30%的小鼠出现关节炎后开始治疗。

[0208] 每天通过累积疾病评分评估小鼠。前三周每周给小鼠称重一次或两次,每周测量两次爪子厚度。采集血液、淋巴结、脾脏和关节用于组织病理学和免疫学分析,包括血液中抗CII抗体的滴度和细胞表达并在血液中循环的其他炎症标志物,如炎症细胞因子。

[0209] 与对照小鼠相比,接受2C化合物的小鼠表现出较低的累积评分、较低的关节炎肢体频率和较低的平均爪子厚度。与对照小鼠相比,接受2C化合物的小鼠还具有较低水平的抗CII抗体(例如IgG2a)和促炎标志物,例如活化的免疫细胞和循环炎症细胞因子。

[0210] 实施例8.治疗多发性硬化症的概念论证研究

[0211] 实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)是一种多发性硬化症小鼠模型,它与多种自身免疫性疾病共享许多致病基础。本实施例概述了用2C化合物处理EAE。

[0212] 通过皮下注射在完全弗氏佐剂中的200μg MOG_{35-55}在C57BL/6小鼠中诱导EAE。此外,在第0天和第2天腹膜内(i.p.)施用200ng百日咳毒素。

[0213] 2C化合物以经证实为非行为有效的量和频率静脉内施用,例如,使用本文所述的任何方法。从第10天开始一直持续到第24天,每天监测小鼠的EAE临床迹象。EAE评分如下:0、无疾病迹象;1、尾部失音;2、后肢不全性麻痹;3、后肢麻痹;4、四肢瘫痪;和5、垂死。计算每组小鼠的平均分数。在实验结束时,收获脑、淋巴结和脾脏,并进行以下实验以评估2C化合物的免疫学效果:

[0214] 脾脏被分解成单细胞悬液,并用浓度为1、10或100μg/mL的MOG_{35-55}肽刺激以测量免疫回忆。72小时后使用MTT细胞增殖试验测量细胞增殖。收获脑和脊髓并分离成单细胞悬液。使用磁珠分离T细胞,用针对白细胞介素17(IL-17)和干扰素γ(IFNγ)的抗体染色,并通过流式细胞术进行分析。

[0215] 与对照小鼠相比,接受亚行为剂量的2C化合物的小鼠表现出对MOG_{35-55}肽的较低回忆反应,例如,如使用MTT测定以较低的细胞增殖为特征的。与对照小鼠相比,接受亚行为剂量的2C化合物的小鼠大脑和脊髓组织的T细胞表达较低量的炎症标志物,例如IL-17和IFNγ。

[0216] 其他实施方案

[0217] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均以引用方式并入本文,其程度就如同每个独立出版物或专利申请被具体地和单独地指示为以引用方式并入一样。

[0218] 尽管本发明已经结合其特定实施方案进行了描述,但是应当理解,它能够进行进一步的修改,并且本申请旨在涵盖本发明的任何变化、使用或修改,其通常遵循本发明的原理并包括在本发明所属领域内的已知或惯用实践范围内的与本公开内容的偏离,并且可以应用于上文阐述的基本特征,并且在权利要求的范围内。

[0219] 其他实施方案在权利要求内。

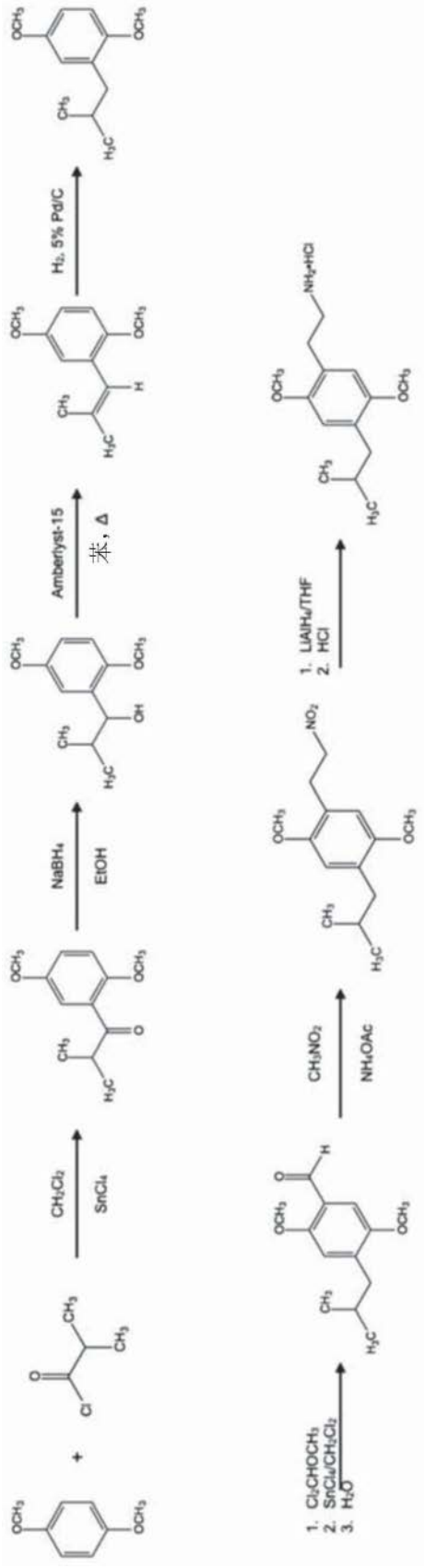

1. Cl2CHOCH3
2. SnCl4/CH2Cl2
3. H2O
CH3NO2
NH4OAc
1. LiAlH4/THF
2. HCl
CH2Cl2
SnCl4
NaBH4
EtOH
Amberlyst-15
苯, Δ
H2, 5% Pd/C

图1A

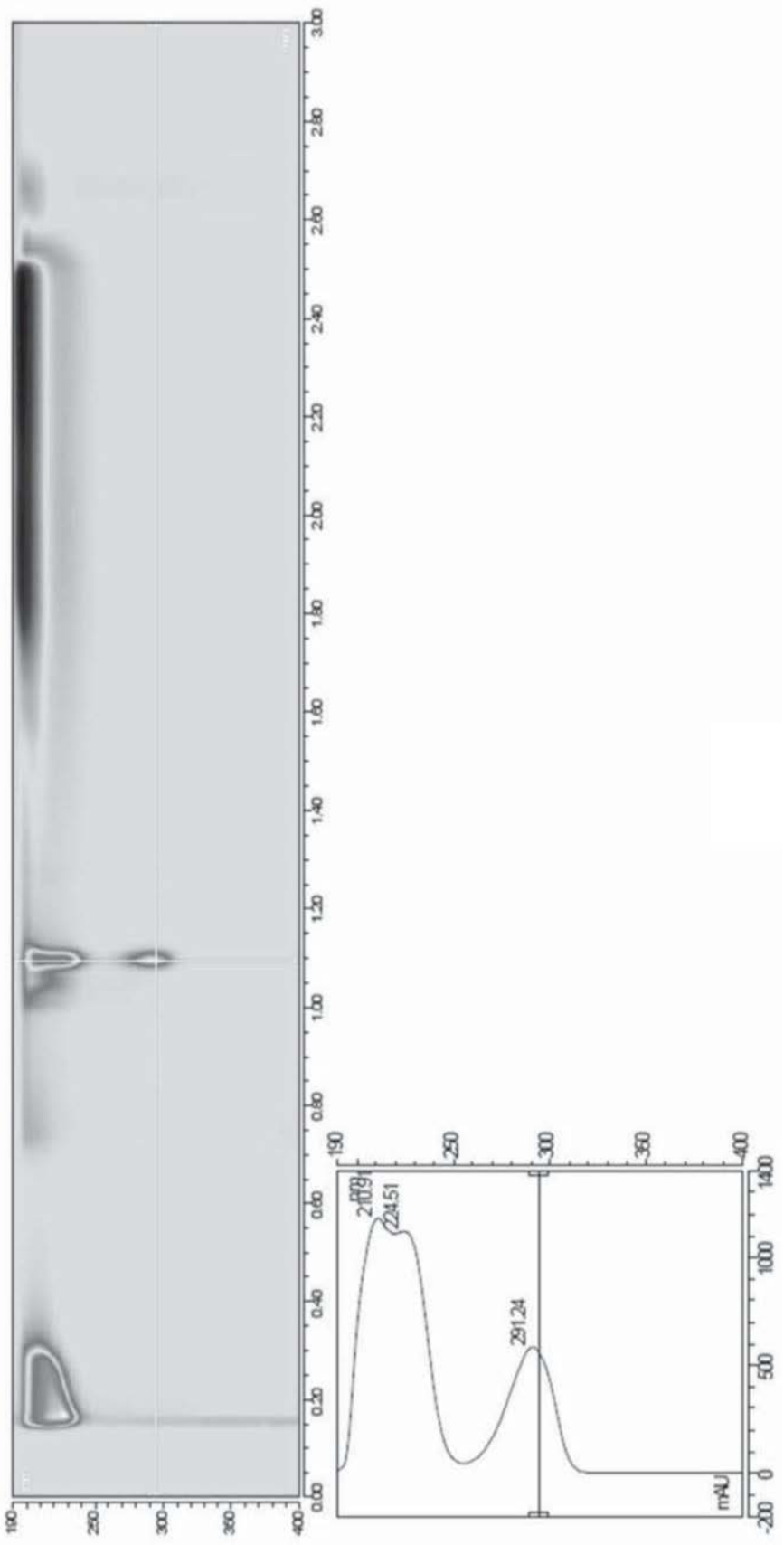

3.00
2.80
2.60
2.40
2.20
2.00
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
190
250
300
360
400
210.94
224.51
291.24
1400
1000
500
0
-200
mAU

图1B

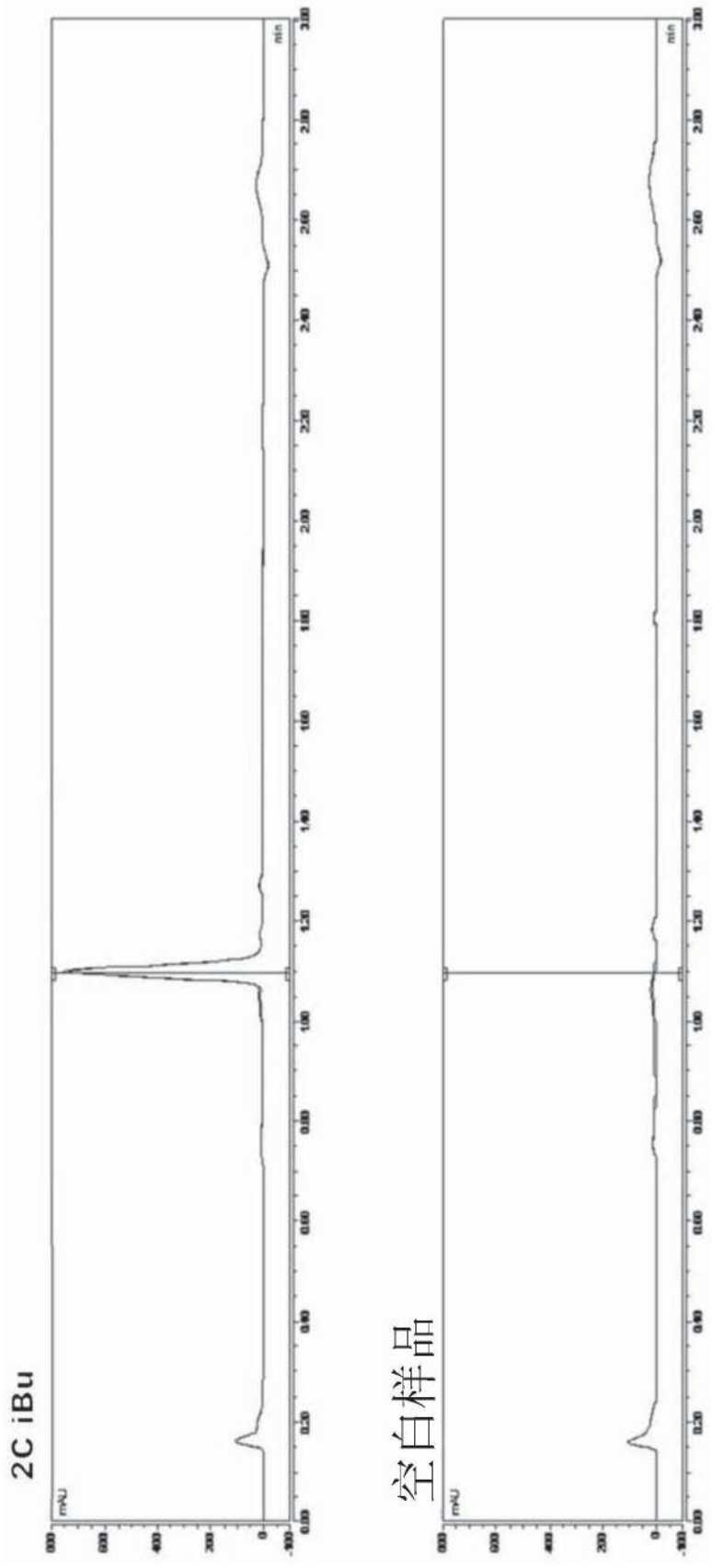


图1B-续

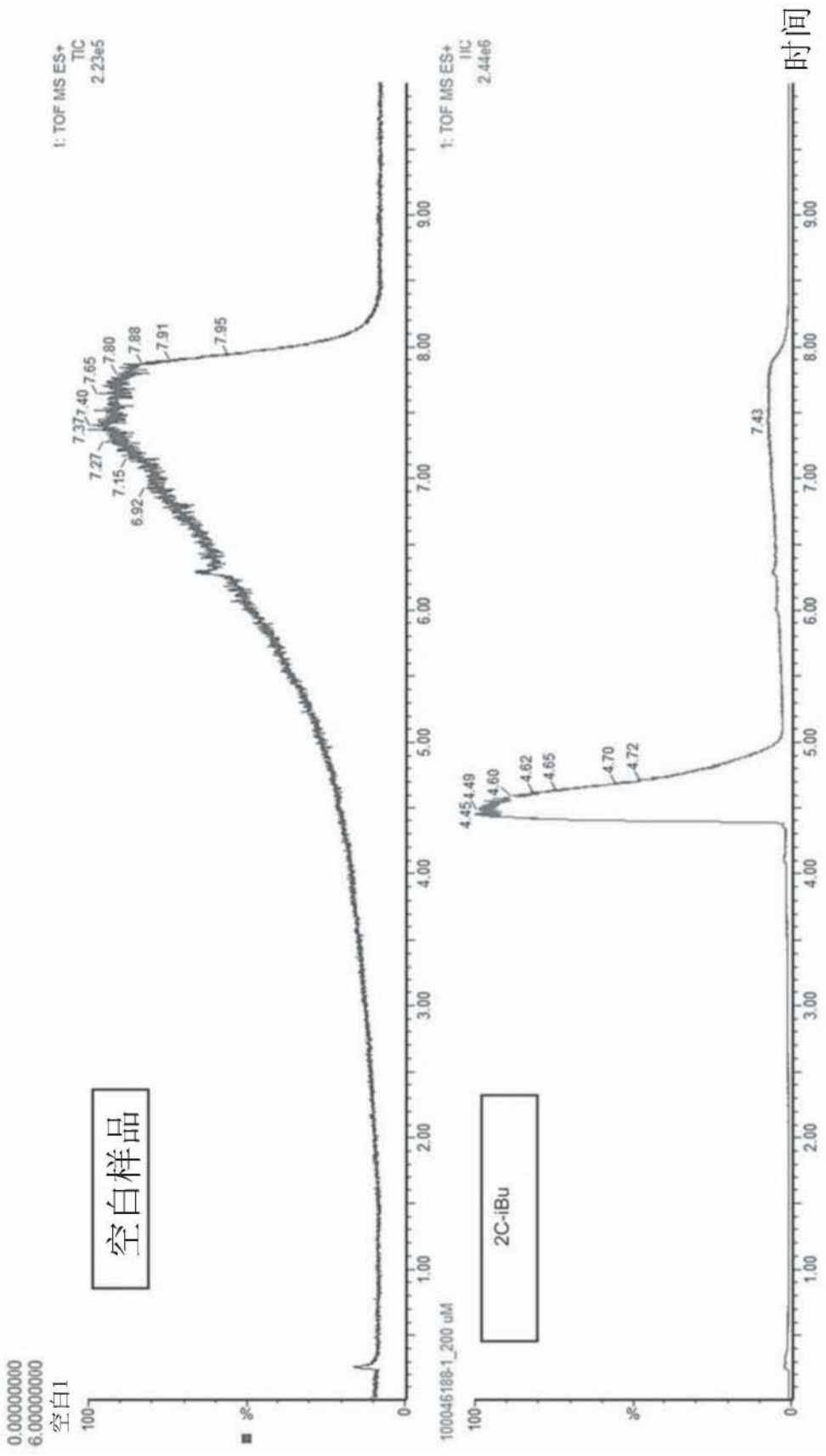

空白样品
2C-iBu
时间
1: TOF MS ES+
TIC
2.23e5
1: TOF MS ES+
TIC
2.44e6
空白1
10004618-1_200 uM
0.00000000
6.00000000
100
0
1.00
2.00
3.00
4.00
5.00
6.00
7.00
8.00
9.00
7.95
7.91
7.88
7.80
7.65
7.40
7.37
7.27
7.15
6.92
7.43
4.72
4.70
4.65
4.62
4.60
4.49
4.45

图1C

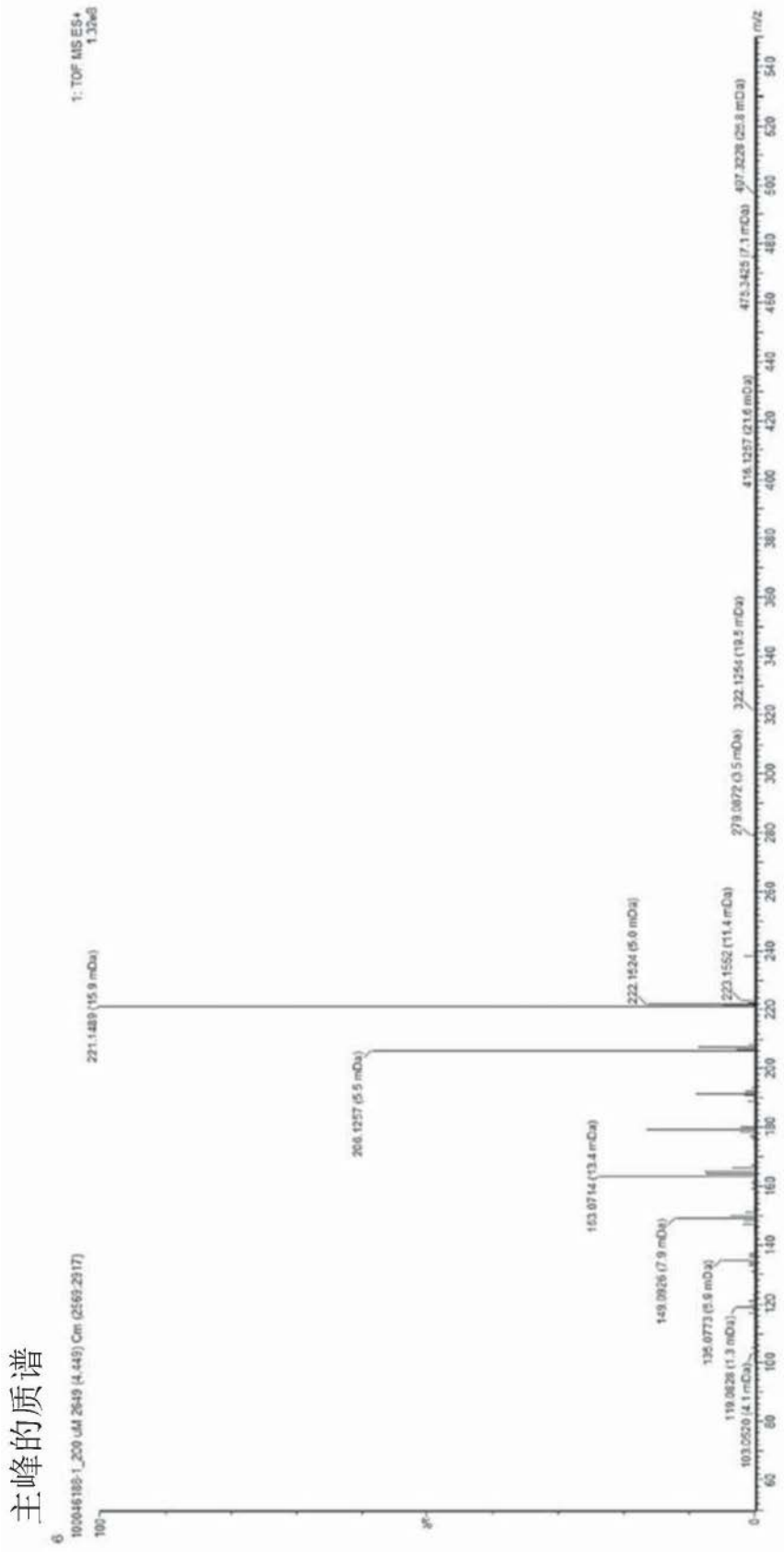

主峰的质谱
1: TOF MS ES+
1.33e8
m/z
100
%
0
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420
440
460
480
500
520
540
221.1489 (15.9 mDa)
222.1524 (5.0 mDa)
223.1552 (11.4 mDa)
206.1257 (5.5 mDa)
153.0714 (13.4 mDa)
149.0926 (7.9 mDa)
135.0773 (5.9 mDa)
119.0829 (1.3 mDa)
103.0520 (4.1 mDa)
279.0872 (3.5 mDa)
322.1254 (19.5 mDa)
416.1257 (21.6 mDa)
475.3425 (7.1 mDa)
497.3228 (25.8 mDa)

图1C-续

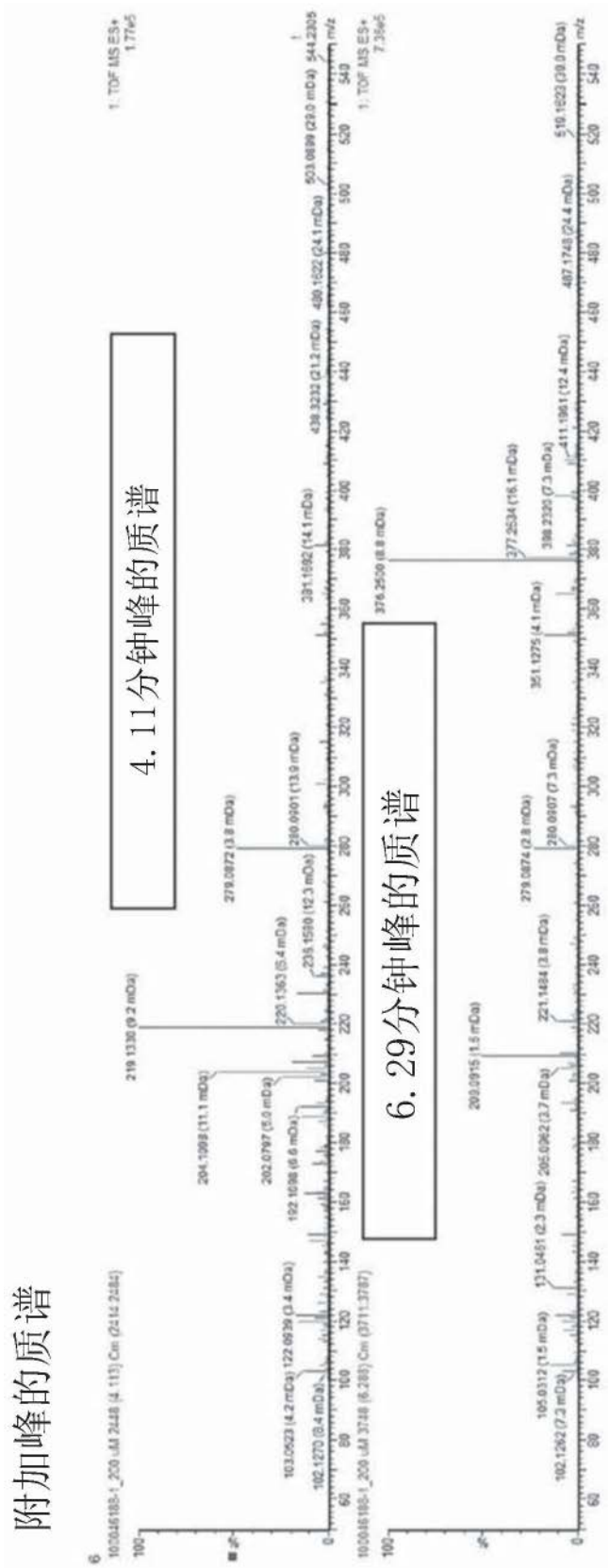


图1C-续

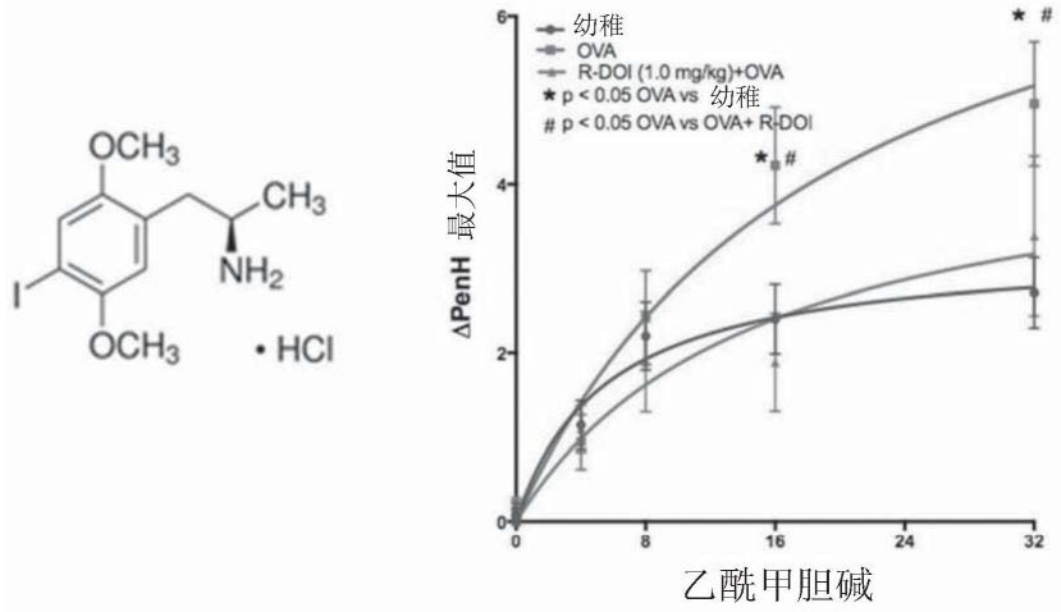

OCH3
CH3
NH2
I
OCH3
• HCl
幼稚
OVA
R-DOI (1.0 mg/kg)+OVA
★ p < 0.05 OVA vs 幼稚
# p < 0.05 OVA vs OVA+ R-DOI
ΔPenH 最大值
乙酰甲胆碱

图2A

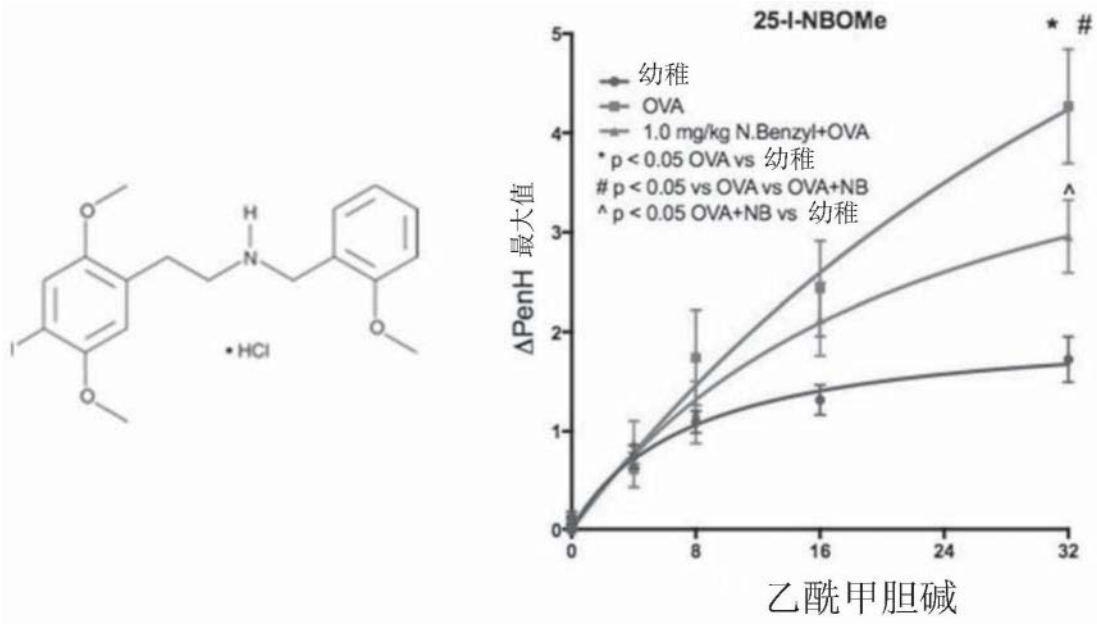

25-I-NBOMe
幼稚
OVA
1.0 mg/kg N.Benzyl+OVA
* p < 0.05 OVA vs 幼稚
# p < 0.05 vs OVA vs OVA+NB
^ p < 0.05 OVA+NB vs 幼稚
ΔPenH 最大值
乙酰甲胆碱

图2B

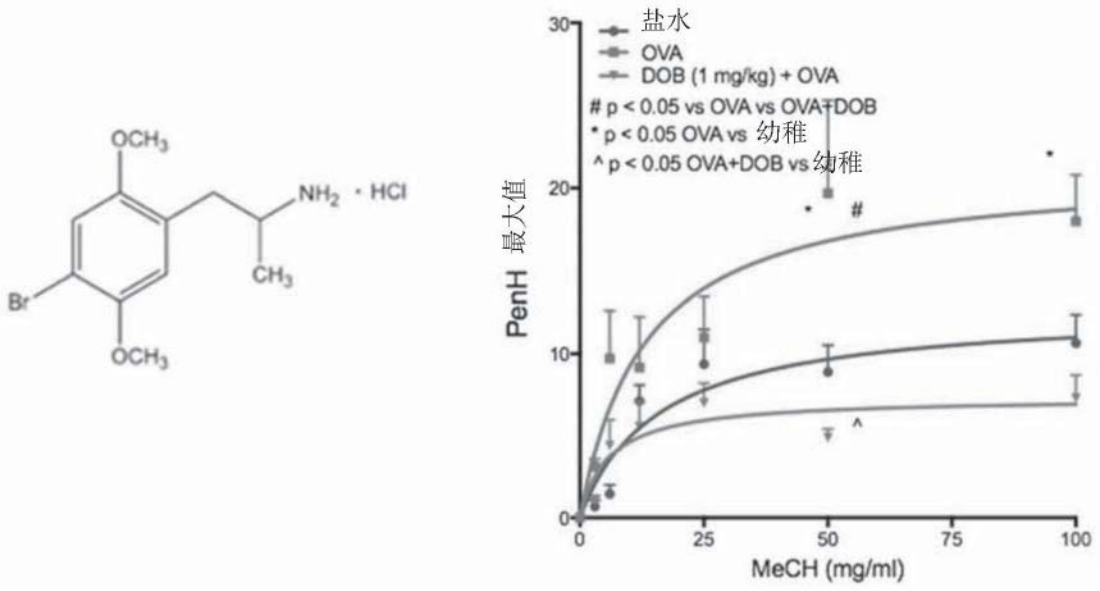

OCH3
NH2 · HCl
CH3
Br
OCH3
盐水
OVA
DOB (1 mg/kg) + OVA
# p < 0.05 vs OVA vs OVA+DOB
* p < 0.05 OVA vs 幼稚
^ p < 0.05 OVA+DOB vs 幼稚
PenH 最大值
MeCH (mg/ml)
0
10
20
30
0
25
50
75
100

图2C

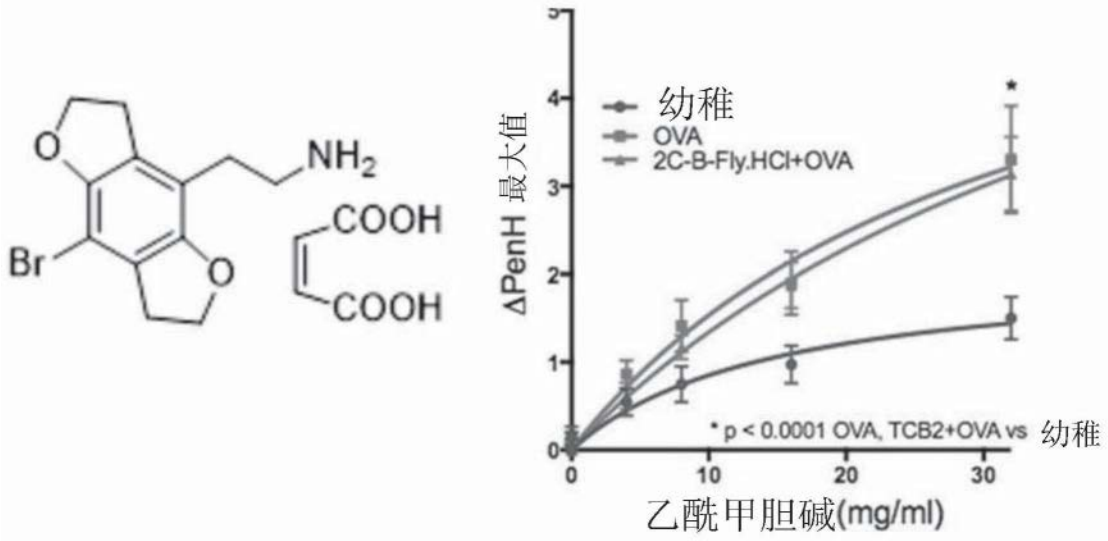

O
NH2
COOH
Br
O
COOH
幼稚
OVA
2C-B-Fly.HCl+OVA
ΔPenH 最大值
* p < 0.0001 OVA, TCB2+OVA vs 幼稚
乙酰甲胆碱(mg/ml)
0
1
2
3
4
0
10
20
30

图2D

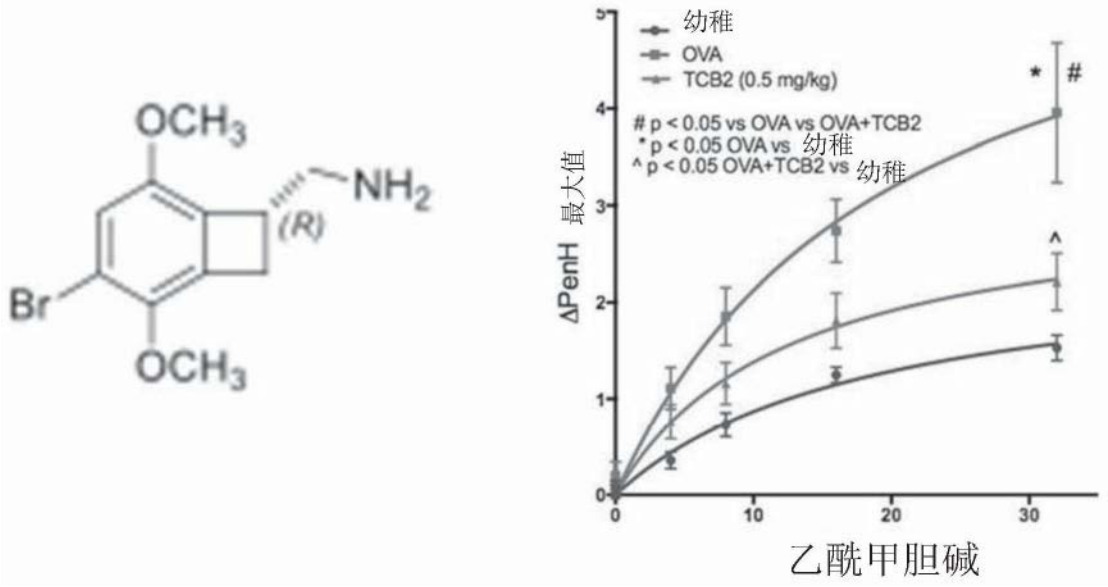

OCH3
NH2
(R)
Br
OCH3
幼稚
OVA
TCB2 (0.5 mg/kg)
# p < 0.05 vs OVA vs OVA+TCB2
* p < 0.05 OVA vs 幼稚
^ p < 0.05 OVA+TCB2 vs 幼稚
ΔPenH 最大值
乙酰甲胆碱

图2E

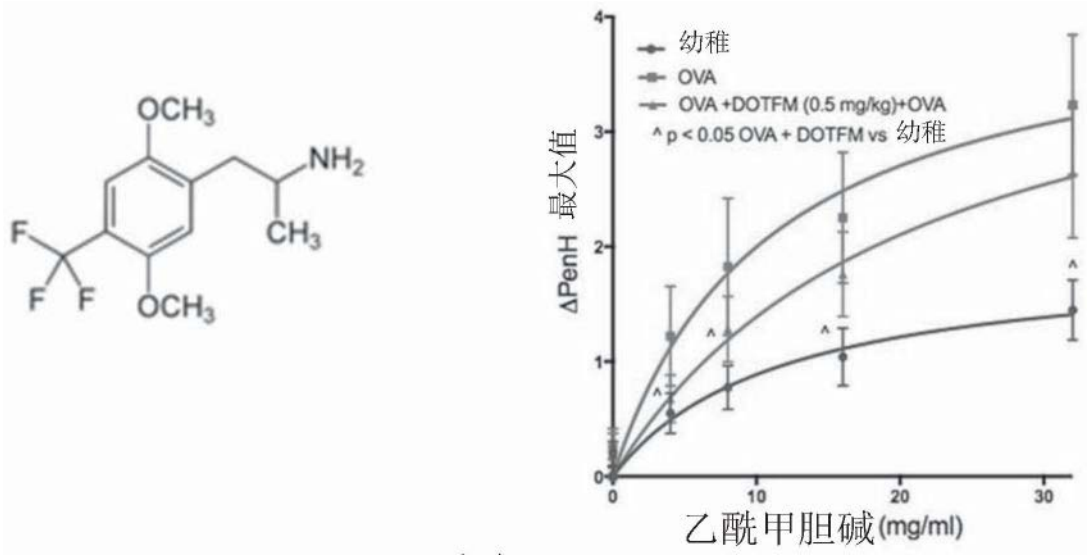

OCH3
NH2
CH3
F
F
F
OCH3
幼稚
OVA
OVA +DOTFM (0.5 mg/kg)+OVA
^ p < 0.05 OVA + DOTFM vs 幼稚
ΔPenH 最大值
乙酰甲胆碱(mg/ml)

图2F

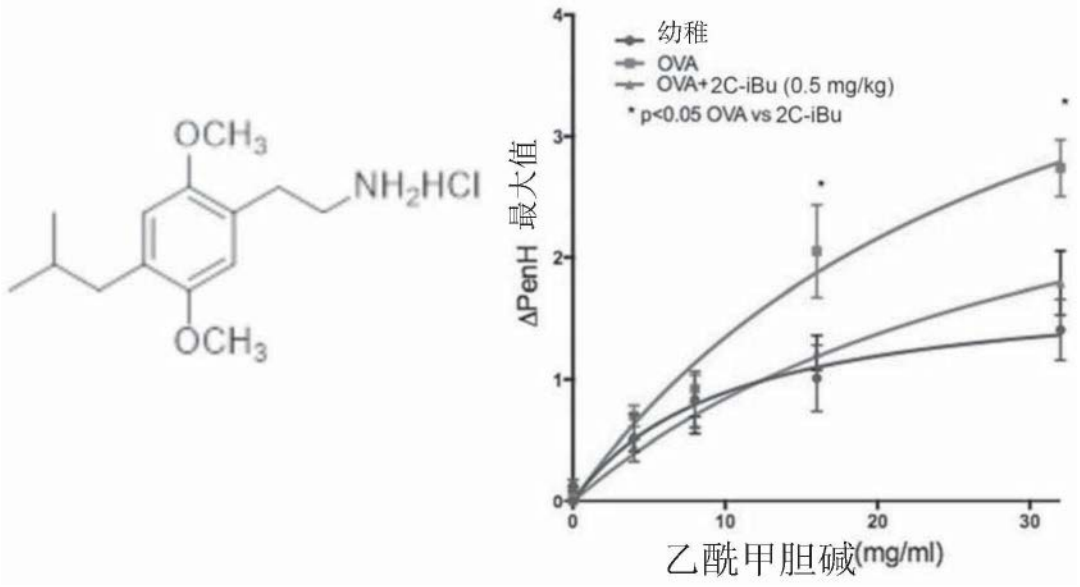

OCH3
NH2HCl
OCH3
幼稚
OVA
OVA+2C-iBu (0.5 mg/kg)
* p<0.05 OVA vs 2C-iBu
ΔPenH 最大值
0
1
2
3
4
0
10
20
30
乙酰甲胆碱(mg/ml)

图2G

测试的药物	取代的苯乙胺	在0.5mg/kg剂量下相对于OVA诱导的哌啶鼠模型(PenH)的功效*	在(R)DOI当量中口服剂量(1mg当量，效力强度)的相对人心理活性**	在(R)DOI浓度当量(1nM当量，效力强度*)相对于$5HT_{2A}$R介导的$Ca2+$瞬态的相对活性
DOx 系列	RN Rα Rβ R2 R3 R4 R5 R6			
(R)DOI	CH3 OCH3 I OCH3	++	1 / ++	1 / ++
DOB	CH3 OCH3 Br OCH3	++	2 / ++	0.6 / ++
DON	CH3 OCH3 NO2 OCH3	(NT)	4 / ++	5 / ++
(R)TMA2	CH3 OCH3 OCH3 OCH3	+	30 / ++	13 / ++
2,4-DMA	CH3 OCH3 OCH3 H	+	>60 / +	143 / ++
DOH (2,5-DMA)	CH3 OCH3 H OCH3	++	120 / +	138 / ++
DOM	CH3 OCH3 CH3 OCH3	++	6 / ++	3 / ++
DOET	CH3 OCH3 CH2CH3 OCH3	++	4 / ++	1 / ++
DOiP	CH3 OCH3 CH(CH3)2 OCH3	(NT)	25 / +	6 / +
DOP	CH3 OCH3 CH2CH2CH3 OCH3	(NT)	4 / ++	(NT)
DOiBu	CH3 OCH3 CH2CH(CH3)2 OCH3	++	12 / ++	1 / ++
DOTFM	CH3 OCH3 CHF3 OCH3	-	(NR)	1 / ++
2Cx series	RN Rα Rβ R2 R3 R4 R5 R6			
2CI	OCH3 I OCH3	++	18 / +	4 / +
2CB	OCH3 Br OCH3	++	18 / +	2.5 / ++
2CBFly	2'-OCH2CH2-3' 3'-CH2CH2O-2' Br 5'-OCH2CH2-6' 6'-CH2CH2O-5'	+	10 / ++	4 / ++
TCB2	OCH3 Br OCH3 6'-CH2-β'	+	0.2/ ++	3 / ++
2CH	OCH3 H OCH3	++	(NR)	599 / +
2CD (2CM)	OCH3 CH3 OCH3	(NT)	40 / ++	(NT)
2CET	OCH3 CH2CH3 OCH3	(NT)	18 / ++	(NT)
2CiP	OCH3 CH(CH3)2 OCH3	(NT)	9 / ++	(NT)
2CP	OCH3 CH2CH2CH3 OCH3	(NT)	8 / ++	(NT)
2CiBu	OCH3 CH2CH(CH3)2 OCH3	++	(NR)	1 / ++
2C-TFM	OCH3 CHF3 OCH3	(NT)	4 / ++	(NT)
2-CT 33	OCH3 S-CH2-C6H4(5'OCH3) OCH3	-	(NR)	23 / ++
25I-NBOMe	CH2C6H5(2'OCH3) OCH3 I OCH3	+	1 / ++	10 / +

图3

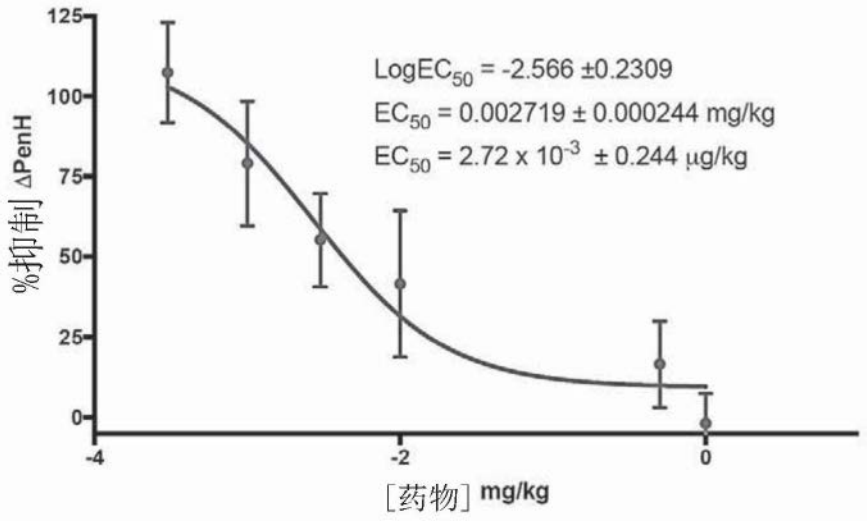

125
100
75
50
25
0
%抑制 ΔPenH
LogEC50 = -2.566 ±0.2309
EC50 = 0.002719 ± 0.000244 mg/kg
EC50 = 2.72 x 10-3 ± 0.244 μg/kg
-4
-2
0
[药物] mg/kg

图4

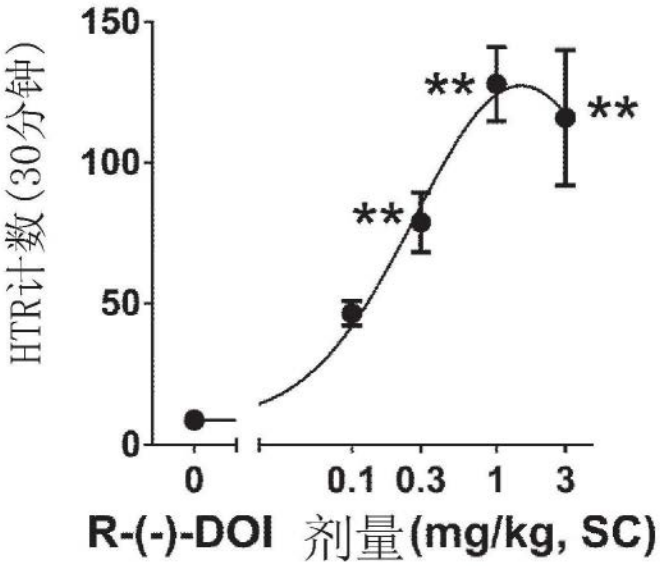

150
100
50
0
HTR计数(30分钟)
**
**
**
0
0.1
0.3
1
3
R-(-)-DOI 剂量(mg/kg, SC)

图5A

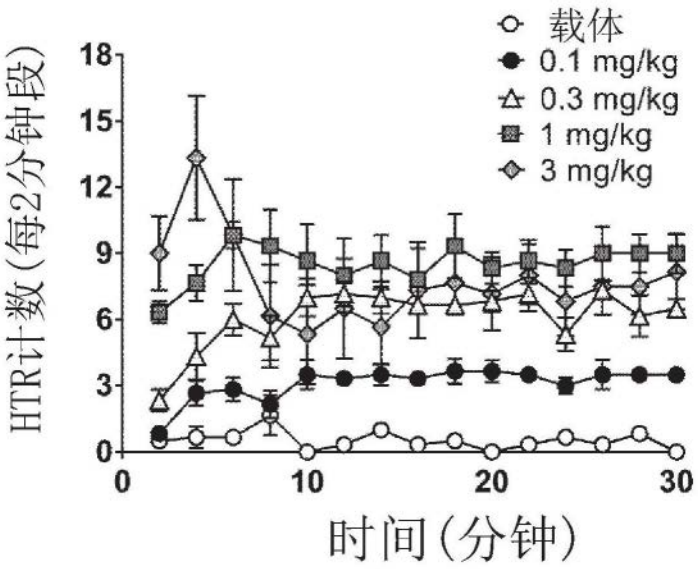

载体
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
HTR计数(每2分钟段)
18
15
12
9
6
3
0
0
10
20
30
时间(分钟)

图5B

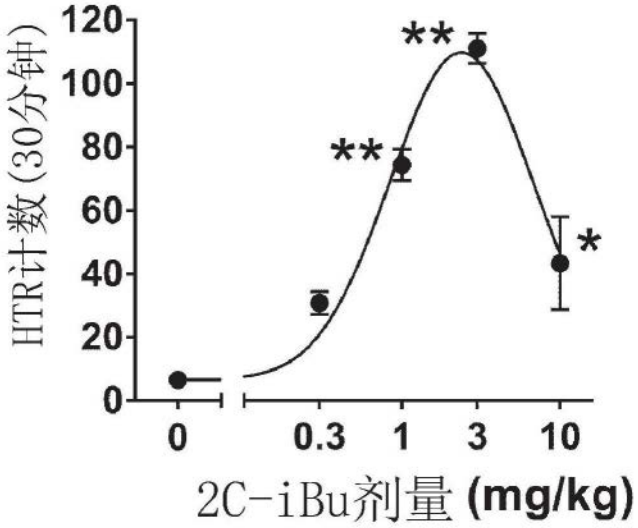

HTR计数(30分钟)
120
100
80
60
40
20
0
**
**
*
0
0.3
1
3
10
2C-iBu剂量 (mg/kg)

图6A

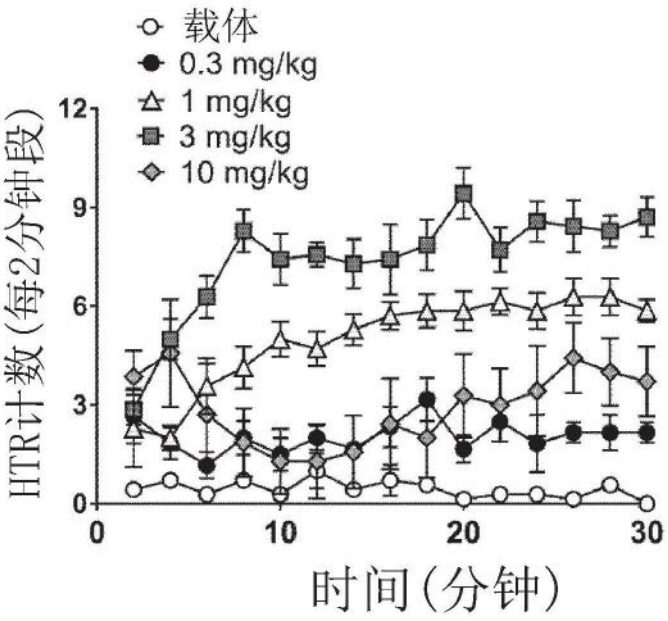

载体
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
10 mg/kg
HTR计数(每2分钟段)
0
3
6
9
12
0
10
20
30
时间(分钟)

图6B

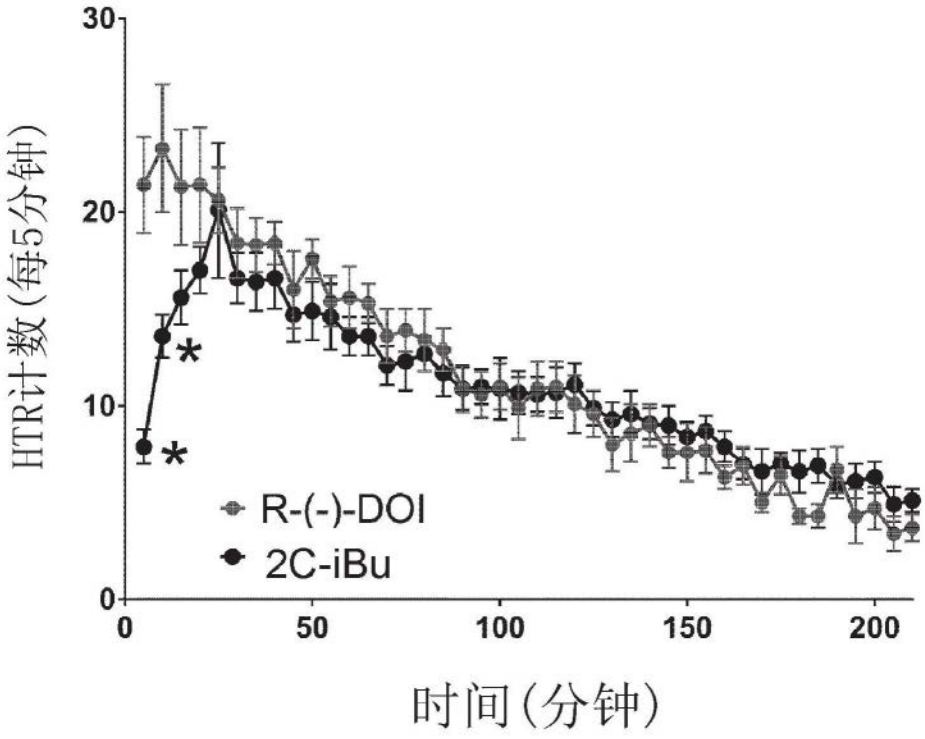

HTR计数(每5分钟)
0
10
20
30
*
*
R-(-)-DOI
2C-iBu
0
50
100
150
200
时间(分钟)

图7