

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780016355.8

[51] Int. Cl.

C07D 403/04 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

[43] 公开日 2009年5月20日

[11] 公开号 CN 101437814A

[22] 申请日 2007.5.21

[21] 申请号 200780016355.8

[30] 优先权

[32] 2006.5.31 [33] US [31] 60/809,565

[86] 国际申请 PCT/EP2007/054851 2007.5.21

[87] 国际公布 WO2007/137953 英 2007.12.6

[85] 进入国家阶段日期 2008.11.5

[71] 申请人 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 R·C·舍恩菲尔德

R·J·韦克特

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 林柏楠

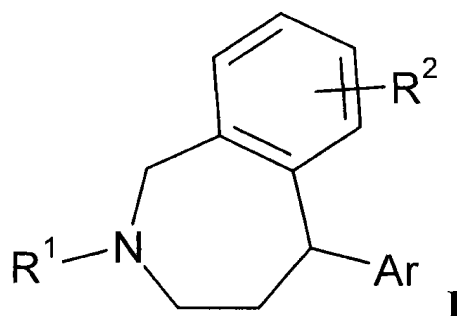
权利要求书5页 说明书36页

[54] 发明名称

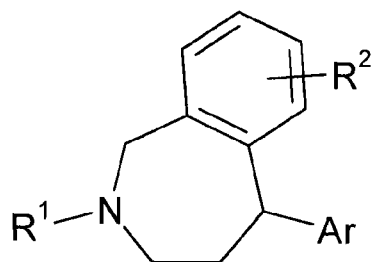
作为单胺再摄取抑制剂的苯并氮杂草衍生物

[57] 摘要

式 I 的化合物；或其可药用盐、溶剂化物或前药，其中 Ar、R¹ 和 R² 如本文所定义。还提供了药物组合物、制备所述化合物的方法以及使用所述化合物治疗单胺再摄取抑制剂介导的疾病的方法。



1. 式 I 的化合物:



I

其中:

Ar 是任选地被取代的吲哚基;

R¹ 是:

氢; 或

C₁₋₆ 烷基; 且R² 是:

氢;

C₁₋₆ 烷基;C₁₋₆ 烷氧基;

卤素;

卤代 C₁₋₆ 烷基;杂 C₁₋₆ 烷基;C₁₋₆ 烷基磺酰基;

氰基;

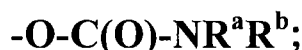
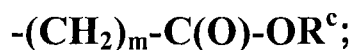
氨基;

C₁₋₆ 烷基氨基;二-C₁₋₆ 烷基氨基;

选自哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、硫吗啉基、四氢吡喃基和四氢呋喃基的杂环基, 其各自任选地被取代;

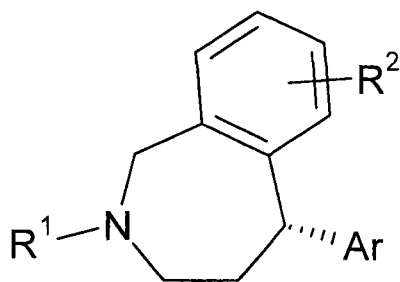
选自哌嗪基-C₁₋₆ 烷基、哌啶基-C₁₋₆ 烷基、吡咯烷基-C₁₋₆ 烷基、吗啉

基-C₁₋₆烷基、硫吗啉基-C₁₋₆烷基、四氢吡喃基-C₁₋₆烷基和四氢呋喃基-C₁₋₆烷基的杂环基-C₁₋₆烷基，其中的杂环基部分各自任选地被取代；

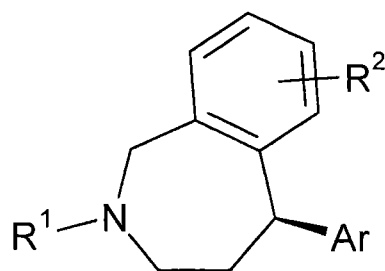


其中 m 是 0 或 1 且 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 和 R^e 各自独立地是氢或 C₁₋₆烷基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基。
3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 R^1 是氢。
4. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 R^2 是氢。
5. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 R^2 是卤素。
6. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 R^1 是氢或 C₁₋₆-烷基，且 R^2 是氢或卤素。
7. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述化合物是式 Ia 或 Ib 的化合物：



Ia;



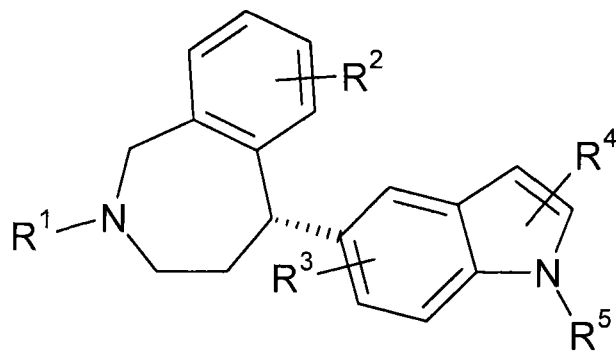
Ib;

其中 Ar、 R^1 和 R^2 如权利要求 1 所述。

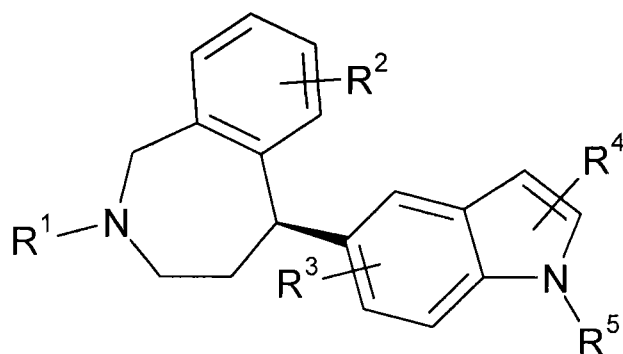
8. 如权利要求 4 所述的化合物，其中 Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基。

9. 如权利要求 8 所述的化合物, 其中 R^1 是氢或 C_{1-6} -烷基。

10. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物是式 IIa 或 IIb 的化合物:



IIa;



IIb;

其中:

R^3 是:

氢;

C_{1-6} 烷基;

C_{1-6} 烷氧基;

卤素;

卤代 C_{1-6} 烷基;

杂 C_{1-6} 烷基;

C_{1-6} 烷基磺酰基; 或

氰基;

R^4 是:

氢;

C_{1-6} 烷基;

卤素;

卤代 C₁₋₆ 烷基;

杂 C₁₋₆ 烷基;

-C(O)-NR^aR^b, 其中 R^a 和 R^b 各自独立地是氢或 C₁₋₆ 烷基;

C₁₋₆ 烷基磺酰基; 或

氰基;

R⁵ 是:

氢; 或

C₁₋₆ 烷基; 且

R¹ 和 R² 如权利要求 1 所述。

11. 如权利要求 10 所述的化合物, 其中所述化合物是式 IIa 的化合物。

12. 如权利要求 11 所述的化合物, 其中 R¹ 是氢。

13. 如权利要求 10 所述的化合物, 其中 R¹ 是氢或 C₁₋₆-烷基且 R² 是氢或卤素。

14. 如权利要求 12 所述的化合物, 其中 R² 是氢。

15. 如权利要求 13 或 14 所述的化合物, 其中 R³ 是氢。

16. 如权利要求 15 所述的化合物, 其中 R⁴ 是氢。

17. 如权利要求 16 所述的化合物, 其中 R⁵ 是氢。

18. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物选自:

5-(1*H*-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1*H*-苯并[*c*]氮杂草,

(*R*)-5-(1*H*-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1*H*-苯并[*c*]氮杂草,

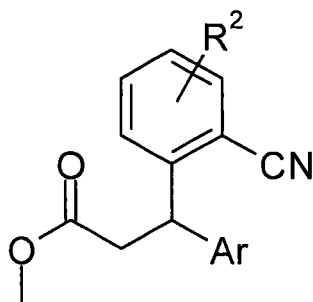
(*S*)-5-(1*H*-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1*H*-苯并[*c*]氮杂草, 或

5-(1*H*-吡啶-5-基)-2-甲基-2,3,4,5-四氢-1*H*-苯并[*c*]氮杂草。

19. 一种药物组合物, 其包含如权利要求 1-18 中任意一项所述的化合物和可药用的载体。

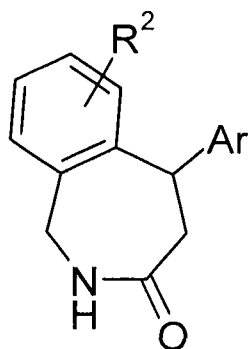
20. 制备如权利要求 1-18 中任意一项所述的化合物的方法,

其中将式(c)的化合物



(c)

进行氰基还原并环化，形成式(d)的苯并氮杂萘酮，



(d)

随后将该苯并氮杂萘酮的羰基还原，接着任选地将苯并氮杂萘的氮进行烷基化，得到式(I)的化合物，其中 R^1 、 R^2 和 Ar 如权利要求 1 所定义。

21. 按照权利要求 20 所述的方法制备的化合物。

22. 如权利要求 1-18 中任意一项所述的化合物，其用作治疗上的活性物质。

23. 用作治疗上的活性物质的如权利要求 1-18 中任意一项所述的化合物，其用于治疗 and/或预防与血清素神经传递、去甲肾上腺素神经传递和/或多巴胺神经传递有关的疾病或病症。

24. 如权利要求 1-18 中任意一项所述的化合物在制备治疗和/或预防与血清素神经传递、去甲肾上腺素神经传递和/或多巴胺神经传递有关的疾病或病症的药物中的用途。

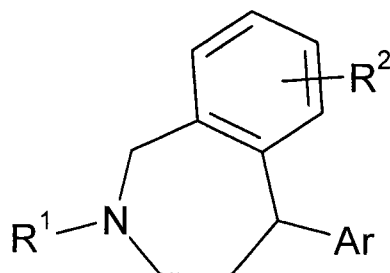
25. 如权利要求 24 所述的用途，其用于治疗 and/或预防抑郁症、焦虑症、泌尿生殖系统病症和疼痛。

26. 如上文所述的本发明。

作为单胺再摄取抑制剂的苯并氮杂萘衍生物

本发明涉及苯并氮杂萘类的化合物以及使用它们的方法。具体而言，本发明的化合物用于治疗与单胺再摄取抑制剂有关的疾病。

本发明涉及式 I 的化合物：



I

其中：

Ar 是任选地被取代的吲哚基；

R¹ 是：

氢；或

C₁₋₆ 烷基；且

R² 是：

氢；

C₁₋₆ 烷基；

C₁₋₆ 烷氧基；

卤素；

卤代 C₁₋₆ 烷基；

杂 C₁₋₆ 烷基；

C₁₋₆ 烷基磺酰基；

氰基；

氨基；

C₁₋₆ 烷基氨基；

二-C₁₋₆烷基氨基;

选自哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、硫吗啉基、四氢吡喃基和四氢呋喃基的杂环基,其各自任选地被取代;

选自哌嗪基-C₁₋₆烷基、哌啶基-C₁₋₆烷基、吡咯烷基-C₁₋₆烷基、吗啉基-C₁₋₆烷基、硫吗啉基-C₁₋₆烷基、四氢吡喃基-C₁₋₆烷基和四氢呋喃基-C₁₋₆烷基的杂环基-C₁₋₆烷基,其中的杂环基部分各自任选地被取代;

$-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^a\text{R}^b$;

$-(\text{CH}_2)_m-\text{SO}_2-\text{NR}^a\text{R}^b$;

$-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^c$;

$-\text{NR}^d-\text{C}(\text{O})-\text{R}^e$;

$-\text{NR}^d-\text{SO}_2-\text{R}^e$;

$-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{R}^e$;

$-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^a\text{R}^b$;

$-\text{NR}^d-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^a\text{R}^b$; 或

$-\text{NR}^d-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^c$;

其中 m 是 0 或 1 且 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 和 R^e 各自独立地是氢或 C₁₋₆烷基。

还提供了制备本发明化合物的方法、包含本发明化合物的药物组合物以及使用本发明化合物治疗单胺再摄取抑制剂介导的疾病的方法。

长时间以来,认为单胺缺乏与抑郁、焦虑和其它病症有关(参见,例如: Charney 等人, *J. Clin. Psychiatry* (1998) 59, 1-14; Delgado 等人, *J. Clin. Psychiatry* (2000) 67, 7-11; Resser 等人, *Depress. Anxiety* (2000) 12(增补本 1) 2-19; 和 Hirschfeld 等人, *J. Clin. Psychiatry* (2000) 61, 4-6。具体地讲,血清素(5-羟色胺)和去甲肾上腺素被看作是在情绪调节中起重要作用的关键的调节性神经递质。选择性的血清素再摄取抑制剂(SSRI)如氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、西酞普兰和依地普仑已经被用来治疗抑郁症(Masand 等人, *Harv. Rev. Psychiatry* (1999) 7, 69-84)。已经用去甲肾上腺素再摄取抑制剂如瑞波西汀、阿托西汀、地昔帕明和去甲替林来有效地治

疗抑郁症、注意力缺陷障碍和多动症(Scates 等人, *Ann. Pharmacother.* (2000) 34, 1302-1312; Tatsumi 等人, *Eur. J. Pharmacol.* (1997) 340, 249-258)。

与仅增强血清素或去甲肾上腺素的神经传递相比,在抑郁症和焦虑症的药物疗法中同时增强血清素和去甲肾上腺素的神经传递被认为具有协同作用(Thase 等人, *Br. J. Psychiatry* (2001) 178, 234, 241; Tran 等人, *J. Clin. Psychopharmacology* (2003) 23,78-86)。目前正在开发用于治疗抑郁症和焦虑症的血清素和去甲肾上腺素的双重再摄取抑制剂,如度洛西汀、米那普仑和文拉法辛(Mallinckrodt 等人, *J. Clin. Psychiatry* (2003) 5(1)19-28; Bymaster 等人, *Expert Opin. Investig. Drugs* (2003) 12(4) 531-543)。血清素和去甲肾上腺素的双重再摄取抑制剂还可有效治疗精神分裂症和其它精神病、运动障碍、药物成瘾、认知障碍、阿尔茨海默病、强迫行为、注意力缺陷障碍、惊恐发作、社交恐怖症、进食障碍如肥胖、厌食症、食欲过盛和“狂饮-进食”、应激、高血糖症、高脂血症、非胰岛素依赖型糖尿病、癫痫发作病症如癫痫,以及治疗与由中风、脑外伤、脑缺血、头部损伤和脑溢血所导致的神经学损伤有关的病症。血清素和去甲肾上腺素的双重再摄取抑制剂还可治疗泌尿道的病症和疾病状态,以及治疗疼痛和炎症。

更近以来,抑制去甲肾上腺素、血清素和多巴胺再摄取的“三重再摄取”抑制剂(“广谱的抗抑郁药”)已经被认为在治疗抑郁症和其他 CNS 的适应证中有效(Beer 等人, *J. Clinical Pharmacology* (2004) 44:1360-1367; Skolnick 等人, *Eur J Pharmacol.* (2003) Feb 14;461(2-3):99-104)。

因此,需要作为血清素再摄取抑制剂、去甲肾上腺素再摄取抑制剂、多巴胺再摄取抑制剂和/或血清素、去甲肾上腺素和/或多巴胺的双重再摄取抑制剂、或去甲肾上腺素、血清素和多巴胺三重再摄取抑制剂的有效化合物及其制备方法和使用该类药物来治疗抑郁症、焦虑症、泌尿生殖系统病症、疼痛和其它病症的方法。本发明满足了这些需要。

定义

除非另有说明, 否则在本申请(包括说明书和权利要求书)中所用的下列术语具有下文所给出的定义。必需注意的是, 除非另有清楚的说明, 否则用于本说明书和所附权利要求书中的单数形式“一个”、“一种”和“该”等包括复数指示物。

“激动剂”指的是增强另一种化合物或受体位点的活性的化合物。

“烷基”指的是仅由碳和氢原子组成的具有1至12个碳原子的单价直链或支链饱和烃部分。“低级烷基”指的是1至6个碳原子的烷基, 即C₁-C₆烷基。烷基的实例非限制性地包括甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基、仲-丁基、叔-丁基、戊基、正-己基、辛基、十二烷基等。“支链烷基”指的是异丙基、异丁基、叔丁基。

“亚烷基”指的是1至6个碳原子的直链饱和二价烃基或3至6个碳原子的支链饱和二价烃基, 例如亚甲基、亚乙基、2,2-二甲基亚乙基、亚丙基、2-甲基亚丙基、亚丁基、亚戊基等。

“烷氧基”指的是式-OR的部分, 其中R是本文所定义的烷基。烷氧基基团的实例非限制性地包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、叔丁氧基等。

“烷氧基烷基”指的是式-R'-R"的部分, 其中R'是亚烷基且R"是本文所定义的烷氧基。烷氧基烷基的实例包括例如2-甲氧基乙基、3-甲氧基丙基、1-甲基-2-甲氧基乙基、1-(2-甲氧基乙基)-3-甲氧基丙基和1-(2-甲氧基乙基)-3-甲氧基丙基。

“烷基羰基”指的是式-R'-R"的部分, 其中R'是羰基, 即-C(O)R"且R"是本文所定义的烷基。

“烷基磺酰基”指的是式-R'-R"的部分, 其中R'是-SO₂-且R"是本文所定义的烷基。

“烷基磺酰基烷基”指的是式R^a-SO₂-R^b-的部分, 其中R^a是烷基且R^b是本文所定义的亚烷基。烷基磺酰基烷基的实例包括例如3-甲磺酰基丙基、2-甲磺酰基乙基、2-甲磺酰基丙基等。

“烷基磺酰氧基”指的是式R^a-SO₂-O-的部分, 其中R^a是本文所定义的烷基。

“拮抗剂”指的是减弱或阻止另一种化合物或受体位点的作用的化合物。

“芳基”指的是由单-、二-或三环芳环组成的单价环状芳烃部分。所述芳基可以如本文所定义的那样任选地被取代。芳基部分的实例非限制性地包括任选地被取代的苯基、萘基、菲基、蒽基、茚基、茛基、并环戊二烯基、萘基、苯氧基苯基、联苯基、亚甲基二苯基、氨基二苯基、二苯基硫基(diphenylsulfidyl)、二苯基磺酰基、二苯基异亚丙基、苯并二噁烷基、苯并咪唑基、苯并二氧杂环戊烯基(benzodioxyl)、苯并吡喃基、苯并噁嗪基、苯并噁嗪酮基、苯并哌啶基、苯并哌嗪基、苯并吡咯烷基、苯并吗啉基、亚甲二氧基苯基、亚乙二氧基苯基等，包括其部分氢化的衍生物。

“芳氧基”指的是式-OR的部分，其中R是本文所定义的芳基部分。

可以互换使用的“芳基烷基”和“芳烷基”指的是基团- R^aR^b ，其中 R^a 是亚烷基且 R^b 是本文所定义的芳基；例如，苯基烷基如苄基、苯基乙基、3-(3-氯苯基)-2-甲基戊基等是芳基烷基的实例。

“芳烷氧基”指的是式-OR的部分，其中R是本文所定义的芳烷基部分。

“氰基烷基”指的是式- $R'-R''$ 的部分，其中 R' 是本文所定义的亚烷基且 R'' 是氰基或腈。

“环烷基”指的是由单-或二环组成的单价饱和碳环部分。除非另有特别说明，否则环烷基可以任选地被一个或多个取代基所取代，其中各取代基独立地是羟基、烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、氨基、单烷基氨基或二烷基氨基。环烷基部分的实例非限制性地包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等，包括其部分不饱和的衍生物。

可以互换使用的“环烷基氧基”或“环烷氧基”指的是式-OR的基团，其中R是如本文所定义环烷基。环烷氧基的实例包括环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基等。

“环烷基烷基”指的是式- $R'-R''$ 的部分，其中 R' 是亚烷基且 R'' 是本文所定义环烷基。

可以互换使用的“环烷基烷氧基”或“环烷基烷基氧基”指的是式-OR的

基团，其中 R 是如本文所定义的环境基烷基。环境基烷氧基的实例包括环丙基甲氧基、环丁基甲氧基、环戊基甲氧基、环己基甲氧基等。

“杂烷基”指的是本文所定义的烷基，包括支链 C₄-C₇-烷基，其中一、二或三个氢原子被独立地选自 -OR^a、-NR^bR^c 和 -S(O)_nR^d (其中 n 是 0 至 2 的整数) 的取代基所代替，应当清楚的是该杂烷基的连接点是通过碳原子连接的，其中 R^a 是氢、酰基、烷基、环境基或环境基烷基；R^b 和 R^c 各自独立地是氢、酰基、烷基、环境基或环境基烷基；当 n 是 0 时，R^d 是氢、烷基、环境基或环境基烷基，并且当 n 是 1 或 2 时，R^d 是烷基、环境基、环境基烷基、氨基、酰基氨基、单烷基氨基或二烷基氨基。代表性的实例非限制性地包括 2-羟基乙基、3-羟基丙基、2-羟基-1-羟基甲基乙基、2,3-二羟基丙基、1-羟基甲基乙基、3-羟基丁基、2,3-二羟基丁基、2-羟基-1-甲基丙基、2-氨基乙基、3-氨基丙基、2-甲基磺酰基乙基、氨基磺酰基甲基、氨基磺酰基乙基、氨基磺酰基丙基、甲基氨基磺酰基甲基、甲基氨基磺酰基乙基、甲基氨基磺酰基丙基等。杂烷基的亚类或优选的杂烷基是如本文所述的卤代烷基和羟基烷基。

“杂芳基”指的是 5 至 12 个环原子的单环、二环或三环基团，其具有至少一个包含一、二或三个选自 N、O 或 S 的环杂原子而剩余的环原子是 C 的芳环，应当清楚的是，该杂芳基的连接点应当位于芳环上。该杂芳基环可以如本文所定义的那样任选地被取代。杂芳基部分的实例非限制性地包括任选地被取代的咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡嗪基、噻吩基、呋喃基、吡喃基、吡啶基、吡咯基、吡唑基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、苯并呋喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻喃基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并噁二唑基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并吡喃基、吲哚基、异吲哚基、三唑基、三嗪基、喹喔啉基、嘌呤基、喹唑啉基、喹啉基、茶啶基、蝶啶基、卟啉基、氮杂萘基、二氮杂萘基、吡啶基等，包括其部分氢化的衍生物。

可以互换使用的“杂芳基烷基”和“杂芳烷基”指的是基团 -R^aR^b，其中 R^a 是亚烷基且 R^b 是本文所定义的杂芳基。

可以互换使用的术语“卤代”和“卤素”指取代基氟、氯、溴或碘。

“卤代烷基”指的是其中一个或多个氢被相同或不同的卤素代替的如本文所定义的烷基。卤代烷基的实例包括-CH₂Cl、-CH₂CF₃、-CH₂CCl₃、全氟烷基(例如-CF₃)等。

“卤代烷氧基”指的是式-OR的部分,其中R是本文所定义的卤代烷基部分。卤代烷氧基部分的实例非限制性地包括三氟甲氧基、二氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基等。

“羟基烷基”指的是杂烷基的子集,并且特别是指被一个或多个,优选一、二或三个羟基所取代的本文所定义的烷基部分,条件是同一个碳原子不能携带一个以上的羟基。典型的实例非限制性地包括羟基甲基、2-羟基乙基、2-羟基丙基、3-羟基丙基、1-(羟基甲基)-2-甲基丙基、2-羟基丁基、3-羟基丁基、4-羟基丁基、2,3-二羟基丙基、2-羟基-1-羟基甲基乙基、2,3-二羟基丁基、3,4-二羟基丁基和2-(羟基甲基)-3-羟基丙基。

“杂环氨基”指的是其中至少一个环原子是N、NH或N-烷基并且剩余的环原子形成亚烷基的饱和环。

“杂环基”指的是由一至三个环组成的包含一、二、三或四个杂原子(选自氮、氧或硫)的单价饱和基团。所述杂环基可以如本文所定义的那样任选地被取代。杂环基的实例非限制性地包括任选地被取代的哌啶基、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂萘基、吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、奎宁环基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、噻二唑烷基、苯并噻唑烷基、苯并噁唑烷基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、二氢吡喃基、四氢吡喃基、硫吗啉基、硫吗啉基亚砷、硫吗啉基砷、二氢喹啉基、二氢异喹啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基等。

“杂环基烷基”是指-R'-R'',其中R'是亚烷基且R''是如本文所述的杂环基。

当与“芳基”、“苯基”、“杂芳基”(包括吡啶基如吡啶-1-基、吡啶-2-基和吡啶-3-基、2,3-二氢吡啶基如2,3-二氢吡啶-1-基、2,3-二氢吡啶-2-基和

2,3-二氢吲哚-3-基、吲唑基如吲唑-1-基、吲唑-2-基和吲唑-3-基、苯并咪唑基如苯并咪唑-1-基和苯并咪唑-2-基、苯并呋喃基如苯并呋喃-2-基和苯并呋喃-3-基、苯并噻吩基如苯并噻吩-2-基和苯并噻吩-3-基、苯并噁唑-2-基、苯并噻唑-2-基、噻吩基、呋喃基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、咪唑基、吡唑基和喹啉基)或“杂环基”联用时,“任选地被取代的”指的是任选地独立地被一至四个取代基、优选一或两个取代基取代的芳基、苯基、杂芳基或杂环基,所说的取代基选自烷基、环烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、氰基、硝基、杂烷基、氨基、酰基氨基、单-烷基氨基、二-烷基氨基、羟基烷基、烷氧基烷基、苄氧基、环烷基烷基、环烷氧基、环烷基烷氧基、烷基磺酰氧基、任选地被取代的噻吩基、任选地被取代的吡唑基、任选地被取代的吡啶基、吗啉-4-基羰基、 $-(\text{CH}_2)_q-\text{S}(\text{O})_r\text{R}^f$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{SO}_2-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{N}(\text{R}^f)-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^i$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^i$; 或 $-(\text{CH}_2)_q-\text{N}(\text{R}^f)-\text{SO}_2-\text{R}^g$; 其中 q 是 0 或 1, r 是 0 至 2, R^f 、 R^g 和 R^h 各自独立地是氢或烷基, 并且各 R^i 独立地是氢、烷基、羟基或烷氧基。“任选地被取代的”优选地表示任选地独立地被一至四个取代基、优选一或两个取代基取代的芳基、苯基、杂芳基或杂环基, 所述取代基选自烷基、环烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、氰基、硝基、杂烷基、氨基、酰基氨基、单-烷基氨基、二-烷基氨基、羟基烷基、烷氧基烷基、苄氧基、环烷基烷基、环烷氧基、环烷基烷氧基、烷基磺酰氧基、噻吩基、吡唑基、吡啶基、吗啉-4-基羰基、 $-(\text{CH}_2)_q-\text{S}(\text{O})_r\text{R}^f$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{SO}_2-\text{NR}^g\text{R}^h$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{N}(\text{R}^f)-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^i$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^i$; 或 $-(\text{CH}_2)_q-\text{N}(\text{R}^f)-\text{SO}_2-\text{R}^g$; 其中 q 是 0 或 1, r 是 0 至 2, R^f 、 R^g 和 R^h 各自独立地是氢或烷基, 并且各 R^i 独立地是氢、烷基、羟基或烷氧基。

“离去基团”指的是具有合成有机化学中与其有关的常规含义的基团, 即, 在取代反应条件下可以被置换的原子或基团。离去基团的实例非限制

性地包括卤素、链烷基-或亚芳基磺酰氧基,如甲磺酰氧基,乙磺酰氧基、甲硫基、苯磺酰氧基、甲苯磺酰氧基和噻吩基氧基,二卤代磷酰氧基、任选地被取代的苄氧基、异丙氧基、酰氧基等。

“调节剂”指的是与靶点相互作用的分子。所说的相互作用非限制性地包括本文所定义的激动剂、拮抗剂等。

“任选的”或“任选地”指的是随后所描述的事件或情形可能发生但不一定发生,并且该描述包括所说的事件或情形发生和不发生的情况。

“疾病”和“疾病状态”指的是任何疾病、情况、症状、病症或适应征。

“惰性有机溶剂”或“惰性溶剂”指的是在所述的与其相关的反应条件下为惰性的溶剂,包括例如苯、甲苯、乙腈、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、氯仿、二氯甲烷、二氯乙烷、乙醚、乙酸乙酯、丙酮、甲基乙基酮、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、叔-丁醇、二噁烷、吡啶等。除非进行了相反的说明,否则在本发明的反应中所用溶剂均为惰性溶剂。

“可药用的”指的是可用于制备药物组合物的物质,其通常是安全、无毒的并且在生物学或其它方面没有不利影响,并且包括对于兽医以及人类药用而言是可接受的。

化合物的“可药用盐”是指如本文所定义的可药用的并且具有母体化合物所需的药理学活性的化合物。所述的这类盐包括:

与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等形成的酸加成盐或者与有机酸如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羧乙酸、羧基苯甲酸、2-羟基乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘康酸、2-萘磺酸、丙酸、水杨酸、琥珀酸、酒石酸、对-甲苯磺酸、三甲基乙酸等形成的酸加成盐;或

当所述的母体化合物中存在酸性质子时,酸性质子被金属离子如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子代替所形成的盐或者与有机碱或无机碱配位形成的盐。可接受的有机碱包括二乙醇胺、乙醇胺、N-甲基葡糖胺、三乙醇胺、氨基三丁醇等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧

化钾、碳酸钠和氢氧化钠。

优选的可药用盐是由乙酸、盐酸、硫酸、甲磺酸、马来酸、磷酸、酒石酸、柠檬酸、钠、钾、钙、锌和镁形成的盐。

应当清楚的是，在提及可药用盐时还包括本文所定义的同一种酸加成盐的溶剂加成形式(溶剂化物)或结晶形式(多晶型物)。

在这里可以互换使用的术语“前药”和“前体药物”指的是当该类前体药物向哺乳动物个体给药时能在体内释放式 I 的活性母体药物的任何化合物。式 I 化合物的前体药物是通过可以在体内被裂解从而释放出所说的母体化合物的方式，对式 I 化合物中所存在的一个或多个官能团进行修饰来进行制备的。前体药物包括其中式 I 化合物中的羟基、氨基或巯基被结合到可以在体内被裂解从而分别产生游离的羟基、氨基或巯基的任何基团上的式 I 化合物。前体药物的实例非限制性地包括式 I 化合物中羟基官能团的酯类(例如，乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物)、氨基甲酸酯类(例如，N,N-二甲基氨基羰基)；氨基官能团的 N-酰基衍生物(例如 N-乙酰基)、N-曼尼希碱、希夫碱和烯胺酮类；式 I 化合物中酮和醛官能团的脞类、缩醛、缩酮和烯醇酯类等，参见 Bundgaard, H. “前体药物的设计(Design of Prodrugs)”1-92 页，Elsevier, 纽约-牛津大学(1985)等。

“保护基团”或“保护基”是指在合成化学中与其相关的常规含义中，选择性阻断多官能团化合物的某个反应部位从而使得另一个未被保护的反应部位上可以选择性地进行化学反应的基团。本发明的某些方法依赖于保护基团来阻断反应物中存在的反应性氮和/或氧原子。例如，术语“氨基保护基团”和“氮保护基”在这里可以互换使用并且指的是那些在合成过程中用于保护氮原子避免发生不希望的反应的有机基团。氮保护基的实例非限制性地包括三氟乙酰基、乙酰氨基、苄基(Bn)、苄氧基羰基(苄酯基, CBZ)、对-甲氧基苄氧基羰基、对-硝基苄氧基羰基、叔-丁氧基羰基(BOC)等。本领域技术人员知道怎样选择易于除去并且能经受住随后的反应的基团。

“溶剂化物”指的是包含化学计量或非化学计量的溶剂的溶剂加成形式。一些化合物具有在结晶固态捕获固定摩尔比的溶剂分子从而形成溶

剂化物的倾向。如果所说的溶剂是水，则所形成的溶剂化物是水合物，当所说的溶剂是醇时，所形成的溶剂化物是醇化物。水合物是由一分子或多分子水与一分子所述物质结合形成的，其中所说的水保留其 H_2O 的分子状态，该类结合能够形成一种或多种水合物。

“个体”指的是哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物指的是哺乳动物类的任何成员，其包括但不限于人；非人类灵长目动物如黑猩猩和其它猿类以及猴类；农场动物如牛、马、绵羊、山羊和猪；家养动物如兔、狗和猫；实验室动物，包括啮齿类动物，如大鼠、小鼠和豚鼠等。非哺乳动物的实例非限制性地包括鸟类等。术语“个体”不代表特定的年龄或性别。

与血清素和去甲肾上腺素神经传递有关的“疾病状态”包括抑郁症和焦虑症，以及精神分裂症和其它精神病、运动障碍、药物成瘾、认知障碍、阿尔茨海默病、注意力缺陷障碍如 ADHD、强迫行为、惊恐发作、社交恐怖症、进食障碍如肥胖、厌食症、食欲过盛和“狂饮-进食”、应激、高血糖症、高脂血症、非胰岛素依赖型糖尿病、癫痫发作病症如癫痫，和治疗与由中风、脑外伤、脑缺血、头部损伤、脑溢血所导致的神经学损伤有关的情况，以及泌尿道的病症和疾病状态。

这里所用的“抑郁”非限制性地包括重症抑郁、长期抑郁、精神抑郁症以及特征为悲伤、失望、气馁、“沮丧(blues)”、忧郁、自尊心低、内疚和自责、不与人接触和躯体症状如进食和睡眠障碍的精神状态。

这里所用的“焦虑”非限制性地包括与对虚构的、想象的或夸大的危险或危害预期的精神生理学反应有关的令人不愉快或不希望的情绪状态以及身体的并发状况，如心律增加、呼吸速率改变、出汗、震颤、虚弱和疲劳、危险来临感、无力、忧惧和紧张。

可以与“泌尿道的症状”互换使用的“泌尿道的病症”或“尿路病”指的是泌尿道中的病理学变化。泌尿道病症的实例非限制性地包括压力性尿失禁、欲望性尿失禁、良性前列腺肥大(BPH)、前列腺炎、逼尿肌反射亢进、出口梗阻、尿频、夜尿症、尿急、膀胱活动过度、骨盆超敏反应、尿道炎、前列腺痛、膀胱炎、特发性膀胱超敏反应等。

可以与“泌尿道的症状”互换使用的“与泌尿道有关的疾病状态”或“泌尿道疾病状态”或“尿路病”指的是泌尿道中的病理学变化,或膀胱平滑肌功能障碍或其神经支配障碍造成的紊乱的尿储存或排空。所述泌尿道的症状非限制性地包括膀胱活动过度(也被称为逼尿肌活动过度)、出口梗阻、出口机能不全和骨盆超敏反应。

“膀胱活动过度”或“逼尿肌活动过度”非限制性地包括表现为尿急、尿频、膀胱容量改变、失禁、排尿阈值、不稳定的膀胱收缩、括约肌痉挛状态、逼尿肌反射亢进(神经源性膀胱)、逼尿肌不稳定等症状学的变化。

“出口梗阻”非限制性地包括良性前列腺肥大(BPH)、尿道狭窄疾病、肿瘤、低流速、排尿启动困难、尿急、耻骨弓上疼痛等。

“出口机能不全”非限制性地包括尿道高移动性、内因性尿道括约肌缺损、混合型失禁、压力性尿失禁等。

“骨盆超敏反应”非限制性地包括骨盆疼痛、间质性(细胞)膀胱炎、前列腺痛、前列腺炎、慢性阴部痛、尿道炎、睾丸痛、膀胱活动过度等。

“疼痛”指的是由刺激特定的神经末梢所产生的多处或少处位置的不适、痛苦或剧痛感。疼痛有许多类型,非限制性地包括闪痛、幻肢痛、射痛、急性疼痛、炎性疼痛、神经性疼痛、混合区域性疼痛、神经痛、神经病变等(Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 第28版, W. B. Saunders Company, 费城, PA)。治疗疼痛的目标是降低所治疗个体感受到的疼痛的严重程度。

“神经性疼痛”指的是由外周神经系统的机能障碍和/或病理改变以及非炎性损害所造成的疼痛。神经性疼痛的实例非限制性地包括热或机械痛觉过敏、热或机械异常性疼痛、糖尿病性疼痛、夹杂疼痛等。

“治疗有效量”指的是当向个体给药来治疗疾病状态时,足以对所述疾病状态发挥有效治疗作用的化合物的量。所说的“治疗有效量”将随着所用的化合物、所治疗的疾病状态、所治疗疾病的严重程度、个体的年龄和相对健康状况、给药途径和形式、主治医师或兽医医师的判断以及其它因素变化。

在提及变量时所用的术语“如上文所定义”以及“如本文所定义”包括该变量的广义定义以及优选的定义、更优选的定义及最优选的定义，如果有的话。

疾病状态的“治疗”包括：

- (i) 预防疾病状态，即，使可能出现疾病状态或者易感于疾病状态但还未经历或表现出疾病状态的症状的个体不产生该疾病状态的临床症状。
- (ii) 抑制疾病状态，即阻止疾病状态或其临床症状的形成，或
- (iii) 缓解疾病状态，即，使疾病状态或其临床症状出现临时性或永久性消退。

当涉及化学反应时，术语“处理”、“接触”和“反应”指的是在适宜的条件下加入或混合两种或多种试剂以制备所述和/或所需的产物。应当理解，产生所述和/或所需产物的反应不一定是由开始所加入的两种试剂的组合直接产生的，即，可在最终导致所述和/或所需产物形成的混合物中产生一种或多种中间体。

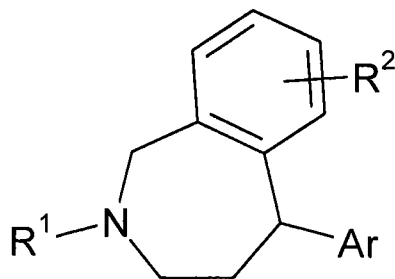
命名法和结构

一般而言，在本申请中所用的命名法是基于 AUTONOMTM，第 4.0 版，一种用于产生 IUPAC 系统命名法的 Beilstein Institute 电脑化系统。这里所示的化学结构是用 ISIS[®] 2.2 版制备的。出现于本文结构式中的碳、氧或氮原子上的任何开放价键表示存在氢原子。

在化学结构中存在手性碳时，该结构包括与该手性碳有关的所有立体异构体。

这里所提到的所有专利和公开物整体引入本文作为参考。

本发明提供了式 I 的化合物：



I

其中：

Ar 是任选地被取代的吲哚基；

R¹ 是：

氢；或

C₁₋₆ 烷基；且

R² 是：

氢；

C₁₋₆ 烷基；

C₁₋₆ 烷氧基；

卤素；

卤代 C₁₋₆ 烷基；

杂 C₁₋₆ 烷基；

C₁₋₆ 烷基磺酰基；

氰基；

氨基；

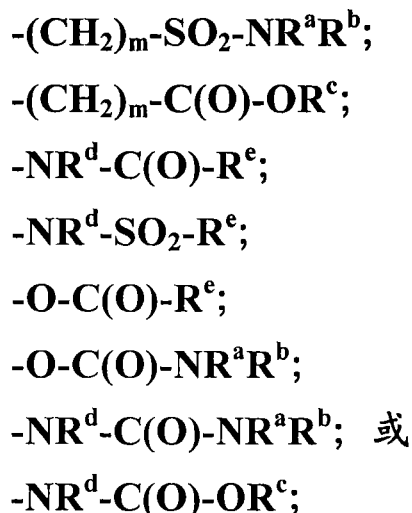
C₁₋₆ 烷基氨基；

二-C₁₋₆ 烷基氨基；

选自哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、硫吗啉基、四氢吡喃基和四氢呋喃基的杂环基，其各自任选地被取代；

选自哌嗪基-C₁₋₆ 烷基、哌啶基-C₁₋₆ 烷基、吡咯烷基-C₁₋₆ 烷基、吗啉基-C₁₋₆ 烷基、硫吗啉基-C₁₋₆ 烷基、四氢吡喃基-C₁₋₆ 烷基和四氢呋喃基-C₁₋₆ 烷基的杂环基-C₁₋₆ 烷基，其中的杂环基部分各自任选地被取代；

-(CH₂)_m-C(O)-NR^aR^b；



其中 m 是 0 或 1 且 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 和 R^e 各自独立地是氢或 C_{1-6} 烷基。

应当理解，本发明的范围不仅包括各种异构体，例如各种光学异构体，还可以以其可形成的多种异构体的混合物形式存在。此外，本发明的范围还包括式 I 的化合物的溶剂化物和盐。

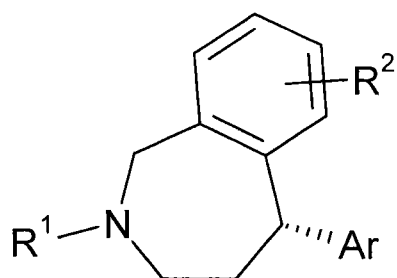
在式 I 的某些实施方案中，Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基。

在式 I 的某些实施方案中， R^1 是氢。

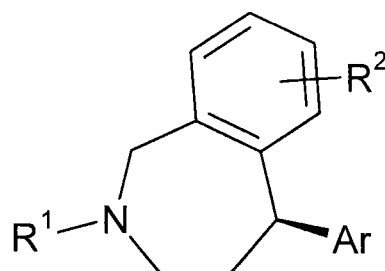
在式 I 的某些实施方案中， R^1 是 C_{1-6} 烷基。

在式 I 的某些实施方案中， R^2 是氢。

在式 I 的某些实施方案中，所述化合物可以是式 Ia 或 Ib 的化合物



Ia;



Ib;

其中 Ar、 R^1 和 R^2 如本文所定义。

在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中，Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基。

在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中， R^1 是氢。

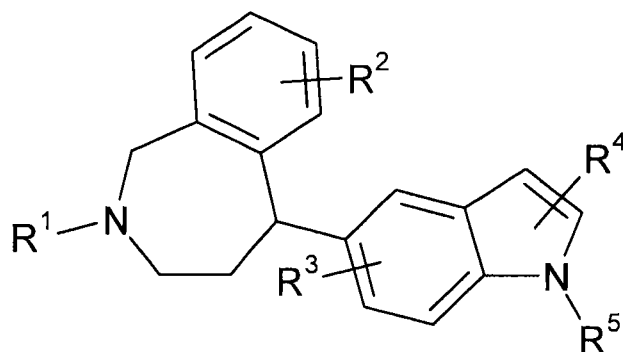
在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中， R^1 是 C_{1-6} 烷基。

在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中， R^2 是氢。

在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中, Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基且 R^1 是氢。

在式 Ia 或式 Ib 的某些实施方案中, Ar 是任选地被取代的吲哚-5-基, R^1 是氢且 R^2 是氢。

在本发明的某些实施方案中, 本发明化合物可以是式 II 的化合物:



II

其中:

R^3 是:

氢;

C_{1-6} 烷基;

C_{1-6} 烷氧基;

卤素;

卤代 C_{1-6} 烷基;

杂 C_{1-6} 烷基;

C_{1-6} 烷基磺酰基; 或

氰基;

R^4 是:

氢;

C_{1-6} 烷基;

卤素;

卤代 C_{1-6} 烷基;

杂 C_{1-6} 烷基;

$-C(O)-NR^fR^g$, 其中 R^f 和 R^g 各自独立地是氢或 C_{1-6} 烷基;

C₁₋₆烷基磺酰基；或

氰基；

R⁵是：

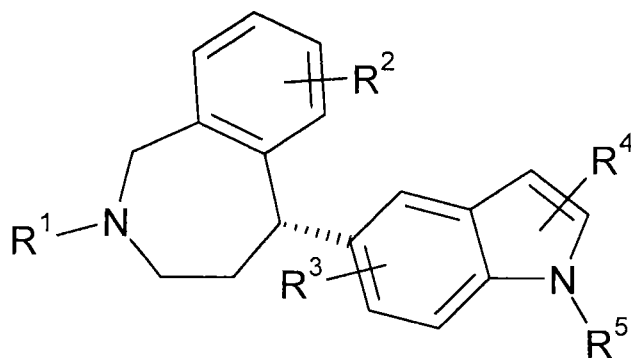
氢；或

C₁₋₆烷基；且

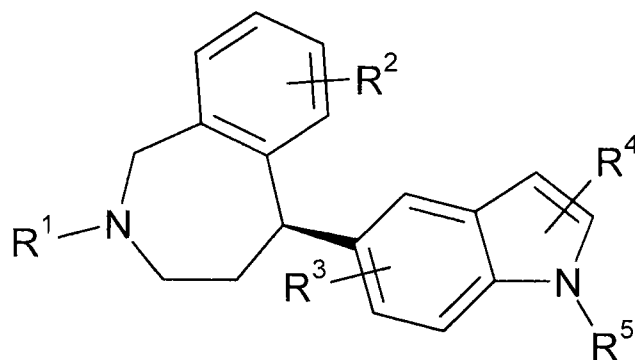
R¹和R²如本文所定义。

在式II的其中一个实施方案中，R¹是氢或C₁₋₆-烷基且R²是氢。

在本发明的某些实施方案中，本发明化合物可以是式IIa或IIb的化合物：



IIa;



IIb;

其中R¹、R²、R³、R⁴和R⁵如本文所定义。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R¹是氢。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R¹是C₁₋₆烷基。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R²是氢。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R³是氢。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R⁴是氢。

在式II、式IIa或式IIb的某些实施方案中，R⁵是氢。

在本文的 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 、 R^f 或 R^g 中的任何一个为烷基或包含烷基部分时，所述烷基优选低级烷基，即 C_1 - C_6 烷基，并且更优选 C_1 - C_4 烷基。

合成

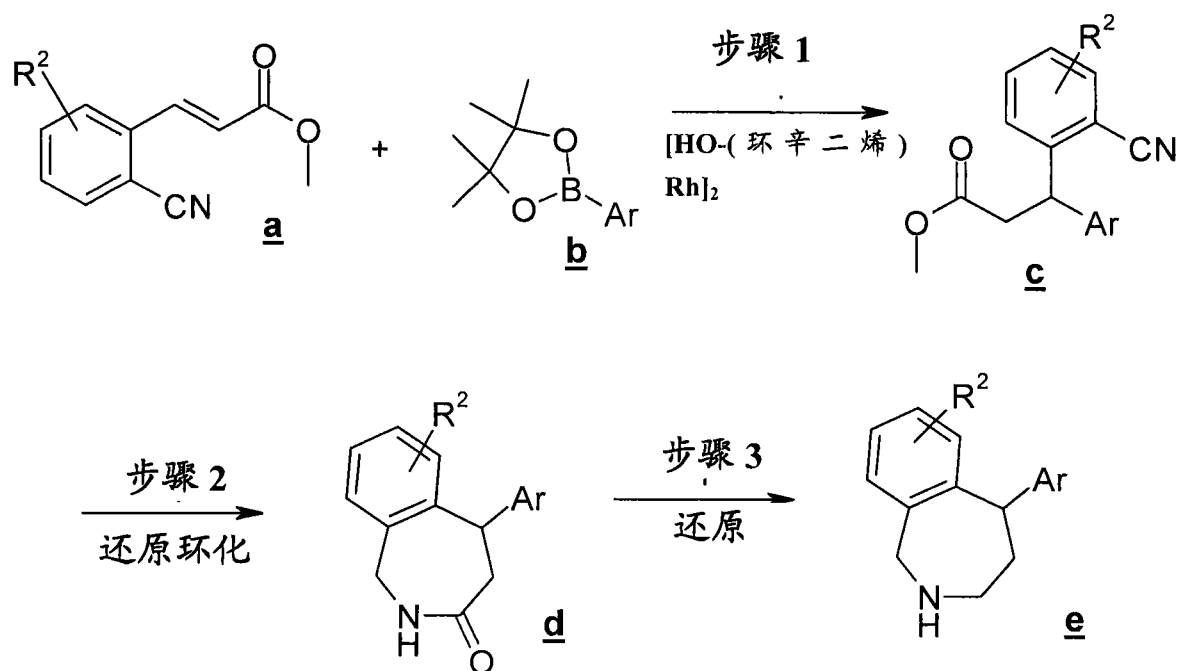
本发明的化合物可以用下面所示和描述的举例性合成反应流程中所述的各种方法来进行制备。

制备这些化合物所用的起始材料和试剂可得自商业供应商，如 Aldrich Chemical 公司，或者可以通过本领域技术人员已知的方法按照参考文献如 Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: 纽约, 1991, 第 1-15 卷; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, 第 1-5 卷和增刊; 以及 Organic Reactions, Wiley & Sons: 纽约, 1991, 第 1-40 卷中所述的操作来进行制备。下面的合成反应流程图仅仅是对可以合成本发明化合物的一些方法进行举例性的说明，可以对这些合成反应流程进行许多改变，并且本领域技术人员通过参考本申请所包含的公开内容，将获得对于这些改变的提示。

如果需要的话，可以用常规技术对这些合成反应流程图的起始材料和中间体进行分离和纯化，所述的常规技术非限制性地包括过滤、蒸馏、结晶、色谱法等。可以用常规手段对这些材料进行定性，所述的常规手段包括物理常数和光谱数据。

除非作出相反说明，否则这里所述的反应优选地在惰性气氛下于大气压下在约 -78°C 至约 150°C ，更优选约 0°C 至约 125°C ，并且最优选和方便地在约室温(或环境温度)、例如约 20°C 的温度下进行。

下面的流程 A 举例说明了一种可用于制备本发明化合物的合成流程，其中 Ar 和 R^2 如本文所定义。



流程 A

在流程 A 的步骤 1 中, 将肉桂酸酯化合物 **a** 与芳基硼酸酯化合物 **b** 使用铑(I) 催化剂如羟基(1,5-环辛二烯)铑(I) 二聚体或其他合适的催化剂进行偶合, 以提供芳基丙基酯化合物 **c**。化合物 **a** 可以从相应的苯甲醛通过将苯甲醛与(三苯基亚正磷基)乙酸甲酯反应来制备。芳基硼酸酯化合物 **b** 可以包括例如吡啶基硼酸酯、吡唑基硼酸酯、苯并咪唑基硼酸酯、苯并噻吩基硼酸酯或其他芳基或杂芳基硼酸酯, 它们可以如本文所定义的各自任选地被取代。

在步骤 2 中将化合物 **c** 与还原剂反应, 导致氰基被还原并环化形成苯并氮杂萘酮化合物 **d**。适合该选择性还原反应的有多种还原剂, 包括硼氢化钠。步骤 2 的反应可以在频那醇存在下进行。

在步骤 3 中, 将苯并氮杂萘酮化合物 **d** 的羰基还原为亚甲基, 以提供苯并氮杂萘化合物 **e**。该反应可以使用氢化铝锂在极性非质子溶剂条件下完成。化合物 **e** 是本发明的式 I 化合物。

流程 A 的方法可能有多种变通方法。所述的氰基化合物 **c** 可以例如被还原为苄胺化合物(未显示), 接着将其进而环化。对于其中 R^1 是烷基的本发明的实施方案而言, 化合物 **e** 的胺基团可以随后被烷基化。这种烷基化可以通过与其中 R^1 如上文所定义的式 $R^1-C(O)H$ 的醛发生还原氨化而进

行，还原剂例如三乙酰氧基硼氢化钠。可以使用惰性溶剂作为溶剂，例如1,2-二氯乙烷。可以使用合适的色谱技术将化合物 e 拆分为对映异构体。通过浏览本发明的内容，本领域的技术人员将获得其他变通方法的提示。

在下面的实施例部分对制备本发明化合物的具体细节进行了描述。

本发明的化合物可用于治疗与血清素神经传递、去甲肾上腺素神经传递和/或多巴胺神经传递有关的疾病或情况。该类疾病和情况包括抑郁症和焦虑症以及精神分裂症和其它精神病、运动障碍、药物成瘾、认知障碍、阿尔茨海默病、注意力缺陷障碍如 ADHD、强迫行为、惊恐发作、社交恐怖症、进食障碍如肥胖、厌食症、食欲过盛和“狂饮-进食”、应激、高血糖症、高脂血症、非胰岛素依赖型糖尿病、癫痫发作病症如癫痫，并且还可用于治疗与由中风、脑外伤、脑缺血、头部损伤和脑溢血导致的神经学损伤有关的情况。

本发明的化合物还可用于治疗泌尿道的病症和疾病状态，如压力性尿失禁、欲望性尿失禁、良性前列腺肥大(BPH)、前列腺炎、逼尿肌反射亢进、出口梗阻、尿频、夜尿症、尿急、膀胱活动过度、骨盆超敏反应、尿道炎、前列腺痛、膀胱炎、特发性膀胱超敏反应。

本发明的化合物在体内还具有抗炎和/或镇痛特性，因此，预期其可用于治疗与由各种原因导致的疼痛情况有关的疾病状态，其非限制性地包括神经性疼痛、炎性疼痛、手术痛、内脏痛、牙痛、月经前疼痛、中枢性痛、由于烧伤导致的疼痛、偏头痛或丛集性头痛、神经损伤、神经炎、神经痛、中毒、局部缺血损伤、间质性膀胱炎、癌症痛、病毒、寄生虫或细菌感染、创伤后损伤(包括骨折和运动损伤)和与功能性肠紊乱如肠易激综合征有关的疼痛。

给药与药物组合物

本发明包括药物组合物，其包含至少一种本发明化合物或其单独的异构体、异构体的外消旋或非外消旋混合物或其可药用盐或溶剂化物以及至少一种可药用的载体，并且该药物组合物还任选地包含其它治疗和/或预防

成分。

一般而言，本发明化合物是通过具有相似用途的物质的任何可接受的给药方式以治疗有效量进行给药的。适宜的剂量范围通常为每天 1-500mg，优选地为每天 1-100mg，并且最优选为每天 1-30mg，其取决于许多因素，例如所治疗疾病的严重程度、个体的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力、给药途径和形式、给药所针对的适应症以及主治医生的偏爱和经验。治疗该类疾病的本领域普通技术人员能在不进行过度实验的情况下根据其自身的常识和本申请所公开的内容确定对于给定疾病而言本发明化合物的治疗有效量。

本发明的化合物可以以药物制剂的形式给药，所说的药物制剂包括适用于口服(包括颊和舌下)、直肠、经鼻、局部、肺、阴道或胃肠外(包括肌肉内、动脉内、鞘内、皮下和静脉内)给药的制剂或者适合通过吸入或吹入进行给药的形式。优选的给药方式通常为使用常规日剂量方案的口服给药，可以根据疾病的程度对日剂量方案进行调整。

可以将本发明的化合物与一种或多种常规助剂、载体或稀释剂制备成药物组合物和单位剂量的形式。所说的药物组合物和单位剂型可以由常规比例的常规成分所组成并且含有或不含有其它活性化合物或成分，所说的单位剂量形式可以包含与所用的所需日剂量范围相称的任何适宜有效量的活性成分。所说的药物组合物可以以固体如片剂或填充胶囊剂、半固体、粉末、缓释制剂或液体如溶液剂、混悬液、乳剂、酞剂、或口服的填充胶囊的形式使用；或者可以是用于直肠或阴道给药的栓剂形式；或者可以是用于胃肠外应用的无菌注射液的形式。因此，每片包含约一(1)毫克活性成分，或者更广泛地说，包含约 0.01 至约一百(100)毫克活性成分的制剂是适宜的代表性的单位剂量形式。

本发明的化合物可以被制备成各种口服给药的剂型。所说的药物组合物和剂型可以包含本发明的化合物或其可药用盐作为活性成分。可药用的载体可以是固体或液体。固体形式的制剂包括散剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂以及可分散颗粒的形式。固体载体可以是一种或多种也可以

用作稀释剂、矫味剂、增溶剂、润滑剂、助悬剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包封材料的物质。在散剂中，所说的载体通常为精细粉碎的固体，其是与精细粉碎的活性成分混合的混合物。在片剂中，通常将活性成分与具有所需结合力的载体以适宜比例进行混合，并将其压制成为所需的形状和大小。所说的散剂和片剂优选地包含约百分之一(1)至约百分之七十(70)的活性化合物。适宜的载体非限制性地包括碳酸镁、硬脂酸镁、滑石粉、糖、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡、可可脂等。术语“制剂”包括采用包封材料作为载体的活性化合物制剂，从而得到一种其中含有或不含载体的活性成分被与之相关的载体围绕着的胶囊。同样，也包括扁囊剂和锭剂。片剂、散剂、胶囊剂、丸剂、扁囊剂和锭剂可以作为适合于口服给药的固体形式。

适合于口服给药的其它形式包括液体形式的制剂(包括乳剂、糖浆剂、酏剂、水溶液、水性混悬液)或者在临用前被转化成液体形式制剂的固体形式的制剂。乳剂可以在溶液例如丙二醇水溶液中进行制备，或者可以包含乳化剂，例如卵磷脂、脱水山梨醇单油酸酯或阿拉伯胶。水溶液可以通过将活性成分溶解于水中并加入适宜的着色剂、矫味剂、稳定剂和增稠剂来进行制备。水性混悬液可以通过用粘性物质如天然或合成的树胶、树脂、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和其它众所周知的助悬剂将精细粉碎的活性成分分散于水中来制备。液体形式的制剂包括溶液剂、混悬液和乳剂，并且除了活性成分外，还可以包含着色剂、矫味剂、稳定剂、缓冲剂、人工和天然甜味剂、分散剂、增稠剂、增溶剂等。

本发明的化合物可以制备为用于胃肠外给药(例如，通过注射给药，例如推注或连续输注)的形式，并且可以制备为位于安瓿、预填充注射器、小容量输注液中的单位剂量形式，或制备为含有添加的防腐剂的多剂量容器中的形式。所说的组合物可以采取诸如在油性或水性溶媒中的混悬剂、溶液剂或乳剂的形式，例如在聚乙二醇水溶液中的溶液剂。油性或非水性载体、稀释剂、溶剂或溶媒的实例包括丙二醇、聚乙二醇、植物油(例如橄榄油)和可注射的有机酯类(例如油酸乙酯)，并且其可以包含配制剂如防腐剂、

润湿剂、乳化剂或助悬剂、稳定剂和/或分散剂。或者，活性成分可以是粉末形式，其是通过无菌分离或者通过对溶液冷冻干燥获得的，用于在使用前以适宜的溶媒例如无菌、无热原的水来构建。

本发明的化合物可以配制为以软膏剂、霜剂或洗剂或经皮贴剂的形式对表皮局部给药。例如，软膏剂和霜剂可以用添加有适宜增稠剂和/或胶凝剂的水性或油性基质进行配制。洗剂可以用水性或油性基质进行配制并且通常还包含一种或多种乳化剂、稳定剂、分散剂、助悬剂、增稠剂或着色剂。适合于口腔中局部给药的制剂包括：包含在已进行矫味的基质(通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)中的活性剂的锭剂；包含在惰性基质(例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)中的活性成分的软锭剂；和包含在适宜液体载体中的活性成分的漱口剂。

本发明的化合物还可制备成以栓剂给药的形式。首先将低熔点蜡如脂肪酸甘油酯的混合物或可可脂熔化，并将活性组分例如通过搅拌均匀分散。然后将熔化的均匀混合物倾至适宜尺寸的模具中，使之冷却并固化。

本发明的化合物也可以制备成用于阴道给药的形式。除活性成分以外，还适合于含有本领域已知的载体如子宫托、卫生栓、霜剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂。

本发明的化合物可制备成经鼻给药的形式。溶液或悬浮液通过常规方法例如采用滴管、吸管或喷雾器直接应用于鼻腔。该制剂可以以单或多剂量的形式提供。当为滴管或吸管的多剂量形式时，可以通过对患者施用适宜的预定体积的溶液或悬浮液来进行给药。当采用喷雾器时，可以通过例如计量的雾化喷雾泵来进行给药。

本发明的化合物可以制备成气雾剂给药，特别是对呼吸道和包括鼻内给药的时候。化合物通常具有较小的粒径，例如5微米级或更小。该粒径可以通过本领域已知的方法(例如微粉化)获得。活性成分可以以含有适宜抛射剂的加压包装提供，所述的抛射剂例如氯氟烃类(CFC)(如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷或二氯四氟乙烷)或二氧化碳或其它适宜的气体。气雾剂也可以方便地含有表面活性剂如卵磷脂。药物的剂量可以通过计量阀门控制。

或者，活性成分可以以干粉的形式提供，例如化合物与适宜的粉末基质如乳糖、淀粉、淀粉衍生物如羟丙基甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)的粉末混合物。粉末载体会在鼻腔中形成凝胶。粉末组合物可以以单位剂量形式存在，例如明胶或凸泡包装的胶囊或药筒，粉末可以从其中通过吸入器进行给药。

如果需要，制剂可采用适于将活性成分缓释或控释给药的肠溶包衣进行制备。例如，本发明的化合物可以制备成经皮或皮下药物递送装置。当有必要使化合物持续释放时和当患者对治疗方案的顺应性非常关键时，这些递送系统是有利的。透皮递送系统中的化合物通常附着在皮肤粘附性的固态支撑物上。所感兴趣的化合物也可与渗透促进剂如氮酮(1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮)结合。缓释递送系统可以通过手术或注射皮下植入至皮下层中。皮下植入物是将化合物包封在脂溶性膜例如硅橡胶或者生物可降解聚合物如聚乳酸中。

所说的药物制剂优选地为单位剂量形式。在该类形式中，制剂被细分为包含适宜数量的活性组分的多个单位剂量。所说的单位剂量形式可以是被包装的制剂，所说的包装中含有离散数量的制剂，例如被包装的片剂、胶囊和在小瓶或安瓿中的粉末。所说的单位剂量形式还可以是胶囊剂、片剂、扁囊剂或锭剂本身，或者其可以是适宜数量的任何一种这类被包装形式的制剂。

在 Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, E. W. Martin 编辑, Mack Publishing Company, 第 19 版, Easton, 宾西法尼亚州中描述了其它适宜的药用载体及其制剂。在下文中描述了包含本发明化合物的代表性的药物制剂。

实施例

给出以下的制备和实施例以使本领域技术人员更清楚地理解和实施本发明。不应将其看成是对本发明范围的限制，其仅仅是对本发明进行的说明和本发明的一些代表。

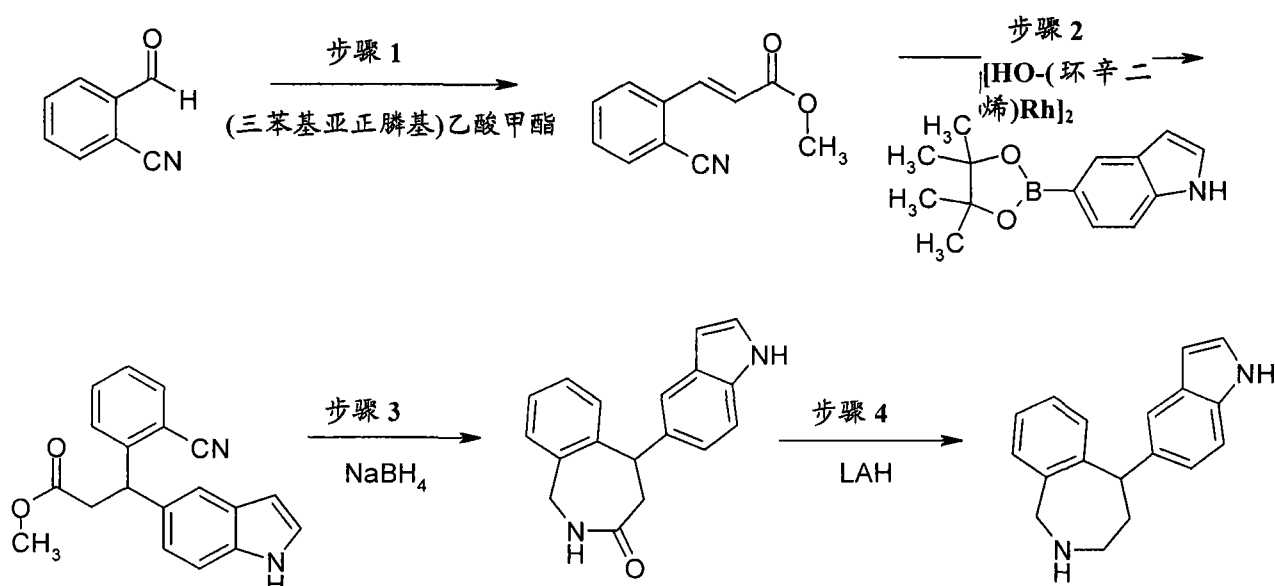
除非另有说明,所有的温度包括熔点(即 MP)在内都采用摄氏度形式(°C)。应当理解,产生所述和/或所需产物的反应可以不必直接来自最初加入的两种试剂的组合,即,可以有一种或多种在混合物中产生的中间体存在,所述的混合物最终导致所述和/或所需产物的形成。在制备和实施例中可以使用以下缩写。

缩写

DCM	二氯甲烷/亚甲基二氯
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMAP	4-二甲基氨基吡啶
ECDI	1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)碳二亚胺
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
gc	气相色谱
HMPA	六甲基磷酰胺
HOBt	N-羟基苯并三唑
hplc	高效液相色谱法
mCPBA	<i>m</i> -氯过苯甲酸
MeCN	乙腈
NMP	N-甲基吡咯烷酮
TEA	三乙胺
THF	四氢呋喃
LAH	氢化铝锂
LDA	二异丙基氨基锂
TLC	薄层色谱法

实施例 1

在该实施例中所用的合成流程概述于下面的流程 B 中。



流程 B

步骤 1: 3-(2-氰基-苯基)-丙烯酸甲酯

向 2-氰基苯甲醛(5.0g, 38mmol)在苯(100mL)中的溶液中加入(三苯基亚正膦基)乙酸甲酯(14g, 42mmol), 并将所得溶液加热回流 15 小时。将粗物质减压浓缩, 置于硅胶上, 通过快速色谱法(二氯甲烷)纯化, 得到白色固体状的 3-(2-氰基-苯基)-3-(1H-吲哚-5-基)-丙酸甲酯(7.0g)。MS (M+H) = 188。

步骤 2: 3-(2-氰基-苯基)-3-(1H-吲哚-5-基)-丙酸甲酯

向 3-(2-氰基-苯基)-3-(1H-吲哚-5-基)-丙酸甲酯(3.0g, 16mmol)、5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吲哚(5.8g, 24mmol)和羟基(1,5-环辛二烯)铑(I)二聚体(0.37g, 0.80mmol)的混合物中加入 6:1 的二噁烷:水(120mL)和三乙胺(2.4g, 24mmol)。将反应混合物在氮气下于 90℃ 油浴中加热 90 分钟。反应混合物冷却到室温, 用水稀释(200mL), 并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩为暗绿色的油状物, 将其通过快速色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到浅黄色泡沫状的纯的 3-(2-氰基-苯基)-3-(1H-吲哚-5-基)-丙酸甲酯(2.7g), 以及以 1:2 的摩尔比与频那醇混合的一些产物, 为黄色-橙色半固体(2.1g)。MS (M+H) = 305。

步骤 3: 5-(1H-吲哚-5-基)-1,2,4,5-四氢-苯并[c]氮杂萘-3-酮

向 3-(2-氨基-苯基)-3-(1H-吡啶-5-基)-丙酸甲酯和频那醇(1:2 摩尔比, 2.1g)在甲醇(100mL)中的混合物中加入硼氢化钠(2.6g, 14mmol), 历经 45 分钟分批加入。在室温下持续搅拌 15 小时。接着通过硅藻土过滤反应混合物, 用甲醇洗涤, 并将合并的滤液浓缩。将由此获得的粗物质分配在乙酸乙酯和 5%氨水中。有机层用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩为黄色油状物, 其包含 5-(1H-吡啶-5-基)-1,2,4,5-四氢-苯并[c]氮杂萘-3-酮和未环化的 3-(2-氨基甲基-苯基)-3-(1H-吡啶-5-基)-丙酸甲酯(流程 B 中未显示)。将粗的油状物混悬于 1,4-二噁烷(100mL)中, 加热回流 40 小时, 接着冷却并浓缩为棕色油状物, 通过快速色谱法(甲醇/乙酸乙酯)纯化, 得到白色固体状的纯的 5-(1H-吡啶-5-基)-1,2,4,5-四氢-苯并[c]氮杂萘-3-酮(0.50g)。MS (M+H) = 277。

步骤 4: 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂萘

将氢化铝锂(0.27g, 7.2mmol)在四氢呋喃(5mL)中的浆体加入到用冰-水浴冷却的 5-(1H-吡啶-5-基)-1,2,4,5-四氢-苯并[c]氮杂萘-3-酮(0.50g, 1.8mmol)在四氢呋喃(75mL)中的混悬液中。将混合物加热回流 100 分钟, 接着在冰-水浴中冷却, 用水(0.6mL)、15%KOH 水溶液(0.6mL)和压碎的硫酸钠十水合物(14g)猝灭。将混合物在室温下搅拌 30 分钟, 接着过滤, 用乙酸乙酯洗涤。将有机层浓缩为黄色油状物, 其通过快速色谱法(氢氧化铵/甲醇/二氯甲烷)纯化, 得到无色泡沫状的纯的 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂萘(0.20g, MS (M+H) = 263), 以及被未定性的四氢呋喃-铝复合物污染的一些产物(0.23g), 为无色泡沫。将污染的产物溶于 1:1 的乙酸乙酯:乙醚(5mL), 并在干燥的氮气覆盖下, 逐滴加入 1.0M HCl 在乙醚(0.9mL)中的溶液。通过过滤收集白色固体沉淀物, 用冰冷的乙醚和四氢呋喃洗涤。将固体混悬于乙醇中并减压蒸发至干, 重复该方法, 得到灰白色粉末状的纯的 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂萘盐酸盐(0.16g)。

实施例 2

将 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草拆分为(R)-5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草和(S)-5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草

使用制备型 HPLC (Chiralpak IA, 85:15 的己烷:乙醇, 0.1%的二乙胺), 将少量的 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草样品(0.065g) 分离出其对映异构体, 得到 0.016g 的各对映异构体, 为无色泡沫状。

实施例 3

5-(1H-吡啶-5-基)-2-甲基-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草

将 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草使用甲醛和三乙酰氧基硼氢化钠在 1,2-二氯乙烷中进行还原氨化, 得到白色粉末状的标题化合物, 产率为 50% (MS (M+H) = 277)。

实施例 4

制剂

如下表所示制备用于通过各种途径进行递送的药物组合物。在这些表中所用的“活性成分”或“活性化合物”指的是一种或多种式 I 化合物。

用于口服给药的组合物

组分	%(重量/重量)
活性成分	20.0%
乳糖	79.5%
硬脂酸镁	0.5%

将这些成分混合并分装到胶囊中, 每粒胶囊含有约 100mg; 一粒胶囊近似于总日剂量。

用于口服给药的组合物

组分	%(重量/重量)
活性成分	20.0%
硬脂酸镁	0.5%
交联羧甲基纤维素钠	2.0%
乳糖	76.5%
PVP (聚乙烯吡咯烷)	1.0%

将上述成分合并，并用溶剂如甲醇制粒。然后将颗粒干燥，用适宜的压片机将其制成片剂(含有约 20mg 活性化合物)。

用于口服给药的组合物

组分	用量
活性化合物	1.0 g
富马酸	0.5 g
氯化钠	2.0 g
对羟基苯甲酸甲酯	0.15 g
对羟基苯甲酸丙酯	0.05 g
砂糖	25.5 g
山梨醇(70%溶液)	12.85 g
硅酸镁铝 K (Vanderbilt 公司)	1.0 g
矫味剂	0.035mL
着色剂	0.5 mg
蒸馏水	适量, 加至 100ml

将这些成分混合，形成用于口服给药的混悬液。

胃肠外制剂

组分	%(重量/重量)
活性成分	0.25 g
氯化钠	适量, 至等渗
注射用水	100mL

将活性成分溶解于一部分注射用水中。然后, 在搅拌的情况下向其中加入足够量的氯化钠以使该溶液等渗。用剩余的注射用水将该溶液加至所需体积, 用 0.2 微米的膜滤器过滤并在无菌条件下对其进行包装。

栓剂制剂

组分	%(重量/重量)
活性成分	1.0%
聚乙二醇 1000	74.5%
聚乙二醇 4000	24.5%

将这些成分一起在蒸气浴上融化并进行混合, 倒入模具中, 每粒总重量 2.5g。

局部制剂

组分	克数
活性化合物	0.2-2
司盘 60	2
吐温 60	2
矿物油	5
矿脂	10
对羟基苯甲酸甲酯	0.15
对羟基苯甲酸丙酯	0.05
BHA (丁羟茴醚)	0.01
水	适量, 至 100

将除水之外的所有成分合并，在搅拌的情况下将其加热至约 60℃。然后，在强烈搅拌的情况下，在约 60℃下向其中加入足够量的水以使这些成分乳化，然后向其中加入适量的水至约 100g。

鼻喷雾制剂

制备一些包含约 0.025-0.5%的活性化合物的水性混悬液作为鼻喷雾制剂。这些制剂任选地包含无活性的成分，例如微晶纤维素、羧甲基纤维素钠、右旋糖等。可以向其中加入盐酸来调节其 pH。该鼻喷雾制剂可以通过每次启动时通常递送约 50-100 微升制剂的鼻喷雾计量泵来递送。典型的给药方案为每 4-12 小时喷 2-4 次。

实施例 5

用闪烁逼近分析法(SPA)筛选人血清素转运蛋白(hSERT)的拮抗剂

使用本实施例的筛选试验通过用 [³H]-西酞普兰进行竞争来测定配体对 hSERT 转运蛋白的亲合力。

闪烁逼近分析法(SPA)的工作原理是通过将放射性配体放到小珠的闪烁剂附近来刺激光发射。在该试验中，将包含受体的膜与 SPA 小珠预偶联，并测量适宜的放射性配体与该转运蛋白的结合。光发射与所结合的放射性配体的数量成比例。未结合的放射性配体由于远离闪烁剂(缺乏能量转移)而不产生信号。

将稳定表达重组 hSERT 的 HEK-293 细胞(Tatsumi 等人, Eur. J. Pharmacol. 1997, 30, 249-258)用培养基(具有 10%FBS、300μg/ml G418 和 2mM L-谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基)维持并在 37℃、5%CO₂ 下进行培养。用 PBS 将这些细胞从培养瓶中释放出来 1-2 分钟。随后，将这些细胞在 1000g 下离心 5 分钟并将其重新混悬于 PBS 中，然后用于膜的制备。

细胞膜用 50mM TRIS (pH 7.4)的膜制备缓冲液进行制备。这些细胞膜由单一细胞团(共计 7.5 x 10⁹ 个细胞)制得。将这些细胞用 Polytron 匀化(介质冲击设定为 4 秒)。然后，将该匀浆在 48,000xg 下离心 15 分钟，随后分

离上清液并将其弃去，将沉淀物用新鲜的缓冲液重新悬浮。在第二次离心后，将沉淀物重新匀化并调至在试验过程中所测定的终体积。通常将这些膜分成 3mg/ml (w:v) 的等分试样并将其储存在 -80℃ 下。

对于闪烁逼近分析法 IC_{50}/K_i 的测定而言，使用 50mM Tris-HCl 和 300mM NaCl (pH 7.4) 缓冲液。通过 Beckman Biomek 2000，采用系列稀释方案将本发明的化合物从 10mM 稀释至 0.1nM FAC (10 个点的曲线，全对数/半对数稀释)。然后，移取试验化合物 (20 μ l/孔) 并以 50 μ l/孔的量向其中加入 [3 H]-西酞普兰放射性配体。将膜和小珠配制为 10 μ g:0.7mg 的比例，每孔加入 0.7mg PVT-WGA Amersham 小珠 (目录号 RPQ0282V)。将 130 μ l 膜:小珠的混合物加入到测定板中。使该混合物在室温下静置 1 小时，然后在 Packard TopCount LCS 上对其进行计数，采用一般的 SPA 计数方法设置 (能量范围:低，效率模式:正常，区域 A: 1.50-35.00，区域 B: 1.50-256.00，计数时间(分钟):0.40，背景扣除:无，半衰期校正:无，猝灭指示器: tSIS，板子空白背景扣除:无，串扰降低:关)。

计算所测试的各化合物的抑制% [(最大浓度下的化合物的每分钟计数 (CPM) - 非特异性的 CPM) / 总 CPM * 100]。利用下面的方程，用 Activity Base/Xlfit 采用迭代非线性曲线拟合方法来测定产生 50% 抑制的浓度 (IC_{50}):

$$y = \frac{\max - \min}{1 + (IC_{50} / x)^n} + \min$$

其中 \max = 总结合， \min = 非特异性结合， x = 试验化合物的浓度 (M)， n = Hill 斜率。根据 Cheng-Prusoff 的方法来确定各化合物的抑制解离常数 (K_i)，然后将其转化成 K_i 的负对数 (pK_i)。

用上面的方法，发现本发明的化合物对人血清素转运蛋白具有亲合力。例如，使用上面的试验发现 5-(1H-咪唑-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草具有的 pK_i 约为 6.9。

实施例 6

用闪烁逼近分析法(SPA)筛选对人去甲肾上腺素转运蛋白(hNET)有活性的化合物

使用本试验通过用 $[^3\text{H}]$ -尼索西汀进行竞争来测定配体对 hNET 转运蛋白的亲合力。如在上面实施例的 hSERT 试验中那样, 将包含受体的膜与 SPA 小珠预偶联并测量适宜的放射性配体与该转运蛋白的结合。光发射与所结合的放射性配体的量成比例, 未结合的放射性配体不产生信号。

将稳定表达重组 hNET 的 HEK-293 细胞(克隆: HEK-hNET #3) (Tatsumi 等人, *Eur. J. Pharmacol.* 1997, 30, 249-258)用培养基(具有 10% FBS、300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ G418 和 2mM L-谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基)维持, 并将其在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 下进行培养。用 PBS 将这些细胞从培养瓶中释放出来 1-2 分钟。随后, 将这些细胞在 1000g 下离心 5 分钟并将其重新混悬于 PBS 中, 然后用于膜的制备。

细胞膜用 50mM TRIS (pH 7.4)的膜制备缓冲液进行制备。这些细胞膜由单一细胞团(共计 7.5×10^9 个细胞)制得。将这些细胞用 Polytron 匀化(介质冲击设定为 4 秒)。然后, 将该匀浆在 48,000xg 下离心 15 分钟, 随后分离上清液并将其弃去, 将沉淀物用新鲜的缓冲液重新悬浮。在第二次离心后, 将沉淀物重新匀化并调至在试验过程中所测定的终体积。通常将这些膜分成 3-6 mg/ml (w:v)的等分试样并将其储存在-80 $^{\circ}\text{C}$ 下。

用 $[^3\text{H}]$ 尼索西汀放射配体(Amersham 公司目录号 TRK942 或 Perkin Elmer 公司目录号 NET1084, 比活性: 70-87 Ci/mmol, 母液浓度:1.22e-5 M, 终浓度: 8.25e-9 M)和 50mM Tris-HCl、300mM NaCl (pH 7.4)的缓冲液来进行闪烁逼近分析法 $\text{IC}_{50}/\text{K}_i$ 的测定。通过 Beckman Biomek 2000, 采用系列稀释方案将本发明的化合物从 10mM 稀释至 0.1nM FAC(10 个点的曲线, 全对数/半对数稀释)。然后, 移取试验化合物(20 μl /孔)并以 50 μl /孔的量向其中加入放射性配体。将膜和小珠配制为 10 μg :0.7mg 的比例, 每孔加入 0.7mg PVT-WGA Amersham 小珠(目录号 RPQ0282V)。将 130 μl 膜:小珠的混合物加入到测定板中。使该混合物在室温下静置 1 小时, 然后在 Packard TopCount LCS 上对其进行计数, 采用一般的 SPA 计数方法设置

(能量范围:低, 效率模式: 正常, 区域 A: 1.50-35.00, 区域 B: 1.50-256.00, 计数时间(分钟):0.40, 背景扣除:无, 半衰期校正:无, 猝灭指示器: tSIS, 板子空白背景扣除: 无, 串扰降低:关)。

计算所测试的各化合物的抑制%[(最大浓度下的化合物的 CPM - 非特异性的 CPM) / 总 CPM * 100]。利用下面的方程, 用 Activity Base/Xlfit 采用迭代非线性曲线拟合方法来测定产生 50%抑制的浓度(IC₅₀):

$$y = \frac{\max - \min}{1 + (IC50/x)^n} + \min$$

其中 max = 总结合, min = 非特异性结合, x = 试验化合物的浓度 (M), n = Hill 斜率。根据 Cheng-Prusoff 的方法来确定各化合物的抑制解离常数(K_i), 然后将其转化成 K_i 的负对数(pK_i)。

用上面的方法, 发现本发明的化合物对人去甲肾上腺素转运蛋白具有亲合力。例如, 使用上面的试验发现 5-(1H-吡啶-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂萘具有的 pK_i 约为 8.0。

实施例 7

用闪烁逼近分析法(SPA)筛选对人多巴胺转运蛋白有活性的化合物

使用该实验通过 [³H]-伐诺司林的竞争来测定配体对多巴胺转运蛋白的亲合力。

将稳定表达重组 hDAT 的 HEK-293 细胞(Tatsumi 等人, Eur. J. Pharmacol. 1997, 30, 249-258)用培养基(具有 10% FBS、300μg/ml G418 和 2mM L-谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基)维持, 并将其在 37°C、5% CO₂ 下进行培养。在试验前 4 小时, 将细胞以大约 30,000 个细胞/孔(在 PBS 中)接种到白色、不透明的 Cell-Tak 涂覆的 96 孔板中。使用 ELx405 板子清洗器将多余的缓冲液弃去。

使用 [³H]伐诺司林(GBR 12909)放射性配体来进行闪烁逼近分析法的 IC₅₀/K_i 测定, 所述配体的比活性约为 59Ci/mmol, 母液浓度 400nM, 在 50mM Tris-HCl、300mM NaCl (pH 7.4)的缓冲液中。将本发明的化合物通

过 Beckman Biomek 2000 使用 10-点的稀释法从 10mM 稀释到 0.1nM FAC (10 个点的曲线, 全对数/半对数稀释)。将混合物放置于室温 30 分钟, 接着在 Packard TopCount LCS 上计数, 采用一般的 SPA 计数方法的设置, 计数时间(分钟): 0.40, 背景扣除: 无, 半衰期校正: 无, 猝灭指示器: tSIS, 板子空白背景扣除: 无, 串扰降低: 关闭)。

计算所测试的各化合物的抑制%[(最大浓度下的化合物的 CPM - 非特异性 CPM) / 总 CPM * 100]。利用下面的方程, 用 Activity Base/Xlfit 采用迭代非线性曲线拟合方法来测定产生 50%抑制的浓度(IC₅₀):

$$y = \frac{\max - \min}{1 + (IC_{50}/x)^n} + \min$$

其中 max = 总结合, min = 非特异性结合, x = 试验化合物的浓度 (M), n = Hill 斜率。根据 Cheng-Prusoff 的方法来确定各化合物的抑制解离常数(Ki), 然后将其转化成 Ki 的负对数(pKi)。

使用上面的方法, 发现本发明的化合物对人多巴胺转运蛋白具有亲和力。例如, 使用上面的试验发现 5-(1H-吲哚-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草具有的 pKi 约为 8.7。

已经获得了以下结果:

化合物	pKi hSERT (实施例 5)	pKi hNET (实施例 6)	pKi hDAT (实施例 7)
5-(1H-吲哚-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草	6.90	8.00	8.70
(R)-5-(1H-吲哚-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草	6.70	8.20	7.50
(S)-5-(1H-吲哚-5-基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草	7.10	7.90	8.90
5-(1H-吲哚-5-基)-2-甲基-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[c]氮杂草	8.30	8.30	9.00

虽然已经参考其具体的实施方案对本发明进行了描述，但本领域技术人员应当清楚的是，可以对其进行多种变化，并且可以在不背离本发明的真实主旨和范围的情况下对其进行许多等同替换。此外，根据本发明的主旨和范围还可以进行许多修改，以适应特定的情况、材料、物质的组合物、处理、处理步骤等。所有这些改变都涵盖在所附权利要求的范围之内。