

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810091733.5

[51] Int. Cl.

C07D 405/12 (2006.01)

C07D 239/26 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 9 月 3 日

[11] 公开号 CN 101255155A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

[22] 申请日 2004.3.4

[21] 申请号 200810091733.5

分案原申请号 200480006024.2

[30] 优先权

[32] 2003.3.5 [33] US [31] 10/379,868

[71] 申请人 塔加西普特公司

地址 美国北卡罗来纳

[72] 发明人 J·D·施密特 G·M·杜尔

A·戈尼沃斯-博尔拉 M·卡派特

M·驰弗

[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

代理人 唐晓峰

权利要求书 7 页 说明书 34 页

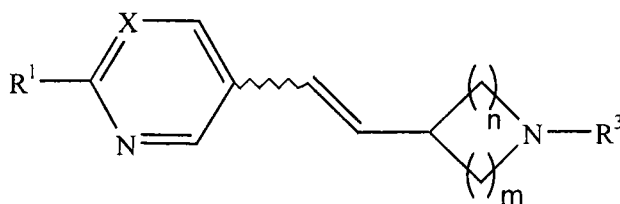
[54] 发明名称

芳基乙烯基氮杂环烷化合物以及其制备方法和用途

[57] 摘要

公开了式(I)的新型乙烯基氮杂环烷化合物。该化合物是各种 nAChRs 的配体。这些化合物以及其可药用的盐可用于制备用来预防或治疗与 nAChRs 功能障碍有关的病症,尤其是中枢神经系统或胃肠系统中的病症的药物组合物和/或药物。可以进行治疗的病症种类的实例包括神经变性病症,包括中枢神经系统病症如阿耳茨海默氏病、认知障碍、运动病症如帕金森氏病、药物成瘾性、行为失常和胃肠系统中的炎性病症。这些化合物还可用作急性、慢性或复发性疼痛治疗中的镇痛剂。

1. 式:



的化合物以及其异构体、混合物、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、以及可药用的盐,

其中:

波浪线表示双键可变化的几何学(E或Z);

X是C-R²;

R¹是氢、C₁₋₆-烷基、卤素、-OR⁴、或-NR⁴R⁵;

R²是氢、C₁₋₆-烷基、苯基、取代的苯基、萘基、取代的萘基、茚基、取代的茚基、呋喃基、取代的呋喃基、噻吩基、取代的噻吩基、吡咯基、取代的吡咯基、咪唑基、取代的咪唑基、噁唑基、取代的噁唑基、噻唑基、取代的噻唑基、噻吩基、取代的噻吩基、四唑基、取代的四唑基、吡唑基、取代的吡唑基、吡啶基、取代的吡啶基、嘧啶基、取代的嘧啶基、吡嗪基、取代的吡嗪基、OR⁶或-NR⁶R⁷; 其中“取代的”意指带有一个或多个选自卤素、-NH₂、-OR⁶、苯基、萘基、茚基、和C₁₋₆烷基的取代基;

R³是氢;

m是1至4的整数;

n是1至3的整数;

R⁴和R⁵独立地是氢或C₁₋₆-烷基;

R⁶和R⁷独立地是氢、C₁₋₆-烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、

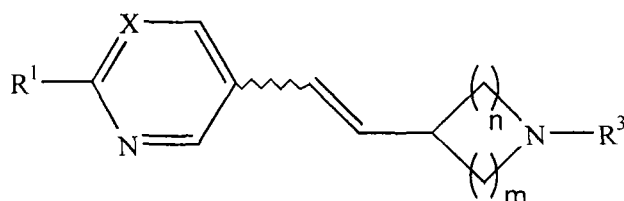
四氢吡喃基或四氢呋喃基;

其中所说的 C_{1-6} -烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基或四氢呋喃基的每一个可被 1-6 个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代,

其中 q 是 1-6 的整数;

其中 R^8 和 R^9 各自是氢、 C_1-C_6 烷基、吡啶基、被取代的吡啶基、喹啉基、被取代的喹啉基、嘧啶基、被取代的嘧啶基、苯基、被取代的苯基、苄基、或被取代的苄基, 被取代指被一个或多个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代, 并且其中 R^6 和 R^7 或 R^8 和 R^9 可以与同它们相连的原子一起形成一种 C_{3-10} 环。

2. 下式:



的化合物以及其异构体、混合物、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、以及可药用的盐,

其中:

波浪线表示双键可变化的几何学(E或Z);

X 是 $C-R^2$;

R^1 是氢、 C_{1-6} -烷基、卤素、 $-OR^4$ 或 $-NR^4R^5$;

R^2 是 $-OR^6$;

R^3 是氢;

m 是 1 至 4 的整数;

n 是 1 至 3 的整数;

R^4 和 R^5 独立地是氢或 C_{1-6} -烷基;

R^6 和 R^7 独立地是氢、 C_{1-6} -烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基或四氢呋喃基，其各自可任选地被一个或多个选自卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-COO-C_{1-6}$ 烷基、 $-CONH_2$ 、甲酰基、三氟甲基和三氟甲氧基的取代基所取代，

其中所说的 C_{1-6} -烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基或四氢呋喃基可以被 1-6 个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代，

其中 R^8 和 R^9 各自是氢、 C_1-C_6 烷基、吡啶基、被取代的吡啶基、喹啉基、被取代的喹啉基、嘧啶基、被取代的嘧啶基、苯基、被取代的苯基、苄基、或被取代的苄基，被取代指被一个或多个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代，并且其中 R^6 和 R^7 或 R^8 和 R^9 可以与同它们相连的原子一起形成一种 C_{3-10} 环。

3. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^1 是氢。

4. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 $n = 1$ 。

5. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 $m = 2$ 。

6. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^6 是 C_{1-6} -烷基。

7. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^6 是选自由哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基和四氢呋喃基组成的组。

8. 一种权利要求 1 的化合物, 其选自由

(R)-和 (S)-3-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶,

(R)-和 (S)-2-氯-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶,

(R)-和 (S)-3-异丙氧基-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶,

(R)-和 (S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶,

(R)-和 (S)-2-氯-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶,

(R)-和 (S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶,

2-氯-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶,

3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶,

5-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)-2-氯吡啶,

3-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)-5-环丙基甲氧基吡啶,

(R)-和 (S)-3-苯氧基-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶,

3-苯氧基-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶和

3-苯氧基-5-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)吡啶

组成的组的化合物、其几何异构体、其包括外消旋混合物、对映异构体、和其互变异构体在内的混合物、以及其可药用的盐。

9. 权利要求 1-8 中任一项的化合物在制备治疗神经变性病症的药物中的用途。

10. 如权利要求 9 的用途, 其中所说的神经变性病症是由不适宜的神经递质释放水平、不适宜的神经递质受体性质、和/或神经递质和神经递质受体之间不适宜的相互作用所产生的。

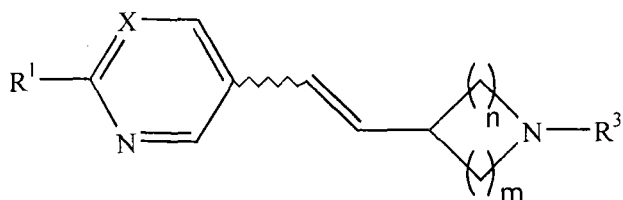
11. 如权利要求 9 的用途,其中所说的病症是由乙酰胆碱、多巴胺、去甲肾上腺素和/或血清素不足所产生的。

12. 如权利要求 9 的用途,其中所说的病症选自早老性痴呆、老年痴呆、与年龄有关的或者由于醇中毒而导致的过早的健忘和认知障碍、小梗塞性痴呆和血管性痴呆、与 AIDS 有关的痴呆、克-雅综合症、皮克氏病、帕金森氏病、卢伊体痴呆、渐进性核上性麻痹、亨廷顿氏病、迟发性运动障碍、运动过度、躁狂、癫痫、注意力缺陷病症、焦虑、诵读困难、精神分裂症、抑郁、强迫观念与行为病症、图雷特氏综合征、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、外周神经营养、脑或脊柱损伤、和药物成瘾性。

13. 权利要求 1-8 中任一项的化合物在制备治疗胃肠炎性病症的药物中的用途。

14. 如权利要求 13 的用途,其中所说的炎性病症选自腹泻、克罗恩氏病、过敏性肠综合征和溃疡性结肠炎组成的组。

15. 一种制备式:



的化合物以及其异构体、混合物、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、以及可药用的盐的方法,

其中:

波浪线表示双键可变化的几何学(E或Z);

X是C-R²;

R¹是氢、C₁-₆-烷基、卤素、-OR⁴或-NR⁴R⁵;

R²是氢、C₁-₆-烷基、苯基、取代的苯基、萘基、取代的萘基、茛基、取代的茛基、呋喃基、取代的呋喃基、噻吩基、取代的噻吩基、吡咯基、取代的吡咯基、咪唑基、取代的咪唑基、噁唑基、取代的噁唑基、噻唑基、取代的噻唑基、噻吩基、取代的噻吩基、四唑基、取

代的四唑基、吡唑基、取代的吡唑基、吡啶基、取代的吡啶基、嘧啶基、取代的嘧啶基、吡嗪基、取代的吡嗪基、 OR^6 、 NR^6R^7 ，其中“取代的”意指带有一个或多个选自卤素、 $-NH_2$ 、 $-OR^6$ 、芳基、和 C_{1-6} 烷基的取代基；

R^3 是氢；

m 是 1 至 4 的整数；

n 是 1 至 3 的整数；

R^4 和 R^5 独立地是氢或 C_{1-6} -烷基；

R^6 和 R^7 独立地是氢、 C_{1-6} -烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基或四氢呋喃基；

其中所说的 C_{1-6} -烷基、苯基、萘基、茚基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基或四氢呋喃基的每一个可以被 1-6 个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基取代，

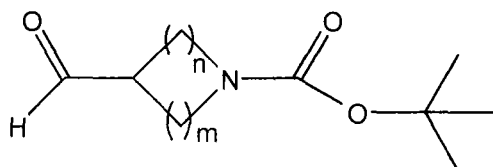
其中 q 是 1-6 的整数；

其中 R^8 和 R^9 各自是氢、 C_1-C_6 烷基、吡啶基、被取代的吡啶基、喹啉基、被取代的喹啉基、嘧啶基、被取代的嘧啶基、苯基、被取代的苯基、苄基、或被取代的苄基，被取代指被一个或多个选自由 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代，并且其中 R^6 和 R^7 或 R^8 和 R^9 可以与同它们相连的原子一起形成一种 C_{3-10}

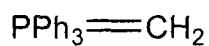
环,

其包括:

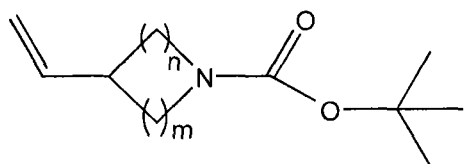
a) 将其中 m 是 1 至 4 整数和 n 是 1 至 3 整数的式:



的醛与式

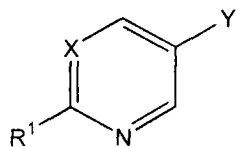


的正腈内腈盐反应, 得到式



的乙烯基氮杂环烷

b) 将所得的乙烯基氮杂环烷与其中 X 和 R^1 的定义如上所述并且 Y 是卤素的式:



的杂芳基卤反应,

和

c) 除去任何残留的保护基团。

芳基乙烯基氮杂环烷化合物以及其制备方法和用途

本申请是专利申请号为 2004800060242 的发明专利申请的分案申请。

技术领域

本发明涉及混有能影响烟碱乙酰胆碱能受体 (nAChRs) 的化合物例如作为特定烟碱受体亚型的调节剂的化合物的药物组合物。本发明还涉及治疗各种情况和病症,特别是那些与中枢和自主神经系统的机能障碍有关的情况和病症的方法。

背景技术

已经提出烟碱具有许多药理学作用。见,例如, Pullan 等人, *N. Engl. J. Med.* 330: 811-815 (1994)。这些作用中的某些作用可能涉及对神经递质释放的作用。已经报道了在使用烟碱时乙酰胆碱、多巴胺、去甲肾上腺素、血清素和谷氨酸盐的释放 (Rowell 等人, *J. Neurochem.* 43: 1593 (1984); Rapier 等人, *J. Neurochem.* 50: 1123 (1988); Sandor 等人, *Brain Res.* 567: 313 (1991) 和 Vizi, *Br. J. Pharmacol.* 47: 765 (1973); Hall 等人, *Biochem. Pharmacol.* 21: 1829 (1972); Hery 等人, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 296: 91 (1977); 和 Toth 等人, *Neurochem Res.* 17: 265 (1992))。确定的报道和另外的最新研究已经包括了谷氨酸盐、一氧化氮、GABA、tachykinins、细胞因子和肽在中枢神经系统 (CNS) 中的调节 (Brioni 等人在 *Adv. Pharmacol.* 37: 153 (1997) 中进行了综述)。此外,据报道,烟碱还加强了用于治疗某些病症的某些药物组合物的药理学行为。见,例如, Sanberg 等人, *Pharmacol. Biochem. & Behavior* 46: 303 (1993); Harsing 等人, *J. Neurochem.* 59: 48 (1993) and Hughes, *Proceedings from Intl. Symp. Nic.* S40 (1994)。此外,已经提出了烟碱的神经保护作用,见,例如, Sjak-shie 等人, *Brain Res.* 624: 295 (1993)。

还已经提出了各种其它有益的药理学作用。见, 例如, Decina 等人, *Biol. Psychiatry* 28: 502 (1990); Wagner 等人, *Pharmacopsychiatry* 21: 301 (1988); Pomerleau 等人, *Addictive Behaviors* 9: 265 (1984); Onaivi 等人, *Life Sci.* 54(3):193(1994); Tripathi 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 221: 91 (1982) 和 Hamon, *Trends in Pharmacol. Res.* 15: 36 (1994)。。

已经报道了靶向于 nAChRs 的用于治疗许多情况和病症的各种化合物。见, 例如, Williams 等人, *DN&P* 7(4):205(1994); Arneric 等人, *CNS Drug Rev.* 1(1):1(1995); Arneric 等人, *Exp. Opin. Invest. Drugs* 5(1):79(1996); Bencherif 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279:1413(1996); Lippiello 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279:1422(1996); Damaj 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291:390(1999); Chiari 等人, *Anesthesiology* 91:1447(1999); Lavand'homme and Eisenbach, *Anesthesiology* 91:1455(1999); Holladay 等人, *J. Med. Chem.* 40(28): 4169(1997); Bannon 等人, *Science* 279: 77(1998); PCT WO 94/08992、PCT WO 96/31475、PCT WO 96/40682、和 US 5,583,140 (Bencherif 等人)、US 5,597,919 (Dull 等人)、US 5,604,231 (Smith 等人) 和 US 5,852,041 (Cosford 等人)。据报道, 烟碱化合物对于许多 CNS 病症的治疗特别有用。实际上, 已经报道了许多烟碱化合物具有治疗性质。见, 例如, Bencherif 和 Schmitt, *Current Drug Targets: CNS and Neurologicals Disorders* 1(4): 349-357 (2002), Levin 和 Rezvani, *Current Drug Targets: CNS and Neurologicals Disorders* 1(4): 423-431 (2002), O'Neill, 等人, *Current Drug Targets: CNS and Neurologicals Disorders* 1(4): 399-411 (2002)、US 5,1871,166 (Kikuchi 等人)、US 5,672,601 (Cignarella)、PCT WO 99/21834 和 PCT WO 97/40049、UK 专利申请 GB 2295387 和欧洲专利申请 297,858。

CNS 病症是一类神经病学上的病症。CNS 病症可能是药物诱导的; 可能归因于遗传素因、感染或创伤; 或者可能是未知的病原学。CNS

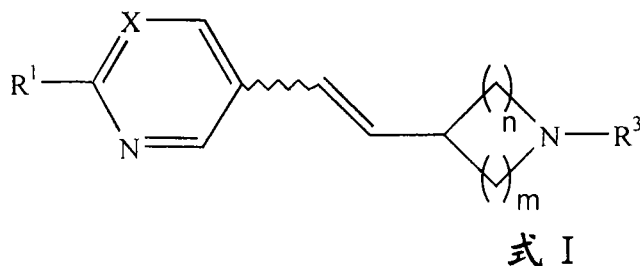
病症包括神经精神病学病症、神经病学上的疾病和精神疾病，并且包括神经变性疾病、行为失常、认知障碍和认知情感病症。有一些 CNS 病症的临床表现已经被归因于 CNS 机能障碍(即，由不适当水平的神经递质释放、神经递质受体不适当的性质、和/或神经递质和神经递质受体之间不适当的相互作用所导致的病症)。一些 CNS 病症可能被归因于乙酰胆碱、多巴胺、去甲肾上腺素和/或血清素不足。

相对常见的 CNS 病症包括早老性痴呆(较早发作的阿耳茨海默氏病)、老年痴呆(阿耳茨海默型痴呆)、小梗塞性痴呆、与 AIDS 有关的痴呆、血管性痴呆、Creutzfeld-Jakob 病、皮克氏病、包括帕金森氏病在内的帕金森氏综合征、Lewy 体痴呆、渐进性核上性麻痹、亨廷顿氏病、迟发性运动障碍、运动过度、癫痫、躁狂、注意力缺陷病症、焦虑、诵读困难、精神分裂症、抑郁、强迫观念与行为病症和图雷特氏综合征。

在中枢神经系统 and 外周神经系统中都存在 nAChRs 的亚型，但是这些亚型的分布是不均匀的。例如，在脊椎动物的脑中占主导地位的亚型是 $\alpha 4\beta 2$ 、 $\alpha 7$ 、和 $\alpha 3\beta 2$ ，而在自主神经节中占主导地位的这些亚型是 $\alpha 3\beta 4$ 并且在神经肌肉接点中占主导地位的这些亚型是 $\alpha 1\beta 1\delta\gamma$ 和 $\alpha 1\beta 1\delta\epsilon$ (见例如 Dwoskin 等人，*Exp. Opin. Ther. Patents* 10: 1561 (2000) 以及 Schmitt 和 Bencherif, *Annual Reports in Med. Chem.* 35: 41 (2000))。一些烟碱化合物的缺点是其激发了许多不希望出现的药理学作用，这是因为其与外周组织中 nAChRs 之间的相互作用所造成的(例如，通过刺激肌肉和神经节 nAChR 亚型而产生的)。需要一些可预防和/或治疗各种情况或病症(例如 CNS 病症)(包括缓解这些病症的症状)的化合物、组合物和方法，这些化合物表现出对 CNS nAChRs (例如对该 CNS 的功能)具有有益作用但是没有与其对外周 nAChRs 的作用有关的显著作用的烟碱药理学(对 CNS nAChRs 有特异性的化合物)。更希望提供一些可以影响 CNS 功能而不会影响可能会诱导不希望的副作用(例如，在心血管和骨骼肌部位可感知的活性)的这些受体亚型的化合物、组合物和方法。本发明提供了该类化合物、组合物和方法。

本发明的概述

本发明涉及式(I)的乙烯基氮杂环烷烃化合物:



其中:

波浪线表示双键可变化的几何学(E或Z);

X是氮或C-R²;

当X是C-R²时, R¹是氢、C₁-₆-烷基、卤素、-OR⁴、-NR⁴R⁵、或-SR⁴
和当X是氮时, R¹是氢、C₁-₆-烷基、-OR⁴、或-NR⁴R⁵;

R²是氢、C₁-₆-烷基、芳基、芳基-C₁-₆-烷基、C₁-₆-烷基-芳基、杂芳基、杂芳基-C₁-₆-烷基、杂环基、杂环烷基、环烷基、多环烷基、-OR⁶、-NR⁶R⁷、-SR⁶、-SOR⁶、或-SO₂R⁶, 其各自可以任选地被一个或多个选自卤素、-CN、-NO₂、-NH₂、-OH、-OR⁶、-COOH、-C(O)OR⁶、-O-C(O)R⁶、-NR⁶R⁷、-NHC(O)R⁶、-C(O)NR⁶R⁷、-SR⁶、-S(O)R⁶、-SO₂R⁶、-NHSO₂R⁶、-SO₂NR⁶R⁶、-C(S)NR⁶R⁶、-NHC(S)R⁶、-O-SO₂R⁶、芳基、杂芳基、甲酰基、三氟甲基、三氟甲基硫烷基、三氟甲氧基和C₁-₆-烷基的取代基所取代;

R³是氢、C₁-₆-烷基、芳基-C₁-₆-烷基、杂芳基C₁-₆-烷基、杂环基、杂环烷基、环烷基或多环烷基;

m是1和4之间;

n是1和3之间;

R⁴和R⁵独立地是氢或C₁-₆-烷基;

R⁶和R⁷独立地是氢、C₁-₆-烷基、芳基、芳基-C₁-₆-烷基、杂芳基、杂芳基-C₁-₆-烷基、杂环基、杂环基烷基、环烷基或多环烷基, 其各自可任选地被一个或多个选自由卤素、C₁-₆-烷基、C₁-₆-烷氧基、-CN、-NO₂、-NH₂、-OH、-COOH、-COO-C₁-₆-烷基、-CONH₂、甲酰基、三氟甲基和三氟甲氧基组成的组的取代基所取代,

其中 C_{1-6} -烷基、杂环基、杂芳基和芳基可以被 1-6 个选自由 F、Cl、Br、I、 R^8 、 $-NR^8R^9$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-C_2R^8$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-OR^8$ 、 $-SR^8$ 、 $-C(=O)NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)R^8$ 、 $-C(=O)OR^8$ 、 $-(CH_2)_qOR^8$ 、 $-OC(=O)R^8$ 、 $-OC(=O)NR^8R^9$ 和 $-NR^8C(=O)OR^8$ 组成的组的取代基所取代，

其中 R^8 和 R^9 各自是氢或低级烷基(例如， C_1-C_6 烷基，优选甲基、乙基、异丙基或异丁基)、包含芳族基团的种类或包含被取代的芳族基团的种类(被一个或多个上面的取代基所取代)。 R^6 和 R^7 或 R^8 和 R^9 也可以形成一种 C_{1-10} 环烷基官能度(例如，环丙基环丁基、环戊基、环己基、环庚基和金刚烷基(adamantyl))。典型的包含芳族基团的种类包括吡啶基、喹啉基、嘧啶基、苯基、和苄基(上述基团的任何一种可以适宜地被至少一种上面所定义的取代基，特定地包括低级烷基、卤素、和/或氨基取代基所取代)。Gibson 等人在 *J. Med. Chem.* 39: 4065(1996)中对其它典型的芳族环系进行了叙述。

本发明还包括这些化合物的异构体、包括外消旋混合物在内的混合物、对映异构体、非对映异构体和互变异构体以及其可药用的盐。

本发明更特定地涉及其中：

双键的几何学是 E；

X 是 N 或 $C-R^2$ ；

R^1 是氢；

R^2 是 $-OR^6$ ；

R^3 是氢；

n 是 1；

m 是 2；和

R^6 是烷基、芳基或杂环基

的式(I)的衍生物；和

其异构体、其包括外消旋混合物在内的混合物、其对映异构体、非对映异构体和互变异构体、以及其可药用的盐，并且还涉及其用作 nAChRs 配体的用途。

可以用式(I)的化合物以及其可药用的盐来制备用于预防所说病

症或治疗与 nAChRs 机能障碍有关的疾病,尤其是与中枢神经系统或胃肠系统内的 nAChRs 机能障碍有关的疾病的药物组合物和/或药物。术语“治疗”覆盖对所考虑情况的症状和/或进程的有益作用。

可以被治疗的病症类型的实例包括神经变性病症,包括中枢神经系统病症如阿耳茨海默氏病和其它痴呆、运动病症如帕金森氏病、药物成瘾性,行为失常和胃肠系统中的炎性病症。本发明的化合物还可作为镇痛剂,例如可用于治疗急性、慢性或复发性疼痛。

本发明的详细描述

参考下面的优选实施方案可以更好地理解这里所述的化合物、组合物和方法。在对本发明的范围进行定义时将使用下面的定义。

这里所用的“芳族的”指的是3至10,优选5和6-元环芳族环和杂芳族环。

这里所用的“包含芳族基团的种类”指的是芳族基团或包含芳族基团的部分。因此,因为苯基和苄基部分都是芳族基团或包含芳族基团,所以这种定义包括苯基和苄基部分。

这里所用的 C_{1-6} 烷基(低级烷基)在一种直链或支链中包含1至6个碳原子,并且也包括 C_{3-6} 环烷基部分和包含 C_{3-6} 环烷基部分的烷基。

这里所用的 C_{1-6} 烷氧基在一种直链或支链中包含1至6个碳原子,并且也包括 C_{3-6} 环烷基和包含 C_{3-6} 环烷基部分的烷氧基。

这里所用的芳基选自苯基、萘基和茚基。

这里所用的杂芳基包含3至10个,优选5或6个成员并包括一个或多个选自氧、硫和氮的杂原子。适宜的5元环杂芳基部分的实例包括呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、噻吩基、四唑基、和吡唑基。适宜的6元环杂芳基部分的实例包括吡啶基、嘧啶基、吡嗪基,其中优选吡啶基和嘧啶基。

这里所用的卤素是氯、碘、氟或溴。

这里所用的多环烷基是稠合的环结构。典型的多环烷基非限制性地包括金刚烷基、蒽烷基、降冰片烷基、冰片烯基和降冰片烯基。多

环烷基还可以包含一个或多个杂原子，如 N、O 或 S。

这里所用的杂环基包含 3 至 10 个成员，其中包括一个或多个选自氧、硫和氮的杂原子。适宜杂环基部分的实例非限制性地包括哌啶基、吗啉基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异𪔐唑烷基、𪔐唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基和四氢呋喃基。

这里所用的环烷基包含 3 至 8 个碳原子。适宜环烷基的实例非限制性地包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

适宜可药用盐的实例包括无机酸加成盐如氯化物、溴化物、硫酸盐、磷酸盐、和硝酸盐；有机酸加成盐如醋酸盐、粘酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、乳酸盐、羟乙酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、枸橼酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、甲磺酸盐、对-甲苯磺酸盐、和抗坏血酸盐；与酸性氨基酸形成的盐如天门冬氨酸盐和谷氨酸盐；碱金属盐如钠盐和钾盐；碱土金属盐如镁盐和钙盐；铵盐；有机碱盐如三甲胺盐、三乙胺盐、吡啶盐、甲基吡啶盐、二环己基胺盐、和 N,N'-二苄基乙二胺盐；和与碱性氨基酸形成的盐如赖氨酸盐和精氨酸盐。这些盐在一些情况中可以是水合物或乙醇溶剂化物。如在 US 专利 5,597,919 (Dull 等人)、US 5,616,716 (Dull 等人) 和 US 5,663,356 (Ruecroft 等人) 中所述提供了典型的盐。

这里所用的“激动剂”指的是刺激其结合伴侣，通常是受体的物质。在特定试验的上下文中对兴奋进行了定义，其或者在这里所讨论的文献中是显而易见的，如本领域技术人员所领会的那样，其是在基本相同的条件下与公认是特定结合伴侣的“激动剂”或“拮抗剂”的因素或物质进行的比较。刺激可以在由激动剂或部分激动剂与结合伴侣的相互作用所诱导的特定作用或功能的增加方面进行定义并且可包括变构效应。

这里所用的“拮抗剂”是抑制其结合伴侣，通常是受体的物质。在特定试验的上下文中对抑制进行了定义，其或者在这里所讨论的文献中是显而易见的，如本领域技术人员所领会的那样，其是在基本相同的条件下与公认是特定结合伴侣的“激动剂”或“拮抗剂”的因素

或物质进行的比较。抑制可以在由拮抗剂与结合伴侣的相互作用所诱导的特定作用或功能的降低方面进行定义并且可包括变构效应。

这里所用的“部分激动剂”是提供了位于由任何公认的激动剂活性标准所定义的全部或完全拮抗剂和激动剂的刺激水平中间的对其结合伴侣的刺激水平的物质。因此，应当清楚的是，抑制作用实质上是对被定义为激动剂、拮抗剂、或部分激动剂的任何物质或物质种类进行定义的。这里所用的“固有活性”或“功效”指的是该结合伴侣复合体生物学功效的一些度量。就受体药理学而言，其中应对固有活性或功效进行定义的背景(context)将取决于该结合伴侣(例如，受体/配体)复合体的背景(context)并考虑与特定生物学结果有关的活性。例如，在一些情况中，固有活性可随着所涉及的特定第二信号系统而变化。见 Hoyer, D. 和 Boddeke, H., *Trends Pharmacol Sci.* 14(7): 270-5 (1993)。该类特定前后关系评估的情况在哪里涉及以及其在本发明的上下文中可能会怎样被涉及对本领域技术人员将是显而易见的。

这里所用的其释放由这里所述的化合物所介导的神经递质非限制性地包括乙酰胆碱、多巴胺、去甲肾上腺素、血清素和谷氨酸，并且这里所述的化合物对一种或多种 CNS nAChRs 发挥激动剂或部分激动剂的作用。

I. 化合物

该式(I)的化合物具有一个或多个不对称碳，因此其可以以异构体、外消旋混合物、对映异构体和非对映异构体的形式存在。认为这些个别的化合物以及其混合物都在本发明的范围内。

下面是有代表性的式(I)的化合物：

(R)-和(S)-3-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶

(R)-和(S)-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶

(R)-和(S)-2-氯-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶

(R)-和(S)-3-异丙氧基-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-异丙氧基-5-((E)-2-(1-甲基吡咯烷-3-基)乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-5-((E)-2-(1-甲基吡咯烷-3-基)乙烯基)嘧啶
(R)-和(S)-2-氯-5-((E)-2-(1-甲基吡咯烷-3-基)乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-(1-甲基吡咯烷-3-基)乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)嘧啶
(R)-和(S)-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-3-基)乙烯基)嘧啶
(R)-和(S)-2-氯-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-2-氯-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-3-基)乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-3-基)乙烯基)吡啶
5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)嘧啶
5-((E)-2-(1-甲基哌啶-4-基)乙烯基)嘧啶
2-氯-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶
2-氯-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-4-基)乙烯基)吡啶
3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶
3-环丙基甲氧基-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-4-基)乙烯基)吡啶
5-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)嘧啶
5-((E)-2-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)乙烯基)嘧啶
5-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)-2-氯吡啶
5-((E)-2-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)乙烯基)-2-氯吡啶
3-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)-5-环丙基甲氧基吡啶
3-((E)-2-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)乙烯基)-5-环丙基甲氧基吡啶
(R)-和(S)-3-苯氧基-5-((E)-2-哌啶-3-基乙烯基)吡啶
(R)-和(S)-3-苯氧基-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-3-基)乙烯基)吡啶

3-苯氧基-5-((E)-2-哌啶-4-基乙烯基)吡啶

3-苯氧基-5-((E)-2-(1-甲基哌啶-4-基)乙烯基)吡啶

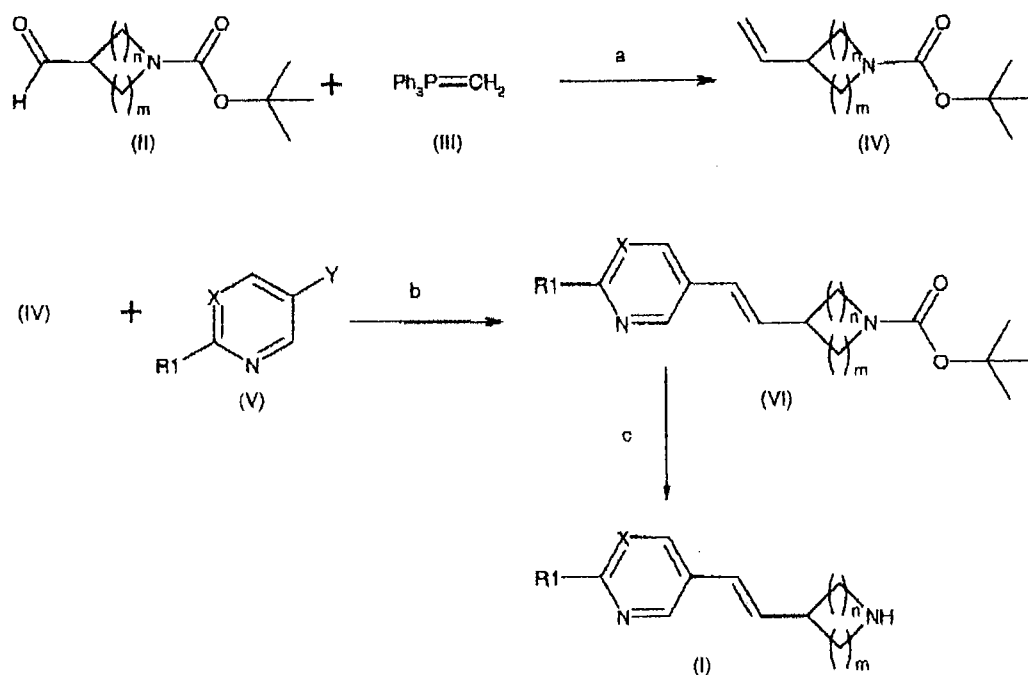
3-苯氧基-5-((E)-2-氮杂环丁烷-3-基乙烯基)吡啶和

3-苯氧基-5-((E)-2-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)乙烯基)吡啶。

在这些化合物的各化合物中，其各异构体、其包括外消旋混合物在内的混合物、其对映异构体、非对映异构体和互变异构体、以及其可药用的盐也被包括在本发明的范围内。

II. 化合物制备

虽然其它合成策略对本领域技术人员将是显而易见的，但是其中 R^3 表示氢的式 (I) 的化合物可以根据下面的一般性合成方案由通式 (II) 的化合物获得：



所说的一般性合成方案如下：

a) 将通式 (II) 的醛与正膦内盐 (III) 反应；

b) 将通式 (IV) 的乙烯基氮杂环烷与通式 (V，其中 Y=卤素) 的杂芳基卤进行反应；

c) 将该叔-丁氧基羰基从通式 (VI) 的化合物上除去；

和将该产物分离出来并任选地将其转化成可药用的盐。

通式 (II) 的醛和正膦内盐 (III) 之间的反应 (a) 有利地是在惰性

气氛下(例如在氮气下或在氩气下)在惰性溶剂如四氢呋喃中在 -10°C 至该反应混合物的沸点温度下,优选在约 -5°C 至约 22°C 的温度下进行的。

通式(IV)的乙烯基氮杂环烷和适宜的通式(V)的杂芳基卤之间的反应(b)有利地是在惰性气氛下在存在催化剂如醋酸钨、碱如二异丙基乙基胺和无机盐如氯化锂的情况下,在惰性溶剂如二甲基甲酰胺中在 20°C 至反应混合物的沸点温度下进行的。该反应的温度理想地是在约 110°C 的区域内。

在另一个实施方案中,通式(IV)的乙烯基氮杂环烷和适宜的通式(V)的杂芳基卤之间的反应(b)可以优选地在惰性气氛下(例如在氮气或在氩气下)在存在催化剂如醋酸钨和膦如三苯基膦的情况下在碱性介质例如在存在碱如三乙胺的情况下,在 20°C 至该反应混合物的沸点温度下,优选在 110°C 的温度区域内进行的。

反应(c)通常是根据不会对该分子的剩余部分产生不利影响的常规方法进行的,特别是用 T.W. Greene 和 P.G.M. Wuts, 有机合成中的保护基团(Protective Groups in Organic Synthesis)(第2版), A. Wiley - Interscience 出版(1991)中所述的方法进行的。例如,从通式(VI)上消除叔-丁氧基羰基的反应(c)优选地是在惰性气氛下(例如在氮气或氩气下)在存在酸如三氟乙酸的情况下在惰性溶剂如二氯甲烷中在 -10°C 至该反应混合物的沸点温度下,优选 -5°C 至 22°C 的温度区域中进行的。

或者,从通式(VI)的化合物上消除该叔-丁氧基羰基的反应(c)可以优选地在惰性气氛下(例如在氮气或氩气下)在惰性溶剂如二氯甲烷中在 -10°C 至该反应混合物的沸点温度下通过三甲基甲硅烷基碘化物的作用来进行,其优选地是在 22°C 的温度区域内进行的。

其中 R^3 不表示氢的通式(I)的衍生物可以由其中 R^3 表示氢原子的通式(I)的化合物根据不会对该分子的剩余部分产生不利影响的胺烷基化常规方法来获得,特别是通过用 R.C. Larock, 有机转化综述(Comprehensive Organic Transformations), 出版者为 VCH(1989)所

述的方法获得的。

或者, 其中 R^3 表示甲基的通式(I)的衍生物可以通过将其中 R^3 表示氢的通式(I)的化合物与甲醛在甲酸中的溶液在 22°C 至该反应混合物的沸点温度下进行反应来获得。

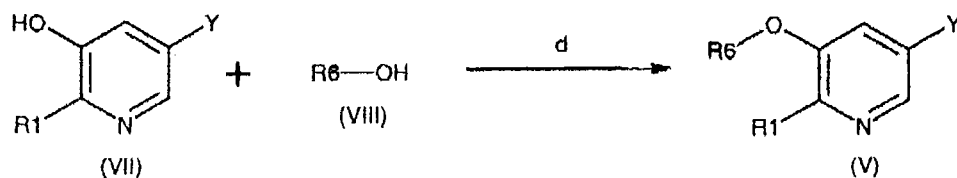
不能通过商业途径获得的通式(II)的化合物可以通过应用 Peschke B. 等人, *Eur. J. Med. Chem.* 34: 363-380(1999)所述的方法或对该方法进行了修改的方法来获得, 该参考资料的内容在这里被引入作为参考。

不能通过商业途径获得的通式(V)的化合物可以通过应用 PCT WO 00/75110 所述的方法或者对该方法进行了修改的方法来获得, 该专利申请的内容在这里被引入作为参考。或者, 其中

X 是 $\text{C}-R^2$;

R^2 是 $-\text{OR}^6$; 和

R^6 是 C_{1-6} 烷基、芳基- C_{1-6} -烷基、杂芳基- C_{1-6} -烷基、杂环基、杂环基烷基、环烷基或多环烷基, 这些基团可任选地被 1 或多个选自卤素, C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COO}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{CONH}_2$ 、甲酰基、三氟甲基或三氟甲氧基的取代基所取代, 通式(V)的化合物可以由其中 Y 是卤素和 R^1 的定义如前所述的通式(VII)的杂芳基卤和其中 R^6 的定义如前所述的通式(VIII)的醇根据下面的一般性合成方案来获得:



通式(VII)的杂芳基醇和适宜的通式(VIII)的醇之间的反应(d)优选地是在惰性气氛下在存在二氮烯如偶氮基二甲酸二乙酯和磷如三苯基磷的情况下在惰性溶剂如甲苯中在 0°C 至该反应混合物的沸点温度下, 优选在 22°C 至该溶剂的沸点温度的温度区域中进行的。

可以将通式(I)的化合物分离出来, 并用本领域技术人员众所周知的方法对其进行纯化, 所说的方法包括例如结晶、色谱法和/或萃取。

在上述方案中,当任何一个或多个 R-基是或包含在所说的反应条件下可能会发生反应的反应性基团例如 -OH、-SH、-NH₂ 或 -CO₂H 时,对本领域技术人员显而易见的是这些官能团在反应期间可能需要使用适宜的“保护基团”以阻断该 R-基团的反应性。可以根据 T.W. Greene 和 P.G.M. Wuts (有机合成中的保护基团 (第 2 版), A. Wiley - Interscience 出版 (1991)) 来对这些“保护”基团进行选择、引入这些基团并对其进行裂解。

通式 (I) 的化合物和通式 (IV) 的化合物可以通过用常规方法对其外消旋体进行分离 (即, 对映异构体的拆分) 或通过使用光学纯的起始材料而以光学纯的形式获得。

可任选地用矿物酸或有机酸通过该类酸在适宜溶剂中的作用将通式 (I) 的化合物转化成加成盐, 所说的适宜溶剂例如有机溶剂如醇、酮、醚或氯化溶剂。这些盐同样构成了本发明的一部分。

典型的可药用盐非限制性地包括苯磺酸盐、溴化物、氯化物、枸橼酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、葡萄糖酸盐、碘酸盐、马来酸盐、羧乙基磺酸盐、甲磺酸盐、亚甲基二 (β-羟萘甲酸盐)、硝酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、磷酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、theophyllinacetate、对-甲苯磺酸盐、半粘酸盐和粘酸盐。

III. 药物组合物

本发明的药物组合物包括纯态或其中混有任何其它药学可相容产品的组合物形式的式 (I) 的化合物或其盐, 所说的任何其它药学可相容的产品可以是惰性的或生理学活性的。该类组合物可以被例如口服、胃肠外、直肠或局部给药。

用于口服给药的固体组合物的实例非限制性地包括片剂、丸剂、粉剂 (明胶胶囊、扁囊剂) 和颗粒剂。在这些组合物中, 将活性化合物与一种或多种惰性稀释剂如淀粉、纤维素、蔗糖、乳糖或二氧化硅混合, 理想地在惰性气流如氩气下进行混合。

该组合物还可以包括除稀释剂之外的物质, 例如一种或多种润滑

剂如硬脂酸镁或滑石粉、着色剂、包衣衣料(包衣片)或涂剂。

用于口服给药的液体组合物的实例非限制性地包括可药用的并且一般包含惰性稀释剂如水、乙醇、甘油、植物油或液体石蜡的溶液、混悬液、乳剂、糖浆和酏剂。这些组合物可包含除稀释剂之外的物质例如润湿剂、甜味剂、增稠剂、矫味剂和稳定剂。

用于胃肠外给药的无菌组合物可包括例如水性或非水性溶液、混悬液和乳剂。适宜溶剂和载体的实例非限制性地包括水溶液，优选被缓冲的水溶液、丙二醇、聚乙二醇、植物油，尤其是橄榄油、可注射的有机酯例如油酸乙酯、和其它适宜的有机溶剂。这些组合物还可以包括助剂，尤其是润湿剂、等渗剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。可以用许多方法使该类无菌组合物无菌，例如，可以通过灭菌过滤、通过向该组合物中混入灭菌剂、通过辐射或通过加热来使其无菌。其还可以被制备成在使用时用无菌的水或任何其它可注射的无菌介质溶解的无菌固体组合物的形式。

直肠给药组合物的实例非限制性地包括栓剂和直肠胶囊，其除活性产物外，还可以包括赋形剂如可可脂、半合成甘油酯和聚乙二醇。

局部给药的组合物可以是例如乳膏、洗剂、洗眼水、漱口剂、滴鼻剂或气雾剂。

这些药物组合物还可以包括各种作为添加剂或助剂的其它组分。在相关情况中可以使用的可药用组分或助剂的实例包括抗氧化剂、自由基清除剂、肽、生长因子、抗生素、制菌剂、免疫抑制剂、抗凝剂、缓冲剂、抗炎剂、退热剂、定时释放粘合剂、麻醉剂、甾族化合物和皮质类固醇类物质。该类组分可以提供另外的治疗益处、影响药物组合物的治疗作用、或者预防任何潜在的由于使用所说的药物组合物而造成的副作用。在某些情况中，可以用本发明的化合物作为伴有用于预防或治疗特定病症的其它化合物的药物组合物的一部分。

IV. 治疗方法

用这里所述的化合物来治疗已经提出用其它类型的烟碱化合物来

对其进行治疗的那些类型的情况和病症。见，例如，Williams 等人，*DN&P* 7(4):205-227(1994)，Arneric 等人，*CNS Drug Rev.* 1(1):1-26(1995)，Arneric 等人，*Exp. Opin. Invest. Drugs* 5(1):79-100(1996)，Bencherif 等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279:1413(1996)，Lippiello 等人，*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279:1422(1996)，Damaj 等人，*Neuroscience* (1997)，Holladay 等人，*J. Med. Chem.* 40(28): 4169-4194(1997)，Bannon 等人，*Science* 279:77-80(1998)、PCT WO 94/08992、PCT WO 96/31475、和 US 专利 5,583,140(Bencherif 等人)、US 专利 5,597,919(Dull 等人)、和 US 专利 5,604,231(Smith 等人)。

还可以将该化合物作为辅助疗法与控制上述类型疾病和病症的现有疗法联用。在该类情况中，其优选地将所说的活性成分以将其对 nAChR 亚型如与肌肉和神经节有关的那些亚型的作用最小化的方式进行给药。其可以通过靶向药物传递和/或通过调节剂量从而使得可以获得所需的作用而不会满足达到显著副作用所需的剂量阈值来实现。可以用这些药物组合物来改善与这些情况、疾病和病症有关的任何症状。

可以进行治疗的情况和病症的实例包括神经病学病症、神经变性病症，特别是 CNS 病症、和炎性病症。CNS 病症可能是被药物诱导的；可能被归因于遗传素因、感染或创伤；或者可能是未知的病原学。CNS 病症包括神经精神病性病症、神经病学疾病和精神疾病，并且包括神经变性疾病、行为失常、认知障碍和认知情感病症。一些 CNS 病症的临床表现已经被归因于 CNS 机能障碍(即，由不适当的神经递质释放水平、不适当的神经递质受体性质、和/或神经递质与神经递质受体之间不适当的相互作用所导致的病症)。一些 CNS 病症可被归因于胆碱、多巴胺、去甲肾上腺素和/或血清素不足。

可以用式(I)的化合物以及其可药用的盐以及包含这些化合物的药物组合物治疗的 CNS 病症的实例包括早老性痴呆(较早发作的阿耳茨海默氏病)、老年痴呆(阿耳茨海默型痴呆)、Lewy 体痴呆、小梗塞性痴呆、与 AIDS 有关的痴呆、HIV-痴呆、多发性脑梗死、包括帕金森

氏病在内的帕金森氏综合征、皮克氏病、渐进性核上性麻痹、亨廷顿氏病、迟发性运动障碍、运动过度、癫痫、躁狂、注意力缺陷病症、焦虑、抑郁、诵读困难、精神分裂症、抑郁、强迫症、图雷特氏综合征、轻度认知损害(MCI)、与年龄有关的记忆缺损(AAMI)、与年龄有关的或由于醇中毒或者免疫缺陷综合征而导致的、或者与血管病症有关、与遗传变化(如例如, 三体性 21)有关或者与注意力缺陷或学习缺陷有关的过早的健忘和认知障碍、急性或慢性神经变性情况如肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、外周神经营养、和脑或脊柱创伤。此外, 还可使用这些化合物来治疗烟碱成瘾和/或与导致依赖性的物质(例如醇、可卡因、海洛因和鸦片制剂、神经兴奋剂、苯并二氮䓬类和巴比妥类药物)有关的其它行为失常。还可以用这些化合物来治疗在胃肠系统中表现出炎症特征的病变如克罗恩氏病、过敏性肠综合征和溃疡性结肠炎、以及腹泻。

可以改变这些化合物的给药方式。这些化合物可以通过吸入(例如, 鼻或使用 US 4, 922, 901 (Brooks 等人)所述类型传递物品的气雾剂形式)被给药; 被局部给药(例如, 以洗剂形式进行给药); 口服给药(例如, 以位于溶剂如水性或非水性液体中或者位于固体载体中的液体形式进行给药); 静脉内给药(例如, 位于葡萄糖或盐水溶液中); 或者以输入或注射的形式被给药(例如, 以位于可药用的液体或液体混合物中的混悬液或乳剂形式进行给药); 鞘内给药; 脑室内给药; 或经皮给药(例如, 使用经皮贴剂)。虽然可以将这些化合物以散装活性化学品的形式进行给药, 但是优选地使各化合物以用于有效率和有效应给药的药物组合物或药物制剂的形式存在。用于将该类化合物进行给药的方法的实例对普通技术人员而言将是显而易见的。例如, 这些化合物可以以片剂、硬明胶胶囊或定时释放胶囊的形式被给药。作为另一个实例, 可以用得自 Novartis and Alza Corporation 的贴剂技术类型将这些化合物经皮传递。本发明药物组合物的给药可以是间歇式的, 或者可以以渐增的、连续的、恒定的或受控的速率将其传递给温血动物(例如, 哺乳动物如小鼠、大鼠、猫、兔、狗、猪、牛、或猴); 但是

有利地是优选地给药于人。此外，可以改变该药物制剂进行给药的时刻和次数。给药优选地是使该药物制剂的活性成分与个体体内的受体部位相互作用从而影响 CNS 或胃肠 (GI) 道的功能的该类方式。更特定地，在 CNS 病症的治疗中，给药优选地是将这些对 CNS 的功能有作用的相关受体亚型的作用最优化，同时将对肌肉型受体亚型的作用最小化的给药。在 US 专利 5,604,231 (Smith 等人) 中对用于将本发明化合物进行给药的其它适宜方法进行了描述，其公开内容在这里被全部引入作为参考。

所述化合物的适宜剂量是可有效预防病症症状的发生或者可有效对患者所患病症的一些症状进行治疗的数量。“有效量”、“治疗量”或“有效剂量”指的是足以引起所需的药理学或治疗作用，从而有效预防或治疗所说病症的数量。因此，当对 CNS 病症进行治疗时，化合物的有效量是足以穿过个体的血脑屏障、与个体脑中相关受体部位结合、以及活化相关烟碱受体亚型 (例如，提供神经递质分泌作用，从而有效量预防或治疗了所说的病症) 的数量。病症的预防是通过延迟所说病症症状的发作而表现出来的。病症的治疗是通过与所说病症有关的症状的降低或对该病症症状复发的改善而表现出来的。

该有效量剂量可以根据诸如患者的情况、病症症状的严重程度、和组合物的给药方式之类的因素而变化。对于人类患者而言，典型化合物的有效剂量通常需要将化合物以足以活化相关受体以影响神经递质 (例如，多巴胺) 释放但是不足以诱导任何显著程度的对骨骼肌和神经节的作用的数量进行给药。化合物的有效剂量当然将随着患者的不同而不同，但是通常包括可引发发生 CNS 作用或其它所需的治疗作用的起始数量，但是低于观察到肌肉作用所需数量。

该剂量取决于所需的作用、治疗的持续时间和所用的给药途径；对成人而言的口服剂量通常为每天 0.05 mg 至 100 mg 活性物质。

一般说来，医生将根据患者的年龄、体重和对于患者而言具有特异性的所有其它因素来确定适宜的剂量。

该化合物优选地具有通过患者的血脑屏障的能力。因此，该类化

合物具有进入患者中枢神经系统的能力。在实施本发明时可以使用的典型化合物的 $\log P$ 值通常高于约 0, 常常高于约 0.5, 并且优选地高于约 1。该类典型化合物的 $\log P$ 值一般小于约 3.5, 常常小于约 3, 并且有时小于约 2.5。 $\log P$ 值为化合物穿过扩散屏障, 如生物膜的能力提供了一种度量。见, Hansch, 等人, *J. Med. Chem.* 11:1 (1968)。

在大多数情况中, 所说的化合物具有与患者脑的 nAChRs (例如, 如这些调节多巴胺释放的受体) 相结合并使其活化的能力。因此, 该类化合物具有表达烟碱药理学, 并且特别是作为烟碱激动剂或部分激动剂的能力。在本发明的实施中有用的典型化合物的受体结合常数一般超过约 0.1 nM, 常常超过约 1 nM, 并且常常超过约 10 nM。该类典型化合物的受体结合常数一般小于约 1 μ M, 常常小于约 100 nM, 并且常常小于约 50 nM。受体结合常数为化合物与患者某些脑细胞中一半相关受体部位进行结合的能力提供了一种度量。见, Cheng, 等人, *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099 (1973)。

本发明方法所用的化合物具有通过有效引起离子流通过神经末端制剂 (例如, 丘脑或纹状体突触小体) 和/或神经递质由其进行分泌而表现出烟碱功能的能力。因此, 该类化合物具有使相关神经元活化和使之释放或分泌乙酰胆碱、多巴胺、或其它神经递质的能力。一般而言, 在本发明的实施中所用的典型化合物可以有效使相关受体活化, 其使相关受体活化的数量为 (S)-(-)-烟碱所提供最大活化量的至少约 30%, 常常至少约 50%, 和常常至少约 75%。一般而言, 在本发明的实施中所用的典型化合物在引发相关受体活化方面比 (S)-(-)-烟碱更有效。一般而言, 在本发明的实施中所用的典型化合物有效提供了多巴胺分泌作用, 其作用为 (S)-(-)-烟碱所提供最大作用的至少约 50%, 常常为至少约 75%, 并且常常为至少约 100%。本发明的某些化合物所提供的多巴胺分泌作用超过了 (S)-(-)-烟碱所提供的最大作用。一般而言, 在本发明的实施中所用的典型化合物在引发神经递质分泌如多巴胺分泌方面的效力低于 (S)-(-)-烟碱。

当以本发明的方法的有效量使用时, 本发明的化合物不会对人肌

肉的 nAChRs 产生任何显著程度的活化。就这一点来讲,本发明的化合物在表达肌肉型烟碱乙酰胆碱受体的细胞制剂中使得同位素铷离子通过 nAChRs 流出的能力差。因此,该类化合物表现出十分高(即高于约 100 μ M)的受体活化常数或 EC₅₀ 值(即,其提供了将患者骨骼肌的相关受体部位活化一半所需化合物浓度的度量)。一般而言,在本发明的实施中所用的典型的优选化合物对同位素铷离子流量的活化小于(S)-烟碱所提供最大作用的 10%,通常小于 5%。

当以本发明的方法的有效量使用时,本发明的化合物不会对人神经节的 nAChRs 产生任何显著程度的活化。这些化合物缺乏活化肾上腺嗜铬组织烟碱功能的能力证明了本发明化合物对产生心血管副作用的这些 nAChRs 的这种选择性。因此,该类化合物在得自肾上腺的细胞制剂中引起同位素铷离子通过 nAChRs 进行流通的能力差。一般而言,用于实施本发明的典型的优选化合物活化同位素铷离子流通的最大作用小于 S(-)烟碱所提供的最大作用的 10%,常常小于 5%。

所说的化合物可有效提供一定程度的预防 CNS 病症进展、缓解 CNS 病症症状、和在一定程度上缓解 CNS 病症的复发的作用。但是,正如对认为其反映了对心血管系统的作用或对骨骼肌的作用的制剂的作用降低所证明的那样,这些化合物的该类有效量不足以引发任何可察觉的不希望的烟碱作用。因此,本发明化合物的给药提供了一种在其中为某些 CNS 病症提供了治疗作用并且避免了不希望的外周的烟碱作用/副作用的治疗窗。即,本发明化合物的有效剂量足以提供所需的对 CNS 的作用,但是不足以提供不希望的副作用(即位于不足够高的水平)。在使用小于足以造成任何显著程度副作用的数量的 1/3,常常小于 1/5,并且常常小于 1/10 的数量时发生了对 CNS 病症产生治疗作用的本发明化合物的有效给药。

合成实施例

用下面的合成实施例来对本发明进行说明,不能将其看成是对本发明进行的限制。在这些实施例中,除非特别说明,否则所有的份数

和百分比都是重量份数和重量百分比。反应收率是以摩尔百分比为单位的。

实施例 1: 外消旋的 3-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶半粘酸盐:

将三氟乙酸(0.91 cm³, 11.7 mmol)滴加到 0.44 g (1.17 mmol) 外消旋的 3-((E)-2-[5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶-3-基]乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 4.5 cm³ 二氯甲烷中的溶液中, 其在氩气下进行并冷却至 0°C。将该反应混合物在这种温度下搅拌 0.5 h, 然后将其在 22°C 区域的温度搅拌 20 h 并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥。将油状残余物用 5 cm³ 水吸收并将通过加入 28% 的氨水溶液使所得溶液为碱性 (pH=8), 然后将其用 25 cm³ 二氯甲烷萃取三次。将所合并的有机相用 25 cm³ 水洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到 0.225 g 橙色油状物, 将其用硅胶色谱纯化 [洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 (9/1, 然后 8/2 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 0.1 g (0.36 mmol) 橙色油状物。向已经向其中加入了 0.5 cm³ 水的这种油状物在 2 cm³ 甲醇中的溶液中加入粘酸 (0.038 g, 0.18 mmol)。将这种混合物回流, 然后将其冷却至 22°C 区域并通过过滤除去不溶性物质。将滤液在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥并将该油状残余物用 2 cm³ 乙醇吸收。将沉淀出来的固体滤出, 用 2 cm³ 乙酸异丙酯和 2 cm³ 二异丙醚洗涤, 然后将其在 40°C 下真空 (2.7 kPa) 干燥, 得到 0.088 g 米色固体形式的外消旋的 3-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶半粘酸盐。质谱 (EI): m/z 274 (M⁺), m/z 232. ¹H NMR 谱 (300 MHz, 具有几滴 CD₃COOD d4 的 (CD₃)₂SO d6, δ (ppm)): 1.61 (m: 2H); 1.82 (m: 1H); 1.98 (m: 2H); 2.17 (m: 1H); 2.96 (dd, J = 10.5 和 8.5 Hz: 1H); 3.07 (m: 1H); 从 3.10 至 3.40 (m: 2H); 3.41 (dd, J = 10.5 和 7.5 Hz: 1H); 3.50 (ddd, J = 12 - 9.5 和 3 Hz: 2H); 3.79 (s: 1H); 3.87 (dt, J = 12 和 4.5 Hz: 2H); 4.24 (s: 1H); 4.69 (m: 1H); 6.43 (dd, J = 16 和 7 Hz: 1H); 6.56 (d, J = 16

Hz: 1H); 7.49 (m: 1H); 8.20 (m: 2H)。

可以如下那样制备外消旋的 3-[(E)-2-[5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶-3-基]乙烯基]吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯:

将醋酸钨 (0.117 g, 0.52 mmol)、0.678 g (16 mmol) 氯化锂和 7.25 cm³ (42 mmol) 乙基二异丙基胺在氩气下连续加入到 1.33 g (5.17 mmol) 3-溴-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶和 1.2 g (5.17 mmol) 外消旋的 3-乙烯基吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 15 cm³ 二甲基甲酰胺中的溶液中。在将其在搅拌的情况下在 110°C 下加热 3 小时后, 将该反应混合物在 22°C 区域搅拌 2 小时, 然后将其在减压下浓缩至干燥 (2.7 kPa)。将该油状残余物用 50 cm³ 乙酸乙酯吸收并将所得的溶液连续用 25 cm³ 水洗涤 2 次、用 25 cm³ 饱和碳酸氢钠溶液洗涤、用 25 cm³ 水洗涤两次和用 25 cm³ 饱和氯化钠溶液洗涤, 然后用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到 1.4 g 褐色油状物。将这种残余物用硅胶色谱纯化 [洗脱剂: 环己烷/乙酸乙酯 (8/2 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 0.44 g 黄色油状物, 将其不进行进一步纯化地用于该合成的剩余部分。

可以如下那样制备 3-溴-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡啶:

将偶氮基二甲酸二乙酯 (7.1 cm³, 45 mmol) 在氩气下滴加到 5.22 g (30 mmol) 5-溴吡啶-3-醇、4.69 g (45 mmol) 四氢吡喃-4-醇 (45 mmol) 和 11.8 g (45 mmol) 三苯基膦在 150 cm³ 甲苯中的溶液中。在将其在回流下加热搅拌 20 小时后, 将该反应混合物带至 22°C 区域, 然后将其相继用 75 cm³ 水洗涤两次、用 75 cm³ 饱和碳酸氢钠溶液洗涤两次、用 75 cm³ 水和 75 cm³ 饱和氯化钠溶液洗涤两次, 然后将这些有机溶液用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到一种橙色油状物。将这种残余物与 100 cm³ 二异丙醚混合并将所形成的固体滤出, 用 25 cm³ 二异丙醚洗涤两次。将滤液在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到 10 g 橙色油状物。将这种残余物用硅胶色谱纯化 [洗脱剂: 环己烷/乙酸乙酯 (8/2 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 7.3 g 黄色油状物形式的 3-溴-5-(四氢吡喃-4-基氧基)吡

啉。¹H NMR 谱(300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ(ppm)): 1.59(m: 2H); 1.99(m: 2H); 3.49(ddd, J = 12.5 – 9.5 和 3 Hz: 2H); 3.87(dt, J = 12.5 和 4.5 Hz: 2H); 4.75(m: 1H); 7.82(dd, J = 2.5 和 2 Hz: 1H); 8.28(d, J = 2 Hz: 1H); 8.33(d, J = 2.5 Hz: 1H)。

可以如下那样制备外消旋的 3-乙烯基吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯:

将位于己烷中的正-丁基锂 (44 cm³ 1.6 N 溶液) 滴加到 25.5 g (71 mmol) 溴化三苯基甲基磷在 300 cm³ 四氢呋喃中的混悬液中, 将其在氩气下冷却至 0°C。将该反应混合物在 0°C 下搅拌 0.5 h, 然后将其与 7.1 g (35.6 mmol) 外消旋的 3-甲酰基吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 100 cm³ 四氢呋喃中的溶液进行混合。在使其在 22°C 区域的温度下反应 2.5 小时后, 将该混合物倾倒入 600 cm³ 饱和氯化铵水溶液中。在加入乙酸乙酯后, 通过倾泻取出有机相, 用水和饱和氯化钠溶液洗涤两次, 然后将其用硫酸镁干燥并将其在减压下浓缩至干燥 (2.7 kPa)。将所得的油状物用硅胶色谱纯化[洗脱剂: 环己烷/乙酸乙酯 (95/5, 然后 9/1 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 6.3 g 无色油状物形式的外消旋的 3-乙烯基吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯。质谱 (ES): m/z 198 (MH⁺), m/z=142。

实施例 2: 外消旋的 5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基) 嘧啶半粘酸盐:

将三氟乙酸 (1.2 cm³, 15.6 mmol) 滴加到 0.43 g (1.56 mmol) 外消旋的 3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基) 吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 6 cm³ 二氯甲烷中的溶液中, 将其在氩气下冷却至 0°C。将该反应混合物在这种温度下搅拌 0.5 h, 然后将其在 22°C 区域下搅拌 20 小时并将其在减压下浓缩至干燥 (2.7 kPa)。将该油状残余物用 5 cm³ 水吸收并通过加入 28% 氨水溶液使所得的溶液为碱性 (pH=8), 然后将其用 25 cm³ 二氯甲烷萃取三次。将所合并的有机相用 25 cm³ 水洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到 0.126 g 橙色油状物, 将其用硅胶色谱纯化[洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 (9/1, 然后 8/2 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 0.1 g (0.57 mmol) 橙色油状物。向已经向其中加入了 0.5 cm³ 水的这种油状物在 2 cm³ 甲醇中的

溶液中加入粘酸(0.06 g, 0.28 mmol)。将这种混合物回流, 然后将其冷却至 22°C 区域内并通过过滤除去不溶性物质。将滤液在减压下(2.7 kPa)浓缩至干燥并将该油状残余物用 2 cm³ 乙醇吸收。将沉淀出来的固体滤出, 用 2 cm³ 乙酸异丙酯和 2 cm³ 二异丙醚洗涤两次, 然后将其在 40°C 下真空(2.7 kPa)干燥, 得到 0.1 g 赭色固体形式的外消旋的 5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶半粘酸盐。质谱(DCI): m/z 176(MH⁺)。 ¹H NMR 谱(300 MHz, 具有几滴 CD₃COOD d4 的 (CD₃)₂SO d6, δ(ppm)): 1.82(m: 1H); 2.18(m: 1H); 2.98(dd, J = 11 和 8.5 Hz: 1H); 3.10(m: 1H); 3.20(m: 1H); 3.33(m: 1H); 3.42(dd, J = 11 和 7.5 Hz: 1H); 3.79(s: 1H); 4.24(s: 1H); 6.55(limit AB: 2H); 8.87(s: 2H); 9.04(s: 1H)。

可以如下那样制备外消旋的 3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯:

将醋酸钨(0.117 g, 0.52 mmol)、0.678 g(16 mmol)氯化锂和 7.25 cm³(42 mmol)乙基二异丙基胺在氩气下连续加入到 0.822 g(5.17 mmol)5-溴嘧啶和 1.2 g(5.17 mmol)外消旋的 3-乙烯基吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 15 cm³二甲基甲酰胺中的溶液中。在将其在搅拌的情况下在 110°C 下加热 3 小时后, 将该反应混合物在 22°C 区域的温度下搅拌 2 小时, 然后将其在减压下浓缩至干燥(2.7 kPa)。将该油状残余物用 50 cm³ 乙酸乙酯吸收并将所得的溶液相继用 25 cm³ 水洗涤两次、用 25 cm³ 饱和碳酸氢钠溶液洗涤、用 25 cm³ 水洗涤两次和用 25 cm³ 饱和氯化钠溶液洗涤, 然后, 将其用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下(2.7 kPa)浓缩至干燥, 得到 1.1 g 褐色油状物。将这种残余物用硅胶色谱纯化 [洗脱剂: 环己烷/乙酸乙酯(8/2 体积)]。将这些级分在减压下(2.7 kPa)浓缩, 得到 0.43 g 油状物形式的外消旋的 3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯。 ¹H NMR 谱(300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ(ppm)): 1.42(s: 9H); 1.78(m: 1H); 2.05(m: 1H); 从 2.90 至 3.15(m: 2H); 从 3.15 至 3.60(m: 3H); 6.51(d, J = 16.5 Hz: 1H); 6.64(dd, J = 16.5 和 7 Hz: 1H); 8.89(s: 2H); 9.04(s:

1H)。

实施例 3: (+)-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶粘酸盐:

将三甲基甲硅烷基碘化物 (0.2 cm^3 , 1.4 mmol) 在 22°C 区域温度下, 在氩气下加入到 0.26 g (0.944 mmol) (+)-3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 10 cm^3 二氯甲烷中的溶液中。在将其在该温度下搅拌 2 小时后, 将该反应混合物与 15 cm^3 5% 氨水溶液混合并将其在 22°C 区域温度下搅拌 1 小时, 然后使其静置。将水相分离出来并用二氯甲烷萃取。将所合并的有机相用水和饱和氯化钠水溶液洗涤两次, 然后将其用硫酸镁干燥, 过滤并将其在减压下 (2.7 kPa) 浓缩至干燥, 得到 0.06 g 橙色油状物。向其中已经加入了 0.6 cm^3 水的这种油状物在 6 cm^3 甲醇中的溶液中加入粘酸 (0.035 g , 0.16 mmol)。将这种混合物回流, 冷却至 22°C 区域中的温度并将其在减压下浓缩至干燥 (2.7 kPa)。将该油状残余物在存在 5 cm^3 二异丙醚的情况下进行研磨并将所形成的固体滤出, 然后将其在 45°C 下真空 (2.7 kPa) 干燥, 得到 0.072 g 黄色固体形式的 (+)-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶粘酸盐。质谱 (DCI): $m/z = 176(\text{MH}^+)$ 。 ^1H NMR 谱 (300 MHz , 具有几滴 CD_3COOD d_4 的 $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d_6 , $\delta(\text{ppm})$): $1.81(\text{m}; 1\text{H})$; $2.19(\text{m}; 1\text{H})$; $2.98(\text{dd}, J = 11\text{ 和 } 9\text{ Hz}; 1\text{H})$; $3.10(\text{m}; 1\text{H})$; $3.21(\text{m}; 1\text{H})$; $3.33(\text{m}; 1\text{H})$; $3.43(\text{dd}, J = 11\text{ 和 } 8\text{ Hz}; 1\text{H})$; $3.79(\text{s}; 2\text{H})$; $4.25(\text{s}; 2\text{H})$; $6.56(\text{limit AB}; 2\text{H})$; $8.88(\text{s}; 2\text{H})$; $9.05(\text{s}; 1\text{H})$ 。

可以如下那样制备 (+)-3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯:

将 3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯 (0.5 g) 的外消旋混合物分成两份注射到 8 cm 直径的包含 1.2 kg 手性固定相 Chiralpak AS $^{\text{TM}}$ $20\text{ }\mu\text{m}$ 的柱中 [流速: 130 ml/min , 洗脱剂: 庚烷/甲醇/乙醇 ($98/1/1$ 体积)]。将这些级分在减压下 (2.7 kPa) 浓缩, 得到 0.24 g of (+)-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯和 0.27 g (-)-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯。 (+)-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在直径为 4.6

mm 和长度为 250 mm 的 Chiralpak ASTM 20 μ m 柱上保留时间为 14.2 分钟的第二位置中被洗脱下来[流速: 1 ml/min, 洗脱剂: 庚烷/甲醇/乙醇(98/1/1 体积)]。¹H NMR 谱(300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ (ppm)): 1.43(s: 9H); 1.79(m: 1H); 2.06(m: 1H); 从 2.95 至 3.15(m: 2H); 从 3.20 至 3.35(m: 1H); 3.44(ddd, J = 11 – 8.5 和 3 Hz: 1H); 3.53(宽 dd, J = 10 和 7.5 Hz: 1H); 6.52(d, J = 16.5 Hz: 1H); 6.63(dd, J = 16.5 和 7 Hz: 1H); 8.89(s: 2H); 9.04(s: 1H)。(-)-(E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在直径为 4.6 mm 和长度为 250 mm 的 Chiralpak ASTM 20 μ m 柱上保留时间为 17 分钟的第二位置中被洗脱下来[流速: 1 ml/min, 洗脱剂: 庚烷/甲醇/乙醇(98/1/1 体积)]。¹H NMR 谱(300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ (ppm)): 1.43(s: 9H); 1.79(m: 1H); 2.06(m: 1H); 从 2.95 至 3.15(m: 2H); 从 3.20 至 3.35(m: 1H); 3.44(ddd, J = 11 – 8.5 和 3 Hz: 1H); 3.53(宽 dd, J = 10 和 7.5 Hz: 1H); 6.52(d, J = 16.5 Hz: 1H); 6.63(dd, J = 16.5 和 7 Hz: 1H); 8.89(s: 2H); 9.04(s: 1H)。

实施例 4: (-)-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶粘酸盐:

将三甲基甲硅烷基碘化物(0.2 cm³, 1.4 mmol)在 22°C 区域的温度下在氩气下加入到 0.29 g(1.053 mmol) (-)-3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯在 10 cm³ 二氯甲烷中的溶液中。在将其在该温度下搅拌 2 小时后,将该反应混合物与 15 cm³ 5%氨水溶液进行混合,将其在 22°C 区域的温度下搅拌 1 小时并使之静置。将水相分离出来并用二氯甲烷萃取。将所合并的有机相用水和饱和氯化钠水溶液洗涤两次,然后将其用硫酸镁干燥,过滤并将其在减压下(2.7 kPa)浓缩至干燥,得到 0.1 g 橙色油状物。向已经向其中加入了 1 cm³ 水的这种油状物在 10 cm³ 甲醇中的溶液中加入粘酸(0.06 g, 0.28 mmol)。将这种混合物回流,冷却至 22°C 区域的温度并将其在减压下浓缩至干燥(2.7 kPa)。将该油状残余物在存在 5 cm³ 二异丙醚的情况下进行研磨并将所形成的固体滤出,然后将其在 45°C 下在真空(2.7 kPa)下干燥,

得到 0.094 g 黄色固体形式的 (-)-5-((E)-2-吡咯烷-3-基乙烯基)嘧啶粘酸盐。质谱(DCI): $m/z = 176 (MH^+)$ 。 1H NMR 谱(300 MHz, 具有几滴 CD_3COOD d4 的 $(CD_3)_2SO$ d6, δ (ppm)): 1.82 (m: 1H); 2.19 (m: 1H); 2.98 (dd, $J = 11$ 和 9 Hz: 1H); 3.10 (m: 1H); 3.21 (m: 1H); 3.32 (m: 1H); 3.43 (dd, $J = 11$ 和 7.5 Hz: 1H); 3.79 (s: 2H); 4.24 (s: 2H); 6.57 (limit AB: 2H); 8.88 (s: 2H); 9.05 (s: 1H)。

可以如实施例 3 所述那样制备 (-)-3-((E)-2-嘧啶-5-基乙烯基)吡咯烷-1-甲酸叔-丁酯。

实施例 5: Log P 值的测定:

已经用其来对化合物通过血脑屏障的能力进行评估 (Hansch, 等人, *J. Med. Chem.* ii:1(1968)) 的 Log P 值是用 Molecular Simulations, Inc. 的 Cerius² 软件包 (3.5 版) 来进行计算的。

实施例 6: 对典型化合物的各种性质进行的评估:

用下面的试验来对这里所述的某些化合物的亲合力和其它药理学性质进行测定, 并且普遍可以用其来对这里所述的其它化合物进行评估。

放射性配体对中枢神经系统 n-乙酰胆碱 受体 (CNS nAChR) 的结合

$\alpha 4\beta 2$ 亚型

将体重为 150-250 g 的大鼠(雌性, Sprague-Dawley) 维持在一种 12 小时的光/暗循环下并使其自由进食水和由 PMI Nutrition International, Inc 提供的食物。将动物用 70% CO_2 麻醉, 然后将其斩首。除去其脑并将其放到一个冰冷的平台上。取出大脑皮层并将其放到 20 体积(重量: 体积)冰冷的制备缓冲剂 ($NaCl$, 137 mM; KCl , 10.7 mM; KH_2PO_4 , 5.8 mM; Na_2HPO_4 , 8 mM; HEPES(游离酸), 20 mM; 碘代乙酰胺, 5 mM; EDTA, 1.6 mM; pH 7.4) 中; 向其中加入溶解于甲醇

中至 100 μM 的终浓度的 PMSF 并将该混悬液用 Polytron 匀化。将该匀浆在 18,000 $\times g$ 下在 4°C 下离心 20 分钟并将所得的小丸重新混悬于 20 体积冰冷的水中。在将其在冰上培养 60 分钟后, 通过将其在 18,000 $\times g$ 下在 4°C 下离心 20 分钟收集新的小丸。将该最后获得的小丸重新混悬于 10 体积缓冲剂中并将其储存在 -20°C 下。在试验的当天, 将组织解冻, 将其在 18,000 $\times g$ 下离心 20 分钟, 然后将其重新混悬于冰冷的 PBS (Dulbecco's 磷酸盐缓冲的盐水, NaCl, 138 mM; KCl, 2.67 mM; KH_2PO_4 , 1.47 mM; Na_2HPO_4 , 8.1 mM; CaCl_2 , 0.9 mM; MgCl_2 , 0.5 mM; Invitrogen/Gibco; pH 7.4) 中至大约 4 mg 蛋白/mL 的终浓度。用牛血清白蛋白作为标准品, 用 Lowry 等人, *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951) 所述的方法对蛋白进行测定。

用 Romano 等人, *Science* 210: 647-650 (1980) and Marks 等人, *Mol. Pharmacol.* 30: 427-436 (1986) 方法的变型对 [^3H] 烟碱的结合进行测量。所说的 [^3H] 烟碱 (比活度 = 81.5 Ci/mmol) 得自 NEN Research Products。使用将其在 4°C 下培养 3 小时的方法来测量 [^3H] 烟碱的结合。这些培养是在 48-孔微量滴定板中进行的并且在 300 μL 的最终培养体积中每孔包含约 400 μg 蛋白。培养缓冲剂是 PBS 并且 [^3H] 烟碱的终浓度为 5 nM。通过用 Brandel Tissue Harvester 在 4°C 下将包含结合配体的蛋白过滤到玻璃纤维滤器 (GF/B, Brandel) 上来终止该结合反应。将滤器浸泡在包含 0.33% 聚乙烯亚胺的去离子水中以降低非特异性结合。将各滤器用 1 mL 冰冷的缓冲剂洗涤 3 次。通过在所选择的孔中包含 10 μM 无放射活性的 L-烟碱 (Acros Organics) 来对非特异性结合进行测定。

试验化合物对 [^3H] 烟碱结合的抑制作用是通过在所选择的孔中包含七种不同浓度的试验化合物来进行测定的。各浓度都是一式三份平行测定的。IC₅₀ 值被估算为将特异性 [^3H] 烟碱结合抑制了 50% 的化合物浓度。以 nM 为单位进行报告的抑制常数 (K_i 值) 是用 Cheng 等人, *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099-3108 (1973) 的方法由该 IC₅₀ 值计算出来的。

$\alpha 7$ 亚型

将体重为 150-250 g 的大鼠(雌性, Sprague-Dawley)维持在一种 12 小时的光/暗循环下并使其自由进食水和由 PMI Nutrition International, Inc 提供的食物。将动物用 70% CO_2 麻醉, 然后将其斩首。除去其脑并将其放到一个冰冷的平台上。取出海马并将其放到 10 体积(重量: 体积)冰冷的制备缓冲剂(NaCl , 137 mM; KCl , 10.7 mM; KH_2PO_4 , 5.8 mM; Na_2HPO_4 , 8 mM; HEPES(游离酸), 20 mM; 碘代乙酰胺, 5 mM; EDTA, 1.6 mM; pH 7.4)中; 向其中加入溶解于甲醇中至 100 μM 的终浓度的 PMSF 并将该组织混悬液用 Polytron 匀化。将该匀浆在 18,000 $\times g$ 下在 4°C 下离心 20 分钟并将所得的小丸重新混悬于 10 体积冰冷的水中。在将其在冰上培养 60 分钟后, 通过将其在 18,000 $\times g$ 下在 4°C 下离心 20 分钟收集新的小丸。将该最后获得的小丸重新混悬于 10 体积缓冲剂中并将其储存在 -20°C 下。在试验的当天, 将组织解冻, 将其在 18,000 $\times g$ 下离心 20 分钟, 然后将其重新混悬于冰冷的 PBS (Dulbecco's 磷酸盐缓冲的盐水, NaCl , 138 mM; KCl , 2.67 mM; KH_2PO_4 , 1.47 mM; Na_2HPO_4 , 8.1 mM; CaCl_2 , 0.9 mM; MgCl_2 , 0.5 mM; Invitrogen/Gibco; pH 7.4)中至大约 2 mg 蛋白/mL 的终浓度。用牛血清白蛋白作为标准品, 用 Lowry 等人, *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951) 所述的方法对蛋白进行测定。

用 Davies 等人, *Neuropharmacol.* 38: 679-690, 1999) 方法的变型对 [^3H]MLA 的结合进行测量。所说的 [^3H]MLA (比活度 = 25-35 Ci/mmol) 得自 Tocris。使用将其在 21°C 下培养 2 小时的方法来测量 [^3H]MLA 的结合。这些培养是在 48-孔微量滴定板中进行的并且在 300 μL 的最终培养体积中每孔包含 1 μg 蛋白。培养缓冲剂是 PBS 并且 [^3H]MLA 的终浓度为 5 nM。通过用 Brandel Tissue Harvester 在室温下将包含结合配体的蛋白过滤到玻璃纤维滤器 (GF/B, Brandel) 上来终止该结合反应。将滤器浸泡在包含 0.33% 聚乙烯亚胺的去离子水中以降低非特异性结合。将各滤器在室温下用 1 mL PBS 洗涤 3 次。通过在所选择的孔中包含 50 μM 无放射活性的 MLA 来对非特异性结合

进行测定。

试验化合物对 [^3H]MLA 结合的抑制作用是通过在所选择的孔中包含七种不同浓度的试验化合物来进行测定的。各浓度都是一式三份平行测定的。 IC_{50} 值被估算为将特异性 [^3H]MLA 结合抑制了 50% 的化合物浓度。以 nM 为单位进行报告的抑制常数 (K_i 值) 是用 Cheng 等人, *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099-3108 (1973) 的方法由该 IC_{50} 值计算出来的。

多巴胺释放的测定

多巴胺释放是用得自大鼠脑的纹状体小体, 根据 Rapier 等人, *J. Neurochem.* 54: 937-45 (1990) 所述的操作进行测量的。将体重为 150-250 g 的大鼠 (雌性, Sprague-Dawley) 维持在一种 12 小时的光/暗循环下并使其自由进食水和由 PMI Nutrition International, Inc 提供的食物。将动物用 70% CO_2 麻醉, 然后将其斩首。迅速取出其脑并迅速对纹状体进行解剖。将 2 只大鼠的纹状体组织汇集并将其用玻璃/玻璃匀化器在 5 ml 冰冷的 0.32 M 包含 5 mM HEPES, pH 7.4 的蔗糖中进行匀化。然后, 将该组织在 1,000 x g 下离心 10 分钟。将小丸弃去并将上清液在 12,000 g 下离心 20 分钟。将所得的小丸重新混悬于包含单胺氧化酶抑制剂的灌注缓冲剂 (128 mM NaCl, 1.2 mM KH_2PO_4 , 2.4 mM KCl, 3.2 mM CaCl_2 , 1.2 mM MgSO_4 , 25 mM HEPES, 1 mM 抗坏血酸, 0.02 mM 优降宁 HCl 和 10 mM 葡萄糖, pH 7.4) 中并将其在 25,000g 下离心 15 分钟。将该最后获得的小丸重新混悬于 1.4 ml 灌注缓冲剂中直接使用。

将该突触小体的混悬液在 37°C 下培养 10 分钟以恢复代谢活性。以 0.1 μM 的终浓度向其中加入 [^3H]多巴胺 ([^3H]DA, 比活度 = 28.0 Ci/mmol, NEN Research Products) 并将该混悬液在 37°C 下再培养 10 分钟。将 50 μL 组织的等分试样 + 100 μL 灌注缓冲剂加载到 Brandel Suprafusion System (series 2500, Gaithersburg, MD) 的 suprafusion 室中。在 8 分钟的清洗期内, 将灌注缓冲剂 (室温) 以 3

ml/min 的速度泵入到该室中。然后,在灌注流中使用试验化合物 (10 μ M) 或烟碱 (10 μ M) 40 秒。在试验期间,连续从各室中收集级分 (各 12 秒) 以截获基础释放、激动剂诱导的峰释放和在使用激动剂后重建该基准。将灌注液直接收集到闪烁瓶中,向其中加入闪烁液。用闪烁计数对所释放的 [3 H]DA 进行定量。对于各室而言,将峰的积分面积相对于其基准而言归一化。

将释放表示为用等浓度的 L-烟碱所得释放的百分比。在各试验中,各试验化合物是用 2-3 个室平行测定的;将这些平行测定的结果进行平均。当适当时,测定试验化合物的剂量-响应曲线。以 L-烟碱所诱导的最大活化的百分比的形式测定各试验化合物的最大活化 ($E_{\max}$)。还定义了产生最大活化特定离子流量一半的试验化合物浓度 (EC_{50})。

对外周 nAChRs 的选择性

与人肌肉亚型的相互作用

肌肉型 nAChR 的活化是在得自胚胎性横纹肌肉瘤 (Stratton 等人, *Carcinogen* 10: 899-905, 1989) 的人无性系 TE671/RD 的基础上建立的。这些细胞表达具有与肌肉型 nAChR 相似的药理学 (Lukas 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 251: 175-182, 1989)、电生理学 (Oswald 等人, *Neurosci. Lett.* 96: 207-212; 1989)、和分子生物学性质 (Luther 等人, *J. Neurosci.* 9: 1082-1096, 1989) 的受体。

根据常规方案 (Bencherif 等人, *Mol. Cell. Neurosci.* 2: 52-65 (1991) 和 Bencherif 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 946-953 (1991)) 将 TE671/RD 细胞维持在增生性生长期。将细胞在具有 10% 马血清 (Gibco BRL)、5% 胎牛血清 (HyClone, Logan UT)、1mM 丙酮酸钠、4 mM L-谷酰胺、50,000 单位青霉素-链霉素 (Irvine Scientific) 的 Dulbecco's 改性的 Eagle's 介质 (Gibco/BRL) 中进行培养。当细胞 80% 汇合时,将其涂镀到 6 孔聚苯乙烯板 (Costar) 中。当这些细胞达到 100% 汇合时进行实验。

根据 Lukas 等人, *Anal. Biochem.* 175: 212-218 (1988) 所述的

方法, 用 $^{86}\text{Rb}^+$ 外向通量对烟碱乙酰胆碱受体 (nAChR) 功能进行分析。在实验的当天, 轻轻从孔中取出生长介质并向各孔中加入包含氯化 ^{86}Rb (10^6 Ci/ml) 的生长介质。将细胞在 37°C 下培养最少 3 小时。在该加载期后, 除去过量的 ^{86}Rb 并将这些细胞用不含标记物的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲的盐水 (NaCl, 138 mM; KCl, 2.67 mM; KH_2PO_4 , 1.47 mM; Na_2HPO_4 , 8.1 mM; CaCl_2 , 0.9 mM; MgCl_2 , 0.5 mM; Invitrogen/Gibco, pH. 7.4) 洗涤两次, 注意不要扰乱这些细胞。接下来, 使细胞与 $100\text{ }\mu\text{M}$ 试验化合物或 $100\text{ }\mu\text{M}$ L-烟碱 (Acros Organics) 或仅与缓冲剂接触 4 分钟。在该接触期后, 取出包含所释放的 ^{86}Rb 的上清液并将其转移到闪烁瓶中。向其中加入闪烁液并通过液体闪烁计数对所释放的放射性进行测量。

在各试验中, 各点有 2 次平行测定, 其是均值。将 ^{86}Rb 的释放数量与阳性对照 ($100\text{ }\mu\text{M}$ L-烟碱) 和阴性对照 (仅使用缓冲剂) 进行比较以确定相对于 L-烟碱的释放而言的释放百分比。

当适宜时, 测定试验化合物的剂量-响应曲线。以 L-烟碱所诱导的最大活化的百分比的形式测定各试验化合物的最大活化 (E_{max})。还定义了产生最大活化特定离子流量一半的试验化合物浓度 (EC_{50})。

与大鼠神经节亚型的相互作用

大鼠神经节 nAChR 的活化是在嗜铬细胞瘤无性系 PC12 的基础上建立的, 所说的细胞系是得自大鼠肾上腺髓质肿瘤的神经营区域连续细胞系。这些细胞表达神经节样神经元 nAChRs (see Whiting 等人, *Nature* 327: 515-518 (1987); Lukas 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 251: 175-182 (1989); Whiting 等人, *Mol. Brain Res.* 10: 61-70 (1990))。

根据常规方案 (Bencherif 等人, *Mol. Cell. Neurosci.* 2: 52-65 (1991) 和 Bencherif 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 946-953 (1991)) 将大鼠 PC12 细胞维持在增生性生长期。将细胞在具有 10% 马血清 (Gibco BRL)、5% 胎牛血清 (HyClone, Logan UT)、1mM 丙酮酸钠、4 mM L-谷酰胺、50,000 单位青霉素-链霉素 (Irvine

Scientific)的 Dulbecco's 改性的 Eagle's 介质 (Gibco/BRL) 中进行培养。当细胞 80%汇合时, 将其涂镀到用 0.03% 聚-L-赖氨酸 (Sigma, 溶解于 100mM 硼酸中) 进行了涂布的 6 孔 Nunc 板 (Nunc) 中。当这些细胞达到 80% 汇合时进行实验。

根据 Lukas 等人, *Anal. Biochem.* 175: 212-218 (1988) 所述的方法, 用 $^{86}\text{Rb}^+$ 外向通量对烟碱乙酰胆碱受体 (nAChR) 功能进行分析。在实验的当天, 轻轻从孔中取出生长介质并向各孔中加入包含氯化 ^{86}Rb (10^6 Ci/ml) 的生长介质。将细胞在 37°C 下培养最少 3 小时。在该加载期后, 除去过量的 ^{86}Rb 并将这些细胞用不含标记物的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲的盐水 (NaCl, 138 mM; KCl, 2.67 mM; KH_2PO_4 , 1.47 mM; Na_2HPO_4 , 8.1 mM; CaCl_2 , 0.9 mM; MgCl_2 , 0.5 mM; Invitrogen/Gibco, pH. 7.4) 洗涤两次, 注意不要扰乱这些细胞。接下来, 使细胞与 100 μM 试验化合物或 100 μM 烟碱或仅与缓冲剂接触 4 分钟。在该接触期后, 取出包含所释放的 ^{86}Rb 的上清液并将其转移到闪烁瓶中。向其中加入闪烁液并通过液体闪烁计数对所释放的放射性进行测量。

在各试验中, 各点有 2 次平行测定, 其是均值。将 ^{86}Rb 的释放数量与阳性对照 (100 μM 烟碱) 和阴性对照 (仅使用缓冲剂) 进行比较以确定相对于 L-烟碱的释放而言的释放百分比。

当适宜时, 测定试验化合物的剂量-响应曲线。以 L-烟碱所诱导的最大活化的百分比的形式测定各试验化合物的最大活化 (E_{max})。还定义了产生最大活化特定离子流量一半的试验化合物浓度 (EC_{50})。

与人神经节亚型的相互作用

细胞系 SH-SY5Y 是得自对亲代细胞系 SK-N-SH 的顺序亚克隆系, 所说的亲代细胞系最初是由人外周成神经细胞瘤获得的。SH-SY5Y 细胞表达神经节样 nAChR (Lukas 等人, *Mol. Cell. Neurosci.* 4: 1-12, 1993)。

根据常规方案 (Bencherif 等人, *Mol. Cell. Neurosci.* 2: 52-65 (1991) 和 Bencherif 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257:

946-953(1991))将人 SHSY5Y 细胞维持在增生性生长期。将细胞在具有 10% 马血清(Gibco BRL)、5%胎牛血清(HyClone, Logan UT)、1mM 丙酮酸钠、4 mM L-谷酰胺、50,000 单位青霉素-链霉素(Irvine Scientific)的 Dulbecco's 改性的 Eagle's 介质(Gibco/BRL)中进行培养。当细胞 80%汇合时,将其涂镀到 6 孔聚苯乙烯板(Costar)中。当这些细胞达到 100% 汇合时进行实验。

根据 Lukas 等人, *Anal. Biochem.* 175: 212-218(1988)所述的方法,用 $^{86}\text{Rb}^+$ 外向通量对烟碱乙酰胆碱受体(nAChR)功能进行分析。在实验的当天,轻轻从孔中取出生长介质并向各孔中加入包含氯化 86 铷(10^6 (check) Ci/ml)的生长介质。将细胞在 37°C 下培养最少 3 小时。在该加载期后,除去过量的 ^{86}Rb 并将这些细胞用不含标记物的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲的盐水(NaCl, 138 mM; KCl, 2.67 mM; KH_2PO_4 , 1.47 mM; Na_2HPO_4 , 8.1 mM; CaCl_2 , 0.9 mM; MgCl_2 , 0.5 mM; Invitrogen/Gibco, pH. 7.4)洗涤两次,注意不要扰乱这些细胞。接下来,使细胞与 100 μM 试验化合物或 100 μM 烟碱或仅与缓冲剂接触 4 分钟。在该接触期后,取出包含所释放的 ^{86}Rb 的上清液并将其转移到闪烁瓶中。向其中加入闪烁液并通过液体闪烁计数对所释放的放射性进行测量。

在各试验中,各点有 2 次平行测定,其是均值。将 ^{86}Rb 的释放数量与阳性对照(100 μM 烟碱)和阴性对照(仅使用缓冲剂)进行比较以确定相对于 L-烟碱的释放而言的释放百分比。

当适宜时,测定试验化合物的剂量-响应曲线。以 L-烟碱所诱导的最大活化的百分比的形式测定各试验化合物的最大活化(E_{max})。还定义了产生最大活化特定离子流量一半的试验化合物浓度(EC_{50})。

用这里所述的试验对典型的化合物进行了评估。结果表明本发明的化合物与 $\alpha 4\beta 2$ nAChRs 选择性结合并且因此引起了多巴胺释放。与 $\alpha 4\beta 2$ 结合的 K_i 值一般为 1-100 nM,并且多巴胺释放的 E_{MAX} 值接近烟碱所产生值的 100%。相反,本发明的化合物不与这些具有外周神经和肌肉系统特性的 nAChR 亚型良好结合。因此,本发明的化合物在中枢

神经系统病症的治疗中具有治疗潜能并且不会产生与其与外周神经系统的相互作用有关的副作用。

已经对本发明的主题物质进行了公开，显而易见的是，可以根据该公开对本发明进行许多改变、取代和变化。应当清楚的是，可以用除特定描述之外的方法来实施本发明。该类改变、取代和变化都在本申请的范围内。