



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103635446 B

(45) 授权公告日 2016.02.03

(21) 申请号 201280033481.5

A61P 25/00(2006.01)

(22) 申请日 2012.05.03

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

61/482,533 2011.05.04 US

US 2008/0009475 A1, 2008.01.10, 说明书第 42 段, .

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014.01.06

Vohland Horst W..Metabolism of pentetrazole in the rat.isolation and identification of the main metabolites from urine.《Hoppe-seyler's Z.Physiol.Chem》.1974, 第 355 卷(第 10 期), 第 1274-1280 页.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/036217 2012.05.03

Kenneth L. Kirk.Fluorine in medicinal chemistry: Recent therapeutic applications of fluorinated small molecules.《Journal of Fluorine Chemistry》.2006, 第 127 卷 1013-1029.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/151343 EN 2012.11.08

(73) 专利权人 巴兰斯医疗公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 林登·利恩

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 高瑜 郑霞

Allan B.Foster.Deuterium isotope effects in the metabolism of drugs and xenobiotics:implications for drug design".《Advances in drug research》.1985, 第 14 卷 1-40.

(51) Int. Cl.

C07B 59/00(2006.01)

C07D 487/04(2006.01)

A61K 31/5025(2006.01)

审查员 罗小亮

权利要求书1页 说明书25页 附图3页

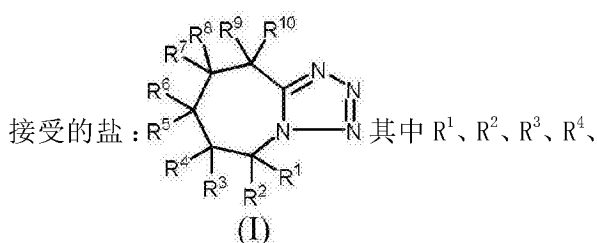
(54) 发明名称

戊四唑衍生物

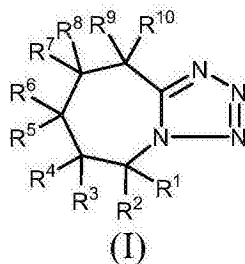
它病况的个体的认知功能。

(57) 摘要

本文提供具有下式 I 的化合物或其药学上可



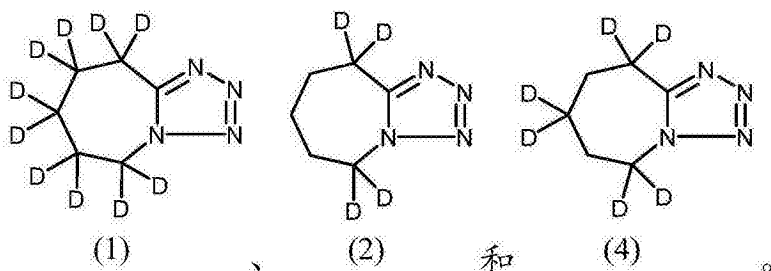
1. 一种具有下式 I 的化合物或其药学上可接受的盐：



其中：

R^1 、 R^2 、 R^9 和 R^{10} 各自是氘，且 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 独立地选自氢或氘。

2. 化合物或其药学上可接受的盐，其中所述化合物选自



3. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-2 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂。

4. 一种单位剂量形式，其包含 0.1mg-1g 的权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种药学上可接受的赋形剂，其中所述单位剂量形式适于口服或静脉内给予人。

5. 权利要求 1-2 任意一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于提高有需要的个体的血流量、心率或呼吸频率的药物中的用途。

6. 权利要求 1-2 任意一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于抑制有需要的个体的咳嗽的药物中的用途。

7. 权利要求 1-2 任意一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗个体的衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕、失禁或其症状的药物中的用途。

8. 权利要求 1-2 任意一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于改善患有唐氏综合征、苯丙酮酸尿、神经纤维瘤病 1 型、枫糖尿症、雷特综合征、胎儿酒精综合征、孤独症样谱系障碍、昼夜节律中断、阿尔茨海默病或痴呆的个体的认知功能的药物中的用途。

戊四唑衍生物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2011 年 5 月 4 日提交的美国临时申请号 61/482, 533 的优先权的权益，其内容通过引用以其整体结合到本文中。

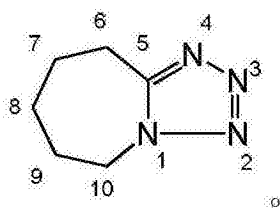
[0003] 领域

[0004] 本文提供富含同位素的和 / 或氟化戊四唑 (pentylenetetrazole, PTZ) 化合物及其药学上可接受的盐。还提供包含所述化合物的药物组合物和单位剂量形式、使用所述化合物治疗某些疾病的方法和用于改善个体 (例如患有唐氏综合征的个体) 的认知缺损的方法。

[0005] 背景

[0006] 由于戊四唑 (PTZ) 在 1930 年代后期被报道为精神分裂症的可行治疗, 因此一直被用作涉及中枢神经系统的多种疾病和病况 (例如老年性精神错乱、抑郁、眩晕等) 的疗法以及被用作循环与呼吸兴奋剂和咳嗽抑制药。PTZ 具有以下结构式:

[0007]



[0008] PTZ 以商业名称和同义词尤其包括 METRAZOL、CARDIAZOL pentetrazol 而为人知。1982 年, 美国食品和药物管理局 (U. S. Food and Drug Administration) 撤销了其对 PTZ 在美国销售的许可, 并且要求提供证据以支持所声称的 PTZ 单独或与其它药剂组合使用的功效。参见 47Federal Register19208(1982 年 5 月 4 日)。

[0009] PTZ 被认为阻断或减少离子通过与 A 型 γ -氨基丁酸 ($GABA_A$) 受体相关的离子通道。 $GABA$ 是中枢神经系统中的主要抑制性神经递质。在 PTZ 和其它通道阻断剂不存在时, $GABA$ ($GABA_A$ 受体拮抗剂和 / 或别构调节物) 与 $GABA_A$ 受体结合, 导致受体通道开启, 且氯离子通过通道。

[0010] 最新研究表明, 给予 PTZ 可引起学习和记忆改善。例如, 在唐氏综合征转基因小鼠模型中, PTZ 的日用量在小鼠最后一次暴露于 PTZ 后, 在学习方面产生的改善持续数月。参见例如 Fernandez 等, 2007Nature Neuroscience10(4):411-413 ;Rueda 等, 2008, Neuroscience Letters433(1):22-27 ;以及 2008 年 1 月 10 日公开的美国专利申请公布号 2008/0009475, 所述文献的公开内容通过引用以其整体结合到本文中用于所有目的。

[0011] PTZ 在血液中的峰值浓度一般出现在静脉内 (IV) 或腹膜内 (IP) 递送后 10 分钟内。PTZ 在口服给药 (PO) 后具有高的生物利用度, 并且当 PTZ 口服给予时, 峰值血液水平一般出现在大约 30-60 分钟内。PTZ 容易穿过血脑屏障。它具有相对短的大约 60 分钟的血浆半寿期。在给予小鼠、大鼠、狗、人和其它生命系统后, PTZ 进行氧化代谢, PTZ 短半寿期的一个关键因素。对于 PTZ, 存在已表征的许多代谢产物, 这些中至少 2 个是 PTZ 的氧化变体, 占清除产物的 60% 以上。这些代谢产物为 6- 羟基戊四唑和 8- 羟基戊四唑。氧化可能

通过细胞色素 P450 超家族的酶进行。

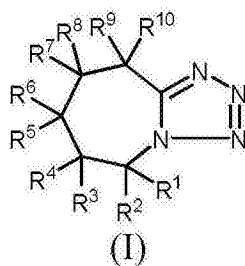
[0012] 鉴于其副作用（包括癫痫发作和抽搐）是 $C_{\max}$ 驱动的，因此在治疗应用中增加 PTZ 的给药频率或剂量以补偿其体内相对短的半寿期需要慎重考虑。PTZ 还可对代谢酶（包括 CYP450 和该超家族的其它成员）的活性产生剂量依赖性的显著抑制作用，当例如将 PTZ 与其它药物共同给予时，这可能是有害的。

[0013] 寻求具有类似于 PTZ 的治疗益处或比 PTZ 改进的治疗益处的新疗法。所追求的这类疗法所包括的可能是例如体内半寿期长于 PTZ 的半寿期的化合物。

[0014] 发明简述

[0015] 在某些实施方案中，提供具有下式 I 的化合物或其药学上可接受的盐：

[0016]



[0017] 其中：

[0018] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢、氘和氟，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 的至少一个不为氢。

[0019] 在某些实施方案中，其中当 R^1 、 R^2 、 R^9 和 R^{10} 各自为氢时， R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 的至少一个不为氘。

[0020] 在本文提供的式 I 化合物的某些实施方案中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢和氘。

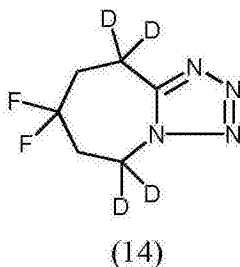
[0021] 在一些实施方案中，具有式 I 的化合物选自本文提供的化合物 1-8。在一些实施方案中，具有下式 I 的化合物选自化合物 1、2 和 4。

[0022] 在本文提供的式 I 化合物的其它实施方案中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢和氟。

[0023] 在某些实施方案中，具有式 I 的化合物选自本文提供的化合物 9-13。

[0024] 在一些实施方案中，具有式 I 的化合物为

[0025]



[0026] 在一些实施方案中，提供包含具有式 I 的化合物和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0027] 在其它实施方案中，提供包含 0.1mg-1g 的具有式 I 的化合物和一种或多种药学上

可接受的赋形剂的单位剂量形式。在某些实施方案中,单位剂量形式适于口服给予人。

[0028] 在另外的实施方案中,提供包括给予一定量的具有式 I 的化合物的方法。在某些实施方案中,提供提高有需要的个体的血流量、心率或呼吸频率的方法,所述方法包括将能有效提高血流量、心率或呼吸频率的一定量的本文所述化合物给予个体。在一些实施方案中,所述方法是用于抑制个体的咳嗽。在另外的实施方案中,提供治疗衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕、失禁或其症状的方法: , 所述方法包括将能有效治疗衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕、失禁或其症状的本文所述化合物给予患有衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕或失禁的个体。

[0029] 在某些实施方案中,提供改善患有唐氏综合征、苯丙酮酸尿、神经纤维瘤病 1 型、枫糖尿症、雷特综合征、胎儿酒精综合征、孤独症样谱系障碍、昼夜节律中断、阿尔茨海默病或痴呆的个体的认知功能的方法,所述方法包括将能有效改善认知功能的一定量的本文所述化合物给予个体。

[0030] 在其它实施方案中,提供具有式 I 的化合物用作循环或呼吸兴奋剂或用作咳嗽抑制药。在一些实施方案中,本文所述化合物用于治疗衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕或失禁或其症状。在某些实施方案中,本文所述化合物用于改善患有唐氏综合征、苯丙酮酸尿、神经纤维瘤病 1 型、枫糖尿症、雷特综合征、胎儿酒精综合征、孤独症样谱系障碍、昼夜节律中断、阿尔茨海默病或痴呆的个体的认知功能。

[0031] 附图简述

[0032] 图 1 提供用于下文实施例 1 中所描述的示例性化合物 1 分析的 ^2H NMR 谱图。

[0033] 图 2 提供用于下文实施例 4 中描述的示例性化合物 11 分析的 ^{19}F NMR 谱图。

[0034] 图 3 提供用于下文实施例 5 中描述的示例性化合物 14 分析的 ^2H NMR 谱图。

[0035] 发明详述

[0036] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本公开内容所属领域普通技术人员通常理解的含义。对于本文的定义,如果存在多种定义,则以本节的定义为准,除非另有说明。

[0037] 除非另有说明,否则当位置指定为“H”或“氢”时,或者当本文提供的化学结构中的位置无疑被氢原子占据时,应了解该位置具有其天然同位素组成的氢。

[0038] 同样除非另有说明,否则当位置被明确指定为“D”或“氘”时,要理解该位置具有是氘天然丰度(其为 0.015%)的至少 3,340 倍的氘(即掺入至少 50.1% 的氘)。

[0039] 本文所用术语“氘取代”是指分子中的一个或多个氢原子被氘原子取代。

[0040] 本文所用术语“富含同位素的”或“同位素富集”是指具有不同于原子的天然同位素组成的同位素组成的原子,或者是指含有至少一个具有不同于原子的天然同位素组成的同位素组成的原子的化合物。例如,在本文提供的化合物中,当位置指定为具有氘时,应理

解为在该位置上氘的丰度实际上大于氘的天然丰度,氘的天然丰度约为 0.015%。可按照分子中指定原子上替换该原子的天然同位素丰度掺入一定量的特定同位素的百分比,来表示“同位素富集”。例如,指定位置上 1% 的氘富集意味着指定样品中 1% 的分子在该特定位置上含有氘。本文提供的化合物的“同位素富集”可采用本领域普通技术人员已知的常规分析方法测定,包括质谱法和核磁共振波谱法。

[0041] 本文所用术语“同位素富集因子”意指分子内同位素丰度和特定同位素的天然丰度间的比率。

[0042] 本文所用术语“同位素体 (isotopologue)”是指一类特定化合物,其在一个或多个位置上仅在其同位素组成或同位素富集水平上不同于另一类指定化合物,例如 H 相对于 D。

[0043] 术语“药物组合物”是指配制用于药物用途的组合物。

[0044] 本文所用术语“药学上可接受的”是指与药物组合物的成分相容且适用于与受试者的组织接触而无过多毒性、刺激性、变态反应、免疫原性或其它问题、合理利益 / 风险比相称的组分。

[0045] 本文所用“药学上可接受的盐”意指在给予接受者时,能够直接或间接提供本公开内容的化合物的任何无毒盐。盐在化合物的碱性基团与酸之间或者在化合物的酸性基团与碱之间形成。

[0046] 通常用于形成药学上可接受的盐的酸包括但不限于无机酸例如二硫化氢 (hydrogen bisulfide)、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸和磷酸;以及有机酸例如对甲苯磺酸、水杨酸、酒石酸、酸式酒石酸 (bitartaric acid)、抗坏血酸、马来酸、besylic acid、富马酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、甲酸、谷氨酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、乳酸、草酸、对溴苯磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸、苯甲酸和乙酸。

[0047] 通常用于形成药学上可接受的盐的碱包括但不限于无机碱例如氢氧化镁、氢氧化钙、氢氧化钾、氢氧化锌和氢氧化钠;以及有机碱例如伯胺、仲胺、叔胺和季铵、脂族胺和芳族胺,包括但不限于 L- 精氨酸、苯乙胺、苄星、胆碱、二甲基乙醇胺、二乙醇胺、二乙胺、二甲胺、二丙胺、二异丙胺、2-(二乙基氨基)-乙醇、乙醇胺、乙胺、乙二胺、异丙胺、N- 甲基- 葡糖胺、海巴明 (hydrabamine)、1H- 咪唑、L- 赖氨酸、吗啉、4-(2- 羟乙基)- 吗啉、甲胺、哌啶、哌嗪、丙胺、吡咯烷、1-(2- 羟乙基)- 吡咯烷、吡啶、奎宁环、喹啉、异喹啉、仲胺、三乙醇胺、三甲胺、三乙胺、N- 甲基-D- 葡糖胺、2- 氨基-2-(羟甲基)-1,3- 丙二醇和氨丁三醇。

[0048] 药学上可接受的盐因此包括但不限于硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯、溴、碘、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、癸酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4- 二酸盐、己炔-1,6- 二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 β - 羟基丁酸盐、羟乙酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1- 磺酸盐、萘-2- 磺酸盐和扁桃酸盐。

[0049] 本文所用术语“治疗有效量”是指足以产生所需效果的剂量,其中所需效果通常是:(i) 如不是完全停止的话,则改善或减轻待治疗的疾病或病况的一个或多个症状,特别

是认知缺损症状,例如记忆、学习能力等,或(ii)认知功能可测量的改善,用测试与认知相关的一些方面的合适评价试验测定。该术语此外还指研究人员、兽医、医生或临床医生正寻求的足以引起细胞、组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的化合物的量。

[0050] 本文所用术语“溶剂合物”意指还包括通过非共价分子间力结合的化学计量或非化学计量的溶剂的化合物,所述溶剂例如水、丙酮、乙醇、甲醇、二氯甲烷、2-丙醇等。当溶剂为水时,使用术语“水合物”。药学上可接受的溶剂合物和水合物是化合物与一个或多个溶剂或水分子,或1-约100个,或1-约10个,或1-约2、3或4个溶剂或水分子的复合物。

[0051] 本文所用术语“前药”是指体内容易转化成本文提供的式I化合物的化合物(“母体化合物”)。前药可具有优于母体化合物的优势,例如,在药物组合物中具有更好的生物利用度高或更大的溶解度。前药可通过各种机制转化成母体药物,所述机制包括酶的过程和代谢水解。

[0052] 本文所用术语“稳定化合物”是指这样的化合物,其具有足以允许其制备并保持化合物的完整性持续足够的一段时间以用于本文所述目(例如制成药物组合物、用于产生治疗性化合物的中间体、可分离或可储存的中间体化合物、治疗对治疗剂起反应的疾病或病况)的稳定性。

[0053] 本文所用“受试者”意指动物,优选哺乳动物,包括例如小鼠、大鼠、兔、狗、猫、豚鼠、山羊、牛、马、猪、绵羊、猴、灵长类动物、猿或人。本文所用术语“个体”是当受试者为人时。

[0054] 本文所用术语“病症”是指损害正常功能的人或动物机体或其部分的任何异常状况。病症通常通过有区别的体征和症状表示。

[0055] 本文所用“治疗”、“医治”或“处理”是指至少改善与累及受试者的疾病或病况有关的症状(其中改善以广义使用,是指至少降低参数的值),例如与待治疗的疾病或病况有关的症状,例如记忆或学习能力受损或意识模糊或抑郁或其它认知功能。因此,治疗还包括其中疾病或病况或者至少与之有关的症状被完全抑制的情况,例如防止发生或停止(例如终止),使得受试者不再患有疾病或病况或者至少是所述疾病或病况的特征的症状。应了解,其中在治疗认知缺损的情况下使用“治疗”、“医治”或“处理”时,该术语是指认知的改善,例如用适当评价试验可确定。

[0056] 本文所用术语“认知缺损”是指通常但不总是源于儿童期早期的至少一种认知功能受损,例如记忆受损、学习能力受损等。

[0057] 本文所用术语“给药方案”是指每时间单位给予的化合物的特定量和给药持续时间(例如3次/天持续7天)。

[0058] 本文所用术语“约”旨在限定该术语修饰的数值,表明该值在误差幅度内是可变化的。当没有列举具体的误差幅度(例如数据图或数据表中给出平均值的标准差)时,术语“约”应理解为是指应包括所引述的值的范围和考虑有效数字通过该数字的上舍入或下舍入还应包括的范围。

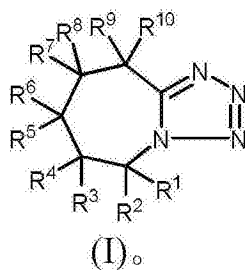
[0059] 当公开值的范围并使用“从 n_1 ……至 n_2 ”或“ n_1 - n_2 ”(其中 n_1 和 n_2 为数字)的表示法时,则这种表示法欲数字本身和它们之间的范围,除非另有说明。该范围可以是整的或之间连接的,并包括端值。

[0060] 化合物

[0061] 在某些实施方案中,代谢稳定性提高的 PTZ 衍生物可通过以下方面提供优于 PTZ 的治疗益处:例如 (a) 通过降低达到 PTZ 的治疗效果所需要的剂量数来提高受试者的顺应性, (b) 减少达到 PTZ 的治疗效果所需要的剂量的量和 / 或降低潜在不良事件的发生, (c) 对于多重用药,产生更有效的药物和 / 或更安全的药物,不论多重用药是否是有意的,和 / 或 (d) 减少因正常代谢 PTZ 的酶的多态性所引起的患者间变化性。与 PTZ 相比,具有这些特征的一个或全部的化合物是可取的,并且本文提供这类化合物。

[0062] 一方面,提供具有下式 I 的化合物:

[0063]



[0064] 式 I 中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢、氘和氟,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 的至少一个不为氢。

[0065] 在某些实施方案中,提供式 I 化合物,其中当 R^1 、 R^2 、 R^9 和 R^{10} 各自为氢时, R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 的至少一个不为氘。

[0066] 在本文提供的式 I 化合物的某些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢和氘。

[0067] 在一些实施方案中, R^5 和 R^6 各自为氘。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立选自氢和氘,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自为氢。

[0068] 在一些实施方案中, R^9 和 R^{10} 各自为氘。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氘,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

[0069] 在一些实施方案中, R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 各自为氘。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氘,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

[0070] 在一些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 各自为氘。 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氘,或 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

[0071] 在一些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自为氘。

[0072] 在某些实施方案中,提供具有其中一个或多个氢被氘或氟置换的 PTZ 结构的化合物。在某些实施方案中,提供 PTZ 的氘同位素体。

[0073] 氘 (在本文的某些式中称为“D”) 是氢的稳定的非放射性的同位素。氘的一个特征是与碳形成特别强的键,一般是相应氢-碳键稳定性的约 6-10 倍。一般暴露于氘和掺入氘在通过使用本文提供的化合物作为治疗剂可能达到的水平内是安全的。

[0074] 应认识到,天然同位素丰度的某种变化出现在合成的化合物中,这取决于用于合成的化学材料的来源。因此,化合物 (例如 PTZ) 的任何制备通常将固有地含有少量的氘同位素体。尽管有这种变化,但是与本文提供的化合物的稳定同位素取代的程度相比,天然丰富稳定的氢同位素的浓度仍小并且不重要。

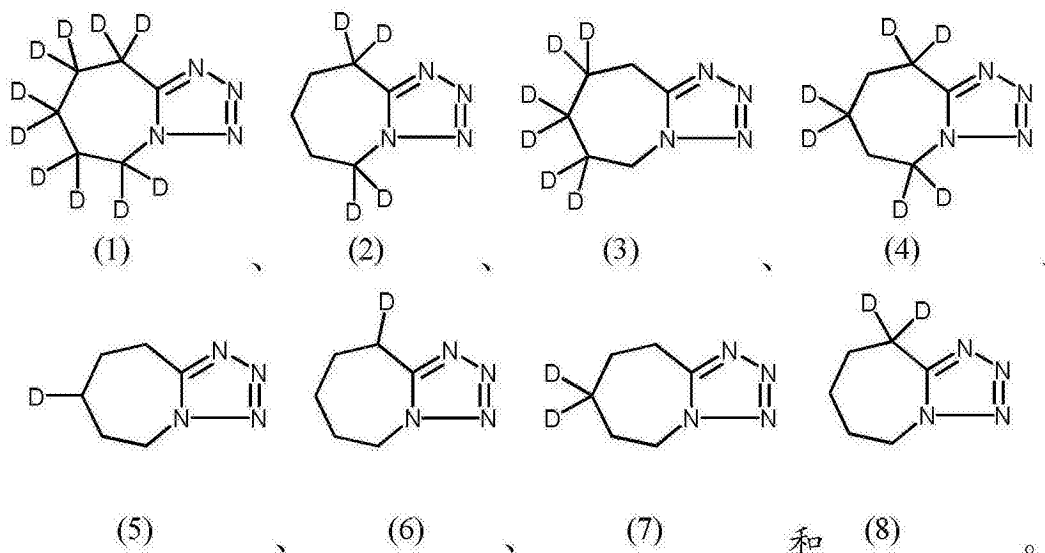
[0075] 对于同位素体中各个标示的氘,本文提供的 PTZ 的氘同位素体可具有例如最

少至少 3,000 (45% 的氘富集) 的同位素富集因子。在其它实施方案中, 本文提供的 PTZ 的氘同位素体对于各标示的氘具有以下同位素富集因子: 至少 3,500 (52.5% 氘富集)、至少 4,000 (60% 氘富集)、至少 4,500 (67.5% 氘富集)、至少 5,000 (75% 氘富集)、至少 5,500 (82.5% 氘富集)、至少 6,000 (90% 氘富集)、至少 6,333.3 (95% 氘富集)、至少 6,466.7 (97% 氘富集)、至少 6,600 (99% 氘富集) 或至少 6,633.3 (99.5% 氘富集)。

[0076] 在本文提供的 PTZ 的氘同位素体中, 氘的相对量将取决于许多因素, 包括用于制备化合物的氘化试剂的同位素纯度和用于制备化合物的各个合成步骤中氘掺入的效率。在某些实施方案中, 对于给定的本文提供的 PTZ 的氘同位素体, 其它同位素体的相对量可小于全部同位素体的 49.9%。在其它实施方案中, 这种全部同位素体相对量可小于 47.5%、小于 40%、小于 32.5%、小于 25%、小于 17.5%、小于 10%、小于 5%、小于 3%、小于 1% 或小于 0.5%。

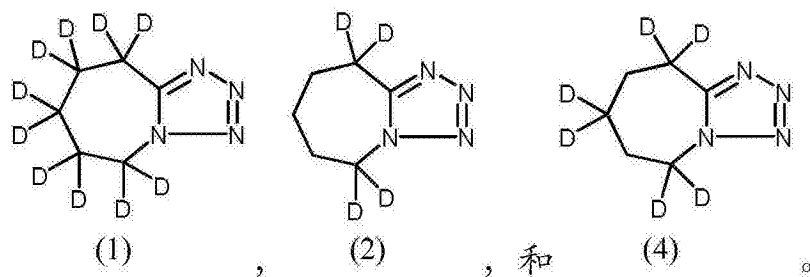
[0077] 在一些实施方案中, 本文提供的式 I 化合物选自下列化合物或其药学上可接受的盐:

[0078]



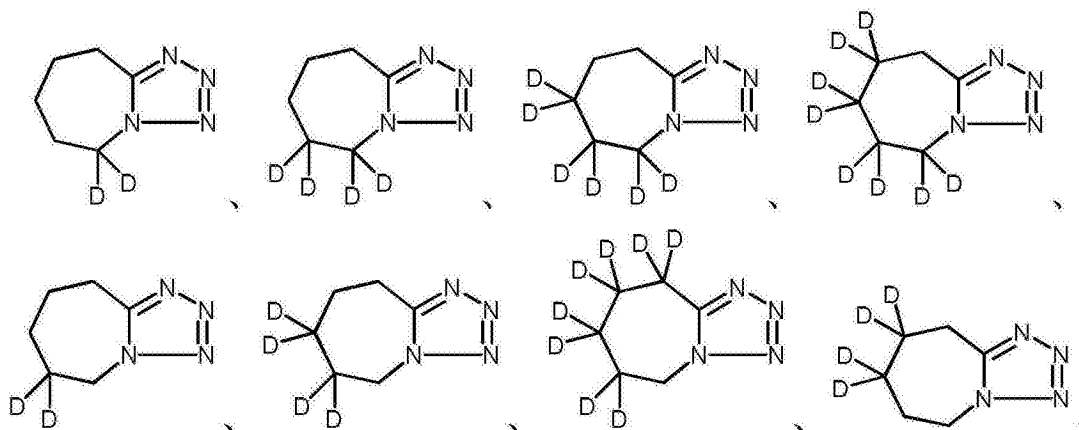
[0079] 在某些实施方案中, 式 I 化合物选自下列化合物或其药学上可接受的盐:

[0080]

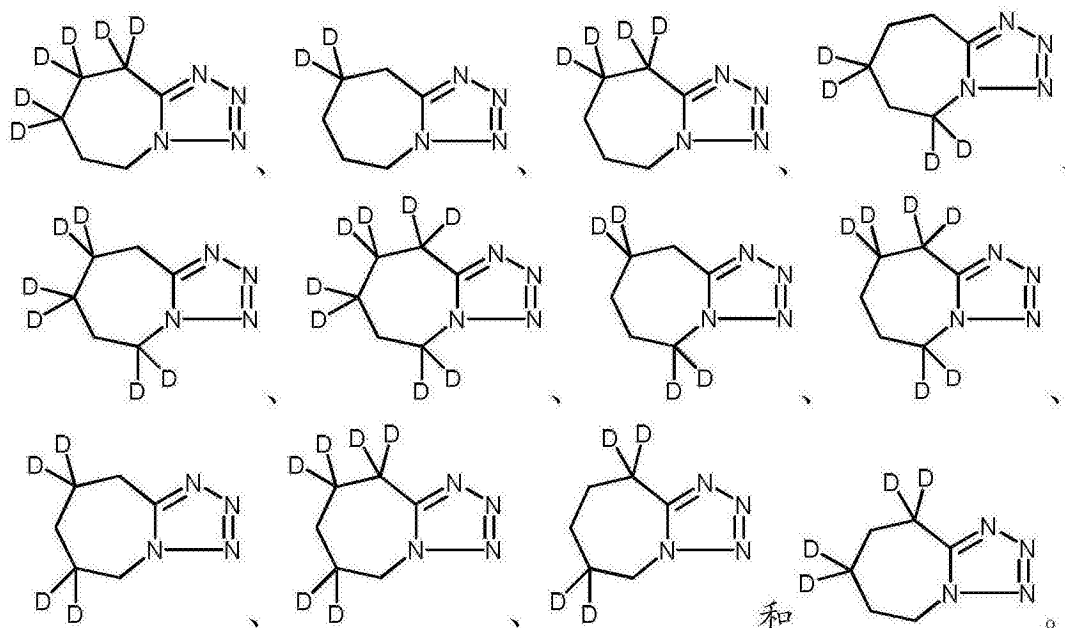


[0081] 在某些实施方案中, 式 I 化合物选自下列化合物或其药学上可接受的盐:

[0082]



[0083]



[0084] 在本文提供的式 I 化合物的其它实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立选自氢和氟。

[0085] 在一些实施方案中, R^5 和 R^6 各自为氟。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立选自氢和氟,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自为氢。

[0086] 在一些实施方案中, R^9 和 R^{10} 各自为氟。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氟,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

[0087] 在一些实施方案中, R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 各自为氟。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氟,或 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

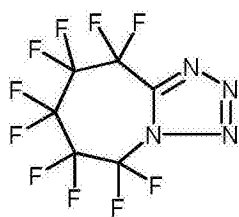
[0088] 在一些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 各自为氟。 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 独立选自氢和氟,或 R^3 、 R^4 、 R^7 和 R^8 各自为氢。

[0089] 在一些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自为氟。

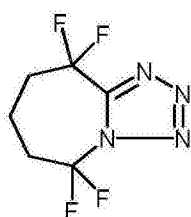
[0090] 在一些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^9 和 R^{10} 各自为氘,用 R^5 和 R^6 各自为氟。

[0091] 在某些实施方案中,提供选自以下的化合物或其药学上可接受的盐:

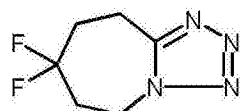
[0092]



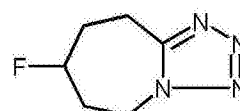
(9)



(10)



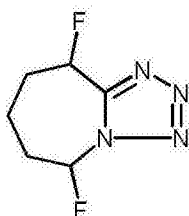
(11)



(12)

和

[0093]

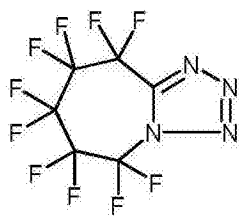


(13)

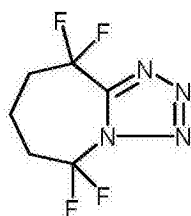
。

[0094] 在某些实施方案中,提供选自以下的化合物或其药学上可接受的盐:

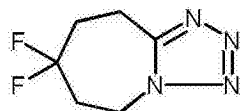
[0095]



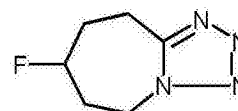
(9)



(10)

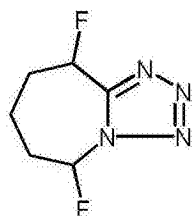


(11)



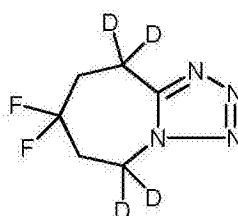
(12)

,



(13)

和

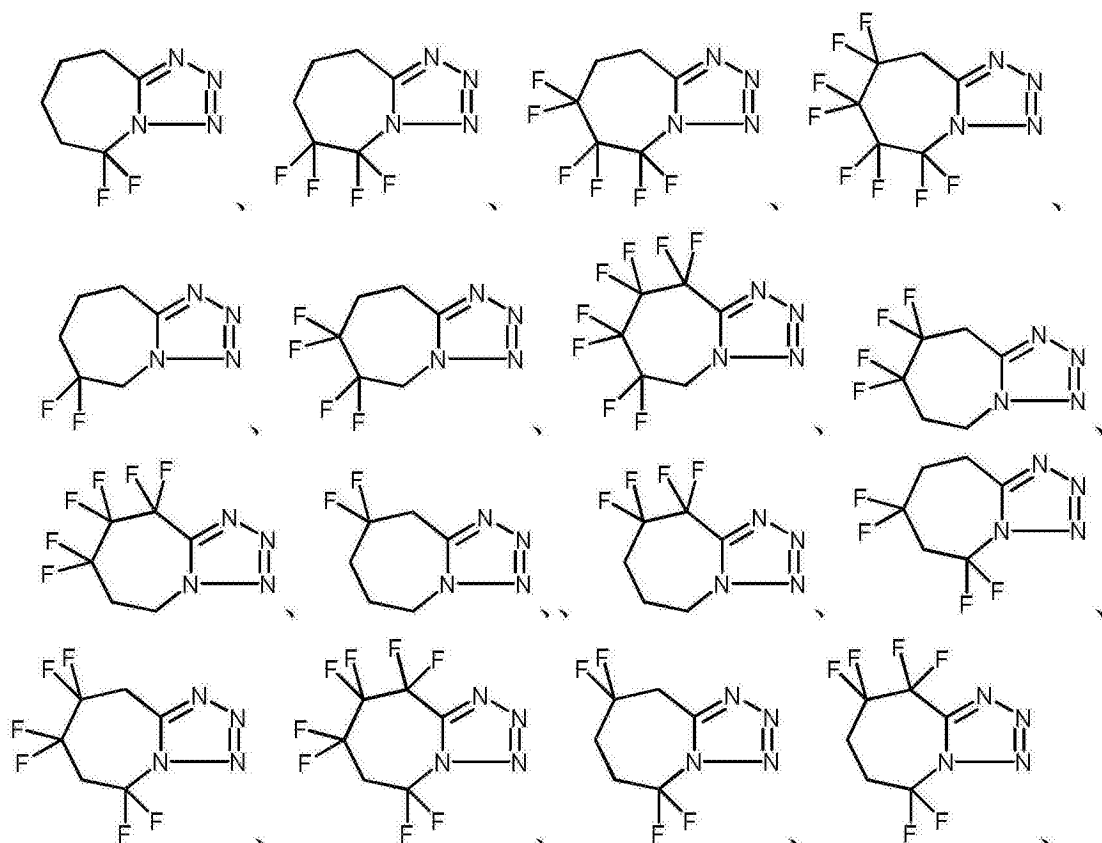


(14)

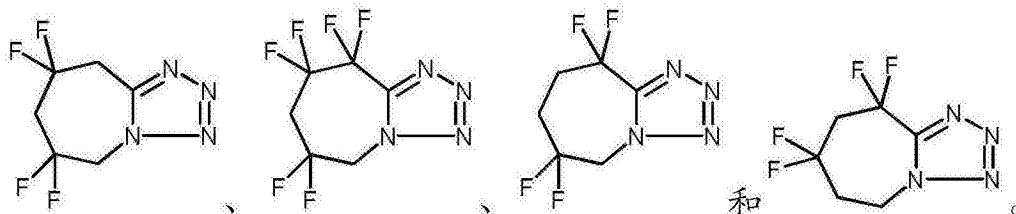
。

[0096] 在某些实施方案中,式 I 化合物选自下列化合物或其药学上可接受的盐:

[0097]



[0098]



[0099] 虽然无意受任何特定理论或机制的束缚,但在某些实施方案中,认为与当按相等剂量单位给予个体人群时的非氟化、非氟化 PTZ 的血浆水平的个体间变化相比,本文提供的一种或多种式 I 化合物当给予个体人群时,显示血浆水平的个体间变化降低。在某些实施方案中,认为本文提供的一种或多种式 I 化合物当给予个体人群时,可具有的平均血浆水平大于当按相等剂量单位给予个体人群时的非氟化、非氟化 PTZ 的平均血浆水平。在另外的实施方案中,认为本文提供的一种或多种式 I 化合物当给予个体人群时,可具有的峰值血浆浓度低于当按相等剂量单位给予个体人群时的非氟化、非氟化 PTZ 的峰值血浆浓度。

[0100] 在某些实施方案中,术语“化合物”除非在它所使用的上下文中另有说明,否则包括其药学上可接受的盐、溶剂合物(包括水合物)和/或前药。

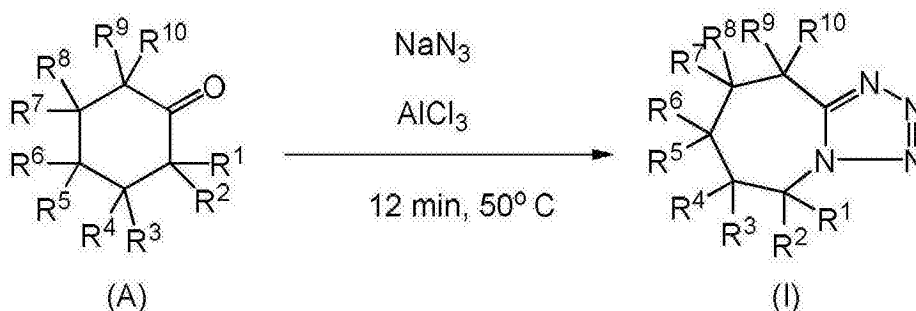
[0101] 合成

[0102] 本文提供的式 I 化合物可参照制备 PTZ 的已知方法制备。所述方法可利用含有相应的氟化和/或氟化和任选其它含同位素的试剂和/或中间体进行以合成本文提供的化合物,或援用本领域已知的将同位素原子引入化学结构的标准合成方案。可在纯化或未纯化(例如过滤、蒸馏、升华、结晶、研磨、固相萃取和色谱法)的情况下使用某些中间体。例如,

需要时,可用于制备 PTZ 的某些中间体或试剂可用相应的氘化或氟化中间体或试剂置换,这取决于氘或氟掺入所需的一个或多个位点,如下文中的举例说明。

[0103] 方案 1. 制备本文提供的式 I 化合物的通用合成线路

[0104]

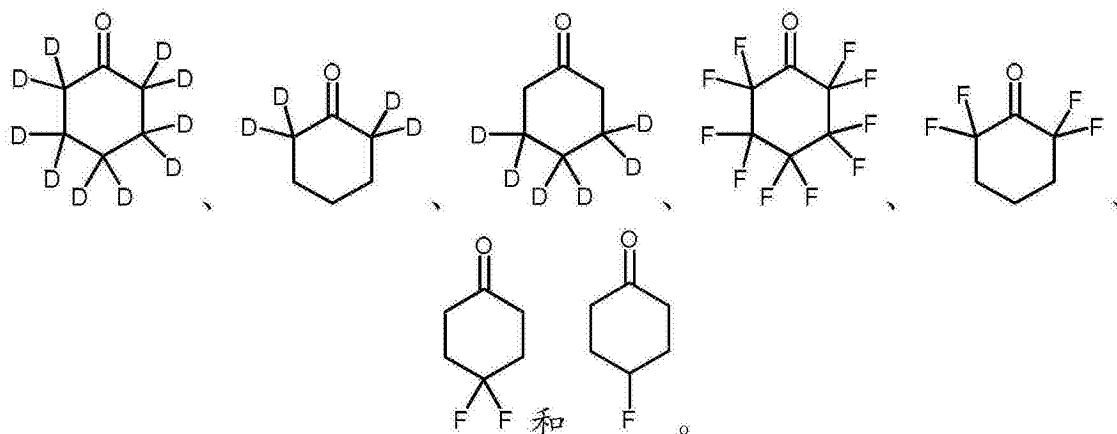


[0105] 方案 1 表示可用于制备本文提供的式 I 化合物的通用合成线路,式 I 化合物包括例如示例性化合物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 和 13 (如上所述) 以及 PTZ 的其它氘化和 / 或氟化形式。在该方案中,各 R 独立选自 H、D 或 F,条件是至少一个 R 为 D 或 F。

[0106] 或者可按照 Lehnhoff 和 Ugi, 1995, Heterocycles, 40 (2): 801-808 描述的程序,由适当取代的 ϵ -己内酰胺制备 PTZ 的氘化和 / 或氟化形式。

[0107] 例如,按照方案 1,可用作合成本文提供的式 I 化合物 (例如化合物 1、2、3、9、10、11 和 12) 的试剂 A 的市售的取代环己酮分别是下列环己酮:

[0108]



[0109] 可用于制备化合物 4 的试剂 A 的示例性合成描述于 Lompa-Krzymien 和 Leitch, 1973, Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 9(2): 331-338。可用于制备化合物 5 的试剂 A 的示例性合成描述于 Williams 等, 1964, Monatshefte fuer Chemie, 95(1): 166-177。可用于制备化合物 6 的试剂 A 的示例性合成描述于 Takei 等, 2003, Journal of Organometallic Chemistry, 679(1): 32-42。可用于制备化合物 7 的试剂 A 的示例性合成描述于 Wehage 和 Heesing, 1992, Chem. Ber., 125(1): 209-215。可用于制备化合物 8 的试剂 A 的示例性合成描述于 Deutsch 和 Mandelbaum, 1969, Tetrahedron Letters, 10(17): 1351-2。用于制备化合物 13 的试剂 A 的示例性合成描述于 Cantacuzène 和 Atlani, 1970, Tetrahedron, 26(10): 2447-2468。

[0110] 上文所示具体方法和化合物无意是限制性的。本文方案中的化学结构描述了变量,变量在此的定义与本文的化合物结构式中相应位置的化学基团定义 (部分、原子等) 相

当,不论是否通过相同的变量名(即 R^1 、 R^2 、 R^3 等)识别。用于合成另一个化合物的某一化合物结构中化学基团的适合性为本领域普通技术人员所掌握。合成本文提供的式 I 化合物及其合成前体的其它方法,包括在本文方案中未明确显示的路线内的那些方法,为本领域普通化学师所掌握。可用于合成可适用的化合物的合成化学转化和保护基方法(保护和脱保护)是本领域已知的,包括例如描述于以下文献的方法:Larock R, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers(1989);Greene TW 等, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版, John Wiley and Sons(1999);Fieser L 等, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons(1994);以及 Paquette L 编辑, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons(1995)及其后续版本。

[0111] 本发明预期的取代基和变量的组合只是导致稳定化合物形成的那些组合。

[0112] 富含氘同位素的起始原料或试剂的商业来源尤其包括 Icon Services Inc. (Summit, New Jersey USA), Cambridge Isotope Laboratories (Andover, Massachusetts USA) 和 Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, Missouri USA)。将氘掺入目标化合物的方法有大量记载。有关提供将氘掺入生物活性有机分子的详细实验描述的多个问题,参见例如 *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* (John Wiley & Sons Ltd.)。

[0113] 药物组合物和单位剂量形式

[0114] 一方面,提供包含本文提供的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或前药(下文统为“活性成分”)和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0115] 本文提供的药物组合物被配制成与其预定给药途径相容。给药途径的实例包括但不限于胃肠外例如静脉内、真皮内、皮下、肌内、口服和透皮(局部)给药。在一个具体的实施方案中,按照常规程序将组合物配成适于静脉内、皮下、肌内、口服或局部给予受试者的药物组合物。在一些实施方案中,按照常规程序配制药物组合物用于口服给予人。通常,用于静脉内给药的组合物是无菌等渗水性缓冲液中的溶液剂。必要时,组合物还可包括增溶剂和局部麻醉药(例如利多卡因)以减轻注射部位的疼痛。

[0116] 赋形剂为惰性物质例如而但不限于载体、稀释剂、填充剂、着色剂、矫味剂、甜味剂、润滑剂、增溶剂、助悬剂、粘合剂、溶媒、润湿剂、片剂崩解剂和包封材料。赋形剂的选择在很大程度上取决于例如具体的给药方式、赋形剂对活性成分的溶解度和稳定性的作用和剂型的性质等因素。

[0117] 例如,可用于药物组合物的药学上可接受的赋形剂(包括载体、辅助剂、溶媒等)包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白质(例如人血清白蛋白)、缓冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态硅石、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸盐、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0118] 在制备药物组合物时,活性成分可与稀释剂混合或包封在载体内,其可呈胶囊、小袋、纸或其它容器的形式。与其预定给药途径一致,药物组合物可呈固体、半固体或液体形式,例如呈片剂、肠溶片剂、软或硬明胶胶囊剂、贮库制剂、丸剂、散剂、锭剂、酏剂、混悬剂、乳剂、膏剂、溶液剂、无菌注射溶液剂、无菌包括的散剂、栓剂、混悬剂、糖浆剂、气雾

剂、软膏剂的形式等。在某些实施方案中,药物组合物含有例如高达 0.5%、高达 1%、高达 10% 或高达 25%(重量)或更高的活性成分。本文提供的药物组合物按照常规药学实践配制(参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 21 版, A. R. Gennaro 编辑 (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, 2005) 和 Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 第 3 版, J. Swarbrick 编辑 (Informa Healthcare USA, Inc., New York, 2006))。

[0119] 在某些实施方案中,药物组合物适于口服、胃肠外或静脉内输注给予。

[0120] 口服给予可包括例如含服、舌或舌下给予。

[0121] 在一些实施方案中,药物组合物呈适于口服给予的片剂或胶囊剂的形式。

[0122] 片剂还可包含例如甜味剂、矫味剂、着色剂、防腐剂或这些的某些组合以提供药学上精致而适口的制剂。

[0123] 在某些实施方案中,药物组合物是无热原的。

[0124] 药物组合物可以每单位剂量含有预定量的活性成分、适于给予受试者的单位剂量形式提供。在一些实施方案中,提供包含本公开内容的化合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂的单位剂量形式。本文所用单位剂量形式是指本领域已知的适于给予人和动物受试者的且分别包装的物理离散单位。每单位剂量含有预定量的足以产生所需治疗效果的活性成分以及药用赋形剂。单位剂量形式的实例包括安瓿剂、注射型制剂和各别包装的片剂和胶囊剂。单位剂量形式可按其部分或多次给予。

[0125] 包括单位剂量形式的药物组合物可呈例如单剂片剂、丸剂、胶囊剂、静脉内注射用单剂溶液剂、单剂可饮用溶液剂、单剂贴剂等的形式。单位剂量形式的给药途径包括上文描述的那些给药途径。

[0126] 单位剂量形式可包含例如 0.1mg-1 克的活性成分。在某些实施方案中,单位剂量形式包含 0.1mg-50mg、0.5mg-200mg、1mg-100mg、10mg-250mg、50mg-500mg 或 100mg-1g 的活性成分。在某些实施方案中,单位剂量形式包含与在本文提供的方法中用于给予受试者的下述剂量一致的活性成分的量。

[0127] 在某些实施方案中,单位剂量形式包含 0.1mg-1g 或 0.5mg-200mg 的活性成分和一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中单位剂量形式适于口服给予人。

[0128] 在其它实施方案中,药物组合物或单位剂量形式呈控释或迟释剂型的形式。本发明还提供可用于下文提供的方法的新的制剂和单位剂量形式,包括可用于这些方法的控释或迟释和缓释剂型。在这些方法中,有效量如上文所述,但剂量只是每天给予一次,因为缓释或控释或迟释剂型实现与即释剂型较频繁给药的相同的治疗益处。用于控释或迟释和缓释剂型(包括配成珠粒剂(bead)、包括渗透控释片剂在内的包衣片剂)的技术是本领域已知的,例如参见美国专利号 3,062,720、3,247,066、4,256,108、4,160,452 和 4,265,874。在一些实施方案中,可采用已知技术制备口服组合物,其特别将口服给予的药剂释放到人患者的小肠或大肠中,例如参见 Hardy 等,1987, Alimentary Pharmacology & Therapeutics 1(4) 273-280 或美国专利号 4,663,308。或者可以使用其它控释或迟释或缓释剂型,例如参见国际公布号 W001/12233、美国专利号 3,773,919 和 4,767,628 和美国专利申请公布号 20030068384。这类剂型可用于植入物,所述植入物在数小时、一天、几天、几周或数月的时间内释放药剂,这取决于聚合物、聚合物的粒径和植入物的大小(参见例如美国专利

号 6, 620, 422)。其它缓释剂型描述于 EP0467389A2、W093/241150、美国专利号 5, 612, 052、W097/40085、W003/075887、W001/01964A2、美国专利号 5, 922, 356、W094/155587、W002/074247A2、W098/25642、美国专利号 5, 968, 895、6, 180, 608、U. S. 20030171296、U. S. 20020176841、美国专利号 5, 672, 659、5, 893, 985、5, 134, 122、5, 192, 741、5, 192, 741、4, 668, 506、4, 713, 244、5, 445, 8324, 931, 279、5, 980, 945、W002/058672、W09726015、W097/04744 和 US20020019446。

[0129] 在某些实施方案中, 活性成分的缓释或控释或迟释剂型在白天、傍晚或夜晚递送, 使得大脑中活性成分的最低治疗浓度保持一般大于 2 小时或一般大于 3 小时、一般大于 4 小时、一般大于 6 小时、一般大于 8 小时或一般大于 12 小时的一段时间。

[0130] 在其它实施方案中, 递送活性成分的脉冲释放剂型, 使得在 12 小时周期内递送 2、3 或 4 次脉冲的活性成分。有效的总剂量如上文所述; 脉冲释放剂型每天给予一次, 因为释放概况和释放方式避免了每日多次给药的需要。

[0131] 脉冲释放技术(例如描述于美国专利号 4, 777, 049 和 6, 555, 136 的技术)因此可用来将活性剂给予胃肠道内的具体部位。这类系统允许药物按预定时间递送, 并可用来将活性剂任选与可改变局部微环境以促进药剂稳定性和摄取的其它添加剂一起直接递送至结肠, 而不依赖除存在水以外的外部条件以提供体内释放。

[0132] 方法

[0133] 一方面, 本文提供这样的方法, 所述方法包括将本公开内容的化合物给予受试者以 (i) 刺激受试者的全身血流循环和 / 或呼吸; (ii) 抑制受试者的咳嗽; (iii) 治疗受试者所患的疾病或病况, 其中所述疾病或病况选自衰老、老年性精神错乱、精神病、存在焦虑和神经紧张时的精神神经机能病、脑动脉硬化、恶心、抑郁、疲倦、衰弱、轻度行为障碍、易激惹、认知缺损、情绪不稳定、反社会态度、焦虑、眩晕和失禁; 或 (iv) 改善受试者的认知。

[0134] 在用于改善认知的方法的实施方案中, 受试者可患有例如认知缺损。在某些实施方案中, 认知缺损由先天性病症所致。其中可能存在认知缺损的示例性先天性病症包括唐氏综合征、苯丙酮酸尿、神经纤维瘤病 1 型、枫糖尿症、雷特综合征和胎儿酒精综合征。

[0135] 在一些实施方案中, 认知障碍可能具有遗传和 / 或环境原因。例如, 在某些实施方案中, 用于改善认知的方法包括将本公开内容的化合物给予患孤独症样谱系障碍的受试者。

[0136] 在用于改善认知的方法的另外的实施方案中, 受试者可患有因例如获得性病况引起的认知缺损。例如, 认知缺损可源于昼夜节律中断或神经变性病况, 包括阿尔茨海默病和其它形式的痴呆。

[0137] 先天性、获得性和神经变性形式的认知缺损降低个体储存和检索记忆、学习、交流和独立行使机能的能力。

[0138] 在某些实施方案中, 本文提供改善患智力残疾(智力迟钝)的受试者的认知的方法。所谓智力残疾是指在儿童期具有学习基本运动和语言技能持续缓慢的模式且作为成人明显低于正常整体智能的认知缺损。诊断智力残疾的一个常用标准是测试 IQ 为 70 或更低。

[0139] 适于治疗的目标病况, 包括适于改善认知功能的病况, 包括唐氏综合征和损害认知功能的其它先天性或获得性病况。在适于治疗的目标病况中所包括的有其中存在常常发生于儿童期早期的至少一种认知功能受损(例如记忆受损、学习能力受损等)的病况。唐

氏综合征是智力残疾的最常见形式,发病率约为每 700 次分娩有一例,在美国患病率超过 400,000,在全世界勉强不到 600 万。这是一种遗传病况,亦称三体性 21,其中患唐氏综合征的人具有 3 拷贝的 21 号染色体而非 2 拷贝。唐氏综合征的认知缺损的特征在于 IQ 的范围一般为 35-70,心理年龄等于 7 岁左右,并且记忆和语言有明显缺陷。

[0140] 在某些情况下,本文提供的方法可导致部分或完全消除认知功能的缺陷。例如,改善的量可为合适对照的至少约 2 倍、至少约 5 倍或至少约 10 倍,合适对照例如未给予本文提供的化合物的其它基本相同的受试者,也就是说给予安慰剂的具有类似的认知能力水平的受试者,其中在某些实施方案中,改善的量为至少约 1.5 倍、约 2 倍、约 3 倍、约 5 倍、约 10 倍、约 15 倍、约 20 倍、约 25 倍、约 50 倍、约 75 倍、约 100 倍或更多倍。在某些实施方案中,认知功能的改善可为至少约 1% 或更高。在一些实施方案中,改善可为约 1%、约 2%、约 3%、约 4%、约 5%、约 6%、约 7%、约 8%、约 9%、约 10%、约 12%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80% 或更高。

[0141] 在一些实施方案中,在给予作为本文提供的化合物的 PTZ 衍生物之前和之后,通过测量指定受试者(或受试者人群)的认知功能的某些方面来确定改善。在一些实施方案中,可在给予本文提供的 PTZ 衍生物之前,测量指定受试者(或受试者人群)的认知功能的方面,然后将所述测量与在持续一段时间时的给药方案(例如在数天、数周、数月或甚至数年的时间内进行给药)期间或完成时认知功能的所述方面相比较。在一些实施方案中,通过测量向其给予本文提供的 PTZ 衍生物(至少一次,或者在其它实施方案中,给药方案)的受试者人群的认知功能的某些方面,与未向其给予本文提供的 PTZ 衍生物的受试者人群所进行的测量进行比较,来确定改善。

[0142] 可采用本领域已知的任何试验或方案,对评价治疗功效或认知功能的改善进行评估。例如,临床医生的变化整体印象(Clinician's Global Impression of Change, CGI/C)是评价临床试验总体改变的最常用的试验之一。这种测量类型的有效性以经验丰富的临床医生针对患者的总体临床状态的平常改变检测临床关联性为基础。

[0143] 评价“认知功能的改善”可包括例如临床史和/或标准化信息的收集。评价可包括例如智商(IQ)测试。应了解,认知功能的改善可能是指认知方面的任何可测量的改善,例如通过执行欲评价认识、理解、推理、记住、意像创造(creation of imagery)、意欲、判断能力、学习等或其方面的任务来确定。可采用任何常规方案评价认知功能改善。多种评价试验是本领域已知的。参见例如 Borkowski 等,“Intellectual Assessment and Intellectual Disability(智力评价与智力残疾)”,载于 Handbook of Intellectual and Developmental Disabilities(编辑 Jacobson 等, Springer Science+Business Media, LLC, New York, 2007), 第 14 章, 第 261-278 页。

[0144] 评价试验包括例如诊断适应性行为量表(Diagnostic Adaptive Behavior Scale, DABS); 韦克斯勒成人智力量表(Wechsler Adult Intelligence Scale, WAIS), 包括其修订版 WAIS-R 和 WAIS-III; 简易精神状态检查表(Mini-Mental State Examination, MMSE) 或“Folstein”测试; Blessed 常识-记忆力-注意力测试(Blessed Information-Memory-Concentration Test, BIMC); Fuld 物体记忆评价(Fuld Object Memory Evaluation, FOME); California 言语学习测试(California Verbal Learning Test, CVLT) 和修订版(CVLT-II) 等。

[0145] 可以一次或按间隔多次给予本文提供的化合物。要了解,治疗的确切剂量和持续时间可随待治疗患者的年龄、体重和状况而变,并且可使用已知测试方案或通过从体内或体外试验或诊断数据推断,凭经验确定。还要了解,对于任何具体个体,应根据个体需要和给予或监控制剂给予的人的专业判断,对具体的剂量方案进行调整。特别是本文提供的化合物会引起癫痫活性,剂量应远低于可能激发癫痫发作的剂量。在人类中,口服给予的 PTZ 的激发剂量约为 20mg/kg。

[0146] 有利地是,与针对指定适应症的 PTZ 的相比,本文提供的含有氘或氟的 PTZ 的类似物可适于以更小的剂量给予受试者,或可适于更少的多次给药给予受试者。

[0147] 本公开内容提供的方法中所给予的化合物的剂量的范围可为例如 0.005mg/kg-10mg/kg、0.001mg/kg-0.2mg/kg、0.01-mg/kg-2mg/kg 或 0.05-mg/kg-0.5mg/kg, 其中“kg”是指受试者的体重。在某些实施方案中,所给予的剂量为约 10mg/kg 患者体重、约 5mg/kg、约 3mg/kg、约 1mg/kg、约 0.3mg/kg、约 0.1mg/kg、约 0.05mg/kg、约 0.025mg/kg 或约 0.01mg/kg。有效量的范围可为例如 0.01mg-1.25gm/剂、1mg-250mg/剂或 2.5mg-70mg/剂。一日量的范围可为例如 0.1mg-5gm/天,或 1mg-1 克/天,或 3mg-300mg/天。在各种实施方案中,所给予的剂量为约 1gm、约 500mg、约 250mg、约 200mg、约 100mg、约 50mg、约 25mg、约 10mg、约 5mg、约 1mg、约 0.5mg、约 0.25mg 或约 0.05mg,其可一天一次、每天两次、3 次或 4 次给予。在某些实施方案中,所给予的剂量是上文有关单位剂量形式中提供的剂量。

[0148] 鉴于多种因素,包括而不限于接受者的年龄、体重、性别和医学病况、待治疗病况的严重程度、给药途径、接受者的代谢水平和排泄功能、所采用的剂型、所采用的具体化合物及其盐,由本领域普通技术人员,选择使用本文提供的化合物的剂量方案。

[0149] 本文提供的化合物可以单次一日量给予,或总的一日量可按分剂量每天 2 次、3 次或更多次给予。如果递送是通过透皮形式,则给药是连续的。

[0150] 按照所提供的方法,本文提供的化合物可通过例如给药方案给予。给药方案可包括例如将本文提供的化合物一天一次给予受试者持续达数天、数周、数月或数年。给药方案通常维持至少约 2 天、至少约一周、至少约 2 周、至少约 3 周、至少约一个月或更长。在本发明的一些实施方案中,使用间隙性给药方案,即一月一次、每隔一周一次、每隔一天一次、每周一次、每周两次等。

[0151] 一方面,本文提供的是阻断离子通过与细胞中的 GABA_A受体有关的离子通道流动的方法。所述方法包括使细胞与本文提供的化合物或药物组合物接触的步骤。

[0152] 一方面,本文提供的是抑制受试者 CNS 中受体的 GABA 活化的方法。所述方法包括给予受试者本文提供的化合物或药物组合物的步骤。

[0153] 一方面,本文提供的是用于治疗患有或疑似患有通过 PTZ 治疗是有益的病症的受试者的方法。所述方法包括给予受试者治疗有效量的本文提供的化合物或药物组合物的步骤。

[0154] 一方面,本文提供治疗患有或疑似患有通过 PTZ 治疗是有益的病症的受试者的方法,其中所述方法包括给予受试者治疗有效量的本文提供的化合物或药物组合物的步骤,使得实现:(1)降低化合物或其代谢产物的血浆水平的个体间变化;(2)提高化合物的平均血浆水平或降低每剂量单位的化合物的至少一种代谢产物的平均血浆水平;(3)降低由受试者中的至少一种细胞色素 P450 或单胺氧化酶同工型进行的代谢;(4)降低通过受试者中

的至少一种多态性表达的细胞色素 P450 同工型进行的代谢；(5) 在 (1)-(5) 的情况下, 与 PTZ 相比, 改善病症的至少一种体征或症状。在某些实施方案中, 降低化合物或其代谢产物的血浆水平的个体间变化；提高化合物的平均血浆水平；降低化合物的代谢产物的平均血浆水平；增加通过化合物对细胞色素 P450 或单胺氧化酶同工型的抑制；或与 PTZ 相比, 降低由至少一种多态性表达的细胞色素 P450 同工型引起的化合物代谢达大于约 5%、大于约 10%、大于约 20%、大于约 30%、大于约 40% 或达大于约 50%。

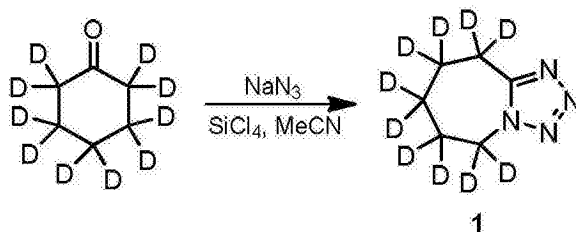
[0155] 一方面, 本文提供治疗患有或疑似患有认知缺损的受试者的方法, 其中所述方法包括给予受试者 PTZ 的衍生物 (本文提供的化合物) 的步骤, 与按相同给药方案并给予等同受试者摩尔浓度相当的 PTZ 的血浆暴露水平相比, 在给药时提供更大的 PTZ 的衍生物的血浆暴露水平。在某些实施方案中, 血浆暴露水平为 PTZ 的血浆暴露水平至少 110%、至少 115%、至少 120%、至少 125%、至少 130%、至少 135%、至少约 140%、至少约 145% 或更高。在一些实施方案中, 与使用相同给药方案给予摩尔当量的 PTZ 组合物相比, PTZ 的衍生物具有比 PTZ 长的血浆半寿期。在一些实施方案中, 与使用相同给药方案给予的摩尔浓度相当的 PTZ 组合物相比, PTZ 的衍生物的代谢产物产生的速率和量降低。在一些实施方案中, 与按相同给药方案给予的摩尔浓度相当的 PTZ 所产生的 PTZ 的血浆暴露水平和 PTZ 代谢产物相比, 给予 PTZ 的衍生物提供 PTZ 的衍生物的血浆暴露水平增加和代谢产物的血浆暴露水平降低两者。化合物或代谢产物的血浆暴露水平可采用以下文献描述的方法测量: Li 等, 2005, Rapid Communications in Mass Spectrometry 19:1943-1950; Jindal 等, 1989, Journal of Chromatography, Biomedical Applications 493(2):392-7; Schwartz 等, 1966, Biochemical Pharmacology 15(5):645-55; Mehvar 等, 1987, Drug Metabolism and Disposition 15(2):250-5; Roberts 等, 1981, Journal of Chromatography, Biomedical Applications 226(1):175-82; 以及其中引述的任何参考文献或任何对其所做的更改。

实施例

[0156] 实施例 1: d_{10} -6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并[1, 5-a]氮杂葎 (1) 的合成。

[0157] 方案 2

[0158]



[0159] 将四氯化硅 (0.35mL, 3mmol, 1.0 当量) 滴加至 d_{10} -环己酮 (CDN 同位素, 99.3 原子 %D) (0.31mL, 3mmol, 1.0 当量)、叠氮化钠 (0.59g, 9mmol, 9.0 当量) 和无水乙腈 (12mL) 的轻微悬浮液中。将混合物微微加热, 混悬液变得更浓稠。在室温下搅拌混合物 15 小时后, 将等分部分在 10% 碳酸钠溶液中猝灭, 用二氯甲烷萃取。TLC 显示形成了仅可检测量的化合物 1。在另外 24 小时后, 猝灭的等分部分的 TLC 显示形成更大量的化合物 1, 但保留较高的 R_f 组分。继续反应总共 6.5 天使化合物 1 的形成最大化。将反应悬浮液慢慢倒入冷的氧化

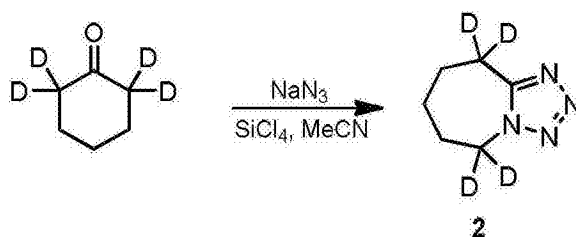
氛中的 10% 碳酸钠溶液 (50mL) 中, 水性混合物用二氯甲烷 (3x25mL) 萃取。合并的二氯甲烷层用饱和盐水 (10mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 将滤液减压浓缩, 得到慢慢结晶的浅黄色油状物。将粗产物重新溶于最小体积的二氯甲烷中, 并吸附到硅胶上。使吸附的材料在用 25-75% 乙酸乙酯 / 庚烷的梯度洗脱的 ANALOGIX 自动色谱系统中纯化, 得到固体。将固体用庚烷研磨, 过滤, 并在真空炉中于 25-30℃ 干燥过夜, 得到化合物 1 (429mg), 为白色固体。

[0160] 化合物 1 表征: 熔点: 59.4-59.5℃。通过 HP-1GC 毛细管柱的 GC 分析 (30m x320 μm x0.25 μm; 保持在 50℃ 下 1 分钟, 递增 20℃ / 分钟至 280℃, 保持在 280℃ 下 1 分钟; 保留时间 = 7.51 分钟), 纯度: >99%。质谱法, $m/z=149.1 (M+H^+)$ 。各自在 $CDCl_3$ 中进行的 1H NMR、 2H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图与作为化合物 1 的产物的一致。图 1 提供代表性 2H NMR 谱图。

[0161] 实施例 2: 6, 6, 10, 10- d_4 -6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂葑 (2) 的合成。

[0162] 方案 3

[0163]



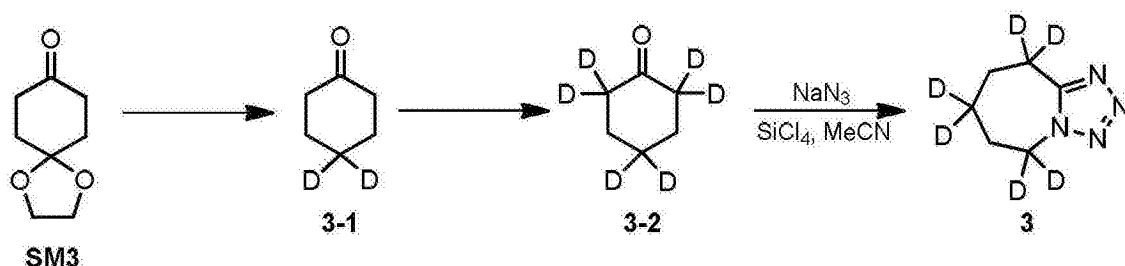
[0164] 将四氯化硅 (0.72mL, 7.85mmol, 1.2 当量) 滴加至 2, 2, 6, 6- d_4 -环己酮 (Aldrich Isotopes, 98 原子 %D) (0.64g, 6.26mmol, 1.0 当量)、叠氮化钠 (1.22g, 18.76mmol, 3 当量) 的无水乙腈 (24mL) 悬浮液中。在周末期间 (60 小时), 在室温下搅拌混合物。将等分部分在含 10% 碳酸钠溶液的 D_2O 中猝灭, 并用 EtOAc 萃取。TLC 表明化合物 2 产生和少量的起始原料。将反应悬浮液倒入冷的含 10% 碳酸钠 (36mL) 的氧化氛中, 水性混合物用乙酸乙酯萃取两次 (1x150mL 和 1x50mL)。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩, 得到粗产物, 为浅黄色油状物 (0.8g), 将其重新溶于最小体积的二氯甲烷并吸附到硅胶 (3.4g) 上。使吸附的材料在用 20-80% 乙酸乙酯 / 庚烷的梯度洗脱的 ANALOGIX 自动色谱系统中纯化 (SF25-12g), 得到化合物 2 (400mg, 收率 45%), 为白色固体, 将其在真空炉中于 25-30℃ 干燥。

[0165] 化合物 2 表征: 熔点: 59.0-59.1℃。通过在 HP-1GC 毛细管柱中的 GC 分析 (30m x320 μm x0.25 μm; 分流方法: 20:1, 保持在 50℃ 下 1 分钟, 递增 20℃ / 分钟至 280℃, 保持在 280℃ 下 1 分钟; 保留时间 = 7.49 分钟), 纯度: 99.7%。质谱法, $m/z=143.1 (M+H^+)$ 。各自在 $CDCl_3$ 中进行的 1H NMR、 ^{13}C NMR、COSY NMR 和 2H NMR 谱图与作为化合物 2 的产物一致。

[0166] 实施例 3: 6, 6, 8, 8, 10, 10- d_6 -6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并 [1, 5-a]-氮杂葑 (3) 的合成。

[0167] 方案 4

[0168]



[0169] 将对甲苯磺酰肼 (6.0g, 32mmol, 1 当量) 加入含 1, 4- 环己二酮单缩乙二醇 (SM3) (5.0g, 32mmol, 1.0 当量) 的甲醇-d (60mL) 溶液中。溶液变得非常浓稠, 继续搅拌 1 小时。将硼氰化钠 (4g, 96mmol, 3 当量) 慢慢滴加至反应物中。注意: 在该加入时要小心, 并在反应容器中留下大量顶部空间。该反应慢慢开始, 但最终随着起泡放出大量气体。

[0170] 在加入硼氰化钠完成后, 使反应物回流 1 小时。使反应物冷却至室温, 加入 10% 盐酸 (100mL)。搅拌反应物 10 分钟, 用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。合并的有机层用饱和碳酸氢钠 (5x50mL) 洗涤。将有机层经硫酸钠干燥, 使反应物在约 30°C 下减压 (低真空) 浓缩至约 30mL。将该残余物转移至小瓶中, 用氮气流除去剩余溶剂, 得到 3-1, 为与约 40% 对甲苯磺酰肼混合的黄色油状物, 总质量 3.2g (产量约 1.3g), 收率 40%。

[0171] 将 4, 4-d₂- 环己酮 (3-1) (1.6g 粗制, 6.5mmol, 1.0 当量) 悬浮于含 10% 碳酸钾的氧化氙 (20mL) 和乙腈 (0.5mL) 中。搅拌反应物 36 小时, 届时 NMR 表明反应完成。反应物用二氯甲烷 (3x10mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 所得溶液用氮气流浓缩, 得到 3-2, 为橙色油状物 (320mg, 收率 47%)。

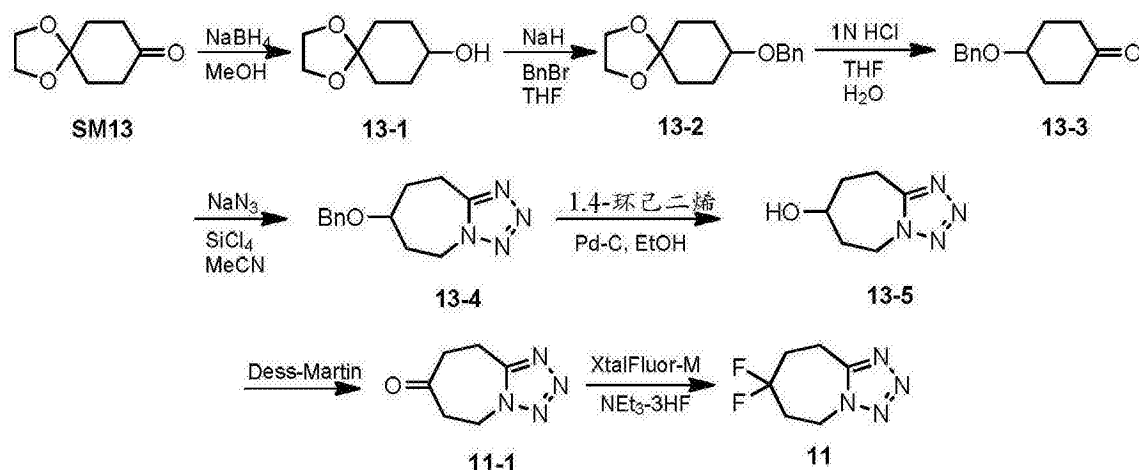
[0172] 将叠氮化钠 (563mg, 8.7mmol, 3 当量) 和四氯化硅 (0.375mL, 3.2mmol, 1 当量) 慢慢加入 2, 2, 4, 4, 6, 6-d₆- 环己酮 (3-2) (300mg, 2.9mmol, 1 当量) 的无水乙腈 (5mL) 溶液中。当 GC 显示完成反应时, 在室温下搅拌反应物约 40 小时。使反应物冷却至 0°C, 将含 10% 碳酸钠的氧化氙 (3mL) 慢慢加入反应物中。搅拌反应物 30 分钟。使凝胶样悬浮液通过硅藻土 (Celite) 过滤后, 将硅藻土用乙酸乙酯 (10mL) 洗涤。分离各层, 使乙酸乙酯经硫酸钠干燥。将反应物过滤, 经硫酸钠干燥, 并减压浓缩, 得到 180mg 产物, 通过 GC, 其纯度约为 90%。将该产物在用 0-100% 乙酸乙酯 / 庚烷的梯度洗脱的 ANALOGIX 自动柱色谱系统中进行色谱法, 得到 3 (80mg, 收率 27%), 为白色固体。

[0173] 化合物 3 表征: 熔点: 58.1-59.3°C。通过在 HP-1GC 毛细管柱中的 GC 分析 (有关详情参见实施例 1; 保留时间 = 7.52 分钟), 纯度: 99.8%。质谱法, m/z=145.2 (M+H⁺)。各自在 CDCl₃ 中进行的 ¹H NMR、¹³C NMR、²H NMR 和 COSY NMR 谱图与作为化合物 3 的产物一致。

[0174] 实施例 4: 7, 7- 二氟 -6, 7, 8, 9- 四氢 -5H- 四唑并 [1, 5-a] 氮杂葑 (11) 的合成。

[0175] 方案 5

[0176]



[0177] 1,4-二氧杂螺[4.5]癸-8-醇(13-1):将冷(0℃)的环己二酮单缩乙二醇(SM13)(6.24g,40mmol,1.0当量)的甲醇(90mL)溶液用硼氢化钠(1.60g,42mmol,1.05当量)分批处理。加入是放热的,并放出H₂。在每部分加入时,保持反应温度低于10℃,使混合物重新冷却至0℃后接着加入。当加入硼氢化钠完成时,在0℃下搅拌混合物0.75小时,然后在加热至室温的同时搅拌1.5小时。将混合物减压浓缩,以除去大部分甲醇。残留的油状固体用水(40mL)和饱和盐水(40mL)稀释-无分离的油物。混合物用氯化钠饱和,并用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。合并的有机层用饱和盐水(25mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤后,将滤液减压浓缩。将残留的无色油状物重新悬浮于乙酸乙酯(15mL)中,溶液用庚烷(45mL)稀释,混浊的溶液经浓缩,得到粗制化合物13-1(6.17g),为无色油状物。粗制化合物13-1随后使用。

[0178] 8-(苄氧基)-1,4-二氧杂螺[4.5]癸烷(13-2):将含60%氢化钠的矿物油(1.93g,48.3mmol,1.25当量)在THF(50mL)中的悬浮液在冰水浴中冷却。慢慢加入粗制化合物13-1(6.10g,38.6mmol,1.0当量)的THF(40mL)溶液以保持小于5℃。将混合物在冰水浴中搅拌20分钟,使之加热至室温,并搅拌1小时。H₂的放出非常慢。将混合物加热至约45℃并保持1小时(H₂的放出基本停止)。使黄褐色悬浮液冷却至室温,滴加苄基溴(7.26g,5.0mL,42.5mmol,1.1当量)。在加入时无明显的放热,然而,在加入完成后,反应温度在0.25小时内慢慢从21℃升至25℃。在周末期间,在室温下搅拌混合物。通过慢慢加入饱和氯化铵(45mL)将混合物猝灭。双相悬浮液用水(15mL)稀释,并用1:1乙酸乙酯和庚烷(150mL)萃取。有机相用饱和盐水(2x50mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,并将滤液减压浓缩。将残留的黄色油状物溶于最小体积的二氯甲烷中,吸附硅胶上,并干法加载到装进庚烷的硅胶柱中。柱用0-15%乙酸乙酯/庚烷的梯度洗脱,得到13-2(9.15g),为浅黄色油状物。

[0179] 4-(苄氧基)环己酮(13-3):将1N HCl(60mL)加入13-2(9.15g,36.9mmol)的THF(90mL)溶液中,在室温下搅拌混合物18小时。将混合物减压浓缩,以除去大部分THF。通过加入饱和碳酸氢钠使残留的含水油状物成为碱性,用乙酸乙酯和庚烷的1:2混合物萃取。有机层用饱和盐水(50mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,并将滤液减压浓缩,得到粗制13-3(7.53g),为黄色油状物。粗制13-3随后使用。

[0180] 7-(苄氧基)-6,7,8,9-四氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂葑(13-4):将叠氮化钠

(5.95g, 91.5mmol, 3.0 当量) 加入粗制 13-3 (6.22g, 20.5mmol, 1.0 当量) 的乙腈 (120mL) 溶液中。将四氯化硅 (3.6mL, 30.5mmol, 1.0 当量) 滴加至悬浮液中, 在室温下搅拌混合物, 悬浮液随之变得更浓稠。在约 20 小时后, 将浓稠的黄色悬浮液慢慢倒入冷的 (约 5℃) 10% 碳酸钠 (700mL) 中。将悬浮液用乙酸乙酯 (3x200mL, 1x100mL) 萃取—一些不溶物仍保持在水相中。合并的有机层用饱和盐水 (2x150mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并将滤液减压浓缩, 得到黄褐色固体。TLC (含 50% 乙酸乙酯的庚烷, Hanessian 染料) 显示 13-3、一些较高 R_f 杂质和基线原料。将粗产物溶于乙酸乙酯 (250mL), 加入硅胶 (5g) 和炭 (0.7g), 在 40℃ 下搅拌溶液 0.25 小时。使混合物通过硅藻土垫过滤, 将垫用乙酸乙酯 (400mL) 洗涤。滤液经减压浓缩, 得到浅黄褐色固体。粗产物在用含 0-5% 甲醇的二氯甲烷洗脱的 ANALOGIX 自动色谱系统中纯化, 得到 13-4 (4.12g, 通过 LCMS, 纯度约 91%), 为灰白色固体。

[0181] 6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂 **葸** 7-醇 (13-5): 使 1, 4-环己二烯 (10.13g, 11.8mL, 126.6mmol, 7.5 当量)、20%Pd/C (0.41g, 50% 湿) 和 13-4 (4.12g, 16.88mmol, 1.0 当量) 的乙醇 (150mL) 混合物回流 21.5 小时。使混合物冷却到室温, 通过硅藻土垫过滤, 将垫用乙醇 (200mL) 洗涤。将滤液 (略微混浊) 浓缩, 得到灰白色固体。将固体溶于温热的丙酮 (100mL) 中, 使溶液冷却, 并通过硅藻土垫过滤, 将垫用丙酮 (100mL) 洗涤。滤液经浓缩, 得到固体, 将其用 MTBE (50mL) 研磨, 过滤, 并在真空炉中于 40-45℃ 干燥 17 小时, 得到 13-5 (2.24g), 为浅灰色固体。

[0182] 8, 9-二氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂 **葸** 7(6H)-酮 (11-1): 将戴斯·马丁过碘烷 (Dess-Martin periodinane) (630mg, 1.52mmol, 1.3 当量) 加入 6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂 **葸** 7-醇 (13-5) (200mg, 1.29mmol, 1.0 当量) 的 THF (3.0mL) 溶液中, 搅拌混合物过夜。将饱和碳酸氢钠 (20mL) 加入反应物中, 并搅拌 30 分钟。混合物用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。残余物在用含 30-100% 乙酸乙酯的庚烷梯度洗脱的 AnaLogix 自动柱色谱系统中进行色谱法, 得到 11-1 (70mg, 收率 36%), 为白色固体。

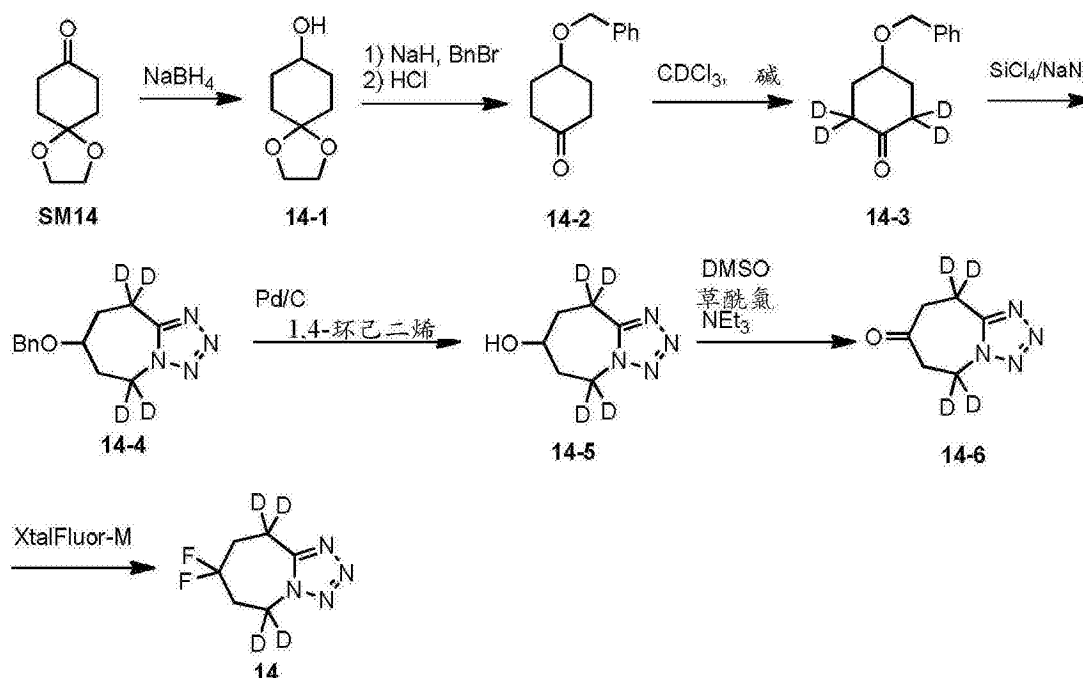
[0183] 7, 7-二氟-6, 7, 8, 9-四氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂 **葸** (11): 将三乙胺三氢氟酸盐 (0.13mL, 0.8mmol, 3.0 当量) 和 XTALFLUOR-M 试剂 (126mg, 0.52mmol, 2.0 当量) 依次加入 8, 9-二氢-5H-四唑并 [1, 5-a] 氮杂 **葸** 7(6H)-酮 (11-1) (40mg, 0.26mmol, 1.0 当量) 的二氯甲烷 (3mL) 溶液中。在室温下搅拌混合物过夜。将饱和碳酸氢钠 (10mL) 加入反应物中, 并搅拌 30 分钟。混合物用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩, 将残余物在用含 10-40% 乙酸乙酯的庚烷梯度洗脱的 ANALOGIX 自动柱色谱系统中进行色谱法, 得到 11 (30mg, 收率 66%), 为白色固体。

[0184] 化合物 11 表征: 通过 HP-5MS GC 毛细管柱上的 GC 分析 (30m x 250 μ m x 0.25 μ m; 保持在 50℃ 下 1 分钟, 递增 20℃ / 分钟至 280℃, 保持在 280℃ 下 1 分钟; 流动相, 5% 苯基甲基硅氧烷, 保留时间 = 7.37 分钟), 纯度: >99%。GC-MS, m/z = 174.0 $[M]^+$ 。各自在 $CDCl_3$ 中进行的 1H NMR、COSY NMR、 ^{13}C NMR 和 ^{19}F NMR 谱图与作为化合物 11 的产物一致。图 2 提供代表性 ^{19}F NMR 谱图。

[0185] 实施例 5 :6, 6, 10, 10- d_4 -8, 8- 二氟 -6, 7, 8, 9- 四氢 -5H- 四唑并 [1, 5-a] 氮杂 葎 (14) 的合成

[0186] 方案 6

[0187]



[0188] 1,4- 二氧杂螺 [4.5] 癸 -8- 醇 (14-1) :在 0-10℃下,将硼氢化钠 (0.8g,21mmol, 1.05 当量) 分批加入溶于甲醇 (50mL) 的 1,4- 二氧杂螺 [4.5] 癸 -8- 酮 (SM14) (3.1g, 20mmol,1.0 当量) 溶液中。在室温下搅拌混合物 3 小时,并减压浓缩以除去大部分溶剂。加入水 (50mL),搅拌混合物 30 分钟。混合物用乙酸乙酯 (3x50mL) 萃取,合并的有机层用依次用 1N HCl (30mL)、水和饱和盐水洗涤。有机层经硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩,得到 14-1 (3.0g,收率 96%),为无色油状物,随后使用。

[0189] 4-(苄氧基) 环己酮 (14-2) :在 0℃下,将 60% 氢化钠的矿物油分散体 (760mg, 23mmol,1.2 当量) 加入 1,4- 二氧杂螺 [4.5] 癸 -8- 醇 (14-1) (3.0g,19mmol,1.0 当量) 的无水 THF (50mL) 溶液中。6 小时后,将苄基溴 (2.5mL,21.3mmol,1.1 当量) 加入混合物中。在室温下搅拌混合物过夜。加入 4N HCl 溶液 (30mL),在室温下再搅拌反应物 6 小时。反应物用 4N 氢氧化钠中和至 pH 约 7,并用乙酸乙酯 (3x100mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。残余物在用含 0-30% 乙酸乙酯的庚烷梯度洗脱的 AnaLogix 自动柱色谱系统中纯化,得到 14-2 (3.0g,收率 77%),为浅黄色油状物。

[0190] 4-(苄氧基)-2,2,6,6- d_4 - 环己酮 (14-3) :将三氮杂双环癸烯 (TBD) (200mg, 1.44mmol,0.1 当量) 加入溶于氯仿- d (50mL) 的 4-(苄氧基) 环己酮 (14-2) (3.0g, 14.7mmol,1.0 当量) 溶液中。在室温下搅拌混合物过夜,届时, ^1H -NMR 显示 85% 氘掺入。然后使混合物回流 6 小时,届时 ^1H -NMR 显示氘交换完成。使反应物冷却至室温,并依次用 1N HCl (20mL)、水和饱和盐水洗涤。有机层经硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩,得到 14-3 (3.0g, 收率 98%),为浅黄色油状物,随后使用。

[0191] 8-(苄氧基)-6,6,10,10- d_4 -6,7,8,9- 四氢 -5H- 四唑并 [1,5-a] 氮杂 葎 (14-4) :

将叠氮化钠 (2.81g, 43.2mmol, 3.0 当量) 和四氯化硅 (1.65mL, 14.4mmol, 1.0 当量) 加入含 4-(苄氧基)-2,2,6,6-d₄-环己酮 (14-3) (3.0g, 14.4mmol, 1.0 当量) 的无水乙腈 (40mL) 溶液中。在室温下搅拌反应物 48 小时, 并倒入冰冷的饱和碳酸氢钠 (100mL) 中。将混合物搅拌 30 分钟, 用二氯甲烷 (3x150mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。残余物在用含 0-5% 甲醇的氯甲烷梯度洗脱的 ANALOGIX 自动柱色谱系统中纯化, 得到 14-4 (2.7g, 收率 75%, 在第 6 和 10 位质子 7%), 为白色固体。

[0192] 6,6,10,10-d₄-6,7,8,9-四氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 (14-5): 将 7-(苄氧基)-6,6,10,10-d₄-6,7,8,9-四氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 (14-4) (2.7g, 10.9mmol, 1.0 当量) 溶于乙醇 (200mL) 中, 随后加入 20%Pd/C (270mg, 50% 湿) 和 1,4-环己二烯 (12mL, 127mmol, 12 当量)。使混合物回流过夜, 冷却至室温, 并经硅藻土垫过滤, 将垫用乙醇 (100mL) 洗涤。滤液经减压浓缩, 得到 14-5 (1.55g, 收率 90%), 为灰白色固体, 随后使用。

[0193] 6,6,10,10-d₄-8,9-二氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 7(6H)-酮 (14-6): 在 -78℃ 下, 将无水 DMSO (0.8mL, 22mmol, 2.4 当量) 加入含草酰氯 (0.95mL, 11mmol, 1.2 当量) 的二氯甲烷 (20mL) 溶液中。在 -78℃ 下搅拌混合物 0.5 小时, 随后滴加 6,6,10,10-d₄-6,7,8,9-四氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 7-醇 (14-5) (1.5g, 9.5mmol, 1.0 当量) 的二氯甲烷 (200mL) 溶液, 保持温度低于 -65℃。再在 -78℃ 下搅拌反应物 2 小时, 加入三乙胺 (7.7mL, 55mmol, 6 当量), 在 -78℃ 下搅拌混合物 30 分钟。在加热至室温后, 加入水 (100mL), 分离有机层, 用水、饱和盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物在用含 0-5% 甲醇的二氯甲烷梯度洗脱的 ANALOGIX 自动柱色谱系统中纯化, 得到 14-6 (800mg, 收率 55%), 为白色固体。

[0194] 6,6,10,10-d₄-8,8-二氟-6,7,8,9-四氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 (14): 将三乙胺氢氟酸盐 (0.68mL, 4.2mmol, 3.0 当量) 和 Xtalfluor-M 试剂 (680mg, 2.8mmol, 2.0 当量) 依次加入 6,6,10,10-d₄-8,9-二氢-5H-四唑并[1,5-a]氮杂⁷醇 7(6H)-酮 (14-6) (220mg, 1.4mmol, 1.0 当量) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液中。在室温下搅拌混合物过夜, 接着加入饱和碳酸氢钠 (30mL)。将混合物搅拌 30 分钟, 用二氯甲烷 (3x50mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物在用含 10-40% 乙酸乙酯的庚烷梯度洗脱的 ANALOGIX 自动柱色谱系统上纯化, 得到 14 (200mg, 收率 80%), 为白色固体。

[0195] 化合物 14 表征: 通过 HP-5MS GC 毛细管柱上的 GC 分析 (30m x 250 μm x 0.25 μm; 保持在 50℃ 下 1 分钟, 递增 20℃ / 分钟至 280℃, 保持在 280℃ 下 1 分钟; 流动相, 5% 苯基甲基硅氧烷, 保留时间 = 7.43 分钟), 纯度: >99%。GC-MS, m/z = 178.1 [M]⁺。各自在 CDCl₃ 中进行的 ¹H NMR、COSY NMR、¹³C NMR、¹⁹F NMR 和 ²H NMR 谱图与作为化合物 14 的产物的一致。图 3 提供代表性 ²H NMR 谱图。

[0196] 实施例 6: 人肝微粒体中代谢稳定性的评价。

[0197] 已发表的报告发现氘取代对化合物的代谢速率可具有可变的和不可预测的作用。参见例如 Blake 等, 1975, J. Pharm. Sci. 64:367-391; Foster, 1985, Adv. Drug

Res. 14:1-40 ;Kushner 等, 1999, Can. J. Physiol. Pharmacol. 79-88 ;Fisher 等, 2006, Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 9:101-109 ;Fukuto 等, 1991, J. Med. Chem. 34:2871-2876。

[0198] 本实施例表明, 氘化 PTZ 同位素体的代谢半寿期彼此不同并且不同于 PTZ 的代谢半寿期。

[0199] 人肝微粒体 (批号 FJM) 获自 Celsis (Baltimore, MD)。NADPH 再生系统溶液 A (批号 29850) 和 B (批号 28594) 的组分获自 BD Gentest (Woburn, MA)。睾酮 (批号 FE111011-01) 购自 Cerilliant (Round Rock, TX)。所有溶剂和缓冲液获自商业来源, 无需进一步纯化便可使用。

[0200] 将各试验化合物和睾酮在 DMSO 中制成 10mM 母液。将含有 50mM 磷酸钾缓冲液 pH7.4、3mM MgCl_2 、1mg/mL 人肝微粒体和 1 μM 试验化合物或睾酮的混合物在振荡的水浴中于 37°C 预保温 5 分钟。通过将 5 体积的溶液 A 和 1 体积的溶液 B 混合, 并在振荡的水浴中于 37°C 预热, 来制备 NADPH 再生系统 (1.3mM NADP^+ 、3.3mM 葡萄糖-6-磷酸、0.4U/mL 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 3.3mM 氯化镁)。通过将 NADPH 再生系统加入混合物中以启动反应。在保温 0、5、10、15、30 和 45 分钟后, 从保温板中取出 0.1mL 反应混合物, 在 96 孔防冲板的适当孔中与 0.15mL 冰冷的乙腈混合。把 96 孔防冲板置于冰上 15 分钟, 将样品离心 (2,500g, 10 分钟, 4°C) 以沉淀蛋白质。在 96 孔浅注射板中, 将上清液用含有 0.015 μM 维拉帕米的水 (内标) 稀释 1:1 (v/v), 将板密封, 供利用 API150 单四极质谱仪的 LC/MS 或 LC/MS/MS 分析。

[0201] 通过与零时间点比较, 由 LC/MS 峰面积确定剩余的残留化合物 (%R)。由 $\ln(\%)$ 对时间作图的斜率计算代谢半寿期 ($t_{1/2}$) 和内在清除率 (CL_{int}) 值。

[0202] 如表 1 所示, 在所测试的测定条件下, 与 PTZ 的 $t_{1/2}$ 相比, 化合物 1、2 和 4 的体外 $t_{1/2}$ 延长。

[0203] 表 1: 在人肝微粒体存在下 PTZ 衍生物的代谢稳定性

[0204]

化合物	$t_{1/2}$ (分钟)	CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{分钟}$ /mg)	相对于 PTZ 的 $t_{1/2}$ $t_{1/2}$ 延长 (%)
PTZ	521	1.3	-
化合物 1	756	0.9	45.1
化合物 2	554	1.3	6.3
化合物 4	567	1.2	8.8
化合物 3	506	1.4	-2.9
睾酮	9.1	76	n/a

[0205] 表 1 的结果表明, 氘 PTZ 同位素体的半寿期不均匀, 彼此不同且不同于 PTZ, 这取决于分子内氘原子的位置。

[0206] 无需进一步说明, 相信本领域普通技术人员可利用前述描述和示例性实施例, 制

备和利用本发明的化合物,并实施要求保护的方法。应理解,前面的论述和实施例仅供详细描述某些实施方案,并无意限制本公开内容的范围。对于本领域的技术人员而言将是显而易见的是,在不偏离本发明的精神和范围的情况下,可进行各种修改并得到等同内容。

[0207] 提供上文给出的实施例,以为本领域普通技术人员提供如何制备和使用实施方案的完整公开内容和描述,并且无意限制本公开内容的范围。对本领域技术人员显而易见的是,用于实现所述公开内容对上述方式的修改意欲落入所附权利要求书的范围之内。

[0208] 本说明书所引用的所有出版物、专利和专利申请均通过引用结合到本文中,其程度与各所述出版物、专利或专利申请具体而单独指明通过引用全部结合到本文中一样。

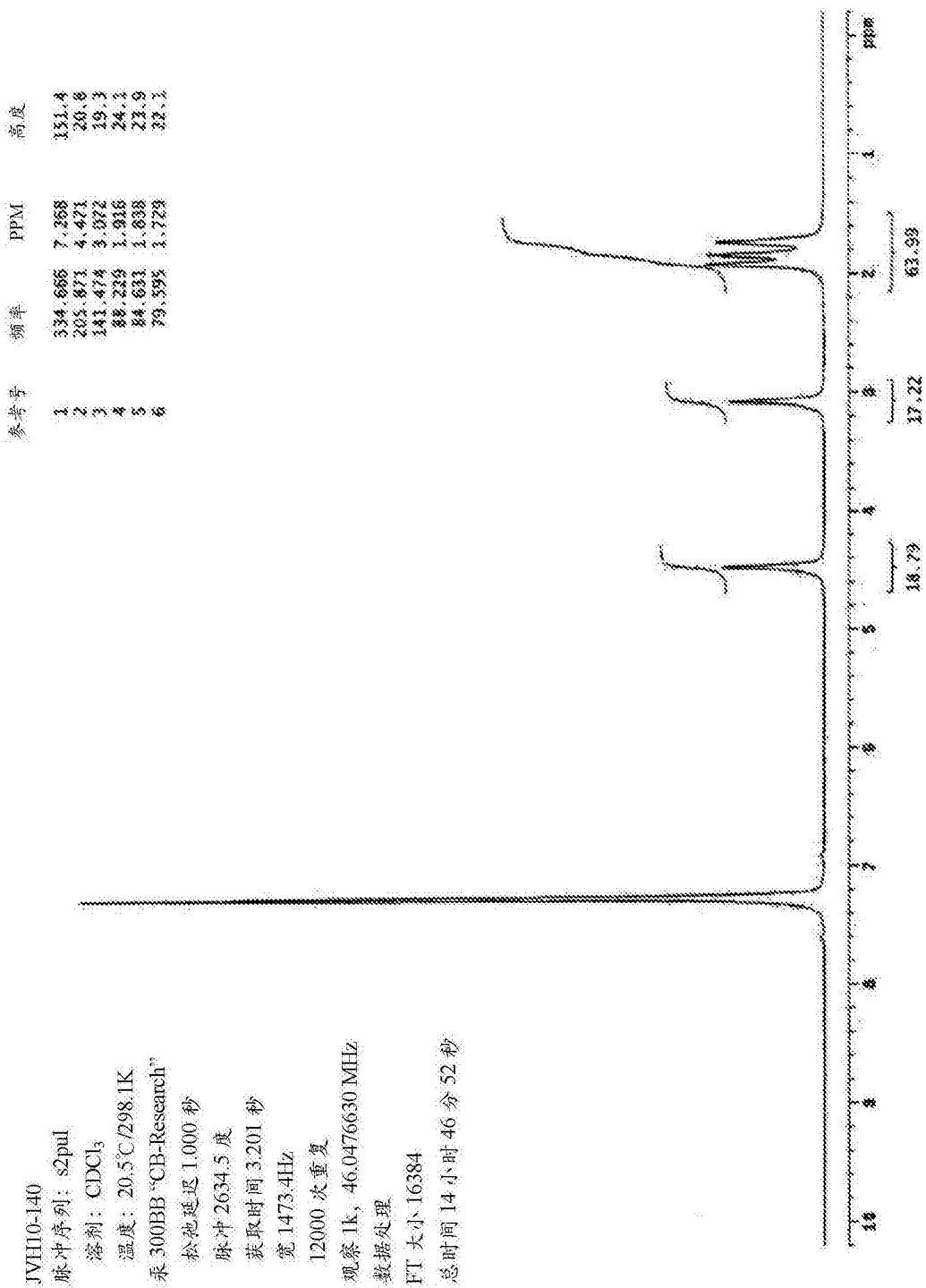


图 1

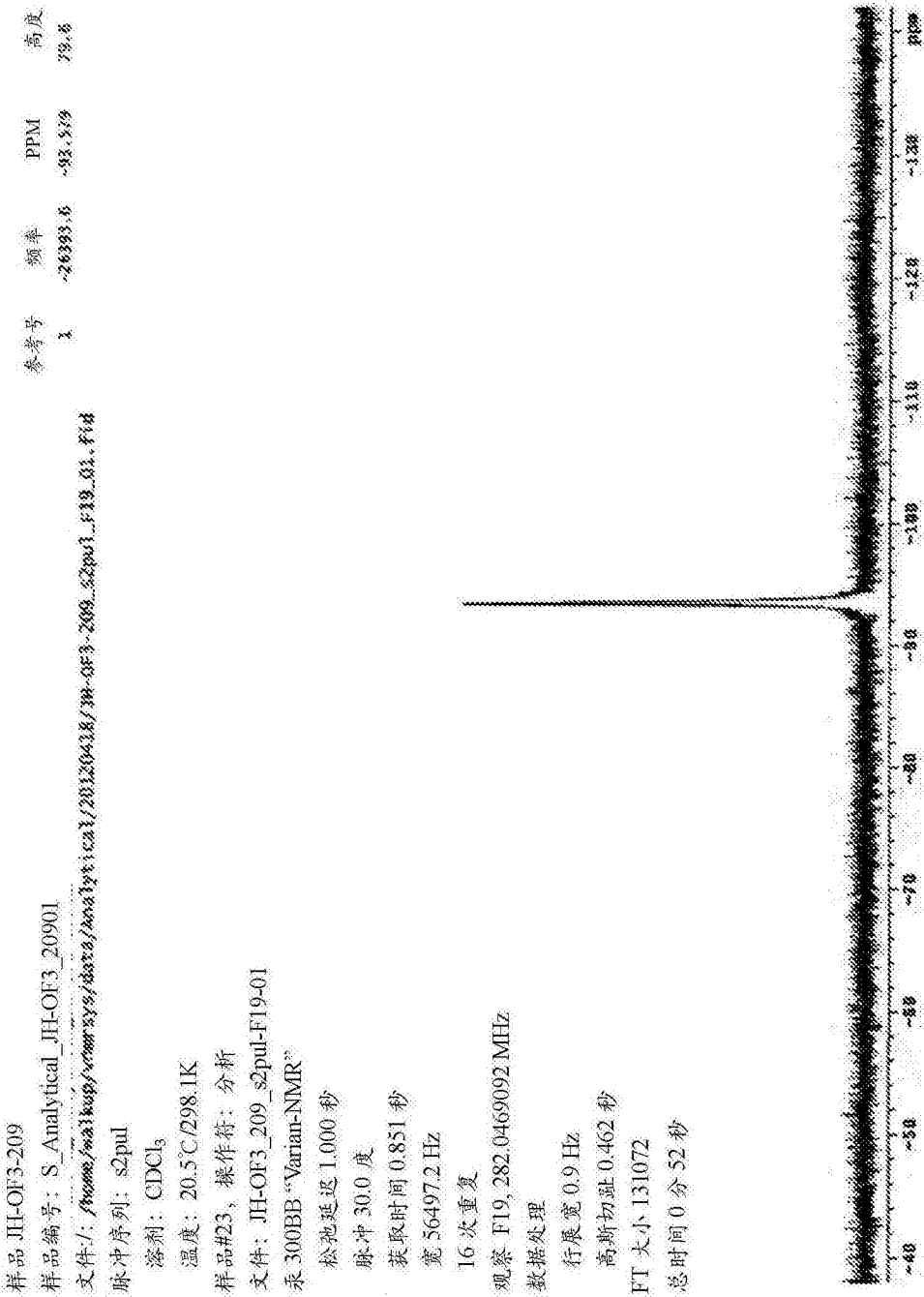


图 2

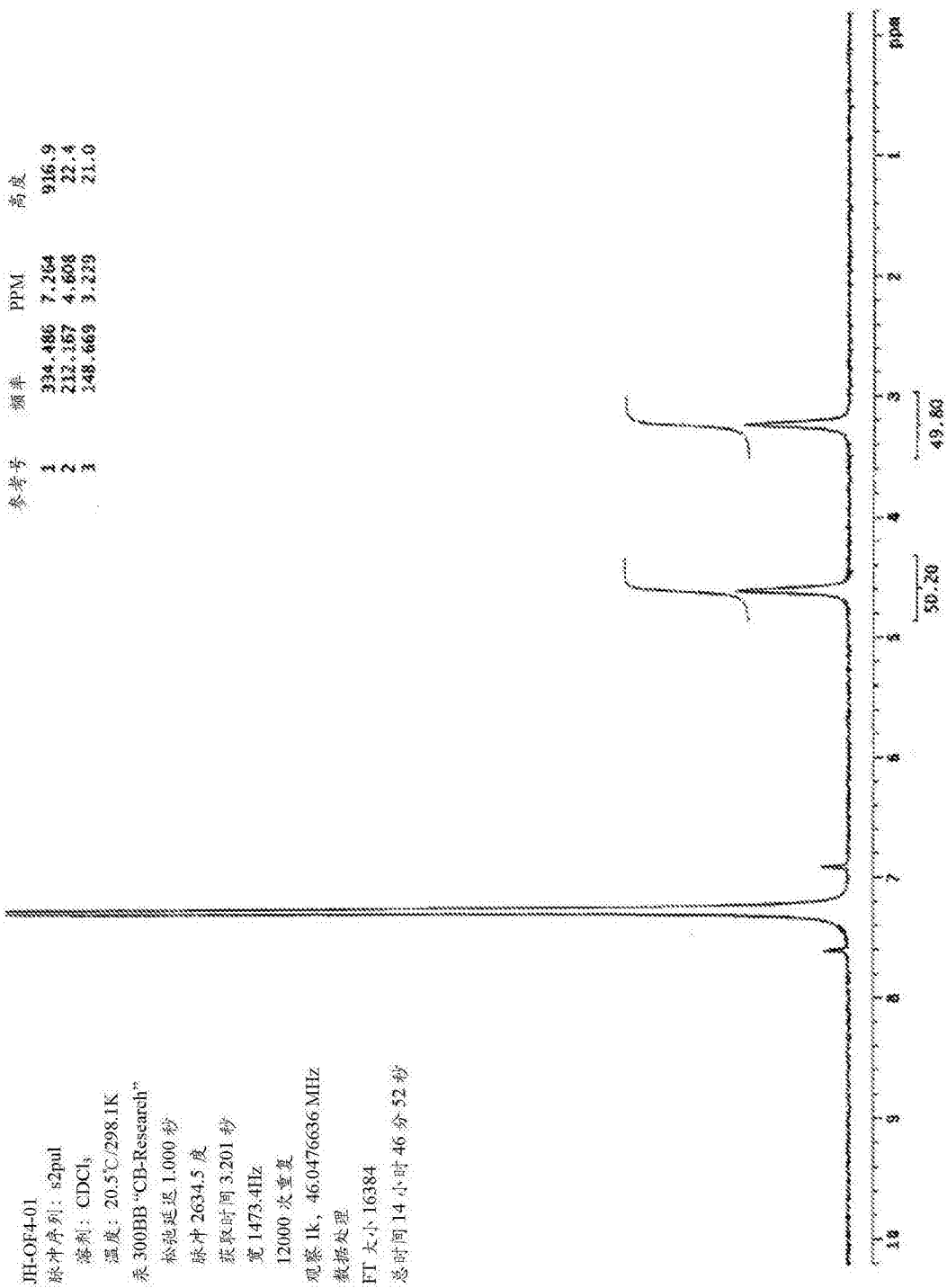


图 3