



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103351377 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 13

(21) 申请号 201310280813. 6

(22) 申请日 2006. 10. 24

(30) 优先权数据

05/10862 2005. 10. 25 FR

06/04030 2006. 05. 05 FR

(62) 分案原申请数据

200680044229. 9 2006. 10. 24

(73) 专利权人 领先药物公司

地址 法国巴黎

(72) 发明人 贝纳德·罗克

马里-克洛德·富尼耶-扎武斯基

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司

11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

C07D 333/24(2006. 01)

C07C 323/60(2006. 01)

C07C 319/22(2006. 01)

A61K 31/381(2006. 01)

A61K 31/165(2006. 01)

A61P 25/24(2006. 01)

A61P 25/04(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

(56) 对比文件

US 5491169 A, 1996. 02. 13, 全文.

NOBLE F ET AL. INHIBITION OF THE ENKEPHALIN-METABOLIZING ENZYMES BY THE FIRST SYSTEMICALLY ACTIVE MIXED INHIBITOR PRODRUG RB 101-INDUCES POTENT ANALGESIC RESPONSES IN MICE AND RATS. 《JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS》. 1992, 第 261 卷 (第 1 期), 181-190.

NOBLE, FLORENCE ET AL. Pain-suppressive effects on various nociceptive stimuli (thermal, chemical, electrical and inflammatory) of the first orally active enkephalin-metabolizing enzyme inhibitor RB 120. 《PAIN》. 1997, 第 73 卷 (第 3 期), 383-391.

Marie-Claude Fournié-Zaluski, et al. "Mixed Inhibitor-Prodrug" as a New Approach toward Systemically Active Inhibitors of Enkephalin-Degrading Enzymes. 《J. Med. Chem.》. 1992, 第 35 卷 (第 13 期), 2473-2481.

审查员 杨志培

权利要求书2页 说明书27页 附图2页

(54) 发明名称

作为脑啡肽酶和氨肽酶 N 混合抑制剂的包含二巯基的氨基酸衍生物

(57) 摘要

本发明涉及作为脑啡肽酶和氨肽酶 N 混合抑制剂的包含二巯基的氨基酸衍生物。具体地, 本发明涉及式 (I) 的新型化合物: $H_2N-CH(R_1)-CH_2-S-S-CH_2-CH(R_2)-CONH-R_5$, 其中: R_1 是烷基、苯基或苄基、被 5 原子或 6 原子杂环取代的亚甲基; R_2 是苯基或苄基、5 原子或 6 原子芳杂环、被 5 原子或 6 原子杂环取代的亚甲基; R_5 是 $CH(R_3)-COOR_4$ 基团, 其中 R_3 是氢、OH 或 OR 基、饱和烷基、苯基或苄基并且 OR_4 是亲水的酯, 或者 R_5 是包含若干个选自氮、硫和氧的杂原子的 5 元或 6 元杂环, 并且至少包含

两个氮原子, 其中所述杂环被 C_1-C_6 的烷基、苯基或苄基取代。还公开了药物形式的本发明化合物的用途, 包含所述化合物和药学可接受的赋形剂的药物组合物, 与大麻素衍生物中的至少一种类型和 / 或吗啡或其衍生物一起用于增强式 (I) 的新型化合物的镇痛和抗抑郁作用的用途。

1. 下式 (I) 的化合物以及所述化合物 (I) 与药学可接受的无机酸或有机酸的加成盐：

$$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{R}_2)-\text{CONH}-\text{R}_5$$

其中：

R_1 表示：

—含有 1 ~ 6 个碳原子的饱和直链或支链的烃链，其被 SR 取代，其中 R 表示具有 1 ~ 4 个碳原子的直链或支链的烃链；

R_2 表示：

—苄基，或

—被芳族的 5 元杂环取代的亚甲基，杂原子是硫，

R_5 表示：

a) $\text{CH}(\text{R}_3)-\text{COOR}_4$ 基团，其中

R_3 表示：

—氢，

—直链或支链的任选地被 OR_a 基团取代的含有 1 ~ 6 个碳原子的饱和烃链，其中， R_a 表示氢原子、1 至 4 个碳原子的直链或支链的烃链，和

OR_4 表示

— $\text{OCH}(\text{R}'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ ，其中在这些基团的每一个中 R' 表示具有 1 至 6 个碳原子的饱和直链或支链的烃链，并且 R'' 表示以下基团

* 氢原子，

* 直链或支链的 C1 ~ C6 烷基链。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 OR_4 表示 $\text{OCH}(\text{R}'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ ，其中在这些基团的每一个中 R' 如权利要求 1 所定义并且 R'' 表示 C1 ~ C4 烷基。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于 R_1 表示被 SR 基团取代的具有 1 ~ 4 个碳原子的烷基，其中 R 如权利要求 1 所定义。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_3 表示氢原子或被 OH 基团取代的具有 1 ~ 6 个碳原子的烷基。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 OR_4 表示 $\text{OCH}(\text{R}'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ ，

— R' 基团表示 C1 ~ C4 烷基链，和

— R'' 基团表示甲基、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 OR_4 表示 $\text{OCH}(\text{R}'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ ，所述 R' 基团表示乙基。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于所述化合物选自下列化合物：

1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基))-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺，

1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基))-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺，

1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基-乙氧基羰基))-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-苯基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺。

8. 一种药物组合物，其特征在于所述药物组合物包含根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所

述的至少一种式 (I) 化合物以及适于药用的赋形剂。

9. 根据权利要求 8 所述的药物组合物,其中所述适于药用的赋形剂是适于通过口、鼻或静脉内途径施用的赋形剂。

10. 根据权利要求 8 或 9 所述的药物组合物,其特征在于所述药物组合物用于治疗抑郁和各种类型的疼痛。

11. 根据权利要求 8 或 9 所述的药物组合物,其中其是用于治疗急性疼痛、炎性疼痛和神经性疼痛。

12. 根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途。

13. 根据权利要求 8 或 9 所述的药物组合物,其特征在于所述药物组合物还包含至少一种大麻素衍生物。

14. 根据权利要求 8 或 9 所述的药物组合物,其特征在于所述药物组合物还至少包含 Δ^9 -四氢大麻酚。

15. 至少一种根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物和至少一种大麻素衍生物的组合物在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途。

16. 至少一种根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物和至少是 Δ^9 -四氢大麻酚的组合物在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途。

17. 一种药物组合物,作为用于同时、分开或交错使用的组合产品,其包含:

- i) 至少一种根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物,
- ii) 至少一种大麻素衍生物。

18. 包含以下组分的药物组合物作为同时、分开或交错使用的组合产品在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途:

- i) 至少一种根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物,
- ii) 至少一种大麻素衍生物。

19. 根据权利要求 8 至 11、13、14 和 17 任一项所述的药物组合物,其特征在于所述药物组合物还包含吗啡或吗啡衍生物。

20. 至少一种根据权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的式 (I) 化合物和吗啡或吗啡衍生物的组合物在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途。

作为脑啡肽酶和氨肽酶 N 混合抑制剂的包含二硫基的氨基酸衍生物

[0001] 本申请是申请号为 200680044229.9, 申请日为 2006 年 10 月 24 日, 发明名称为“作为脑啡肽酶和氨肽酶 N 混合抑制剂的包含二硫基的氨基酸衍生物”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及脑啡肽酶和氨肽酶 N 的新型混合抑制剂。

背景技术

[0003] 已知天然的阿片样肽或脑啡肽 — (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met 或 Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) — 主要通过两种锌金属肽酶降解, 这两种酶是切断 Gly3-Phe4 键的脑啡肽酶 (EC3.4.24.11) (Nature 276(1978)523) 和切断这些肽的 Tyr1-Gly2 键的氨肽酶 N (EC 3.4.11.2) (Eur. J. Pharmacol. 117(1985)233; 综述于 Pharmacological review., 1993, 45, 87-146)。已知这两种酶的混合抑制剂完全保护内源性脑啡肽免于酶降解, 它们显示脑啡肽的药理活性, 尤其是镇痛和抗抑郁活性。在现有技术中描述的这两种酶活性的混合抑制剂是具有异羟肟酸酯官能团的化合物 (FR 2518088 和 FR 2605004)、氨基次膦酸化合物 (FR 2755135 和 FR 2777780) 和氨基酸衍生物 (FR 2651229)。在这些专利申请中公开的化合物在通过脑室内途径施用后表现出极好的体内和体外活性; 在异羟肟酸的情况下尤其表现出这种活性 (Eur. J. Pharmacol., 102, (1984), 525-528; Eur. J. Pharmacol., 165, (1989), 199-207; Eur. J. Pharmacol, 192, (1991), 253-262), 这些化合物在大鼠关节炎模型中静脉内 (IV) 施用后也能够显示出明显的活性 (Brain Research, 497, (1989), 94-101)。在膦衍生物和氨基酸衍生物的情况下, 当将所研究的分子溶于油、乙醇和水的混合物中时, 通过 iv 途径施用后显示出良好的体内活性 (J. Med. Chem., 43, (2000), 1398-1408; J. Med. Chem., 44, (2001), 3523-3530; J. Pharm. Exp. Ther., 261, (1992), 181-190)。然而, 即使证明属于氨基酸衍生物系列的化合物中的一种是相对可溶于水的 (Pain, 73, (1997), 383-391), 也没有一种先前公开的分子表现出在水相中的可溶解性以及经口途径施用的足够的生物可利用率和待适于人的动物中足够低的剂量提供有利的镇痛应答。同样地, 没有一种先前所述的分子能够静脉内施用, 这是因为在动物试验中它们需要溶于与通过该途径施用于人不相容的混合物中。

发明内容

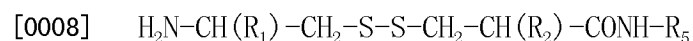
[0004] 本发明的目的之一是提供一种新型水可溶性化合物, 其能够联合抑制引起脑啡肽降解的两种酶活性并在溶于含水溶剂中并且在静脉内、皮下、经皮、鞘内或关节内注射和经口或经鼻途径施用之后显示其药理特性。

[0005] 通常认为疏水性和非极性分子更容易通过血脑屏障。然而, 出人意料地, 合成的亲水分子在中枢试验中显示出强烈的应答, 表明存在通过几种施用途径 (除局部途径之外)

到达脑结构的良好能力。本发明的另一个目的是提供表现出吗啡类物质的性质的新型化合物,尤其是表现出镇痛、对行为的有益效果(减少疼痛的情绪成分和抗抑郁反应)和外周作用(止泻、镇咳、抗炎),但是不具有吗啡类物质的主要缺点(耐受性、生理和心理依赖性、呼吸抑制、便秘、恶心)。

[0006] 此外,经口途径施用根据本发明的化合物可以减轻或甚至消除外周部分明显的炎性疼痛和神经性疼痛,因此这些化合物不必到达中枢神经系统。通过使用不能进入脑的拮抗剂有效地证实了该高度有利但出人意料的结果。这完全降低了由于本发明化合物对脑阿片样受体的刺激而产生的所有作用,但不改变所述化合物对这些类型疼痛、尤其是神经性疼痛的镇痛效果。

[0007] 最特别地,本发明涉及下式(I)的化合物以及所述化合物(I)与药学可接受的无机酸或有机酸的加成盐:



[0009] 其中:

[0010] R_1 表示:

[0011] 一含有1~6个碳原子的饱和或不饱和、直链或支链的烃链,其任选地被以下基团取代:

[0012] *OR、SR或S(O)R基团,其中在这些基团的每一个中,R表示氢、具有1~4个碳原子的直链或支链的烃链、苯基或苄基,

[0013] *苯基或苄基,

[0014] 一任选地被以下基团取代的苯基或苄基:

[0015] *1~5个卤素,特别是氟,

[0016] *OR、SR或S(O)R基团,其中在这些基团的每一个中,R如上限定,

[0017] 一被芳族的或饱和的5原子或6原子杂环取代的亚甲基,所述杂环具有氮或硫的原子作为杂原子,任选地氧化为N氧化物或S氧化物的形式;

[0018] R_2 表示:

[0019] 一任选地被以下基团取代的苯基或苄基:

[0020] *1~5个卤原子,特别是氟,

[0021] *OR或SR基团,其中在这些基团的每一个中,R如上限定,

[0022] *任选地被具有1~6个碳原子的脂肪族、环状或直链基团单取代或二取代的氨基,

[0023] *5原子或6原子的芳环,

[0024] 一5原子或6原子的芳杂环,杂原子是氧、氮或硫,

[0025] 一被芳族的或饱和的5原子或6原子杂环取代的亚甲基,杂原子是氧、氮或硫,氮原子和硫原子可以氧化为N氧化物或S氧化物的形式,

[0026] R_5 表示:

[0027] a) $\text{CH}(\text{R}_3)-\text{COOR}_4$ 基团,其中

[0028] R_3 表示:

[0029] 一氢,

[0030] 一OH或OR基团,并且R如上限定,

[0031] 一直链或支链的任选地被 OR 或 SR 基团取代的含有 1 ~ 6 个碳原子的饱和烃链 (烷基), 其中在这些基团的每一个中, R 如上限定,

[0032] 一任选地被以下基团取代的苯基或苄基:

[0033] *1 ~ 5 个卤素, 特别是氟,

[0034] *OR 或 SR 基团, 并且 R 如上限定,

[0035] 并且

[0036] OR_4 表示:

[0037] 一 OCH_2COOR' 羟基乙酸酯基团或 $OCH(CH_3)COOR'$ 乳酸酯基团, 其中在这些基团的每一个中 R' 表示

[0038] * 直链或支链的具有 1 ~ 6 个碳原子的饱和烃链 (烷基), 并且任选地被 C1 ~ C3 的烷氧基取代, 优选任选地被甲氧基取代的 C1 ~ C4 烷基,

[0039] *C5 ~ C8 的环烷基, 优选 C5 ~ C6 的环烷基,

[0040] * 苯基、苄基、杂芳基、烷基杂芳基,

[0041] 一 $OCH(R'')O(CO)OR'$ 或 $OCH(R'')O(CO)R'$ 基团, 其中在这些基团的每一个中 R' 如上限定, 并且 R'' 表示以下基团:

[0042] * 氢原子,

[0043] * 直链或支链的 C1 ~ C6 烷基链, 任选地被 C1 ~ C3 的烷氧基取代, 优选任选地被甲氧基取代的 C1 ~ C4 烷基,

[0044] *C5 ~ C8 的环烷基, 优选 C5 ~ C6 的环烷基,

[0045] * 苯基、苄基、杂芳基、烷基杂芳基,

[0046] 一 $OCH(CH_2OCOR')_2$ 或 $OCH_2-CH(OCOR')-CH_2OCOR'$ 三酸甘油酯基团, 其中在这些基团的每一个中 R' 如上限定,

[0047] 一糖苷基团, 例如 D-葡萄糖、 β -D-吡喃葡萄糖、 α -吡喃半乳糖或 β -吡喃半乳糖,

[0048] 一 $OCH_2CH_2(SO_2)CH_3$ 磺酸酯基团,

[0049] 一 $OCH(CH_2OH)_2$ 基团;

[0050] b) 包含若干个选自氮、硫和氧的杂原子的 5 元或 6 元杂环, 其中 2 个原子为氮, 所述杂环可以被 C1-C6 烷基、苯基或苄基取代。

[0051] 本发明还涉及用药学可接受的有机酸或无机酸得到的式 (I) 化合物的目标加成盐, 例如磷酸盐、盐酸盐、乙酸盐、甲磺酸盐、硼酸盐、乳酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、半琥珀酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、半酒石酸盐、马来酸盐、抗坏血酸盐、半富马酸盐、己酸盐、庚酸盐、马尿酸盐、氢化肉桂酸盐、苯甲酰甲酸盐和烟酸盐。

[0052] 在本发明的范围内, 表述“烃链”是指烷烃、烯烃或炔烃。特别地, 表述“饱和烃链”是指直链或支链的包含 1 ~ 6 个碳原子 (C1-C6) 或包含 1 ~ 4 个碳原子 (C1-C4) 的烷基。包含 1 ~ 4 个碳原子的烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、1-甲基-乙基、1-甲基-丙基和 2-甲基-丙基。包含 1 ~ 6 个碳原子的烷基的实例还包括戊基、己基、1-甲基-丁基、1-甲基-戊基、2-甲基-丁基、2-甲基-戊基、3-甲基-丁基、3-甲基-戊基、4-甲基-戊基或 1-乙基-丙基、1-乙基-丁基和 2-乙基-丁基。表述“不饱和烃链”是指直链或支链的包含 2 ~ 6 个碳原子或包含 2 ~ 4 个碳原子的烯基 (至少一个双键) 例如

乙烯基、烯丙基等,或炔基(至少一个叁键)。

[0053] 在本文中所述的术语“卤素”是指氯、溴、碘或氟。

[0054] 作为具有氮原子或硫原子作为杂原子的芳族的或饱和的 5 原子或 6 原子杂环核的非限定性实例,可以列举下列基团:噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、异噻唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吡咯烷基、吡咯啉基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡唑啉基、哌啶基、哌嗪基、噻二唑基,所述氮原子和硫原子任选地氧化为 N 氧化物或 S 氧化物的形式。

[0055] 作为具有氧原子作为杂原子的芳族的或饱和的 5 原子或 6 原子杂环核的非限定性实例,可以列举下列基团:呋喃基、吡喃基、异噁唑基、吗啉基、呋喃基、噁唑基、噁唑烷基和噁唑啉基。

[0056] 基团 R_1 有利地表示任选地被 OR、SR 或 S(O)R 基团取代的具有 1~4 个碳原子的烷基,其中在这些基团的每一个中,R 如上限定。 R_1 甚至更有利地表示具有 1~4 个碳原子的被 SR 基团取代的烷基,R 如上限定,特别地 R 表示具有 1~4 个碳原子的直链或支链的饱和烃链。

[0057] 基团 R_2 有利地表示:

[0058] 一苄基或苯基,

[0059] 一被含有氮原子或硫原子作为杂原子的芳族的或饱和的 5 原子或 6 原子杂环取代的亚甲基,所述氮原子或硫原子任选地氧化为 N 氧化物或 S 氧化物的形式。

[0060] 特别地,基团 R_2 表示苄基或被具有氮原子或硫原子作为杂原子的芳族的或饱和的 5 原子或 6 原子杂环取代的亚甲基,所述氮原子或硫原子任选地氧化为 N 氧化物或 S 氧化物的形式,基团 R_2 甚至更有利地表示苄基或被噻吩基取代的亚甲基。

[0061] 基团 R_5 是增加整个分子的亲水特性的基团,该分子通常是较疏水的分子。

[0062] 根据本发明的第一实施方案,基团 R_5 表示 $\text{CH}(R_3)-\text{COOR}_4$ 基团。

[0063] 在该第一实施方案中,基团 R_3 有利地表示氢原子或任选地被 OR 或 SR 基团取代的具有 1~6 个碳原子、甚至更有利地具有 1~4 个碳原子的烷基,其中在这些基团的每一个中,R 如上限定。基团 R_3 甚至更有利地表示氢原子或被 OH 或 SH 基团取代的具有 1~6 个碳原子、甚至更有利地具有 1~4 个碳原子的烷基。

[0064] 基团 OR_4 有利地表示:

[0065] 一 $\text{OCH}_2\text{COOR}'$ 羟基乙酸酯基团, R' 如上限定(特别地, R' 表示任选地被甲氧基取代的 C1-C4 烷基或 C5-C6 环烷基),

[0066] 一 $\text{OCH}(R'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ 或 $\text{OCH}(R'')\text{O}(\text{CO})\text{R}'$ 基团, R' 和 R'' 如上限定(特别地, R' 和 / 或 R'' 表示任选地被甲氧基取代的 C1-C4 烷基或 C5-C6 环烷基或者 R'' 表示氢原子),

[0067] 一 $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OCOR}')_2$ 或 $\text{OCH}_2-\text{CH}(\text{OCOR}')-\text{CH}_2\text{OCOR}'$ 三酸甘油酯基团,其中在这些基团的每一个中 R' 如上限定,

[0068] 一糖苷基,例如 D-葡萄糖,

[0069] 一 $\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{SO}_2)\text{CH}_3$ 磺酸酯基团,

[0070] 一 $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$ 基团。

[0071] 特别地,基团 OR_4 表示 $\text{OCH}(R'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ 或 $\text{OCH}(R'')\text{O}(\text{CO})\text{R}'$ 基团, R' 基团表示 C1-C4 烷基链(特别是乙基), R'' 基团表示甲基、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、环己基或苯基。

[0072] 根据本发明的第二实施方案,基团 R_5 表示包含若干个选自氮、硫和氧的杂原子的 5

元或 6 元杂环,其中的 2 个原子是氮,所述杂环可以被 C1-C6 烷基或苯基或苄基取代。

[0073] 在所述第二实施方案中,所述杂环有利地是任选地被 C1-C4 烷基链取代的包含 2 个氮原子的 5 元杂环,特别是 2-乙基-1,3,4-噻二唑。

[0074] 本发明特别涉及下列化合物:

[0075] 1-(2-(1-(2,3-二乙酰氧基丙氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0076] 1-(2-(1-(2-甲磺酰基乙氧羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0077] 1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基))-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0078] 1-(2-(1-乙氧基羰基甲氧基羰基乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0079] 1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基)-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0080] 1-(2-(1-(2-乙酰氧基-1-乙酰氧基甲基乙氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0081] 1-(2-(1-(2-羟基-1-羟甲基乙氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0082] 1-(2-(1-(3,4,5,6-四羟基四氢吡喃-2-基甲氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0083] 1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基-乙氧基羰基)-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-苯基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0084] 1-(2-(1-(2-乙酰氧基-1-乙酰氧基甲基-乙氧基羰基)-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-苯基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0085] 1-(2-((1-乙氧基羰基氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙胺,

[0086] 3-(2-氨基-4-甲硫基-丁基二硫基)-2-苄基-N-(5-乙基-(1,3,4)-噻二唑-2-基)-丙酰胺,

[0087] 1-(2-((1-乙氧基羰基氧基-2-甲基-丙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙胺,

[0088] 1-(2-((环己基-乙氧基羰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙胺,

[0089] 1-(2-((乙氧基羰基氧基-苯基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙胺,

[0090] 3-甲硫基-1-(3-苯基-2-((1-丙酰基氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-丙基二硫甲基)-丙胺,

[0091] 1-(2-((2-甲基-1-丙酰基氧基-丙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙胺,

[0092] 1-(2-((环己基-丙酰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基

二硫甲基)-3-甲硫基-丙胺,

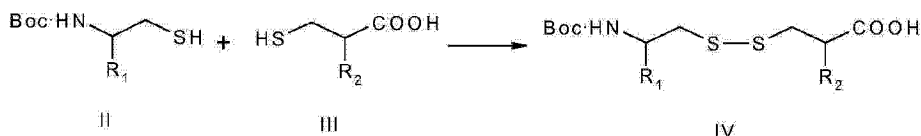
[0093] 3-甲硫基-1-(3-苯基-2-((苯基-丙酰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-丙基二硫甲基)-丙胺。

[0094] 式(I)化合物能够具有2~9个不对称中心。引入基团 R_1 、 R_2 和 R_3 ,以得到与通过酶活性识别的立体化学相对应的光学纯的链。基团 R_4 任选地含有未拆分的不对称中心。

[0095] 通过以下步骤得到式(I)化合物:

[0096] 1) 在THF(四氢呋喃)溶液中,通过甲氧基羰基磺酰氯,使氨基官能团被叔丁氧羰基(Boc)保护的 β -氨基硫醇(II)与硫醇酸(III)缩合,得到IV。

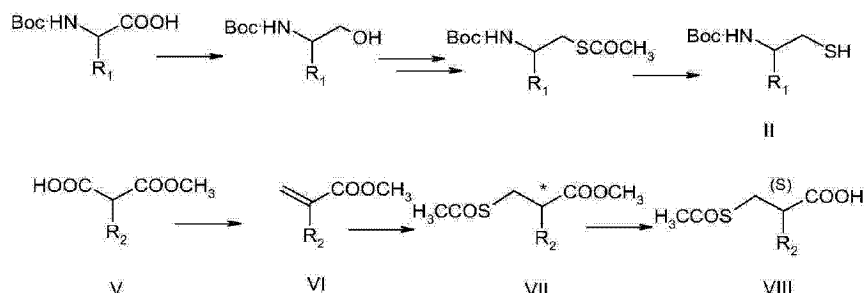
[0097]



[0098] 根据本领域技术人员已知的方法(J. Med. Chem., 35, (1992) 1259),由相应的具有绝对构型S的商用Boc氨基酸制备Boc β -氨基硫醇II,并保持构型。

[0099] 由相应的丙二酸单甲酯V得到硫醇酸III,根据本领域技术人员已知的方法(Ber., 57, (1924), 1116)将丙二酸单甲酯V转化为丙烯酸酯VI。

[0100]

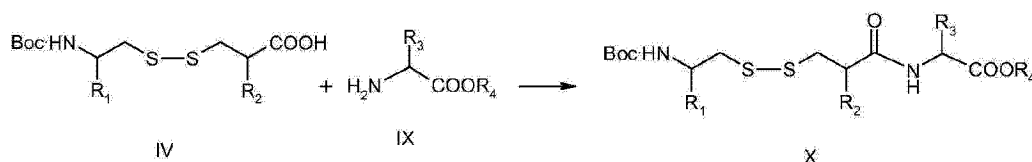


[0101] 将硫代乙酸加到丙烯酸酯VI中,得到外消旋衍生物VII(Biochemistry, 16, (1977), 5484)。通过 α -胰凝乳蛋白酶拆分,分离出光学纯的乙酰基硫代羧酸VIII(Bioorg. Med. Chem. Let, 3, (1993), 2681)。碱性水解该硫酯得到化合物III。

[0102] 2) 通过以下合成路线可以得到式(I)化合物,其中基团 R_5 表示 $CH(R_3)-COOR_4$ 基团。

[0103] 2.1) 在常规肽偶联条件下使不对称的二硫化物IV与氨基酯IX偶联,得到保护的抑制剂X。

[0104]

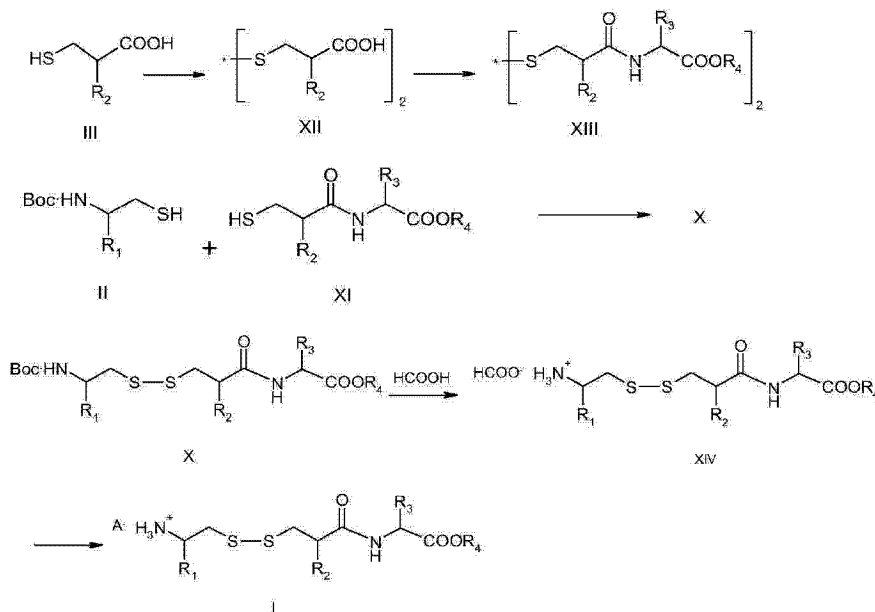


[0105] 根据替代的方法,通过利用甲氧基羰基亚磺酰基氯使Boc- β -氨基硫醇II与式XI的巯基酰基氨基酯缩合,可以得到化合物X。

[0106] 由化合物III制备巯基酰基氨基酯XI。通过乙醇碘溶液将化合物III氧化成二硫化物XII。在常规肽偶联条件下,使化合物XII与氨基酯IX偶联,得到XIII。用还原剂

(例如 3N Zn+HCl 混合物) 处理 XIII, 释放化合物 XI。

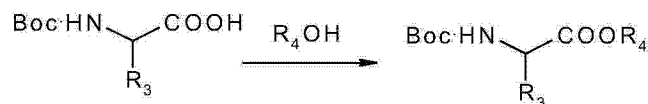
[0107]



[0108] 在甲酸作用下脱去 X 的 N-端 Boc 基团, 释放 XIV。通过以下步骤定量地改变 XIV 的反离子: 用一当量 0.1M NaHCO₃ 处理, 在具有游离氨官能团的化合物的有机介质 (EtOAc) 中萃取, 然后加入一当量所选的有机酸或无机酸以得到 I。

[0109] 2.2) 通过以下步骤得到氨基酯 IX: 使 Boc 氨基酸 XII 与醇 R₄OH 缩合, 然后通过三氟乙酸 (TFA) 脱保护并通过纯碱 (soda) 中和。如果醇 R₄OH 是伯醇, 则在常规条件下进行与 XII 的偶联 (1-[3-(二甲基氨基) 丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、1-羟基苯并三唑水合物 (HOBT) 或活化酯)。如果醇 R₄OH 是仲醇, 则通过 Mitsunobu 反应 (Synthesis(1981)1-28), 利用偶氮二羧酸二乙酯 / 三苯基膦 (DEAD/PPhe₃) 的混合物进行缩合。

[0110]

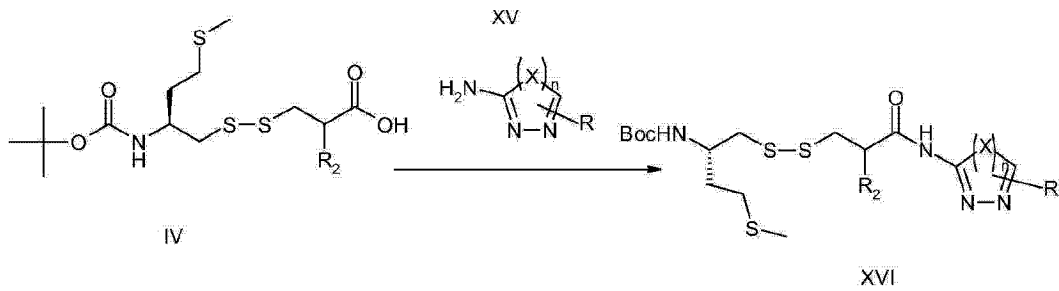


[0111] 醇 R₄OH 在大多数情况下是商用化合物。当 R₄OH 是导致酯“级联 (cascade)”的醇时, 其由在文献中描述的方法合成。

[0112] 2a) 通过以下合成路线可以得到式 (I) 化合物, 其中基团 R₅ 表示杂环基团, 例如如上限定的。

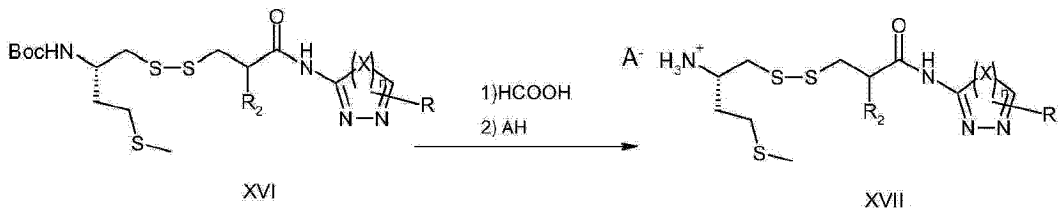
[0113] 2. a. 1)

[0114]



[0115] 在常规肽偶联条件下,使不对称的二硫化物 IV 与氨基杂环 XV 偶联,得到 XVI。如上进行 Boc 基团的脱保护,得到衍生物 XVII。

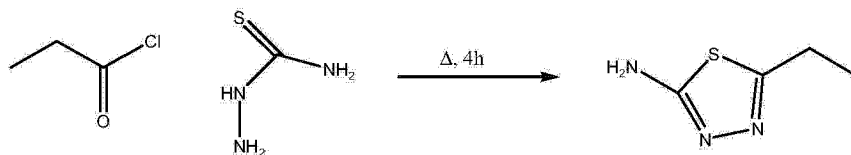
[0116]



[0117] 根据文献中描述的方法合成氨基杂环 XV。

[0118] 例如,如描述的 (Takatori 等, Yakugaku Zasshi 79, 1959, 913), 通过使氨基硫脲 XVIII 和丙酰氯 XIX 的缩合得到 2-氨基-5-乙基-(1,3,4) 噻二唑 XVa。

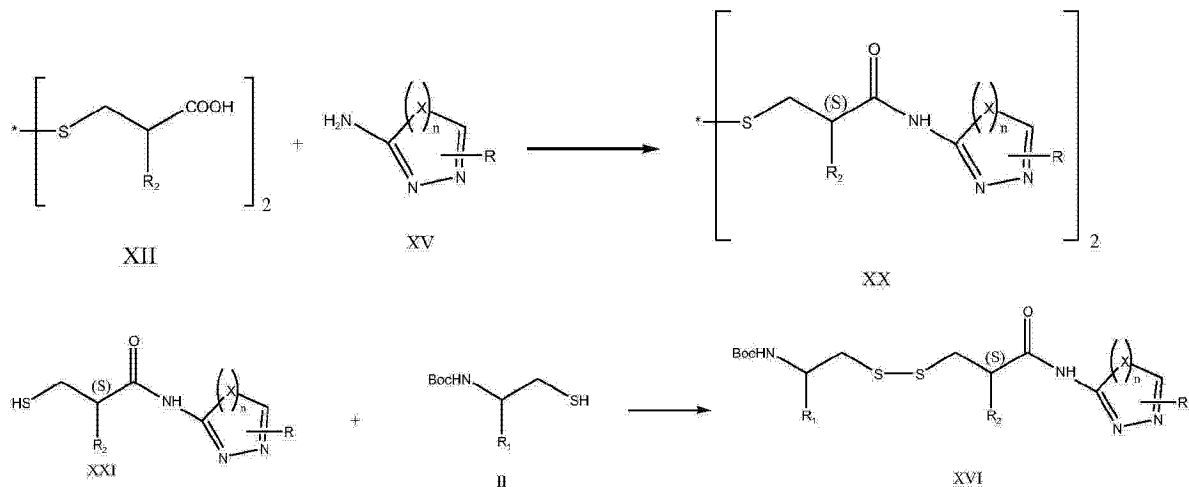
[0119]



[0120] 2. a. 2)

[0121] 根据替代方法,通过使杂环 XV 缩合到化合物 XII 上以得到 XX,可以得到式 (I) 化合物,其中基团 R_5 表示杂环。在切断二硫化物桥之后,如上所述,使所得化合物 XXI 缩合到 II 上,以得到 XVI。

[0122]



[0123] 本发明的目的之一还涉及一种药物组合物,该组合物包含作为活性成分的至少一种通式 (I) 的化合物或其盐或其盐的水合物以及一种或更多种药学可接受的惰性载体或

其它赋形剂。这些化合物表现出吗啡类物质的性质,尤其是镇痛,包括外周部分(炎性、神经性),对行为具有有益作用,特别是在抑郁和/或焦虑的情况下,而不表现出吗啡类物质的主要缺点(耐受性、依赖性、呼吸抑制、便秘)。

[0124] 因此,与同 δ 受体相互作用的外源性阿片样激动剂相反,本发明的混合抑制剂具有抗抑郁作用,但没有引发癫痫样行为或惊厥的危险,并且它们是快速作用的(Baamonde A. 等,1992, Jutkiewicz E. M. 等,2005)。这些化合物可以通过血脑屏障。因此,根据本发明的化合物主要应用在镇痛、抗抑郁和抗焦虑领域中。

[0125] 本发明的药物组合物例如可以通过口、鼻(通过气雾剂施用)、舌下(经舌扩散施用)、直肠、肠胃外、静脉内和经皮途径施用的组合物。经口途径施用的组合物的实例包括片剂、明胶胶囊、颗粒、微球、粉末和口服溶液或混悬液。基团 R_5 赋予根据本发明的化合物足够的亲水性,因此根据本发明的化合物在不存在各种表面活性剂的情况下可溶于水和亲水性溶剂。尤其是,本发明的化合物可溶于醇/聚山梨醇酯(polysorbate)/水溶剂,特别是乙醇/Tween®/水、和甘露醇/水,或者在适于施用于人的环糊精的协助下,其常常用于通过静脉内途径施用。因此可以通过静脉内途径施用根据本发明的组合物。本发明的组合物也可以通过口或鼻途径施用,特别是通过气雾剂或经舌扩散或在合适的草药制剂(微乳剂)内施用。同样地,这些组合物可以用于透皮施用。这些组合物尤其可以用作主要的镇痛药(用于炎性疼痛和神经性疼痛的强效镇痛药)和抗抑郁药。

[0126] 非常有利的是,可以经口或鼻途径以气雾剂(微乳)的形式或者经静脉内途径施用根据本发明的组合物。因此这些施用途径允许通过非消化途径施用本发明的组合物。当所述组合物包含互补化合物例如大麻素衍生物时是特别有利的,该互补化合物可能对消化系统(特别是肠)表现出不希望的作用。这还增加化合物或组合的脑部生物可利用度。

[0127] 本发明的另一个目的是如上限定的化合物或通过上述方法得到的化合物作为药物的用途。

[0128] 出人意料地,还注意到,根据本发明的新型化合物与大麻素衍生物的组合产生甚至更强的镇痛效果(优于观察到的每种化合物,即根据本发明的化合物或大麻素衍生物的效果的总和)。

[0129] 直到1954年,大麻一直被视为表现出多种特性的药用植物:镇痛、镇痉、抗惊厥、抗炎、镇吐、支气管扩张、血管扩张、弛缓和催眠。最近,表现出抗增殖和抗神经变性的性质。

[0130] 已经描述了通常与施用过量有关的大麻的几种有害作用:抑郁患者的焦虑发作和当在饮品(茶)或食物(蛋糕)中消耗产品时的幻觉。

[0131] 通过大麻对大麻素受体的作用来说明大麻的作用。这些受体存在于许多脑结构中,并且已经鉴定了与受体天然相关的内源性分子,花生四烯酸乙醇胺(anandamide)。

[0132] 已经表征了两种类型的受体:在中枢神经系统及外周发现的CB1受体、和主要在外周的CB2受体。CB1受体似乎与调节脑中的兴奋性或抑制性神经递质的神经元释放有关。CB2受体的作用不太清楚,但是似乎它们干涉免疫系统的调节。

[0133] 与CB1和CB2受体相关的内源性分子称为“内源性大麻素”,例如花生四烯酸乙醇胺,其通过诱导多种药理作用与脑内和外周内的大麻素受体相互作用。

[0134] 存在于大麻(Cannabis sativa)中的最大量的精神药物化合物是 Δ^9 四氢大麻酚(Δ^9 THC)。

[0135] Δ^9 THC 由于与脑 CB1 受体相互作用而诱导多种药理反应,例如镇痛、低体温、运动行为减少以及丧失警惕性和注意力。这些特性中的一些对于治疗疼痛和青光眼以及减轻用具有严重副作用的抗肿瘤和抗病毒化合物治疗的患者的恶心和刺激食欲具有有利的治疗用途。 Δ^9 THC,更通常是 CB1 受体激动剂,还能减轻与多发性硬化有关的疼痛作用,同时延缓疾病的发展。然而,这导致开发了 SATIVEX, SATIVEX 是一种直接源于植物(大麻)的制剂,其含有等份的 Δ^9 THC 和大麻二酚(存在于该植物中的另一种物质)的混合物。该制剂目前处于临床试验的末期。然而,经口颊(orobuccal)途径施用的剂量高且已经观察到副作用(Current Opinion in Investigational Drugs 2004, 5, 748)。

[0136] 内源性大麻素(花生四烯酸乙醇胺)体系的另一个特征涉及该特异性神经递质的合成方式和分泌方式。通过酶途径由细胞器膜磷脂形成的花生四烯酸乙醇胺通过转运体由突触后神经元分泌,以与位于突触前末端上的 CB1 受体相互作用(逆向神经传递)(Piomelli 等, TIS, 2000, 21, 218-224)。

[0137] 然而,通过长期暴露于天然或合成大麻素产生的几种行为效果(例如丧失警惕性和注意力、镇静、共济失调、视觉障碍、心动过速、低体温和行为障碍例如幻觉、焦虑、惊恐发作和记忆障碍)限制它们的临床应用(综述于 E. A. Carlini, The good and the bad effects of (-)trans-delta-9-tetrahydrocannabinol Δ^9 THC on humans, Toxicol, 2004, 44, 461-467 中)。此外,在人类中,在接近于导致上述有害作用的量的高剂量时得到 Δ^9 THC 的镇痛效果(Campbell F. A. 等, Are cannabinoids an effective and safe treatment option in management of pain? A quantitative systemic review, Br. Med. J., 2001, 323, 12-16)。

[0138] 出人意料地,已经注意到,共施用(同时或时间错开)低剂量的大麻素衍生物(特别是 Δ^9 THC)能够增强根据本发明衍生物(式(I))的镇痛作用和抗抑郁作用,而不会明显引起所述大麻素的有害作用,通过静脉内(iv)途径施用时有有害作用似乎在 4-5mg/kg 时开始出现(镇静)。

[0139] 在本发明中,表述“非常低的大麻素浓度”表示大麻素浓度低于导致所述不希望副作用的那些浓度。

[0140] 在本发明中,表述“大麻素”表示 Δ^9 THC、合成的 CB1 受体激动剂或花生四烯酸乙醇胺降解抑制剂。引入到根据本发明的组合物中的大麻素优选为 Δ^9 THC。

[0141] 本发明的目的之一还涉及一种药物组合物,该药物组合物包含至少一种如上限定的式(I)化合物、至少一种大麻素衍生物(特别是 Δ^9 THC)或其代谢保护物(综述于 Piomelli 等, TIPS, 2000 中)和药学合适的赋形剂,尤其是适于通过口、鼻、静脉内或经皮途径施用的赋形剂。

[0142] 本发明还涉及至少一种大麻素衍生物,尤其是 Δ^9 THC,在药物组合物中增强如上限定的式(I)化合物的镇痛和/或抗抑郁作用的用途。

[0143] 本发明还涉及至少一种如上限定的式(I)化合物和至少一种大麻素衍生物(尤其是 Δ^9 THC)的组合在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途。

[0144] 本发明的另一个目的是一种作为用于同时、分开或交错使用的组合产品的包含以下组分的药物组合物:

[0145] i) 至少一种如上限定的式(I)化合物,

[0146] ii) 至少一种大麻素衍生物。

[0147] 同样地,本发明的目的之一还涉及一种作为用于同时、分开或交错使用的组合产品的包含以下组分的药物组合物在制备用于治疗抑郁和疼痛的药物中的用途:

[0148] i) 至少一种如上限定的式(I)化合物,

[0149] ii) 至少一种大麻素衍生物。

[0150] 在本发明的范围内,术语“疼痛”表示各种类型的疼痛,例如急性疼痛、炎性疼痛和神经性疼痛,包括与多发性硬化相关的疼痛。任选地与大麻素衍生物组合的根据本发明的化合物还适于治疗青光眼。

[0151] 本发明的目的之一还涉及根据本发明的新型化合物与吗啡或其衍生物的组合。实际上,吗啡也能够增强由根据本发明的化合物引起的镇痛作用。

[0152] 因此,本发明的目的之一为一种药物组合物,该药物组合物包含至少一种如上限定的式(I)化合物、吗啡或吗啡的衍生物和药学合适的赋形剂,尤其是适于通过口、鼻、静脉内或经皮途径施用的赋形剂。该组合物还可以包含至少一种大麻素衍生物(特别是 Δ^9 THC)或其代谢保护物。

[0153] 该组合物可以用作药物,尤其是用于治疗抑郁和疼痛的药物。多种化合物可以以同时、分开或交错的方式用作组合产品。

[0154] 根据本发明的式 I 化合物的良好的水可溶性极大地有利于适于通过静脉内、鼻、肺(气雾剂)或经皮途径施用的用于治疗的制剂(微乳液,在表面活性剂存在下的溶液中)的构建。

[0155] 本发明化合物的有效剂量随多种参数变化,例如所选的施用途径;患者的体重、年龄和性别;待治疗病状的阶段;和患者的感受性。因此,将由相关专家根据认为相关的参数确定最佳剂量。

[0156] 在下面的实施例中将进一步举例说明本发明,但不以任何方式限制本发明。表 1 列出根据实施例 12 制备的化合物的列表。对于在这些实施例中公开的所有化合物:

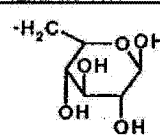
[0157] — R_1 表示 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$ 基

[0158] — $\text{CH}_2-(\text{C}:\text{CH}.\text{S}.\text{CH}:\text{CH})$ 表示噻吩-3-基甲基

[0159] — $\text{C}:\text{CH}.\text{CH}:\text{CH}-\text{CH}:\text{CH}$ 表示苯基,

[0160] — C_6H_{11} 表示环己基。

[0161]

实施例	R ₂	R ₃	R ₄
12a	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -C(OCOCH ₃)(CH ₂ OCOCH ₃)
12b	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₃
12c	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12d	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -CO-O-C ₂ H ₅
12e	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12f	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₂ OCOCH ₃) ₂
12g	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₂ OH) ₂
12h	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	
12i	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12j	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₂ OCOCH ₃) ₂
12k	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12l	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH(CH ₃) ₂)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12m	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C ₆ H ₁₁)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12n	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C:CH.CH:CH-CH:CH)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12o	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH ₃)-O-CO-C ₂ H ₅
12p	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH(CH ₃) ₂)-O-CO-C ₂ H ₅
12q	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C ₆ H ₁₁)-O-CO-C ₂ H ₅
12r	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C:CH.CH:CH-CH:CH)-O-CO-C ₂ H ₅

[0162] 表 1: 实施例 12a ~ 12r 的基团。

附图说明

[0163] 图 1: 通过 iv 途径向小鼠注射吗啡或化合物 15 引起的镇痛的剂量 / 反应曲线 (热板试验, 52° C); X 轴: 以 mg/kg 计的剂量, Y 轴: 镇痛 %。

[0164] 黑线 (上) 对应于由吗啡得到的结果, 灰线 (下) 对应于由化合物 15 得到的结果。

[0165] 图 2:

[0166] A) 通过在热板试验 (52° C, 跳跃潜伏期, 秒) 前 20 分钟向雄性 OF1 小鼠 (n=10) 经口注入化合物 15 引起的抗伤害反应; X 轴: 以 mg/kg 计的化合物 15 的剂量, Y 轴: 镇痛 %。

[0167] B) 经口施用后化合物 15 的效果动力学 (n=10 ~ 17); X 轴: 时间 (分钟), Y 轴: 镇痛 %。

[0168] 图 3: 通过化合物 15 和 Δ⁹-四氢大麻酚的组合诱导的抗伤害反应。热板

(52±1° C), 跳跃潜伏期, 雄性 OF1 小鼠。Cuff-off :240 秒。*** 相对于对照组 p<0.001, ### 相对于化合物 15 和 Δ^9 THC p<0.001。ANOVA+Newman-Keuls。X 轴: 化合物 15(0.4mg/kg)、THC(0.375mg/kg) 以及化合物 15/THC(0.4 和 0.38mg/kg) 的剂量, Y 轴: 镇痛 %。

具体实施方式

[0169] 实施例 1: Boc 蛋氨酸硫醇 (methioninethiol) (化合物 1) 的合成

[0170] 按照 J. Med. Chem., 35, 1992, 2473 中记载的方案制备该化合物。白色固体: mp: 37° C; Rf(环己烷 (CHex): 乙酸乙酯 (AcOEt)=1.1) 0.73; $\alpha_D^{20^\circ \text{C}}$: -21.1° (c=1.0CHCl₃)。

[0171] 实施例 2: (2S)-2-巯基甲基-3-苯基丙酸 (化合物 2) 的合成

[0172] 步骤 1、根据 (Ber., 57, 1924, 1116) 通过硫代乙酸对相应丙烯酸酯的甲酯的作用得到 2-乙酰基硫甲基-3-苯基丙酸甲酯, 并根据 (Bioor. Med. Chem. Let., 3, 1993, 2681) 中记载的通用方案用 α -胰凝乳蛋白酶处理 2-乙酰基硫甲基-3-苯基丙酸甲酯。

[0173] 产率: 71.4%; 对映体过量 (ee): 88%, $\alpha_D^{20^\circ \text{C}}$: -42.7°。

[0174] 步骤 2、(2S)-巯基甲基-3-苯基丙酸。将步骤 1 的化合物溶于 0° C 的脱气甲醇 (MeOH) 中。在惰性气氛下, 加入 3 当量 (eq) 的 1N 纯碱 (NaOH)。在室温 (RT) 下搅动混合物 30 分钟。通过加入 6N 盐酸 (HCl) (25ml) 酸化混合物, 减压蒸发 MeOH。用 2×125ml AcOEt 萃取水相。用饱和氯化钠溶液 (饱和 NaCl) 洗有机相, 然后用硫酸钠 (Na₂SO₄) 干燥并蒸发至干。得到黄色油。

[0175] 产率为 100%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5% 三氟乙酸酯 TFA) 60-404.96 分钟。

[0176] 实施例 3: (2RS) 2-巯基甲基-3-噻吩-3-基丙酸 (化合物 3) 的合成

[0177] 步骤 1: 用 Dean-Stark 装置, 在 270ml 甲苯中回流丙二酸二甲酯 (392mmol, 45ml, 1 当量)、噻吩-3-基醛 (0.357mmol)、哌啶 (1.87ml; 0.05 当量) 和苯甲酸 (4.58g; 0.05 当量) 的混合物 12h。用 2×140ml 的 1N HCl、2×140ml 10% 碳酸钠 (NaHCO₃) 和 140ml 饱和 NaCl 清洗有机相。用 Na₂SO₄ 干燥有机相并蒸发至干。得到油。

[0178] 产率为 100%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5% TFA) 60-40: 5.97 分钟。

[0179] 步骤 2: 将步骤 1 的化合物 (340mmol) 溶于 MeOH(540ml) 中。将混合物冷却到 0° C 并逐渐加入硼氢化钠 (NaBH₄)。在室温下搅拌混合物 15 分钟。通过加入 450ml 1N HCl 猝熄反应。蒸发甲醇并用 2×500ml 氯仿 (CHCl₃) 萃取反应混合物。用饱和 NaCl 洗有机相, 然后用 Na₂SO₄ 干燥并蒸发至干。得到油。

[0180] 重量 = 64.1g。产率为 82.4%。

[0181] Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5% TFA) 60-40: 5.91 分钟。

[0182] 步骤 3: 将前述化合物 (30mmol) 溶于 MeOH(27ml) 中。将混合物冷却到 0° C 并逐渐加入苛性 KOH(1.71g 30.6mmol) 在 MeOH(365ml) 中的溶液中。在 4° C 下搅动混合物 48h。蒸发甲醇并在乙醚 Et₂O 中研磨所得固体。过滤所得固体、清洗并干燥。W=25.2g。产率为 71.0%。

[0183] Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5% TFA) 60-40: 3.79 分钟。

[0184] 步骤 4: 将前述化合物 (21.9mmol) 溶于 THF(30ml) 中。加入二乙胺 Et₂NH(3.0ml; 2

当量)和37%甲醛(3.7ml;1.5当量)。混合物回流过夜。蒸发THF并在90ml AcOEt中处理混合物。用3×30ml 1N HCl、饱和NaCl洗有机相,然后用Na₂SO₄干燥并蒸发至干。得到无色油。

[0185] W=13.1g。产率为72.0%。

[0186] Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:14.75分钟。

[0187] 步骤5:在硫代乙酸CH₃COSH(10ml,144mmol,2当量)中将前述化合物(72mmol)加热到80°C,并保持5h。减压蒸发硫代乙酸。用环己烷共蒸发混合物数次。得到橙色油。W=18.6g。产率为100%。

[0188] Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:17.16分钟。

[0189] 步骤6:将步骤5的化合物溶于0°C下的脱气MeOH中。在惰性气氛下,加入3当量1N NaOH。在RT下搅动混合物30分钟。通过加入6N HCl(25ml)酸化混合物并减压蒸发MeOH。用2×125ml AcOEt萃取水相。用饱和NaCl洗有机相,然后用Na₂SO₄干燥并蒸发至干。得到黄色油。

[0190] 产率为100%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:6.80分钟。

[0191] 实施例4:(2S)-2-巯基甲基-3-噻吩-3-基丙酸(化合物4)的合成

[0192] 步骤1:如在合成2(步骤1)中所描述的,用α-胰凝乳蛋白酶处理在化合物3的合成步骤5中描述的2-乙酰基硫甲基-3-噻吩-3-基丙酸甲酯。产率为87.3%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:7.37分钟。ee=76%

[0193] 步骤2:如在化合物2的步骤2中所描述的,处理在步骤1中得到的(2S)-乙酰基硫甲基-3-噻吩-3-基丙酸。产率为97.0%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:6.80分钟。

[0194] 实施例5:2(2S)-苄基-3-((2S)-2-叔丁氧羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基)-丙酸(化合物5)的合成

[0195] 在氮气下,将23ml MeOH和23ml THF的混合物冷却到0°C,并加入氯磺酰氯(1.3ml,15.25mmol,1.09当量)。在0°C下搅动混合物15分钟,以得到甲氧基碳基亚磺酰氯。然后,一次性加入在16ml THF/MeOH中的化合物1(14.86mmol,1.06当量)。使混合物回到室温并搅动30分钟。在Et₃N(1当量)存在下,将前述溶液滴加入化合物2(14.02mmol,1当量)在100ml脱气CHCl₃中的溶液中。在室温下搅动溶液1h。减压蒸发溶剂。在二氯甲烷CH₂Cl₂中处理混合物。用10%柠檬酸、饱和NaCl洗有机相,然后用Na₂SO₄干燥,以得到粗产物,用环己烷(CHex)/AcOEt为8/2、然后6/4的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离。W=4.1g。产率:65.9%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)70-30:8.20分钟。

[0196] 实施例6:3-((2S)-2-叔丁氧羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基)-(2RS)-2-噻吩-3-基甲基-丙酸(化合物6)的合成

[0197] 按照合成5所描述的方案并用化合物3替代化合物2,得到化合物6。产率:77.0%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)70-30:7.36分钟。

[0198] 实施例7:3-((2S)-2-叔丁氧羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基)-(2S)-2-噻吩-3-基甲基-丙酸(化合物7)的合成

[0199] 按照合成5所描述的方案并用化合物4替代化合物2,得到化合物7。产率:77.0%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)70/30:7.36分钟。

[0200] 实施例 8 :丙氨酸酯的合成

[0201] 化合物 8a: 丙氨酸-2-甲磺酰基乙酯, TFA。

[0202] 在 1.2 当量的 2-甲磺酰基乙醇在 CH_2Cl_2 中的溶液的存在下, 在室温下搅动 1 当量的 BocAlaOH、HOBt (1.2 当量, 879mg)、EDCI (1.2 当量, 1.93g)、 Et_3N (三乙胺) (3 当量, 2.9ml) 在 10ml CH_2Cl_2 的溶液 12h。减压蒸发溶剂。在 AcOEt/ H_2O 中处理反应混合物。用 10% 柠檬酸 (2×15ml)、10% NaHCO_3 (2×15ml)、饱和 NaCl 洗有机相, 用 Na_2SO_4 干燥并减压蒸发以得到粗产物, 用 CHex/AcOEt 为 8/2 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离, 以得到 989mg 产物。

[0203] 产率: 61.8%。Rf (CHex/AcOEt:6/4): 0.49。

[0204] 将 435mg (1.488mmol) 该产物冷溶于 2.5ml CH_2Cl_2 中并加入 1.2ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。共蒸发混合物与环己烷。在 Et_2O 中冷沉淀产物 8a。

[0205] 产率: 100%。Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$:9/1): 0.25。

[0206] 化合物 8b: 丙氨酸 2,3-二乙酰氧基丙酯。

[0207] 在 CH_2Cl_2 中的 2,3-二乙酰氧基丙醇 (根据 Jensen, Topics in Lipid Chemistry, 1972, 3, 1 制备) 存在下, 在室温下搅动 1.026g (5.428mmol, 1 当量) BocAlaOH、HOBt (1.2 当量, 879mg)、EDCI (1.2 当量, 1.93g)、 Et_3N (3 当量, 2.9ml) 在 10ml CH_2Cl_2 中的溶液 12h。减压蒸发溶剂。在 AcOEt/ H_2O 中处理反应混合物。用 10% 柠檬酸 (2×15ml)、10% NaHCO_3 (2×15ml)、饱和 NaCl 洗有机相, 用 Na_2SO_4 干燥, 并减压蒸发以得到 1.62g 粗产物。用 CHex/AcOEt 为 8/2 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物, 以得到 1.29g 产物。

[0208] 产率: 68.7%。Kromasil C18 HPLC $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0.5%TFA) 70-30:4.25 分钟。

[0209] 将该产物冷溶于 6ml CH_2Cl_2 中并加入 6ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。共蒸发混合物与环己烷。在 Et_2O 中冷沉淀产物 8b。W=1.33g。产率: 100%。Rf (CHex, EtOAc:6.4): 0.14。

[0210] 化合物 8c: 丙氨酸 1,3-二乙酰氧基-2-丙酯, TFA。

[0211] 将 1.23g 的 1,3-二乙酰基-2-丙醇 (根据 Bentley 和 McCrae, J. Org. Chem., 1971, 35, 2082 制备) (7mmol, 1.1 当量) 溶于 50ml Et_2O 中。然后, 加入偶氮二羧酸二乙酯 (DEAD) (1.2 当量, 1.1ml)、Boc 丙氨酸 (5.83mmol, 1 当量), 随后加入三苯基膦 (PPh_3) (1.2 当量, 1.83g), 在室温下搅动混合物过夜。减压蒸发溶剂。用庚烷/AcOEt 为 8/2 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物, 以得到 2.14g 产物。产率: 84.6%。Rf (Hept/AcOEt:6/4): 0.42。

[0212] 将 2.0g (4.7mmol) 该产物冷溶于 6.5ml CH_2Cl_2 中并加入 6.5ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。共蒸发混合物与环己烷, 并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 为 9/1/0.5 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上进行色谱分离, 以得到 1.16g 化合物 8c。

[0213] 产率: 65%。Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$:9/1/0.5): 0.22。

[0214] 化合物 8d: 丙氨酸 1,3(叔丁基二甲基甲硅烷基)羟基-2-丙酯。

[0215] 将二羟基丙酮 (2g, 11.10mmol) 溶于 50ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 加入叔丁基二甲基甲硅烷基氯 (tBuDMSCl) (4.8 当量, 8.03g) 和咪唑 (10 当量, 7.56g), 并在 20°C 下搅动混合物 12h。将混合物蒸发至干, 在 150ml AcOEt 中处理。用水 H_2O (2×50ml)、

10% HCl ($2 \times 50\text{ml}$)、饱和 NaCl 洗有机相,然后用 Na_2SO_4 干燥,并减压蒸发以得到 20.1g 粗产物。用 CHex/AcOEt 为 8/2 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物,以得到以得到 5.96g 产物。产率:84.5%。Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}:9/1/0.5$):0.24。

[0216] 将该产物 (8.82g, 27.73mmol) 溶于 THF (74ml) 和 H_2O (4.8ml) 中。将混合物冷却到 5°C 并逐渐加入 NaBH_4 (965mg, 1 当量)。在 5°C 下搅动混合物 30 分钟。通过加入乙酸 (1ml) 除去过量的 NaBH_4 。减压蒸发 THF 并在 $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ 中处理混合物。用 H_2O ($2 \times 50\text{ml}$)、饱和 NaHCO_3 ($2 \times 50\text{ml}$)、饱和 NaCl 洗有机相,然后用 Na_2SO_4 干燥,并减压蒸发以得到 8.24g 产物。产率:93.0%。

[0217] 将 2.93g 该化合物 (9.07mmol, 1.1 当量) 溶于 60ml Et_2O 中。在室温下搅动混合物,加入 DEAD (1.2 当量, 1.56ml)、氨基 Boc 酸 (8.25mmol, 1 当量),随后加入 PPh_3 (1.2 当量, 2.59g)。减压蒸发溶剂。用 CHex/AcOEt 为 95/5 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物,以得到 4.42g 产物。

[0218] 产率:92.9%。Rf ($\text{CHex}/\text{AcOEt}:9/1$):0.65。

[0219] 将 881mg (1.79mmol) 该产物冷溶于 3ml CH_2Cl_2 中并加入 1.36ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。共蒸发混合物与环己烷。在 Et_2O 中冷沉淀混合物,以得到 920mg 化合物 8d。

[0220] 产率:100%。Rf ($\text{CHex}/\text{AcOEt}:9/1$):0.1。

[0221] 化合物 8e:丙氨酸乙氧基甲酰基甲酯, TFA。

[0222] 将 BocAlaOH (5g, 26.4mmol) 和 Et_3N (3.7ml, 1 当量) 溶于 40ml AcOEt 中。在室温下搅动混合物 10 分钟。加入溴乙酸乙酯 (6.62g, 1.5 当量) 并回流混合物 30 分钟。过滤沉淀,然后将 30ml H_2O 和 50ml AcOEt 加到滤液中。用 $3 \times 30\text{ml}$ AcOEt 萃取水相。用 10% 柠檬酸 ($2 \times 30\text{ml}$)、10% NaHCO_3 ($2 \times 30\text{ml}$)、饱和 NaCl 洗有机相,然后用 Na_2SO_4 干燥,并减压蒸发以得到 7.09g 粗产物。用 CHex/AcOEt 为 6/4 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物,以得到 4.68g 产物。

[0223] 产率:64.3%。Rf ($\text{CHex}/\text{AcOEt}:6.4$):0.35。

[0224] 将 500mg (1.81mmol) 该产物冷溶于 3ml CH_2Cl_2 中,并加入 1.4ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。混合物与环己烷共蒸发。在 Et_2O 中冷沉淀产物 8e。

[0225] $W=525\text{mg}$ 。产率:100%。Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}:95/5$):0.14。

[0226] 化合物 8f:乙基碳酸酯-1-乙基丙氨酸酯, TFA

[0227] 将 BocAla (76.54mmol) 和 Et_3N (12.27ml, 1.2 当量) 溶于 70ml AcOEt 中。在室温下搅动混合物 15 分钟。加入碳酸乙基-1-氯乙基酯 (根据 Barcelo 等, *Synthesis*, 1986, 627 制备) (14.01g, 1.2 当量) 和碘化钠 NaI (926mg, 0.1 当量),回流混合物 16h。过滤沉淀,然后将 200ml H_2O 和 200ml AcOEt 加到滤液中。用 $3 \times 300\text{ml}$ AcOEt 萃取水相。用 10% 柠檬酸 ($2 \times 150\text{ml}$)、10% NaHCO_3 ($2 \times 150\text{ml}$)、饱和 NaCl 洗有机相,然后用 Na_2SO_4 干燥,并减压蒸发以得到 24.5g 粗产物。用 CHex/AcOEt 为 9/1 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物,以得到 18.1g 产物。

[0228] 产率:77.51%。Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}:9/1$):0.33。

[0229] 将 9.15g (30mmol) 该产物冷溶于 23ml CH_2Cl_2 中,并加入 23ml TFA。在室温下搅动混合物 2h。减压蒸发溶剂。共蒸发混合物与环己烷。在 Et_2O 中冷沉淀产物 8f。

- [0230] W=9.57g。产率:77.5%(2步)。Rf(CHex/AcOEt:6/4):0.1。
- [0231] 化合物 8g:丙氨酸葡萄糖基酯, TFA。
- [0232] 在 0° C 下将五氯苯酚(3 当量, 10g, 37.54mmol) 溶于 12ml AcOEt 中, 并加入 N, N'-二环己基碳二亚胺(DCC)(2.58g, 12.51mmol)。在 -20° C 下静置混合物 12h。将冷己烷(10ml) 加到混合物中, 过滤固体并用冷己烷洗。在己烷中重结晶固体, 以得到 10.3g 棕色固体。产率:82.0%。Mp:115-130° C。
- [0233] 将该混合物加到 120ml AcOEt 中。全部溶解后, 加入 Boc 丙氨酸(1.0 当量, 10.25mmol), 在室温下搅动混合物过夜。减压蒸发溶剂, 然后加入 100ml Et₂O。冷却悬浮液 1h, 然后过滤固体。将后者悬浮在 100ml 二氧六环中、过滤并用 2×20ml 二氧六环清洗。将滤液蒸发至干。再用二氧六环处理残留物以除去二环己基脲(DCU)。然后将其悬浮在 100ml Et₂O 中, 并置于冷冻器中过夜。过滤固体, 然后干燥以得到 1.29g 棕色固体。产率:27.8%。
- [0234] 将葡萄糖(3 当量, 1.54g) 在 57ml 重蒸吡啶中的溶液加到前述化合物和咪唑中。在室温下搅动混合物过夜。减压蒸发溶剂以得到粗产物。用 AcOEt/AcOH 为 20/1 的混合物作为洗脱剂在二氧化硅上色谱分离混合物, 以得到 883mg 产物。产率:88.3%。Rf(AcOEt/AcOH:20/1):0.13。
- [0235] 将 883mg(2.51mmol) 该产物冷却到 0° C, 并加入 61ml TFA。在 0° C 下搅动混合物 5 分钟, 然后在室温下搅动 30 分钟。减压蒸发 TFA。共蒸发混合物与环己烷。在 Et₂O 中冷沉淀混合物, 以得到 746mg 棕色化合物 8g。
- [0236] 产率:81.3%。Rf(AcOEt/AcOH:10/1):0.10。
- [0237] 实施例 9:合成苏氨酸酯
- [0238] 化合物 9a:苏氨酸 1,3-二乙酰基-2-丙酯, TFA。
- [0239] 按照用于 8c 的方案, 用 Boc-苏氨酸替代 Boc-丙氨酸, 得到该化合物。
- [0240] 化合物 9b:乙基碳酸酯-1-乙基苏氨酸酯, TFA。
- [0241] 按照对于化合物 8f 所描述的方案, 用 Boc-苏氨酸替代 Boc-丙氨酸, 得到该化合物。
- [0242] 产率:89.7%。Rf(CHex/AcOEt:6/4):0.1。
- [0243] 实施例 10:合成甘氨酸酯
- [0244] 化合物 10a:乙基碳酸酯-1-乙基甘氨酸酯, TFA。
- [0245] 按照对于化合物 8f 所描述的方案, 用 Boc-甘氨酸替代 Boc-丙氨酸, 得到该化合物。
- [0246] 产率:92%。Rf(CHex/AcOEt:8/2):0.22。
- [0247] 化合物 10b:乙基碳酸酯 1-(2-甲基)丙基甘氨酸酯, TFA。
- [0248] 按照对于化合物 10a 所描述的方案, 用碳酸乙基-1-氯-2-甲基-丙基酯替代碳酸乙基-1-氯乙基酯, 得到该化合物。
- [0249] 产率:88%Rf(CHex/AcOEt:8/2):0.12。
- [0250] 化合物 10c:乙基碳酸酯甲基环己基甘氨酸酯, TFA。
- [0251] 按照对于化合物 10a 所描述的方案, 用碳酸乙基-1-氯甲基环己基酯替代碳酸乙基-1-氯乙基酯, 得到该化合物。

- [0252] 产率:78%;Rf(CHex/AcOEt7/3)0.31。
- [0253] 化合物 10d:乙基碳酸酯甲基苯基甘氨酸酯, TFA。
- [0254] 按照对于化合物 10a 所描述的方案,用碳酸乙基氯甲基苯基酯替代碳酸乙基-1-氯乙基酯,得到该化合物。
- [0255] 产率:82%;Rf(CHex/AcOEt7/3)0.46。
- [0256] 化合物 10e:丙酸 1-(2-氨基-乙酰氧基)-乙酯 (Gly-OCH(CH₃)O-COEt)。
- [0257] 通过在 NaI (0.2 当量) 和 Et₃N (1.2 当量) 存在下、在乙酸乙酯 (10ml/mmol) 中回流过夜缩合 Boc-Gly 和丙酸-1-氯乙酯 (1.1 当量),得到该化合物。冷却后,用水、10%柠檬酸、10%NaHCO₃、H₂O、饱和 NaCl 洗有机相,并用 Na₂SO₄干燥。蒸发后,得到油状产物。产率:86%。
- [0258] 如在前述实施例中所描述的,使 Boc 基团脱保护。白色固体产物,定量的产率。
- [0259] Rf(CHex/AcOEt6/4)0.64。
- [0260] 化合物 10f:丙酸 1-(2-氨基乙酰氧基)-2-甲基丙酯 (Gly-OCH(CH(CH₃)₂)O-COEt)。
- [0261] 按照在实施例 10e 中所描述的方案,用丙酸 1-氯-2-甲基丙酯替代丙酸 1-氯乙酯,得到该化合物。白色固体,两步产率:78%。Rf(CHex/AcOEt6/4)0.56。
- [0262] 化合物 10g:丙酸 (2-氨基乙酰氧基)-环己基-甲酯 (Gly-OCH(CHex)O-COEt)。
- [0263] 按照在实施例 10e 中所描述的方案,用丙酸氯甲基(环己基)酯替代丙酸 1-氯乙酯,得到该化合物。
- [0264] 白色固体。两步产率:72%。Rf(CHex/AcOEt6/4)0.38。
- [0265] 化合物 10h:丙酸 (2-氨基-乙酰氧基)-苯基-甲酯 (Gly-OCH(Ph)O-COEt)。
- [0266] 按照在实施例 10e 中所描述的方案,用丙酸氯甲基(苯基)酯替代丙酸 1-氯乙酯,得到该化合物。
- [0267] 白色固体。两步产率:75%。Rf(CHex/AcOEt6/4)0.42。
- [0268] 实施例 11:2-氨基-5-乙基-(1,3,4)噻二唑的合成
- [0269] 在 40° C 下搅动 25g (0.27mol) 氨基硫脲和 46.6ml 丙酰氯 (0.54mol, 2 当量) 的混合物 4h。然后真空蒸发过量的丙酰氯,并在醚中研磨残留物。得到固体产物。该产物包含所希望的噻二唑,通过在乙醇中沉淀除去杂质。白色固体,33.6g (产率:83%)。Kromasil C18 HPLC Tr (保留时间)在 30%CH₃CN 中为 6.32 分钟。
- [0270] 实施例 12:混合抑制剂的合成,其中 R₅=CH(R₃)COOR₄。
- [0271] 将二硫化物 5、6 或 7 (0.54mmol) 溶于 4ml DMF 中。将六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧-三-(二甲氨基)-磷盐 (BOP) (1.2 当量, 1.0g) 和二异丙基-乙基-胺 (DIEA) (284 μl) 加到其中,然后加入氨基酸酯 8、9 或 10 (1.3 当量)。在室温下搅动混合物 20 分钟,然后减压蒸发 DMF。在 AcOEt 中处理产物。用 H₂O、10%柠檬酸、10%NaHCO₃、饱和 NaCl 洗有机相,并用 Na₂SO₄干燥。在二氧化硅上通过色谱分离纯化粗产物。
- [0272] 将所得的化合物 (0.38mmol) 溶于 640 μl CH₂Cl₂中,并加入 320 μl TFA。在室温下搅动混合物 1h。减压蒸发过量的溶剂。共蒸发混合物与环己烷。通过半制备型 HPLC、或在己烷/Et₂O 混合物中沉淀来纯化混合物。
- [0273] 化合物 12a:1-(2-(1-(2,3-二乙酰氧基丙氧羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻

吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8b)。

[0274] W:176mg;产率:66.9%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:9.07分钟和10.18分钟。ESI:(M+H)⁺=581。正辛醇/水分配系数(Log Kow)=1.31。

[0275] 化合物12b:1-(2-(1-(2-甲磺酰基乙氧羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8a)。

[0276] W:200mg;产率:74.1%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:5.0和5.35分钟。ESI:(M+H)⁺=529。Log Kow = -0.13。

[0277] 化合物12c:1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基))-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲基硫丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8f)。

[0278] W:232mg;产率:71.3%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:3.84和4.03分钟。ESI:(M+H)⁺=509。Log Kow=1.63。

[0279] 化合物12d:1-(2-(1-乙氧基羰基甲氧基碳基乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8e)。

[0280] W:261mg;产率:83.9%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:4.90和5.18分钟。ESI:(M+H)⁺=539。Log Kow=1.35。

[0281] 化合物12e:1-(2-(1-(1-乙氧基羰基氧基乙氧基羰基))-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物9b)。

[0282] W:285mg;产率:47.8%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:10.55和11.09分钟。ESI:(M+H)⁺=594。Log Kow=0.76。

[0283] 化合物12f:1-(2-(1-(2-乙酰氧基-1-乙酰氧基甲基乙氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8c)。

[0284] W:171mg;产率:70.1%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:7.35和8.09分钟。ESI:(M+H)⁺=581。Log Kow=1.31。

[0285] 化合物12g:1-(2-(1-(2-羟基-1-羟甲基乙氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8d)。

[0286] W:166mg;产率:67.2%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:2.94和3.27分钟。ESI:(M+H)⁺=497。Log Kow = -0.29。

[0287] 化合物12h:1-(2-(1-(3,4,5,6-四羟基四氢吡喃-2-基甲氧基羰基)-乙基氨基甲酰基)-3-噻吩-3-基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物6或7+化合物8g)。

[0288] W:85mg;产率:93.2%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:2.34分钟。ESI:(M+H)⁺=585。Log Kow = -1.15。

[0289] 化合物12i:1-(2-((1-(1-乙氧基羰基氧基-乙氧基羰基))-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-苯基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物5+化合物9b)。

[0290] W:1.88g;产率:83.8%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)45-55:7.0分钟。ESI:(M+H)⁺=563。Log Kow=0.76。

[0291] 化合物 12j :1-(2-(1-(2-乙酰氧基-1-乙酰氧基甲基-乙氧基羰基)-2-羟丙基氨基甲酰基)-3-苯基丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 9a)。

[0292] W :532mg ;产率 :53.6%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)40-60:6.16 分钟。ESI:(M+H)⁺=605。Log Kow=0.44。

[0293] 化合物 12k :1-(2-(1-乙氧基羰基氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10a)。

[0294] W :1.76g ;产率 :89.5%。Kromasil C18HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50-50:5.33 分钟。ESI:(M+H)⁺=519。Log Kow=1.39。

[0295] 化合物 12l :1-(2-((1-乙氧基羰基氧基-2-甲基-丙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10b)。

[0296] W :1.2g ;产率 :82.3%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/509.33 分钟,ESI:(M+H)⁺=547。

[0297] 化合物 12m :1-2-((环己基-乙氧基羰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10c)。

[0298] W :2.1g ;产率 :65.3%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/5012.65 分钟,ESI:(M+H)⁺=587。

[0299] 化合物 12n :1-(2-((乙氧基羰基氧基-苯基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10d)。

[0300] W :0.95g ;产率 :68.1%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/5010.86 分钟。ESI(M+H)⁺=581。

[0301] 化合物 12o :3-甲硫基-1-(3-苯基-2-((1-丙酰基氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-丙基二硫甲基)-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10e)。

[0302] W :1.6g ;产率 :81.2%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/506.82 分钟。ESI(M+H)⁺=502。

[0303] 化合物 12p :1-(2-((2-甲基-1-丙酰基氧基-丙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10f)。

[0304] W :1.05g,产率 :83%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/508.17 分钟。ESI(M+H)⁺=531。

[0305] 化合物 12q :1-(2-((环己基-丙酰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫甲基)-3-甲硫基-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10g)。

[0306] W :1.8g ;产率 :78.2%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/5012.24 分钟。ESI(M+H)⁺=571。

[0307] 化合物 12r :3-甲硫基-1-(3-苯基-2-((苯基丙酰基氧基-甲氧基羰基甲基)-氨基甲酰基)-丙基二硫甲基)-丙基铵三氟乙酸盐(化合物 5+ 化合物 10h)。

[0308] W :0.98g ;产率 :76.3%。Kromasil C18 HPLC CH₃CN/H₂O(0.5%TFA)50/5011.25 分钟。ESI(M+H)⁺=565。

[0309] 实施例 13 :混合抑制剂的合成,其中 R₅= 杂环

[0310] 将二硫化物 5,6 或 7(0.54mmol)溶于 5ml CH₂Cl₂中,并连续加入实施例 11 的氨基噻二唑(1.2 当量)、TBTU(0-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐)(3 当量)

和 DIEA (二异丙基乙基胺) (3 当量)。在室温 (约 20° C) 下搅动混合物 30 分钟。真空蒸发溶剂,并在乙酸乙酯中处理残留物。用柠檬酸、水、饱和 NaCl 洗有机相,并用 Na₂SO₄干燥。真空过滤和蒸发后,得到白色固体。

[0311] 将所得化合物溶于甲酸,并在室温下搅动混合物 1h。真空蒸发过量的甲酸。在醚中处理残留物,得到白色沉淀。

[0312] 化合物 13a :3-(2-氨基-4-甲硫基-丁基二硫基)-2-苄基-N-(5-乙基-(1,3,4)噻二唑-2-基)-丙酰胺

[0313] W=256mg (产率为 75%)。

[0314] 实施例 14 :反离子的交换

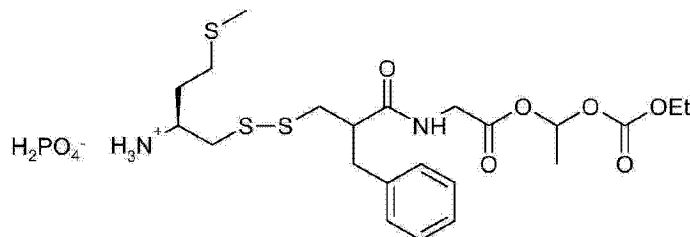
[0315] 将实施例 12 和实施例 13 的化合物 (1mmol) 溶于 9ml 蒸馏过的 AcOEt 中。用 12ml 0.1N NaHCO₃洗有机相。然后干燥有机相,并减压蒸发。在 AcOEt (3ml) 中处理产物,冷却到 0° C,并加入 1 当量的在 3ml AcOEt 中的所选 AH 酸。蒸发溶剂,并在 Et₂O/己烷的混合物中冷沉淀产物。

[0316] (A= 磷酸根、盐酸根、乙酸根、甲磺酸根、硼酸根、乳酸根、富马酸根、琥珀酸根、半琥珀酸根、柠檬酸根、酒石酸根、半酒石酸根、马来酸根、抗坏血酸根、半富马酸根、己酸根、庚酸根、马尿酸根、氢化肉桂酸根、苯甲酰甲酸根、烟酸根)。

[0317] 实施例 15 :药理学结果 - 根据本发明的化合物

[0318] 在以下的各种生物学试验中测试下式的化合物 15。

[0319]



[0320] 热板试验 :该试验涉及小鼠在加热为 52° C 的板上的舔舐和跳跃反射 (在给定的实施例中测量跳跃潜伏期)。采用以下方程,以最大可能效应 % (MPE%) 表示结果,即表示为镇痛百分比 :

[0321]

$$MPE\% = \frac{\text{测得的潜伏时间} - \text{对照潜伏时间}}{\text{最大潜伏时间} - \text{对照潜伏时间}}$$

[0322] 最大潜伏时间 = 240 秒。

[0323] 结果以平均值 ± SEM 表示。当 p 值小于 0.05 时,认为所观察到的差异显著。所用的检验是具有多重比较检验的 ANOVA 检验。

[0324] a) 在热板试验 (52° C, 反应 / 跳跃) 中,在通过静脉内 (IV) 途径将化合物 15 注入雄性小鼠 (n=10) 后,观察抗伤害反应。

[0325] 将化合物 15 溶于水 / 甘露醇混合物 (50mg/ml) 中。在通过静脉内途径注入后 10 分钟测量跳跃潜伏时间。

[0326] 表 2

[0327]

剂量 mg/kg	镇痛率 %
10	33.4 ± 7.5**
20	59.2 ± 9.6***
40	90.2 ± 7.0***

[0328] 结果 (表 2) 表明化合物 15 表现出剂量依赖性镇痛作用。

[0329] **p<0.01;***p<0.001, 相对于载体。

[0330] 有效剂量 50, ED₅₀, 为 16.1mg/kg。

[0331] ED₅₀ 是 50% 的受试者给出所希望效果的剂量 (以 g/kg 体重计)。

[0332] b) 当向爪部发炎 (通过在爪底注射角叉菜胶引起发炎) 大鼠 (雄性 Sprague Dawley) 的爪部施加压力时, 化合物 15 (口服 100mg/kg) 对嘶叫阈的抗伤害作用。

[0333] 在爪底注射角叉菜胶 (1%, 在盐水溶液中) 后 180 分钟, 施用化合物 15 和载体 (乙醇 / 聚乙二醇 (PEG) 400 / 水, 10/40/50)。

[0334] 表 3

[0335]

	嘶叫阈 (g)
基础阈	298.8 ± 18.7
发炎的爪 + 载体	205.5 ± 17.8
发炎的爪 + 化合物 15	292.5 ± 20.1***

[0336] 测量发炎前 (B) 向爪施加压力时的嘶叫阈基线, 并测量注射化合物 15 或载体后 20 分钟向发炎的爪施加压力时的嘶叫阈基线。结果如表 3 所示, 并以平均值 ± SEM 表示, n=10。当 p 值小于 0.05 时, 认为所观察到的差异明显。这些结果表明化合物 15 在治疗神经炎性疼痛中有效。*** 相对于载体 p<0.001。

[0337] c) 在热板试验 (52° C, 反应 / 跳跃) 中, 在通过 iv 将溶于乙醇 / 表面活性剂 / 水 (10/10/80) 的化合物 15 注入雄性 OF1 小鼠后, 观察抗伤害反应和根据载体的性质的反应的比较。

[0338] 将化合物 15 溶于乙醇 / Cremophor®EL / 水的混合物中。在静脉内注射后 10 分钟测量跳跃潜伏时间。结果在图 1 中给出。

[0339] 在有效剂量 50 (ED₅₀) 为 1.9 ± 0.4mg/kg 时, 该剂量依赖性反应提供镇痛反应。该值接近于用吗啡观察到的值 (ED₅₀=1.3 ± 0.2mg/kg)。** 相对于载体 p<0.01。***p<0.001。

[0340] 化合物 15 也可溶于乙醇 / Tween® / 水的溶剂, 该溶剂常用于通过静脉内途径施用于人。

[0341] 在这些溶剂中, 与用 Cremophor®EL 观察到的结果不存在明显差异。在 2.5mg/kg 的相同浓度下 iv, 这如表 4 所示 (注入后 10 分钟的跳跃潜伏时间)。*** 相对于载体 p<0.001。

[0342] 表 4

[0343]

	镇痛率 %
Cremophor EL	56.2 ± 6.9***
Tween 80	44.7 ± 6.2***
Tween 20	48.4 ± 10.2***

[0344] d) 在热板试验前 20 分钟经口注入化合物 15 的抗疼痛作用 :a) 剂量 - 反应曲线 ; b) 经口施用 200m/kg 后的效果动力学。

[0345] 将化合物 15 溶于 10/40/50 的乙醇 /PEG400/ 水的混合物中。图 2a 和 2b 中给出的结果表明化合物 15 显示出剂量依赖性镇痛效果 (2a), $ED_{50}=135\text{mg/kg}$, 并表明刚施用后化合物 15 的镇痛效果非常明显并且伴随着降低的效果持续至少两个小时 (2b)。

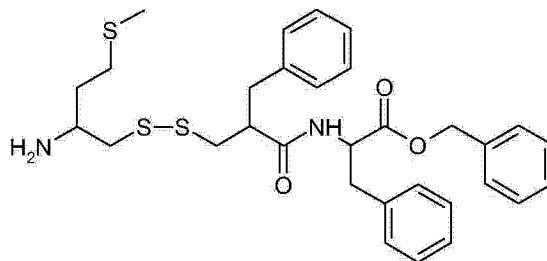
[0346] * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, 相对于载体。

[0347] # $p < 0.05$; ### $p < 0.001$, 相对于化合物 15。

[0348] e) 在热板试验 (52° C, 反应 / 跳跃) 中, 在经 iv 将 5mg/kg 的化合物 15 (n=14 ~ 17) 或化合物 A (n=8 ~ 14) 注入雄性小鼠后, 观察到的抗伤害反应的比较。

[0349] 化合物 A 是下式化合物 :

[0350]



[0351] 其记载于先前的专利申请 W091/02718 (实施例 7) 中。是表现出镇痛特性的脑啡肽酶和氨基肽酶的混合抑制剂。其难溶于含水或亲水溶剂中。

[0352] 将化合物 15 和 A 溶于 10/10/80 的乙醇 /CremophorEL/ 水的混合物中。静脉内注射后 10 分钟测量跳跃潜伏时间。

[0353] 表 5

[0354]

	镇痛率 %
化合物 15	87.6 ± 4.6**, ###
化合物 A	51.1 ± 7.6**

[0355] 表 5 中给出的结果表明 :在相同剂量时 (对于通过 iv 途径施用的化合物 A 来说, 低), 化合物 15 比化合物 A 有效。

[0356] ** 相对于载体 $p < 0.01$, ### 相对于化合物 A $p < 0.001$ 。

[0357] f) 由通过 IV 途径注入小鼠的吗啡或化合物 15 引起的镇痛作用 (热板试验, 52° C)。

[0358] 测量在热板试验 (52° C) 中由吗啡或化合物 15 对小鼠 (雄性 OF1) 产生的镇痛作用。通过 iv 注射在 H₂O/NaCl (9/1000) 中的吗啡或溶于载体 EtOH/Cremophor EL/ 水 (10/10/80) 的化合物 15。注射后 10 分钟测量结果, 潜伏时间为 240 秒 (实施例 15 和 17 中给出的方程)。

[0359] 结果示于下表 6 :

[0360] 表 6

[0361]

剂量 (mg/kg)	1	2.5	5
镇痛率 %, 化合物 15	46.4 ± 5.6***	56.3 ± 6.9***	87.6 ± 4.6***
镇痛率 %, 吗啡	45.5 ± 4.5***	66 ± 6.0***	100***

[0362] ***p < 0.001, ANOVA 检验

[0363] 注意: 化合物 15 的镇痛效果与用吗啡得到的镇痛效果相当。这与在相同条件下实施的另一实验的结果一致 (图 1, 实施例 15c)。

[0364] 实施例 16: 单独的 Δ⁹THC 的镇痛效果

[0365] 测量在热板试验 (52° C) 中 Δ⁹THC 对小鼠 (雄性 OF1) 产生的镇痛作用。通过 iv 途径注射溶于载体 EtOH/Cremophor EL/ 水 (10/10/80) 中的 Δ⁹THC。注射后 10 分钟测量结果, 潜伏时间为 240 秒 (实施例 15 和 17 中给出的方程)。

[0366] 结果示于下表 7 :

[0367] 表 7

[0368]

剂量 (mg/kg)	0.188	0.375	0.75	1.5
镇痛 %	0.4 ± 3.9	18.2 ± 6.4	41.2 ± 12.7**	57.2 ± 10.9***

[0369] **p < 0.01 ; ***p < 0.001

[0370] 注意: Δ⁹THC 产生剂量依赖性镇痛效果。对于 0.75mg/kg 和 1.5mg/kg 的剂量, 观察到明显的镇痛率值。在较低剂量时, 镇痛百分比不明显。

[0371] 实施例 17: 根据本发明的化合物 + Δ⁹THC 的镇痛效果

[0372] 采用通常用在制药工业中以证实协同作用特性的抗伤害试验, 在啮齿动物 (大鼠和小鼠) 中, 实施用来证实与 Δ⁹THC 联合的根据本发明的化合物的协同作用大小的实验, 即:

[0373] 一 小鼠的热板试验 (Eddie 和 Leimbach, J. Pharmacol. Exp. Ther. 107, 385-389, 1953),

[0374] 一大鼠的甩尾试验 (D'Amour 和 Smith, J. Pharmacol. Exp. Ther. 72, 74-79, 1941),

[0375] 一 小鼠的 Porsolt 游泳试验 (Porsolt Arch. Int. Pharmacodyn. 229, 327, 1977)。

[0376] 对于中枢试验 (热板、甩尾):

- [0377] 一大麻素 ($\Delta^9\text{THC}$) 的浓度优选为 0.3 ~ 0.5mg/kg,
- [0378] 一根据本发明的化合物 (化合物 15) 的浓度优选为 1 ~ 2mg/kg。
- [0379] 相对浓度取决于疼痛刺激。
- [0380] 用在下面实例中的 $\Delta^9\text{THC}$ 是购自 Sigma-Aldrich 的商用产品 (T2386)。
- [0381] 在下面实施例中使用的混合抑制剂是上述化合物 15 (实施例 15)
- [0382] 制备化合物的溶液
- [0383] 将所有化合物溶于乙醇 /Cremophor80/ 水 =10/10/80 的混合物中。
- [0384] 对于增效实验 (协同作用), 使用单独使用时不引起明显反应的 $\Delta^9\text{THC}$ 和抑制剂的剂量。
- [0385] 施用方式
- [0386] 通过 iv 途径以同一注射器中的混合物方式将各种化合物施用于大鼠或小鼠的尾部。
- [0387] 动物
- [0388] 在这些试验中使用的小鼠是雄性 OF1 小鼠。在这些试验中使用的大鼠是雄性 Sprague-Dawley 大鼠。
- [0389] 药理试验
- [0390] - 热板试验 :
- [0391] 该试验涉及小鼠在加热到 52° C 的板上的舔舐和跳跃反射。采用以下方程, 以最大可能效果 % (MPE%) 表示结果, 即表示为镇痛百分比 :
- [0392]

$$MPE\% = \frac{\text{测得的潜伏时间} - \text{对照潜伏时间}}{\text{最大潜伏时间} - \text{对照潜伏时间}}$$

- [0393] 最大潜伏时间 = 240 秒。
- [0394] 结果以平均值 \pm SEM 表示。当 p 值小于 0.05 时, 认为所观察到的差异明显。
- [0395] 一甩尾试验 :
- [0396] 该试验涉及通过由聚焦在尾部指定部分的光源发射的辐射热刺激的大鼠甩尾反射。如前述试验中, 根据相同的方程由测量的镇痛百分比表示结果。最大潜伏时间任意地定为 15 秒。
- [0397] 游泳试验 :
- [0398] 该试验测量置于 21-23° C 无法逃脱水浴中的小鼠的不动时间。不动时间反映一种抑郁形式 ; 小鼠不再努力逃离危险环境。结果以不动时间表示。最大不动时间为 4 分钟。
- [0399] 为了证实化合物 15 + $\Delta^9\text{THC}$ 的组的协同作用, 绘制在溶剂乙醇 /Cremophor EL/ H₂O (1/1/8) 中单独的化合物 15 和单独的 $\Delta^9\text{THC}$ 的剂量-反应曲线, 这是因为在这些条件 (实施例 16) 下仅可通过 iv 途径以高浓度使用 $\Delta^9\text{THC}$ 。镇痛反应 (热板) 的柱状图 (图 3) 清楚地表明 : 与单独的一种或另一种产品相比, $\Delta^9\text{THC}$ 加化合物 15 的组的镇痛效果的非常大的增强。
- [0400] a) 在热板试验中, 通过 iv 途径将化合物 15 和 $\Delta^9\text{THC}$ 的混合物注入雄性 OF1 小鼠引起的抗伤害反应 (图 3)。
- [0401] 注射在载体乙醇 /Tween80/ 水 (10/10/80) 中的化合物 15 (0.4mg/kg) 和

Δ^9 THC(0.375mg/kg) 的混合物。小鼠重 25-30g。该溶剂混合物适于通过 IV 途径施用于人和动物。

[0402] 在静脉内注射后 10 分钟测量跳跃潜伏期。采用上述方程,以镇痛百分比表示结果,并示于图 3。

[0403] 对于 $p \leq 0.05$,认为观察到的差异显著—单侧 ANOVA,然后是多重比较检验。

[0404] ***:相对于对照组 $p \leq 0.01$,###:相对于化合物 15 和 Δ^9 THC 的混合物 $p \leq 0.01$ 。

[0405] b) 在甩尾试验中,通过 iv 途径将化合物 15 和 Δ^9 THC 的混合物注入雄性 Sprague-Dawley 大鼠引起的抗伤害反应。注射在载体乙醇/Tween 80/水(10/10/80)中的化合物 15(5mg/kg)和 Δ^9 THC(0.375mg/kg)的混合物。测量注射前(预试验)和静脉内注射后 10 分钟(试验)的甩尾潜伏期。

[0406] 潜伏时间为 15 秒。大鼠重 260-300g。

[0407] 结果示于表 8。

[0408] 表 8:甩尾试验

[0409]

	镇痛 %
载体	-3.9±3.3
化合物 15	-4.2±1.9
Δ^9 THC	23.3±2.4***
化合物 15 和 Δ^9 THC	39.2±7.7**, ***, #

[0410] ***:相对于载体 $p < 0.001$, **:相对于化合物 15 $p < 0.001$, #:相对于 Δ^9 THC $p < 0.05$ 。

[0411] 对于 $p \leq 0.05$,认为观察到的差异明显。双侧 ANOVA,随后多重比较检验:***: $p \leq 0.001$, **: $p \leq 0.01$,相对于载体组;#: $p \leq 0.05$,相对于 Δ^9 THC 组;*** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$,相对于化合物 15 组。

[0412] c)在游泳试验中,通过 iv 途径将化合物 15 和 Δ^9 THC 的混合物注入雄性 OF1 小鼠引起的抗抑郁反应。

[0413] 在试验前 10 分钟,通过静脉内途径注射在载体乙醇/Tween80/水(10/10/80)中的化合物 15(5mg/kg)和 Δ^9 THC(0.375mg/kg)的混合物。

[0414] 测得总不动时间为 4 分钟。

[0415] 结果如表 9 所示。小鼠重约 25-30g。

[0416] 对于 $p \leq 0.05$,认为观察到的差异明显。单侧 ANOVA,随后多重比较试验:***: $p \leq 0.001$, *: $p \leq 0.05$,相对于载体组;###: $p \leq 0.001$,相对于化合物 15/ Δ^9 THC 组;和 Δ^9 THC 组。

[0417] 表 9:抑郁/游泳试验

[0418]

	不动时间(秒)

载体	230.7±4.5
化合物 15	180±8.4***
Δ ⁹ THC	206±6.1
化合物 15/Δ ⁹ THC	137.4±8.8***, ###

[0419] *** :p<0.001, 相对于对照组, ### :p<0.001, 相对于 Δ⁹THC 和化合物 15。

[0420] 结论 :

[0421] 注意 :通过 iv 途径对小鼠施用小剂量的大麻素 Δ⁹THC, 即浓度小于 0.5mg/kg, 增强由化合物 15 引起的抗伤害或抗抑郁反应。

[0422] 在这些条件下, 当通过比较 Δ⁹THC 和化合物 15 的剂量-反应曲线与这两种化合物的小于镇痛剂量时产生的效果而得到小鼠在热板试验中的镇痛效果时, 非常明显地表现出协同作用 (图 3)。

[0423] 可以注意到, 单独的 Δ⁹THC 的活性剂量 / Δ⁹THC 加化合物 15 的活性剂量, 或者反过来, 单独的化合物 15 的活性剂量 / 化合物 15+Δ⁹THC 的活性剂量的放大率在两种情况下均远大于 10, 而且, 由于当化合物 15 和 Δ⁹THC 以相同剂量单独使用时这两种分子所用的剂量是非活性的, 所以不易于精确计算放大率。

[0424] 通过本发明化合物 (混合抑制剂 NEP/APN ; 例如化合物 15) 和 Δ⁹THC 的组合 (两种物质都以非常低的剂量施用, 该剂量下它们没有活性) 产生的抗伤害反应的强度, 表明内源性脑啡肽 (被本发明的化合物保护) 和 Δ⁹THC 之间存在协同效应。这由药理反应的等辐射分析证实。

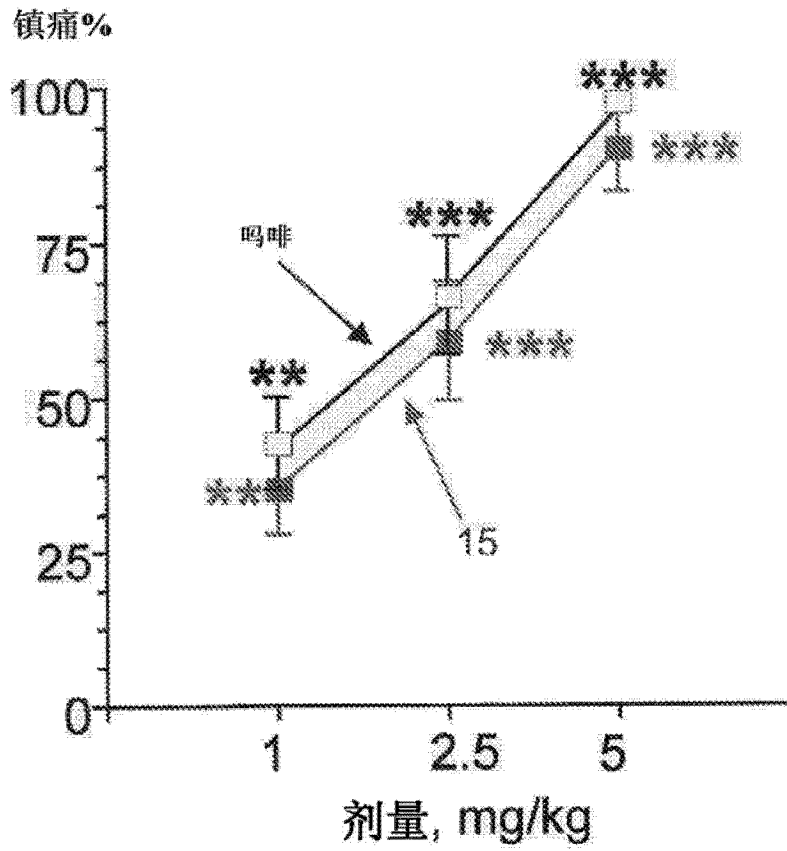


图 1

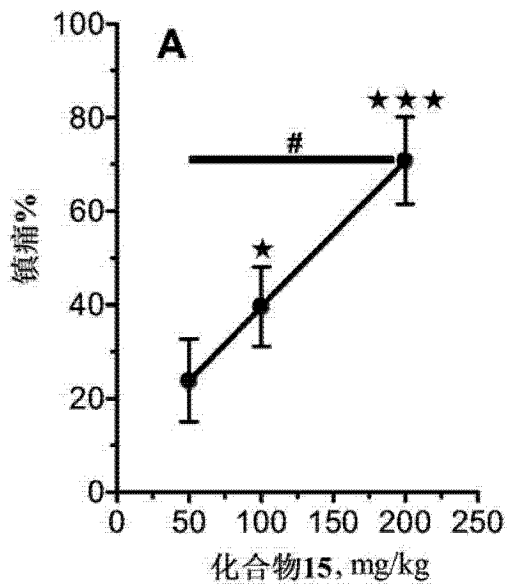


图 2A

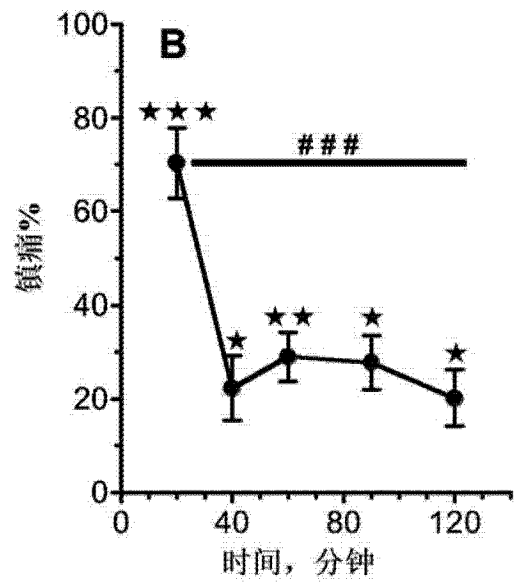


图 2B

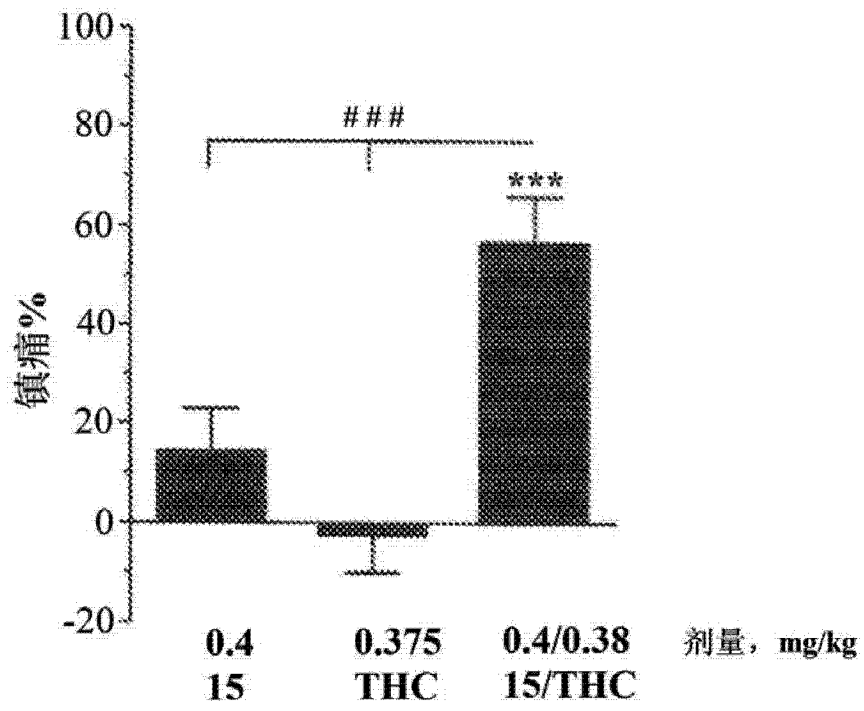


图 3