



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103933036 B

(45)授权公告日 2017.10.13

(21)申请号 201310025383.3

(22)申请日 2013.01.23

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103933036 A

(43)申请公布日 2014.07.23

(73)专利权人 中国人民解放军军事医学科学院

毒物药物研究所

地址 100850 北京市海淀区太平路27号

(72)发明人 李云峰 杨日芳 张黎明 仇志坤

赵楠 李永臻 陈红霞 张有志

张城 王真真 袁莉 王好山

薛瑞 恽榴红

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 刘海罗

(51)Int.Cl.

A61K 31/437(2006.01)

A61K 31/444(2006.01)

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 25/18(2006.01)

A61P 25/22(2006.01)

A61P 25/24(2006.01)

审查员 包宁疆

权利要求书1页 说明书17页 附图3页

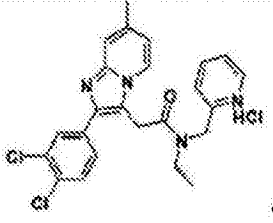
(54)发明名称

2-芳基咪唑并[1,2- $\alpha$ ]吡啶-3-乙酰胺衍生物在制备防治PTSD的药物中的用途

(57)摘要

本发明属于医药化工领域,涉及2-芳基咪唑并[1,2- $\alpha$ ]吡啶-3-乙酰胺衍生物在制备防治PTSD的药物中的用途。具体地,本发明涉及TSPO配体例如式I所示的化合物或其可药用盐在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物中的用途。TSPO配体例如式I所示的化合物或其可药用盐能够有效地预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD,能够用于制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物。

1. YL-IPA08在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗创伤后应激障碍的药物的用途,所述 YL-IPA08的结构式为:



2. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物还包含药学上可接受的载体或辅料。

## 2-芳基咪唑并[1,2- $\alpha$ ]吡啶-3-乙酰胺衍生物在制备防治PTSD的药物中的用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药化工领域,涉及2-芳基咪唑并[1,2- $\alpha$ ]吡啶-3-乙酰胺衍生物在制备防治PTSD的药物中的用途。

### 背景技术

[0002] 近年来,随着全球范围内严重自然灾害、重大传染病流行、军事冲突等突发事件不断发生,创伤后应激障碍(posttraumatic stress disorder,简称为PTSD)已成为危害人类健康的重大疾病。

[0003] PTSD是指个体在遭遇异乎寻常的威胁或灾难后延迟出现并长期持续的精神障碍,临床表现主要包括病理性重现、持续性警觉性增高和回避。PTSD的诊断标准、发病机制、动物模型等方面与抑郁症、焦虑症等是不同的。临床上PTSD的诊断标准可以参考Barlow, D.H., & Durand, V.M. (2006) 著,杨霞翻译,异常心理学(第四版),中国轻工业出版社(例如第167页)。

[0004] 目前治疗PTSD一线用药是以5-HT重摄取抑制剂(SSRIs)为代表的抗抑郁剂,美国FDA批准用于治疗PTSD的药物只有SSRIs类的舍曲林和帕罗西汀,遗憾的是,这些药物存在有效率不高、起效延迟(2-4周以上)和不良反应严重等问题,限制了其临床应用,且目前国内还没有抗PTSD的药物上市。

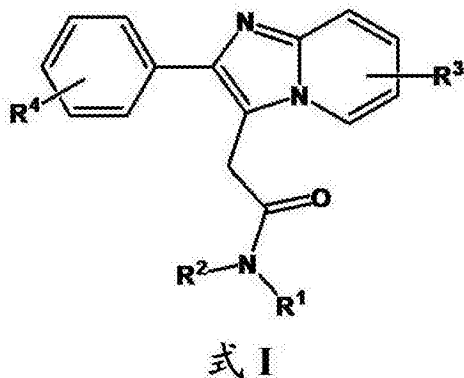
[0005] 18KD转位蛋白(Translocator Protein, TSPO)在脑内主要位于胶质细胞线粒体外膜上,通过介导神经类固醇合成调控GABA能神经传导,并可抑制海马-下丘脑-垂体-肾上腺(HHPA)轴功能,调节情绪及应激反应。目前尚未系统地发现TSPO与PTSD之间有明确的关系;也没有文献报导TSPO配体抗PTSD的作用。

### 发明内容

[0006] 本发明人经过深入的研究和创造性的劳动,发现TSPO配体(例如YL-IPA08,其名称和结构式请参见表1中的化合物8)具有显著的抗PTSD作用。揭示了TSPO配体(例如TSPO激动剂或TSPO激活剂)在制备防治PTSD药物的重要价值。由此提供了下述发明:

[0007] 本发明的一个方面涉及TSPO配体在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物中的用途。具体地,所述TSPO配体是下面的式I或式II所示的化合物。

[0008] 本发明的另一方面涉及式I所示的化合物或其可药用盐在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物中的用途,



[0009]

[0010] 其中：

[0011]  $R^1$ 选自乙基、丙基、丁基、和甲氧乙基；[0012]  $R^2$ 选自苄基、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基、4-吡啶甲基、2-吗啉基乙基、和3-吗啉丙基；[0013]  $R^3$ 、 $R^4$ 分别独立地选自H、卤素、烷烃基、取代烃基、烯烃基、取代烯烃基、苯基、取代的苯基、杂芳基、取代的杂芳基、 $C_1$ - $C_6$ 烷氧基、 $C_5$ - $C_{10}$ 芳氧基、取代芳氧基、 $C_1$ - $C_6$ 烷胺基、 $C_5$ - $C_{10}$ 芳胺基、取代芳胺基、二- ( $C_1$ - $C_6$ 烷基) 胺基、二- ( $C_5$ - $C_{10}$ 芳基) 胺基、二- (取代芳基) 胺基、 $C_1$ - $10$ 烃酰氧基、 $C_6$ - $10$ 芳酰氧基、 $C_1$ - $10$ 烃酰胺基、 $C_6$ - $10$ 芳酰胺基、羧基、 $C_1$ - $10$ 烃氧甲酰基、 $C_6$ - $10$ 芳氧甲酰基、氨甲酰基、 $C_1$ - $10$ 烃胺甲酰基、或 $C_6$ - $10$ 芳胺甲酰基；其中，所述杂芳环为含有1-3个选自N、O或S的杂原子的单环或稠环芳香烃基，每个带有取代基的基团中的所述取代基选自卤素、羟基、氰基、硝基、 $C_1$ - $6$ 烷基、 $C_1$ - $6$ 烷氧基、 $C_1$ - $6$ 烷硫基、一或二或三卤代的 $C_1$ - $6$ 烷基、氨基、 $C_1$ - $6$ 烷胺基、 $C_1$ - $10$ 烃酰氧基、 $C_1$ - $10$ 烃酰胺基、 $C_6$ - $10$ 芳酰氧基、和 $C_6$ - $10$ 芳酰胺基。

[0014] 根据本发明，式I化合物的药用盐可以是酸加成盐或与碱形成的盐。所述酸加成盐可以是无机酸盐，包括但不限于盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、或氢溴酸盐等；或有机酸盐，包括但不限于乙酸盐、草酸盐、柠檬盐、葡萄糖酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、或马来酸盐等；式I化合物与碱形成盐可以是碱金属盐，包括但不限于锂盐、钠盐、或钾盐等；或碱土金属盐，包括但不限于钙盐或镁盐；或者是有机碱盐，包括但不限于二乙醇胺盐或胆碱盐等；或手性碱盐，包括但不限于烷基苯基胺盐等。

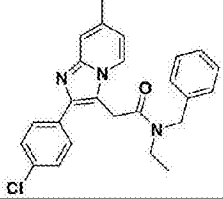
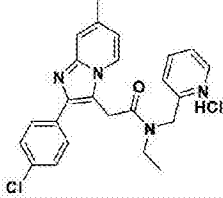
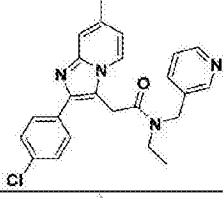
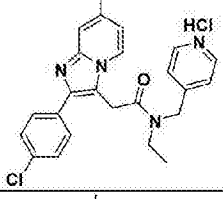
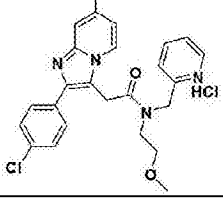
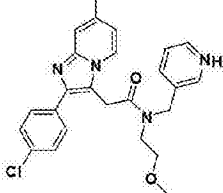
[0015] 根据本发明任一项所述的用途，其中， $R^3$ 有1-2个取代基，并且 $R^3$ 位于咪唑并[1,2-a]吡啶环的4-、5-、6-、或7-位； $R^4$ 有1-3个取代基，并且 $R^4$ 位于苯环的邻-位、间-位、或对-位。[0016] 根据本发明任一项所述的用途，其中， $R^3$ 、 $R^4$ 各自独立地选自F、Cl、Br、I、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 烷氧基乙基、和 $C_1$ - $C_6$ 烷氧基；具体地， $R^3$ 、 $R^4$ 各自独立地选自F、Cl、甲基、乙基、甲氧基乙基、甲氧基、和乙氧基。

[0017] 根据本发明任一项所述的用途，其满足以下(1)至(4)中的一项或多项：

[0018] (1)  $R^1$ 为乙基或甲氧乙基；[0019] (2)  $R^2$ 为苄基、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基、4-吡啶甲基、或2-吗啉基乙基；[0020] (3)  $R^3$ 为6-甲基或7-甲基；[0021] (4)  $R^4$ 为4-氯、3,4-二氯、4-甲基、或4-甲氧基。

[0022] 根据本发明任一项所述的用途，其中，所述化合物或其可药用盐选自下面的表1所示的化合物或其可药用盐：

[0023] 表1：本发明的部分化合物或其可药用盐

| 化合物编号 | 化合物名称  | 结构式   |
|-------|--|---|
| 1     | N-苄基-N-乙基-2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺                   |    |
| 2     | N-乙基-N-(2-吡啶甲基)-2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐         |    |
| 3     | N-乙基-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐         |    |
| 4     | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐         |   |
| 5     | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吡啶甲基)-2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐  |  |
| 6     | N-(2-甲氧基乙基)-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |  |

[0024]

| 化合物编号             | 化合物名称  | 结构式 |
|-------------------|--|-----|
| 7                 | N-苄基-N-乙基-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺                  |     |
| 8<br>(即 YL-IPA08) | N-乙基-N-(2-吡啶甲基)-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 9                 | N-乙基-N-(3-吡啶甲基)-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 10                | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 11                | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吡啶甲基)-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 12                | N-(2-甲氧基乙基)-N-(3-吡啶甲基)-2-(3,4-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 13                | N-苄基-N-乙基-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺                    |     |

[0025]

| 化合物编号        | 化合物名称  | 结构式 |
|--------------|--|-----|
| 14           | N-乙基-N-(2-吡啶甲基)-2-(2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺)·盐酸盐    |     |
| 15           | N-乙基-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 16           | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| [0026]<br>17 | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 18           | N-(2-甲氧基乙基)-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 19           | N-苄基-N-乙基-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺                 |     |
| 20           | N-乙基-N-(2-吡啶甲基)-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐       |     |

| 化合物编号     | 化合物名称   | 结构式 |
|-----------|---|-----|
| 21        | N-乙基-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 22        | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐        |     |
| 23        | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吡啶甲基)-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| [0027] 24 | N-(2-甲氧基乙基)-N-(3-吡啶甲基)-2-(4-甲氧基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 25        | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吗啉基乙基)-2-(4-甲基苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 26        | N-(2-甲氧基乙基)-N-(2-吗啉基乙基)-2-(4-甲基苯基)-6-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐 |     |
| 27        | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(4-甲基苯基)-6-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐         |     |
| [0028] 28 | N-乙基-N-(4-吡啶甲基)-2-(4-氯苯基)-6-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺·盐酸盐          |     |

[0029] 上述化合物的制备方法参见公开号为CN102295642A(申请号为201010209752.0)



的中国专利申请。该专利申请的全部内容通过引用并入本发明。

[0030] 本发明的再一方面涉及含有前面任一项中所述的化合物和/或其可药用盐的药物组合物在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物中的用途。所述的药物组合物还可以包含药学上可接受的载体或辅料。

[0031] 所述药物用于动物,优选用于哺乳动物,特别是人。通常本发明药物组合物含有0.1-90重量%的式I化合物和/或其生理上可接受的盐。药物组合物可根据本领域已知的方法制备。用于此目的时,如果需要,可将式I化合物或其可药用盐与一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅料结合,制成可作为人用的适当的施用形式或剂量形式。

[0032] 式I化合物或其可药用盐或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药,给药途径可为肠道或非肠道,如口服、肌肉、皮下、鼻腔、口腔粘膜、皮肤、腹膜或直肠等。给药剂型例如片剂、胶囊、滴丸、气雾剂、丸剂、粉剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、脂质体、透皮剂、口含片、栓剂、冻干粉针剂等。可以是普通制剂、缓释制剂、控释制剂及各种微粒给药系统。为了将单位给药剂型制成片剂,可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是,例如稀释剂与吸收剂,如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等;湿润剂与粘合剂,如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等;崩解剂,例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等;崩解抑制剂,例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等;吸收促进剂,例如季铵盐、十二烷基磺酸钠等;润滑剂,例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片,例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片,或双层片和多层片。为了将给药单元制成丸剂,可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是,例如稀释剂与吸收剂,如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、Gelucire、高岭土、滑石粉等;粘合剂如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等;崩解剂,如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。为了将给药单元制成栓剂,可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是,例如聚乙二醇、卵磷脂、可可脂、高级醇、高级醇的酯、明胶、半合成甘油酯等。为了将给药单元制成胶囊,将有效成分式I化合物或其可药用盐与上述的各种载体混合,并将由此得到的混合物置于硬的明明胶囊或软胶囊中。也可将有效成分式I化合物或其可药用盐制成微囊剂,混悬于水性介质中形成混悬剂,亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。为了将给药单元制成注射用制剂,如溶液剂、乳剂、冻干粉针剂和混悬剂,可以使用本领域常用的所有稀释剂,例如,水、乙醇、聚乙二醇、1,3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外,为了制备等渗注射液,可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油,此外,还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH调节剂等。

[0033] 此外,如需要,也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

[0034] 本文所用的术语“组合物”意指包括包含指定量的各指定成分的产品,以及直接或间接从指定量的各指定成分的组合产生的任何产品。

[0035] 本发明的再一方面涉及一种预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的方法,包括给予受试者有效量的前面任一项中所述的化合物和/或其可药用盐或者前述的药物组合物的步骤。

[0036] 式I化合物或其可药用盐的给药剂量取决于许多因素,例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度,患者或动物的性别、年龄、体重及个体反应,所用的具体化合物,给药途径及给药次数等。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个,例如二、三或四个剂量形式给药。

[0037] 可改变药物组合中各活性成分的实际剂量水平,以便所得的活性化合物量能有效针对具体患者、组合物和给药方式得到所需的治疗反应。剂量水平须根据具体化合物的活性、给药途径、所治疗病况的严重程度以及待治疗患者的病况和既往病史来选定。但是,本领域的做法是,化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始,逐渐增加剂量,直到得到所需的效果。

[0038] 当用于上述治疗和/或预防或其他治疗和/或预防时,治疗和/或预防有效量的一种化合物可以以纯形式应用,或者以药学可接受的酯或前药形式(在存在这些形式的情况下)应用。或者,所述化合物可以以含有该目的化合物与一种或多种药物可接受赋形剂的药物组合物给药。词语“预防和/或治疗有效量”的本发明化合物指以适用于任何医学预防和/或治疗的合理效果/风险比治疗障碍的足够量的化合物。但应认识到,化合物和组合物的总日用量须由主诊医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者,具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定,所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度;所采用的具体化合物的活性;所采用的具体组合物;患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率;治疗持续时间;与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物;及医疗领域公知的类似因素。例如,本领域的做法是,化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始,逐渐增加剂量,直到得到所需的效果。一般说来,式I化合物用于哺乳动物特别是人的剂量可以介于0.001—1000mg/kg体重/天,例如介于0.01—100mg/kg体重/天,例如介于0.01—10mg/kg体重/天。

[0039] 术语“受试者”优选为哺乳动物,更优选为人。

[0040] 本发明所引述的所有文献(包括专利文献或非专利文献),它们的全部内容通过引用并入本文,并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时,以本发明的表述为准。此外,本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。

[0041] 在本发明中,术语“卤”、“卤素”、“Hal”或“卤代”是指氟、氯、溴、和碘。

[0042] 在本发明中,术语“烷基”、“链烯基”和“炔基”具有本领域公知的一般含义,它们是直链或支链的烃基基团,例如但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、烯丙基、丙烯基、丙炔基等,并且所述的“烷基”、“链烯基”和“炔基”可以统称为“烃基”或“链烃基”。在本发明一个优选的实施方案中,所述的“烃基”是指烷基包括链烷基和环烷基,特别是链烷基例如C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

[0043] 在本发明中,术语“取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基”是指具有指定数目碳原子的取代或未取代的烷基基团,其实例包括但不限于:甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、戊基、新

戊基、己基。C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基也可做类似理解。

[0044] 发明的有益效果

[0045] TSP0配体例如2-芳基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺衍生物(特别是化合物YL-IPA08)能够有效地预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD,能够用于制备预防和/或治疗和/或辅助治疗PTSD的药物。

#### 附图说明

[0046] 图1:条件性恐惧的建立。测定第1天的僵住时间。其中,纵坐标是僵住时间(Freezing time);ext、veh分别指消退训练组(extinction,灌胃给予蒸馏水);模型对照组(vehicle,灌胃给予蒸馏水)。

[0047] 图2:恐惧消退训练。测定第2天的僵住时间。其中,纵坐标是僵住时间(Freezing time);ext、veh分别指消退训练组(extinction,灌胃给予蒸馏水);模型对照组(vehicle,灌胃给予蒸馏水)。

[0048] 图3:条件性恐惧消退保持测试。图3A、3B、3C分别测定第3、6、9天的僵住时间。数据用Mean±SEM表示,###P<0.001,与空白对照组比较;\$P<0.05,与模型对照组比较;\*P<0.05,与消退训练组比较;®P<0.05,®®P<0.01,与YL-IPA08(0.3mg/kg,i.g.)组比较(n=10)。其中,纵坐标是僵住时间(Freezing time);Con、ext、veh分别指空白对照组(Control,灌胃给予蒸馏水);消退训练组(extinction,灌胃给予蒸馏水);模型对照组(vehicle,灌胃给予蒸馏水)。

#### 具体实施方式

[0049] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0050] 实施例1:YL-IPA08对小鼠创伤后应激障碍模型(短暂电击模型)的行为学效应实验

[0051] 一、实验材料:

[0052] 1.实验动物:

[0053] ICR小鼠,雄性,SPF级,初始体重18-20g,购自维通利华实验动物有限公司,许可证:SCXK(京)2007-0001。

[0054] 2.受试样品:

[0055] YL-IPA08(即化合物8,由军事医学科学院毒物药物研究所合成,制备方法参见公开号为CN102295642A的中国专利申请;纯度99%);阳性药舍曲林(Ser,购自于Sigma公司)。

[0056] 二、实验方法:

[0057] YL-IPA08对小鼠创伤后应激障碍模型(短暂电击模型)的行为学效应。

[0058] 1.环境适应:

[0059] 在适应环境的7天之内,每天轻柔抓取小鼠3分钟,旨在减少无关应激刺激对后续实验操作的影响。实验过程中,保证实验环境的相对安静。

[0060] 2. 训练期:

[0061] 每只小鼠接受15次间断的、不可逃避的足底电击(0.8mA,间隔10s,持续10s)。电击装置为有盖的 $20 \times 10 \times 10 \text{cm}^3$ 的电击箱,各箱均通过一主控器与微机相连,箱底部的不锈钢栅(0.9cm间隔)传送无法逃避的足部电击。

[0062] 3. 分组:

[0063] 空白对照组;模型对照组;模型+舍曲林(15mg/kg);模型+YL-IPA08(0.03,0.1,0.3mg/kg)。每组的小鼠数目详见表2-4。

[0064] 4. 给药:

[0065] 训练完成之后的第2天起开始给药,给药方式为灌胃(i.g.),给药体积为20mL/kg,1次/天。

[0066] 5. 行为学检测:

[0067] 参考文献:Li,Y.Murakami,M.Wang,K.Maeda,K.Matsumoto,“The effects of chronic valproate and diazepam in a mouse model of posttraumatic stress disorder,”*Pharmacology Biochemistry and Behavior*,vol.85,no.2,pp.324-31,2006.

[0068] 1) 开场实验:

[0069] YL-IPA08给药10天后,将小鼠置于 $42 \text{cm} \times 42 \text{cm} \times 25 \text{cm}$ 的开场箱中,记录小鼠5min内的站立次数和跨格数。每只小鼠实验完毕后均使用75%乙醇对开场箱进行擦拭并彻底干燥,避免对下一只小鼠的实验产生影响。结果见表2。

[0070] 2) 僵住行为检测:

[0071] 在接下来的3周时间里,电击后第3天、第8天,第15天将小鼠置于曾接受过电击的箱中,但不给予任何刺激,记录其总僵住时间。结果见表3。

[0072] 3) 爬梯试验:

[0073] YL-IPA08给药12天后进行。实验装置为一个封闭的有机玻璃箱,内有5级2.5cm高的相同楼梯,楼梯侧壁高度保持恒定,以使动物在楼梯的所有水平都有相同的站立分布。给药12天后,将小鼠置于箱的底部,背朝楼梯。记录3min内小鼠爬梯数(以四肢都爬上楼梯为准)和站立数。结果见表4。

[0074] 三、数据统计处理:

[0075] 结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示,应用GrphPad-Prism 4.0统计软件进行单因素方差分析。

[0076] 四、实验结果:

[0077] 如下面的表2-4所示。

[0078] 表2:YL-IPA08对电击小鼠开场活动的影响(第10天)

|        |          |               |         |               |         |
|--------|----------|---------------|---------|---------------|---------|
|        | 分组       | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 水平运动<br>(跨格数) | 站立次数    |
| [0079] | 空白对照     | --            | 10      | 74±5.27       | 42±3.86 |
|        | 模型对照     | --            | 10      | 64±2.96       | 41±4.32 |
|        | 阳性药舍曲林   | 15            | 10      | 73±4.08       | 44±3.13 |
|        | YL-IPA08 | 0.03          | 10      | 62±3.46       | 46±3.34 |
| [0080] |          | 0.1           | 10      | 68±3.69       | 40±3.52 |
|        |          | 0.3           | 10      | 59±2.66       | 45±3.29 |

[0081] 注:结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示。

[0082] 表3:YL-IPA08对电击小鼠僵住时间的影响

| 分组       | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 僵住时间 (sec)        |                         |                           |
|----------|---------------|---------|-------------------|-------------------------|---------------------------|
|          |               |         | 第3天               | 第8天                     | 第15天                      |
| 空白对照     | --            | 10      | 5.3±1.15          | 12.80±2.46              | 16.95±2.47                |
| 模型对照     | --            | 9-10    | 40.83±2.00<br>### | 51.65±6.00<br>###       | 59.94±3.96 <sup>###</sup> |
| 阳性药舍曲林   | 15            | 9-10    | 43.3±5.58         | 30.67±3.29 <sup>*</sup> | 33.72±3.70 <sup>**</sup>  |
| YL-IPA08 | 0.03          | 10      | 45.95±5.35        | 50.55±7.06              | 49.45±5.40                |
|          | 0.1           | 9-10    | 33.55±4.5         | 45.60±6.34              | 41.4±4.80 <sup>*</sup>    |
|          | 0.3           | 10      | 33.25±4.98        | 37.10±4.27              | 36.6±4.17 <sup>*</sup>    |

[0084] 注:结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示;###P<0.001与空白对照组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01与模型组比较。

[0085] 表4:YL-IPA08对电击小鼠爬梯实验的影响(第12天)

| 分组            | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 爬梯数     | 站立次数                 |
|---------------|---------------|---------|---------|----------------------|
| 空白对照          | --            | 10      | 25±1.38 | 17.8±1.21            |
| 模型对照          | --            | 10      | 26±1.49 | 21±0.93 <sup>#</sup> |
| [0086] 阳性药舍曲林 | 15            | 10      | 27±1.57 | 17±0.77              |
| YL-IPA08      | 0.03          | 10      | 25±1.87 | 20±1.42              |
|               | 0.1           | 10      | 29±1.14 | 18±1.45              |
|               | 0.3           | 10      | 27±1.52 | 17±1.35 <sup>*</sup> |

[0087] 注:结果以  $\bar{x} \pm SEM$  表示; #P<0.05与空白对照组比较,\*P<0.05,与模型组比较。

[0088] 结果显示,小鼠电击后给予反复环境重现,出现明显的恐惧反应,表现为僵住时间显著延长;爬梯实验结果显示,电击后小鼠对创伤无关的刺激也表现出明显的恐惧表现,但不影响爬梯次数,化合物YL-IPA08可以显著逆转上述行为学变化,而对开场活动没有显著影响。

[0089] 实施例2:YL-IPA08对大鼠创伤后应激障碍模型(time dependent sensitization,TDS)时间依赖性敏化模型)的行为学效应实验

[0090] 一、实验材料:

[0091] 1.实验动物:

[0092] SD大鼠,雄性,SPF级,初始体重180-200g,购自维通利华实验动物有限公司,许可证:SCXK(京)2007-0001。

[0093] 2.受试样品:

[0094] YL-IPA08(即化合物8,由军事医学科学院毒物药物研究所合成,制备方法参见公开号为CN102295642A的中国专利申请;纯度99%);阳性药舍曲林(Ser,购自于Sigma公司)。

[0095] 二、实验方法:

[0096] YL-IPA08对大鼠创伤后应激障碍模型(time dependent sensitization,TDS)时间依赖性敏化模型)的行为学效应。

[0097] 1.环境适应:

[0098] 在适应环境的7天之内,每天轻柔抓取大鼠3分钟,减少无关应激刺激对后续实验操作的影响。实验过程中,保证实验环境相对安静。

[0099] 2.模型的制备:

[0100] 具体步骤包括:大鼠固定2h(置于圆锥形的聚乙烯固定盒中,仅尾巴可以活动)后进行强迫游泳(游泳缸为24厘米的半径,50厘米的高度),水深为缸高度的2/3,水温(24℃),时间为20min。恢复15分钟后,暴露于麻醉乙醚中直至失去知觉。7天之后以相同的方法再次进行强迫游泳。

[0101] 3.分组:

[0102] 空白对照组;模型对照组;模型+舍曲林(15mg/kg);模型+YL-IPA08(0.03,0.1,0.3mg/kg)。每组的大鼠数目详见表5-7。

[0103] 4. 给药:

[0104] 训练完成之后的第2天起开始给药,给药方式为灌胃(i.g.),给药体积为2mL/kg,1次/天。

[0105] 5. 行为学检测:

[0106] 参考文献:

[0107] T.Takahashi,S.Morinobu,Y.Iwamoto,S.Yamawaki,“Effect of paroxetine on enhanced contextual fear induced by single prolonged stress in rats,”*Psychopharmacology*,vol.189,no.2,pp.165-173,2006.

[0108] S.Yamamoto,S.Morinobu,S.Takei,M.Fuchikami,A.Matsuki,S.Yamawaki,et al.,“Single prolonged stress:toward an animal model of posttraumatic stress disorder,”*Depression and Anxiety*,vol.26,no.12,pp.1110-1117,2009.

[0109] 1) 开场活动:

[0110] YL-IPA08给药9天后进行。采用传统圆形开场,直径80cm,高30cm,目测观察大鼠5min的活动情况。观察指标包括主要是水平爬格和站立次数。实验在弱光照明的条件下进行。结果见表5。

[0111] 2) 僵住行为检测:

[0112] YL-IPA08给药11天后,将大鼠置于电击装置中[通过有盖的60×21×30cm<sup>3</sup>的笼子作为不可逃避的电击箱,各箱均通过一主控器与微机相连,箱底部的不锈钢栅(1.5cm间隔)传送无法逃避的足部电击]3min后,给与不可逃避的足底电击1次(0.8mA,4s)。24h后将大鼠再次置于接受过电击的装置中,检测僵住行为持续时间(指动物除了呼吸完全不动的时间)。结果见表6。

[0113] 3) 大鼠高架十字迷宫实验:

[0114] 采用高架十字迷宫实验观察TDS大鼠对创伤无关的刺激作出反应。

[0115] YL-IPA08给药14天后进行大鼠高架十字迷宫实验。十字迷宫装置包括两个50×10cm的相对开臂(open arms)和两个50×10×40cm的相对闭臂(closed arms),闭臂上部是敞开的。迷宫中央有一10×10cm的开阔部,迷宫离地面50cm。将大鼠置于迷宫中央,头朝开臂,观察者距离迷宫中心至少1m。分别记录5min内大鼠进入开臂次数和在开臂滞留时间分别占总次数(进入开臂和闭臂次数之和)和总时间(在开臂与闭臂滞留时间之和)的百分比。结果见表7。

[0116] 三、数据统计处理:

[0117] 结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示,应用GrphPad-Prism 4.0统计软件进行单因素方差分析。

[0118] 四、实验结果:

[0119] 如下面的表5-7所示。

[0120] 表5:YL-IPA08对TDS大鼠开场活动的影响(第9天)

| 分组       | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 水平运动<br>(跨格数) | 站立次数    |
|----------|---------------|---------|---------------|---------|
| 空白对照     | --            | 10      | 75±3.30       | 29±1.48 |
| 模型对照     | --            | 10      | 71±3.57       | 28±1.86 |
| 阳性药舍曲林   | 15            | 10      | 75±4.02       | 32±1.88 |
| YL-IPA08 | 0.03          | 10      | 68±3.21       | 33±2.02 |
|          | 0.1           | 10      | 73±3.3        | 33±2.76 |
|          | 0.3           | 10      | 78±3.34       | 33±2.95 |

[0122] 注:结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示。

[0123] 表6:YL-IPA08对TDS大鼠僵住时间的影响(第12天)

| 分组       | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 僵住时间(sec)                  |
|----------|---------------|---------|----------------------------|
| 空白对照     | --            | 10      | 4.2±1.10                   |
| 模型对照     | --            | 10      | 209.9±14.16 <sup>###</sup> |
| 阳性药舍曲林   | 15            | 10      | 68.1±15.32 <sup>***</sup>  |
| YL-IPA08 | 0.03          | 10      | 194.3±15.75                |
|          | 0.1           | 10      | 134.1±14.62 <sup>**</sup>  |
|          | 0.3           | 10      | 127.7±14.35 <sup>**</sup>  |

[0125] 注:结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示;###P<0.001与模型组比较,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001与溶剂组比较。

[0126] 表7:YL-IPA08对TDS大鼠高架十字迷宫行为学的影响(第14天)



[0127]

| 分组       | 剂量<br>(mg/kg) | 例数<br>n | 开臂停留<br>百分比              | 闭臂停留<br>百分比 | 入开臂次数/入<br>臂总次数          | 入闭臂次数/入<br>臂总次数          |
|----------|---------------|---------|--------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白对照     | --            | 10      | 20.4±3.77                | 59.7±5.70   | 31.39±3.86               | 68.95±3.86               |
| 模型对照     | --            | 10      | 5.93±2.26 <sup>##</sup>  | 75.93±5.88  | 15.38±4.12 <sup>##</sup> | 86.64±4.12 <sup>##</sup> |
| 舍曲林      | 15            | 8       | 13.04±2.34               | 68.92±4.68  | 28.72±3.45 <sup>*</sup>  | 72.91±4.87 <sup>*</sup>  |
|          | 0.03          | 10      | 7.53±3.69                | 78.13±6.13  | 19.54±4.68               | 86.76±4.22               |
| YL-IPA08 | 0.1           | 10      | 18.33±2.79 <sup>**</sup> | 67.27±6.56  | 28.67±3.68 <sup>*</sup>  | 71.33±3.68 <sup>*</sup>  |
|          | 0.3           | 9       | 13.15±3.40               | 65.48±5.67  | 25.28±5.13               | 74.72±5.13               |

[0128] 结果以  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  表示；<sup>##</sup>P<0.01与溶剂组比较，\*P<0.05，\*\*P<0.01与模型组比较。

[0129] 结果显示,TDS大鼠僵住时间显著延长,在高架十字迷宫实验中,对创伤无关的刺激也表现出明显的恐惧行为,而对开场活动没有显著影响,并且这些行为学表现可以被YL-IPA08所阻断。

[0130] 上面的实施例1-2的研究表明,在大鼠和小鼠PTSD行为学模型上,本发明YL-IPA08连续灌胃均显示具有显著的抗PTSD的活性。

[0131] 实施例3:PK11195拮抗YL-IPA08在大鼠Fear extinction模型上药效学研究

[0132] 一、实验目的:

[0133] 通过TSPO特异性阻断剂PK11195能否拮抗YL-IPA08在大鼠Fear extinction模型上的抗PTSD效应,探讨YL-IPA08的抗PTSD作用是否通过TSPO介导。

[0134] 二、实验材料:

[0135] 1.实验动物:

[0136] SD大鼠:雄性,SPF级。

[0137] 2.仪器:

[0138] 条件恐惧箱(Med associates Inc Video Freeze SOF-843.,USA)。

[0139] 3.药物以及处理:

[0140] 舍曲林(Sertraline,Ser)和PK11195均购自于Sigma-Aldrich(St Louis,MO, U.S.A.);YL-IPA08(即化合物8,由军事医学科学院毒物药物研究所合成,制备方法参见公开号为CN102295642A的中国专利申请,纯度99.96%,批号为100916)。除PK11195(0.1,3mg/kg)给药方式为腹腔注射(i.p.)外,其它药物或溶媒给药方式为灌胃(i.g.),给药体积为2mL/kg,1次/天。空白对照组、模型对照组灌胃给予相应体积的溶媒。

[0141] 三、实验方法:

[0142] 大鼠在实验前适应实验环境2天,然后每只大鼠放入条件恐惧箱中适应3天,每天一次。

[0143] 1.条件性恐惧的建立:

[0144] 每组均为10只,是同一批动物,先训练再检测。

[0145] 将大鼠分别放入条件恐惧箱内,适应2min后再给予单一频率声音信号(4.5KHZ,70dB,15s)适应4次(两次声音间隔2min),然后再给予6次以声音信号为提示的不可逃避足底电击(0.9mA,5s),声音与电击同时结束,两次声音间隔为2min。动物在被电击时发生惊叫、惊跳、逃避等,听到声音提示时出现慌张、逃避或者僵立行为(除呼吸外无其他运动行为),并检测其僵住时间。实验结束后让动物在条件恐惧箱内继续停留2min后放回饲养笼饲养。每次实验结束后用90%酒精擦拭箱底,用湿布擦拭箱壁,以避免残留气味对后续实验大鼠的影响。

[0146] 2.恐惧消退训练:

[0147] 每组均为10只,是同一批动物,先训练再检测。

[0148] 24h后将已经建立条件性恐惧的动物再次放入条件恐惧箱,仅给予声音信号30次,每次15s,两次声音间隔为1min。恐惧对照组在对应的时间点放进条件恐惧箱,不进行消退训练(不给声音刺激)。

[0149] 3.条件性恐惧消退保持测试:

[0150] 每组均为10只,是同一批动物,先训练再检测。

[0151] 所有大鼠分别在恐惧消退训练后的第1、4、7天将大鼠放在训练箱内,给予5次声音信号,每次15s,时间间隔为10s,检测5min内的僵住时间,作为消退保持成绩。时间越短,表明消退保持成绩越好。

[0152] 四、实验结果:

[0153] 1. 条件性恐惧的建立:

[0154] 如图1所示(第1天)。

[0155] 2. 恐惧消退训练:

[0156] 如图2所示(第2天)。

[0157] 3. 条件性恐惧消退保持测试

[0158] 如图3A-3C所示。

[0159] 结果显示,YL-IPA08 (0.3mg/kg, p.o.) 连续给药后,在第6天,第9天能够显著缩短由电击所致的僵住时间延长,进一步证实YL-IPA08在该模型上具有抗PTSD活性,而TSP0拮抗剂PK11195 (0.1和3mg/kg, i.p.) 在第6天,第9天能完全阻断YL-IPA08的抗PTSD作用,显示YL-IPA08抗PTSD作用是通过TSP0介导的。

[0160] 尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述,本领域技术人员将会理解。根据已经公开的所有教导,可以对那些细节进行各种修改和替换,这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

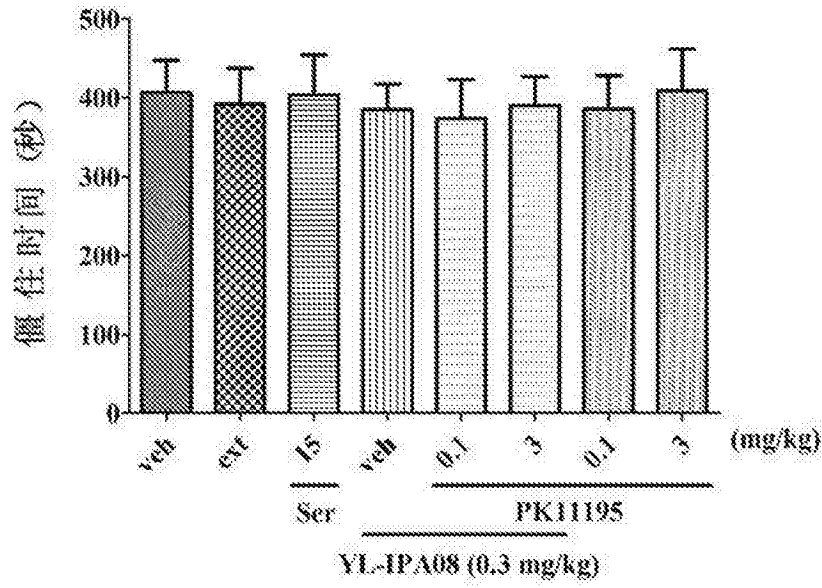


图1

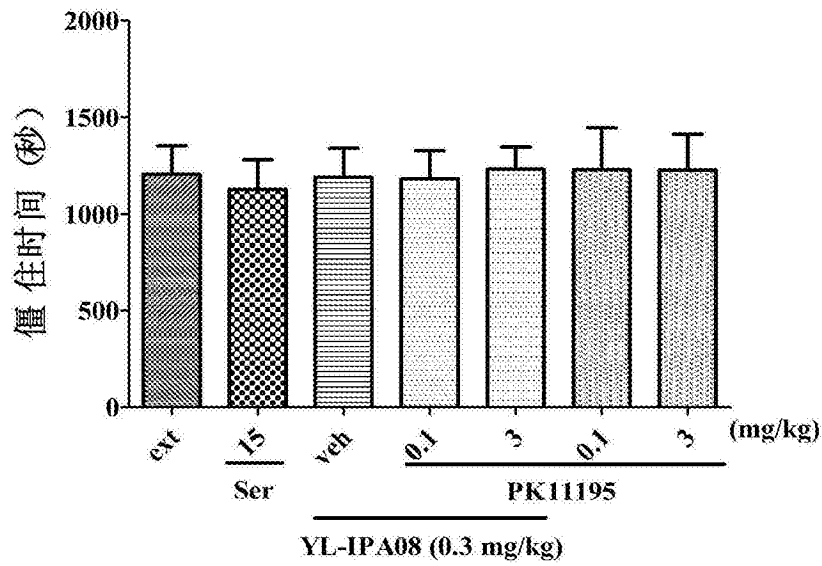


图2

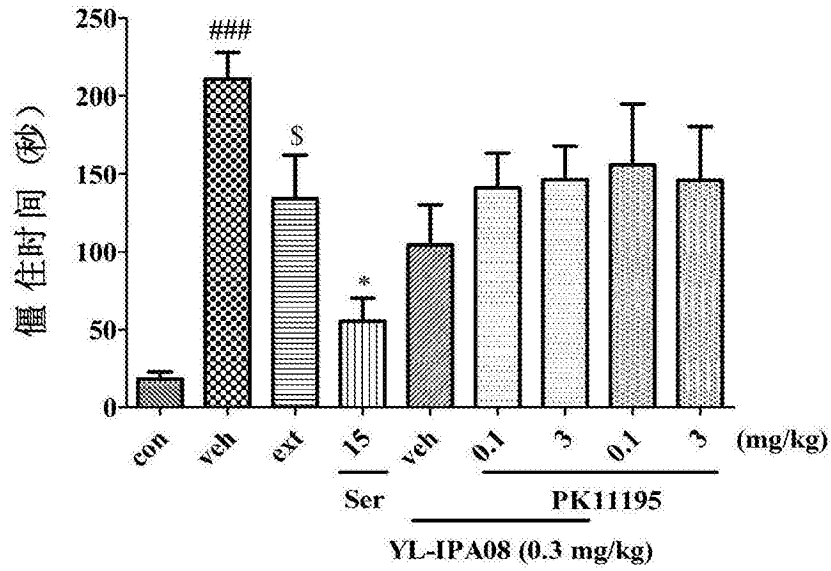


图3A

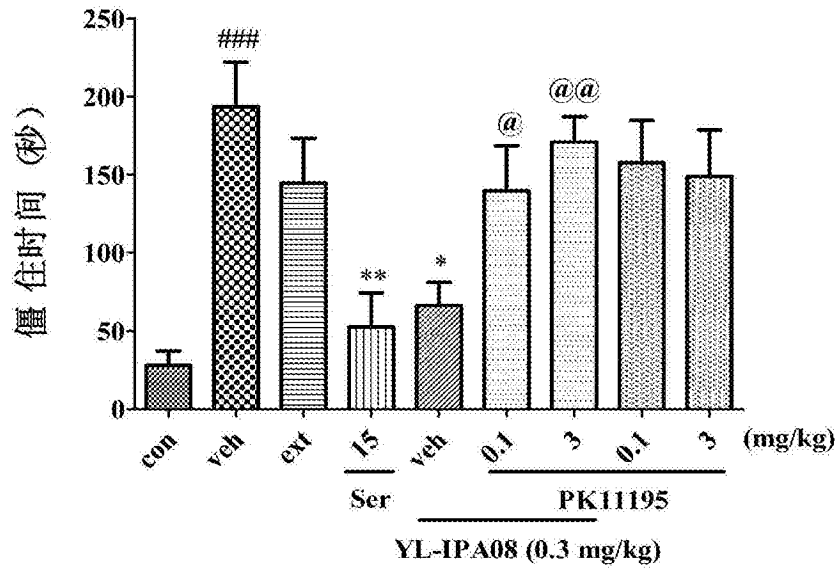


图3B

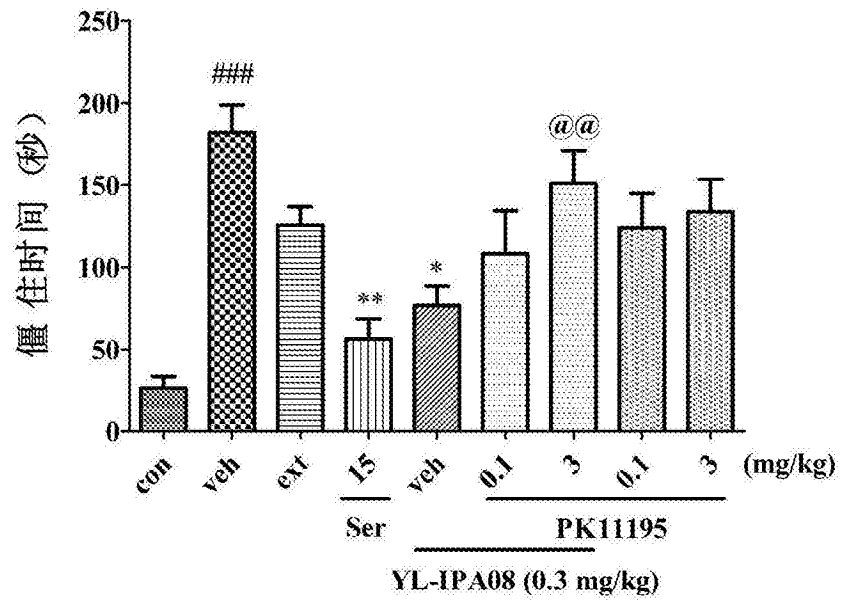


图3C