



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106458933 B

(45) 授权公告日 2021.03.05

(21) 申请号 201580025361.4

(22) 申请日 2015.04.22

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106458933 A

(43) 申请公布日 2017.02.22

(30) 优先权数据
61/982,880 2014.04.23 US(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2016.11.15(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/IL2015/050426 2015.04.22(87) PCT国际申请的公布数据
W02015/162615 EN 2015.10.29(73) 专利权人 泰克年研究发展基金会公司
地址 以色列海法(72) 发明人 M·加维什 J·A·卫嫚
A·斯特新博格 I·马雷克
A·魏因施泰因 A·阿维塔勒

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 张全信 赵蓉民

(51) Int.Cl.

C07D 239/91 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 7/10 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/14 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

(56) 对比文件

W0 2008023357 A1, 2008.02.28

审查员 王欢

权利要求书4页 说明书31页 附图19页

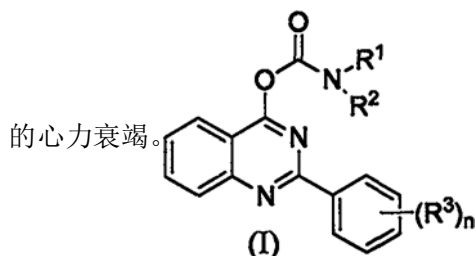
(54) 发明名称

基于喹唑啉支架的化合物、其药物组合物及使用方法

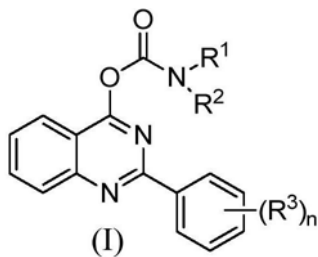
(57) 摘要

本发明涉及式(I)的基于喹唑啉支架的新的杂环化合物,其有效地结合至线粒体易位蛋白(TSPO),并抵抗细胞死亡过程。这些化合物还可以刺激神经元分化。本发明进一步涉及包括这样的化合物的药物组合物,和使用这些化合物预防和治疗由脑伤害引起的脑损伤的方法,特别是由于外伤性脑伤害(TBI)的二级脑损伤。本发明的化合物还可用于预防、治疗和治愈由于神经变性疾病的脑损伤,包括潜在的和相关联的病理学紊乱和精神紊乱。化合物还可以被用于预防和治疗

由于感染、中毒攻击和如消遣性药物、非处方药物或处方药物的过量药物使用的脑损伤。这些化合物还可以预防例如与脑伤害和脑疾病相关联



1. 由式 (I) 的结构表示的化合物:



其中

R^1 和 R^2 每个独立地选自甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基和叔丁基;

R^3 是卤素;和

n 是1、2、3、4或5;

包括其盐、多晶型物、和混合物。

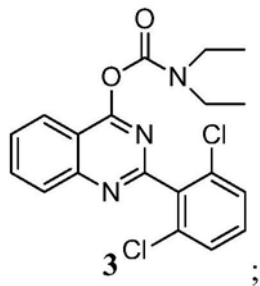
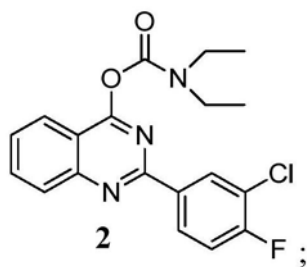
2. 根据权利要求1所述的化合物,其中 R^1 与 R^2 不相同。

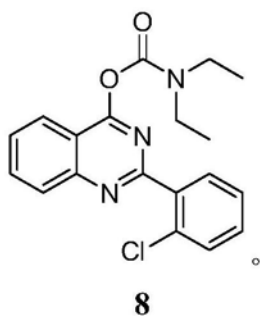
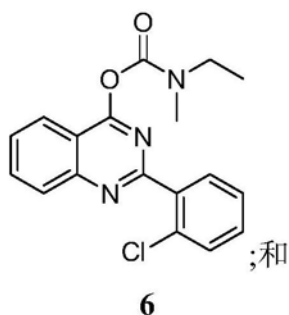
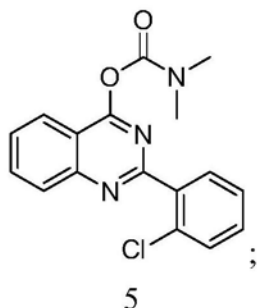
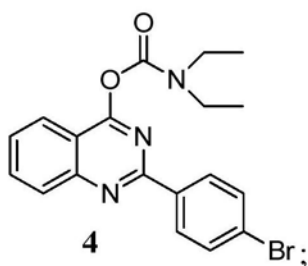
3. 根据权利要求1所述的化合物,其中 n 为1或2。

4. 根据权利要求1所述的化合物,其中 R^3 为Cl、Br或F或其组合。

5. 根据权利要求4所述的化合物,其中 R^3 为Cl。

6. 根据权利要求1所述的化合物,其选自下列:





7. 根据权利要求6所述的化合物,其由式5的结构表示。
8. 根据权利要求6所述的化合物,其由式6的结构表示。
9. 药物组合物,其包括制药上可接受的载体和作为活性成分的根据权利要求1至8中任一项所述的化合物。
10. 根据权利要求9所述的药物组合物,其中所述组合物为适于口服、非肠胃、经皮、局部或直肠给药,通过吸入给药,经由栓剂给药或经由透析给药的形式。
11. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合物用于制造治疗或预防脑损伤和/或其发展和/或症状的药物的用途。
12. 根据权利要求11所述的用途,其中所述脑损伤是由于由急性事件引起的脑伤害,所述急性事件选自外伤性脑伤害和由外伤性脑伤害引起的二级脑损伤。

13. 根据权利要求11或12所述的用途,其中所述脑损伤是由外伤性脑伤害或由涉及二级脑损伤或神经变性的作用剂引起的二级脑损伤,其中所述作用剂选自谷氨酸、除了谷氨酸外的谷氨酸受体配体、低氧模拟剂、一氧化氮生成剂、凋亡诱导剂、类固醇、氯化铵、毒性化合物和干扰ATP产生的作用剂。

14. 根据权利要求11所述的用途,其中所述脑损伤是由于急性或慢性攻击,所述急性或慢性攻击选自感染、毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用。

15. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造通过活化迁移、增殖、粘连、分化和/或免疫应答和发炎的调整以由此补充由于伤害患有脑损伤或由于伤害处于发展脑损伤风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的药物的用途。

16. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造治疗或预防神经变性疾病或其症状的药物的用途。

17. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造预防患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中程序性细胞死亡的药物的用途。

18. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造通过活化迁移、增殖、粘连、分化和/或免疫应答和发炎的调整以由此补充患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的药物的用途。

19. 根据权利要求16-18中任一项所述的用途,其中所述神经变性疾病选自阿耳茨海默疾病、帕金森疾病、杭廷顿舞蹈病、卢伽雷症、多发性硬化、自身免疫紊乱、匹克氏病、弥漫性向心性多层的圆形小体疾病、进行性核上性麻痹、多系统变性、运动神经元疾病、肌萎缩性脊髓侧索硬化、退行性共济失调、皮质基底退化、关岛ALS-帕金森病-痴呆复合症、亚急性硬化性全脑炎、突触核蛋白病、原发性进行性失语症、纹状体黑质退化、3型脊髓小脑性共济失调、橄榄体脑桥小脑变性、吉累斯·德拉图雷特病、延髓性和假延髓性麻痹、脊柱和脊髓延髓肌萎缩症、原生性脊髓侧索硬化、家族性痉挛性截瘫、韦-霍二氏病、库-韦二氏病、泰-萨二氏病、山德霍夫病、家族性痉挛性疾病、沃-库-韦三氏病、痉挛性瘫痪、进行性多灶性脑白质病、朊病毒病、克-雅二氏病、格斯特曼病、苦鲁病和致命性家族性失眠症。

20. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造刺激或增强CNS中康复过程的药物的用途,所述康复过程包括至损伤的脑区域的祖细胞的迁移、损伤的脑区域中的神经分化、和损伤的神经循环的重建。

21. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造治疗或预防脑水肿的药物的用途。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述脑水肿由外伤性脑伤害、神经变性疾病或急性或慢性攻击引起,所述急性或慢性攻击选自感染、毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用。

23. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合用于制造促进细胞、组织和/或器官的嫁接和移植的药物的用途。

24. 根据权利要求23所述的用途,其中所述细胞、组织和/或器官被嫁接或移植在需要

其的对象中。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述细胞、组织和/或器官被嫁接或移植在需要其的对象的CNS中。

26. 根据权利要求23所述的用途,其中所述细胞、组织和/或器官是脑相关的。

27. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合物用于制造促进患有发育障碍或处于具有发育障碍风险的对象中的脑发育的药物的用途。

28. 根据权利要求27所述的用途,其中所述发育障碍选自杭廷顿舞蹈病、21三体、脆性X染色体综合征、雷特综合征、威廉斯综合征、与链球菌感染相关的儿童自身免疫性神经精神障碍、西登哈姆舞蹈病、弓形体病、神经梅毒、亚急性硬化性全脑炎、精神分裂症、失明引起的自闭症或发育障碍、耳聋、感觉剥夺、代谢紊乱、营养缺乏、先天性伤害或发生在婴儿或儿童中的伤害。

29. 根据权利要求28所述的用途,其中所述发育障碍选自糖尿病、苯丙酮尿症、脊柱裂、无脑畸形和胎儿酒精综合征。

30. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合物用于制造在需要其的对象中通过诱导轴突生长跨越损伤的区域并进入它们的靶向区域修复损害和/或刺激脊髓的修复的药物的用途。

31. 根据权利要求1至8中任一项所述的化合物或根据权利要求9或10所述的药物组合物用于制造所述治疗或预防心血管疾病的药物的用途,其中所述心血管疾病由杭廷顿舞蹈病引起或与杭廷顿舞蹈病相关联。

32. 根据权利要求31所述的用途,其中所述心血管疾病选自心力衰竭、心脏骤停和心肌梗死。

33. 根据权利要求11至32中任一项所述的用途,其中将化合物或组合物预防性地施用至处于发展脑损伤和/或神经变性的风险的对象。

34. 根据权利要求33所述的用途,其中所述对象处于持续脑伤害或发展神经变性疾病、脑水肿或带来心力衰竭的心血管疾病的风险,或其中所述对象是移植候选者。

35. 根据权利要求33或34所述的用途,其中所述对象选自:从事高风险活动的对象、处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的神经发育障碍风险的婴儿或儿童、处于具有与脑损伤和/或神经变性相关联的遗传性疾病风险的对象和处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的年龄相关的神经性疾病风险的对象。

基于喹啉啉支架的化合物、其药物组合物及使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及基于喹啉啉支架的杂环化合物,喹啉啉支架有效地结合至线粒体易位蛋白(TSPO)和抵抗细胞死亡过程。本发明进一步提供包括这样的组合物的药物组合物,以及使用这些化合物的方法,特别是用于治疗 and 预防神经变性疾病以及由于急性事件(如,外伤性脑伤害(TBI)或其后遗作用)或慢性攻击(如,感染、毒素、或药物使用)——包括潜在的病理学过程——引起的脑损伤。

背景技术

[0002] 由于神经变性的脑疾病和伤害引起的神经变性是主要的健康和经济关注。当前模型预测在2000和2050年之间具有阿耳茨海默病的人口总数至少上升三倍。广泛接受的神经变性的基础原因的观点是通过谷氨酸的过度兴奋以及线粒体的功能残损导致脑中的神经细胞死亡(Camins等人,Methods Find Exp Clin Pharmacol.2008;30:43-65;Nakamura等人,Apoptosis.2010;15:1354-63)。可能的治疗已经被设计并测试,例如,通过抑制谷氨酸受体。然后,这样的途径还不成熟以有效治疗,可能是因为没有很好地了解神经变性的原因(Byrnes等人,Neurotherapeutics.2009;6:94-107)。因此,已经探索可选的途径,例如,通过预防线粒体基细胞死亡过程(Veenman等人,Drug Dev Res.2000;50:355-370;Veenman等人,Neurochem.2002;80:917-27;Mattson等人,Trends Mol Med.2003;9:196-205)。此外,神经胶质构成脑细胞的绝大多数,并用于维持和保护健康的神经元。实际上,现在很好地认识到,神经胶质在神经变性的进行中呈现关键因素(Rossi等人,Brain Res Bull.2009;80:224-32)。因此,神经胶质应当是包括在内用于研发有效治疗神经变性的因素之一。

[0003] 外伤性脑伤害(TBI)的特征是对脑的突然物理损伤。它由很多因素引起,包括战争、恐怖主义、机动车交通事故和其他交通事故、与工作有关的事、运动伤害、暴力犯罪、家庭事故、儿童虐待和家庭暴力,或者穿过头骨的物体,例如枪伤等等。可以由TBI引起的物理、行为和/或精神变化取决于伤害的脑的面积。伤害包括局灶性和弥漫性脑损伤。局灶性损伤限制在脑的小面积。局灶性损伤通常在头部碰撞物体或物体诸如子弹进入脑的点。弥漫性损伤扩散在整个脑中。虽然在过去的数十年中在伤害之后立即治疗头部伤口已经不断改良,但是延续作用诸如残疾在中度或重度TBI之后依然可能(Kluger等,JAm Coll Surg.2004;199:875-79)。现在很好地理解的是,TBI的初级伤害随后是数小时和数天的二级脑伤害的过程(Gaetz等人,Clin Neurophysiol.2004;115:4-18;Sullivan等人,J Neurosci Res.2005;79:231-39)。造成该第二波脑损伤的主要因素包括:兴奋性氨基酸诸如谷氨酸、Ca⁺⁺内环境稳定和活性氧种类(ROS)(Kluger等人,2004;Gaetz等人,2004)。线粒体是受到二级脑伤害影响的细胞器之一,并且特别是线粒体膜电位($\Delta \Psi_m$)的塌陷(collapse)似乎在导致由于二级脑伤害和神经变性疾病引起的神经元细胞死亡的因素中起到主要作用(Kluger等人,2004;Gaetz等人,2004)。这暗示了对于TBI,在持续脑伤害后,立即靶向 $\Delta \Psi_m$ 的调整将具有显著的治疗启示。由于TSPO是这些机制的主要成分,靶向TSPO

来治疗二级脑伤害、神经变性疾病和相关病状代表了新的和潜在的非常有效治疗方法。

[0004] 重要地, TSP0与电压依赖性阴离子通道 (VDAC) 相关联, 位于外线粒体膜中, 其起到主要通路的作用, 允许线粒体膜间空间和细胞质之间的小分子和离子通过 (McEnery等人, *Proc Natl Acad Sci U S A.*1992;89:3170-4; Veenman等人, *Anticancer Agents Med Chem.*2014;14:559-77)。VDAC的开放可以造成 $\Delta \Psi_m$ 的塌陷。TSP0还与腺嘌呤核苷酸易位体 (ANT) 相关联, 其位于内部线粒体膜中, 并可以形成也造成 $\Delta \Psi_m$ 的塌陷的致命孔 (lethal pore)。发现在程序性细胞死亡过程中TSP0的实质作用, 包括 $\Delta \Psi_m$ 的塌陷, 涉及神经变性, 因为它是由疾病和脑创伤发生, 已经举例说明TSP0作为用于神经变性疾病的药物开发和脑创伤的治疗的靶。在该背景下, 发现TSP0涉及参与线粒体凋亡级联的诱导的ROS的产生, 以及程序性细胞死亡的其他形式。已知这些ROS引起细胞色素c与位于内部线粒体膜处的心脂质脱离。另外, ROS造成外部线粒体膜中开放的孔, 允许释放细胞色素c进入胞质溶胶。这形成了活化线粒体凋亡途径的起始步骤 (Veenman等人, *J Bioenerg Biomembr.*2008;40:199-205; Veenman等人, 2014)。这些数据提供关于机制的理解, 藉此机制, TSP0可以作为调控制程序性细胞死亡速率的靶。这对于治疗疾病诸如神经变性和脑创伤的影响, 和其他形式的脑损伤, 特别是包括脑中细胞死亡的药物设计具有启示。

[0005] 首次探测到TSP0是通过其结合外周组织中苯二氮䓬的能力和稍后还在脑中神经胶质细胞中探测到, 因此, 其先前命名为外周苯二氮䓬受体 (PBR) (Papadopoulos等人, *Trends Pharmacol Sci.*2006;27:402-9; Veenman和Gavish, *Pharmacol Ther.*2006;110:503-24; Veenman等人, *Curr Pharm Design.*2007;13:2385-2405)。已知, 该线粒体蛋白可以通过特异性配体在药理学上调整 (Veenman等人, *J Neurochem.*2002;80:917-27; Veenman和Gavish, *Pharmacol Ther.*2006;110:503-24; Veenman等人, 2007)。经典TSP0配体的典型实例为PK 11195和Ro5 4864 (PK 11195是异喹啉衍生物和Ro5 4864是苯二氮䓬)。TSP0功能包括: 调整细胞死亡过程、调整细胞周期、调整基因表达、调制类固醇产生、介入 (involvement) 细胞迁移、介入细胞分化、介入血管发生、介入兴奋性中毒细胞死亡、以及介入发炎和免疫应答。在神经变性发生期间, 如, 在阿耳茨海默、帕金森和杭廷顿舞蹈病中, 以及还由于脑创伤, TSP0的表达增强 (Gavish等人, *Pharmacol Rev.*1999;51:629-50; Veenman和Gavish, 2000;50:355-70; Veenman和Gavish, 2006; Veenman和Gavish, *Curr Mol Med.*2012;12:398-412; Veenman等人, *Pharmacogenet Genomics.*2012;22:606-19; Veiga等人, *Glia.*2007;55:1426-36; Papadopoulos等人, *Exp Neurol.*2009;219:53-7)。在CNS中, TSP0的原细胞位置 (primary cellular location) 是星形胶质细胞和小神经胶质。然而, TSP0还可以在细胞死亡途径上的神经元中表达。基因操作 (siRNA和反义RNA) 使TSP0沉默防止程序性细胞死亡, 包括由谷氨酸诱导的细胞死亡。有趣地, 在暴露至致死水平的谷氨酸的U118MG细胞中, TSP0水平增加。U118MG细胞具有星形细胞基源 (astrocytic origin)。至少由于这些原因, TSP0呈现了有希望的靶以保护脑免受神经病理学过程 (Veiga等人, 2007; Panickar等人, *Glia.*2007;55:1720-7)。除了其在细胞死亡中的作用, 在TSP0的控制下, 诸如调整基因表达、介入发炎和免疫应答、介入细胞迁移、细胞分化、介入血管发生、和其特异性介入兴奋性中毒细胞死亡, 其他阐明的功能强调了TSP0作为靶用于治疗由于疾病和脑创伤引起的脑中细胞死亡的重要性, 包括其对修复和康复机制的贡献 (Bode等人, *Pharmacogenet Genomics.*2012;22:538-50; Veenman等人, *Pharmacogenet*

Genomics.2012)。先前已经发现,经典TSP0配体PK 11195和Ro5 4864表现了中度的体内神经保护作用(参见,如,Veenman等人,2002;Veiga等人,2005;80:129-37;Veenman Gavish.2012)。离体经典TSP0配体的作用接近通过基因操作使TSP0沉默所发现的作用(Veenman等人,Biochem Pharmacol.2004;68:689-98;Kugler等人,Cell Oncol.2008;30:435-50;Veenman等人,2008;Levin等人,Biochemistry.2005;44:9924-35;Zeno等人,Biochemistry.2009;48:4652-61)。

[0006] 美国专利号8,541,428公开了酞嗪、喹唑啉和喹唑啉生物,包含化合物的药物组合物,以及它们在治疗和预防由外伤性脑伤害(TBI)引起的脑损伤中和在治疗和预防神经变性疾病中的治疗用途。显示在所述专利公布中公开的化合物以不同的亲和性结合至PBR(TSP0),并显示了其降低由在细胞培养中的谷氨酸诱导的细胞死亡。此外,由这些化合物赋予的细胞保护发生在神经元型细胞(SH SY 5Y)以及神经胶质细胞型(U118MG)。

[0007] 美国专利号6,765,006公开了喹唑啉和为AMPA受体的拮抗剂或正调制器的其他杂环,以及其用于治疗、预防或改善神经元的损失或治疗或改善神经变性的疾病的用途。

[0008] 在本领域内存在研发有效地结合至TSP0的改良的药剂(agent)的需要,当脑细胞死亡由于TBI和二级脑损伤和/或神经变性疾病发生时,该药剂结合预防脑细胞死亡——包括各种形式的程序性细胞死亡(凋亡、坏死、自噬细胞死亡)的作用。此外,对于成功治疗TBI、二级脑损伤和神经变性疾病,进一步期望的是,活化和/或促进修复机制。

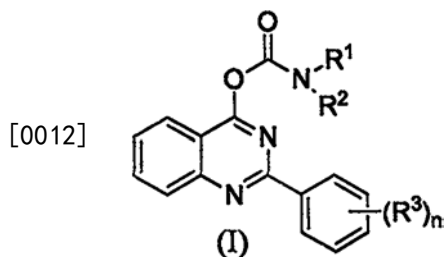
发明内容

[0009] 本发明涉及由式(I)描述的化合物,以及本文中描述的各个化合物,其基于以氨基和附接的可旋转的苯基取代的喹唑啉支架,可旋转的苯基任选地被卤素取代。本发明进一步涉及包含该化合物的药物组合物,以及它们在治疗和预防由急性或慢性事件和它们的后遗症作用引起的脑损伤中以及治疗与包括神经元和/或神经胶质细胞的退化的脑疾病相关的脑损伤的治疗用途。本发明的化合物还抑制程序性细胞死亡的机制(即,它们预防细胞死亡),和它们可以刺激与补充死脑细胞相关的细胞活性。本发明的化合物有效地结合至18kDa线粒体易位蛋白(TSP0)并抑制其细胞死亡功能。因此,这些化合物具有特异性细胞死亡预防性质和由此的神经保护性质,两者均用于神经元自身以及神经胶质细胞维持神经元健康。通过减弱由谷氨酸——已知其为在外伤性脑伤害之后引起二级脑损伤的重要试剂并且还是在神经变性期间有毒试剂中的一种——诱导的细胞死亡过程,本发明的化合物预防脑中的细胞死亡。这些化合物还免受为二级脑损伤的部分和神经变性以及其他病理学病状的其他作用剂(例如,但不限于,谷氨酸、除了谷氨酸以外的谷氨酸受体配体、低氧模拟(mimicking)剂、 β -淀粉状蛋白、一氧化氮生成剂、凋亡诱导剂、类固醇、氯化铵、有毒化合物、干扰ATP产生等等)。这些化合物还活化细胞的分化,使它们有益于刺激患病的和损伤的CNS中的康复过程。如此,本发明的化合物在治疗和预防与程序性细胞死亡途径相关联的疾病和病状中——包括神经变性疾病和脑损伤——是有用的。本发明的化合物进一步在治疗或预防心血管机能障碍诸如与杭廷顿舞蹈病相关联的那些中是有用的。

[0010] 通常,本发明的化合物可以以下面的作用模式中的一种或多种使用:1)预防性地;2)抵抗进行性损伤(如,脑损伤)和疾病(如,神经变性);3)刺激自修复;和4)通过嫁接/移植支撑患病的和损伤组织的替换。本文提出的化合物的广泛的可应用性是由于它们调制对疾

病和与其相关联的进行性损伤(诸如细胞死亡)常见的过程的能力以及它们将特定细胞型分化为期望形式的成熟细胞的能力。

[0011] 在一个实施方式中,本发明提供了由式(I)的结构表示的化合物:



[0013] 其中

[0014] R^1 和 R^2 每个独立地为直链或支链 C_1 - C_{12} 烷基;

[0015] R^3 是卤素;和

[0016] n 是0、1、2、3、4或5;

[0017] 条件是,当 n 是0时, R^1 与 R^2 不同;

[0018] 包括其盐、溶剂合物、多晶型物、和混合物。

[0019] 在一个实施方式中, R^1 和 R^2 每个是 C_1 - C_4 烷基,优选地 R^1 和 R^2 彼此不同。在一些实施方式中, R^1 和 R^2 中一个是甲基,而另一个是乙基。

[0020] 在另一个实施方式中,化合物由式(I)的结构表示,其中 R^1 和 R^2 是相同的(由此形成对称酰胺),和 n 不为0(即化合物在苯环上具有一个或多个卤素取代基)。在另一个目前优选的实施方式中,化合物由式(I)的结构表示,其中 R^1 和 R^2 彼此不同(由此形成不对称酰胺)。根据本发明的原理,当 n 为0时(即, R^3 不存在), R^1 和 R^2 彼此不同。然而,对于卤化的衍生物,其中 n 不为0,那么 R^1 和 R^2 可以是相同的(对称酰胺)或彼此不同(不对称酰胺)。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0021] 在一个特别优选的实施方式中,化合物由式(I)的结构表示,其中 n 不为0并且 R^1 和 R^2 彼此不同,由此形成不对称酰胺,具有卤化的苯基取代基。

[0022] 在一些实施方式中,本发明教导了如何系统性地提高治疗活性化合物的期望的特性,包括但不限于通过本发明的化合物的结构上的特异性、靶向改性阻止由细胞培养中的谷氨酸诱导的细胞死亡(即烷基侧链的改性和可旋转的苯环的卤化作用,例如Cl)。

[0023] 本发明的代表性化合物选自化合物1、2、3、4、5、6、7和8,其中化合物1、化合物5和化合物6目前是优选的。本文下面在具体实施方式中提供化合物1至8的结构。

[0024] 在一个实施方式中,本发明提供了包括制药上可接受的载体和作为活性成分的由式(I)表示的化合物或式1、2、3、4、5、6、7或8中任一个的化合物的药物组合物。

[0025] 在某些实施方式中,期望的药物组合物为适合口服、非肠胃、经皮的、局部的、或直肠给药、通过吸入给药、经由栓剂给药或经由透析给药的形式。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0026] 当它们联合有效的TSP0结合与针对细胞死亡好的保护时,本发明的化合物意外地比US8,541,428中公开的化合物,以及经典TSP0配体更有效,例如本文中在细胞培养中所说明。在动物研究中,如本文中所说明,本发明的化合物1增强了生存期并提高了转基因的R6-2小鼠——用于神经变性的杭廷顿运动疾病的动物模型——的活动能力,而化合物A——

US8,541,428中描述的最有效的化合物——以及经典的TSP0配体PK 11195在动物模型中没有这样的效果。如通过在对于人类杭廷顿舞蹈病的神经变性疾病的R6-2转基因鼠中化合物5和化合物6的强壮的生存期增强和震颤降低效果所说明,化合物的卤化作用表现非常有效。

[0027] 在一个实施方式中,已经意外地发现,增加式(I)的化合物的酰胺部分的链长度大大增加对TSP0的结合亲和性。例如,当与化合物A(R^1, R^2 =甲基, $K_i \approx 600\text{nm}$)比较时,本发明的化合物7(R^1, R^2 =乙基)以显著更高的亲和性结合TSP0($K_i \approx 2.5\text{nm}$)。该发现是完全意外的,并代表本发明的一个实施方式。

[0028] 在另一个实施方式中,已经意外地发现,包括不对称酰胺的化合物比其具有对称酰胺的对应物更有效。不希望受任何具体机制或理论的限制,预期的是,对TSP0的亲和性和预防细胞死亡以及抵抗动物和人两者中神经变性过程的能力的组合,不对称是重要的。US 8,541,428中描述的化合物没有一个具有不对称酰胺部分。不对称酰胺的联合作用——其贡献于化合物对TSP0的亲和性以及它们预防细胞死亡和改善神经变性过程的能力两者——的发现还没有被预见。特别是,基于US 8,541,428本身中的化合物,如本文中所说明,和与经典TSP0配体如PK 11195和Ro5 4864之间的比较,已经发现,增强的TSP0亲和性有时与保护能力的损失相关。如本文中所考虑,申请人现在已经意外地发现,新的式(I)的化合物既对TSP0具有有效的亲和性并结合细胞培养中细胞保护性质,还具有关于动物模型中神经变性杭廷顿舞蹈病的保护作用。这些发现完全是意外的并构成本发明的一个实施方式。

[0029] 已经进一步意外地发现,若干喹唑啉衍生物,其在苯环上具有卤素取代基,有效地很好阻止细胞死亡。此外,已经发现,卤素取代基在苯环上的一些构型调制对TSP0的结合,提供结合TSP0并阻止细胞死亡的有效化合物。因此,在一些实施方式中,在苯环上的卤素取代基(一个或多个),单独地或与酰胺侧链上的烷基取代基的性质联合,显著影响式(I)描述的新的化合物的结合性质和细胞保护功能的结合。US 8,541,428完全没有举例说明任何卤化的衍生物也没有举例说明任何不对称酰胺。因此,式(I)的喹唑啉衍生物——其包括苯环上的至少一个卤素部分和/或存在不对称酰胺——构成本发明的额外的实施方式。基于酰胺基的不对称烷基部分的作用的发现,现在预期的是,位于可旋转的苯环上的与这些部分相互作用的卤素可以影响对TSP0的结合以及TSP0功能的控制,包括其细胞死亡的调整。

[0030] 如本文中所考虑,还已经发现了,在可旋转的苯环上并入卤素(一个或多个)不一定显著地影响对TSP0的结合,然而,卤素的存在预防或降低细胞培养中由高浓度(100 μM)的相同结构但缺少卤化作用的化合物诱导的不期望的致死作用。此外,卤化的化合物对谷氨酸-诱导的细胞死亡的保护作用优于或等于对应的非卤化的类似物的作用。如此,卤化的化合物呈现特定的优势,在于当与非卤化的衍生物比较时,它们可以是更多的保护性和更少的毒性,并且可以与降低的副作用概况相关联。

[0031] 本发明的化合物例如化合物1的另一个优点是它们在若干月的存储期间是稳定的,性质上具有小的批与批变化。除了靶向TSP0的细胞死亡控制的能力以预防TBI和神经变性过程的能力外,此外利用微阵列研究发现TSP0敲除导致人星形胶质细胞型细胞中谷氨酸受体、转运蛋白和酶的基因表达的大变化(Veenman等人,2012b)。因此,利用本发明的化合物短期处理可以通过阻挡线粒体膜电位($\Delta \Psi_m$)的塌陷预防细胞死亡,同时长期处理,如通

过TSP0表达的稳定敲除所实现,或通过利用TSP0配体慢性抑制所实现,可以调整基因表达以抵抗神经变性过程。此外,因为TSP0经由TSP0对基因表达的作用调整细胞周期、发展、迁移、分化、和细胞的粘连的能力(Bode等人,2012;Veenman等人,2012),靶向TSP0可以刺激为心室壁衬垫的干细胞分化以及它们至患病的脑区域的迁移,在此它们可以替换损伤的神经元。因此,本发明包括本文中描述的化合物影响线粒体调整的细胞过程以及与脑创伤的后果以及与神经变性疾病相关的基因表达的能力(Bode等人,2012;Veenman等人,2012)。实际上,发现了本文中描述的新的化合物,联合谷氨酸,可以刺激培养中的PC12细胞以分化至神经元类细胞。通过本文描述的新的化合物对TSP0的调整所影响的保护和修复过程的该组合,呈现了本发明的新的独特的特征。

[0032] 对于多种治疗模式,上面描述的化合物或药物组合物是有用的。在一些实施方式中,化合物或药物组合物被作为预防性治疗给予处于高风险组的对象,包括:从事高风险活动的对象、处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的神经发育障碍风险的婴儿或儿童、处于具有与脑损伤和/或神经变性相关联的遗传性疾病风险的对象、和/或处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的年龄相关的神经性疾病风险的对象。在其他实施方式,在伤害或疾病进行期间,化合物或药物组合物被给予作为抵抗治疗。在某些实施方式中,化合物或药物组合物被给予作为抵抗治疗,或除了抵抗治疗外还给予,从而刺激脑中的自修复过程。在一些其他实施方式中,化合物或药物组合物被作为治疗给予,以支撑需要其的对象中的细胞和组织修复的移植。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0033] 因此,在一些实施方式中,本发明提供用于通过向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物治疗或预防脑损伤和/或其发展和/或症状的方法。在一个实施方式中,脑损伤是由于由急性事件诸如外伤性脑伤害(TBI)引起的脑伤害。在另一个实施方式中,脑损伤是由于由TBI引起的二级脑损伤。在仍另一个实施方式中,脑损伤是由涉及二级脑损伤或神经变性的作用剂——例如谷氨酸、除了谷氨酸以外的谷氨酸受体配体、低氧模拟(mimicking)剂、一氧化氮生成剂、凋亡诱导剂、类固醇、氯化铵、有毒化合物和干扰ATP产生的作用剂——引起的二级脑损伤。在其他实施方式,脑损伤是由于由感染、暴露至毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用引起的急性或慢性攻击。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0034] 在另一个方面,本发明进一步提供了通过向对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物,通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充由于伤害患有脑损伤或由于伤害处于发展脑损伤风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的方法。

[0035] 本发明进一步提供了治疗或预防神经变性疾病或其症状的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0036] 在一个具体方面,本发明提供了通过预防患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中程序性细胞死亡来预防神经变性的方法,包括步骤:向对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0037] 在其他实施方式中,本发明提供了通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的方法,包括步骤:向对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0038] 在某些实施方式中,神经变性疾病选自阿耳茨海默症、帕金森症、杭廷顿舞蹈病、

卢伽雷症 (Lou Gehrig Disease)、多发性硬化、自身免疫紊乱、匹克氏病、弥漫性向心性多层的圆形小体疾病 (diffuse Lewy body disease)、进行性核上性麻痹 (基底神经节病变综合征 (Steel-Richardson syndrome))、多系统变性 (夏-德综合征 (Shy-Drager syndrome))、运动神经元疾病、肌萎缩性脊髓侧索硬化、退行性共济失调、皮质基底退化、关岛ALS-帕金森病-痴呆复合症、亚急性硬化性全脑炎、突触核蛋白病 (synucleinopathies)、原发性进行性失语症、纹状体黑质退化、麦查多-约瑟夫病/3型脊髓小脑性共济失调和橄榄体脑桥小脑变性、吉累斯·德拉图雷特病、延髓性和假延髓性麻痹、脊柱和脊髓延髓肌萎缩症 (肯尼迪病)、原生性脊髓侧索硬化、家族性痉挛性截瘫、韦-霍二氏病、库-韦二氏病、泰-萨二氏病、山德霍夫病、家族性痉挛性疾病、沃-库-韦三氏病、痉挛性瘫痪、进行性多灶性脑白质病、朊病毒病、克-雅二氏病、格斯特曼病 (Gerstmann-Straussler-Scheinker Disease)、苦鲁病、和致命性家族性失眠症。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0039] 在另一个方面,本发明进一步提供了刺激或增强CNS中康复过程的方法,包括至损伤的脑区域的祖细胞的迁移、损伤的脑区域中的神经分化、和损伤的神经循环的重建,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0040] 在另一个方面,本发明提供了用于预防、降低或治疗脑水肿的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。在某些实施方式中,治疗的脑水肿由外伤性脑伤害 (TBI)、神经变性疾病或选自感染、毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用的急性或慢性攻击引起。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0041] 在额外的方面,本发明提供了用于促进嫁接或移植细胞、组织和/或器官的方法,包括步骤:使这样的细胞、组织和/或器官与有效量的上面描述的化合物或药物组合物接触。在一个实施方式中,细胞、组织和/或器官被嫁接或移植在需要其的对象中。在一个目前优选的实施方式中,细胞、组织和/或器官被嫁接或移植在需要其的对象的CNS中。在一个具体的实施方式中,细胞、组织和/或器官是脑相关的。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0042] 在额外的实施方式中,本发明进一步提供了用于促进患有发育障碍或处于具有发育障碍风险的对象中的脑发育的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0043] 在某些实施方式中,发育障碍选自杭廷顿舞蹈病、21三体、脆性X染色体综合征、雷特综合征、威廉斯综合征、与链球菌感染相关的儿童自身免疫性神经精神障碍、西登哈姆舞蹈病、弓形体病、神经梅毒、亚急性硬化性全脑炎、精神分裂症、失明引起的自闭症或发育障碍、耳聋、(感觉剥夺)、代谢紊乱 (如糖尿病,苯丙酮尿症)、营养缺乏 (如脊柱裂、无脑畸形,胎儿酒精综合征)、先天性伤害或发生在婴儿或儿童中的伤害。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0044] 在其他实施方式,本发明提供了用于通过诱导轴突生长跨越损伤的区域并进入它们的靶向区域修复损害和/或刺激脊髓的修复的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。

[0045] 在另一个方面,本发明提供了用于预防或治疗心血管疾病的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。在一个优选实施方式中,心血

管疾病由杭廷顿舞蹈病引起或与杭廷顿舞蹈病相关。在其他实施方式,心血管疾病选自心力衰竭、充血性心力衰竭、心脏骤停和心肌梗死。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0046] 在某些实施方式中,将化合物或组合物预防性地施用至处于发展脑损伤和/或神经变性风险的对象。在一些实施方式中,所述对象处于持续脑伤害或发展神经变性疾病、脑水肿或心血管疾病的风险,或对象是移植候选者。根据其他实施方式,将化合物或组合物预防性地施用至对象,该对象选自:从事高风险活动的对象,处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的神经发育障碍风险的婴儿或儿童,处于具有与脑损伤和/或神经变性相关联的遗传性疾病风险的对象,和处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的年龄相关的神经性疾病风险的对象。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0047] 本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防脑损伤和/或其发展和/或症状的用途。

[0048] 本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充由于伤害患有脑损伤或由于伤害处于发展脑损伤风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的用途。

[0049] 在另一个方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防神经变性疾病或其症状的用途。

[0050] 在具体的方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于预防患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中程序性细胞死亡的用途。

[0051] 在进一步方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的用途。

[0052] 在另一个方面,本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于刺激或增强CNS中康复过程的用途,包括至损伤的脑区域的祖细胞的迁移、损伤的脑区域中的神经分化、和损伤的神经循环的重建。

[0053] 在仍另一个方面,本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防脑水肿的用途。

[0054] 在额外的方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于促进嫁接或移植细胞、组织和/或器官的用途。

[0055] 在另一个方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于促进患有发育障碍或处于具有发育障碍风险的对象中的脑发育的用途。

[0056] 在额外的方面,本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于通过诱导轴突生长跨越损伤的区域并进入它们的靶向区域修复损害和/或刺激脊髓的修复的用途。

[0057] 在仍另一个方面,本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防导致心力衰竭的心血管疾病的用途。在优选实施方式中,描述的心血管疾病由杭廷顿舞蹈病引起或与杭廷顿舞蹈病相关联。

[0058] 通过下文给出的详细描述,本发明的进一步实施方式和实用性的全部范围将变得清楚。然而,应当理解,虽然指示了本发明的优选实施方式,但是详细描述和具体实例仅以

说明方式给出,因为根据该详细描述,对于本领域技术人员,本发明的精神和范围内的各种变化和修改将变得清楚。

附图说明

[0059] 图1:化合物1 (Cpd 1) (特征在于由甲基和乙基作为烷基基团) 显著地降低神经起源的U118MG细胞的培养中谷氨酸诱导的细胞死亡的水平(谷氨酸可以作为神经毒素,其在脑损伤和神经变性的情况中具有细胞损伤作用)。该保护包括TSP0的控制下的细胞死亡过程,即阻止了线粒体的电位($\Delta \Psi_m$)的塌陷和心脂质氧化。图1A:由谷氨酸诱导的细胞死亡通过Cpd 1剂量依赖地降低。重要地,Cpd 1自身仅具有非常小的致死作用。### $p < 0.001$ 对载体对照(对照),* $p < 0.05$ 对谷氨酸暴露的(glu),*** $p < 0.001$ 对谷氨酸暴露的细胞(glu)。图1B:由谷氨酸诱导的 $\Delta \Psi_m$ 塌陷被Cpd 1阻止。## $p < 0.01$ 对载体对照(cont),** $p < 0.01$ 对谷氨酸暴露的(glut);图1C:在由谷氨酸诱导的线粒体水平下的ROS生成被Cpd 1减弱。### $p < 0.001$ 对载体对照(cont),*** $p < 0.001$ 对谷氨酸暴露的细胞(glut)。

[0060] 图2:显示了在体外化合物2(特征在于以Cl和F卤化的可旋转的苯环)的保护性质。 $n=4$,结果描绘为平均 \pm SEM。***:单向ANOVA给出 $p < 0.0001$;对于谷氨酸对谷氨酸+化合物2(5-50 μ M),布昂费罗尼(Bonferroni)多重比较检验给出 $p < 0.001$ 。白色柱代表暴露至没有(0)或具有Cpd 2(1、5、10、25、50 μ M)的谷氨酸。黑色柱代表仅以Cpd 2治疗。

[0061] 图3:显示了在体外化合物3(特征在于以Cl在两个位置卤化的可旋转的苯环)的保护性质。 $n=4$,结果描绘为平均 \pm SEM。***:单向ANOVA给出 $p < 0.0001$;对于谷氨酸对谷氨酸+化合物3(5-50 μ M),布昂费罗尼(Bonferroni)多重比较检验给出 $p < 0.001$ 。白色柱代表暴露至没有(0)或具有Cpd 3(1、5、10、25、50 μ M)的谷氨酸。黑色柱代表仅以Cpd 3治疗。

[0062] 图4:化合物4(特征在于以Br卤化的可旋转的苯环)在体外保护来自SH SY 6Y细胞系的神经元细胞不受谷氨酸的致死作用。 $n=6$,**= $p < 0.01$ 利用曼-惠特尼作为后分析(posthoc)的单向ANOVA。对照:无谷氨酸暴露和无Cpd 4治疗。Cpd 4:仅Cpd 4治疗。Glut:仅谷氨酸暴露。Cpd 4+glut:谷氨酸暴露与谷氨酸治疗一起。

[0063] 图5:化合物1在动物模型中的作用。A)与载体治疗(DMSO)和假治疗(盐水)的R6-2小鼠相比,化合物1延长了R6-2小鼠的生存期,其为杭廷顿舞蹈病的转基因模型。R6-2小鼠呈现了杭廷顿的神经变性疾病的转基因鼠模型。在DMSO治疗和盐水治疗的R6-2小鼠之间没有发现差别。B)与DMSO和盐水治疗的R6-2小鼠相比,比较性的现有技术化合物A在该杭廷顿舞蹈病模型中没有作用。经典TSP0配体PK 11195在该杭廷顿舞蹈病模型中也完全没有作用(数据未显示)。

[0064] 图6:与载体治疗(图中显示的DMSO)的R6-2小鼠和假治疗(图中未显示盐水)的R6-2小鼠相比,化合物1增强了R6-2小鼠的活动能力。比较性现有技术化合物A在该杭廷顿舞蹈病模型种完全没有作用(数据未显示)。经典TSP0配体PK 11195在该杭廷顿舞蹈病模型中也完全没有作用(数据未显示)。** $p < 0.01$ Cpd 1治疗的R6-2小鼠对比载体治疗的R6-2小鼠(DMSO)。

[0065] 图7:与化合物A相比,本发明的化合物1、5、6、7、8的官能特性。通过烷基改性提供的“中度”亲和性($K_i \sim 60$ nM)提供了最佳保护(Cpd 1和Cpd 6)。向可旋转的苯基添加卤素提高了保护并降低了“高”浓度(100 μ M)(Cpd 5、6、8)下的致死作用。烷基侧链的额外伸长为

TSP0提供了相对强的亲和性(Cpd 7、8)。联合烷基改性和卤化的衍生化合物的生成进一步增强了对谷氨酸的保护作用,如,在该方案中,Cpd 6与所有其他化合物相比。对于细节,参见图8和9。

[0066] 图8:通过本发明的化合物1、5、6、7、8阻止U118MG细胞中由谷氨酸诱导的细胞死亡。图8A:参比CpdA(美国专利号8,541,428)。图8B:Cpd 5。图8C(=图1A):Cpd 1。图8D:Cpd 6。图8E:Cpd 7。图8F:Cpd 8。 $\#p < 0.05$ 对载体对照(对照), $###p < 0.001$ 对载体对照(对照), $*p < 0.05$ 对谷氨酸暴露的(glu), $***p < 0.001$ 对谷氨酸暴露的细胞(glu)。

[0067] 图9:降低培养中不利的、不期望的细胞死亡作用。由于图7和8中呈现的施加100 μ M(即高浓度)的化合物,看到作用的比较性概括。通过卤化使本发明的化合物的不期望的致死作用最小。该概括显示了利用C1的卤化降低了100 μ M的浓度下的致死作用,即只有保护特性保留。A)卤化Cpd A、Cpd 1和Cpd 7以分别得到Cpd 5、Cpd 6和Cpd 8,降低了培养中该高浓度下的细胞死亡作用。B)卤化的Cpd 5、Cpd 6和Cpd 8比对应的未卤化的Cpd A、Cpd 1和Cpd 7甚至进一步降低了培养中谷氨酸的细胞死亡作用。当未受抑制,谷氨酸自身通常杀死50-60%的细胞,但是即使具有100 μ M的Cpd 6的次最佳剂量,仅有5%的细胞被谷氨酸杀死。通过该描绘,也可以得出结论Cpd 5显示了最小的不利副作用。

[0068] 图10:在细胞培养中,与谷氨酸一起给予,Cpd 1可以诱导PC12细胞分化为神经元型的细胞,如通过像轴突的轴索的向外生长所表征。本发明的其他化合物具有相同的作用(同时,关于该类的分化,经典的TSP0配体据报道是无效的)。三角形指向如通过施加Cpd 1诱导的像轴突的轴索。箭头指向可能的接触部位。

[0069] 图11:X-射线确定的化合物1的球棒结构。

[0070] 图12:与载体治疗(DMSO)的R6-2小鼠相比,化合物6(化合物1的卤化的衍生物)延长了R6-2小鼠的生存期。垂直线表示每个治疗组中的中值生存期。

[0071] 图13:与载体治疗(DMSO)的R6-2小鼠相比,化合物5(化合物A的卤化的衍生物)延长了R6-2小鼠的生存期。垂直线表示每个治疗组中的中值生存期。

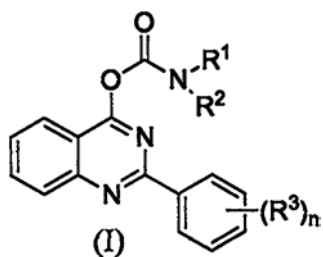
具体实施方式

[0072] 本发明涉及新的杂环化合物,其包括喹啉支架,优选地具有附接至式(I)的酰胺基的一套不对称的烷基链,和/或附接至式(I)中可旋转的苯环的各种卤素,以及如本文中所描述由式1、2、3、4、5、6、7和8的结构表示的个体化合物。本发明的化合物,特别是化合物1,有效地结合至TSP0并调整其细胞死亡功能,并还可以调整TSP0在基因表达、细胞周期、迁移、增殖、分化和相关的组织发育和修补中的作用。本发明包括包含化合物的药物组合物,和它们在治疗和预防由急性事件[如,外伤性脑伤害(TBI)和其后遗作用]、慢性事件(如,感染,毒素和/或药物使用)和神经变性疾病以及相关障碍引起的脑损伤中的治疗用途。

[0073] 化合物

[0074] 在一个实施方式中,本发明提供了由式(I)的结构表示的化合物:

[0075]



[0076] 其中

[0077] R^1 和 R^2 每个独立地为直链或支链 C_1 - C_{12} 烷基；[0078] R^3 是卤素；和[0079] n 是0、1、2、3、4或5；[0080] 条件是，当 n 是0时， R^1 与 R^2 不同；

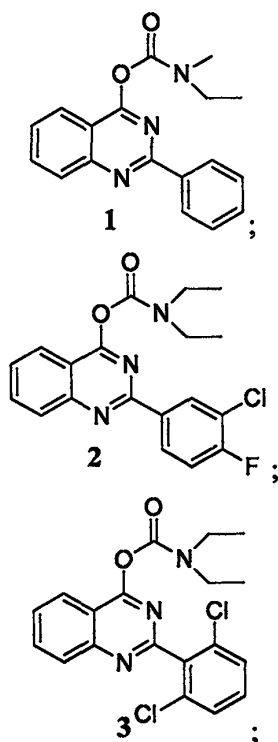
[0081] 包括其盐、溶剂合物、多晶型物和混合物。

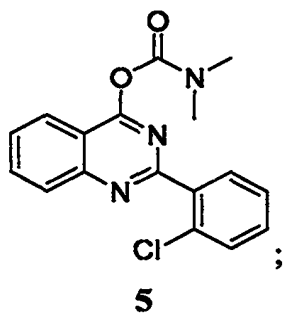
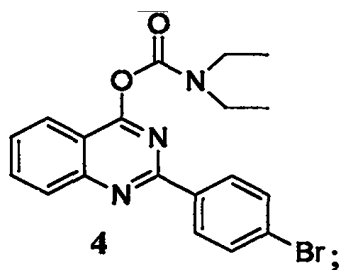
[0082] 在一个实施方式中， R^1 和 R^2 每个是 C_1 - C_4 烷基。在一些目前优选的实施方式中，化合物由式(I)的结构表示，其中 R^1 和 R^2 每个独立地选自选自甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基和叔丁基。

[0083] 在另一个目前优选的实施方式中，化合物由式(I)的结构表示，其中 R^1 和 R^2 是相同的(由此形成对称酰胺)，和 n 不为0。在另一个目前优选的实施方式中，化合物由式(I)的结构表示，其中 R^1 和 R^2 彼此不同(由此形成不对称酰胺)。根据本发明的原理，当 n 为0时(即 R^3 不存在)， R^1 和 R^2 彼此不同。然而，对于卤化的衍生物，其中 n 不为0，那么 R^1 和 R^2 可以是相同的(对称酰胺)或彼此不同(不对称酰胺)。

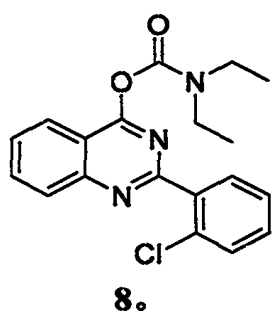
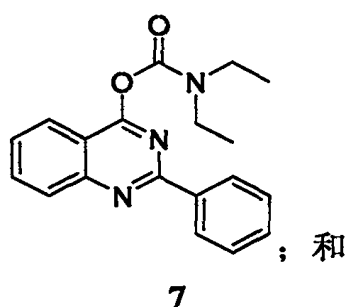
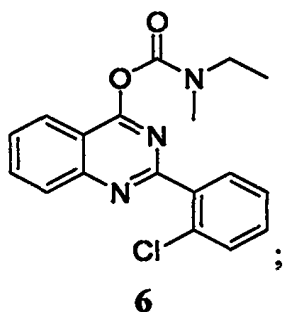
[0084] 在一个优选实施方式中，在式(I)的化合物中 n 为0。在另一个优选实施方式中，在式(I)的化合物中 n 为1。在另一个优选实施方式中，在式(I)的化合物中 n 为2。其他可能性包括 n 为3、4或5。目前优选的 R^3 基团为Cl、Br或F，或其组合。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。本发明的代表性化合物选自化合物1、2、3、4、5、6、7和8，并在下面呈现。

[0085]





[0086]



[0087] 在一个实施方式中,已经意外地发现,增加式(I)的化合物的酰胺部分的链长度大大增加对TSP0的结合亲和性。因此,在一个实施方式中,本发明的化合物,其中 R^1 和 R^2 每个是 C_2 - C_{12} 的独立的烷基,是目前优选的。

[0088] 在另一个实施方式中,已经意外地发现,包括不对称酰胺的化合物比其具有对称酰胺的对应物更有效。因此,在一个实施方式中,式(I)的化合物,其中 R^1 不同于 R^2 ,目前是优选的。

[0089] 在另一个实施方式中,已经意外地发现,在可旋转的苯环上并入卤素(一个或多个)预防或降低由高浓度的结构相同但缺少卤化的化合物诱导的细胞培养中的不期望的致死作用。因此,在一个实施方式中,苯环上包含一个或多个卤素的式(I)的化合物目前是优选的。

[0090] 上面的属性的组合也被考虑,并代表本发明的另一个实施方式。例如,包含不对称酰胺和卤化的苯环的化合物(如,化合物6)代表本发明的优选实施方式。

[0091] 在一个实施方式中,本发明提供了包括制药上可接受的载体和作为活性成分的由式(I)表示或选自式1、2、3、4、5、6、7或8中任一个的化合物的药物组合物。

[0092] 化学定义

[0093] 本文中所使用的术语“烷基”指任何饱和的脂肪烃,包括直链和支链基团。在一个实施方式中,烷基基团具有1-12个碳,这里指定为C₁-C₁₂-烷基。在另一个实施方式中,烷基基团具有1-6个碳,这里指定为C₁-C₆-烷基。在另一个实施方式中,烷基基团具有1-4个碳,这里指定为C₁-C₄-烷基。烷基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基——包括其所有异构体、己基——包括其所有异构体、庚基——包括其所有异构体、辛基——包括其所有异构体、壬基——包括其所有异构体、癸基——包括其所有异构体、十一烷基——包括其所有异构体、和十二烷基——包括其所有异构体。类似地,术语“亚烷基”表示双价自由基,其中烷基自由基在将两个单独的额外基团连接在一起的两个位置处键合(如,CH₂)。

[0094] 烷基基团可以是未取代的、或以一个或多个取代基取代的,一个或多个取代基选自卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、烷基芳氧基、杂芳氧基、氧代、环烷基、苯基、杂芳基、杂环基、萘基、氨基、烷基氨基、芳基氨基、杂芳基氨基、二烷基氨基、二芳基氨基、烷基芳基氨基、烷基杂芳基氨基、芳基杂芳基氨基、酰基、酰氧基、硝基、羧基、氨基甲酰基、甲酰胺、氰基、磺酰基、磺酰基氨基、亚磺酰基、亚磺酰基氨基、巯基、C₁至C₁₂烷硫基芳硫基、或C₁至C₁₂烷基磺酰基基团。任意取代基可以是未取代的或进一步被这些前述的取代基中任一个取代。

[0095] 本文中所使用的术语“卤素”单独或作为另一基团的部分指氯(Cl)、溴(Br)、氟(F)、和碘(I)。

[0096] 本发明的化合物中一个或多个可以作为盐存在。术语“盐”包括碱性和酸性加成盐,包括但不限于胺氮与有机或无机酸的盐。这样的酸包括氢氯酸、氢氟酸、三氟乙酸、硫酸、磷酸、乙酸、琥珀酸、柠檬酸、乳酸、马来酸、富马酸、棕榈酸、胆酸、扑酸(pamoic)、粘酸、D-谷氨酸、D-樟脑酸、戊二酸、邻苯二甲酸、酒石酸、月桂酸、硬脂酸、杨酸、甲磺酸、苯磺酸、山梨酸、苦味酸、苯甲酸、肉桂酸等酸。

[0097] 本发明还包括式(I)的化合物的溶剂合物和其盐。“溶剂合物”意思是本发明的化合物与一个或多个溶剂分子的物理缔合。该物理缔合包括不同程度的离子键或共价键,包括氢键。在某些例子中,溶剂合物将能够分离。“溶剂合物”包括溶液相和可分离的溶剂合物两者。适合的溶剂合物的非限制性实例包括乙醇盐、甲醇盐等等。“水合物”是一种溶剂合物,其中溶剂分子为水。

[0098] 本发明还包括式(I)的化合物的多晶型物和其盐。术语“多晶型物”指物质的特定晶体态,其可以由特定的物理性质表征,诸如X-射线衍射、IR光谱、熔点等等。

[0099] 治疗用途

[0100] 神经胶质构成脑细胞的绝大部分并用来维持和保护健康神经元,并且现在认识到,神经胶质在神经变性的进行中提供关键因素。本发明是首次实际考虑神经胶质,包括星形神经胶质、小神经胶质和少突神经胶质细胞,作为治疗由于伤害和疾病引起的脑损伤的主要场所(venue)。

[0101] 而且,在导致具有二级脑伤害和神经变性疾病的神经元细胞死亡的因素中,线粒体膜电位($\Delta \Psi_m$)的塌陷似乎起主要作用。这暗示在持续脑伤害后立即靶向 $\Delta \Psi_m$ 的调整将对TBI具有显著的治疗启示。由于TSP0是这些机制的主要组分,本发明靶向TSP0来治疗与任意类型的脑伤害、神经变性疾病和相关病状相关联的脑损伤。

[0102] 在优选实施方式中,本发明的化合物以优于至今可用的治疗的方式有效地结合至TSP0联合预防细胞死亡,包括预防程序性细胞死亡——当它由于脑伤害和/或神经变性疾病出现时。

[0103] 此外,本发明的化合物活化和促进修复关于免疫应答、发炎、细胞增殖、细胞迁移、细胞分化、轴索向外生长等的性质的能力能够应用于各种类型的脑损伤的根治疗法,如上面所描述和还由于过量药物使用、中毒攻击、感染等。

[0104] 如上面所提到,本发明的化合物预防/降低神经细胞中基础程序性细胞死亡,即神经胶质和/或神经元,包括减弱由谷氨酸诱导的细胞死亡,已知谷氨酸为引起神经变性和细胞死亡和脑中细胞损伤的过程中的重要作用剂。此外,这些化合物预防/降低由造成神经变性和脑损伤的进行的其它作用剂诱导的细胞死亡。因此,本发明的化合物预防由于造成神经变性、进行性脑创伤和相关联的障碍的即使不是全部也是大多数的因素的细胞死亡。另外,化合物可以通过利用新的脑细胞——包括神经元——补充损伤的脑区域和重建损伤的神经循环以及刺激它们的分化有助于损伤的脑区域的修复。如此,对于脑伤害之后的神经变性疾病和进行性脑损伤,本发明的化合物在预防、治疗和除了症状改善外还潜在地提供实际治愈中是有用的。

[0105] 本发明的化合物提供比经典TSP0配体对程序性细胞死亡更好的阻止。此外,与由细胞培养中经典TSP0配体所见的问题相反,本发明的化合物在高浓度下是无毒的,或完全无毒的。此外,本发明的化合物不增强凋亡诱导剂诸如谷氨酸的凋亡水平,而经典TSP0配体在细胞培养中可能这样(特别是在高浓度 $\geq 50\mu\text{M}$ 下)。如此,与经典TSP0配体相比,本发明的化合物是特别有利的。另外,与US 8,541,428中公开的化合物相比,它们意外地联合对TSP0的有效亲和性和细胞保护能力。此外,在杭廷顿舞蹈病的动物模型(R6-2小鼠)中,本发明的化合物(如化合物1)呈现了良好的性质,诸如增强的生存期和增加的活动能力,而经典TSP0配体和US 8,541,428中公开的化合物在R6-2模型中完全没有这些正作用。在单独的实验中进一步发现,化合物5和化合物6降低了震颤活性的发病率。这些特性指示化合物具有实质的神经保护性质,包括病理学行为效果和其他症状,包括致死率,并因此可以被用于治疗 and 预防脑伤害后的二级脑损伤、脑外科、神经变性疾病和相关联的障碍,例如,由于感染、中毒攻击和包括消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用的脑损伤。

[0106] 本发明的化合物意外地联合对TSP0的好的亲和性和降低细胞中细胞死亡水平——特别是降低通过已知为在外伤性脑伤害后引起二级脑损伤的重要作用剂并还参与神经变性疾病的神经中毒性作用剂的细胞死亡水平——的非常有效的能力。此外,在可旋转的苯环上的卤素(一个或多个)预防或降低细胞培养中的不期望致死作用,其否则由高浓

度(100 μ M)的具有相同结构但缺少卤化的化合物诱导。在这些方面,本发明的化合物优于已知的TSPO配体。它们还优于目前可用于治疗这样的障碍的任何化合物。如此,本发明的化合物在治疗和预防任意类型的脑损伤中是有用的,任意类型的脑损伤包括由外伤性脑伤害(TBI)和/或由于与如战争、恐怖主义、交通事故(如,机动车和非机动车事故等等)、运动伤害、暴力犯罪、家务事故、儿童虐待、家庭暴力,与工作有关的事故,枪伤等相关的TBI的二级脑伤害引起的脑损伤。其他类型的脑伤害可以是由于中毒攻击、任意种类的感染、和包括消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用。化合物还可以在与脑伤害相关联的高风险情况中被预防性地施加。本发明的化合物还在治疗和预防神经变性疾病诸如阿耳茨海默病、帕金森病、杭廷顿舞蹈病、卢伽雷症、多发性硬化、自身免疫紊乱等等中是有用的。在下面描述额外的治疗适应症。

[0107] 神经变性和神经变性疾病

[0108] 在一个方面,本发明提供了用于治疗或预防神经变性疾病或其症状的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的如本文中描述的本发明的化合物或包括这样的化合物的药物组合物。在其他实施方式中,本发明涉及上面描述的化合物或药物组合物中任一种在治疗或预防神经变性疾病或其症状中的应用。

[0109] 在另一个方面,本发明提供预防患有神经变性疾病的对象或处于发展神经变性疾病风险的对象中的神经变性(如通过预防细胞凋亡现象)的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的如本文中描述的本发明的化合物。在其他实施方式,本发明涉及上面描述的化合物或药物组合物中任一种在预防患有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病风险的对象中的神经变性(如通过预防凋亡现象)中的应用。

[0110] 在另一个方面,本发明提供了用于通过活化和促进经由迁移、增殖、分化和/或粘连需要的细胞进入并在讨论的CNS区域中以及免疫应答和发炎的其它需要的调整的过程,补充损失的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的方法。方法包括步骤:向需要其的对象施用有效量的如本文中描述的本发明的化合物或包括这样的化合物的药物组合物。本发明进一步涉及使用上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充需要其的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤。在一些实施方式中,对象具有神经变性疾病或处于发展神经变性疾病的风险。

[0111] 通常地,中枢神经系统的疾病被称为神经变性的,指示它们特征在于出于仍大大地未知的原因出现逐渐地进化、持续不断地进行性神经元死亡。如此,它们不同于由感染、代谢紊乱和中毒诱导的相应的病状。有相当比例的归类为神经变性的障碍是遗传的,显性或隐性遗传。然而,其它障碍在给定的家庭中仅偶发地出现作为孤立的例子,其原因通常是未知的。变性疾病的分类不能基于任何确切的原因或发病机理的知识;它们细分为个体综合征在很大程度上取决于神经病理和临床方面的描述性标准。该组疾病呈现了若干不同的临床综合征,其识别可以帮助临床医生实现诊断。设计本发明的化合物以治疗任意形式的脑损伤,其是由于机械伤害、疾病、感染、中毒攻击和包括消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用,或其他方式。

[0112] 在本发明的背景中神经变性疾病的实例包括但不限于阿耳茨海默病、帕金森病、杭廷顿舞蹈病、卢伽雷症、多发性硬化、自身免疫紊乱、匹克氏病、弥漫性向心性多层的圆形小体疾病、进行性核上性麻痹(基底神经节病变综合征)、多系统变性(夏-德综合征)、运动

神经元疾病、肌萎缩性脊髓侧索硬化、退行性共济失调、皮质基底退化、关岛ALS-帕金森病-痴呆复合症、亚急性硬化性全脑炎、突触核蛋白病、原发性进行性失语症、纹状体黑质退化、麦查多-约瑟夫病/3型脊髓小脑性共济失调和橄榄体脑桥小脑变性、吉累斯·德拉图雷特病、延髓性和假延髓性麻痹、脊柱和脊髓延髓肌萎缩症(肯尼迪病)、原生性脊髓侧索硬化、家族性痉挛性截瘫、韦-霍二氏病、库-韦二氏病、泰-萨二氏病、山德霍夫病、家族性痉挛性疾病、沃-库-韦三氏病、痉挛性瘫痪、进行性多灶性脑白质病、朊病毒病、包括克-雅二氏病、格斯特曼病、苦鲁病和致命性家族性失眠症。

[0113] 脑伤害和脑损伤

[0114] 在另一个方面,本发明提供了用于治疗 and 预防脑损伤和/或其发展和/或症状的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的本文中描述的本发明的化合物或组合物。在一些实施方式中,脑损伤是由于由急性事件诸如外伤性脑伤害(TBI)引起的脑伤害和由TBI引起的随后的进行性二级脑损伤。在一些方面,本发明提供了用于通过活化和促进经由迁移、增殖、分化和/或粘连需要的细胞进入并在讨论的CNS区域中以及免疫应答和发炎的其它需要的调整的过程补充损失的脑细胞和重建神经循环,预防或治疗由外伤性脑伤害(TBI)引起的脑损伤的进行或由TBI引起的二级脑损伤的方法。方法包括步骤:向需要其的对象施用有效量的如本文中描述的本发明的式的化合物。

[0115] 本发明还涉及本发明的化合物在制造用于治疗或预防脑损伤和/或脑损伤的症状和/或进行的药物中的用途。脑损伤可以如通过任何类型的脑伤害引起。

[0116] 在另一个方面,本发明进一步提供通过向对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物,通过活化迁移、增殖、粘连和/或分化以由此补充由于伤害患有脑损伤或由于伤害处于发展脑损伤风险的对象中减少的脑细胞来预防、降低或治疗CNS损伤的方法。

[0117] 在一个实施方式中,脑伤害是由于急性事件例如外伤性脑伤害(TBI)。在另一个实施方式中,脑损伤是由TBI引起的二级脑损伤,其呈现连续的慢性过程。在另一个实施方式中,这涉及在二级脑损伤或神经变性中牵涉的作用剂,诸如谷氨酸、除了谷氨酸外的谷氨酸受体配体、低氧模拟剂、一氧化氮生成剂、凋亡诱导剂、类固醇、氯化铵、毒性化合物、或干扰ATP产生的作用剂。在另一个实施方式中,脑损伤是由于慢性攻击诸如感染、毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用。

[0118] 在一个实施方式中,脑伤害是外伤性脑伤害(TBI)。如本文中所考虑,对于预防和治疗由TBI引起的二级脑损伤,本发明的化合物是特别有用的。因此,本发明的化合物可用于例如治疗战场中的士兵,特别是已经遭受TBI的士兵。例如,由于TBI的二级脑损伤可以通过向士兵给药本发明的化合物,例如通过供给战场中或恐怖袭击的威胁下/地点处的护理人员 and/或士兵本发明的化合物,以便可以在士兵已经遭受TBI之后尽可能快地原地施用化合物。对于是暴力犯罪——包括但不限于恐怖袭击——和可以引起脑损伤的任何其它灾祸的受害者的百姓,本发明的化合物也是有用的。这可以降低在由于战事——包括恐怖袭击以及其它犯罪——和事故遭受TBI的后果中马上发生的能力丧失的发病率。

[0119] 本发明的化合物的功用不限于暴力犯罪,诸如战争和恐怖袭击。对于遭受由于家庭事件——诸如交通事故(如,机动车和非机动车事故等等)、运动伤害、工作相关的事故、家庭事故、儿童虐待、家庭暴力、枪伤等,包括它们的后果这样的事件诸如诸如能力丧失和癫痫——的脑伤害的个体,本发明的化合物也是有用的。在另一个实施方式中,在某些病状

下,对于具有非常高的CNS损伤的发病率的运动,可以预防性地给予化合物。

[0120] 在相关的方面,本发明提供刺激或增强CNS中康复过程——包括至损伤的脑区域的祖细胞的迁移、损伤的脑区域中的神经分化、和损伤的神经循环的重建——的方法。方法包括步骤:向需要其的对象施用有效量的本文中描述的本发明的化合物。本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于刺激或增强CNS中康复过程的用途。

[0121] 心血管疾病

[0122] 心力衰竭是R6-2小鼠——杭廷顿舞蹈病的鼠模型——中死亡的主要原因。该现象似乎与遗传条件以及它需要的应激相关联。现在已经发现,本发明的化合物预防R6-2小鼠中的心力衰竭。因此,在其他方面中,本发明提供了用于预防或治疗心血管疾病的方法,特别是心力衰竭,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。在一个优选实施方式中,心血管疾病由杭廷顿舞蹈病引起或与杭廷顿舞蹈病相关联。本发明涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防心血管疾病的用途,特别是心力衰竭。

[0123] 其他治疗性适应症

[0124] 在一个方面,本发明提供了用于预防、降低或治疗脑水肿的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于治疗或预防脑水肿的应用。脑水肿可以由外伤性脑伤害、神经变性疾病和/或如上面所描述的急性或慢性攻击引起。

[0125] 在额外的方面,本发明的化合物通过嫁接/移植支持患病组织和损伤组织的替换。根据该实施方式,本发明进一步提供了通过使这样的细胞、组织和/或器官与有效量的上面描述的化合物或药物组合物接触来促进嫁接或移植细胞、组织和/或器官的方法。在一个目前优选的实施方式中,嫁接或移植的细胞靶区域是CNS。在一个具体的实施方式中,细胞、组织和/或器官是脑相关的。本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于促进嫁接或移植细胞、组织和/或器官的应用。

[0126] 在额外的实施方式中,本发明进一步提供了用于促进患有发育障碍或处于具有发育障碍风险的对象中的脑发育的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。本发明的化合物可以用于治疗发育障碍,在本发明的内容中这样的发育障碍的实例包括但不限于:杭廷顿舞蹈病、21三体、脆性X染色体综合征、雷特综合征、威廉斯综合征、与链球菌感染相关的儿童自身免疫性神经精神障碍、西登哈姆舞蹈病、弓形体病、神经梅毒、亚急性硬化性全脑炎、精神分裂症、失明引起的自闭症或发育障碍、耳聋、(感觉剥夺)、代谢紊乱(如糖尿病,苯丙酮尿症)、营养缺乏(如脊柱裂、无脑畸形、胎儿酒精综合征)、先天性伤害或发生在婴儿或儿童中的伤害。本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于促进患有发育障碍或处于具有发育障碍风险的对象中的脑发育的用途。

[0127] 在其他实施方式,本发明提供了用于通过诱导轴突生长跨越损伤的区域并进入它们的靶向区域修复损害和/或刺激脊髓的修复的方法,包括步骤:向需要其的对象施用有效量的上面描述的化合物或药物组合物。本发明进一步涉及上面所描述的化合物或药物组合物中任一种用于修复损害和/或刺激脊髓的修复的用途。

[0128] 如上面所提到,本发明的化合物可以以下面的作用模式中的一种或多种使用:1)

预防性地;2) 抵抗进行性损伤(如,脑损伤)和疾病(如,神经变性);3) 刺激自修复;和4) 通过嫁接/移植支持患病组织和损伤组织的替换。因此,在某些实施方式中,将上面描述的化合物或组合物预防性地施用至处于发展脑损伤和/或神经变性风险的对象。在一些实施方式中,所述对象处于持续脑伤害或发展神经变性疾病、脑水肿或心血管疾病的风险,或其中对象是移植候选者。根据一些实施方式,预防性地施用的化合物或组合物被给予至对象,该对象选自:从事高风险活动的对象、处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的神经发育障碍风险的婴儿或儿童、处于具有与脑损伤和/或神经变性相关联的遗传性疾病风险的对象和处于发展与脑损伤和/或神经变性相关联的年龄相关的神经性疾病风险的对象。

[0129] 在任意的前述方法的一个优选实施方式中,化合物由式(I)的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式1的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式2的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式3的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式4的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式5的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式6的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式7的结构表示。在另一个优选实施方式中,化合物由式8的结构表示。每个可能性表示本发明的单独的实施方式。

[0130] 如本文所使用,术语“施用”指与本发明的化合物接触。可以完成施用至细胞或组织培养,或至活体机体,例如人。在一个实施方式中,本发明包括将本发明的化合物施用至人对象。

[0131] “治疗的”或“有效的”治疗是出于减少或消除病理学体征的目的给药至表现这些体征的对象的对象的治疗。本发明的化合物的“在治疗上有效量”或“有效量”是足以向施用了化合物的对象提供有益效果的化合物的量。根据本发明的有效治疗的实例包括但不限于降低或改善TBI或本文中描述的神经变性疾病的任意一个或多个症状、增加生存期、增加运动活性、增加认知能力和其他脑功能和预防TBI和/或神经变性疾病的进行。类似地,本发明的化合物可以被用于治疗由于感染、中毒攻击,为消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用等等的脑损伤。

[0132] 如本文所使用,术语“脑水肿”指脑的细胞间或细胞外间隙中过量流体的聚集的症状。本发明的内容中的脑水肿可以是外伤性脑伤害(TBI)、神经变性疾病或选自感染、毒素、和消遣性药物、非处方药物和/或处方药物的过量药物使用的急性或慢性攻击的结果。

[0133] 术语“嫁接”和“移植”指被从其原始自然部位移出并转移至相同的人中或单独的个体中的新位置的组织或完整器官的部分。

[0134] 术语“心血管疾病”指心脏和血管疾病。本发明的内容中的心血管疾病包括但不限于心力衰竭、充血性心力衰竭、心脏骤停和心肌梗死。

[0135] 药物组合物

[0136] 虽然本发明的化合物可以单独给药,但是考虑这些化合物将以包含本发明的化合物与制药上可接受的载体或赋形剂一起的药物组合物被给药。

[0137] 可以配制本发明的药物组合物用于通过包括口服、直肠、经皮的、非肠胃(皮下、腹腔、静脉、动脉、经皮和肌肉内)、局部的、鼻内、经由栓剂直肠地、或经由透析的多种途径给药。以制药领域中熟知的方式制备这样的组合物,并且其包括作为活性成分的如上文所描述的本发明的至少一种化合物,和制药上可接受的赋形剂或载体。术语“制药上可接受的”

意思是由联邦或州政府的监管机构批准或列在美国药典或其他公认的药典中用于动物,更具体地用于人类。

[0138] 在根据本发明制备药物组合物期间,活性成分通常与载体或赋形剂混合,载体或赋形剂可以是固体、半固体或液体材料。组合物优选地适合于口服给药,其中它们可以是下面的形式:片剂、丸剂、胶囊、弹丸剂、颗粒、粉末、锭剂、囊剂、扁囊剂、酏剂、悬浮液、分散体、乳液、溶液、糖浆剂、气溶胶(作为固体或在液体媒介中)、包含例如按重量级多至10%的活性化合物的软膏剂、软的和硬的明胶胶囊、栓剂、无菌可注射的溶液和无菌包装的粉末。

[0139] 载体可以是任意常规使用的那些。载体的选择将由用于施用药物组合物的具体方法确定。适合的载体的一些实例包括乳糖、葡萄糖、d-葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、树胶、磷酸钙、海藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水和甲基纤维素。其他制药载体可以是无菌液体,诸如水、酒精(如乙醇)和脂质载体诸如油(包括石油、动物、植物或合成起源的那些,诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等)、磷脂(如卵磷脂)、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂。当静脉施用药物组合物时,水是优选的载体。还可以采用盐水溶液和水性d-葡萄糖和丙三醇溶液作为液体载体,特别是用于可注射溶液。

[0140] 制剂可以额外地包括润滑剂,诸如滑石、硬脂酸镁和矿物油;湿润剂、抗氧化剂、表面活性剂、乳化和悬浮剂;防腐剂诸如甲基和丙基羟基苯甲酸酯;甜味剂;调味剂、着色剂、缓冲剂(如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐)、崩解剂、增湿剂、抗菌剂、抗氧化剂(如抗坏血酸或亚硫酸氢钠)、螯合剂(如乙二胺四乙酸)、和用于调节张力的试剂诸如氯化钠。还可以包括脂肪酸。

[0141] 对于制备固体组合物诸如片剂,主要的活性成分与制药赋形剂混合以形成固体预制剂组合物,其包含本发明的化合物的均匀混合物。当提到这些预制剂组合物为均匀的时,意思是活性成分遍布组合物均匀地分散,以致组合物可以容易地相等细分为有效单位剂型,诸如片剂、丸剂和胶囊。然后该固体预制剂被细分为上面描述类型的单位剂型,其包含从例如0.1至大约500mg的本发明的活性成分。

[0142] 任何方法可以被用于制备药物组合物。固体剂型可以通过湿法成粒、干法成粒、直接压缩等制备。

[0143] 本发明的固体剂型可以被包衣或以其它方式复合以提供给予长效的优势的剂型。例如,片剂或丸剂可以包括内部剂量和外部剂量组分,后者为在前者之上的外壳的形式。两个组分可以由肠溶层隔开,其用来抵抗胃中的崩解并允许内部组分完整通过十二指肠或延迟释放。多种材料可以被用作这样的肠溶层或包衣,这样的材料包括众多聚合物酸和聚合物酸与这样的材料——如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素——的混合物。

[0144] 本发明的组合物可以被并入用于口服或通过注射给药的液体形式包括水溶液、醇溶液、适当调味的糖浆剂、水性或油性悬浮液和以食用油诸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油调味的乳液,以及酏剂,和类似的制药载体。

[0145] 用于吸入的组合物包括制药上可接受的水性或有机溶剂中的溶液和悬浮液,或其混合物和粉末。液体或固体组合物可以包含如上面所描述的适合的制药上可接受的赋形剂。优选地,组合物通过口服或鼻呼吸途径给药用于局部或全身作用。在优选地制药上可接受的溶剂中的组合物可以通过使用惰性气体被雾化。雾化的溶液可以直接从雾化装置呼

吸,或雾化装置可以被附接至面具罩,或间歇式正压呼吸机。溶液、悬浮液或粉末组合物可以优选地口服或鼻吸由以合适方式递送制剂的装置给药。

[0146] 在本发明的方法中采用的另一个制剂采用经皮递送装置(“贴剂(patch)”)。这样的经皮贴剂可以被用于提供以控制的量连续的或不连续的注入本发明的化合物。用于递送药剂的经皮贴剂的结构和使用在本领域内是众所周知的。

[0147] 在仍另一个实施方式中,制备组合物用于局部给药,如作为软膏剂、凝胶剂、滴剂(drop)或乳油剂。对于使用例如乳油剂、凝胶剂、滴剂、软膏剂等局部给药至身体表面,可以制备本发明的化合物并施加在具有或不具有制药载体的生理上可接受的稀释剂中。用于局部或凝胶基形式的辅助剂可以包括例如羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、聚氧乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和木蜡醇。

[0148] 可选的制剂包括喷鼻剂、脂质体制剂、速释制剂、缓释制剂、控释制剂、延迟释放制剂等,如本领域内所已知。

[0149] 组合物优选地以单位剂型配制。术语“单位剂型”指适合作为单一剂量用于人类对象或其他哺乳动物的物理上离散的单位,每个单位包含计算产生期望治疗效果的预定量的活性材料联合适合的制药赋形剂。

[0150] 在制备制剂中,在与其他成分组合之前,可能需要研磨活性成分以提供合适的粒径。如果活性化合物基本上是不可溶的,那么它一般被研磨至小于大约200目的粒径。如果活性成分基本上是水可溶的,那么粒径一般通过研磨调节以在制剂中提供基本上均一的分布,如大约40目。

[0151] 局部给药本发明的药物组合物至需要治疗的区域可能是期望的;这可以通过例如,但不限于在外科手术期间局部注入、局部施加——如在外科手术之后连通伤口敷料、通过注射、利用导管、利用栓剂、或利用植入物,所述植入物具有多孔、非孔或凝胶状材料。

[0152] 化合物还可以通过任何方便的途径给药,例如通过注入或弹丸注射,通过经过上皮衬垫的吸附(如口腔黏膜、直肠和肠黏膜等),并且可以与其他在治疗上活性试剂一起给药。可以局部给药,优选地靠近感染的、伤害的或患病的区域,但是它可以还是全身性的。另外,通过任何适合的途径将本发明的药物组合物引入中枢神经系统可能是期望的,包括脑室内和鞘内注射;脑室内注射可以通过脑室内导管促进,例如,附接至贮器。可以使用靶向药物递送系统,包括纳米技术。也可以采用肺部给药,如通过使用吸入器或雾化器,和具有气溶胶化剂的制剂。

[0153] 在一个实施方式中,注入泵可以被用于施用本发明的化合物。因此,本发明的化合物可以结合生物可降解的、生物相容的聚合物植入物施用,生物可降解的、生物相容的聚合物植入物在选择部位在控制的时间周期内释放化合物。优选的聚合物材料的实例包括聚酞,聚原酸酯(polyorthoesters),聚乙二醇酸(polyglycolic acid),聚乳酸,聚乙烯乙酸乙烯酯,其共聚物和掺合物(参见Medical applications of controlled release,Langer and Wise(eds.),1974,CRC Pres.,Boca Raton,FL)。在仍另一个实施方式中,控释系统可以被置于治疗靶附近,因此仅需要全身计量的一部分。

[0154] 此外,有时候,药物组合物可以被配制用于非肠胃给药(皮下、静脉、动脉、经皮、腹腔、或肌肉注射)并可以包括水性或非水性、等渗无菌注射溶液,其可以包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、和使制剂与预期受体的血液等渗的溶质,以及包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳

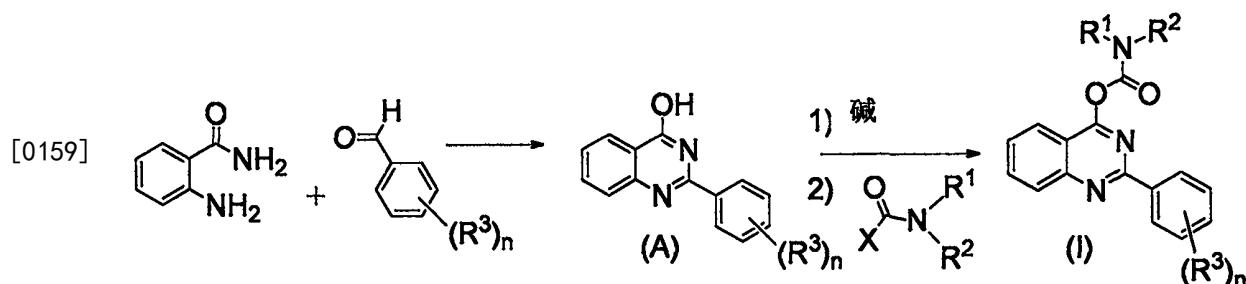
定剂和防腐剂的水性和非水性无菌悬浮液。油诸如石油、动物油、植物油或合成油和脂肪酸盐诸如脂肪碱金属、铵和三乙醇胺盐和适合的洗涤剂也可以被用于非肠胃给药。进一步,为了最小化或消除注射部位的刺激,组合物可以包含一种或多种非离子表面活性剂。适合的表面活性剂包括聚乙烯失水山梨糖醇脂肪酸酯,诸如失水山梨糖醇单油酸酯和环氧乙烷与疏水碱的高分子量加成物,其通过环氧丙烷和丙二醇的缩合形成。

[0155] 非肠胃制剂可以存在于单位剂量或多剂量密封的容器内,诸如安瓿和管形瓶,并且可以在冷冻干燥(冻干的)条件中存储,在即将使用之前,仅需要添加无菌液体载体,例如,水,用于注射。供当场配制的注射溶液和悬浮液可以由先前描述的和本领域内已知的种类的无菌粉末、颗粒和片剂制备。

[0156] 将在治疗具体障碍或病状——包括TBI、神经变性疾病和其它相仿的障碍和伤害——中有效的本发明化合物的量将取决于障碍和病状的性质,并可以由标准临床技术确定。另外,体外测定可以任选地被采用来帮助识别最优剂量范围。制剂中将采用的精确的剂量还将取决于给药途径,和疾病或障碍的严重性,并应当根据开业医师和每个患者的情况的判断来决定。优选的剂量将在体重的0.01-1000mg/kg的范围内,更优选地,大约0.1mg/kg至大约100mg/kg,和甚至更优选地大约1mg/kg至大约10mg/kg。有效剂量可以从由体外或动物模型试验生物测定或系统导出的剂量-应答曲线推算。

[0157] 合成方法

[0158] 式(I)的喹唑啉衍生物可以如方案1中所描述和如实施例9中进一步详述来制备。



[0160] 方案1

[0161] 在方案1中,R¹、R²、R³和n如上面对式(I)所限定。

[0162] 市售的邻氨基苯甲酰胺与苯甲醛或其卤化的衍生物反应,得到2-苯基喹唑啉-4-醇或其卤化的衍生物(中间体A)。使中间体与碱(如氢化物诸如氢化钠或氢化钾)反应,制备相应的醇化物,随后添加氨基甲酰基衍生物(如,X为卤素,优选地Cl),得到O-酰胺化产物。可以按需制备氨基甲酰氯的氮原子上的不同的烷基基团。

[0163] 碱的性质不具体限制。优选的碱包括但不限于氢化物(如氢化钠或氢化钾)。其他适合的碱包括但不限于有机碱,诸如选自无环胺(如三甲胺、三乙胺、二甲基苯基胺、二异丙基乙胺和三丁胺)、环胺(如N-甲基吗啉)和芳香胺(如二甲基苯胺、二甲基氨基吡啶和吡啶)的叔胺。

[0164] 反应可以在溶剂存在或不存在下进行。当使用时,溶剂的性质不具体限制,其中实例包括诸如酯(如乙酸乙酯)、醚(如二甲氧基乙烷、THF)、氯化的溶剂(如二氯甲烷或氯仿)、二甲基甲酰胺(DMF)、乙腈或甲苯的溶剂,或这些溶剂彼此间的混合物。

[0165] 在一个实施方式中,碱是氢化钾(KH)和溶剂是二甲氧基乙烷(DME)。

[0166] 本申请中引用的所有参考文件通过引用其全部明确地并入,如同在本文中充分陈

述。

[0167] 提出下面的实施例,从而更充分地说明本发明的某些实施方式。然而,它们绝不当被解释为限制本发明的宽的范围。本领域内技术人员可以容易地想出本文中公开的原理的许多变化和修改,而不背离本发明的范围。

[0168] 实验细节部分

[0169] 实施例1-用于生物测定的材料和方法

[0170] TSP0结合和蛋白质印迹法蛋白分析 利用TSP0结合测定来确定本发明的化合物是否能够与标准TSP0配体竞争,这根据先前描述的方法 (Veenman等人,2004;Levin等人,2005),并用作质量对照。简要地,测定利用放射性标准配体 [^3H]PK 11195 (1-(2-氯苯基)-N-甲基N-(1-甲基-丙基)-3-异喹啉甲酰胺),并测量本发明的化合物取代标准配体结合TSP0的能力。通过测量在放射性标准与TSP0的反应中获得的放射性配体-受体配合物的放射性来确定总放射性结合。将放射性标准物和检查的化合物添加至TSP0并在一段培育时间之后,在 γ -计数器的帮助下测量得到的配体-受体配合物的放射性。该放射性指示放射性标准物对TSP0的结合。当检查的化合物更好地结合至TSP0,因而较少的放射性标准物结合至TSP0,因此测量的放射性较低。这可以表达为半最大抑制浓度(IC50),其是化合物在抑制生物或生物化学功能——在本案中抑制标准放射性配体结合至TSP0——中的有效性的测量值。IC50的导数为 K_i ,其是新的化合物对TSP0的计算的结合亲和性。

[0171] 各种人神经胶质型细胞系 (T98G,U87MG,A172,U118MG) 以及人神经元型细胞系SH-SY 5Y和Be (2) -C的细胞培养物被用于测试新化合物。另外,使用大鼠神经胶质瘤细胞系C6。使用源自大鼠的PC12细胞作为展示神经元特性的另一个细胞系。通过基因操作,申请人还生产了修饰的大鼠C6神经胶细胞株和修饰的人U118MG神经胶质型的细胞株,两者对TSP0表达不足 (under-express),其允许研究TSP0特异性作用,包括本发明化合物的,其可以根据先前描述的方法进行 (Weisinger等人,Biochemistry.2004;43:12315-21;Levin等人,2005;Zeno等人,2009)。

[0172] 根据标准方法培养和测试 (Kugler等人,2008;Zeno等人,2009;Dadon-Nachum等人,Stem Cell Rev.2011;7:664-71),使用神经胶质和神经元型细胞系,在细胞培养中测试本发明的化合物和包含TSP0的保护能力。此外,还使用原细胞培养 (Banker,G.等人,Culturing Nerve Cells,2nd Edition,The MIT Press (1998)。处理包括:(1)暴露至谷氨酸 (35mM)、 $\text{A}\beta$ (1-42)、 NH_4Cl 、 CoCl_2 和一氧化氮 (NO) 供体,从而模拟神经变性的具体方面;(2)以新的化合物处理和以传统TSP0配体处理作为比较处理;和(3)通过基因操作敲落TSP0。

[0173] 测定的技术和参数概括如下:总蛋白水平 (Bradford,AnalBiochem.1976;72:248-54);TSP0配体结合测定 (Kugler等人,2008;Levin等人,2005;Danovich等人,Eur Neuropsychopharmacol.2008;18:24-33) 细胞死亡,包括凋亡现象和坏死以及相关的分子生物过程 (Soustiel等人,Neuropathol Appl Neurobiol.2008;34:412-23;Soustiel等人,Exp Neurol.2008;214:201-8;Zeno等人,2009);线粒体的跨膜电位塌陷 (Chelli等人,Biochem Pharmacol.2004;68:125-34;Kugler等人,2008;Zeno等人,2009;Shargorodsky等人,Apoptosis.2012;17:647-65),活性氧种类 (ROS) 生成作为氧化应激的测量值 (Veenman等人,2008;Zeno等人,2009);TSP0敲落 (Levin等人,2005;Zeno等人,2009);线粒体的TSP0和相关蛋白的表达水平 (Veenman等人,2002;Levin等人,2005;Veenman等人,2008);利用

RT-PCR的基因表达和微测定分析 (Bode等人, 2012; Veenman等人, 2012)。发炎、免疫应答、迁移和细胞周期的参数也被测试。所有这些方法还可以被应用于化合物的质量控制。

[0174] 数据表达为平均 \pm SD或SEM, 视情况而定。方差的单向或多次分析, 包括后分析测试, 视情况而定, 被用于分析数据。用于方差的同一性的巴特利特检验被用于确定合适的模型, 即, 参数或非参数的。统计显著性被限定在 $p < 0.05$ 。

[0175] 动物研究 对于本文中描述的测定, 大鼠中红藻氨酸的全身注射被应用和也挫伤 (contusion) (Veenman等人, 2002; Soustiel等人, Neuropathol Appl Neurobiol. 2008; Soustiel等人, Exp Neurol. 2008)。这些模型呈现非常好限定的脑中细胞死亡。脑中细胞死亡是对脑疾病常见的进行性神经变性的主要病理学特性。当本发明的化合物被设计来预防由于伤害后的疾病和进行性脑损伤的脑中细胞死亡, 包括行为功能残损, 展示脑中细胞死亡的动物模型为用于展示本发明的化合物的保护能力的选择模型。出于这些理由, 选择杭廷顿舞蹈病的R6-2模型来测试化合物1的有效性和比较化合物1的有效性与US 8,541,428的化合物 (Cpd A) 和经典TSP0配体PK 11195, 以及本文公开的其他化合物的有效性。还在相同的R6-2模型中测试了化合物5和6。

[0176] 实施例2-在体外结合TSP0

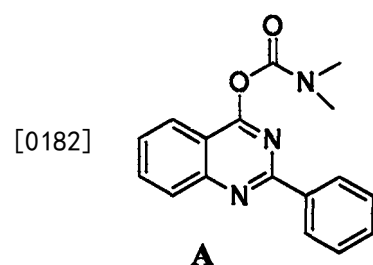
[0177] 如上面所描述, 使用 $[^3\text{H}]$ PK 11195放射测定评估对TSP0的结合。

[0178] 在表1中提供了本发明化合物对TSP0的结合和保护作用的结果。在细胞培养中测试化合物1-8, 还在动物模型中测试了优秀的化合物 (即化合物1)。这些化合物的结构在上文中提供。表1还包括US8,541,428包含的化合物 (化合物A)。

[0179] 表1

化合物	Ki (nM)	保护 *
1	≈ 60	优异
2	≈ 380	好
3	≈ 1506	好
4	≈ 45	好
5	≈ 600	优异
6	≈ 60	优异
7	≈ 2.5	好
8	≈ 2.5	好
A	≈ 600	好

[0181] *阻止谷氨酸-诱导的细胞死亡



[0183] 本发明的化合物1与化合物A——其在US 8,541,428中举例说明——的比较指示了N-酰胺部分上的烷基基团的性质对化合物对TSP0的亲性和具有强的作用, 并且最重要地

是,不对称酰胺导致保护作用与对TSP0的相对高的亲和性的联合。因此,不希望受任何具体机制或理论的限制,据信,对于对TSP0的亲合性和保护细胞免于细胞死亡的联合,不对称是有益的。该发现完全是意外的并且代表本发明的单独的实施方式。

[0184] 此外,已经发现,附接至连接至唑啉啉支架的可旋转的苯环的卤素似乎提高了细胞保护作用,同时保留TSP0结合亲和性(图2-4和7-9)。因此,预期的是附接卤素取代基至式(I)的化合物允许进一步提高,最明显地是关于它们阻止细胞死亡的能力。图7至9显示了苯环处的卤化不一定影响TSP0亲和性,但是的确具有关于保护的正作用。因此,不希望受任何具体机制或理论的限制,据信,对于本发明的化合物保护细胞免于细胞死亡的能力,卤化可能是有益的。该额外的发现完全是意外的并且代表本发明的单独的实施方式。

[0185] 而且,具有不对称酰胺和卤化的可旋转的苯基的組合的化合物可以具有增强的性质,联合了不对称酰胺和卤素组分两者赋予的优势。

[0186] 实施例3:本发明的化合物的保护性质

[0187] 本发明的化合物阻止由星形胶质细胞起源的U118MG细胞(图1、2、3和8)或神经元起源的SH SY 6Y细胞(图4)的细胞培养中由谷氨酸诱导的细胞死亡。图1显示了化合物1,其对TSP0具有好的亲和性(表1),预防由谷氨酸诱导的细胞死亡和细胞死亡过程。如图1A中所示,本发明的化合物1阻止细胞培养中35mM的谷氨酸诱导的神经胶质的细胞死亡(结果描绘为AVG \pm SD)。在对照组中,35mM的谷氨酸杀死 \sim 60%的细胞。在10-100 μ M的浓度下化合物1显著地阻止神经胶质细胞培养中由谷氨酸诱导的细胞死亡。相比之下,在阻止细胞死亡方面,现有技术化合物A(美国专利号8,541,428)意外地显著不太有效(图8A)。对于每一组,*p<0.05对谷氨酸暴露(glu),***p<0.001对glu.###p<0.001对载体对照(对照)。

[0188] 此外,如图1B中所示,化合物1预防线粒体膜电位($\Delta \Psi_m$)的塌陷,其通常由谷氨酸诱导并一般在TSP0的控制下(结果描绘为AVG \pm SD)。在该模型中,化合物1在25 μ M的浓度下是非常有效的(为了利用经典TSP0配体PK 11195实现相同的作用,50 μ M的浓度已经被应用(数据未显示)。

[0189] 接下来,荧光染料10-N-壬基-吖啶橙(NAO)被应用来测量线粒体水平处活性氧种类(ROS)生成。该ROS生成通常由谷氨酸诱导并一般在TSP0的控制下。图1C显示了化合物1在线粒体水平下由谷氨酸另外诱导的ROS生成(结果描绘为AVG \pm SD)。图2显示了化合物2,其对TSP0具有中度亲和性(表1),具有在体外对U118MG细胞中谷氨酸诱导的细胞死亡强的保护性质。结果描绘为AVG \pm SEM。***:单向ANOVA给出p<0.0001;布昂费罗尼多重比较检验给出p<0.001,针对谷氨酸对谷氨酸+化合物2(5-50 μ M)。在图2中,白色柱代表暴露至没有(0)或具有Cpd 2(1、5、10、25、50 μ M)的谷氨酸。黑色柱代表仅以Cpd 2治疗。

[0190] 图3显示了化合物3,其对TSP0具有亲和性(表1),具有在体外对U118MG细胞中谷氨酸诱导的细胞死亡好的保护性质。结果描绘为AVG \pm SEM。***:单向ANOVA给出p<0.0001;布昂费罗尼多重比较检验给出p<0.001针对谷氨酸对谷氨酸+化合物3(5-50 μ M)。在图3中,白色柱代表暴露至没有(0)或具有Cpd 3(1、5、10、25、50 μ M)的谷氨酸。黑色柱代表仅以Cpd 3治疗。

[0191] 图4显示了化合物4,其对TSP0具有好的亲和性(表1),具有保护来自SH SY6Y细胞系的神经元细胞免受体外谷氨酸的致死作用。结果描绘为AVG \pm SEM。n=6,**=p<0.01利用曼-惠特尼作为后分析(posthoc)的单向ANOVA。对照:无谷氨酸。对照:无谷氨酸暴露和无

Cpd 4治疗。Cpd 4:仅Cpd 4治疗。Glu:仅谷氨酸暴露。Cpd 4+glu:谷氨酸暴露与谷氨酸治疗一起。

[0192] 基于这些结果(图1-4),研究对化合物1的系统改性和应用至化合物1以确定对有益作用优选的组分(图7-9)。

[0193] 图7.化合物A不同于化合物1,在于其具有两个甲基侧链(即,对称的酰胺)而不是化合物1中的一个甲基和一个乙基(即,不对称酰胺)。

[0194] 化合物5不同于化合物1,在于其具有两个甲基侧链而不是一个甲基和一个乙基,和取代至第三(可旋转的)苯基的2位的C1。

[0195] 化合物6不同于化合物1,在于其具有取代至第三(可旋转的)苯基的2位的C1。

[0196] 化合物7不同于化合物1,在于其具有两个乙基侧链而不是一个甲基和一个乙基。

[0197] 化合物8不同于化合物1,在于其具有两个乙基侧链而不是一个甲基和一个乙基,和取代至第三(可旋转的)苯基的2位的C1。

[0198] 发现,化合物A和5(R^1 和 R^2 为甲基)两者具有 $\pm 600\text{nM}$ 的 K_i 。

[0199] 进一步发现,化合物1和6(R^1 为甲基和 R^2 为乙基)两者具有 $\pm 60\text{nM}$ 的 K_i 。

[0200] 进一步发现,化合物7和8(R^1 和 R^2 两者为乙基)具有 $\pm 2.5\text{nM}$ 的 K_i 。

[0201] 图8A-F显示了参比化合物A(图8A)和本发明的化合物5、1、6、7和8(分别图8B-F)的活性。

[0202] 使用图8B作为实例解释实验设置:

[0203] 1.对照:细胞死亡水平选为0%

[0204] 2.Glu:由谷氨酸诱导的细胞死亡水平超过50%

[0205] 3.Cpd 5:Cpd 5自身不诱导超过5%的细胞死亡水平。

[0206] 4.Glu+Cpd 5:当给予Cpd 5作为治疗来抵抗由谷氨酸诱导的细胞死亡时,增加Cpd 5的浓度将细胞死亡水平从超过50%降低至小于5%。

[0207] 呈现为(AVG \pm SD)的结果显示了向可旋转的苯基添加卤素提高了保护(比较图8A与8B;图8C与8D;和图8E与8F)。向可旋转的苯基添加卤素还降低在另外未处理的细胞中高浓度下化合物的致死率(比较图8A与8B;图8C与8D)。此外,向烷基侧链引入不对称增强阻止细胞死亡(比较例如图8A与8C;和8B与8D)。由烷基改性提供的“中度”亲和性($K_i \sim 60\text{nM}$)提供了最佳保护。 $\#p < 0.05$ 对载体对照(对照), $###p < 0.001$ 对载体对照(对照), $*p < 0.05$ 对谷氨酸暴露(glu), $***p < 0.001$ 对谷氨酸暴露的细胞(glu)。

[0208] 化合物1、5和6表现出优于化合物A(美国专利号8,541,428)、7和8,在于它们在10、25、50和100 μM 的浓度下更好地且更一致地阻止谷氨酸诱导的细胞死亡。另外,化合物6表现出优于化合物1,在于通常它在10、25、50和100 μM 的浓度下更好地阻止谷氨酸诱导的细胞死亡。化合物5表现出优于当前实验中的其余化合物。

[0209] 总体地,化合物的期望的作用是:i)化合物自身的较少的致死作用,和ii)由谷氨酸另外诱导的细胞死亡水平的一致减低。

[0210] 基于前述,并且不希望受具体理论或行动机制的约束,似乎是延长烷基链 R^1 、 R^2 提高TSP0结合。

[0211] 图9.进一步研究了100 μM 的化合物A、1、5、6、7和8的可能的不利作用的细节。如果存在,本发明的化合物的轻微致死作用可以通过第三可旋转的苯基的卤化作用被进一步降

低(使用C1作为非限制实例)。

[0212] 实施例4:药物动力学性质

[0213] 1) 化合物1被从i.p.给药的部位吸收,3.5hrs的小鼠中良好的半寿期。

[0214] 2) 它被快速地分配至脑(浓度时间曲线彼此跟随)。

[0215] 3) 至脑的摄取率为0.2。

[0216] 4) 在鼠和大鼠中,皮下或腹腔内注射,使用的载体是DMSO/芝麻油(1:9)或DMSO单独,显示没有不利作用。对于长期皮下注射,芝麻油可以诱导所讨论的小鼠的耳朵附近毛发损失。因此,选择的载体为纯DMSO,这是由于当以在鼠中10-20 μ l和在大鼠中大约200 μ l的小量注射、在若干周至若干月的期间每日注射时,它不具有这样或其他的不利作用。

[0217] 实施例5-在杭廷顿舞蹈病的R6-2小鼠、转基因鼠模型中化合物1的优秀的生存期延长作用

[0218] R6-2是杭廷顿舞蹈病的转基因鼠模型。人类中的杭廷顿舞蹈病是遗传性神经变性疾病,影响运动表现并最终导致患有疾病的患者死亡。R6-2小鼠(\sim 120CAG重复B6CBA-Tg(HDexon1)62Gpb/3J)小鼠被用于下面描述的实验。出于该目的,繁殖从Jackson Laboratory (ME)获得的小鼠。具体地:根据Jackson Laboratory的方案,繁殖雄性基因型:Tg(HDexon1)62Gpb的半合子的,和来自野生型背景株B6CBAF1/J的雌性。雄性杂合子后代(R6-2小鼠)被用来确定生存期和运动活动性,利用或不利用药物治疗。药物治疗包括:每天(一周连续5天)皮下注射小鼠20 μ l的:盐水(假对照)、载体DMSO(载体对照)、经典TSP0配体PK 11195 (15mg/kg)、现有技术化合物A (15mg/kg)、化合物1 (15mg/kg)和化合物1 (7.5mg/kg)。药物治疗在出生后第五周开始。根据先前关于TSP0配体的研究使用量。

[0219] 除了行为实验,每天观察小鼠,并记录死亡的日期。行为实验包括空旷场地装置中涵盖的距离,以及震颤测量。

[0220] 空旷场地

[0221] 空旷场地由置于灯光昏暗的房间(50lx)中的黑色哑光的有机玻璃盒(50_L \times 50_W \times 40_Hcm)制成,其地板由白色有机玻璃制造以实现与黑色小鼠的视觉对比。小鼠被置于空旷场地的角落(面向壁),然后给予5分钟的自由探索。通过CCTV松下摄像机录像和利用Ethovision XT7.0软件(Noldus, The Netherlands)后记录分析行为,这根据:Lemoine等人的Pharmacology Biochemistry and Behavior.1990;36:85-88。

[0222] 震颤装置

[0223] 为了测定该发明的实验的R6-2小鼠中震颤的发病率,使用Kinder Scientific (Poway, CA)的Startle Monitor,其具有专门的软件来测定和呈现压力变化(牛顿)。

[0224] 图5A显示了化合物1增加了R6-2小鼠中平均生存期。与通过盐水假治疗和载体DMSO治疗的转基因的R6-2的小鼠呈现的对照相比,与假治疗和载体治疗的杭廷顿舞蹈病的转基因的R6-2模型的小鼠相比,化合物1增加了平均生存期。在该范例中,盐水和DMSO的作用是彼此不能区别的。关于化合物1的有益的作用,对于利用化合物1治疗的R6-2小鼠,死亡事件的开始较晚并且平均生存期较长,当与对照R6-2小鼠比较,其是非常并且显著良好的。y-轴呈现了每周存活动物的百分比。x-轴呈现了从出生的周数。对于所有实验组,50%的存活截止以延长的水平黑色箭头标记。对于每个实验组,达到该50%的存活截止位置的周以垂直箭头标记,以同样的符号显示相关联的生存期曲线(正方形、三角形和菱形,参见图5A,

图例)。关于从第9周每周平均存活:化合物1对盐水 $p < 0.01$;化合物1对DMSO $p < 0.05$;DMSO对盐水n.s。(n=8至9)。

[0225] 图5B显示了与化合物1相比,现有技术化合物A在延长R6-2小鼠的生存期上意外地是显著地较少有效的。事实上,以化合物A治疗的R6-2小鼠与载体治疗的小鼠以及盐水治疗的小鼠是不能区别的。类似地,也关于它们的生存期,以经典TSP0配体PK 11195治疗的R6-2小鼠与载体以及盐水治疗的小鼠是不能区别的(数据未显示)。

[0226] 实施例6-在杭廷顿舞蹈病的R6-2小鼠、转基因鼠模型中化合物1的优秀的运动提高作用

[0227] 图6. 化合物1增加了R6-2小鼠的运动。如与未治疗和载体治疗的杭廷顿舞蹈病的转基因的R6-2模型的小鼠相比在空旷场地中所测量,与它们的载体对照相比,化合物1显著地增加了R6-2小鼠的活动能力。与假(盐水)对照相比,化合物1也增强了活动能力。特别是,从第9周,当出现第一小鼠死亡,直到第16周,当全部小鼠都死亡,测量每阶段、每实验组、每周,在空旷场地内覆盖的平均距离(cm)。没有观察到由于化合物1施加的不利的作用。化合物1对DMSO $p < 0.01$;化合物1对盐水趋势(未显示)。相比之下,现有技术化合物A和PK 11195没有显示任何运动提高作用(数据未显示)。

[0228] 实施例7:Cpd 1能够将细胞培养中PC-12细胞转化为神经元状细胞,其展示限定这样的神经元分化的延伸的轴索(图10)。简要地,PC-12细胞被暴露至Cpd 1,联合谷氨酸,基本上如实施例1的细胞培养所描述,并在那条件下保持5天。这导致具有像突出的轴突的神经元状细胞(图10)。

[0229] 实施例8:在杭廷顿舞蹈病的R6-2小鼠、转基因鼠模型中化合物5和6的优秀的生存期延长作用

[0230] 如先前在实施例5中所描述,使用R6-2小鼠。在一个实验中,治疗包括:每天(每周连续5天)皮下注射小鼠 $20\mu\text{l}$ 的载体DMSO(对照,n=10)和化合物6(7.5mg/kg,n=12)。在单独的实验中,与DMSO对照(n=5)相比,测试化合物5(7.5mg/kg,n=5)。

[0231] 图12和13显示了与载体(DMSO)治疗的小鼠相比,化合物6和5(分别地)增加了转基因的R6-2小鼠的平均生存期。

[0232] 如图12中所示,50%的载体(DMSO)治疗的小鼠在它们的第10周之前死亡,而50%的以化合物6治疗的R6-2转基因的小鼠依然活着直到第12周。y-轴呈现了每周存活动物的百分比。x-轴呈现了从出生的周数。50%的存活截止以水平箭头标记。对于每个实验组,达到该50%的存活截止位置的周以垂直箭头标记。应用ANOVA和关于存活动物的数目的Wilcoxon配对符号秩次检验指示以化合物6治疗的R6-2小鼠和DMSO(载体)注射的R6-2小鼠之间显著的差异: $p < 0.01$ 。应用曼-惠特尼至每周的治疗显示了在以化合物6治疗的R6-2小鼠的50%存活的周(12周龄)和随后的周,对于这两个周的每个,治疗的R6-2小鼠和载体注射的R6-2小鼠之间的差异是显著的, $p < 0.05$ 。为了确定载体注射的R6-2小鼠的死亡速率是否比以化合物6治疗的R6-2小鼠的死亡速率更陡,应用线性回归模型。纵观两个组的整个生存周期,以及从诊断的周开始的限制期(在第一只动物已经死亡之后的第8周)直到全部载体治疗的R6-2小鼠死亡(第13周),在两个例子中,可见斜率之间显著的差异, $p < 0.01$ (分别地, $F = 12.5$ 和 20.8)。

[0233] 如图13中所示,在它们的第11周之前,>50%的载体(DMSO)治疗的小鼠死亡,在该

点,100%的以化合物5治疗的小鼠依然活着。此外,在第12周,全部载体(DMSO)-治疗的小鼠死亡,而50%的以化合物5治疗的小鼠依然活着,和20%的治疗的小鼠继续活着上至18周。y-轴呈现了每周存活动物的百分比。x-轴呈现了从出生的周数。50%的存活截止以水平箭头标记。对于每个实验组,达到该50%的存活截止位置的周以垂直箭头标记。

[0234] 实施例9:合成方案

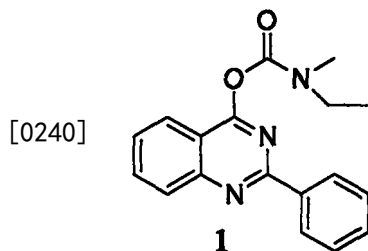
[0235] 包括空气和水分敏感化合物的全部反应使用燃烧瓶和干的无氧溶剂在氩气气氛下进行。在氩气下从CaH₂蒸馏1,2-二甲氧基乙烷。使用硅胶60(230-400目)执行快速色谱法(Flash chromatography)(FC)。使用预涂覆的平板(硅胶60,0.25mm)执行薄层色谱法。在室温下,利用Bruker-Avance-300仪器,分别在300MHz (¹H) 或75MHz (¹³C) 的操作频率下,记录NMR光谱。化学位移参照氘代溶剂的剩余质子或碳共振(氯仿对于¹H NMR, δ =7.24或对于质子去偶的¹³C NMR, δ =77.00和(J)单位是(Hz))。

[0236] 一般过程(方案1)

[0237] 本发明的化合物可以通过上文中一般方案1中和下面的方案2中描述的过程制备。简要地,在氩气下,向30ml的1,2-二甲氧基乙烷(DME)中氰化钾的悬浮液(6.75mmol)加入一份醇(4.5mmol)。在室温下,搅拌反应混合物30分钟并向反应混合物加入氨基甲酸酯(7mmol)。使反应混合物回流2-5hrs直到反应完成(TLC监测)。利用30ml的水小心地猝灭反应,随后利用二氯甲烷(或乙酸乙酯)萃取。在MgSO₄上干燥合并的有机相并在减压下蒸发溶剂。通过硅胶色谱法以己烷/EtOAc作为洗脱液(对于化合物1、2、3和4为2/1和对于化合物5、6、7和8为85/15)纯化得到的粗产物。在纯化之后,利用DCM/乙酸乙酯/正戊烷晶化纯的化合物,得到固体形式。

[0238] 下文中以化合物1举例说明过程。然而,本发明的其他化合物可以通过如方案1和2中一般地描述的类似的方法制备。

[0239] 2-苯基喹唑啉-4-基乙基(甲基)氨基甲酸酯(化合物1):

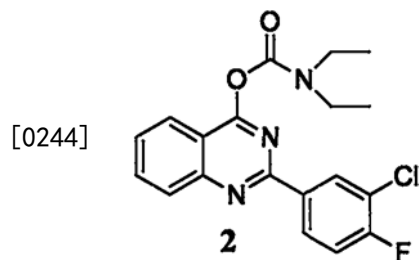


[0241] 以65%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 1.32(t, J=7Hz, 1.5H, 旋光异构体1), 1.33(t, J=7Hz, 1.5H, 旋光异构体2), 3.12(s, 1.5H, 旋光异构体1), 3.13(s, 1.5H, 旋光异构体2), 3.50-3.59(m, 2H), 7.45-7.50(m, 3H), 7.54-7.59(m, 1H), 7.85-7.90(m, 1H), 8.04-8.09(m, 2H), 8.51-8.55(m, 2H). ¹³C NMR(75MHz,CDCl₃) δ 12.23(旋光异构体1), 13.40(旋光异构体2), 34.40(旋光异构体1), 34.46(旋光异构体2), 44.55(旋光异构体1), 44.84(旋光异构体2), 115.81(旋光异构体1), 116.19(旋光异构体2), 123.25(旋光异构体1), 123.29(旋光异构体2), 127.11(旋光异构体1), 127.15(旋光异构体2), 128.28(旋光异构体1), 12.32(旋光异构体2), 128.36, 128.56(旋光异构体1), 128.59(旋光异构体2), 130.63, 134.21, 137.28, 153.12(旋光异构体1), 153.20(旋光异构体2), 160.26(旋光异构体1), 160.34(旋光异构体2), 164.05(旋光异构体1), 164.14(旋光异构体2), 179.10. HRMS(ESI): 计算的质量C₁₈H₁₈N₃O₂[M+H]⁺: 308.1399; 发现的质量: 308.1350。化合物

1可以从己烷/EtOAc (1:3) 重结晶。

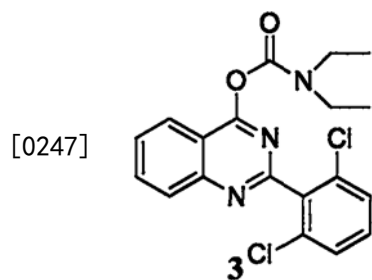
[0242] X-射线确定的化合物1的结构以图11中的球棒图示描绘。

[0243] 2-(3-氯-4-氟苯基)喹唑啉-4-基二乙基氨基甲酸酯(化合物2):



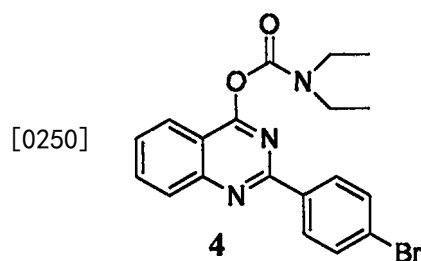
[0245] 以57%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.24-1.43 (m, 6H), 3.41-3.60 (m, 4H), 7.22 (t, J=8.8Hz, 1H), 7.59 (dd, J=8.2&7.0Hz, 1H), 7.89 (ddd, J=8.6, 6.9&1.5Hz, 1H), 8.05 (dd, J=9.9&8.4Hz, 2H), 8.43 (ddd, J=8.7, 4.9&2.1Hz, 1H) 和 8.61 (dd, J=7.4&2.2Hz, 1H)。HRMS (ESI): 计算的质量C₁₉H₁₇ClF₁N₃O₂ [M+H]⁺: 373.0993; 发现的质量: 374.1031。

[0246] 2-(2,6-二氯苯基)喹唑啉-4-基二乙基氨基甲酸酯(化合物3):



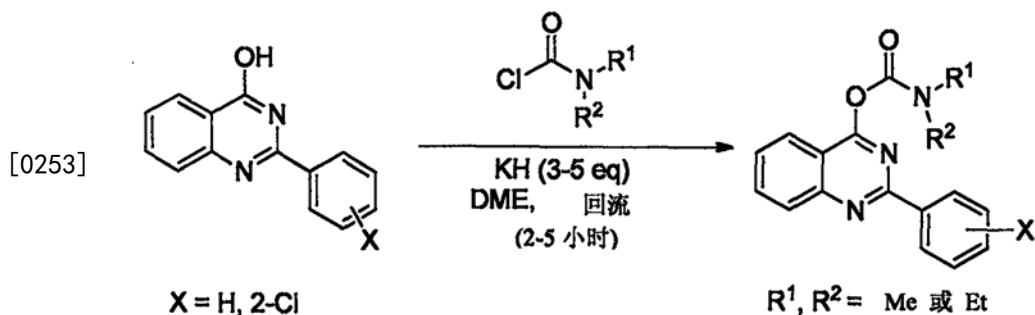
[0248] 以63%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.23 (t, J=7.2Hz, 3H), 1.30 (t, J=7.2Hz, 3H), 3.38-3.54 (m, 4H), 7.25-7.42 (m, 3H), 7.70 (dd, J=8.3&7.0Hz, 1H), 7.95 (ddd, J=8.6, 6.9&1.5Hz, 1H) 和 8.13 (dd, J=9.4&8.4Hz, 2H)。HRMS (ESI): 计算的质量C₁₉H₁₇Cl₂N₃O₂ [M+H]⁺: 390.0698; 发现的质量: 390.0769。

[0249] 2-(4-溴苯基)喹唑啉-4-基二乙基氨基甲酸酯(化合物4):



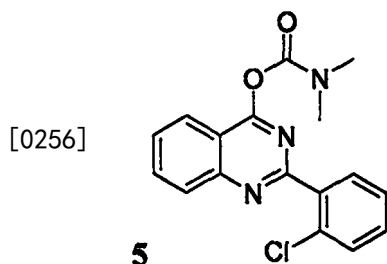
[0251] 以60%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.13-1.26 (m, 6H), 3.34-3.46 (m, 4H), 7.46-7.51 (m, 2H), 7.53 (d, J=6.5Hz, 2H), 7.75 (t, J=5.2Hz, 1H), 7.92 (t, 5.2Hz, 1H) 和 8.37 (d, J=6.5Hz, 2H)。 ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ (ppm): 12.7, 14.0, 42.2, 42.3, 115.7, 123.0, 125.1, 127.9, 129.8, 131.2, 134.0, 135.9, 152.7, 159.0 和 163.9。MS: 计算的质量 C₁₉H₁₈N₃O₂Br: [M+H]⁺ 399.06; 发现的质量: 399.9。

[0252] 合成化合物5-8的一般反应:



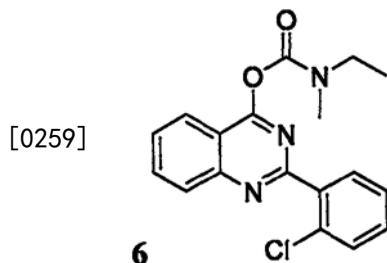
[0254] 方案2

[0255] 2-(2-氯苯基)喹唑啉-4-基二甲基氨基甲酸酯(化合物5)



[0257] 以47%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ3.10 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 7.31-7.42 (m, 2H), 7.44-7.51 (m, 2H), 7.65 (dd, J=8.6&7.2Hz, 1H), 7.80-7.87 (m, 1H), 7.92 (t, J=7.8Hz, 1H), 8.05-8.21 (m, 2H)。¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ37.34, 116.20, 123.61, 127.00, 130.60, 130.77, 132.26, 133.26, 134.78, 137.73, 152.11, 153.04, 161.17 和164.11。HRMS (ESI): 计算的质量C₁₇H₁₄ClN₃O₂ [M+H]⁺: 327.0775; 发现的质量: 327.0000。

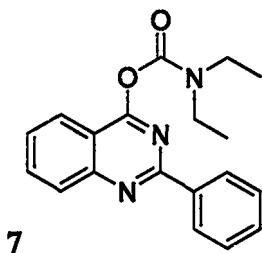
[0258] 2-(2-氯苯基)喹唑啉-4-基乙基(甲基)氨基甲酸酯(化合物6)



[0260] 以65%的产率,获得如题产物为白色固体。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ1.17-1.32 (m, 3H), 3.04和3.08 (2s, 3H), 3.38-3.58 (m, 2H), 7.33 (dd, J=7.0&3.2Hz, 2H), 7.40-7.50 (m, 1H), 7.61 (dd, J=8.6&7.4Hz, 1H), 7.78-7.84 (m, 1H), 7.88 (dd, J=9.4&7.2Hz, 2H) 和8.08 (dd, J=9.5&7.2Hz, 2H)。¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ12.43&13.65, 34.64&34.74, 44.82&45.12, 116.07&116.36, 123.52&123.57, 126.92, 128.13&128.19, 128.60, 130.52, 130.71, 132.23, 133.23, 134.68, 137.70&137.72, 151.71&151.92, 152.95&152.99, 161.09&161.15, 164.11&164.19。HRMS (ESI): 计算的质量C₁₈H₁₆ClN₃O₂ [M+H]⁺: 341.0931; 发现的质量: 341.0000。

[0261] 2-苯基喹唑啉-4-基二乙基氨基甲酸酯(化合物7)

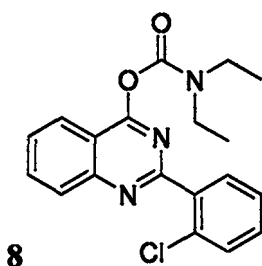
[0262]



[0263] 以60%的产率,获得如题产物为白色固体。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.19-1.42 (m, 6H), 3.32-3.68 (m, 4H), 7.36-7.63 (m, 4H), 7.85 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 1H), 8.05 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H) 和 8.51 (dd, $J=6.6\&3.0\text{Hz}$, 2H)。 ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 13.41&14.65, 42.90&43.00, 116.37, 123.61, 127.42, 128.61, 128.67, 128.91, 130.94, 134.49, 137.63, 151.82, 153.46, 160.63 和 164.57。HRMS (ESI): 计算的质量 $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 321.1477; 发现的质量: 321.0000。

[0264] 2-(2-氯苯基)喹唑啉-4-基二乙基氨基甲酸酯(化合物8):

[0265]



[0266] 以69%的产率,获得如题产物为白色固体。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.02-1.55 (m, 6H), 3.23-3.76 (m, 4H), 7.26-7.40 (m, 2H), 7.41-7.53 (m, 1H), 7.57-7.72 (m, 1H), 7.75-7.97 (m, 2H) 和 8.01-8.27 (m, 2H)。 ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 13.25&14.55, 42.85, 116.27, 123.50, 126.86, 128.10, 128.55, 130.47, 130.68, 132.23, 133.21, 137.66, 151.55, 152.92, 161.08 和 164.20。HRMS (ESI): 计算的质量 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 355.1088, 发现的质量: 355.0000。

[0267] 虽然已经阐明并描述了本发明的某些实施方式,但是清楚的是,本发明不限于本文中描述的实施方式。众多修改、变化、改变、取代和等效形式对本领域技术人员将是清楚的,而不背离如所附权利要求所描述的本发明的精神和范围。

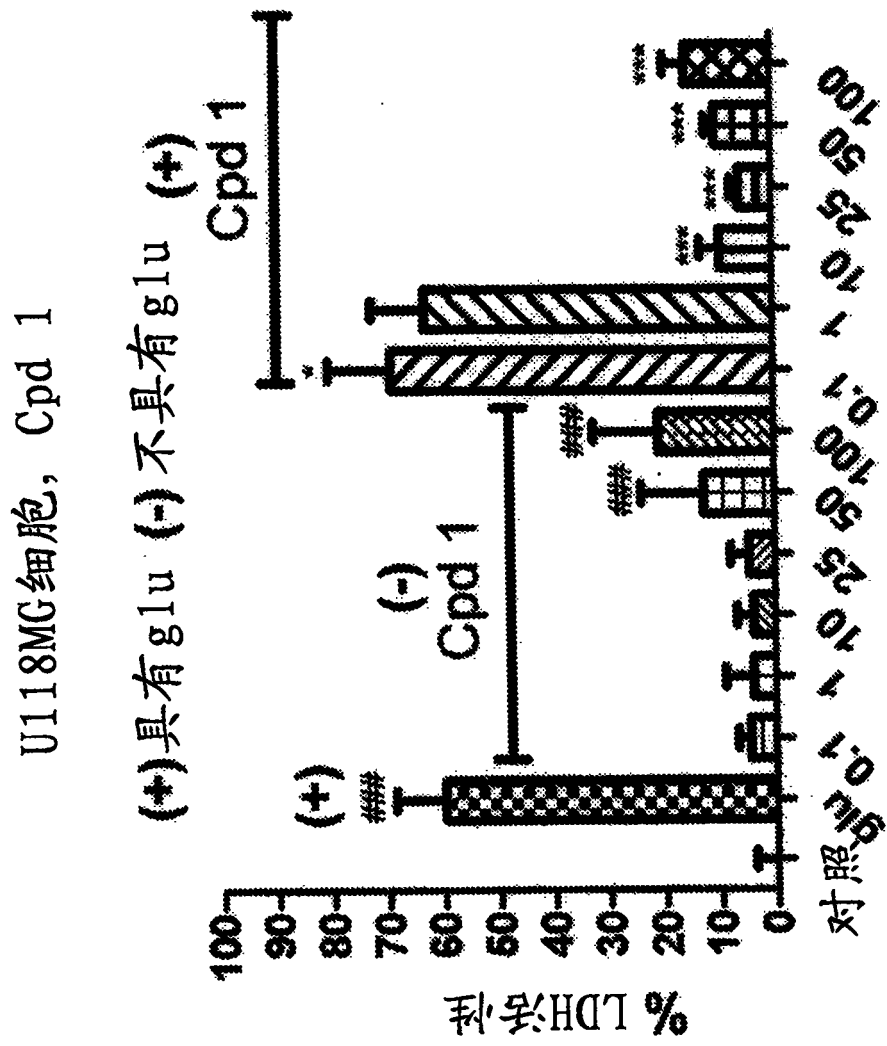


图1A

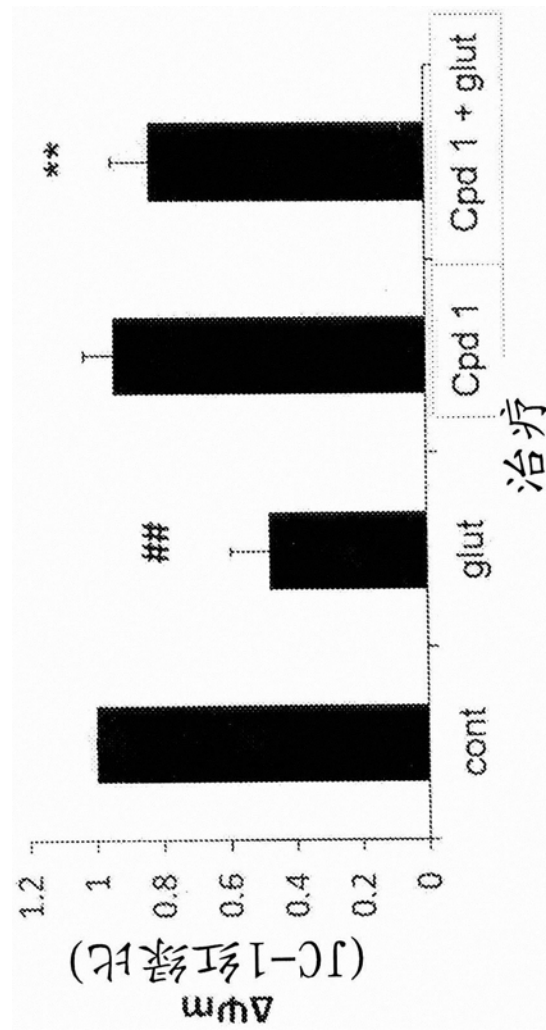


图1B

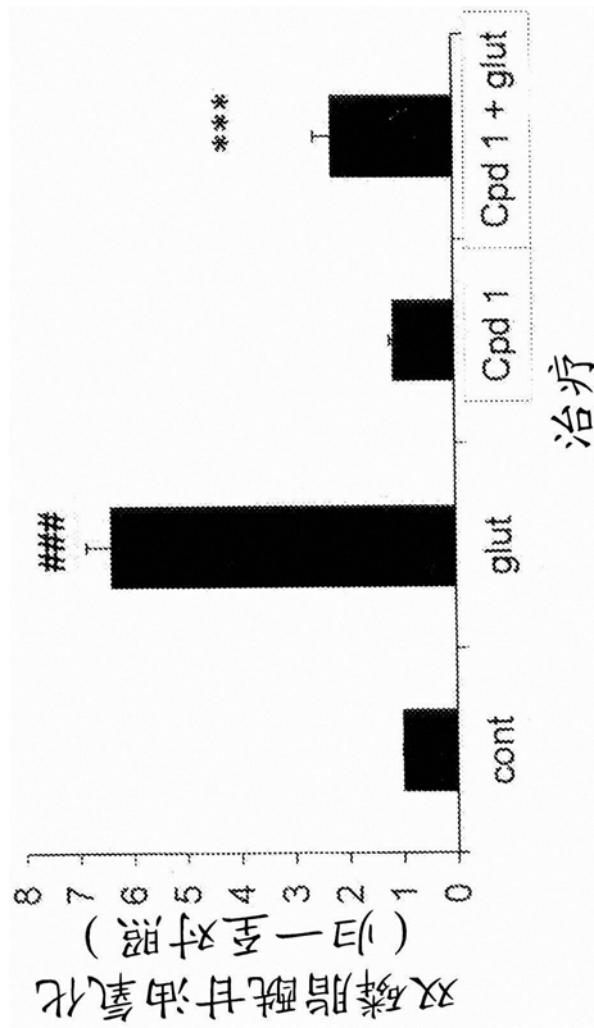


图1C

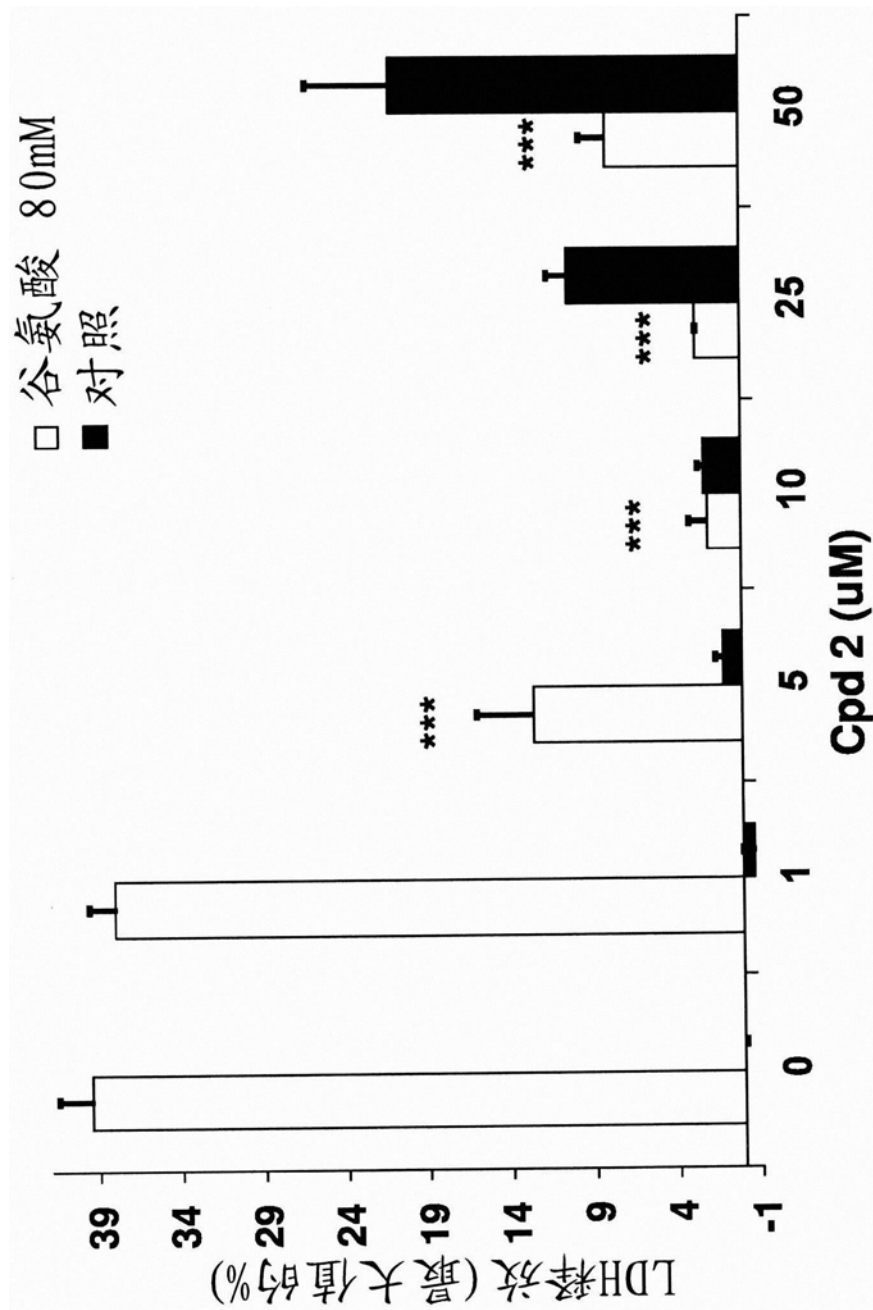


图2

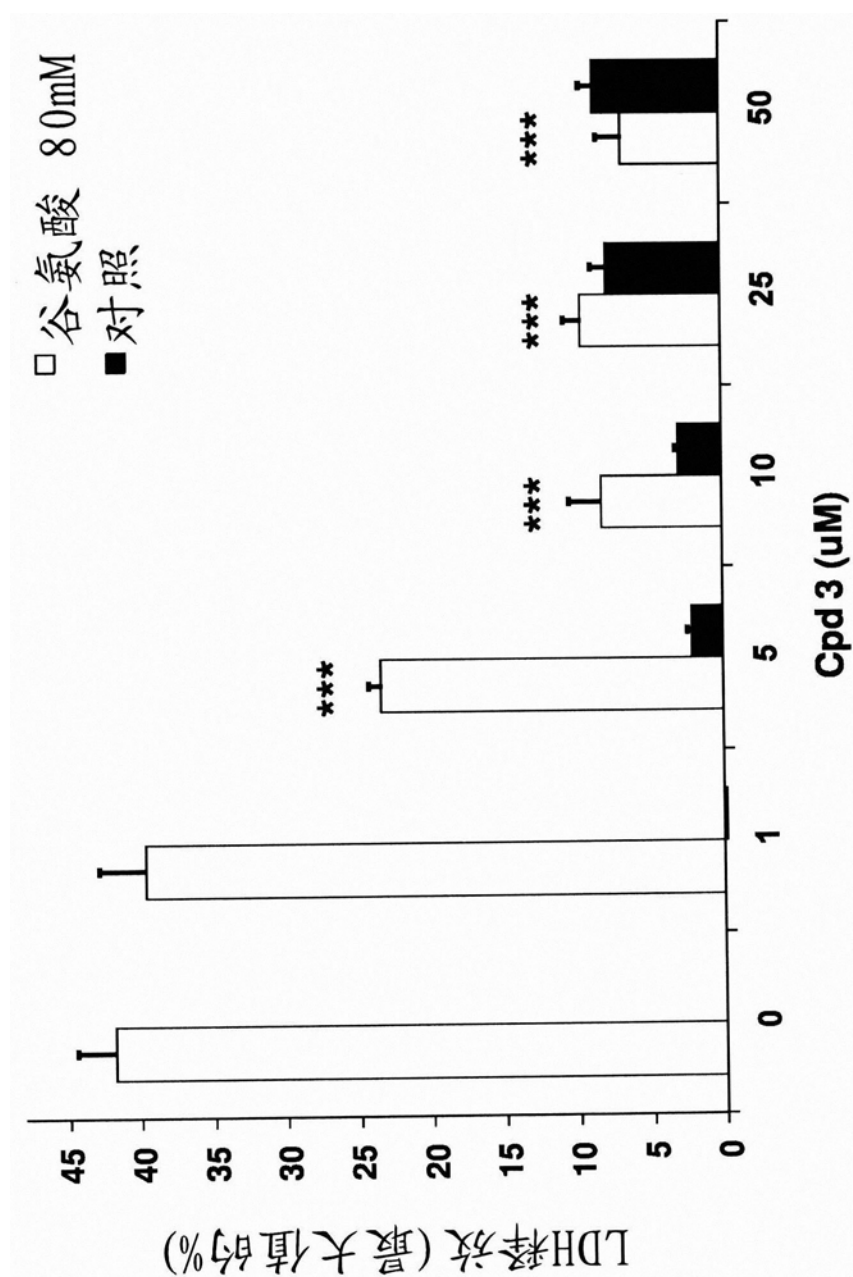


图3

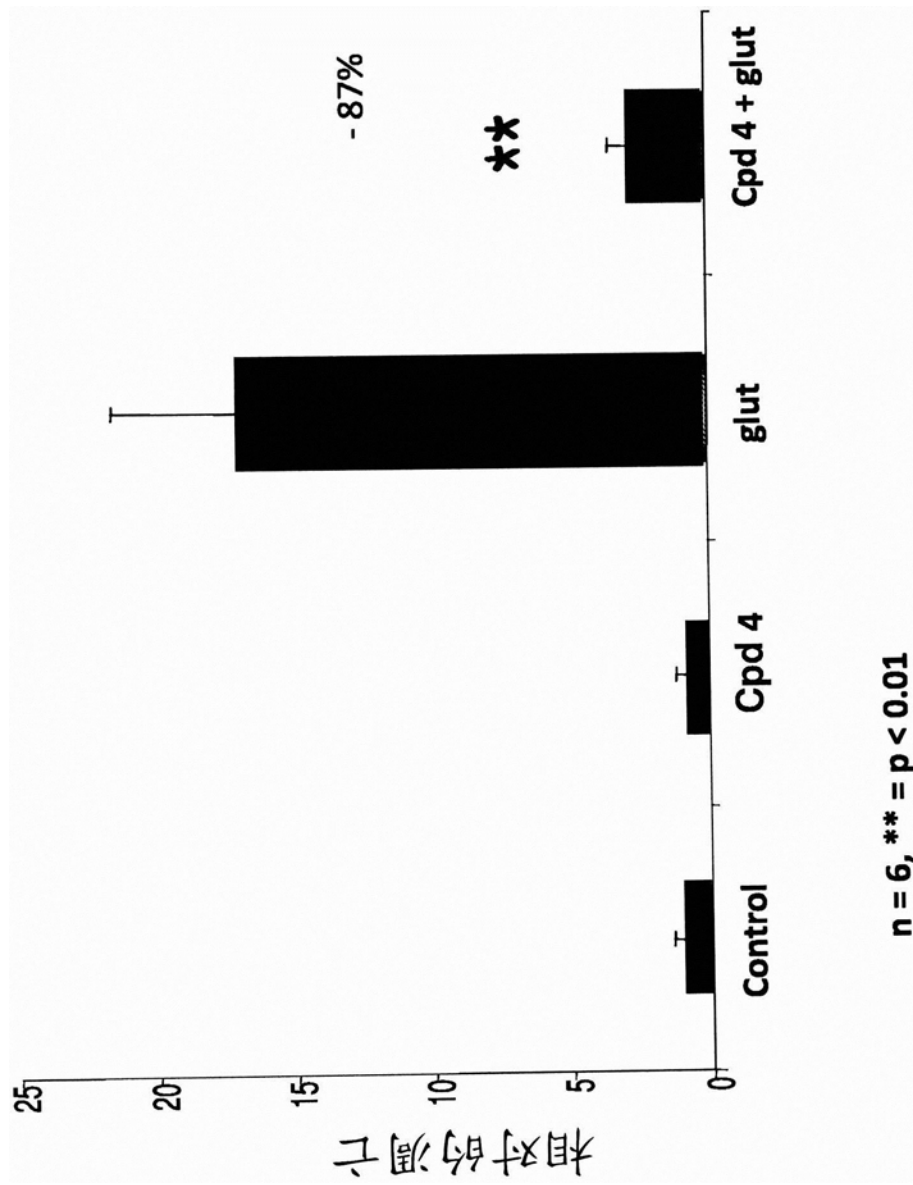


图4

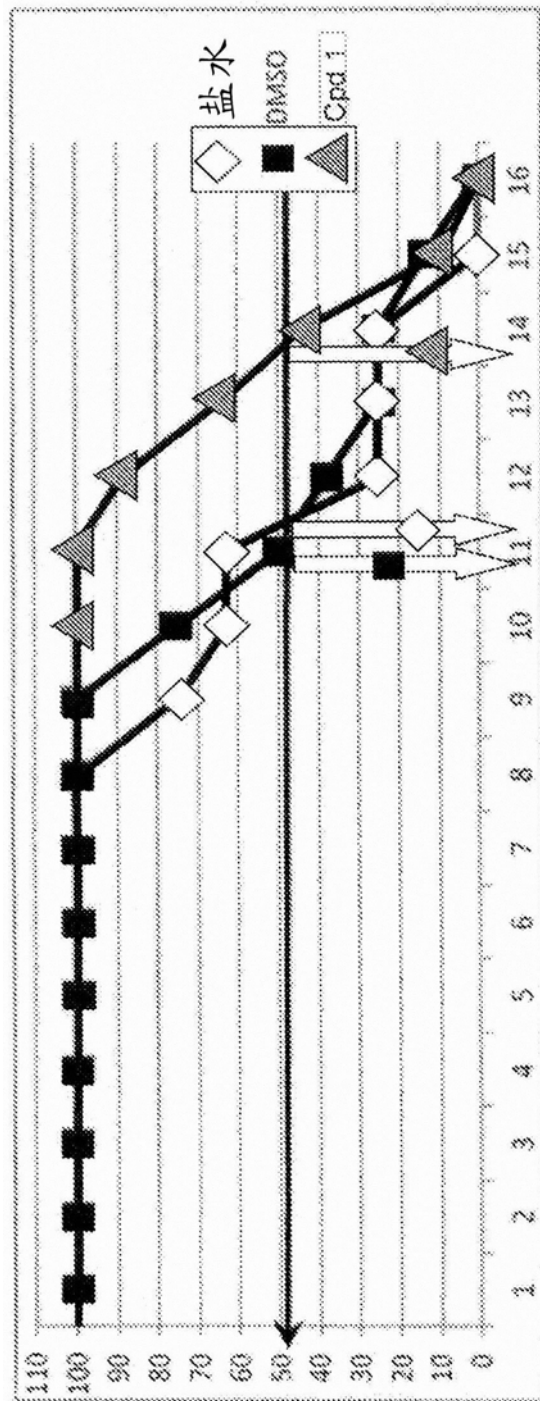


图5A

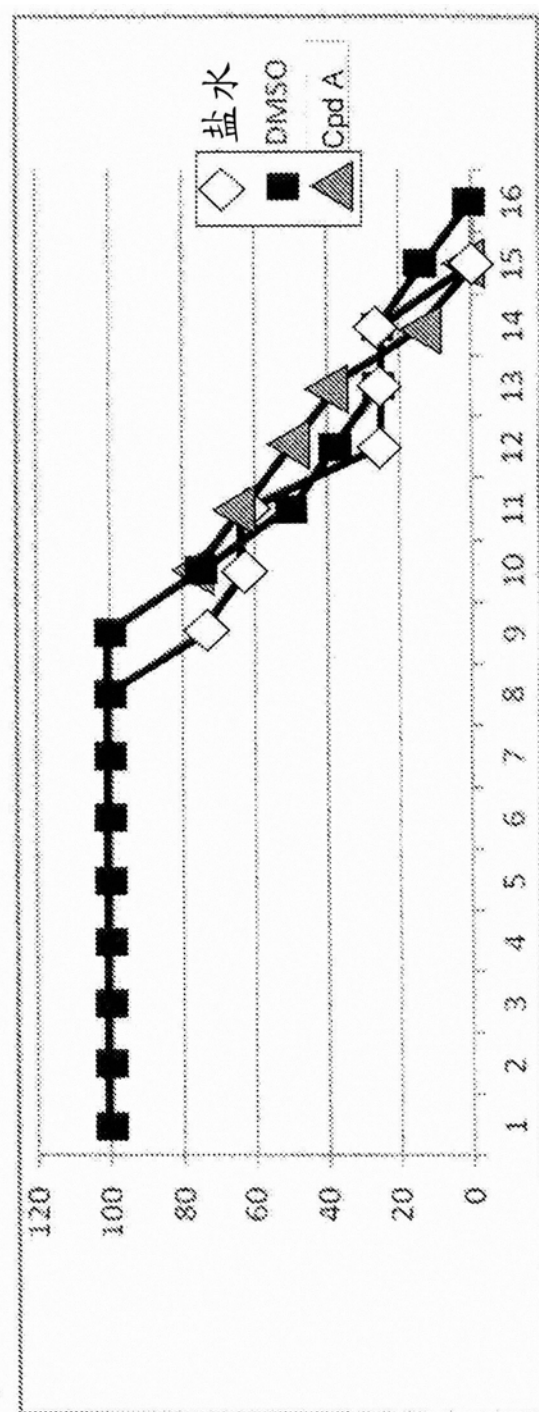


图5B

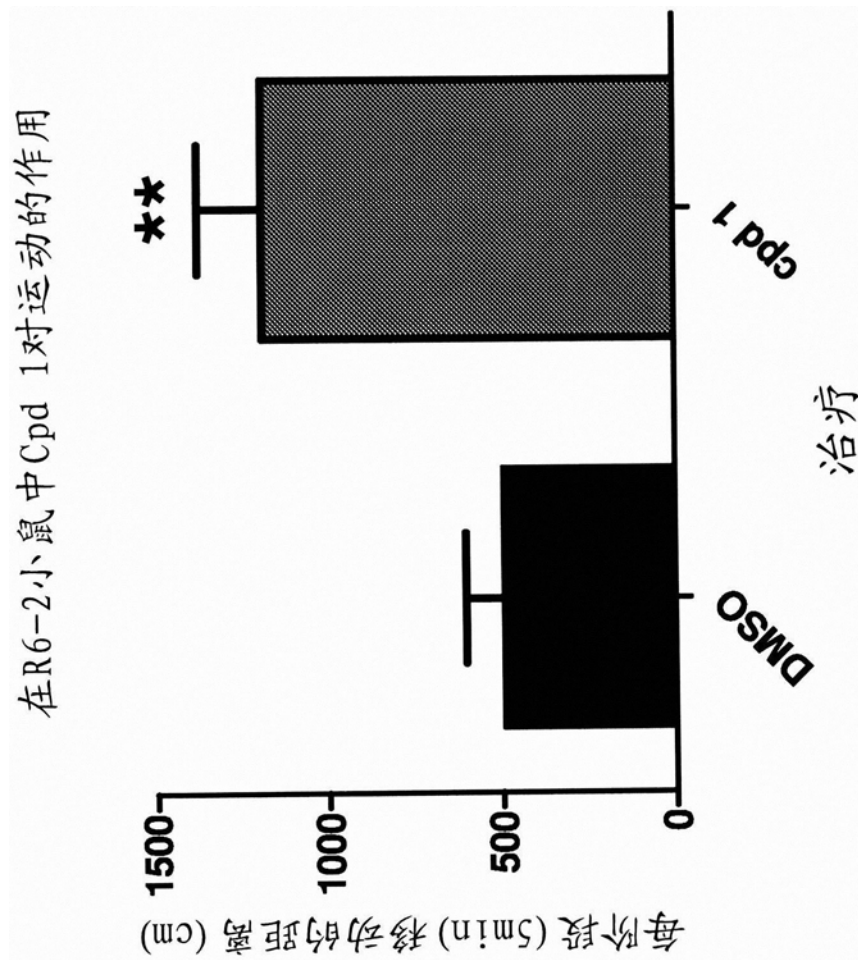


图6

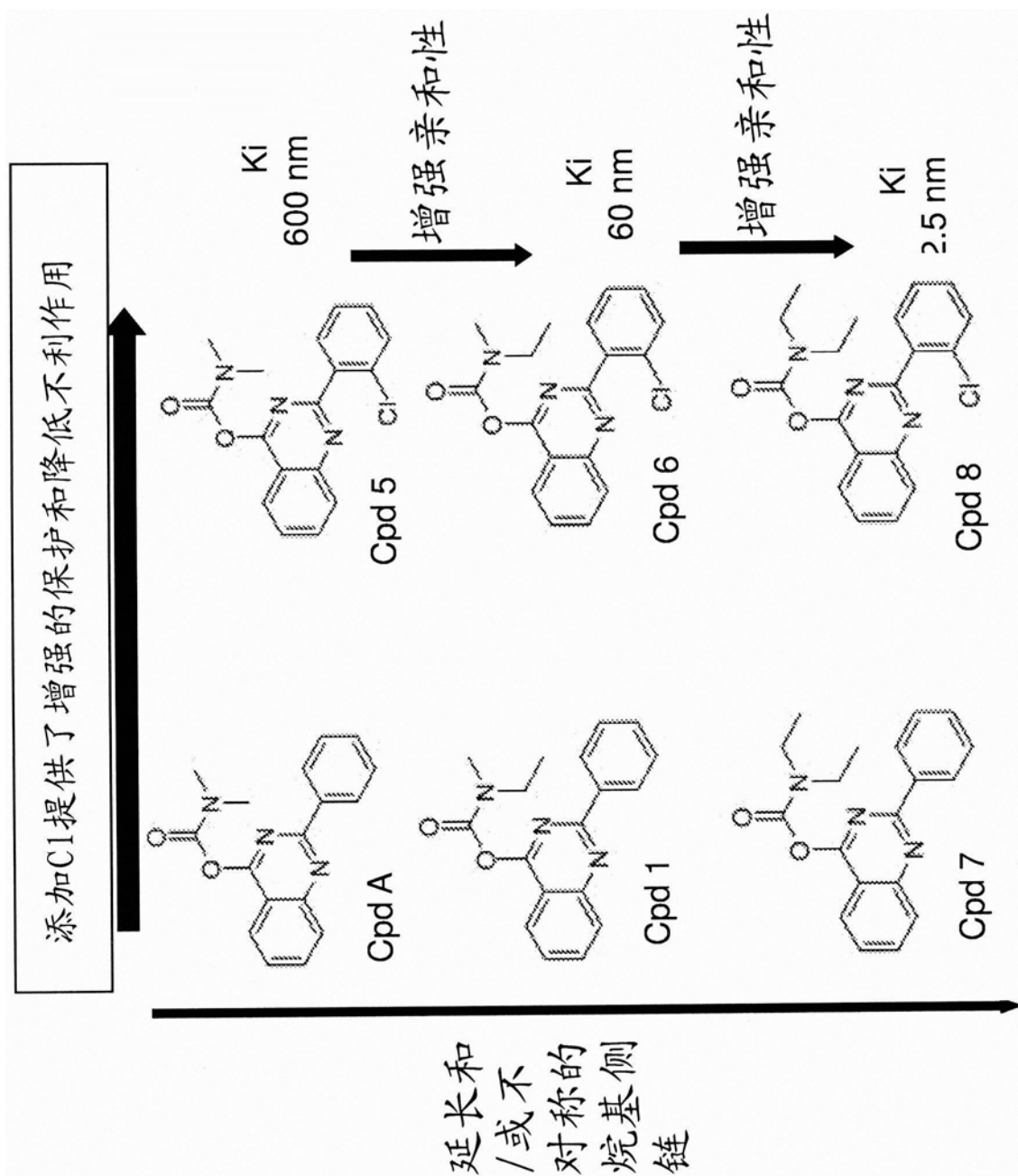


图7

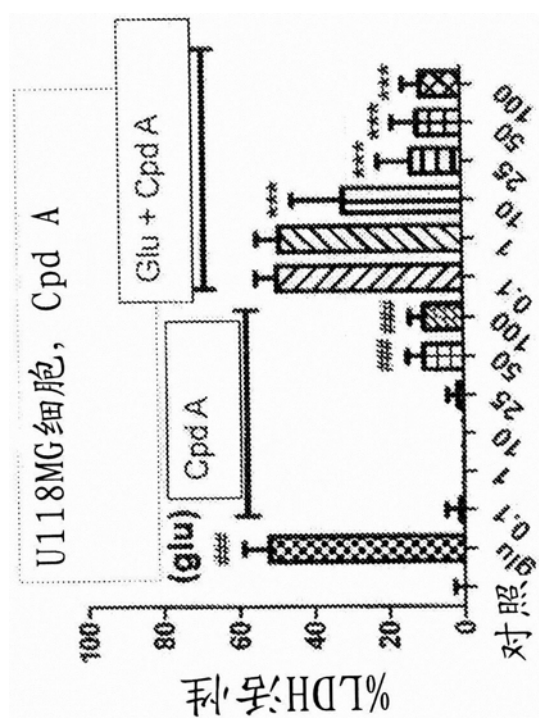


图8A

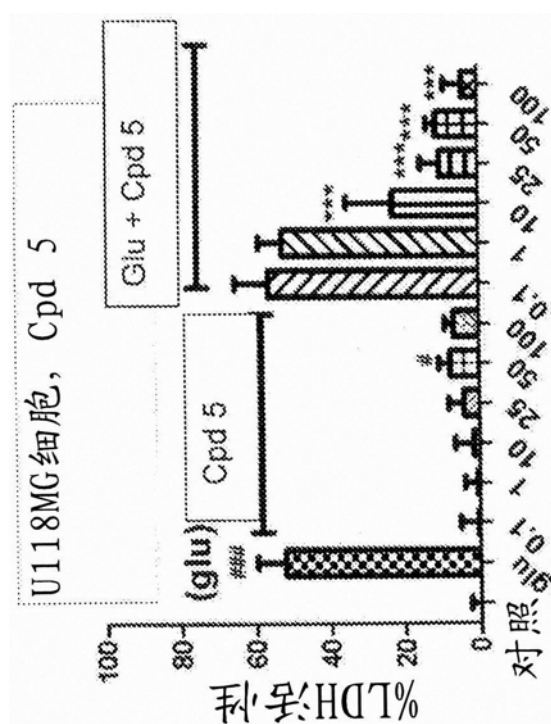


图8B

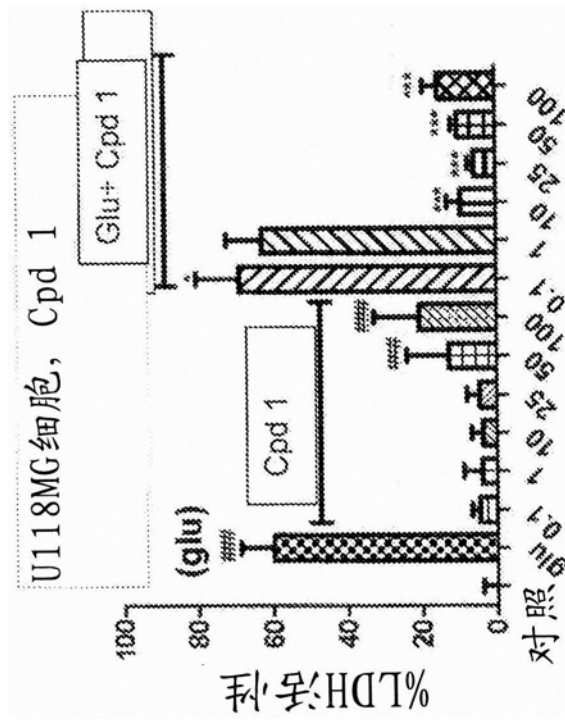


图8C

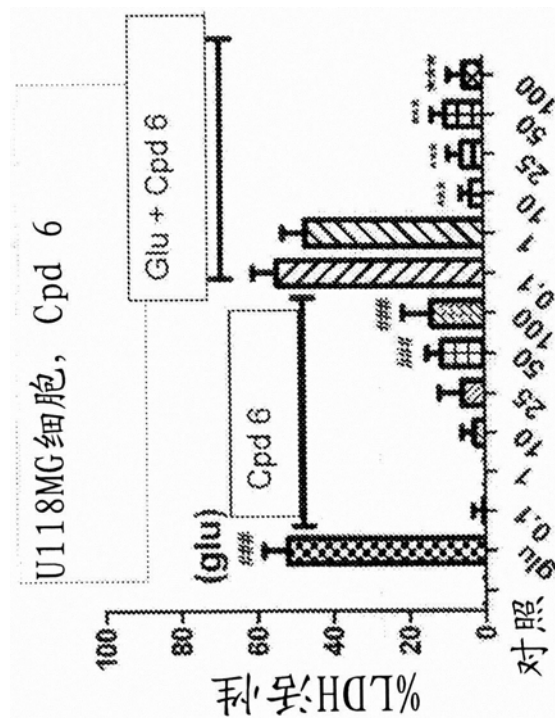


图8D

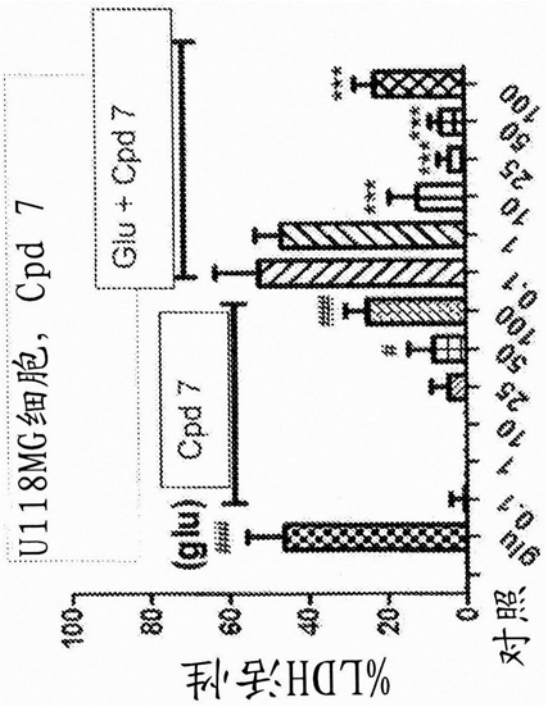


图8E

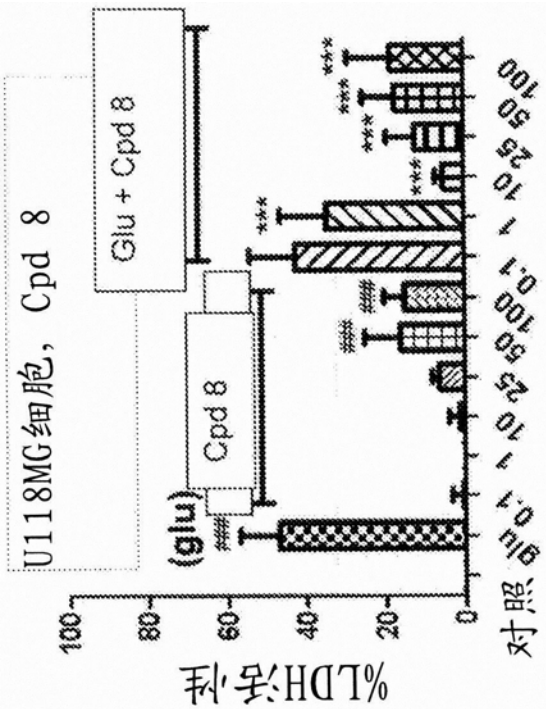


图8F

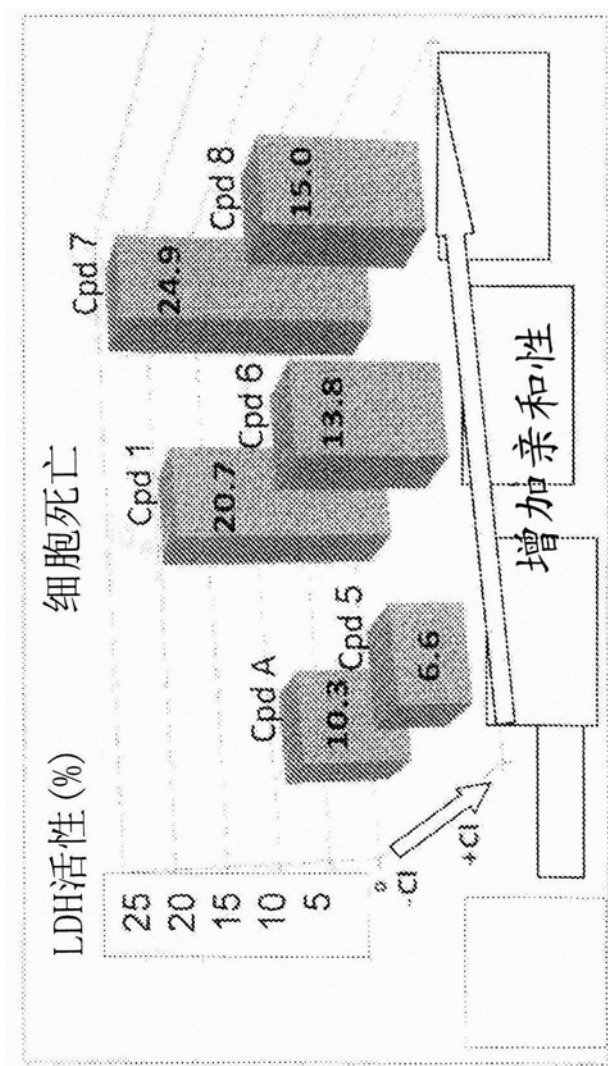


图9A

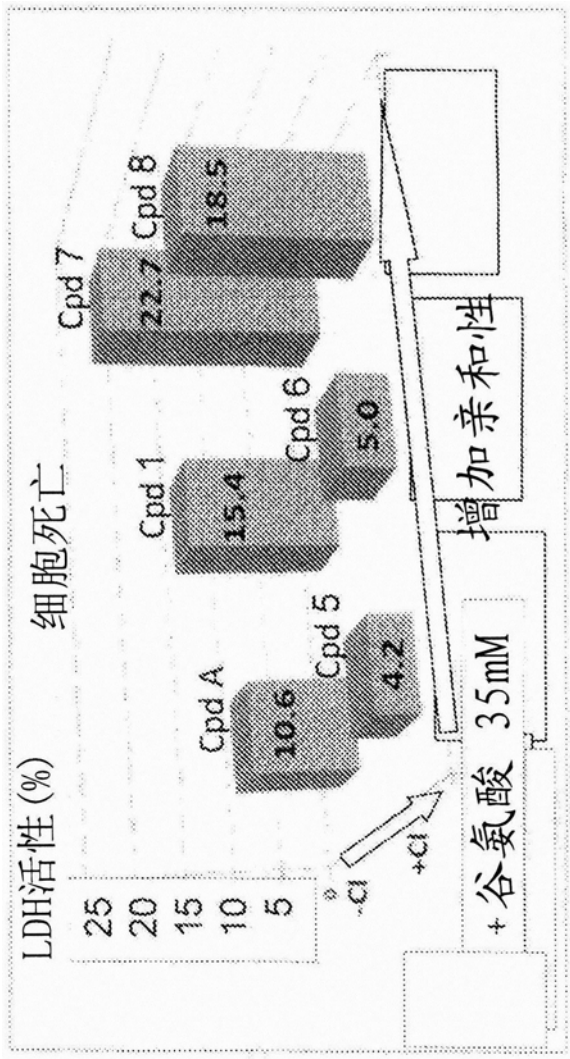


图9B

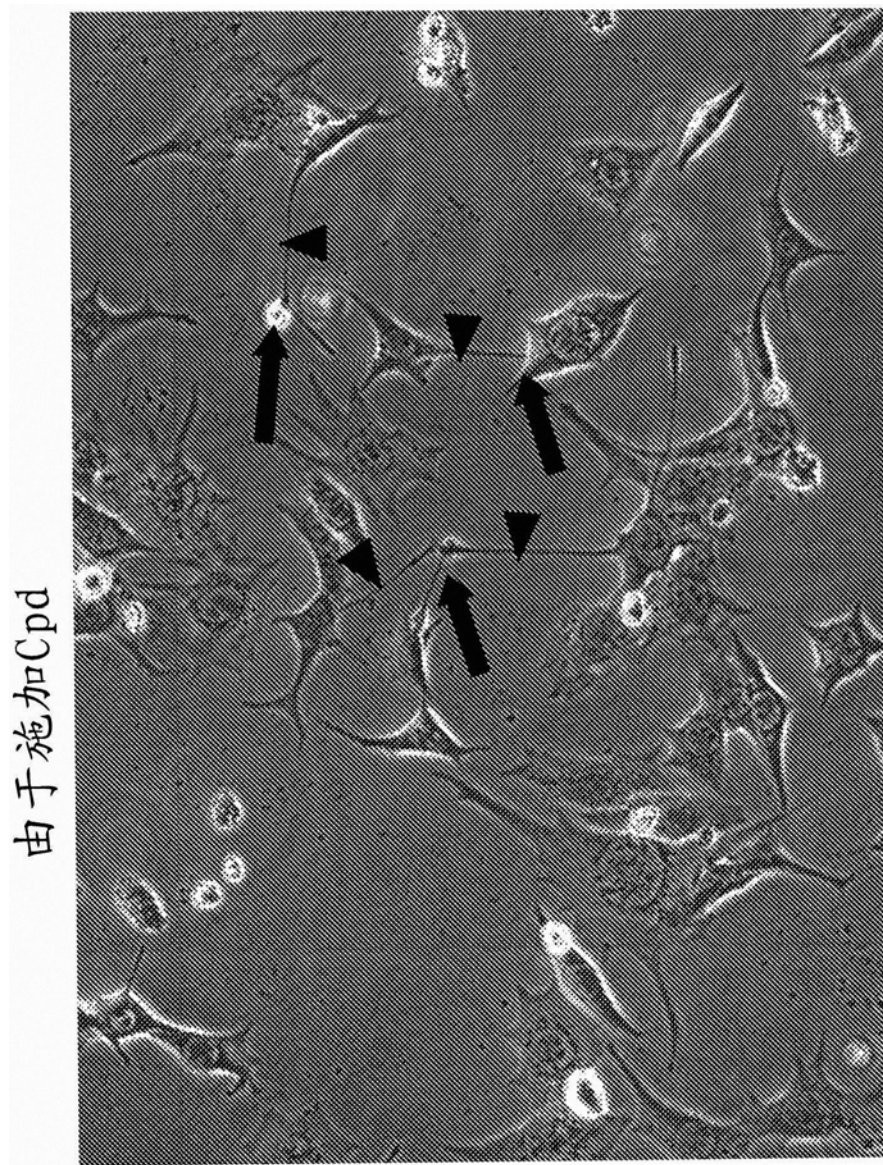


图10

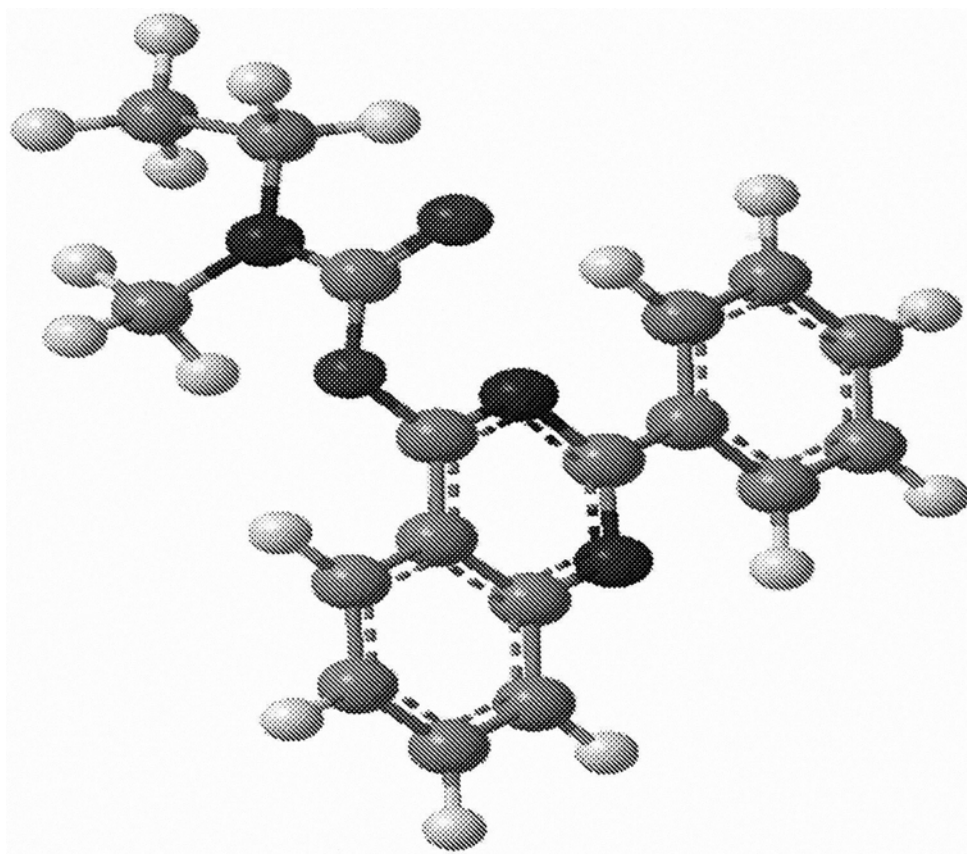


图11

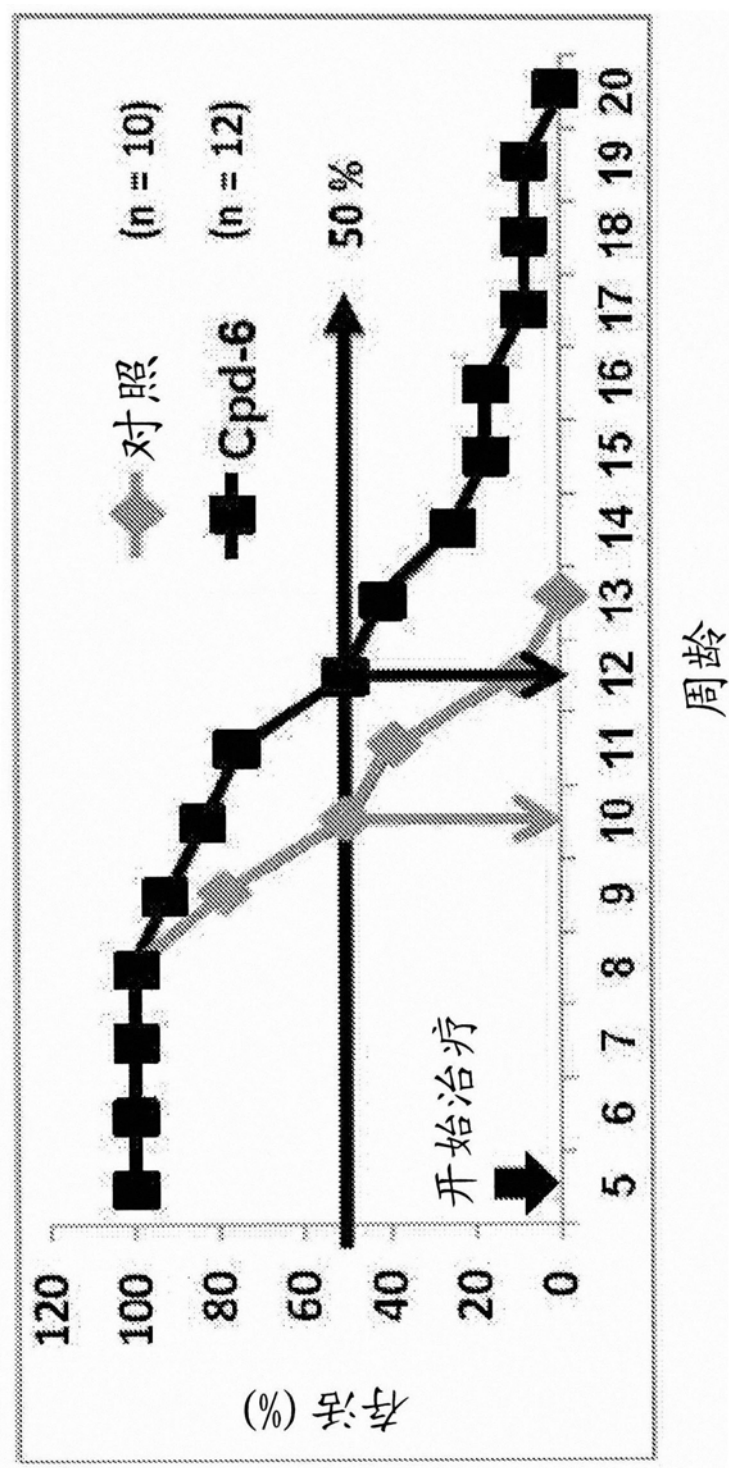


图12

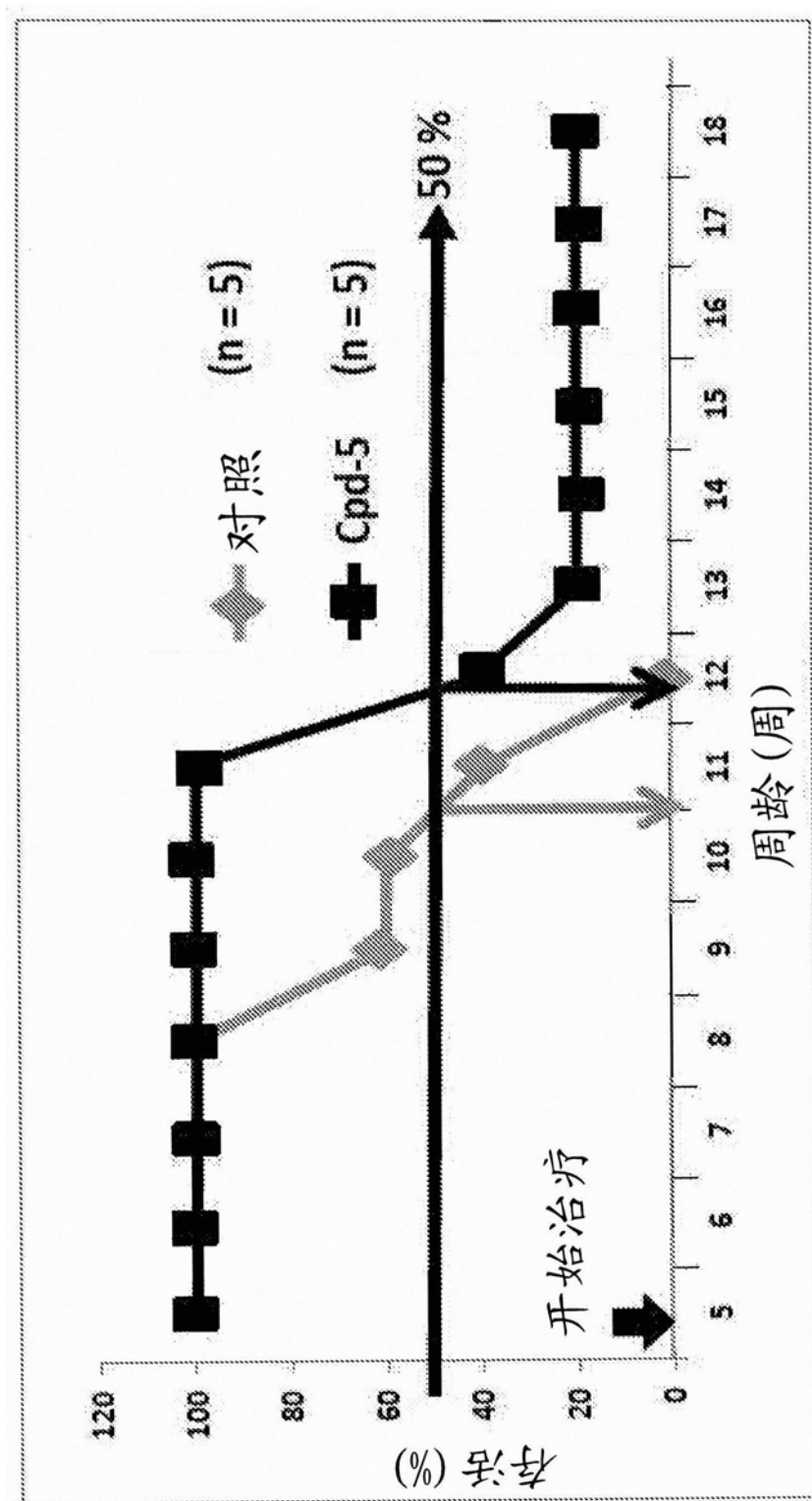


图13