

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480017400.8

[51] Int. Cl.

C07D 311/80 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 407/06 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 7 月 26 日

[11] 公开号 CN 1809552A

[22] 申请日 2004.5.20

[21] 申请号 200480017400.8

[30] 优先权

[32] 2003.5.20 [33] US [31] 60/472,316

[86] 国际申请 PCT/US2004/015885 2004.5.20

[87] 国际公布 WO2004/113320 英 2004.12.29

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.21

[71] 申请人 田纳西大学研究基金会

地址 美国田纳西州

[72] 发明人 B·M·摩尔二世 A·M·费雷拉
M·柯利施那姆斯

[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 郭建新

权利要求书 13 页 说明书 61 页 附图 13 页

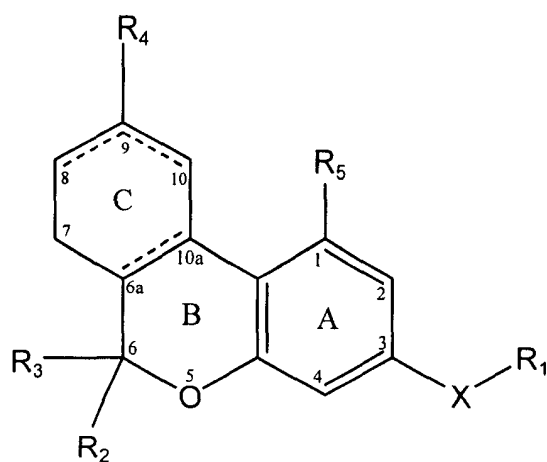
[54] 发明名称

大麻素衍生物、其制备方法和用途

[57] 摘要

Δ -8-四氢大麻酚、 Δ -9-四氢大麻酚和
 Δ -6a-10a-四氢大麻酚的 1'-取代大麻素衍生物，该衍生物对大麻素受体 1-型(CB-1)和/或大麻素受体 2-型(CB-2)具有亲和力。具有 CB-1 和/或 CB-2 受体激动剂或拮抗剂活性的化合物可用于治疗 CB-1 或 CB-2 介导的状况。

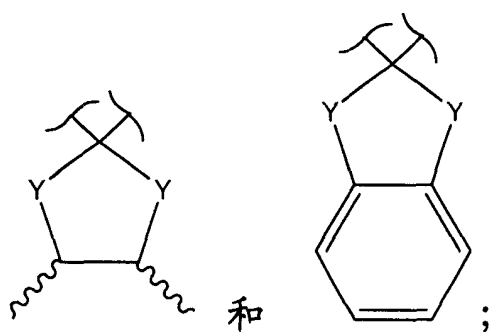
1. 根据式(I)的化合物



(I)

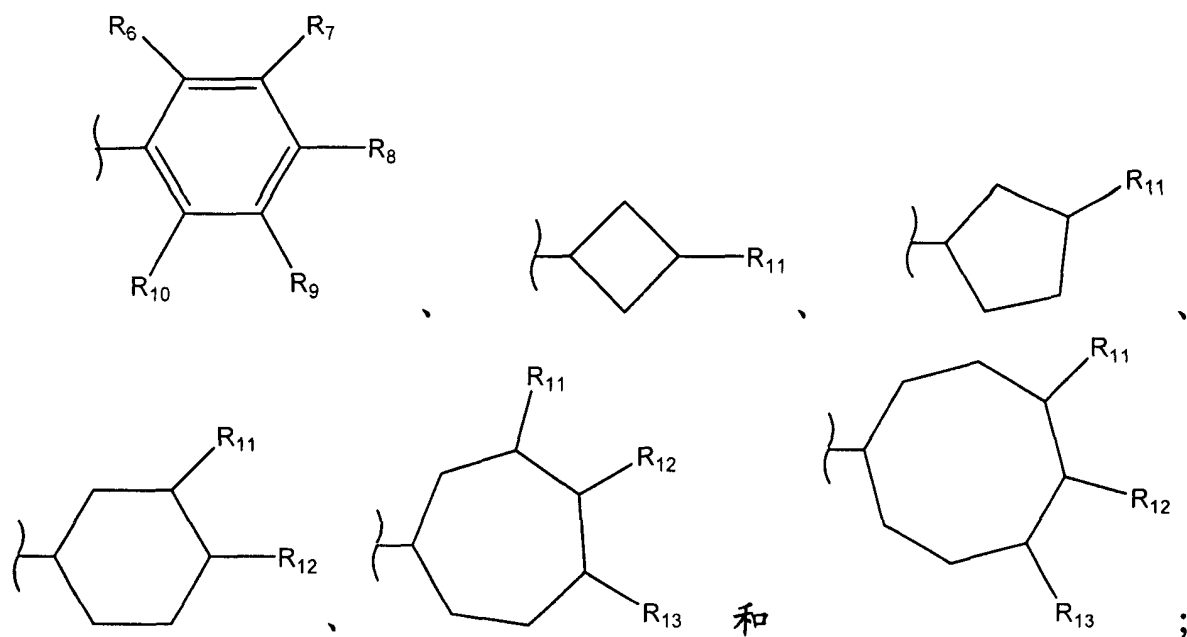
其中,

X 选自 $C(CH_3)_2$ 、 $C(-Y(CH_2)_nY-)$ 、 CH_2 、 $C(O)$ 、



Y 选自 S 和 O;

R_1 选自基团 C3-C8 环烷基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、联苯基、2-萘基、噻唑基、苯并噻唑基、甲基四唑基、



R_2 和 R_3 对于含有 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言是甲基, 或对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言是选自 C1-C3 烷基和 C1-C3 链烷醇;

R_4 对于含 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言是选自甲基、甲醇、 $-(CH_2)_mCOOH$ 和 $-(CH_2)_mCOH$ 的基团, 或者对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言是甲基;

R_5 选自 H、OH、甲氧基和乙氧基;

R_6-R_{10} 独立地选自 H、OH、C1-C6 烷基、卤素、氨基、C1-C2 烷基氨基、C1-C2 二烷基氨基、酰氨基、C1-C2 烷基酰氨基、氰基、硝基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 醇、含 C1-C6 烷基的羧基、含 C1-C6 烷基的羰基、含 C1-C6 烷基的酯、含 C1-C6 烷基的亚砷和含 C1-C6 烷基的砷;

$R_{11}-R_{13}$ 的至少一个选自 C1 至 C6 烷基、C1 至 C6 烷氧基、氟和氯, 而 $R_{11}-R_{13}$ 的其余的可任选是 H;

n 是 2 到 4 的整数; 和

m 是整数 0 或 1。

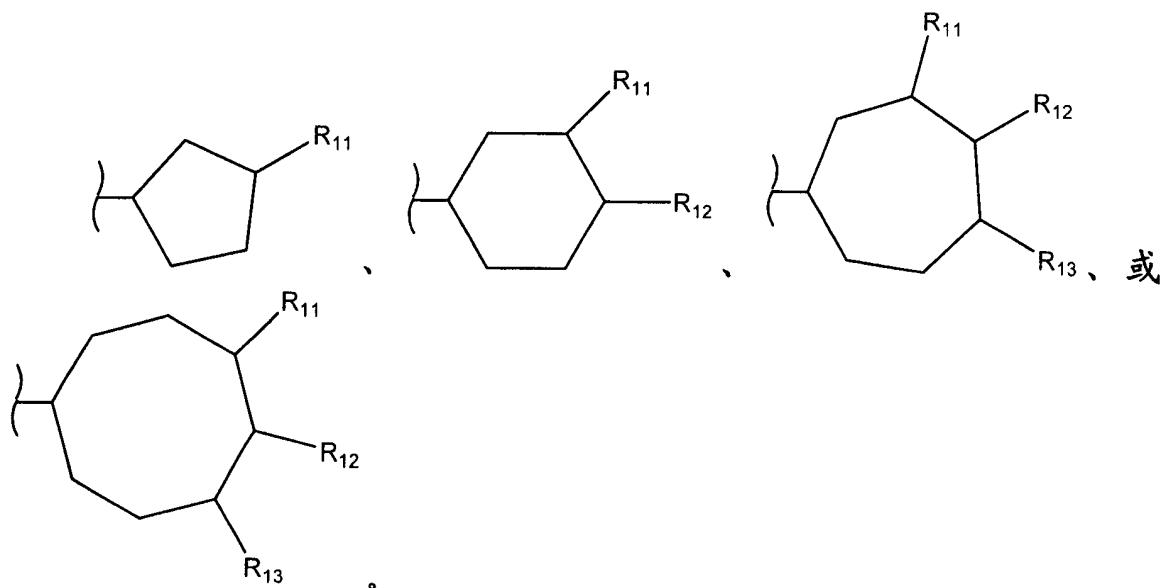
2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中

R_2 、 R_3 和 R_4 是甲基; 和

R_5 是 OH。

3. 根据权利要求 2 的化合物, 其中 X 是 $C(CH_3)_2$ 。

4. 根据权利要求 3 的化合物, 其中 R_1 是 C5-C7 环烷基、



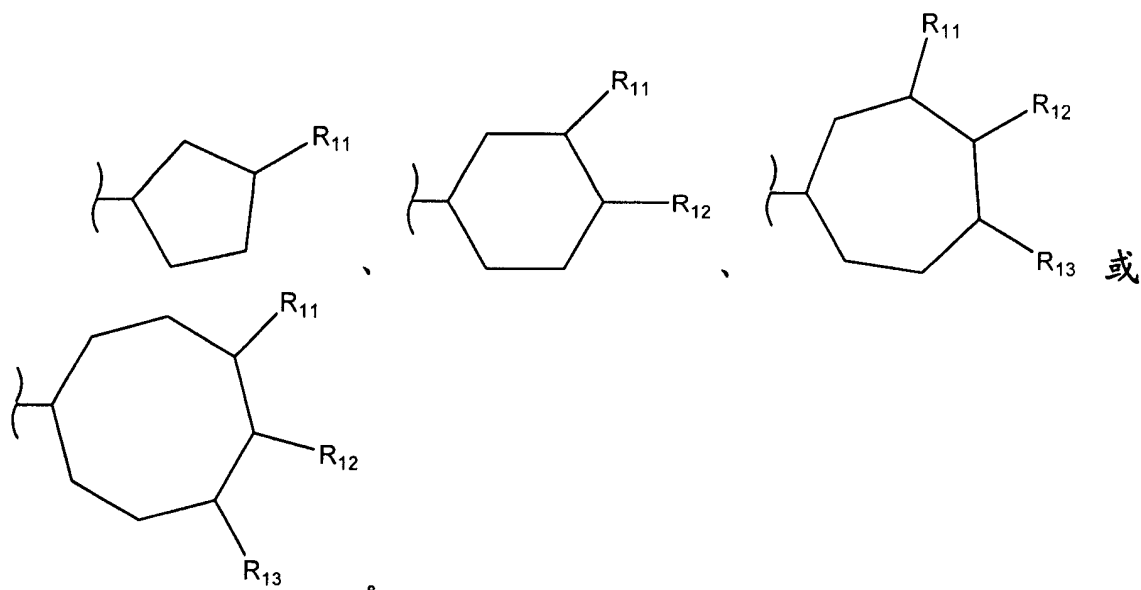
5. 根据权利要求 3 的化合物, 其中 R_1 是 2-噻吩、苯基、对-甲基苯基或间-甲基苯基。

6. 根据权利要求 2 的化合物, 其中 X 是 $C(-Y(CH_2)_nY-)$ 。

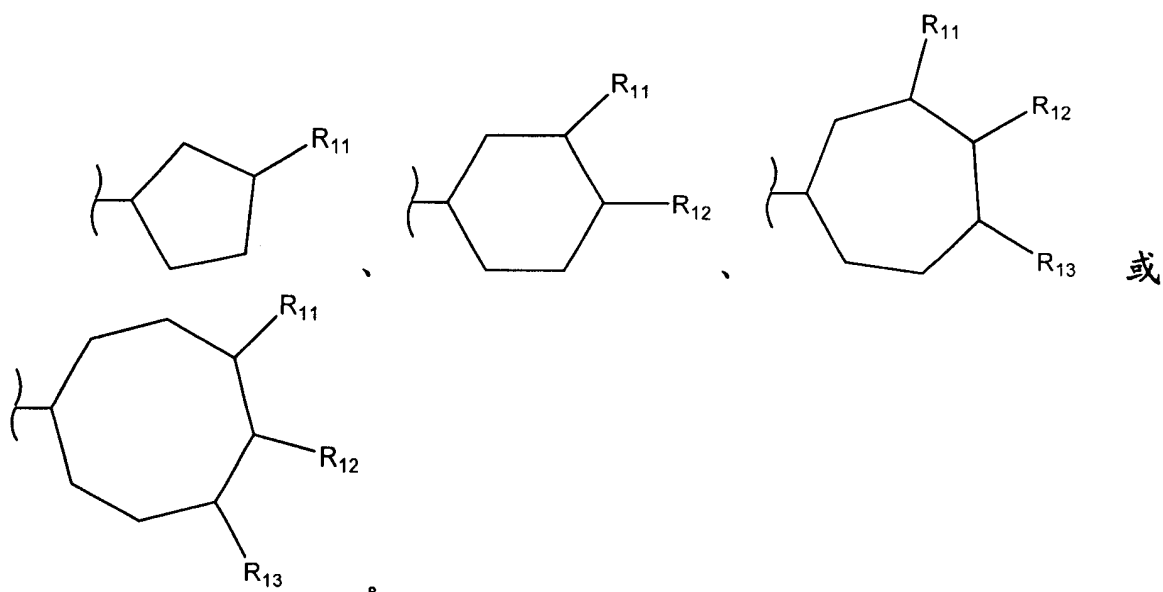
7. 根据权利要求 2 的化合物, 其中 X 是 CH_2 。

8. 根据权利要求 2 的化合物, 其中 X 是 $C(O)$ 。

9. 根据权利要求 8 的化合物, 其中 R_1 是 C5-C7 环烷基、



10. 根据权利要求 2 的化合物，其中 R_1 是 C3-C8 环烷基、



11. 根据权利要求 2 的化合物，其中 R_1 是苯基、邻-甲基苯基、间-甲基苯基、对-甲基苯基、间,对-二甲基苯基、邻,对-二甲基苯基、间-乙苯基、对-乙基苯基、间,对-二乙基苯基、对-氯苯基、对-氟苯基、对-溴苯基、间-氨基苯基、对-氨基苯基、间-甲基氨基苯基、对-甲基氨基苯基、N,N-二甲基-间-氨基苯基、N,N-二甲基-对-氨基苯基、间-氰基苯基、对-氰基苯基、间-硝基苯基、对-硝基苯基、邻-甲氧苯基、

间-甲氧基苯基、对-甲氧基苯基、间-乙氧苯基、对-乙氧苯基、间-羟基苯基、对-羟基苯基、间-甲基砜-苯基、对-甲基砜-苯基、间-乙基砜-苯基、对-乙基砜-苯基、间-甲基亚砜-苯基、对-甲基亚砜-苯基、间-乙基亚砜-苯基、或对-乙基亚砜-苯基。

12. 根据权利要求 2 的化合物, 其中 R_1 是 2-噻吩基、3-噻吩基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-吡咯基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-吡咯烷基、3-吡咯烷基、4-吡咯烷基、联苯、2-萘基、5-嘧啶基、2-噻唑基、2-苯并噻唑基或甲基四唑基。

13. 根据权利要求 1 的化合物, 其中环 C 含 $\Delta 8$ 双键。

14. 根据权利要求 1 的化合物, 其中环 C 含 $\Delta 9$ 双键。

15. 根据权利要求 1 的化合物, 其中环 C 含 $\Delta 6a-10a$ 双键。

16. 一种组合物, 含有
根据权利要求 1 的化合物和
药学上可接受的载体。

17. 根据权利要求 16 的组合物, 其中该组合物呈微乳制剂的形式。

18. 根据权利要求 17 的组合物, 其中所述脂质体制剂含有聚乙二醇 300、乙醇、聚山梨酯 80、醋酸生育酚和乙二胺四乙酸二钠溶液。

19. 根据权利要求 16 的组合物, 其中所述载体是油。

20. 根据权利要求 16 的组合物, 其中所述载体是含有氢化大豆磷脂酰胆碱、胆甾醇和二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-PEG2000 共轭物的制剂。

21. 调节大麻素受体活性的方法，它包括：
提供根据权利要求 1 的化合物；和
使细胞的大麻素受体与所述化合物接触，其中所述接触调节细胞中大麻素受体的活性。

22. 根据权利要求 21 的方法，其中所述细胞是离体的。

23. 根据权利要求 21 的方法，其中所述细胞是体内的。

24. 根据权利要求 21 的方法，其中所述大麻素受体是 CB-1 受体。

25. 根据权利要求 24 的方法，其中所述细胞来自中枢神经系统、心脏、血管内皮、子宫、睾丸、输精管、小肠或膀胱。

26. 根据权利要求 24 的方法，其中所述化合物对 CB-1 受体是选择性的，其 K_i 比 [CB1 / CB2] 为至少 4:1。

27. 根据权利要求 21 的方法，其中大麻素受体是 CB-2 受体。

28. 根据权利要求 27 的方法，其中所述细胞来自脾、白细胞、B-细胞或巨噬细胞。

29. 根据权利要求 23 的方法，其中所述化合物对 CB-2 受体是选择性的，其 K_i 比 [CB2 / CB1] 为至少 4:1。

30. 治疗大麻素受体-介导的状况的方法，它包括：
提供根据权利要求 1 的化合物，其中所述化合物起大麻素受体的激动剂的作用；

给予患者有效治疗大麻素受体-介导的状况的量的所述化合物。

31. 根据权利要求 30 的方法, 其中所述给药是经口、局部、透皮、胃肠道外、皮下地、静脉内、肌内、腹膜内、通过鼻内滴注、通过腔内或膀胱内滴注、眼内、动脉内、损伤内或通过对粘膜施用进行的。

32. 根据权利要求 30 的方法, 其中所述给药的量在约 1 毫克至约 1000 毫克/剂量。

33. 根据权利要求 30 的方法, 还包括:
周期性地重复所述给药。

34. 根据权利要求 30 的方法, 其中所述化合物是 CB-1 受体的激动剂。

35. 根据权利要求 34 的方法, 其中所述化合物对 CB-1 受体是选择性的, 其 K_i 比 [CB1 / CB2] 为至少 4:1。

36. 根据权利要求 34 的方法, 其中所述大麻素受体-介导的状况选自神经变性障碍、高血压、外周血管疾病、心绞痛和失血性休克以及细胞增殖障碍。

37. 根据权利要求 36 的方法, 其中所述神经变性障碍是脑中风或颅脑创伤。

38. 根据权利要求 36 的方法, 其中所述细胞增殖障碍是乳腺癌或前列腺癌。

39. 根据权利要求 30 的方法, 其中所述大麻素受体是 CB-2 受体。

40. 根据权利要求 39 的方法，其中所述化合物对 CB-2 受体是选择性的，其 K_i 比 [CB2 / CB1] 为至少 4:1。

41. 根据权利要求 40 的方法，其中所述大麻素受体介导的状况选自免疫介导的免疫障碍、骨形成/吸收障碍和肾缺血。

42. 根据权利要求 41 的方法，其中所述免疫介导的免疫障碍选自类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、牛皮癣、湿疹、多发性硬化、糖尿病和甲状腺炎。

43. 根据权利要求 41 的方法，其中所述骨形成/吸收障碍选自骨质疏松症、强直性脊柱炎、痛风、与痛风有关的关节炎和骨关节炎。

44. 治疗大麻素受体-介导的状况的方法，它包括：

提供根据权利要求 1 的化合物，其中所述化合物起大麻素受体的拮抗剂的作用；

给予患者有效治疗大麻素受体-介导的状况的量的所述化合物。

45. 根据权利要求 44 的方法，其中所述给药是经口、局部、透皮、胃肠道外、皮下地、静脉内、肌内、腹膜内、通过鼻内滴注、通过腔内或膀胱内滴注、眼内、动脉内、损伤内或通过对粘膜施用进行的。

46. 根据权利要求 44 的方法，其中所述给药的量为约 1 毫克至约 1000 毫克/剂量。

47. 根据权利要求 44 的方法，还包括：

周期性地重复所述给药。

48. 根据权利要求 44 的方法，其中所述化合物是 CB-1 受体的拮

抗剂。

49. 根据权利要求 48 的方法，其中所述化合物对 CB-1 受体是选择性的，其 K_i 比 [CB1 / CB2] 为至少 4:1。

50. 根据权利要求 48 的方法，其中所述大麻素受体介导的状况选自涉及脱髓鞘的神经炎性病变、病毒性脑炎、脑血管意外、颅创伤、眼障碍、肺障碍、过敏性疾病、炎性状况、免疫系统障碍、中枢神经系统疾病、呕吐、进食障碍、低血压、抑郁症、认知功能丧失、精神警觉丧失、记忆丧失和感觉知觉丧失。

51. 根据权利要求 50 的方法，其中所述涉及脱髓鞘的神经炎性病变选自多发性硬化和急性感染性多神经炎。

52. 根据权利要求 50 的方法，其中所述眼障碍是青光眼。

53. 根据权利要求 50 的方法，其中所述肺障碍选自哮喘和慢性支气管炎。

54. 根据权利要求 50 的方法，其中所述过敏性疾病选自过敏性鼻炎、接触性皮炎和过敏性结膜炎。

55. 根据权利要求 50 的方法，其中所述炎性状况选自关节炎、炎性肠病和疼痛。

56. 根据权利要求 50 的方法，其中所述免疫系统障碍选自狼疮、AIDS 和同种异体移植物排斥。

57. 根据权利要求 50 的方法，其中所述中枢神经系统疾病选自图

雷特综合征、帕金森氏病、亨廷顿舞蹈病、癫痫和精神病障碍。

58. 根据权利要求 50 的方法, 其中所述进食障碍选自厌食和涉及非必需食品消耗的消耗障碍。

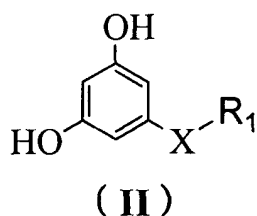
59. 根据权利要求 44 的方法, 其中大麻素受体是 CB-2 受体。

60. 根据权利要求 59 的方法, 其中所述化合物对 CB-2 受体是选择性的, 其 K_i 比 [CB2 / CB1] 为至少 4:1。

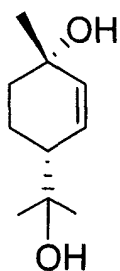
61. 根据权利要求 59 的方法, 其中所述大麻素受体介导的状况是细胞增殖障碍。

62. 根据权利要求 61 的方法, 其中所述细胞增殖障碍是癌。

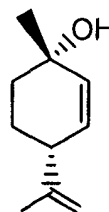
63. 制造 Δ^8 -THC 或 Δ^9 -THC 类似物的方法, 所述方法包括:
使具有式(II)结构的中间体化合物



与根据式(IIIa)或式(IIIb)的反应物



(IIIa)



(IIIb)

在有效形成根据权利要求 1 的在 C 环的 Δ^8 或 Δ^9 位含有双键的化

合物的条件下反应。

64. 根据权利要求 63 的方法，它还包括：

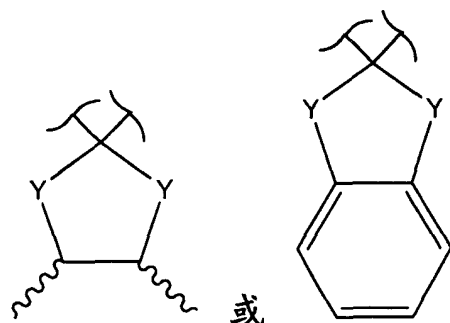
使从所述反应得到的在 R_4 位具有甲基基团的化合物在用醛、羧基或者甲醇有效取代所述甲基基团的条件下反应。

65. 根据权利要求 63 的方法，它还包括：

使从所述反应得到的在 R_5 具有羟基基团的化合物在用氢、甲氧基或乙氧基有效取代所述羟基基团的条件下反应。

66. 根据权利要求 63 的方法，它还包括：

使从所述反应获得的在 X 位具有酮基基团的化合物与烷二醇、烷-二硫醇或 1,2-苯基-二硫醇在分别用 $C(-Y(CH_2)_mY-)$ 、



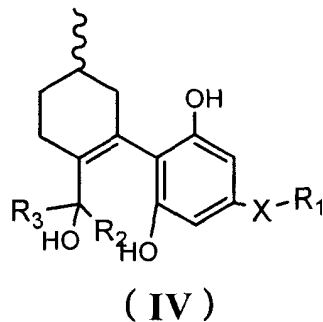
或

有效取代代所述酮基基团的条件下反

应。

67. 制造 Δ^{6a-10a} -THC 类似物的方法，所述方法包括：

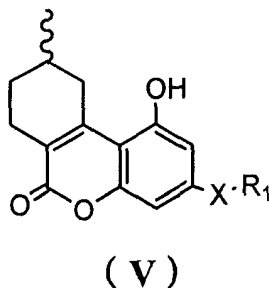
使具有式(IV)结构的中间体化合物



与适合的酸在有效形成根据权利要求 1 的在 C 环 Δ^{6a-10a} 位含双键

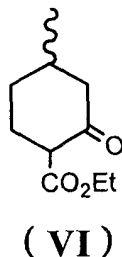
的化合物的条件下反应。

68. 根据权利要求 67 的方法，其中根据式(IV)的化合物通过在有效条件下使根据式(V)的中间体

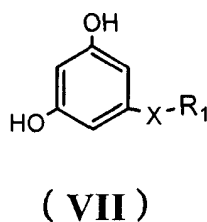


与 Z-MgI 反应进行制备，其中 Z 与 R₂ 或 R₃ 相同。

69. 根据权利要求 68 的方法，还包括：
使根据式(VI)的化合物



与根据式(VII)的化合物



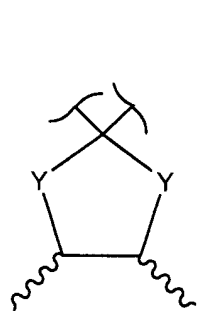
在有效形成根据式(V)化合物的条件下反应。

70. 根据权利要求 67 的方法，还包括：

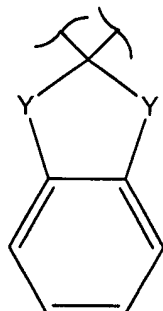
使从所述反应得到的在 R₅ 位具有羟基基团的化合物在用氢、甲氧基或乙氧基有效取代所述羟基基团的条件下反应。

71. 根据权利要求 67 的方法, 还包括:

使从所述反应获得的在 X 位具有酮基的化合物与烷二醇、烷-二硫醇或 1,2-苯基-二硫醇在分别用 $C(-Y(CH_2)_nY-)$ 、



或



有效取代所述酮基基团的条件下反应。

大麻素衍生物、其制备方法和用途

本申请要求享有 2003 年 5 月 20 日提交的美国临时专利申请序号 60/472,316 的权益，在此通过参考以其全文将它并入。

发明领域

本发明一般地涉及 Δ -8-四氢大麻酚 (Δ^8 -THC)、 Δ -9-四氢大麻酚 (Δ^9 -THC) 和 Δ -6a-10a-四氢大麻酚 (Δ^{6a-10a} -THC) 的大麻素衍生物，以及它们治疗 CB-1 或 CB-2 介导的状况的用途，所述大麻素衍生物作为大麻素受体 1-型 (CB-1) 和 / 或大麻素受体 2-型 (CB-2) 的激动剂或拮抗剂是有活性的。

发明背景

在 1964 年 Mechoulam 和同事分离和鉴别了作为大麻的主要活性组分的 Δ -9-四氢大麻酚 (Δ^9 -THC) (Gaoni et al., J. Am. Chem. Soc. 86: 1646(1964))。在接下来的几十年中，CB1 和 CB2 受体被发现、表征和证明引起 Δ^9 -THC 的作用 (Gernard et al., Biochem. J. 279: 129(1991); Skaper et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 3984(1996); Matsuda et al., Nature 346: 61(1990); Munro et al., Nature 365: 61(1993))。从此，CB1 和 CB2 受体作为用于开发抗肥胖剂 (Di Marzo et al., Nature 410: 822 (2001))、抗癌剂 (Palolaro et al., Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 66: 319 (2002))、镇痛剂 (Palmer et al., Chem. Phys. Lipids 121: 3 (2002)) 和抗青光眼剂 (Porcella et al., Eur. J. Neurosci. 13: 409(2001); Chien et al., Arch. Ophthalmol. 121: 87(2003)) 的潜在治疗靶点得到了关注。开发治疗剂的努力导致鉴别了与大麻素受体结合的许多结构不同类型的化合物，这些化合物包括经典的大麻素类 (Δ^9 -THC)、非经典的大麻素类例如 CP55,940 (Melvin et al., Med.

Chem. 27: 67(1984))、二芳基吡唑类例如 AM-251(Lan et al., J. Med. Chem. 42: 769(1999))和氨基烷基吡啶类例如 WIN-55212(D'Ambra et al., J. Med. Chem. 35: 124(1992))。到目前为止,在药理学和 SAR 方面最被广泛研究的大麻素类似物是经典的和非经典的大麻素类。

经典的大麻素类(CCBs)和非经典的大麻素类对 CB1 受体的结合亲和力一般可分别用三点和四点药效团模型界定(Seltzman, Curr. Med. Chem. 6: 685(1999))。形成 CCB 类似物的三点药效团的构造单元是:(1)芳环 C1 位的酚基(Razdan, Pharmac. Rev. 38 : 75(1986); Uliss et al., J. Med. Chem. 18: 213(1975)); (2)带有一个环外的 C11 甲基或羟甲基的不饱和 Δ^8 或 Δ^9 C 环,或者含有 9- β -羟基、9- β -羟甲基或 9-酮基官能团的饱和 C 环(Thomas et al., Mol. Pharmacol. 40: 656(1991); Wilson et al., J. Med. Chem. 19: 1165(1976); Melvin et al., Mol. Pharmacol. 44: 1008(1993); Mechoulam et al., Experientia 44: 762(1988); 和(3) 3-7 个碳的 C3 脂肪族侧链,其中庚基类似物代表最优的侧链长度。除了基本的药效团模型外,用 1',1'-二甲基、1',2'-二甲基和 1',1'-二硫戊环代替 C3 侧链通常增强了 CCBs 的活性(Huffman et al., Tetrahedron 53: 1557 (1997); Huffman et al., Bioorganic Med. Chem. Lett. 7: 2799(1997); Guo et al., J. Med. Chem. 37: 3867(1994); Devane et al., J. Med. Chem. 35: 2065(1992); Tius et al., Life Sci. 56: 2007(2007); Huffman et al., J. Med. Chem. 39: 3875 (1996))。

作为 QSAR 研究和 LBP 位点定向诱变的结果,显著地细化了对 CCBs 的药效团单元和配体结合袋(LBP)之间相互作用的认识。计算研究已经鉴别出在 CCBs 的 C1 区中氢键给体/接受体对的必要条件(Thomas et al., Mol. Pharmacol. 40: 656(1991); Schmetzer et al., J. Computer-Aided Mol Design 11: 278(1997); Reggio et al., J. Med. Chem. 32: 1630(1989); Johnson et al., Cannabinoids as Therapeutic Agents, Boca Raton, FL, CRC Press(1986)),结果是提出与在 CB1 受体中 C1 羟基和关键的 Lys192 相互作用有关(Song et al., Mol. Pharmacol. 49: 891(1996); Chin et al., J. Neurochem. 70: 280(1998))。另外的在

Tyr275 和在 C9 区含羟基的 CCBs 之间的给体/受体对可能是 CB1 亲和性较之 Δ^9 -THC 提高的原因(McAllister et al., *Biochem. Pharmacol.* 63: 2121(2002),在此通过参考以其全文将它并入)。

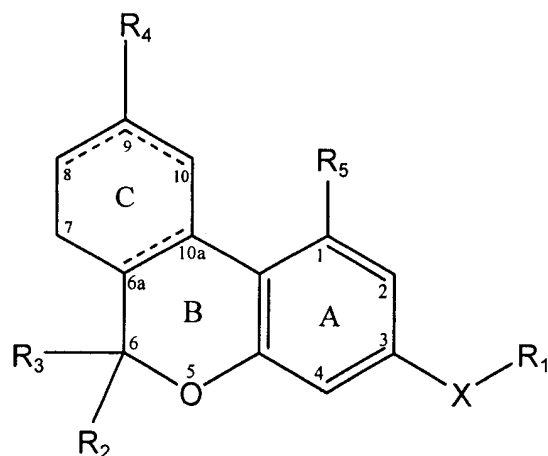
C1 和 C9 取代基的分子内几何结构通过 CCBs 的刚性环系紧紧地限定, 然而 QSAR 研究表明在 C3 侧链中有适度至高构象柔性(Schmetzer et al., *J. Computer-Aided Mol. Design* 11: 278(1997); Papahatjis et al., *J. Med. Chem.* 41: 1195(1998); Ryan et al., *Life Sci.* 56: 2013(1995); Keimowitz et al., *J. Med. Chem.* 43: 59(2000)。这些研究清楚地显示 CB1 的 LBP 优选在 C3 是疏水性的取代基, 但是构象柔性的条件仍有待于充分阐明。至此结果的进展被报道在一系列构象限制的 Δ^8 -THC 侧链类似物(结合亚甲基和次甲基官能度)(Keimowitz et al., *J. Med. Chem.* 43: 59(2000))和 1'-环丙基类似物的研究中(Papahatjis et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12: 3583(2002))。研究提示相对于芳环平面, 侧链采用正交几何结构, 侧链尾部折叠形成疏水性袋。尽管在侧链中引入不饱和度, 在这组分子中仍保留了相当大的柔性。在预测柔性侧链构象中内在的计算局限性、缺少 x 射线结晶学数据或者高分辨率核磁共振数据, 多少限制了预测优选的侧链几何结构和 CB 受体 LBP 空间必要条件的能力。

仍然需要确定可用于治疗目的的化合物以实现治疗受 CB-1 受体和 / 或 CB-2 受体介导的状况或障碍。

本发明旨在开发 Δ^8 -THC、 Δ^9 -THC 和 Δ^{6a-10a} -THC 类似物, 其表现出对 CB-1 受体和 / 或 CB-2 受体的激动剂或者拮抗剂活性, 并可用于治疗受这些受体介导的状况或障碍。

发明概述

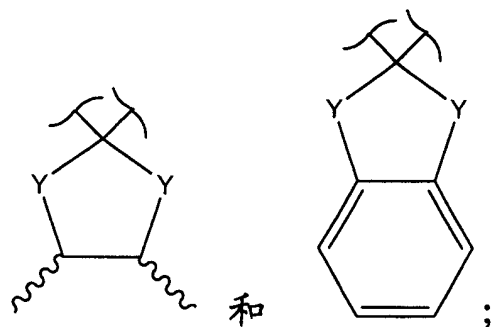
本发明的第一个方面涉及下式(I)的大麻素类似物



(I)

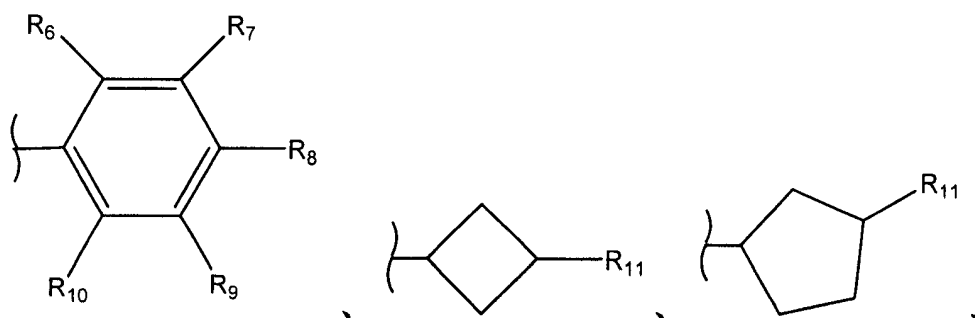
其中 C 环在 Δ^8 位、 Δ^9 位或 Δ^{6a-10a} 位含有双键；

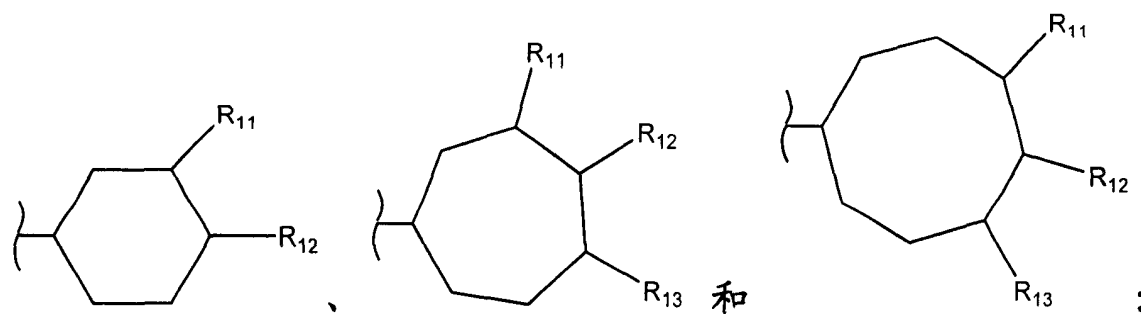
X 选自 $C(CH_3)_2$ 、 $C(-Y(CH_2)_nY-)$ 、 CH_2 、 $C(O)$ 、



Y 选自 S 和 O；

R_1 选自 C3-C8 环烷基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、联苯基、2-萘基、噻唑基、苯并噻唑基、甲基四唑基、





R_2 和 R_3 对于含有 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言是甲基, 或者对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言独立地选自 C1-C3 烷基和 C1-C3 链烷醇;

R_4 对于含 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言选自甲基、甲醇、 $-(CH_2)_mCOOH$ 和 $-(CH_2)_mCOH$, 对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言是甲基;

R_5 选自 H、OH、甲氧基和乙氧基;

R_6 - R_{10} 独立地选自 H、OH、C1-C6 烷基、卤素、氨基、C1-C2 烷基氨基、C1-C2 二烷基氨基、酰氨基、C1-C2 烷基酰氨基、氰基、硝基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 醇、含 C1-C6 烷基的羧基、含 C1-C6 烷基的羰基、含 C1-C6 烷基的酯、含 C1-C6 烷基的亚砷和含 C1-C6 烷基的砷;

R_{11} - R_{13} 的至少一个选自 C1 至 C6 烷基、C1 至 C6 烷氧基、氟和氯, 而 R_{11} - R_{13} 的其余的可任选是 H;

n 是 2 到 4 的整数; 和

m 是整数 0 或 1。

本发明的第二个方面涉及一种组合物, 其包含根据上述式(I)的化合物和在药学上可接受的载体。

本发明的第三个方面涉及调节大麻素受体活性的方法, 所述的方法包括: 提供根据式(I)的化合物; 和将细胞的大麻素受体与所述化合物接触, 通过所述接触调节在细胞内大麻素受体的活性。

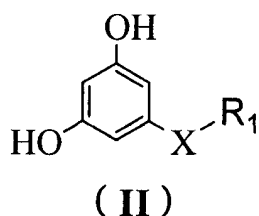
本发明的第四个方面涉及治疗大麻素受体-介导的状况的方法, 所述方法包括: 提供式(I)化合物, 其中所述化合物起大麻素受体的激动剂的作用; 和给予患者有效治疗大麻素受体-介导的状况的量的所述化合

物。

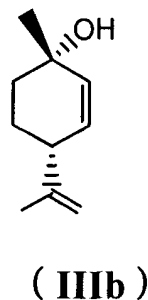
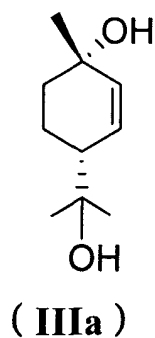
本发明的第五个方面涉及治疗大麻素受体-介导的状况的方法，所述方法包括：提供根据权利要求1的化合物，其中所述化合物起大麻素受体的拮抗剂的作用；和给予患者有效治疗大麻素受体-介导的状况的量的所述化合物。

本发明的第六个方面涉及制备根据式(I)的化合物的方法。

根据一种方法，本发明的 Δ^8 -THC 或 Δ^9 -THC 化合物通过使具有式(II)结构的中间体化合物

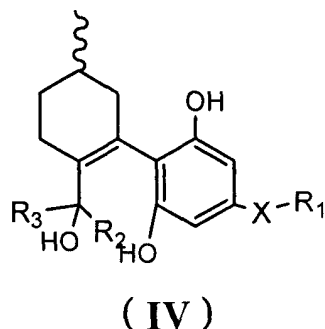


与根据式(IIIa)或式(IIIb)的反应物



在有效形成根据权利要求1的在C环的 Δ^8 或 Δ^9 位含有双键的化合物的条件下反应进行制备。

根据另一种方法， Δ^{6a-10a} -THC 类似物可以通过使具有式(IV)结构的中间体化合物



与酸(如三氟乙酸或氢溴酸)在有效形成本发明的在 C 环的 Δ^{6a-10a} 位含有双键的化合物的条件下反应进行制备。

本发明的若干化合物具有证示的对 CB-1、CB-2 受体或这两者的亲和性, 并且若干化合物显示出相对于另一种受体对一种受体的选择性。本发明的化合物提供较大益处, 因为根据本发明可制备具有一种或多种官能团的多种多样的 1'-芳族 THC。这类化合物不能通过惯常方法获得, 特别是不能从先前已知的 1'-直链烃 THC 类似物得到。另外, 如在体外或体内试验证据显示的, 若干化合物显示对 CB-1 和/或 CB-2 受体提高的亲和性以及治疗 CB 受体介导的状况的功效。

附图的简要描述

图 1 是化合物 28 的部分 2D NOESY 谱(300ms 混合时间), 其显示环己基环上, 芳族质子 H2 / H4 和亚甲基, H3' / H7', 和次甲基质子, H2' 之间的 NOE。

图 2 是化合物 25 的部分 1D NMR 谱, 其显示二硫戊环基团的非对映亚甲基质子。

图 3 是化合物 28 的立体视图, 其显示由 2D NOESY 实验获得的 NOE 约束(虚黄线)。碳原子以白色表示, 氢原子以蓝绿色表示, 氧原子是红色的。

图 4 是化合物 28 的立体视图, 其显示分子动力学研究中确定的两个环己基侧链构象。碳原子以白色表示, 氢原子以蓝绿色表示, 氧原子是红色的。

图 5 是化合物 28 的计算的 PM3 势能表面, 其为扭转参数 θ_{t1} 和

ϕ_{τ_2} 的函数。报道的能量是以哈里特计算的形成的热。AM1 势能表面具有相同的定性特征。

图 6A-B 举例说明了在理论 B3LYP / 6-31G(p,d)水平计算的 HOMO 的轨道图。以环己基氢原子为中心的轨道叶的形状提示与氢 1s 原子轨道有关的反键 σ -轨道。图 6A 证示环 A 上在两个环己基氢原子和芳族轨道叶之间的互相排斥作用，而图 6B 仅显示一种这样的相互作用。存在与环 A 有关的轨道叶的显著扭曲，其支持在环己基氢原子和与芳香环有关的电子密度之间的显著排斥。

图 7 举例说明用于制备具有 1'-环烷基取代基的本发明各种 Δ^8 -THC 类似物的合成方案。

图 8A-B 举例说明用于制备具有 1'-苯基取代基的本发明各种 Δ^8 -THC 类似物的合成方案。

图 9 举例说明关于每一苯基衍生物 C3-C1'键的能量与旋转。曲线通过固定最低能量结构的前侧几何结构得到，因而表示势能表面的垂直截面。曲线暗示了大的构象柔性，尽管对化合物 34 和化合物 36 来说有一些存在相当大的旋转障碍。在图例中使用的，KM-222 指的是化合物 34、KM-222 指的是化合物 33、KM-224 指的是化合物 35，KM-233 指的是化合物 36。

图 10 举例说明化合物 34 的计算的 PM3 势能表面。注意到在表面上大的浅阱，例如在(170,50)附近的阱，显示大的构象自由度。

图 11 举例说明化合物 33 的计算的 PM3 势能表面。注意到在此表面上有大量窄而浅的阱，显示大量的局部最小值。经 PM3 计算确定此表面的十三个局部最小值(见表 4)。

图 12 举例说明化合物 35 的计算的 PM3 势能表面。注意到各个阱中大的对称性，在此表面上分开的阱之间的相似性。化合物 34 的势能表面也是如此，在该表面上的阱非常宽。

图 13 举例说明化合物 36 的计算的 PM3 势能表面。注意在此表面上大量的狭而深的阱，其是由 C1'位的羰基氧与来自环 A 的 π 体系之间强 π 相互作用产生的。经 PM3 计算确定此表面十六个局部最小值(参

见表 4)。

图 14 举例说明表 4 定义的化合物 34 (c) 的最低能量构象异构体的 HOMO 轨道图。

图 15 举例说明表 4 定义的化合物 34 (c) 的最低能量构象异构体的 LUMO 轨道图。

图 16 举例说明表 4 定义的化合物 33(H)最低能量构象异构体的 HOMO 轨道图。

图 17 举例说明表 4 定义的化合物 33(H)最低能量构象异构体的 LUMO 轨道图。

图 18 举例说明表 4 定义的化合物 35(H)最低能量构象异构体的 HOMO 轨道图。

图 19 举例说明表 4 定义的化合物 35(H)最低能量构象异构体的 LUMO 轨道图。

图 20 举例说明表 4 定义的化合物 36(M)最低能量构象异构体的 HOMO 轨道图。

图 21 举例说明表 4 定义的化合物 36(M)最低能量构象异构体的 LUMO 轨道图。

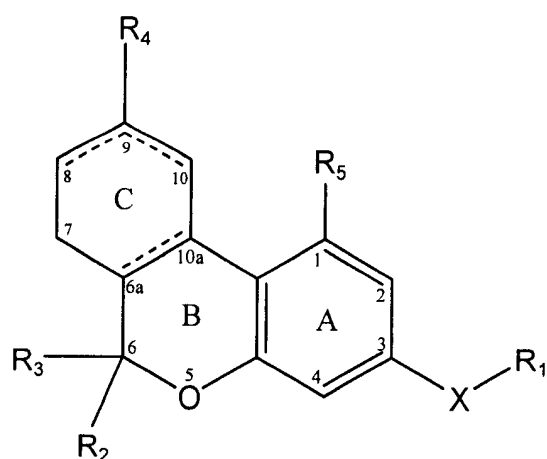
图 22 是举例说明在失血性休克方案期间平均血压的变化对化合物 25 或 Δ^8 -THC(12 毫克/公斤)与 NS-398(2 毫克/公斤)结合的给药时间图。化合物 25 显示了相对于阳性对照 Δ^8 -THC 和 NS-398 提高的行为。如在图 22 的图例使用的, AN-155 指的是化合物 25, NS-398 指的是 COX-2 抑制剂。

图 23 是举例说明在失血性休克过程期间平均血压的变化对阴性对照给药的时间, 相对于 Δ^8 -THC 和 NS-398 阳性对照的图。

图 24 是举例说明在上偕-二甲基-苯基 Δ^8 -THC(化合物 33)对 C6 神经胶质瘤细胞的细胞毒作用的 IC₅₀。

发明详述

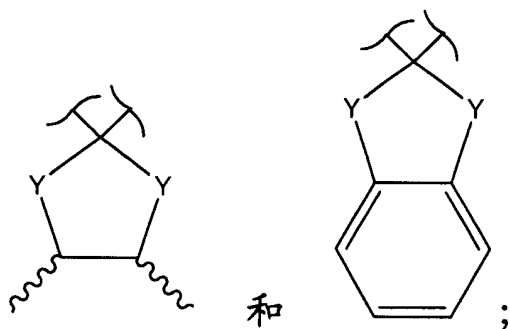
本发明涉及下式(I)的大麻素类似物



(I)

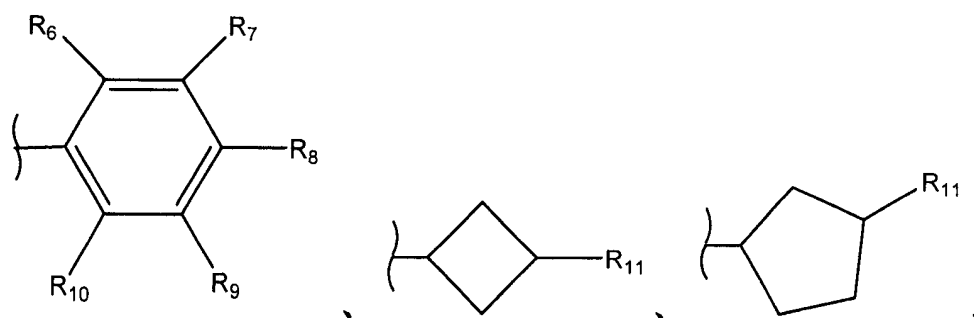
其中

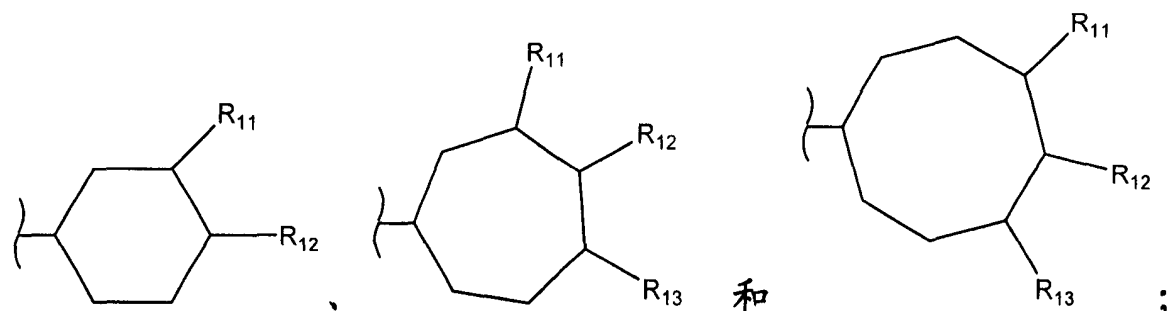
X 选自 $C(CH_3)_2$ 、 $C(-Y(CH_2)_nY-)$ 、 CH_2 、 $C(O)$ 、



Y 选自 S 和 O;

R_1 选自 C3-C8 环烷基、噻吩基-、呋喃基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、联苯基、2-萘基、噻唑基、苯并噻唑基、甲基四唑基、





R_2 和 R_3 对于含有 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言是甲基, 或者对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言选自 C1-C3 烷基和 C1-C3 链烷醇;

R_4 对于含 Δ^8 或 Δ^9 双键的化合物而言选自甲基、甲醇、 $-(CH_2)_mCOOH$ 和 $-(CH_2)_mCOH$, 对于含 Δ^{6a-10a} 双键的化合物而言是甲基;

R_5 是选自 H、OH、甲氧基和乙氧基;

R_6 、 R_{10} 独立地选自 H、OH、C1-C6 烷基、卤素、氨基、C1-C2 烷基氨基、C1-C2 二烷基氨基、酰氨基、C1-C2 烷基酰氨基、氰基、硝基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 醇、含 C1-C6 烷基的羧基、含 C1-C6 烷基的羰基、含 C1-C6 烷基的酯、含 C1-C6 烷基的亚砷和含 C1-C6 烷基的砷;

R_{11} - R_{13} 的至少一个选自 C1 至 C6 烷基、C1 至 C6 烷氧基、氟和氯, 而 R_{11} - R_{13} 的其余的可任选是 H;

n 是 2 到 4 的整数; 和

m 是整数 0 或 1。

根据式(I)的化合物可在 C 环内含 Δ^8 双键、 Δ^9 双键或 Δ^{6a-10a} 双键。式(I)化合物的立体化学未在上文显示, 虽然 Δ^8 -THC 和 Δ^9 -THC 类似物在 B、C 环之间的 6a 和 10a 位具有特定的立体化学。优选的 Δ^8 -THC 和 Δ^9 -THC 类似物的立体化学如下所示。

如这里使用的, 烷基或更大基团(例如烷氧基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基酰氨基、醇、羧基、羰基、酯基、亚砷基和砷基)的烷基取代基可以是直链或支链烷基, 非限制性地包括甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、叔丁基、1-甲基苯基、2-甲基苯基、3-甲基苯基、1-乙基丁基、2-乙基丁基等, 优选直链烷基。

C1 至 C3 烷基含总共 3 个碳原子, C1 至 C6 烷基含总共 6 个碳原子等。

优选的烷基是甲基、乙基和丙基。优选的烷氧基是甲氧基和乙氧基。优选的羧基是甲基羧基、乙基羧基和丙基羧基。优选的醛基可以是甲醛(carbaldehyde)或乙醛基团。优选的羰基是甲酮(methanone)、乙酮(ethanone)和丙酮基团。优选的酯基可以使它们的羰基直接连接到苯环上或被含甲基、乙基或丙基末端基团(插入烷基取代基)取代。优选的亚砷可以使硫直接连接到苯环上或被含甲基、乙基或丙基末端基团的(插入烷基取代基)取代。优选的砷可以使硫直接连接到苯环上或被含甲基、乙基或丙基末端基团(插入烷基取代基)取代。

优选的 R_1 基团是环戊基、环己基、环庚基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-吡咯基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-吡咯烷基、3-吡咯烷基、4-吡咯烷基、联苯基、2-萘基、5-嘧啶基、2-噻唑基、2-苯并噻唑基、甲基四唑基、苯基、邻-甲基苯基、间-甲基苯基、对-甲基苯基、间,对-二甲基苯基、邻,对-二甲基苯基、间-乙基苯基、对-乙基苯基、间,对-二乙基苯基、间-甲醇基-苯基、间-乙醇-苯基、对-甲醇-苯基、对-乙醇-苯基、对-氯苯基、对-氟苯基、对-溴苯基、间-氨基苯基、对-氨基苯基、间-甲基氨基苯基、对-甲基氨基苯基、N,N-二甲基-间-氨基苯基、N,N-二甲基-对-氨基苯基、间-酰氨基苯基、对-酰氨基苯基、间-甲基酰氨基苯基、对-甲基酰氨基苯基、间-氰基苯基、对-氰基苯基、间-硝基苯基、对-硝基苯基、邻-甲氧苯基、间-甲氧苯基、对-甲氧苯基、间-乙氧苯基、对-乙氧苯基、间-甲基亚砷-苯基、间-乙基亚砷-苯基、对-甲基亚砷-苯基、对-乙基亚砷-苯基、间-甲基砷-苯基、间-乙基砷-苯基、对-甲基砷-苯基、对-乙基砷-苯基、间-甲基酮-苯基、对-甲基酮、间-乙基酮-苯基、对-乙基酮-苯基、间-甲酸酯-苯基、对-甲酸酯-苯基、间-乙酸酯-苯基、对-乙酸酯-苯基、2-甲基环戊基、2-甲氧基环戊基、2-乙基环戊基、2-乙氧基环戊基、2-氯环戊基、2-氟环戊基、2-甲基环己基、2-甲氧基环己基、2-乙基环己基、2-乙氧基环己基、2-氯环己基、2-氟环己基、3-甲基环己基、3-甲氧基环己基、3-乙基环己基、3-乙氧

基环己基、3-氟环己基、3-氟环己基、3-甲基环庚基、3-甲氧基环庚基、3-乙基环庚基、3-乙氧基环庚基、3-氟环庚基、3-氟环庚基、4-甲基环庚基、4-甲氧基环庚基、4-乙基环庚基、4-乙氧基环庚基、4-氟环庚基、4-氟环庚基、4-甲基环辛基、4-甲氧基环辛基、4-乙基环辛基、4-乙氧基环辛基、4-氟环辛基、4-氟环辛基、5-甲基环辛基、5-甲氧基环辛基、5-乙基环辛基、5-乙氧基环辛基、5-氟环辛基和 5-氟环辛基。这些化合物中最优选噻吩基、取代的环己基和取代的环苯基基团。

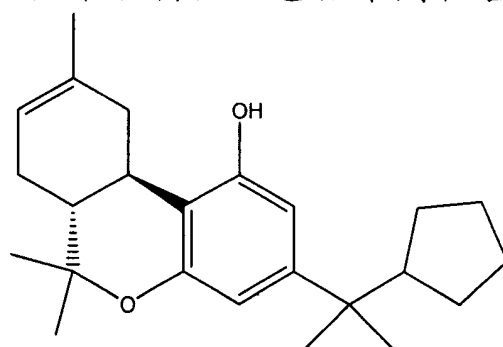
优选的 R_2 和 R_3 基团(即, 当 C 环含 Δ^{6a-10a} 双键时)包括甲基、乙基、甲醇和乙醇。 R_2 和 R_3 可以相同或不同。其中最优选甲基、甲醇和乙醇。

优选的 R_4 基团包括甲基、甲醇、羧酸和甲醛。其中最优选甲醇和甲基。

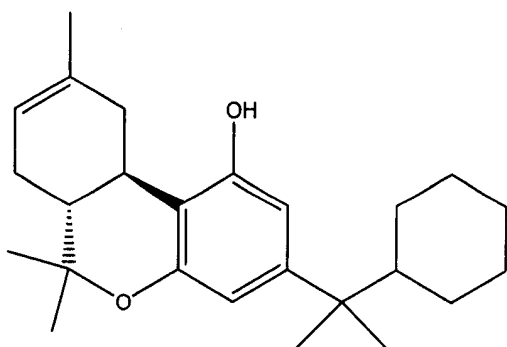
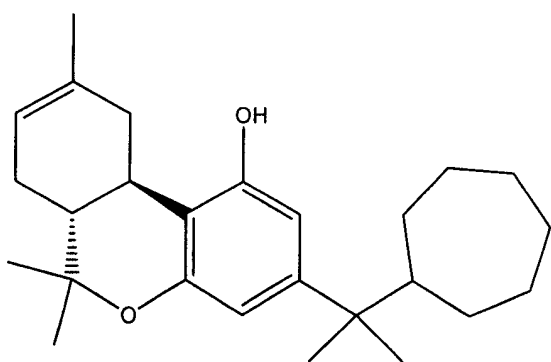
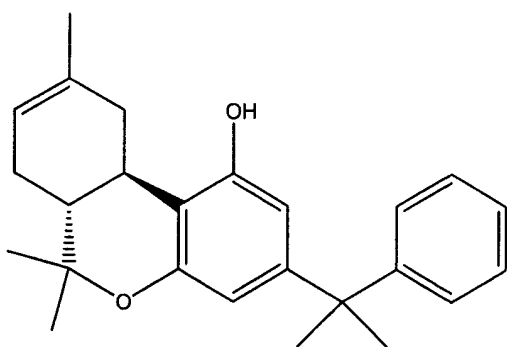
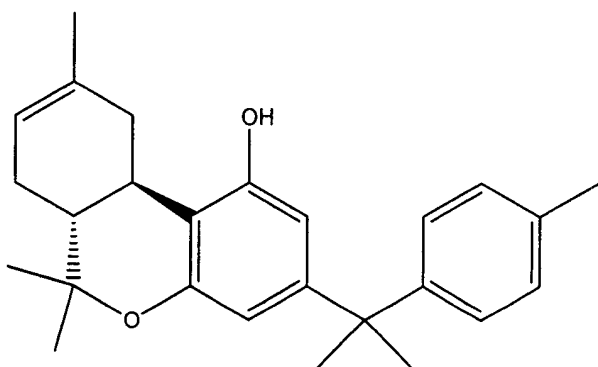
因为 R_5 影响本发明化合物的选择性, 因此对于 CB-1 选择性的化合物优选的基团(例如 OH 基)和对于 CB-2 选择性的化合物优选的基团(例如氢、甲氧基和乙氧基)不同。

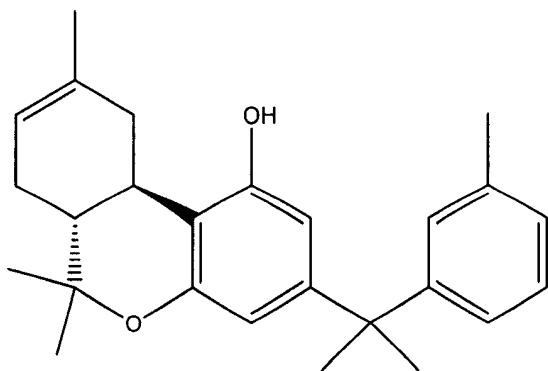
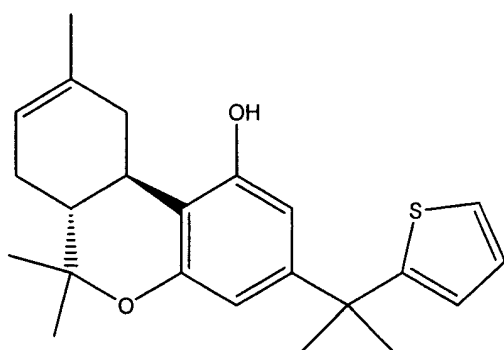
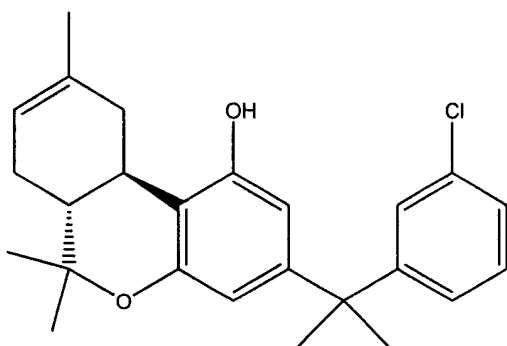
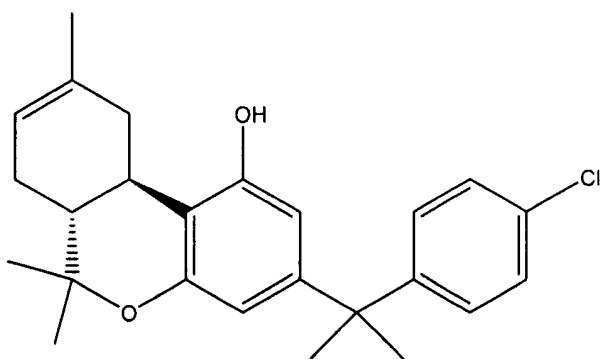
优选的 X 基团是 CH_2 、 $C(O)$ 、 $C(CH_3)_2$ 、 $C(-S(CH_2)_2S-)$ 、 $C(-S(CH_2)_3S-)$ 、 $C(-O(CH_2)_2O-)$ 和 $C(-O(CH_2)_3O-)$ 。其中目前最优选偕-二甲基基团和酮基。

特别优选的化合物非限制性地包括下列化合物。



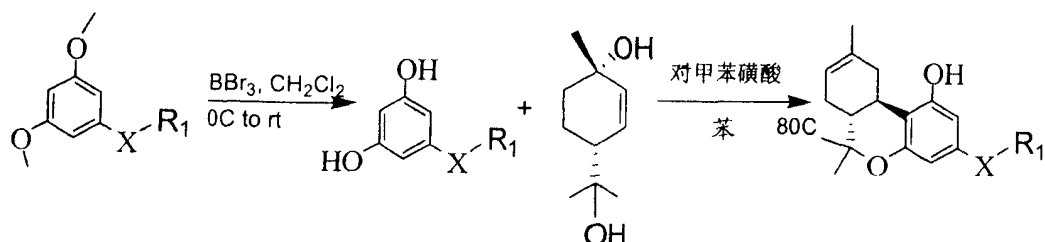
偕-二甲基-环戊基- Δ^8 -THC

偕-二甲基-环己基- Δ^8 -THC偕-二甲基-环庚基- Δ^8 -THC偕-二甲基-苯基- Δ^8 -THC偕-二甲基-对-甲基苯基- Δ^8 -THC

偕-二甲基-间-甲基苯基- Δ^8 -THC偕-二甲基-2-噻吩基- Δ^8 -THC偕-二甲基-间-氯苯基- Δ^8 -THC偕-二甲基-对-氯苯基- Δ^8 -THC

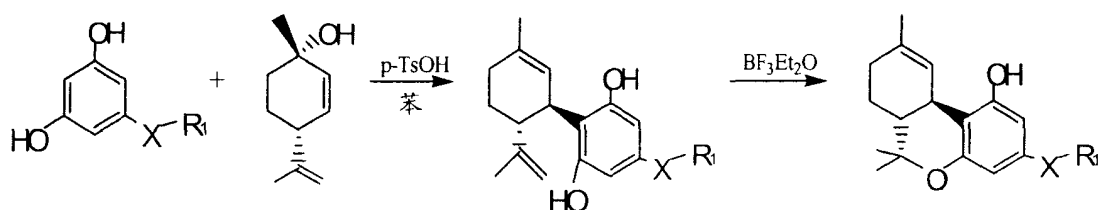
本发明还涉及生产式(I)化合物的方法。

Δ^8 -THC 类似物通常可以根据下述方案 1 中定义的合成方案制备。



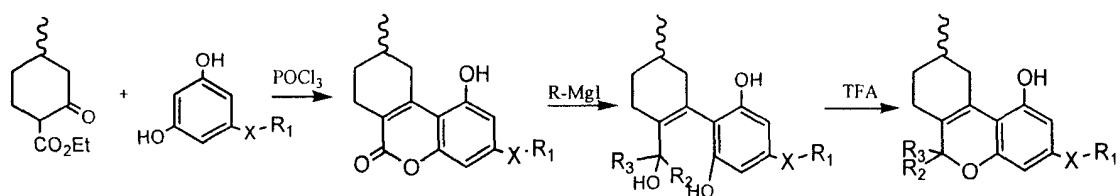
方案 1

Δ^9 -THC 类似物通常可根据下述方案 2 中定义的用薄荷-二烯-醇两套环闭合制备。



方案 2

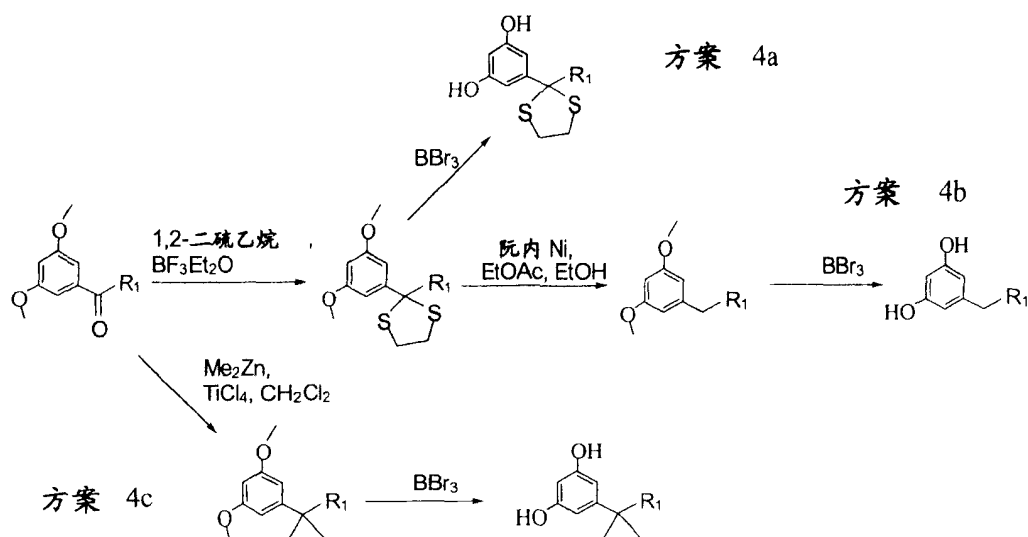
Δ^{6a-10a} -THC 类似物通常可以作为外消旋混合物或作为旋光纯的异构体用 β 酮酯如下述方案 3 中所述制备。



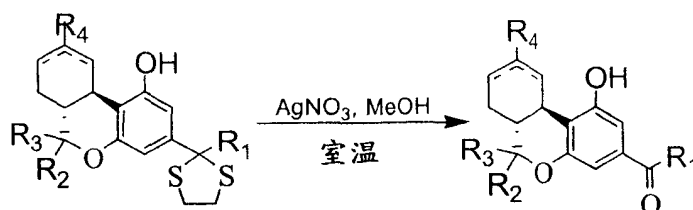
方案 3

在方案 1-3 的每一个中, X 取代基可以是二硫戊环基、偕-二甲基

或亚甲基。这些取代基可以如下述方案 4a-c 中所述被引入间苯二酚，然后其可被引入上述方案 1-3。



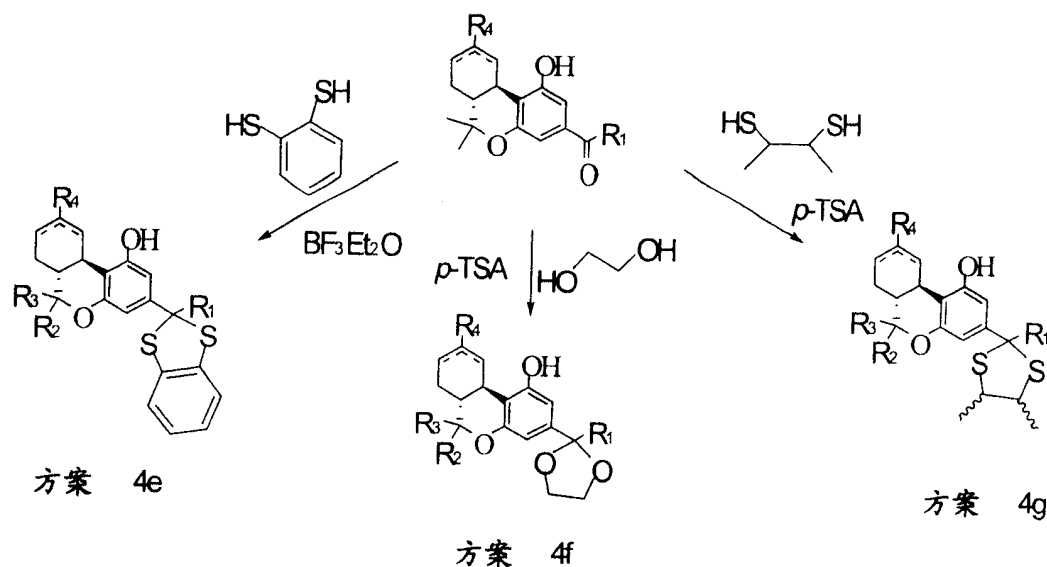
例如，本发明含作为 X 的酮取代基的化合物可由含二硫戊环基作为 X 的化合物形成。该反应方案如下述方案 4d 所示。



方案 4d

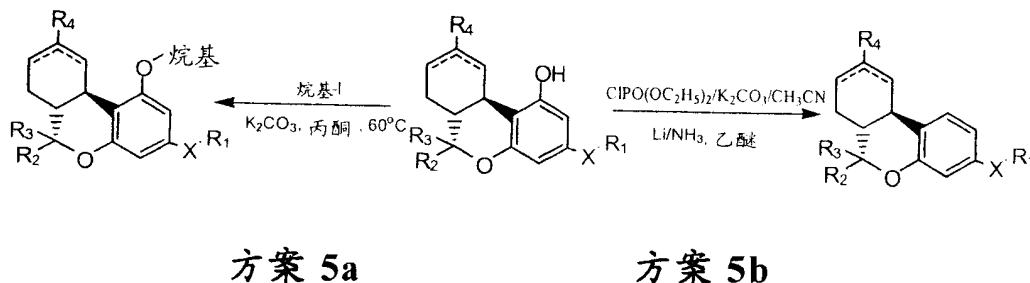
虽然如上所示的化合物代表本发明的 Δ^8 -THC 或 Δ^9 -THC 类似物，但是相同的方法可用于本发明的 Δ^{6a-10a} -THC 类似物。

例如，本发明的含可替换取代基作为 X 的化合物可从含酮取代基作为 X 的化合物形成(例如在方案 4d 中形成)。这些反应方案如方案 4e-4g 所示。



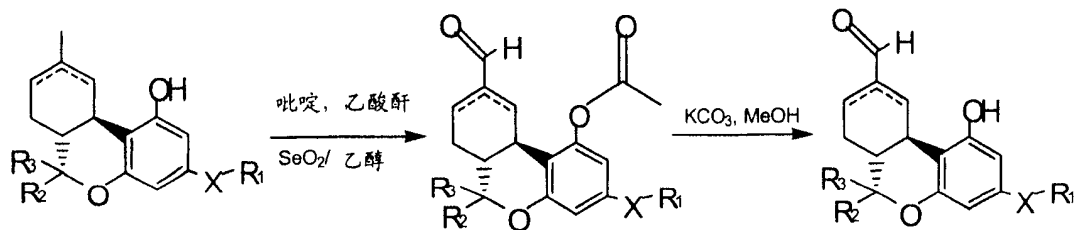
虽然上述化合物代表本发明的 Δ^8 -THC 或 Δ^9 -THC 类似物，但是相同方法可用于本发明的 Δ^{6a-10a} -THC 类似物。

例如，本发明含 R_5 位非羟基的化合物可根据下述方案 5a 和 5b 中所示的方案制备。

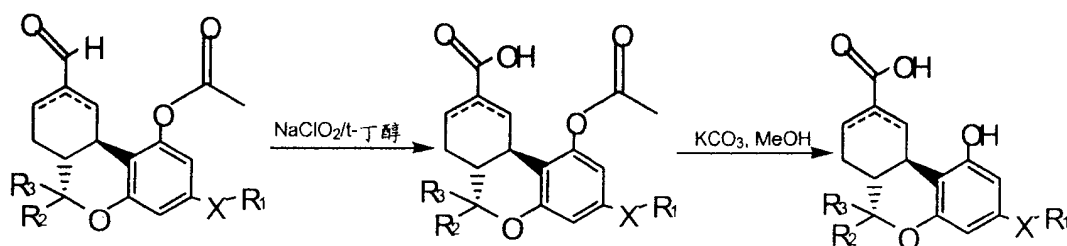


虽然上述方案 5a、5b 中所示的化合物表示本发明的 Δ^8 -THC 或 Δ^9 -THC 类似物，但是相同方法可用于本发明的 Δ^{6a-10a} -THC 类似物。

例如，在 R_4 位含有羧基或醛基的本发明 Δ^8 -或 Δ^9 -THC 类似物可分别根据下述方案 6a 和 6b 中所示的方案制备。



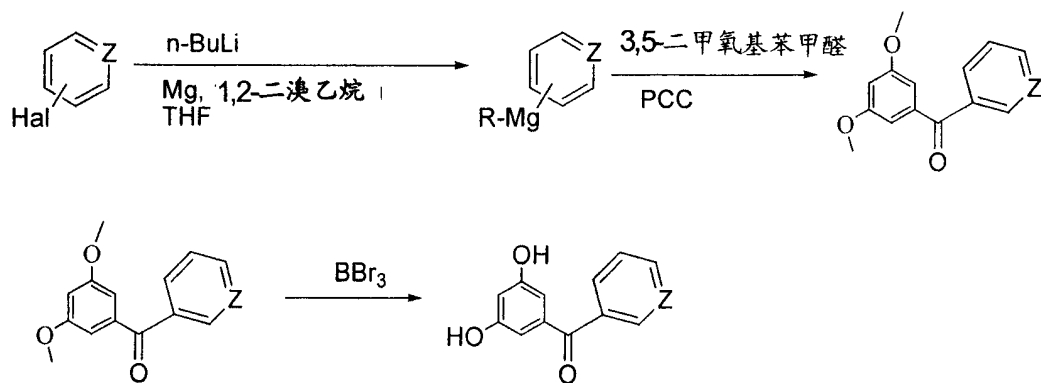
方案 6a



方案 6b

羧基或醛基可以在标准条件下被还原(例如 NaBH_4 或者 LiAlH_4)形成甲醇基团。

在方案 1-3 中的每一个中, R_1 取代基可以是杂环, 优选杂芳环。这些杂环 R_1 取代基可以经格利雅反应引入, 允许如下述方案 7 所示制备间苯二酚衍生物。然后可将间苯二酚引入上述方案 1-3, 制备本发明的化合物。



方案 7

在方案7中，杂环被显示是未取代的。但是，应理解的是，环取代基可以在间苯二酚形成以前被引入环中。如方案7中所示的含一个杂原子的六元环是用来表示任何上述定义的 R_1 杂原子环。

本发明的进一步方面涉及式(I)化合物用于调节大麻素受体活性和用于治疗大麻素受体-介导的状况、疾病或障碍的用途。

在此方面，本发明还涉及组合物，其含一种或多种根据式(I)的化合物和药学上可接受的载体。

一种或多种化合物以实现给药目的有效的量存在。当个别需要改变时，测定每种成分有效量的最佳范围属于本领域技术人员的技能。给予的一种或多种化合物的量将取决于患者和给药模式而变化并且可以是任何有效量。典型的剂量包括约 0.01 至约 100 毫克/公斤体重，更优选在约 0.01 至约 1.0 毫克/公斤体重之间，直到每天三次。用于本发明化合物给药的治疗方案还可以容易地由本领域普通技术人员确定。给予的所述化合物的量可以在宽范围内变化，以单位剂量提供约 0.01 至 20 毫克/公斤患者体重/天的有效量以实现预期效果。单个剂量优选在约 1 毫克-约 1000 毫克/每剂量之间。

药学上可接受的载体可以是任何合适的助剂、载体、赋形剂、稳定剂或它们的组合，所述药物组合物可以呈固体或液体形式，如片剂、胶囊、粉末、溶液、悬浮液或乳液。通常，所述组合物将含约 0.01 至 99%、优选约 20 至 75% 的活性化合物，连同助剂、载体和/或赋形剂。

对于口服治疗给药，所述活性化合物可以与赋形剂混合并以片剂、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆等形式使用。

固体单位剂型(例如片剂或胶囊剂)可以具有常用形式。例如，所述化合物可以与一种或多种润滑剂和/或惰性填料(如乳糖、蔗糖或玉米淀粉)结合。在另一个实施方案中，这些化合物和常规的片剂基材(如乳糖、蔗糖或玉米淀粉)与粘合剂(如阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶)、崩解剂(如玉米淀粉、马铃薯淀粉或藻酸)，以及润滑剂(如

硬脂酸或硬脂酸镁)结合制片。

口服的液体剂量可以含水基或醇基载体,以及甜味剂(如玉米糖浆、糖精、阿司帕坦等)、天然的或合成的香味料以及任选一种或多种染料。

适合注射使用的形式包括胶态分散体、微乳剂和用于临时配制无菌可注射分散体或微乳剂的无菌粉末。在所有情况下,所述的形式应是无菌的,并应是在一定程度上存在容易注射性的流体。其应在生产和储存条件下稳定,并且应受保护抗微生物(如细菌和真菌)的污染。所述活性化合物的溶液或悬浮液可以在水中适当地与表面活性剂(诸如羟丙基纤维素)混合制备。分散体还可以在甘油、液体聚乙二醇和其在油中的混合物中制备。举例性油是石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油或矿物油。通常,水、盐水、葡萄糖水溶液和相关的糖溶液以及二醇(如丙二醇或聚乙二醇)可以与作为预制剂的微乳剂结合使用。在普通的储存和使用条件下,这些制剂含防腐剂以防止微生物生长。

为了用作气雾剂,本发明的化合物在溶液中或悬浮液中,可和合适的推进剂(例如烃类推进剂,如丙烷、丁烷或异丁烷)和常规的助剂一起包装在加压的喷雾剂容器中。本发明的物质还可以非加压的形式(如在气雾器或雾化器中)给药。

取决于所要进行治疗,本发明所述的化合物或组合物可以经口、局部、透皮、胃肠道外、皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、通过鼻内滴注、由腔内或膀胱内滴注、眼内、动脉内、损伤内或通过施用到粘膜诸如鼻、咽喉和支气管。

本发明的一种优选组合物是微乳制剂,其含下列成分:

成分	毫克/剂量	百分比 w/ w
聚乙二醇 300	600	59.6
乙醇	320	31.7
聚山梨酯 80	80	7.9
醋酸生育酚	7	0.7
乙二胺四乙酸二钠溶液	1	0.1

本发明的化合物可以各种浓度/剂量（如上文所定义的那些）被引入微乳制剂。在试验中，使用了 1 毫克/剂量(0.1w/w 百分比) 的剂量。

本发明的另一个优选组合物是具有下述组成的制剂:氢化大豆磷脂酰胆碱(HSPC,50 mol %)、胆甾醇(45 mol %)和二硬脂酰磷脂酰(phosphatidyl) 乙醇胺-PEG2000 共轭物(DSPE-PEG2000,5mol %)。本发明的化合物可以各种浓度/剂量（如上文所定义的那些）被引入脂质体制剂。

因为本发明的化合物结合 CB-1 和/或 CB-2 受体并起这些受体的激动剂或拮抗剂的作用，本发明的化合物可用于调节这些受体之一或两者的活性。本发明的该方法是通过使细胞的大麻素受体与本发明化合物接触进行的，通过所述接触调节细胞内大麻素受体的活性。

具有大麻素受体的细胞可以离体(即，用于进行确定化合物作为激动剂或拮抗剂的活性试验)或体内(即，用于治疗或者预防大麻素受体介导的状况)定位。已证明 CB-1 受体在中枢神经系统、心脏、血管内皮、子宫、睾丸、输精管、小肠或膀胱中被表达。已证明 CB-2 受体在脾和各种血细胞（如白细胞、B 细胞和巨噬细胞）中被表达。根据本发明这个方面的影响的细胞可以是上述确定的细胞之一或存在于上述确定的组织之一。

使用对一种大麻素受体相对于另一种是选择性的化合物可能是理想的。对 CB-1 受体选择性的化合物优选显示出至少 4:1、更优选至少 10:1、最优选至少 20:1 的 K_i 比[CB1 / CB2]。对 CB-2 受体选择性的化合物优选显示出至少 4:1、更优选至少 10:1、最优选至少 20:1 的 K_i

比[CB2 / CB1]。

大麻素受体介导的状况的治疗或预防可通过提供本发明的化合物，然后对患者给予有效量的所述化合物或含该化合物的组合物用于治疗或预防所述状况。

对于大麻素受体调节剂，一般而言以及特别是对于 CB1 受体激动剂、CB1 受体拮抗剂、CB2 受体激动剂和 CB2 受体拮抗剂，已经确定了许多用途。

已经鉴定 CB 受体调节剂适用于治疗呼吸疾病(例如慢性肺阻塞性障碍、肺气肿、哮喘、支气管炎等)和免疫调节疾病或紊乱(例如移植排斥反应、类风湿性关节炎、多发性硬化、炎性肠病、狼疮、移植物抗宿主疾病、T 细胞介导的超敏性疾病、牛皮癣、桥本氏甲状腺炎、急性感染性多神经炎、癌、接触性皮炎、过敏性鼻炎、缺血性或再灌注损伤(Leftheris 等人的美国专利 No. 6,653,304, 其全文在此引用参考)。

已经鉴定 CB-1 受体激动剂适用于预防和治疗神经变性障碍，如脑中风和颅脑创伤(Mittendorf 等人的美国专利 No. 6,284,788, 其全文在此引用参考);治疗高血压、外周血管疾病、心绞痛和失血性休克(Kunos 等人的美国专利 No. 5,939,429, 其全文在此引用参考);和治疗细胞增殖障碍(例如乳腺癌或前列腺癌)(Guzman, Nature Reviews Cancer 3: 745-755(2003),其全文在此引用参考)。

已经鉴定 CB-1 受体拮抗剂适用于预防或治疗神经炎性病变，特别是涉及脱髓鞘的状况(例如多发性硬化、急性感染性多神经炎)、病毒性脑炎、脑血管意外或颅外伤的状况(Bourrie 等人的美国专利 No. 6,642,258, 其全文在此引用参考);眼障碍(如青光眼)、肺障碍(如哮喘和慢性支气管炎)、过敏性疾病(如过敏性鼻炎、接触性皮炎、过敏性结膜炎)、炎症(如关节炎和炎性肠病)、疼痛、免疫系统障碍(如狼疮和 AIDS)、同种异体移植物排斥、中枢神经系统疾病(如图雷特综合征、帕金森氏病、亨廷顿舞蹈病、癫痫)和各种精神障碍(例如抑郁、躁狂性抑郁等)和呕吐(Martin 等人的美国专利 No.

6,509,367, 其全文在此引用参考); 治疗进食障碍(如厌食)和涉及消耗非必需食品的消耗障碍(例如、糖、碳水化合物、酒、药物等的消耗)(Maruani 等人的美国专利 No. 6,344,474, 其全文在此引用参考); 治疗低血压, 如与脓毒性休克相关的低血压(Kunos 等人的美国专利 No. 5,939,429, 其全文在此引用参考); 治疗抑郁症、认知功能丧失、精神警觉丧失、记忆丧失、与阿尔茨海默氏病、头部创伤、老年性痴呆和脑肿瘤的一种或多种有关的感觉知觉丧失(Cullinan 等人的美国专利 No. 5,747,524, 其全文在此引用参考)。

已经鉴定 CB-2 受体调节剂适用于治疗细胞增殖障碍, 如癌(Burstein 等人的美国专利 No. 6,448,288, 其全文在此引用参考)。

已经鉴定 CB-2 受体激动剂适用于治疗免疫-调节的免疫紊乱如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、牛皮癣、湿疹、多发性硬化、糖尿病和甲状腺炎、骨形成/吸收障碍如骨质疏松症、强直性脊柱炎、痛风、与痛风有关的关节炎和骨关节炎和肾缺血(Xiang 等人的美国专利 No. 6,100,259; Bender 等人的美国专利 No. 5,948,777, 其分别在此以其全文引用作为参考)。

本发明化合物的药理学活性(即, 作为激动剂、逆激动剂、拮抗剂等)可用标准品在本领域公知的体外试验中确定, 如环 AMP 或 35S(GTP γ S)结合试验(参见例如 Pertwee, Curr. Med. Chem. 6(8): 635-664(1999), 其全文在此引用参考)。

实施例

提供以下实施例以举例说明本发明的实施方案, 但决不是要限制本发明的范围。

实施例 1-4 的材料和方法

材料

所有化学品和试剂购自 Sigma-Aldrich 或 Fisher Scientific Inc.. 无水溶剂就在使用之前通过用金属钠或氢化钙蒸馏进行制备。所有反应

在干燥条件和氩气氛下进行。硅胶 60,200-425 目用于急骤色谱法。 ^1H NMRs、 ^{13}C NMRs 和 2D 谱在 Varian 500 Inova MHz NMR 上得到并且与指定的结构一致。所有 NMR 在 CDCl_3 中记录, 除非另作说明。常规质谱在 Bruker ESQUIRE Ion Trap LC / MS(n)体系上确定, 而 HRMS 则在 University of Tennessee, Knoxville 质谱法中心测定。IR 谱在 Perkin-Elmer Model 1605 FT 红外分光光度计上测定。薄层色谱法在硅胶板上进行(Merck TLC 板, 硅胶 60, F_{254})。

NMR 研究和分子建模

所有谱在 23 摄氏度和 500MHz 在 Varian Inova-500 光谱仪上用 5-mm HCN 三共振探头获得。质子和碳化学位移参考 DMSO 的剩余溶剂峰(对于质子是 2.49ppm, 对于碳是 40ppm)。对于二维 NOESY 度量, 对间接面积记录总共 512 个点(fid), 2 秒循环迟延。在 Sybyl 软件内的 TRIAD NMR 包用于数据处理和分析。在 NOESY 谱中的峰用 TRIAD 标准函数赋值和积分。然后用这些峰积分用 MARDIGRAS 生成对 28 的距离约束。来自每五个混合时间的结果得到非常相似的距离约束, 因此各个距离约束在五个混合时间上求平均值得到所述分子的距离约束的最终设值。然后检查得到的约束保证距离误差符合 NOE 约束的建立误差, 其中; $x < 2.5$ 埃是 ± 0.1 埃; $x \leq 3.0$ 埃是 ± 0.2 埃; $x \leq 3.5$ 埃是 ± 0.3 埃; 和 $x \geq 3.5$ 是 ± 0.4 埃。

使用 1 fs 时间步长和 MARDIGRAS 生成的约束的四步骤模拟退火在 28 上进行如下: (1)在 300K 下的 1ps 动力学; (2)1 ps 加热至 500K; (3)另一个 1 ps 加热阶段至 700K; (4)1 ns 平衡至 500K。附加参数包括带有 Gasteiger-Huckel 电荷的 Tripos 力场、8Å 非键合截留值(cutoff)和距离依赖的介电常数函数。实验上得到的 NOE 距离约束在所有动态运行的步骤期间使用, 芳香碳被限定为保持环几何结构的聚集体。分子几何学在 1000 fs 间隔在动态运行的阶段(1)期间抽样, 并且在加热和冷却周期期间抽样一次。在用于另外的分析期间采集总共 1,007 个构象并且将这些进行二十个动态模拟, 每个得到平均构象。这些平

均构象然后被最小化,具有梯度容许限度 0.005 千卡/摩尔/埃,无限定的聚集体或实验的 NOE 距离约束,得到最终的平均构象。

量子力学计算

量子力学计算用 GAMESS 计算化学包在 SGI Origin 2000 上用 8 个信息处理机和 4GB 存贮器进行。分子轨道表面由 B3LYP / 6-31G(p,d) 结果计算,使用在孟菲斯大学修改的 MOLDEN 版本(Schaftenaar,G. 等人, J. Comput.-Aided Mol. Design 14:123(2000),其全文在此引入作为参考)。势能表面使用 AMI 和 PM3 半经验波函数计算,如同最终几何结构最佳化。

受体结合试验

来自转染有人 CB1 受体的 HEK293 细胞的细胞膜(Lot#1929, $B_{\max}$:1.7 pmol /mg 蛋白质,对于 [3 H]CP 55,940 结合的 K_d :186 pM)和来自转染有人 CB2 受体的 CHO-K1 细胞的膜(Lot#1930, $B_{\max}$:3.3 pmol /mg 蛋白质,对于 [3 H]CP 55,940 结合的 K_d :0.12nM)购自 Perkin-Elmer Life Sciences,Inc.. 具有 120 Ci / mmol 比活性的 [3 H]CP 55,940 得自 Perkin-Elmer Life Sciences,Inc.. 所有其它的化学品和试剂得自 Sigma-Aldrich。在得自 Millipore,Inc.的配备了孔径 1.2 μ 的玻璃纤维过滤器(亲水性, GFC 过滤器)的 96 孔板进行试验。在进行所述试验之前,过滤器用 0.05%聚乙烯亚胺溶液浸泡然后用去离子水洗涤 5x。过滤在 96 孔真空集管 (manifold) (Millipore Inc.)上进行,在实验末尾过滤器用移液管管尖刺穿 (punched out) 直接放入闪烁管,管充满 5 毫升闪烁鸡尾酒 Ecolite(+)(Fisher Scientific)。在 Beckmann 闪烁计数器 LS6500 型上进行计数。在 DMSO 中制备药物溶液,放射性配体溶于乙醇。

培养缓冲剂含 50 mM TRIS-HCl、5mM $MgCl_2$ 、2.5 mM EDTA、0.5 mg / ml 无脂肪牛血清清蛋白, pH 7.4。

对 CB1 受体的结合程序描述如下:8 μ g 膜(20 μ l 的 1:8 在培养缓冲剂

中稀释)与 5 μ l 药物溶液(10^{-4} M 至 10^{-12} M)和 5 μ l 的 5.4nM[3H]CP 55,940 一起以总体积 200 μ l 在 30 摄氏度培养 90 分钟。非特异性的结合用 10 μ M WIN55,212-2($K_i = 4.4$ nM)测定。过滤所述膜,滤过滤器用 0.2 毫升冰冷的培养缓冲剂洗涤 7 次,然后在真空下风干。

对 CB2 受体的结合程序描述如下:15.3 μ g 的膜(20 μ l 的 1:20 在培养缓冲剂中稀释)与 5 μ l 药物溶液(10^{-4} M 至 10^{-12} M)和 5 μ l 的 10nM[³H]CP55,940 以总体积 200 μ l 一起在 30 摄氏度培养 90 分钟。非特异性的结合使用 10 μ M WIN55,212-2($K_i = 4.4$ nM)测定。过滤所述膜,滤过滤器用 0.2 毫升冰冷的培养缓冲剂洗涤 7 次,然后在真空下风干。

数据累计和统计分析如下进行:从 10^{-4} M 至 10^{-12} M 变化的药物浓度,一式三份加入各个实验,使用 GraphPad Prism 确定个体摩尔 IC₅₀ 值。各个药物的相应的 K_i 值用 Cheng and Prusoff 方程式确定(Cheng,Y. 等人, Biochem. Pharmacol. 22: 3099(1973),其全文在此引用参考)并且最终的数据表示为 $n \geq 2$ 试验的 $K_i \pm S.E.M.$ 。

实施例 1-合成含 1'-环烷烃官能度的 Δ^8 -THC 类似物

通过顺式- Δ^2 -p-薄荷烯-1,8-二醇与适当取代的间苯二酚的酸催化偶合进行 Δ^8 -THC 侧链修饰的类似物的合成(Papahatjis,D. P. et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)。如图 7 所概括的合成前体间苯二酚,通过使 3,5-二甲氧基苄腈与合适的烷基或环烷基卤化物的格利雅反应,然后将得到的亚胺 HCl 水解生成酮 5-8(Singer,M. et al., J. Med. Chem. 41: 4400(1998),其全文在此引用参考)。然后将这些酮与乙烷-1,2-二硫醇在 $BF_3 \cdot Et_2O$ 存在下反应得到相应的二硫戊环 9-12(Papahatjis,D. P. et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)或与二甲基锌和 $TiCl_4$ 反应得到相应的偕-二甲基中间体 13-15(Singer,M. et al., J Med. Chem. 41: 4400(1998),其全文在此引用参考)。用 BBr_3 在 0 摄氏度将中间体芳基醚脱保护 12-16 小时生成 5-取代的间苯二酚 16-22。间苯二酚与顺式- Δ^2 -对-薄荷烯-1,8-二醇(从

(+)- Δ^2 -萹烯根据 Prasad and Dev 的方法制备) (Prasad, R. S. et al., *Tetrahedron* 32: 1437(1976), 其全文在此引用参考), 在对-甲苯磺酸一水合物的存在下反应, 得到相应的 Δ^8 -THC 类似物 23-29。

化合物 5: 1-(3,5-二甲氧基苯基)-戊-1-酮

向在烘箱中干燥 1 小时的 Mg 碎屑(1.12 克, 46.7 毫摩尔)和无水 THF(32 毫升)中加入 1-丁基溴(4.46 克, 32.5 毫摩尔), 然后回流反应半小时。在形成格利雅以后, 加入 3,5-二甲氧基苄腈(4 克, 24.5 毫摩尔), 混合物回流 4 小时。反应用冰冷却 15 分钟, 随后缓慢加入 40 毫升 6N 的 HCl, 然后混合物回流 16 小时。除去 THF, 残余物溶于 EtOAc(60 毫升)和 6N HCl(15 毫升)。分离各层, 水层用 EtOAc(4x20 毫升)萃取。萃取合并的 EtOAc 萃取液, 用饱和的 NaHCO₃、水和盐水洗涤。干燥后, 浓缩有机相, 然后残余物在硅胶上解析, 用 EtOAc/己烷(5:25)洗脱, 得到 3.52 克(64.7%)化合物 5 白色固体。R_f = 0.43(己烷:乙酸乙酯 9:1); IR(KBr 片) 2956, 1601, 1206, 1067, 755 cm⁻¹; ¹H NMR δ 7.09 (d, *J* = 2.31 Hz, 2H), 6.64 (t, *J* = 2.31 Hz, 1H), 3.84 (s, 6H), 2.92 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.71 (q, *J* = 7.71 Hz, 2H), 1.40 (s, *J* = 7.71 Hz, 2H), 0.95 (t, *J* = 7.32 Hz, 3H); ¹³C NMR δ 200.51, 161.10, 139.33, 106.17, 105.29, 55.83, 38.70, 26.84, 22.71, 14.17; MS: (ESI, Pos.) *m/z* 245 ([M + 23]⁺)。

化合物 6: 环戊基-(3,5-二甲氧基苯基)-甲酮

用合适的烷基溴, 按照关于化合物 5 所述的方法从 3,5-二甲氧基苄腈类似地制备化合物 6。得到 2.90 克(50.2%)澄清的油。R_f = 0.58(己烷:乙酸乙酯 9:1); IR(KBr 纯) 2956, 1604, 1204, 1067, 755 cm⁻¹; ¹H NMR δ 7.11 (d, *J* = 2.31 Hz, 2H), 6.63 (t, *J* = 2.29 Hz, 1H), 3.83 (s, 6H), 3.70-3.60 (m, 1H), 1.95-1.87 (m, 4H), 1.75-1.59 (m, 4H); ¹³C NMR δ 202.71, 161.06, 139.23, 106.57, 105.11, 55.80, 46.72, 30.35, 26.54; MS: (ESI, Pos.) *m/z* 257 ([M + 23]⁺)。

化合物 7: 环己基-(3,5-二甲氧基苯基)-甲酮

用所述合适的烷基溴,按照关于化合物 5 的方法从 3,5-二甲氧基苜腓类似地制备化合物 7。得到 19.3 克(63.3%)澄清的油。 $R_f = 0.43$ (己烷:乙酸乙酯 9:1); IR(KBr 纯) 2936, 1594, 1200, 1059, 734 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 7.08 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.63 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 3.83 (s, 6H), 3.24-3.14 (m, 1H), 2.05-1.71 (m, 5H), 1.54-1.19 (m, 5H); ^{13}C NMR δ 203.73, 161.12, 138.61, 106.35, 104.92, 55.77, 45.99, 30.39, 29.73, 27.12, 26.17, 26.05; MS: (ESI, Pos.) m/z 271 ($[\text{M} + 23]^+$)。

化合物 8: 环庚基-(3,5-二甲氧基苯基)-甲酮

用所述合适的烷基溴,按照关于化合物 5 的方法从 3,5-二甲氧基苜腓类似地制备化合物 8。得到 11.0 克(45.6%)澄清的油。 $R_f = 0.58$ (己烷:乙酸乙酯 9:1); IR(KBr 纯) 2941, 1592, 1201, 1063, 757 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 7.07 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.64 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.40-3.32 (m, 1H), 1.96-1.52 (m, 12H). ^{13}C NMR δ 204.16, 161.12, 138.72, 106.40, 104.96, 55.80, 46.99, 46.66, 31.59, 31.13, 28.55, 28.36, 28.08, 27.04; MS: (ESI, Pos.) m/z 285 ($[\text{M} + 23]^+$)。

化合物 9: 2-丁基-2-(3,5-二甲氧基苯基)-[1,3]二硫戊环

向搅拌的化合物 5(3.52 克,15.9 毫摩尔)在无水 CH_2Cl_2 (58 毫升)中的溶液中加入 $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (0.58 毫升,4.8 毫摩尔)和乙烷-1,2-二硫醇(2.71 克,28.8 毫摩尔),在室温下搅拌 16 小时。然后用 10% NaOH(20 毫升)萃取有机相,然后用水和盐水萃取。干燥有机相,浓缩,然后残余物在硅胶上解析,用 EtOAc / 己烷(5:10)洗脱,得到 4.50 克(95.2%)化合物 9 无色油。 $R_f = 0.51$ (己烷:乙酸乙酯 9:1); IR(纯) 2955, 1205, 1067 694 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.89 (d, $J = 2.22$ Hz, 2H), 6.34 (t, $J = 2.21$ Hz, 1H), 3.81 (s, 6H). 3.40-3.20 (m, 4H), 2.33 (t, $J = 7.53$ 2H), 1.31-1.20 (m, 4H), 0.85 (t, $J = 6.78$ Hz, 3H). ^{13}C NMR δ 160.56, 148.04, 106.01, 98.74,

74.58, 55.60, 45.92, 39.33, 30.23, 23.03, 14.13; MS: (ESI, Pos.) m/z 299 (M^+).

化合物 10: 2-环戊基-2-(3,5-二甲氧基苯基)-[1,3]二硫戊环

从化合物 6 用按照关于化合物 9 所述的相同方法制备化合物 10。得到 2.92 克(87%)油。 $R_f = 0.52$ (己烷:乙酸乙酯 92:8); IR(纯) 2955, 1206, 1066, 694 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.98 (d, $J = 2.19$ Hz, 2H), 6.34 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.35-3.09 (m, 4H), 2.82-2.71 (m, 1H), 1.80-1.43 (m, 8H). ^{13}C NMR δ 160.03, 149.37, 106.37, 98.35, 79.474, 55.35, 52.14, 38.79, 31.17, 25.73; MS: (ESI, Pos.) m/z 333 ($[M + 23]^+$).

化合物 11: 2-环己基-2-(3,5-二甲氧基苯基)-[1,3]二硫戊环

从化合物 7 用按照关于化合物 9 所述的相同方法制备化合物 11。得到 16.8 克(89.6%)油。 $R_f = 0.43$ (己烷:乙酸乙酯 92:8); IR(纯) 2930, 1198, 1062, 698 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.94 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.33 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.33-3.09 (m, 4H), 2.17-2.09 (m, 1H), 1.92-1.88 (m, 2H), 1.73-1.58 (m, 3H), 1.27-0.97 (m, 5H). ^{13}C NMR δ 160.20, 148.17, 107.00, 98.59, 80.97, 55.60, 50.71, 39.07, 31.18, 26.91, 26.35; MS: (ESI, Pos.) m/z 347 ($[M + 23]^+$).

化合物 12: 2-环庚基-2-(3,5-二甲氧基苯基)-[1,3]二硫戊环

从化合物 8 用按照关于化合物 9 所述的相同方法制备化合物 12。得到 3.60 克(79.2%)油。 $R_f = 0.56$ (己烷:乙酸乙酯 92:8); IR(纯) 2925, 1206, 1067, 832, 693 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.94 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.32 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.31-3.10 (m, 4H), 2.40-2.32 (m, 1H), 1.96-1.30 (m, 12H). ^{13}C NMR δ 160.38, 148.94, 106.52, 98.48, 81.99, 70.21, 55.60, 51.27, 45.22, 39.34, 32.82, 29.80, 28.04, 27.77; MS: (ESI, Pos.) m/z 361 ($[M + 23]^+$).

化合物 13: 1-(1-环戊基-1-甲基-乙基)-3,5-二甲氧基苯

在装备有加料用漏斗的干燥的三颈烧瓶中加入无水二氯甲烷(80 毫升), 然后冷却到-40 摄氏度。将 1 M TiCl_4 在二氯甲烷中的溶液(102 毫升, 102 毫摩尔)转入加料漏斗, 然后慢慢加入所述冷的二氯甲烷溶液中, 保持温度-40 摄氏度。所述溶液冷却到-50 摄氏度, 经加料漏斗尽可能迅速地加入 2 M 二甲基锌在甲苯中的溶液(51 毫升, 102 毫摩尔), 保持温度在-40 和-50 摄氏度之间。加料完成后, 剧烈搅拌粘稠的红色溶液 10 分钟, 随后迅速加入化合物 6(4.01 克, 17.1 毫摩尔)在无水二氯甲烷(20 毫升)中的溶液, 保持温度在-45 和-35 摄氏度之间。然后用 2 小时将温度缓慢升至-10 摄氏度同时持续搅拌。将所述混合物倾入冰 / 水(200 毫升), 水层用二氯甲烷(4x50 毫升)萃取。合并的有机萃取液用饱和的 NaHCO_3 、水和盐水洗涤, 干燥然后浓缩。残余物在硅胶上解析, 用 EtOAc / 己烷(1:9)洗脱, 得到 2.75 克(65.0%)的化合物 13 无色油。 $R_f = 0.50$ (己烷:乙酸乙酯 95:5); IR(纯) 2955, 1457, 1422, 1205, 1067, 831 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.53 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.30 (t, $J = 2.25$, 1H), 3.79 (s, 6H), 1.55-1.38 (m, 7H), 1.25 (s, 6H), 1.21-1.15 (m, 2H); ^{13}C NMR δ 160.50, 153.36, 105.30, 96.76, 55.45, 51.80, 39.90, 27.94, 25.97, 25.82; MS: (ESI, Pos.) m/z 249 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

化合物 14: 1-(1-环己基-1-甲基-乙基)-3,5-二甲氧基苯

从化合物 7 用按照关于化合物 13 所述的相同方法制备化合物 14。得到 3.69 克(70.3%)油。 $R_f = 0.55$ (己烷:乙酸乙酯 95:5); IR(纯) 2932, 1457, 1422, 1208, 1066 702 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 6.48 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.35 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 1.72-1.55 (m, 6H), 1.45-1.39 (m, 1H), 1.21 (s, 6H), 1.18-1.05 (m, 2H), 0.97-0.85 (m, 2H); ^{13}C NMR δ 160.52, 153.48, 105.35, 96.64, 55.44, 49.28, 41.06, 28.18, 27.44, 26.96, 25.50; MS: (ESI, Pos.) m/z 263 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

化合物 15: 1-(1-环庚烷-1-甲基-乙基)-3,5-二甲氧基苯

从化合物 8 用按照关于化合物 13 所述的相同方法制备化合物 15。得到 3.61 克(72.3%)油。R_f= 0.50(己烷:乙酸乙酯 95:5); IR(纯) 2934, 1455, 1422, 1206, 1067, 701 cm⁻¹; ¹H NMR δ 6.50 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 6.29 (t, *J* = 2.25 Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 1.73-1.69 (m, 1H), 1.65-1.50 (m, H), 1.48-1.38 (m, H), 1.37-1.28 (m, H), 1.18 (s, 6H); ¹³C NMR δ 160.33, 153.83, 104.94, 96.41, 55.21, 49.21, 42.03, 29.52, 28.06, 27.95, 25.19; MS: (ESI, Pos.) *m/z* 277 ([M + H]⁺)。

化合物 16: 5-(2-丁基-[1, 3]二硫戊环-2-基)-苯-1, 3-二醇

在氩气下在-78 摄氏度将三溴化硼(32.9 毫升的 1M 溶液, 32.9 毫摩尔)加入化合物 9(4.51 克, 3.23 毫摩尔)在二氯甲烷(546 毫升)中的溶液。然后用 3 小时将反应温度缓慢升至 0 摄氏度。在 0 摄氏度继续搅拌 12-14 小时或直到反应完成。通过加入甲醇除灭未反应的三溴化硼, 除去溶剂, 用乙醚稀释残油。有机相用饱和的 NaHCO₃, 水和盐水洗涤, 干燥然后浓缩。残余物在硅胶上解析, 用二乙醚/己烷(4:6)洗脱, 得到 0.675 克(74.1 %)的化合物 16 蜡状固体。R_f = 0.28(己烷:乙酸乙酯 8:2) ¹H NMR δ 6.79 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 6.23 (t, *J* = 2H, 1H), 5.30 (br s, 2H), 3.38-3.19 (m, 4H), 2.25 (t, *J* = 9.75 Hz, 2H), 1.29-1.18 (m, 4H), 0.83 (t, *J* = 7 Hz, 3H); ¹³C NMR δ 156.24, 148.45, 107.23, 101.50, 73.90, 45.50, 39.01, 29.96, 22.74, 13.86; MS: (ESI, Neg.) *m/z* 269 ([M-H]⁻)。

化合物 17: 5-(2-环戊基-[1,3]二硫戊环-2-基)-苯-1,3-二醇

从化合物 10 用按照关于化合物 16 所述的相同方法制备化合物 17。得到 0.67 克(74.1 %)蜡状固体。R_f=0.28(己烷:乙酸乙酯 8:2) ¹H NMR δ 6.89 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 6.23 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H), 5.68 (br s, 2H), 3.34-3.07 (m, 4H), 2.78-2.67 (m, 1H), 1.71-1.38 (m, 8H); ¹³C NMR δ 156.26, 150.31, 108.13, 101.59, 79.28, 52.27, 39.02, 31.39, 25.94; MS: (ESI, Pos.) *m/z* 305 ([M + 23]⁺)。

化合物 18: 5-(2-环己基-[1,3]二硫戊环-2-基)-苯-1,3-二醇

从化合物 11 用按照关于化合物 16 所述的相同方法制备化合物 18。得到 0.853 克(62.2%)蜡状固体。 $R_f=0.27$ (己烷:乙酸乙酯 8:2) ^1H NMR δ 6.78 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H), 6.19 (t, $J = 1.95$ Hz, 1H), 4.14 (br s, 2H), 3.32-3.07 (m, 4H), 2.15-2.06 (m, 1H), 1.96-1.58 (m, 4H), 1.19-1.00 (m, 4H); ^{13}C NMR δ 156.95, 147.94, 107.39, 101.12, 80.58, 60.83, 50.56, 38.82, 30.92, 26.77, 26.24, 21.08, 14.17; MS: (ESI, Neg.) m/z 295 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

化合物 19: 5-(2-环庚基-[1,3]二硫戊环-2-基)-苯-1,3-二醇

从化合物 12 用按照关于化合物 16 所述的相同方法制备化合物 19。得到 0.582 克(41.5%)蜡状固体。 $R_f=0.28$ (己烷:乙酸乙酯 8:2) ^1H NMR δ 6.85 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.22 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 5.16 (br s, 2H), 3.31-3.07 (m, 4H), 2.35-2.28 (m, 1H), 1.97-1.29 (m, 12H); ^{13}C NMR δ 156.07, 149.33, 107.65, 101.25, 50.92, 39.00, 32.55, 27.70, 27.43; MS: (ESI, Pos.) m/z 333 ($[\text{M} + 23]^+$).

化合物 20: 5-(1-环戊基-1-甲基-乙基)-苯-1,3-二醇

从化合物 13 用按照关于化合物 16 所述相同方法制备化合物 20。得到 1.29 克(72.9%)粘稠的油。 $R_f = 0.28$ (己烷:乙醚 6:4) ^1H NMR δ 6.44 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 6.20 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.70 (br s, 2H), 2.02-1.98 (m, 1H), 1.57-1.35 (m, 6H), 1.18 (s, 6H); ^{13}C NMR δ 156.22, 154.66, 105.10, 99.83, 53.24, 50.33, 36.21, 24.99, 24.75; MS: (ESI, Neg.) m/z 219 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

化合物 21: 5-(1-环己基-1-甲基-乙基)-苯-1,3-二醇

从化合物 14 用按照关于化合物 16 所述相同方法制备化合物 21。得到 1.11 克(61.9%)粘稠的油。 $R_f = 0.28$ (己烷:乙醚 6:4) ^1H NMR δ 6.38

(d, $J = 2$ Hz, 2H), 6.17 (t, $J = 2.25$ Hz, 1H), 4.82 (br s, 2H), 1.71-1.68 (m, 2H), 1.63-1.60 (m, 1H), 1.53-1.51 (m, 2H), 1.42-1.36 (m, 1H), 1.17 (s, 6H), 1.16-1.03 (m, 3H), 0.94-0.86 (m, 2H); ^{13}C NMR δ 156.32, 154.45, 106.56, 100.02, 49.21, 40.85, 28.12, 27.39, 26.91, 25.39, 14.40; MS: (ESI, Neg.) m/z 233 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

化合物 22: 5-(1-环庚基-1-甲基-乙基)-苯-1,3-二醇

从化合物 15 用按照关于化合物 16 所述相同方法制备化合物 22。得到 0.442 克(24.7%)粘稠的油。 $R_f = 0.26$ (己烷:乙醚 6:4) ^1H NMR δ 6.40 (d, $J = 2$ Hz, 2H), 6.17 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 4.74 (br s, 2H), 1.68-1.50 (m, 7H), 1.48-1.39 (m, 2H), 1.35-1.25 (m, 2H), 1.15 (s, 6H), 1.14-1.08 (m, 2H); ^{13}C NMR δ 156.15, 154.78, 106.13, 99.74, 49.22, 41.79, 29.46, 28.01, 27.88, 25.06; MS: (ESI, Neg.) m/z 247 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

化合物 23: 3-(2-丁基-[1,3]二硫戊环-2-基)-6, 6,9-三甲基-

6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

向化合物 16(650 毫克, 2.4 毫摩尔)在无水苯(20 毫升)中的溶液中加入顺式-薄荷-2-烯-1,8-二醇(408 毫克, 2.4 毫摩尔), 随后加入对-甲苯磺酸一水合物(19 毫克, 0.099 毫摩尔)。反应混合物在 80 摄氏度搅拌 4 小时。冷却反应混合物, 然后用乙醚稀释, 用饱和的 NaHCO_3 , 水和盐水洗涤。干燥后浓缩, 残余物在硅胶上解析(1.9 厘米 X 25 厘米), 用 3%二乙醚-石油醚洗脱, 得到 254 毫克(26.3%)的化合物 23 浅黄色蜡状固体。 $R_f = 0.22$ (石油醚:乙醚 9:1) ^1H NMR δ 6.77 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.44 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 4.82 (s, 1H), 3.37-3.24 (m, 4H), 3.22-3.18 (m, 1H), 2.73-2.68 (m, 1H), 2.31-2.27 (m, 2H), 2.17-2.18 (m, 1H), 1.86-1.79 (m, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.29-1.23 (m, 6H), 1.12 (s, 3H), 0.86-0.84 (m, 3H); ^{13}C NMR δ 154.81, 154.65, 144.23, 134.95, 119.53, 112.11, 109.55, 106.69, 77.17, 73.98, 45.87, 44.97, 39.40, 37.11, 36.03, 31.83, 30.18, 28.09, 27.81, 23.73, 23.04,

18.80, 14.17; HRMS (FAB), m/z , $C_{23}H_{32}O_2S_2$ 计算值, 404.1844, 实验值 404.1844。

化合物 24: 二硫戊环基-环戊基 Δ^8 -THC 或 3-(2-环戊基-[1,3]二硫戊环-2-基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 17 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 24。得到 55 毫克(14.6%)浅黄色蜡状固体。 $R_f=0.22$ (石油醚:乙醚 9:1) 1H NMR δ 6.86 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 5.43 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 4.76 (br s, 1H), 3.33-3.12 (m, 5H), 2.77-2.66 (m, 1H), 2.15-2.12 (m, 1H), 1.88-1.78 (m, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.68-1.67 (m, 2H), 1.60-1.59 (m, 3H), 1.53-1.42 (m, 5H), 1.38 (s, 3H), 1.10 (s, 3H); ^{13}C NMR δ 154.55, 154.33, 146.82, 134.95, 119.53, 111.90, 110.12, 107.31, 79.00, 52.40, 44.98, 39.12, 36.06, 31.83, 31.41, 31.34, 28.08, 27.80, 25.91, 23.71, 18.77; HRMS (FAB), m/z , $C_{24}H_{32}O_2S_2$ 计算值, 416.1844, 实验值 416.1841。

化合物 25: 二硫戊环基-环己基 Δ^8 -THC 或 3-(2-环己基-[1,3]二硫戊环-2-基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 18 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 25。得到 193 毫克(22.2%)浅黄色蜡状固体。 $R_f=0.22$ (石油醚:乙醚 9:1) 1H NMR δ 6.81 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 5.44 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 4.79 (br s, 1H), 3.28-3.10 (m, 5H), 2.72-2.66 (m, 1H), 2.16-2.06 (m, 2H), 1.93-1.79 (m, 5H), 1.72-1.67 (m, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.61-1.58 (m, 1H), 1.29-1.02 (m, 6H), 1.38 (s, 3H), 1.11 (s, 3H); ^{13}C NMR δ 154.48, 154.25, 145.36, 134.97, 119.54, 111.94, 110.44, 107.62, 80.35, 77.11, 66.14, 50.61, 44.99, 39.14, 36.07, 31.85, 31.07, 31.00, 28.10, 27.83, 26.88, 26.36, 23.74, 18.81, 15.50, 11.94; HRMS (FAB), m/z , $C_{25}H_{34}O_2S_2$ 计算值, 430.2000, 实验值 430.2000。

化合物 26: 二硫戊环基-环庚基 Δ^8 -THC 或 3-(2-环庚基-[1,3]二硫戊环

-2-基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 19 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 26。得到 61 毫克(14.2%)浅黄色固体。R_f=0.22(石油醚:乙醚 9:1) ¹H NMR δ 6.82 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.426 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.88 (br s, 1H), 3.28-3.11 (m, 5H), 2.72-2.66 (m, 1H), 2.33-2.28 (m, 1H), 2.16-2.13 (m, 1H), 1.93-1.79 (m, 7H), 1.70 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.93-1.28 (m, 8H); ¹³C NMR δ 154.32, 154.18, 145.80, 134.69, 119.25, 111.59, 109.66, 106.87, 81.16, 76.85, 50.93, 44.67, 39.06, 35.78, 32.54, 32.47, 31.57, 27.78, 27.71, 27.54, 27.48, 23.46, 18.52; HRMS (FAB), *m/z*, C₂₆H₃₆O₂S₂ 计算值, 444.2157, 实验值 444.2170。

化合物 27: 偕-二甲基-环戊基 Δ⁸-THC 或 3-(1-环戊基-1-甲基-乙基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 20 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 27。得到 334 毫克(41.6%)浅黄色固体。R_f=0.32(石油醚:乙醚 95:5); ¹H NMR δ 6.42 (d, *J* = 1 Hz, 1H), 6.26 (d, *J* = 2 Hz, 1H), 5.43(d, *J* = 5 Hz, 1H), 4.66 (br s, 1H), 3.21-3.17 (m, 1H), 2.72-2.67(m, 1H), 2.16-2.13 (m, 1H), 2.06-1.99 (m, 1H), 1.94-1.76 (m, 6H), 1.70 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.22-1.13 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 1.18 (s, 6H); ¹³C NMR δ 154.8, 154.45, 150.68, 135.00, 119.58, 110.38, 108.60, 106.03, 76.90, 51.77, 45.11, 39.22, 36.25, 31.75, 28.13, 27.90, 27.86, 25.85, 25.76, 23.74, 18.76; HRMS (FAB), *m/z*, C₂₄H₃₄O₂ 计算值, 354.2558, 实验值 354.2566。

化合物 28: 偕-二甲基-环己基 Δ⁸-THC 或 3-(1-环己基-1-甲基-乙基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 21 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 28。得到 298 毫克(37.9%)浅黄色固体。R_f= 0.33(石油醚:乙醚 95:5) ¹H NMR δ 6.37 (d, *J* = 2 Hz 1H), 6.22 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.43 (d, *J* = 5 Hz, 1H), 4.65(br s, 1H), 3.21-3.17 (m, 1H), 2.72-2.67(m, 1H), 2.18-2.13 (m,

1H), 1.91-1.77 (m, 3H), 1.71(s, 3H), 1.67-1.67 (m, 2H), 1.61-1.50 (m, 4H), 1.39 (s, 3H), 1.41-1.36 (m, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.10-1.03 (m, 3H), 0.92-0.75 (m, 2H); ^{13}C NMR δ 154.32, 154.23, 150.54, 134.76, 119.34, 110.08, 108.44, 105.80, 76.66, 48.84, 44.87, 40.155, 36.03, 31.51, 27.89, 27.63, 27.18, 26.72, 25.26, 24.93, 23.50, 18.53; HRMS (FAB), m/z , $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_2$ 计算值, 368.2715, 实验值 368.2715.

化合物 29: 偕-二甲基-环庚基 Δ^8 -THC 或 3-(1-环庚基-1-甲基-乙基)-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

从化合物 22 用按照关于化合物 23 所述相同的方法制备化合物 29。得到 341 毫克(42.9%)浅黄色蜡状固体。 $R_f = 0.33$ (石油醚:乙醚 95:5) ^1H NMR δ 6.39 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 6.2 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.43 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 4.67 (br s, 1H), 3.21-3.17 (m, 1H), 2.72-2.67 (m, 1H), 2.16-2.10 (m, 1H), 1.91-1.79 (m, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.67-1.51 (m, 8H), 1.47-1.41 (m, 2H), 1.38-1.26 (m, 3H), 1.14 (s, 6H), 1.11 (s, 3H), 1.12-1.07 (m, 1H); ^{13}C NMR δ 154.40, 154.29, 151.11, 134.77, 119.35, 110.05, 109.76, 108.31, 105.67, 76.65, 49.13, 44.89, 41.36, 36.05, 31.54, 29.48, 29.45, 28.16, 28.05, 27.94, 27.90, 27.87, 27.63, 25.15, 24.93, 23.50, 22.95, 18.52; HRMS (FAB), m/z , $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_2$ 计算值, 382.2872, 实验值 382.2878。

实施例 2-受体结合试验

来自用人 CB1 大麻素受体转染的 HEK293 细胞的细胞膜和来自用人 CB2 大麻素受体转染的 CHO-K1 细胞的膜用于受体结合试验。通过增加 Δ^8 -THC 类似物 23-29 和 Δ^8 -THC 的浓度, 从 CB1 和 CB2 受体制备物置换 [^3H]CP 55,940, 被用来测定构象倾向探针的结合亲和性(见下表 1)。与 rCB1 的 47.6 nM 和 mCB2 的 39.3 的报道值相比(亲和性比例 CB1/ CB2= 1.21), 对于 Δ^8 -THC 在 hCB1 和 hCB2 受体的 K_i 值分别是 28.5 nM 和 25.0 nM(亲和性比例 CB1 / CB2 =1.14)(BuschPtersen,J.

et al., J. Med. Chem. 39: 3790(1996),其全文在此引用参考)。LBP 探针显示出相对于 Δ^8 -THC 对所述受体亚型结合亲和性 3 至 143 倍增强。偕-二甲基类似物 27-29 和戊基二硫戊环 23 对于 CB1 和 CB2 受体具有亚纳摩尔亲和性,也就是说比得上非常有效的 1',1'-二甲基庚基- Δ^8 -THC(DMHT, $K_i = 0.77$ nM)(Martin, B. R. et al., Pharmacol. Biochem. Behav. 43: 295(1993),其全文在此引用参考)。在这组化合物中,化合物 1', 1'-二甲基环戊基, 27, 具有对 CB1 受体最高的亲和性($K_i = 0.34$ nM), 而 1', 1'-二甲基环庚基, 29, 显示出对 CB2 受体更大的亲和性($K_i = 0.22$ nM)。虽然亲和性较高,仅证明化合物 29 在受体亚型之间具有适当的选择性。没有一种化合物显示出在受体亚型之间显著的选择性(例如, 大于 10:1)。

表 1: Δ^8 -THC 和类似物 23-29 对 CB1 和 CB2 受体的结合亲和性

化合物	CB ₁ K_i (nM) ^a	CB ₂ K_i (nM) ^a	CB ₁ /CB ₂ 比
Δ^8 -THC	28.5(±3.3)	25.0(±4.8)	1.14
23	0.85(±0.02)	0.58(±0.03)	1.47
24	9.49(±2.42)	2.74(±1.10)	3.46
25	1.86(±0.71)	1.05(±0.41)	1.77
26	1.76(±0.56)	6.62(±0.92)	0.27
27	0.34(±0.04)	0.39(±0.06)	0.84
28	0.57(±0.05)	0.65(±0.04)	0.87
29	0.94(±0.05)	0.22(±0.01)	4.65

^a 对于 Δ^8 -THC 和类似物的 K_i 值从 $n \geq 2$ 的独立实验以一式三份进行得到, 在括号中表示平均值的标准误差。

对 1',1'-二硫戊环基团的 1',1'-二甲基取代令人意外地降低了对 CB1 和 CB2 受体的亲和性。这系列不与在合成的 1',1'-二甲基类似物中观察到的亲和性相似, 具有明显比 1',1'-二硫戊环-庚基- Δ^8 -THC 更高的

K_i (DTHT, $K_i = 0.32 \text{ nM}$)(Papahadjis, D. P. et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)。在这系列化合物中, 后者的碳等价物, 25, 具有 1.86 nM 的 K_i , 暗示受体的结构要求与空间约束有关。 $1'$, $1'$ -二硫戊环戊基类似物 23 相对于碳等价物 24 分别具有对 CB1 和 CB2 受体 4.7 倍和 11 倍增加的亲和性。相对于 27-29, 与 24-26 对 CB1 亲和性减小 2-28 倍相结合的这些数据提示该系列可能有助于定义 LBP 的空间限制。此外, 基于二硫戊环系列的空間要求, 当考虑到 26 对 CB1 受体的 1.76 nM K_i 和 24 对 CB2 受体的 2.74 nM K_i 时, 观察到适度的受体亚型选择性。对两个系列的受体结合研究的总结果提示这些 Δ^8 -THC 类似物将有助于关于 CCBs 发展 LBP 的 SAR。

实施例 3-NMR 和分子建模研究

对 CB1 和 CB2 受体所述二甲基环烷基类似物的结合亲和性可与非常有效的 $1'$, $1'$ -二甲基庚基 THC(DMHT, $K_i = 0.77 \text{ nM}$) 类似物相比。这些化合物的分子建模分析表明, 与作为 DMHT 的环状碳等价物 28 的 $4.55 \text{ \AA}$ 相比, DMHT 的线性尺寸是 $7.72 \text{ \AA}$ 。在侧链线性长度的 $3.17 \text{ \AA}$ 的差值提示在 LBP 中有一个区域, 其适应 C3 取代基, 其特征在于是疏水的椭球。仍不清楚这是否是适应线性类似物侧链的相同袋; 但是, 椭球袋的潜在存在使得关于三环体系的表征环状侧链的相对几何结构很重要。这种尝试的一个方面使用 1D 和 2D 高场核磁共振谱法评价相关的侧链几何结构; 此外, 对 28 进行了广泛 NOESY 研究旨在得到用于分子建模的距离约束。

在类似物 23-29 中构成质子的化学位移首先运用 1D、gHSQC、gHMBC 和 gCOSY 实验赋值。基于这种赋值, 经 2D NOESY 实验检查质子的相对空间定位。观察所有衍生物中相互连接三环体系质子 NOEs 的网络。对 27-29 的 NOESY 实验显示, 在芳香环的 H2 和 H4 质子和二甲基和环烷基次甲基质子之间的强 NOEs(图 1); 此外, 亚甲基单元 α 至环烷基的次甲基显示, 关于芳族质子的中等 NOEs。对于

二硫戊环探针 24-26, 观察到类似的类型, 每个二硫戊环亚甲基的两个弱 NOEs 显著相加形成一个 NOE。这些对二硫戊环亚甲基的 NOEs 的存在和在 3.07-3.33 ppm 之间多重峰的存在, 即, 非对映的质子(图 2), 对这些质子的观察提示, 抑制了环的柔性, 因而质子存在于芳族屏蔽/去屏蔽漏斗的独特区域。对 LBP 探针观察到的 NOE 类型和强度暗示 C3 侧链的构造倾向。

结合建模的 NOE 强度的定性分析提示在溶液中环烷基官能度伸长远离芳香环并且不重叠在环上, 即, 在 H4'-H6' 和 H2/H4 质子之间明显缺少 NOEs(图 1)。为了更准确地检查相对的环取向, 用混合时间 300-700 ms 在 100 ms 间隔内对 28 进行了 NOESY 实验。选择这种类似物用于研究是因为它是 DMHT 的碳等价物。谱显示出 41 个清楚解析的 NOEs, 带有从环己基到 H2 和 H4 质子产生的 8 个信号亚群。利用 TRIPOS TRIAD 软件积分那些不相重叠的清楚的赋值峰, 随后用 MARDIGRAS 的约束产生, 得到 26 距离约束的网络(图 3)(SYBYL, version 6.8, Tripos, Inc.: St. Louis, MO(2001), 其全文在此引用参考)。利用这些约束, 使模型经历 1 ns 制约的分子动力学, 测定与实验的 NMR 数据有关的扭转构象异构体的群体。产生的构象显示在环己烷次甲基和芳族质子之一之间的单一约束妨碍, 很可能是由于 C3-C1'-C2'-C3' (τ_2) 键在 41 和 319 度扭转角之间互变, 表示在模拟退火研究中观察到的两个扭转群(图 4)。利用格点搜索的多级扭转驱动未能预测这些几何结构, 提示电子效应是 NMR 研究中观察到的构象的原因。因此, 利用量子力学计算检查驱动结构偏移的电子效应。

实施例 4-量子力学计算

假定偕-二甲基将采用使构象偏移的侧链和芳香环之间相互作用最大化的构象异构体似乎是合理的。但是, 基于分子力学计算(即, 静电学和空间分析)不能解释通过 NMR 和分子动力学预测的环己基类似物 28 的构象。为了解释这个问题, 已经使用半经验的和密度泛函理论(DFT)计算中肯地评价可能的构象异构体和确定所述试验结果中电

子作用的重要性。

用 AM1 和 PM3 半经验参数化法,用 GAMESS 计算化学包进行几何结构优化(Schmidt,M. W. et al., J. Comput. Chem. 14: 1347(1993),其全文在此引用参考)。通过计算优化的几何结构赫赛函数确认稳定点。用这些优化结构,用 AM1 和 PM3 作为围绕 C2-C3-C1'-C2'(τ_1)和 C3-C1'-C2'-C3'(τ_2)键旋转的函数,并且所有其它的几何参数保持恒定来计算势能表面(PES)。两个半经验的势能表面表明,围绕 τ_1 和 τ_2 键有相对自由的旋转(图 5)。在 PM3 表面上更明显的"凸纹"由更发散的电子密度产生,该电子密度用相对于 AM1 的 PM3 参数化法产生。在 PES 中四个大峰是环己基基团上亚甲基氢和 THC 部分的 C2 氢接近碰撞的结果。最剧烈的这些碰撞由两个氢原子之间 1.03 Å 的间隙引起。

在 PES 上有 6 个区域,其表示类似物 28 的局部最小值,其可以根据(θ_{τ_1} , ϕ_{τ_2})的定制角度对表示为 A(141,56), B(259,301), C(270, 180), D(323,56), E(40,305)和 F(108,190)。进行在 PM3 水平的几何结构最佳化以识别最接近这些点的每个的局部最小值,然后用 B3LYP 函数和 6-31G(p,d)基本设置进行 DFT 能量计算。另外,用同样的方法识别通过关于 τ_1 键 180 度旋转得到的关联构象异构体(标明 A', B'等)。对于 τ_2 两面角的数值范围对于量子力学计算是 56-305 度,而动力学研究预测范围是 41-319。对于在 B3LYP / 6-31G(p,d)水平的六个最低能量构象的相对的能量(Hehre,W. J. et al., J. Chem. Phys. 2257: 56(1972); Hariharan,P. C. et al.,Theoret. Chimica Acta 28: 213(1973),其全文在此参考引用),在下表 2 中给出。注意在这些结构之间最大的能量差仅是 0.6 千卡/摩尔(大约 8.8 毫哈里特),提示全部构象异构体是易受热影响的。在分子建模结果和量子力学结果之间观察到的偏差足够小(即,在 10%以内),从而这两种方法之间可调整一致。

表 2:对于偕-二甲基类似物在势能表面上六个最低能量之间的相对能量差(千卡/摩尔)(Huffman et al., J. Med Chem. 39: 3875(1996))。

构象 ^a	ΔE (千卡/摩尔)
F'(101,60)	0.55
B(259,301)	0.52
A(141,56)	0.38
A'(124,193)	0.09
F(108,190)	0.05
D'(302,193)	0.00

^a 括号中的数字是定制角度对($\theta\tau_1$, $\phi\tau_2$)

然而, NMR 数据提示在溶剂相中有优选的构象, 提示电子贡献可能是重要的。图 6B 显示偕-二甲基类似物 28 的 HOMO 轨道图(来自 B3LYP/ 6-31G(p,d)计算)。在该构象中, 有与连到 C3'碳原子的氢原子相关的轨道叶。这个叶的形状提示反键 σ 轨道, 表明在氢原子和芳环电子密度之间的互相排斥作用。与芳环相关的轨道叶的形状的检验显示与该氢相互作用有关的变形。图 6A 显示相同化合物在围绕 τ_2 角旋转 180 度之后并且随后的如先前所述再优化的 HOMO 轨道图。在这种情况下, 我们注意到在芳环和最近的氢原子之间两种这样的排斥, 其导致能量增加 0.28 千卡/摩尔。虽然小, 但这个能量可以足够导致溶剂相中的构象优选。因为 B3LYP 函数的性质和 6-31G(p,d)基本设置中存在扩散功能, 因此可以观察这个特征。与试验结果相比, 我们可以推测 NMR 谱中的偏移是在芳环和环己基末端氢之间电子相互作用的结果, 优选有利于使这种排斥数目最小的构象。

实施例 1-4 的讨论

新的 Δ^8 -THC 类似物的设计和合成允许对 CB1 和 CB2 受体侧链 LBP 袋探查。假设含和已知高亲和力配体相同碳数但是线尺寸减少的

环烷基侧链可以提供对侧链袋几何结构的了解。为此，合成了 7 种新的 Δ^8 -THC 类似物并进行对人 CB1 和 CB2 受体结合亲和性的测试。二甲基环烷基类似物 27-29 具有的 K_i 值(0.34 对于 0.94 nM)可与那些非常有效的 CB1 类似物，如 DHMT(0.77 nM)、1',2'-二甲基庚基(0.46-0.84 nM)类似。相反，1',1'-二硫戊环引入到环烷基类似物与二甲基系列相比降低了受体结合。显著的例外是 23，其中相对于 Δ^8 -THC 观察到与 CB1 和 CB2 受体的结合分别增加了 33 和 47 倍。当比较来自不同种化合物的受体结合数据和从不同的受体制备物得到的受体结合数据时还必须谨慎；但是，在我们的试验中发现的 hCB1 与 rCB1 的亲合力比例是 1.67，而 hCB2 与 mCB2 的比值是 1.57。分析这个比例，我们的化合物仍然可与其它已知的高亲合力 CB 配位体相比。

在 CB1 亲和性中最显著的差异发生在环戊基和戊基化合物 23,24 和 27 中。有趣的是，23 和 27 具有对 CB1 受体的高亲和性，相反，24 具有 11-28 倍降低的 CB1 亲和性。24 提高的 K_i 的物质基础可能反映由于二硫戊环 τ_1 的有限旋转，其因而阻止环戊基最佳化与受体的相互作用。基于对 28 的 NMR 和量子力学计算不能预测围绕 τ_1 和 τ_2 旋转的这种限制，其因而提示 27 可以采取使受体相互作用最大化的几何结构。特别是，虽然关于 τ_2 的构象柔性，环己基的空间体积阻止了围绕 τ_1 的自由旋转。类似物 23 不受与环状类似物有关的空间约束的限制，因而可以采用受体有利的构象。与 24-26 对 CB1 受体的亲和性相反，所述二硫戊环好象没有被 CB2 受体耐受，即，对 24 和 26 亲和性减少 7 和 33 倍。这与对 CB1 亲和性的数据结合，提示在受体亚型之间 LBP 侧链要求对空间体积敏感。

该研究尤其最重要的发现是环烷基侧链结合到 CB1 和 CB2 受体，亲和性可与直链 Δ^8 -THC 类似物（如 DMHT）相比。对环状的侧链类似物最大线性尺寸的分析对于 27 是 3.90 埃，对于 29 是 4.99 埃，相比之下对于 DMHT 是 7.72 埃。这些距离与受体结合数据联合起来暗示，存在一种椭圆疏水袋，其可能表示或可能不表示被线性侧链类似物占据的袋。基于 NMR 和量子力学计算，从芳香环的平面起，在溶液中

C3 侧链相对于三环体系的取向投影 124 度。这些研究的结果提供了对 Δ^8 -THC 类似物溶液构象的了解，其可以反映这些 CB 配体的 LBP 空间约束。在 LBP 中侧 C3 侧链的取向不能结论性地确定，因为配体以不同于溶液或晶体结构的构象结合受体。此外，类似物亲和性不能与配体功效相关联，因为许多高亲和性配体在功能试验中显示出不良的功效(Griffin, G. et al., Br. J. Pharmacol. 132: 525-35(2001), 其全文在此引用参考)。对该化合物系的功能试验将最终允许我们细化 CB 受体的 LBD 的结构要求和这些类似物的特性。

类似物 27-29 具有可与已知的高亲和性 CCB 配体相比的对 CB1 和 CB2 受体的亲和性，而二硫戊环衍生物 24 和 26 具有减少的亲和性。受体结合数据提示对于该系列化合物的侧链结合袋可以表征为疏水的椭圆形。虽然功能效价不需要与结合亲和性有关， K_i 值给出了受体结构的部分的征兆，为改进 CCB 结构生产亲和性更高的类似物上作准备。报告的化合物的功能活性的测定与对 CCBs 的 SAR 研究相结合应提供对开发这类 CB 受体类似物非常宝贵的了解。此外，上述的研究可以帮助阐明是否椭圆袋与线性侧链 CB 类似物占据的袋是相同的袋。

实施例 5-合成含 1'-苯基官能度的 Δ^8 -THC 类似物

经典大麻素类的侧链往往通过使 3, 5-二甲氧基苄腈与合适的格利雅试剂反应，然后将中间体亚胺盐酸水解为酮而制备(Singer et al., J. Med. Chem. 41: 4400(1998), 其全文在此引用参考)。由于与烷基格利雅试剂相比芳族格利雅试剂反应性降低，选择 3, 5-二甲氧基苯甲醛作为原料，使其与苯基溴化镁反应得到相应的醇(37)(Frenette et al., J. Org. Chem. 56: 3083(1991), 其全文在此引用参考)如图 8A-B 所示。醇用 PCC 氧化得到关键中间体酮(38)(Frenette et al., J. Org. Chem. 56: 3083(1991), 其全文在此引用参考)。通过使酮与乙烷二硫醇在三氟化硼存在下反应在 C1' 位引入二硫戊环(40)(Papahatjis et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998), 其全文在此引用参考)。酮中间体还与二甲锌和四氯化

钛反应在 C1'位形成二甲基取代基(39)(Singer et al., J. Med. Chem. 41: 4400(1998),其全文在此引用参考)。中间体(40)用阮内镍脱硫得到亚甲基中间体(41)(Sondheimer et al., Tetrahedron. Lett.,80: 3995(1958),其全文在此引用参考)。1-取代的 3,5-二甲氧基中间体(39-41)用三溴化硼脱保护得到相应的间苯二酚(42-44)(Singer et al., J. Med. Chem. 41: 4400(1998),其全文在此引用参考)。然后由这些间苯二酚(42-44)通过使它们与顺式 Δ^2 -对-薄荷烯-1, 8-二醇 (从(+)- Δ^2 -薹烯制备(Prasad et al., Tetrahedron 32: 1437(1976),其全文在此引用参考))在对甲苯磺酸存在下反应得到 Δ^8 -THC 类似物(33-35)。在 C1'位带有酮官能度的 Δ^8 -THC 类似物通过用硝酸银将类似物(34)脱保护得到 (Reece et al., Tetrahedron,24: 4249(1968),其全文在此引用参考)。

化合物 33: 偕-二甲基-苯基- Δ^8 -THC

$R_f = 0.42$ (二氯甲烷:己烷 50:50), $R_f = 0.6$ (乙酸乙酯:石油醚 10:90), $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.14 ppm (m, 5H), 6.36 ppm (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 5.91 ppm (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.35 ppm (d, $J = 6$ Hz, 1H), 4.44 ppm (s, 1H), 3.1 ppm (m, 1H), 2.61 ppm (m, 1H), 2.05 ppm (m, 1H), 1.75 ppm (m, 3H), 1.62 ppm (s, 3H), 1.54 ppm (m, 6H), 1.31 ppm (s, 3H), 1.04 ppm (s, 3H); MS: (ESI, Neg), m/z 361 ($[\text{M}-1]^-$). HRMS (FAB), m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_2$ 计算值, 362.2246, 实验值 362.2239。

化合物 34: 二硫戊环基-苯基- Δ^8 -THC

$R_f = 0.22$ (二氯甲烷:己烷 50:50), $R_f = 0.58$ (乙酸乙酯:石油醚 20:80), $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.54 ppm (m, 2H), 7.18 ppm (m, 3H), 6.65 ppm (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.39 ppm (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.35 ppm (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.61 ppm (s, 1H), 3.32 ppm (m, 4H), 3.1 ppm (m, 1H), 2.62 ppm (m, 1H), 2.06 ppm (m, 1H), 1.76 ppm (m, 3H), 1.62 ppm (s, 3H), 1.29 ppm (s, 3H), 1.03 ppm (s, 3H); MS: (ESI, Neg), m/z 423 ($[\text{M}-1]^-$). HRMS (FAB), m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{S}_2$ 计算值, 424.1531, 实验值 424.1533。

化合物 35: 亚甲基-苯基- Δ^8 -THC

$R_f = 0.34$ (二氯甲烷:己烷 50:50), $R_f = 0.42$ (乙酸乙酯:石油醚 10:90), $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.22 ppm (m, 3H), 7.13 ppm (m, 2H), 6.22 ppm (m, 1H), 5.98 ppm (m, 1H), 5.35 ppm (d, $J = 6$ Hz, 1H), 4.52 ppm (s, 1H), 3.74 ppm (s, 2H), 3.1 ppm (m, 1H), 2.62 ppm (m, 1H), 2.07 ppm (m, 1H), 1.75 ppm (m, 3H), 1.62 ppm (s, 3H), 1.29 ppm (s, 3H), 1.03 ppm (s, 3H); MS: (ESI, Neg), m/z 333 ($[\text{M}-1]^-$). HRMS (FAB), m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_2$ 计算值, 334.1933, 实验值 334.1928.

化合物 36: 甲酮-苯基- Δ^8 -THC

$R_f = 0.2$ (二氯甲烷:己烷 50:50), $R_f = 0.47$ (乙酸乙酯:石油醚 20:80), $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.82 ppm (m, 2H), 7.58 ppm (m, 1H), 7.48 ppm (m, 2H), 6.92 ppm (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.83 ppm (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.48 ppm (m, 2H), 3.34 ppm (m, 1H), 2.81 ppm (m, 1H), 2.18 ppm (m, 1H), 1.88 ppm (m, 3H), 1.74 ppm (s, 3H), 1.41 ppm (s, 3H), 1.12 ppm (s, 3H); MS: (ESI, Neg), m/z 347 ($[\text{M}-1]^-$). HRMS (FAB), m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_3$ 计算值, 348.1725, 实验值 348.1717.

用转染到 HEK293 EBNA 细胞中的人受体的膜制备物确定这些带有苯基侧链的新的 Δ^8 -THC 类似物的 CB1 和 CB2 结合亲和性。用氟化的 CP55,940 作为竞争放射性配体进行受体结合试验,用 10 μM WIN 55212-2 确定非特异性的结合(Nadipuram et al.,Bioorg. Med. Chem. 11: 3121(2003),其全文在此引用参考)。

这些新的类似物的 CB2 结合亲和性在 0.9-86nM 范围内,而 CB1 结合亲和性范围是 12-297nM(下表 3)。引起兴趣的是,当与先导化合物(32)相比时,这些化合物显示出显著不同的结合特征。二甲基类似物(33)显示对 CB1 和 CB2 受体二者良好的结合亲和性,对 CB2 受体有 13 倍的选择性。该选择性与先导化合物(32)形成对照,该先导化合

物以几乎相等的亲和性结合两个亚型。当与 Δ^8 -THC 相比时, 酮类似物(36)显示对 CB2 受体类似的结合亲和性, 但是对 CB1 受体结合亲和性几乎减少 10 倍。二硫戊环类似物(34)显示出无亚型选择性, 但是相对于 1'-环己基衍生物, 亲和性减少 10 倍(CB1 K_i = 1.86 nM 和 CB2 K_i = 1.05 nM)(Nadipuram et al., Bioorg Med. Chem. 11: 3121(2003), 其全文在此引用参考)。与 Δ^8 -THC 相比, 亚甲基类似物(5)显示对两个亚型显著降低的结合亲和性。

表 3: 化合物 33-36 对 CB1 和 CB2 受体的亲和性(K_i)

化合物	CB1 K_i (nM) ^a	CB2 K_i (nM) ^a	CB1/CB2 比
Δ^8 -THC	28.5 (±3.30)	25.0 (±4.80)	1.14
28	0.57 (±0.05)	0.65 (±0.04)	0.87
33	12.3 (±0.61)	0.91 (±0.08)	13.5
34	17.3 (±0.33)	17.6 (±1.03)	0.98
35	67.6 (±2.90)	85.9 (±0.31)	0.78
36	297 (±10.6)	23.6 (±1.76)	12.6

^a Δ^8 -THC 和类似物的 K_i 值从三个独立实验中获得, 每个试验进行两次, K_i 值被表示为这三个值的平均值, 均值的标准误差列于括号中。

1'-苯基取代的 Δ^8 -THC 类似物的结合亲和性提供一些新的对 CB1 和 CB2 受体的结合袋的官能团要求的了解。从我们的对 CB2 受体显示出适度选择性的二甲基和酮类似物可以发现重要的结构信息。这与我们的上述环己基 Δ^8 -THC 类似物的数据结合(Nadipuram et al., Bioorg. Med. Chem. 11: 3121(2003), 其全文在此引用参考)提示, 当与 CB1 受体相比时, CB2 受体的亚位点结合袋可耐受环烷基侧链和刚性的芳族侧链。当考虑 Huffman 等人报告的 n 个短链 C3 类似物也显示出显著的 CB2 选择性时(Huffinan et al., Bioorg. Med. Chem. 10: 4119(2002), 其全文在此引用参考), 33 和 36 的选择性是有趣的。当考

虑到与我们的 1-羟基类似物相比,短链类似物主要是 1-脱氧和 1-甲氧基化合物时,在两个结构类型之间比较是困难的。尽管,我们的 1-羟基化合物适度的选择性可能暗示在苯基侧链和芳香族氨基酸之间存在有利的相互作用,该氨基酸可能存在于 CB2 受体结合袋中。虽然难以进行任何直接比较,但是已经提出芳族残基存在于 CB1 受体的 LBP(Papahatjis et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)。相反,这些化合物相对于环己基衍生物(Nadipuram et al., Bioorg Med. Chem. 11: 3121(2003),其全文在此引用参考)和直链衍生物(Papahatjis et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)显示的降低的 CB1 结合亲和性可能提示,所述化合物不能采用使配体-受体相互作用最大化的构象。极性 C1'酮基团的存在还可能减少早先被 Papahatjis 和同事提出的 CB1 亲和性(Papahatjis et al., J. Med. Chem. 41: 1195(1998),其全文在此引用参考)。应用取代的 C1'苯基进行的另外的研究应提供了对这类 Δ^8 -THC 类似物的 SAR 的了解。结合这些功能试验研究应有助于更好地理解 CB1 和 CB2 受体的 LBP 的结构要求差异,并且可以帮助研究出更多选择性的化合物。

实施例 6-1'-苯基 Δ^8 -THC 类似物的 NMR 和电子结构分析

所有计算用 GAMESS(Schmidt, M. W. et al., J. Comput. Chem.,14: 1347 (1993),其全文在此引用参考)计算化学包在 Silicon Graphics Origin 2000 上用 8 信息处理机和 4GB 总共内存空间进行。最初的几何结构优化用 PM3 半经验的哈密顿函数进行,随后进行数值的赫赛函数校正各个结构是局部最小值。然后将得到的结构作为势能表面计算的参考点。

选定两个二面角代表围绕 C3-C1'键的扭转和前-侧苯基围绕其与 C1'的键的旋转。我们此后会分别提及这些作为 τ_1 和 τ_2 的两个角。在理论 PM3 水平进行势能表面(PES)计算,关于每一扭转角从 0 到 360 度以十度增量的方式进行。所有其它的几何参数保持固定在从最初的 PM3 几何结构优化中获得的值。优化结构适用作补充信息以 PDB(蛋

白质数据库)文件形式。根据在如下相应 PDB 文件中四原子设值确定两个扭转角:化合物 34(二硫戊环基-苯基- Δ^8 -THC)(τ_1 : 6,1,19,40 τ_2 :40,19,41,49); 化合物 33(偕-二甲基-苯基- Δ^8 -THC)(τ_1 : 2,1,19,20 τ_2 : 20,19,41,42); 化合物 35(亚甲基-苯基- Δ^8 -THC)(τ_1 : 2,1,19,20 τ_2 :20,19,41,42); 化合物 36(甲酮-苯基- Δ^8 -THC)(τ_1 : 2,1,19,39 τ_2 :39,19,40,41)。得到的能量相对于最低能量结构校正,得到的势能表面在图 10-13 中用对数尺度作图以突出特征。较暗的颜色代表低能量区域,较浅的颜色代表较高的能量。

在各个 PES 上确定局部最小值然后用 PM3 哈密顿函数进行几何结构优化。由此设值得到的结构,其经数值赫赛函数计算不能确认为局部极小值,在随后的计算中放弃。

然后在每一确定的局部最小值上用 B3LYP / 6-31G(p,d) (Lee et al.,Physical Review B,37 : 785(1988); Hehre et al., J. Chem. Phys. 56: 2257(1972); Hariharan et al.,Theoret. Chimica Acta, 28: 213(1973),其全文在此引用参考)进行密度泛函理论计算。用在孟菲斯大学改进的 MOLDEN 版本(Schaftenaar et al., J. Comput. Aided Mol. Design,14: 123(2000),其全文在此引用参考)由 DFT 结果生成分子轨道表面。

所有谱在 23 摄氏度和 500MHz 在 Varian Inova-500 光谱仪上用 5-mm HCN 三共振探头获得。质子和碳化学位移参考 CDCl_3 的剩余溶剂峰(对于质子是 7.24 ppm,对于碳是 77 ppm)。对于二维 NOESY 度量,对间接面积记录总共 1024 个点(fid),采用 2 秒循环延迟,500 ms 混合时间。在 Sybyl("SYBYL,version 6.8",St. Louis,MO: Tripos,Inc. 2001,其全文在此引用参考)软件内的 TRIAD NMR 包用于数据处理和分析。。在 NOESY 谱中的峰用 TRIAD 标准函数赋值和积分。然后用这些峰积分用 MARDIGRAS 生成距离约束。然后检查得到的约束保证距离误差符合 NOE 约束的建立误差,其中, $x < 2.5$ 埃是 ± 0.1 埃; $x \leq 3.0$ 埃是 ± 0.2 埃; $x \leq 3.5$ 埃是 ± 0.3 埃; 和 $x \geq 3.5$ 是 ± 0.4 埃。

对实施例 5 每一苯基化合物用 MARDIGRAS 生成的约束进行模拟调整十个循环(例如化合物 33、34、35 和 36),加热到 1000K 达 1ps,

然后指数 (exponential) 冷却到 200K, 然后平衡 5ps。在模拟调整运行的所有步骤期间使用实验上得到的 NOE 距离约束。这些独特旋转异构体的平均构象然后被最小化, 采用 0.005 千卡/摩尔/埃的梯度容许限度, 不使用实验的 NOE 距离约束, 得到最终的平均构象。附加包括带有 MMFF94 电荷的 Tripos 力场、8 埃非键合截留值和距离依赖的介电常数函数。

每一苯基衍生物显示出大的构象柔性, 得到大量的局部最小值。表 4(下文)显示确定的整套最小值和相关的结构的 DFT 能量 (表示为千卡/摩尔) 以及每个局部最小值的 HOMO-LUMO 能量间距。对跨越 HOMO-4 至 LUMO+4 的所述最低能量构象的轨道能量如下表 5 所示。如表 6 所示比较最低能量最小限度和 NMR 导出的结果清楚地证明, 真正了解这些分子最可能的构象需要更多成熟的方法。

表 4: 每一大麻素衍生物的局部最小值。各个最小值用两个扭转角 τ_1 和 τ_2 鉴别, 其分别描述围绕 C3-C1' 和 C1'-C2' 键的旋转。

结构	τ_1	τ_2	B3LYP/6-31G(<i>p,d</i>) 能量 (kcal/mol)	$\epsilon_{\text{LUMO}}-\epsilon_{\text{HOMO}}$ (eV)
34				
A	12.5	70.2	0.3902967256	5.0858
B	195.3	54.4	0.7096905541	5.1648
C	289.2	350.4	0.0000000000	5.2083
D	14.4	244.0	0.5320270930	5.0913
E	195.3	232.5	0.7028935561	5.1648
F	192.5	251.0	0.3318524708	5.0967
G	287.8	173.6	0.1063617186	5.1974
33				
A	34.3	37.7	0.0160585407	5.4668
B	149.5	30.5	1.0874224001	5.4777
C	211.1	37.7	0.4214233453	5.5648
D	264.7	25.0	0.4654370082	5.5621
E	329.2	32.4	0.9355206637	5.4750
F	155.6	96.2	0.5361974605	5.6981
G	322.9	147.4	0.4822259701	5.6872
H	35.1	216.4	0.0000000000	5.4668
I	149.4	208.5	1.0769039554	5.4777
J	209.3	216.9	0.4025041130	5.5648
K	265.6	203.5	0.5046305800	5.5621
L	329.1	210.3	0.9404394620	5.4750
M	155.5	278.8	0.5385671885	5.6981
35				
A	145.0	30.0	0.0331391691	5.5212
B	167.3	10.4	1.6556365400	5.5348
C	124.7	50.7	1.5434561111	5.4913
D	330.4	35.0	0.0243141223	5.5185
E	349.3	12.7	1.5045033147	5.4913
F	307.4	52.0	1.5525256358	5.5267
G	309.0	53.1	1.5753843118	5.5348
H	144.6	207.9	0.0000000000	5.5240
I	166.8	191.1	1.6320682132	5.5403
J	328.7	214.7	0.0015689628	5.5185
K	349.1	193.3	1.4826145808	5.4940
36				
A	89.1	31.9	2.8299991679	4.4763
B	116.2	59.9	5.3225938465	4.6396
C	116.6	60.4	5.3436055102	4.6423
D	235.3	37.9	0.1206474815	4.4491
E	294.1	61.7	6.0290937016	4.6532
F	123.1	141.3	0.1218209248	4.4600
G	243.6	118.5	5.4655987491	4.6396
H	243.9	118.8	5.4489920159	4.6396

结构	τ_1	τ_2	B3LYP/6-31G(<i>p,d</i>) 能量 (kcal/mol)	$\epsilon_{\text{LUMO}}-\epsilon_{\text{HOMO}}$ (eV)
I	271.1	146.2	2.9099431006	4.4763
J	88.9	213.0	2.8060891620	4.4818
K	116.4	241.3	5.3419550338	4.6423
L	116.5	241.4	5.3433432737	4.6423
M	233.7	220.4	0.0000000000	4.4545
N	119.2	323.4	0.4835226564	4.4654
O	235.5	219.0	0.1521244398	4.4491
P	243.7	299.6	5.4644005819	4.6396
Q	245.0	301.3	5.4301953365	4.6369
R	271.3	327.1	2.9188175952	4.4736

表 5:所述最低能量局部最小值用 eV 表示的轨道能量。包括用于对比的偕-二甲基-环己基- Δ^8 -THC 和二硫戊环-环己基- Δ^8 -THC 结果。

轨道	轨道能量(eV)					
	4 (C)	2	3 (H)	1	5 (H)	6 (M)
LUMO + 4	0.9769	1.5837	1.3062	2.0899	1.2871	1.1647
LUMO + 3	0.7211	1.2844	0.9061	1.9565	0.8463	0.5932
LUMO + 2	0.2068	0.9388	0.6395	1.2817	0.8163	0.0626
LUMO + 1	0.0871	0.3918	0.2422	0.8027	0.3075	0.0354
LUMO	-0.1333	0.0952	0.1823	0.5633	0.1605	-1.1456
HOMO	-5.3416	-5.3552	-5.2845	-5.3199	-5.3634	-5.6001
HOMO-1	-5.5811	-5.5621	-5.5947	-5.6301	-5.6083	-5.8641
HOMO-2	-5.7553	-5.7553	-5.7362	-5.7580	-5.7553	-5.9893
HOMO-3	-5.8832	-6.0274	-6.3621	-7.2764	-6.2723	-6.4192
HOMO-4	-6.1934	-6.0845	-6.5798	-7.3090	-6.4736	-6.7920

表 6: 对比理论的和 NMR 观察的结构的结构参数。

化合物	PM3		NMR	
	τ_1	τ_2	τ_1	τ_2
34	289.2	350.4	325.1	340.1
33	35.1	216.4	312.3	262.4
35	144.6	207.9	229.5	161.8
36	233.7	220.4	277.4	277.1

考虑到对于各个衍生物的可能的局部最小值数，我们首先确定是否整个势能表面易受这些分子的影响。为了解释这一第一近似值中的

问题,我们为每个分子图示旋转能障,通过采用在势能表面上最低能量结构然后旋围绕 τ_1 旋转分子前侧面(图 9)。化合物 34(二硫戊环衍生物)和化合物 36(甲酮衍生物)具有显著的旋转能障,而化合物 33(偕-二甲基衍生物)和化合物 35(亚甲基衍生物)各具有小于 3 千卡/摩尔的旋转能障。这提示化合物 33 和化合物 35 可以接近整个势能表面,而化合物 34 和化合物 36 将被限制在的势能表面上特定的阱。

势能表面的一个有趣的特征从图 10-13 的检查中显露出来。除了对化合物 34 和化合物 36 的旋转大的障碍以外,对于化合物 36 只有非常少的与围绕 τ 旋转有关的能量,对于化合物 34 仅仅稍微更多。这暗示在势能表面上特定的阱中,这两种分子具有大的构象自由度。在化合物 36 的情况下,通过认为在羰基和环 A 之间的 π 共轭对此进行解释。共轭的强度产生对旋转的大障碍,因为必要的轨道重叠被打破,让分子的前侧自由围绕 C3-C1' 键旋转直到重叠再次建立。在化合物 34 的情况下,没有共轭用来解释该相互作用。事实上,二硫戊环衍生物合成背后的基本原理是提供足够阻碍前侧部分旋转的空间体积。在位阱内旋转自由度可用硫原子对大麻素电子结构的影响来解释。如果我们查看二硫戊环衍生物的 HOMO(图 14),我们就知道与这些轨道有关的电子密度集中在大麻素骨架的环 A 上。但是,该分子的 LUMO(图 15)移动了电子密度,包括取代的苯环和二硫戊环键中的硫原子。硫原子作用就象一种在苯环之间的“电子桥”,其允许在位阱内更大得多的振动。

虽然这得到了一些对这些分子构象自由度的了解,但是它仍然未提供令人满意 NMR 实验的解释。为了进行正确的解释,我们需要考虑每个分子所有可获得的构象。在对每个局部最小值计算赫赛函数中,确定总吉布斯自由能在 298.15 K。用这些能量,我们可以对可能结构应用麦克斯韦-玻兹曼平均值得到这些分子中的每一种的“平均结构”。我们已经以四种方式使用了这种麦克斯韦-玻兹曼分析,结果如下表所示。第一栏表示麦克斯韦-玻兹曼平均值,其假设在势能表面上完全构象自由度。对于该分析,考虑在势能表面上最低能量构象 0.59 千卡/

摩尔内的所有结构。第二栏表示可以从围绕 τ_2 自由旋转同时限制 τ_1 为势能阱极限获得的所有结构，其中确定最低能量结构。类似地，第三栏表示围绕 τ_1 自由度同时以相同方式限制 τ_2 。最后一栏表示在特定的势能阱内确定的所有局部最小值的平均值，其假定分子不能在势能表面上测定任何其它阱。

表 7: 平均侧链几何结构的结构参数。

化合物	能量		τ_1 限制的		τ_2 限制的		充分限制的	
	τ_1	τ_2	τ_1	τ_2	τ_1	τ_2	τ_1	τ_2
34	352.8	328.1	153.6	210.7	167.5	160.7	153.7	213.3
33	354.0	320.1	252.2	123.4	216.9	210.9	258.4	198.5
35	194.3	164.9	149.4	100.1	245.8	202.7	154.7	200.3
36	3.8	181.3	250.8	185.2	187.3	263.5	245.7	266.7

研究表 6 和表 7 提供了解释 NMR 数据的方法。如果我们考虑化合物 33 和化合物 35，其在理论上被预测在势能表面上具有完全构象自由度，我们知道实际上通过仅选取低能结构预测的平均结构与实验结构非常符合。这是对基于如表 6 所示简单选取最低能量结构的预测的刻板对比。类似地，如果我们研究在单个位阱内从化合物 36 的麦克斯韦-玻兹曼平均数获得的结果，我们看到很好的与试验结果的一致性。唯一的差异出现在化合物 34 的处理上。在这种情况下将分析限制到单个位阱预测 τ_1 角是 153.7 度，而 NMR 实验观察到的角是 325.1 度。因为二硫戊环环闭合是两步骤方法，可以设想由于在计算中预测的高旋转能障，来自每一可用势能阱的产物将形成并保留构象上受限制。硫原子的影响提供了在单个阱中很大的旋转自由度，并产生构象异构体分布，其在 NMR 实验中与在假定完全构象自由度的情况中似乎相同。因而，如果我们仅选取最低能量结构，就象化合物 33 和化合物 35，我们得到了与 NMR 实验非常好的一致性。用麦克斯韦-玻兹曼划分函数对整个势能表面积分可提供对由实验对 τ_1 和 τ_2 预测值偏差的

更多了解，但是这将需要在每一点计算赫赛函数和热力学能量。

这些大麻素衍生物的一个最令人感兴趣的特征是它们的电子结构。我们注意到将苯环加到侧链引入了若干新的轨道，其能量在环己基衍生物的初始 HOMO 和 LUMO 能量之间（见图 7）。比较化合物 34 与偕-二甲基-环己基- Δ^8 -THC 和化合物 33 与二硫戊环基-环己基- Δ^8 -THC，我们发现前沿轨道的轨道能已经被“压缩”，提供更小的 HOMO-LUMO 间隔并在相同能量区内添加了额外的态。我们发现在化合物 35 和化合物 36 中有类似的轨道结构，并注意到在化合物 36 中额外的 π 共轭将 LUMO 能量降低到使其成为结合轨道的点。当考虑 DFT 过高估计空轨道能量的倾向时，该结果甚至更有趣。

图 14-21 显示对于各个大麻素的最低能量结构在理论 B3LYP / 6-31 G(p,d)水平的 HOMO 和 LUMO 轨道图。对于在本研究中的每一苯基衍生物，我们发现 LUMO 提供了非经典的 π 体系，在环 A 和前侧苯环上的电子密度之间直接重叠。就其中所述 LUMO 能量是束缚的化合物 34 和化合物 36 而言，这提供了在两个环状结构之间电子转移的机理。考虑到化合物 33 和化合物 35 中 LUMO 的低能量(分别 <0.2 eV)，对于这些分子也可能适用相同的机理。这样的 π 体系的存在提示可能有一种通过不存在典型的 n 到 π 跃迁的电子转移的分子荧光的机理。计划并将另外报道关于这些新化合物的荧光的进一步研究。

结论

我们认为在 NMR 实验中观察到的结构代表了在溶液中的时间-平均结构。由于在 PES 上的阱的浅表特性，有理由认为围绕 τ_1 和 τ_2 的“摇摆”模式是得到所述实验观测值的原因。这是一个重要的观察，因为就我们最了解的，这代表了在这类化合物中观察到的 NMR 结构的第一个理论合理化。另外，我们已经表明，主要集中在 PES 最低能量结构的传统方法不足以正确地解释 NMR 实验观测值。

我们认为，对新的苯基取代的经典大麻素的电子结构的这种新认识具有超过这类大麻素的意义。当考虑到在结构不同的吡唑和烷基氨

基吲哚大麻素配体和研究人員从所有配体共用位点描绘唯一 LBP 亚位点相互作用的努力时,这一点是最明显的。对 LBP 与配体的相互作用也出现了一致同意,其可能是部分由于研究所有类型大麻素配体的电子特性的有限研究。我们认为我们的方法事实上可鉴定为还未确定的相似性,其通过分子力学方法不容易评价。电子效应在这些新的大麻素类中清楚地起作用,认识到这些将可能在配体设计和配体合成方法中带来新的路线。但是迄今一直没有尝试基于这些计算的 QSAR 模型。我们认为 E-QSAR(电子定量构效关系)模型的未来发展将在将来认识这些及其他药物作用中起重要作用。

实施例 7-合成取代的 1'-苯基 Δ^8 -THC 类似物和 1'-噻吩-2-基 Δ^8 -THC 类似物

基本上按实施例 5 中所述的合成化合物,除了用取代的-苯基溴化镁或噻吩基溴化镁得到相应醇以外。醇用 PCC 氧化得到关键中间体酮(Frenette et al., J. Org. Chem. 56: 3083(1991),其全文在此引用参考)。使酮中间体与二甲锌和四氯化钛反应在 C1'位形成二甲基取代基(Singer et al., J. Med. Chem. 41: 4400(1998),其全文在此引用参考)。然后在对甲苯磺酸存在下从相应的间苯二酚通过使它们与顺式 Δ^2 -对-薄荷烯-1, 8-二醇反应得到含对甲-基苯基(化合物 50), 间-甲基苯基(化合物 51), 对-氟苯基(化合物 52), 对-氯苯基(化合物 53), 间-氯苯基(化合物 54)和噻吩基(化合物 55)的 1'-取代的偕-二甲基 Δ^8 -THC 类似物(Prasad et al., Tetrahedron 32: 1437(1976),其全文在此引用参考)。

化合物 50: 偕-二甲基-对-甲基苯基 Δ^8 -THC 或 6,6,9-三甲基-3-(1-甲基-1-对-甲苯基-乙基)-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量: 0.5449 克(55.6 %)白色泡沫。R_f = 0.33(二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.11 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.59 (m, 6H), 1.69 (s, 3H), 1.81 (m, 3H), 2.14 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.67 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 4.53 (s, 1H), 5.42 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 2 Hz,

1H), 6.43 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.143 (d, $J = 8$ Hz, 2H); MS: (ESI, Neg) m/z 375.4 [(M-1)⁻].

化合物 51: 偕-二甲基-间-甲基苯基 Δ^8 -THC 或 6,6,9-三甲基-3-(1-甲基-

1-间-甲基苯基-乙基)-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量: 0.139 克(28.8 %)黄色的油。 $R_f = 0.34$ (二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.12 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.59 (m, 6H), 1.69 (s, 3H), 1.82 (m, 3H), 2.14 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 4.52 (s, 1H), 5.42 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 5.97 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.43 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.05 (m, 2H), 7.15 (m, 1H); MS: (ESI, Neg) m/z 375.5 [(M-1)⁻].

化合物 52: 偕-二甲基-对-氯苯基- Δ^8 -THC 或 3-[1-(4-氯-苯基)-1-甲基-乙基]-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量: 0.6334 克(50.4 %)白色泡沫。 $R_f = 0.41$ (二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.04 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.51 (m, 6H), 1.62 (s, 3H), 1.75 (m, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 4.49 (s, 1H), 5.35 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 9$ Hz, 2H); MS: (ESI, Neg) m/z 395.9 [(M-1)⁻].

化合物 53: 偕-二甲基-间-氯苯基- Δ^8 -THC 或 3-[1-(3-氯-苯基)-1-甲基

乙基]-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量: 0.6597 克(50.6 %)白色固体。 $R_f = 0.37$ (二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.04 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.51 (m, 6H), 1.62 (s, 3H), 1.75 (m, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 4.51 (s, 1H), 5.35 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 6.31

(d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.07 (m, 3H), 7.17 (m, 1H); MS: (ESI, Neg) m/z 395.9 [(M-1)].

化合物 54: 偕-二甲基-对-氟苯基- Δ^8 -THC 或 3-[1-(4-氟-苯基)-1-甲基-乙基]-6,6,9-三甲基-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量:0.5919 克(45.5 %)浅粉色泡沫。R_f = 0.37(二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.04 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.51 (m, 6H), 1.62 (s, 3H), 1.75 (m, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 4.49 (s, 1H), 5.35 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 5.90 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.86 (m, 2H), 7.12 (m, 2H); MS: (ESI, Neg) m/z 379.5 [(M-1)].

化合物 55: 偕-二甲基-噻吩基 Δ^8 -THC 或 6,6,9-三甲基-3-(1-甲基-1-噻吩-2-基-乙基)-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]苯并吡喃-1-醇

产量:0.1176 克(21.9 %)白色泡沫。R_f = 0.37(二氯甲烷-己烷, 1:1)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.04 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.63 (m, 9H), 1.74 (m, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 3.10 (m, 1H), 4.50 (s, 1H), 5.35 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.04 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.76 (dd, $J = 1.5$ Hz, 3.5 Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 7.07 (dd, $J = 1$ Hz, 5 Hz, 1H); MS: (ESI, Neg) m/z 367.4 [(M-1)].

实施例 8-受体结合试验

如在材料和方法(用于实施例 1-4)和在实施例 2 中所述对化合物 50-55 进行了受体结合试验, 确定它们在 CB-1 和 CB-2 受体上的结合亲和性(见下表 8)。

与 rCBI 的 47.6 nM 和 mCB2 的 39.3 的报道值相比(亲和性比例 CB1/CB2=1.21), Δ^8 -THC 在 hCBI 和 hCB2 受体上的 K_i 值分别是 28.5 nM 和 25.0 nM(亲和性比例 CB 1 / CB2 =1.14)(Busch-Ptersen, J. et al., J. Med. Chem. 39: 3790(1996),其全文在此引用参考)。相对于 Δ^8 -THC,

所有化合物显示出对 CB-1 和 CB-2 受体二者增强的亲和性,除了偕-二甲基-对-氟苯基- Δ^8 -THC 类似物以外(其确实显示出对 CB-2 受体增强的亲和性)。另外,这些类似物相对于 Δ^8 -THC 显示出直到 93 倍增强的对受体亚型的结合亲和性。特别注意到偕-二甲基-对-甲基苯基和偕-二甲基-2-噻吩类似物具有对 CB-2 受体的亚纳摩尔亲和性,对 CB-2 受体有一定程度的选择性。这两个化合物相对于偕-二甲基-苯基- Δ^8 -THC 类似物显示出提高的对 CB-1 和 CB-2 受体的亲和性。还注意到偕-二甲基-对-氯苯基类似物显示出对 CB-2 受体提高的选择性。

表 8: Δ^8 -THC 和取代的苯基类似物 50-55 对 CB1 和 CB2 受体的结合亲和性

化合物	CB ₁ K _i (nM) ^a	CB ₂ K _i (nM) ^a	CB ₁ /CB ₂ 比
⁸ Δ -THC	28.5(±3.3)	25.0(±4.8)	1.14
50	2.13 (±0.37)	0.88 (0.05)	3.56
51	2.53 (±0.54)	1.13 (±0.02)	2.24
52	76.1 (±15.5)	12.4 (±0.24)	6.14
53	18.8 (±1.39)	1.68 (±0.2)	11.2
54	2.80 (±0.05)	3.54 (±0.71)	0.79
55	1.08 (±0.04)	0.27 (±0.01)	4.00
33	12.3 (±0.61)	0.91 (±0.08)	13.5

^a 对于 ⁸ Δ -THC 和所述类似物的 K_i 从 n≥2 的独立实验以一式三份进行得到,在括号中显示平均值的标准误差。

实施例 9-使用偕-二甲基-环己基 Δ^8 -THC 类似物治疗失血性休克

被 Wagner 等人改进的大鼠失血性休克模型 (Nature 390: 518-521(1997),其全文在此引用参考)用来测试显示出选择性收缩血管活性的药物组合。雄性 Sprague-Dawley 大鼠,300-350 克,4 月龄,首先用异氟醚 (isoflo) 使麻醉,然后注射尿烷(0.7 克/公斤 i. p.,随后 0.3 g / kg i. v.)麻醉。通过对流传热将体温维持在约 37 摄氏度。通过将

后肢绑在固定板上将动物限制为仰卧姿势。在左肢腹股沟区域剃毛，切口暴露股骨的神经血管束。用 P50 管对左侧股静脉进行和动脉插管，用 4-0 丝线绑紧入位。在前侧颈区域进行中线切口，横向对切下层组织暴露颈动脉。将 1.4F(0.56 毫米)Millar 导管压力传感器插入动脉监视血压和心率。用 4-0 丝线绑紧入位。左侧股静脉用于药物注射，左侧股动脉用于放血和取样。动物按照外科的方法进行分步放血直至平均血压稳定在 40 mm Hg。在休克诱导之后 5 分钟或恰好在休克诱导之前，基于在活体显微镜检查术研究中确定的毫克/公斤给药施用最初的药物注射。这些研究的终点是动物死亡或当动物严重痛苦时进行安乐死。记录存活时间、血压和心率，与只接受赋形剂的对照动物比较。每次研究使用最少 6 只动物，由此确定平均生存时间。成功的药物组合被定义为相对于接受赋形剂或单一药物的对照，动物存活时间至少加倍的那些。监控成功应答最长四小时。

用偕-二甲基-环己基 Δ^8 -THC 的实验用 12 毫克/公斤偕-二甲基-环己基 Δ^8 -THC 或 Δ^8 -THC 和 2 毫克/公斤 NS-398(COX-2 抑制剂)进行。这些实验的结果如图 22 所示。未处理动物的比较如图 23 所示。进行失血性休克和用二元治疗（即，大麻素受体 1 激动剂/COX-2 抑制剂）的动物相对于对照动物显示出存活时间明显增加。但是，用高亲和性 CB1 配体偕-二甲基-环己基 Δ^8 -THC 处理的动物显示出 Δ MAP 的迅速增加，其达到基础 MAP 水平的 85% 内，随后 Δ MAP 下降，其平行于对 Δ^8 -THC 的应答。整个分布图提示，新的大麻素类似物在失血性休克二元治疗中提供了更大的功效。

实施例 10-体外测定偕-二甲基-苯基 Δ^8 -THC 类似物对 C6 神经胶质瘤细胞的 IC_{50}

为了测定偕-二甲基-苯基 Δ^8 -THC 类似物关于细胞毒性的 IC_{50} ，进行剂量逐步上升研究，测定化合物对 C6 神经胶质瘤的细胞性作用。在 100 μ l 总体积补充的 Hams / F12 培养基中以 70% 的汇合将 C6 神经胶质瘤细胞一式三份加到 96-孔平底板，在 37 摄氏度培养过夜以允许

贴壁。培养物然后用从 0.1 至 9 μ M 逐步升高的浓度的化合物处理。在合适的补加培养基中进行所有的药物刺激,所述的补加培养基用 0.5% DMSO 配制,但是血清被限制在 1%以防止药物被血清成分结合。加入药物后,在 48 小时用 CellTiter 96R 非放射性细胞增殖试验 (G5421,Promega,Madison,WI)分析细胞死亡。用 Lab 体系 Multiskan Biochromatic Elisa 平板读数仪 (Vienna, Virginia) 通过在 492 nm 比较来自 MTS 反应吸光度数值,计算各个时点培养物中存在的活细胞的百分比。所有描述值代表三个数据点的平均值,这些试验的结果如图 24 所示。

多形性成胶质细胞瘤(GBM)是所有主要的脑肿瘤中最常见和恶性的,具有高程度的神经胶质瘤的大多数患者的中间存活率数月。虽然或许抗肿瘤剂具有优良的体外活性,但是对 CNS 给药的困难限制了它们的使用。观察到的偕-二甲基-苯基 Δ^8 -THC 的 IC₅₀, 在 8 μ M 浓度 5 小时内出现细胞完全死亡的事实,以及大麻素非常确实的 CNS 渗透性支持了新的大麻素作为抗神经胶质瘤剂的用途。

虽然在此已经表明和详细描述了优选的实施方案,对于相关技术领域的技术人员而言,不背离本发明精神可做出各种改进、添加、代替等是显而易见的,因此认为这些也包括在随后权利要求定义的本发明的保护范围内。

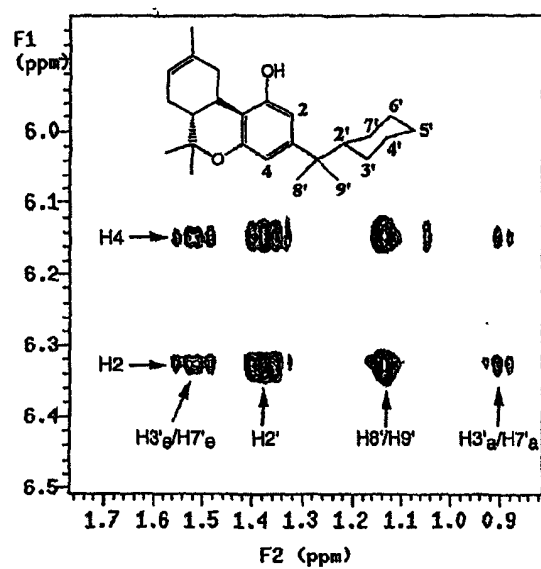


图 1

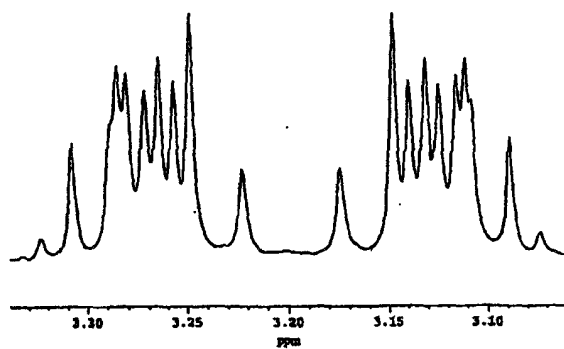


图 2

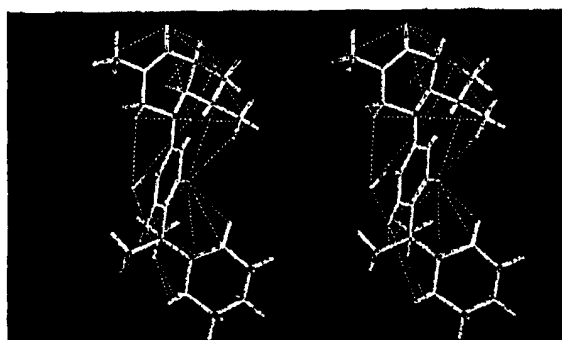


图 3

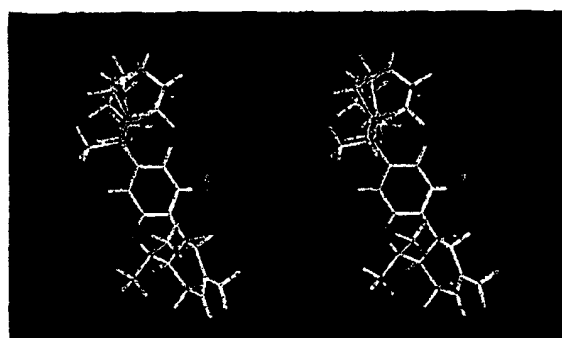


图 4

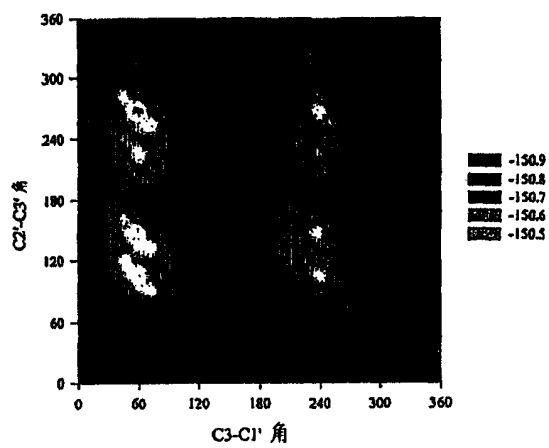


图 5

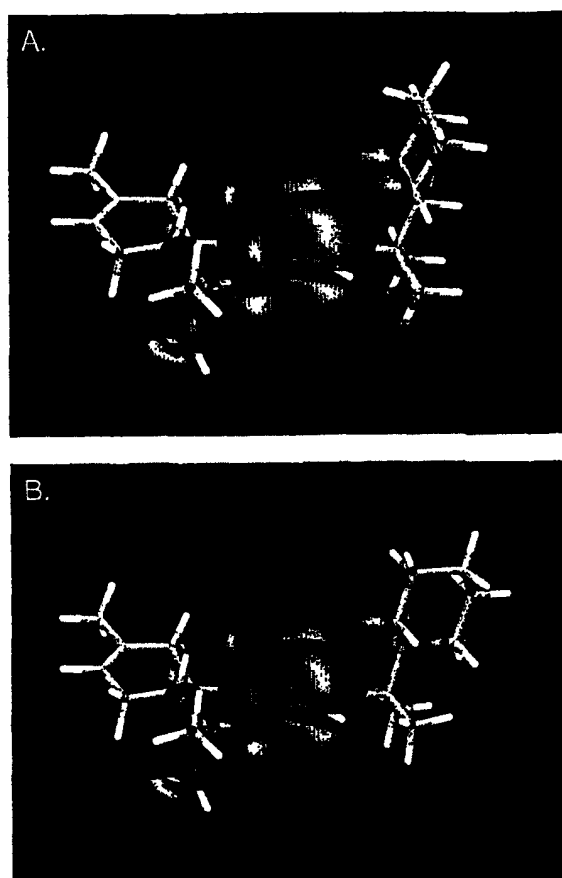


图 6A-B

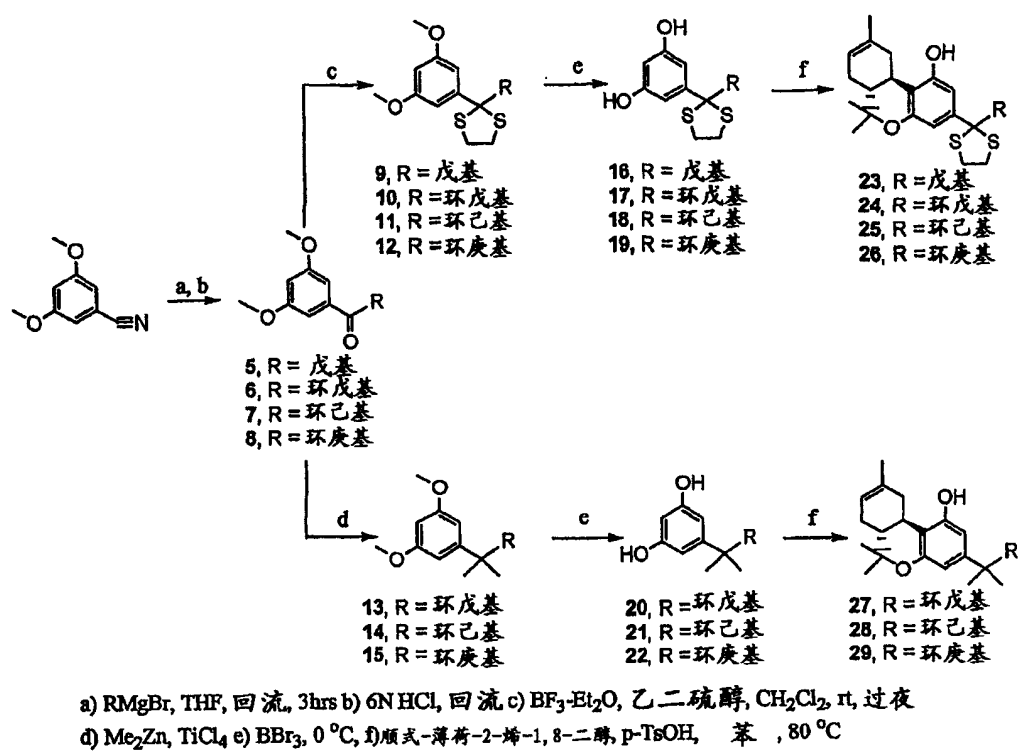
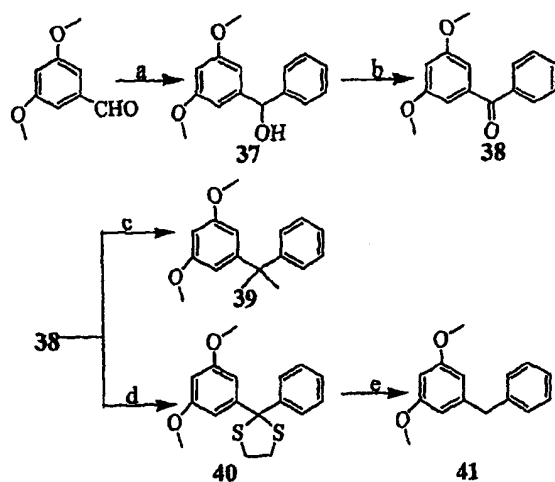


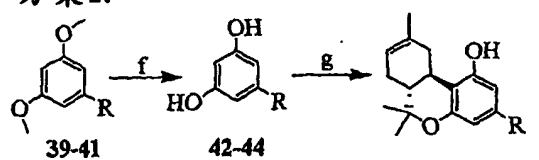
图7



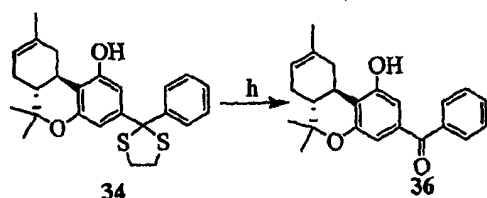
试剂和条件: (a) 苯基溴化镁, THF, 10% HCl/ -20°C (b) PCC, CH₂Cl₂/ 室温 (c) 二甲基锌, 氯化钛 (IV), CH₂Cl₂/ -40°C (d) 乙二硫醇, BF₃-乙基醚合物, CH₂Cl₂/ 室温 (e) 阮内镍, EtOH/EtOAc, 回流

图 8A

方案 2.



R = 二甲基苯基, 33
二硫戊环苯基, 34
亚甲基苯基, 35



试剂和条件: (f) BBr₃, CH₂Cl₂/ 0°C - 室温 (g) 顺式-p-薄荷烯-1,8-二醇, 对甲苯磺酸, 苯/80°C (h) AgNO₃, MeOH/ 室温

图 8B

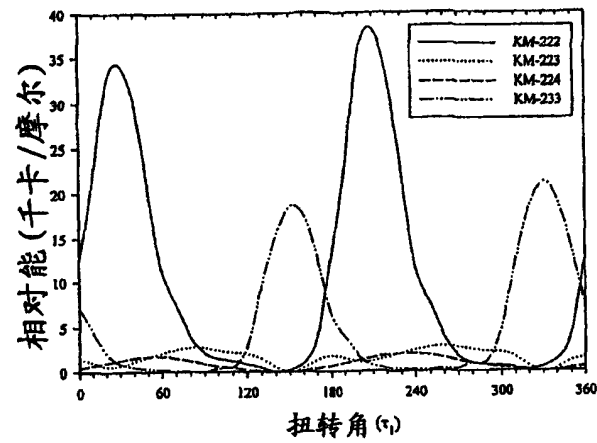


图9

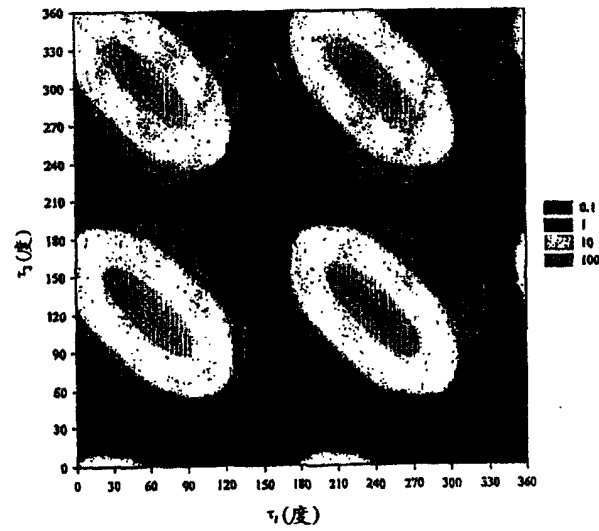


图10

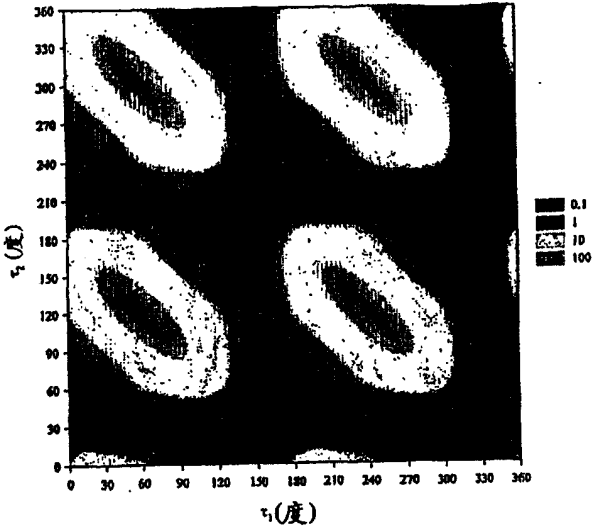


图 11

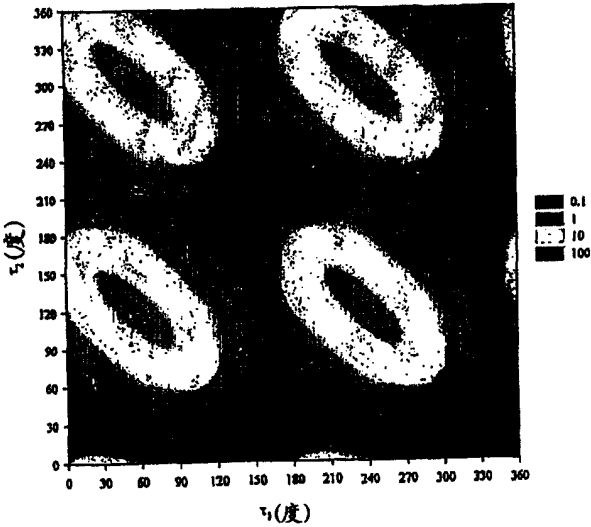


图 12

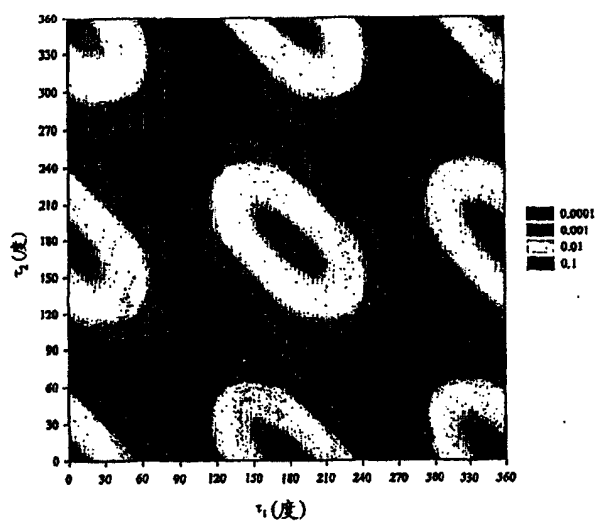


图13

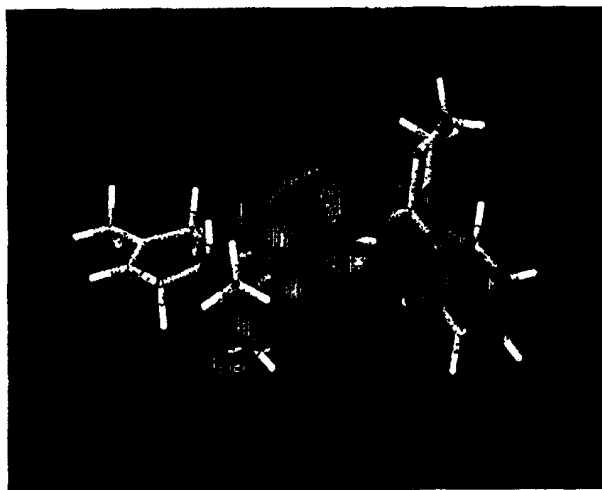


图14

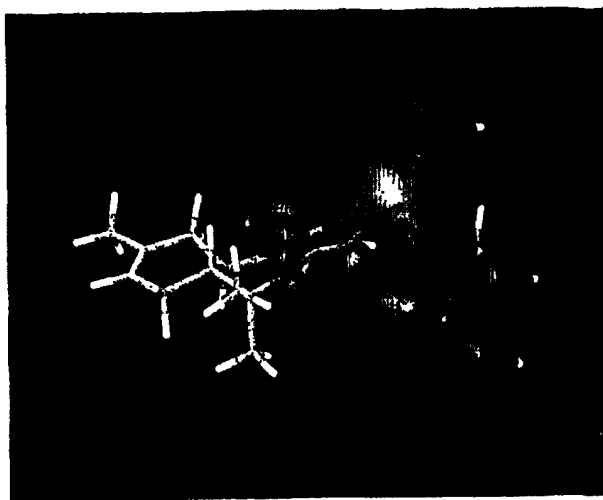


图15

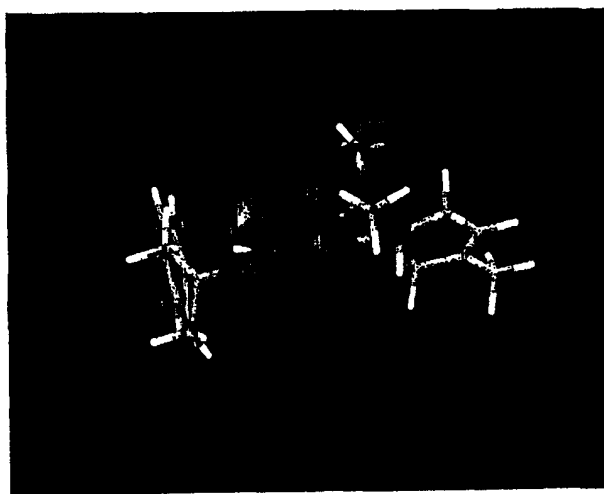


图16

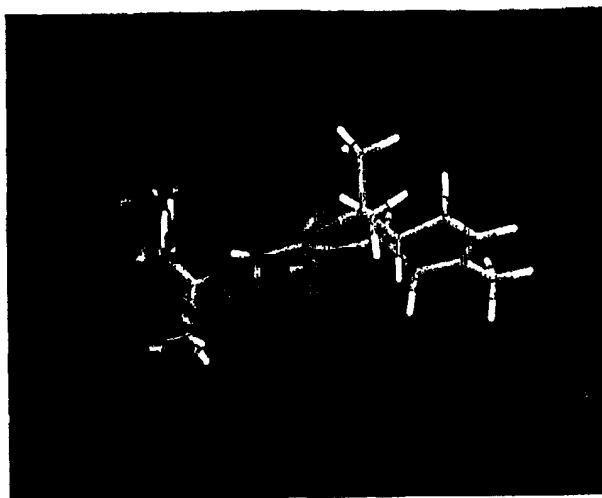


图 17

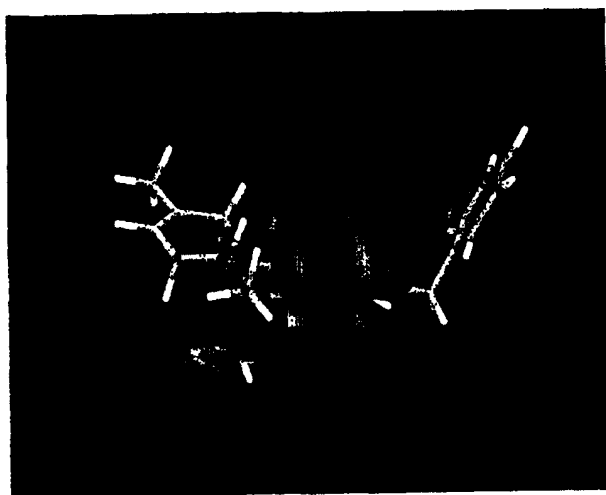


图 18

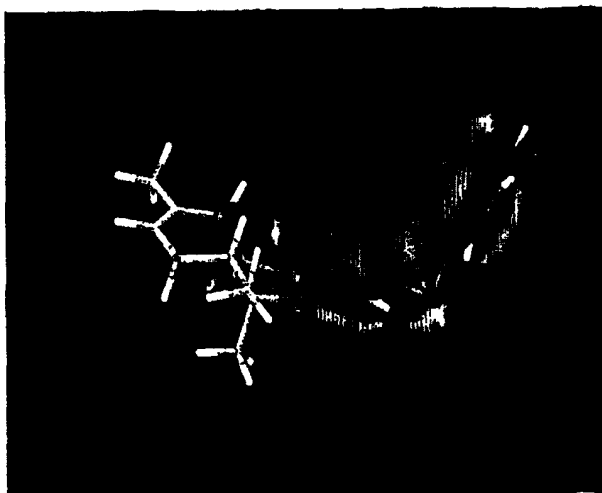


图 19

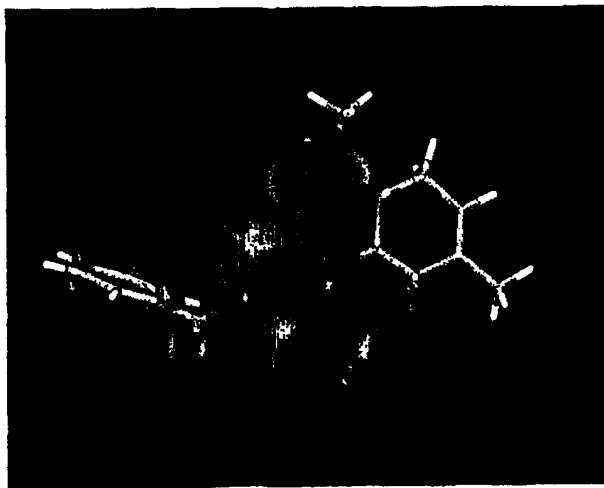


图 20

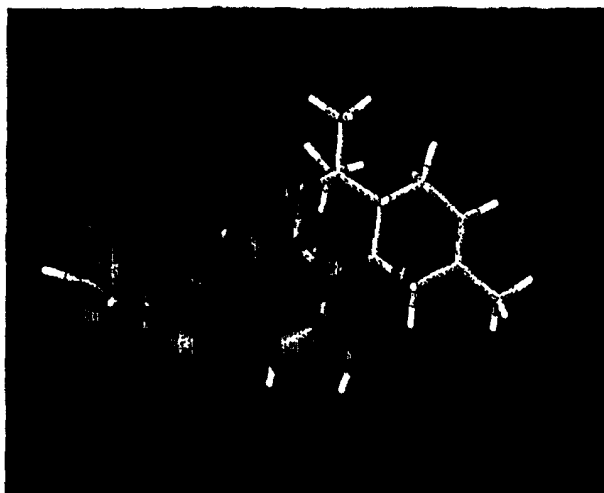


图 21

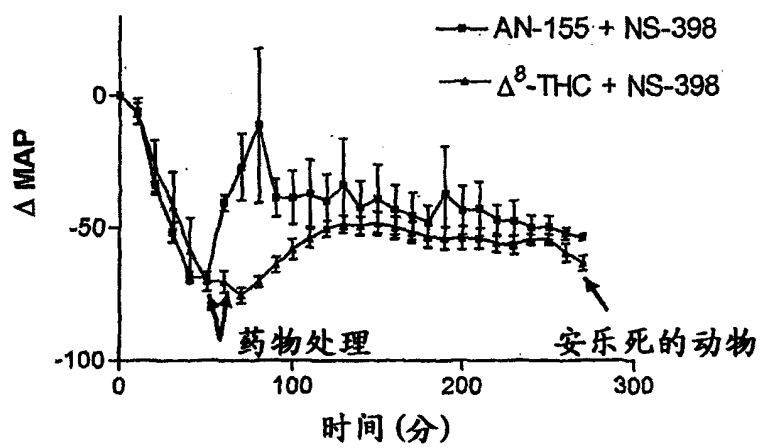


图 22

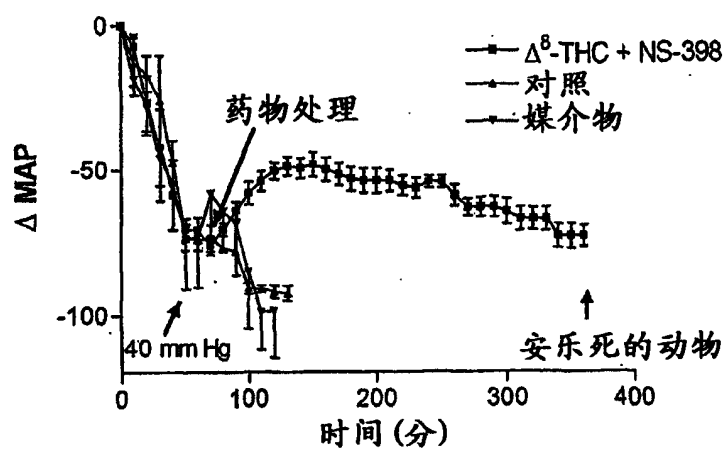


图 23

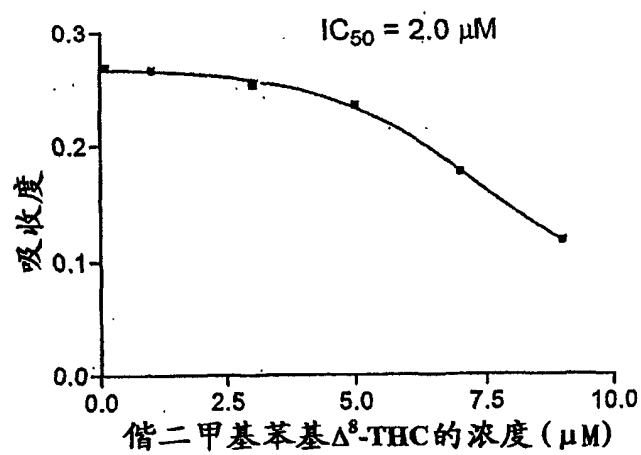


图 24