

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

C07D267/02

C07D281/02 C07D285/15

C07D279/06 C07D273/04

C07D265/06 C07D257/08

C07D251/04 C07D239/04

C07D211/14 C07D291/04

C07D285/04 C07D273/01

[11]公开号 CN 1234795A

## [12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 97198198.1

[43]公开日 1999年11月10日

[22]申请日 97.8.20 [21]申请号 97198198.1

[30]优先权

[32]96.9.25 [33]US[31]08/719,947

[86]国际申请 PCT/US97/14624 97.8.20

[87]国际公布 WO98/13355 英 98.4.2

[85]进入国家阶段日期 99.3.24

[71]申请人 吉尔福德医药公司

地址 美国马里兰州

[72]发明人 李佳河

格雷戈里·S·汉密尔顿

[74]专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司

代理人 丁业平 王达佐

权利要求书 7 页 说明书 20 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 杂环酯类及酰胺类化合物

[57]摘要

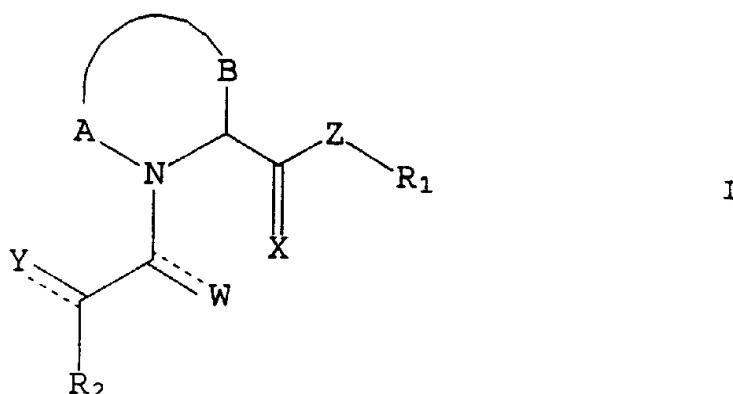
本发明涉及对 FKBP 型亲免疫素具有亲和性的神经营养性低分子量、小分子杂环酯类和酰胺类化合物，以及该化合物作为与亲免疫素蛋白质、特别是肽基脯氨酸异构酶或旋转异构酶的酶活性有关的酶活性抑制剂的用途。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

# 权 利 要 求 书

1. 式 I 所示的化合物或其可药用盐:

5



10

其中:

A 和 B 与它们各自所连接的氮原子和碳原子一起形成一个 5-7 元饱和或不饱和杂环，所述杂环除氮原子外，还含有至少一个处于任何化学稳定氧化态的 O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub> 杂原子；

15

X 是 O 或 S；

Z 是 O、NH 或 NR<sub>1</sub>；

W 和 Y 相互独立地是 O、S、CH<sub>2</sub> 或 H<sub>2</sub>；

20

R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、Ar<sub>2</sub> 或它们的组合所取代；

25

n 是 1 或 2；

25

R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>，其中所述烷基、链烯基、环烷基或环烯基是未取代的或在一个或多个位置上被 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 直链或支链烷基或链烯基、羟基或其组合所取代；且

30

Ar<sub>1</sub> 和 Ar<sub>2</sub> 相互独立地是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中所述碳环或杂环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；

其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

2. 权利要求 1 的化合物，其中所述单环或二环的碳环或杂环选自  
5 萍基、吲哚基、呋喃基、噻唑基、噻吩基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、  
芳基和苯基。

3. 权利要求 1 的化合物，其中所述 5-7 元饱和或不饱和杂环中的  
至少一个其它杂原子是 NH 或 NR<sub>1</sub>。

10 4. 权利要求 1 的化合物，其中所述化合物对 FKBP 型亲免素具有  
亲和性。

5. 权利要求 4 的化合物，其中所述 FKBP 型亲免素是 FKBP12。

15 6. 权利要求 1 的化合物，其中所述化合物可以抑制旋转异构酶酶  
活性。

7. 含有神经营养有效量的权利要求 1 所述化合物以及可药用载体  
的药物组合物。

20 8. 实现动物神经元活性的方法，该方法包括：给动物施用神经营  
养有效量的权利要求 1 所述化合物。

25 9. 权利要求 8 的方法，其中所述神经元活性选自：刺激受损的神  
经元、促进神经元再生、防止神经变性和治疗神经学疾病。

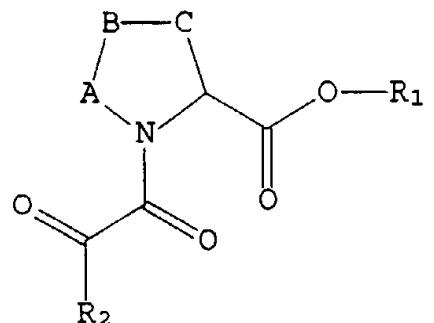
10. 权利要求 9 的方法，其中所述神经学疾病选自：由物理损伤或  
疾病引起的外周神经病、大脑的物理损伤、脊髓的物理损伤、与大脑损  
伤有关的中风和与神经变性有关的神经学疾病。

# 权利要求书

11. 权利要求 10 的方法，其中，与神经变性有关的神经学疾病选自早老性痴呆、帕金森氏病和肌萎缩性脊髓侧索硬化。

12. 式 II 所示的化合物或其可药用盐，

5



II

10

其中：

A、B 和 C 相互独立地是 CH<sub>2</sub>、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub>；

R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub> 或它们的组合所取代；

15

n 是 1 或 2；

R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>；且

20

Ar<sub>1</sub> 是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中所述碳环或杂环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

25

13. 权利要求 12 的化合物，其中：

A 是 CH<sub>2</sub>；

B 是 CH<sub>2</sub> 或 S；

C 是 CH<sub>2</sub> 或 NH；

R<sub>1</sub> 选自 3-苯基丙基和 3-(3-吡啶基)丙基；且

30

R<sub>2</sub> 选自 3,3-二甲基戊基、环己基和叔丁基。

14. 权利要求 13 的化合物，其中：

B 是 CH<sub>2</sub>；

C 是 NH；且

R<sub>1</sub> 是 3-苯基丙基。

5

15. 权利要求 13 的化合物，其中：

B 是 S；且

C 是 CH<sub>2</sub>。

10

16. 权利要求 12 的化合物，其中所述化合物选自：

(2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧化戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯；和

(2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧化戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-(3-吡啶基)-1-丙酯。

15

17. 权利要求 12 的化合物，其中所述化合物对 FKBP 型亲免素具有亲和性。

20

18. 权利要求 17 的化合物，其中所述 FKBP 型亲免素是 FKBP12。

19. 权利要求 12 的化合物，其中所述化合物可以抑制旋转异构酶活性。

25

20. 含有神经营养有效量的权利要求 12 所述化合物以及可药用载体的药物组合物。

21. 实现动物神经元活性的方法，该方法包括：给动物施用神经营养有效量的权利要求 12 所述化合物。

30

# 专利权人：

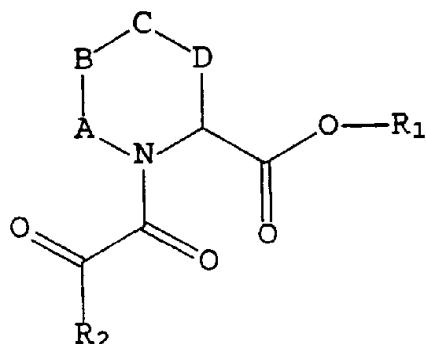
22. 权利要求 21 的方法，其中所述神经元活性选自：刺激受损的神经元、促进神经元再生、防止神经变性和治疗神经学疾病。

5 23. 权利要求 22 的方法，其中所述神经学疾病选自：由物理损伤或疾病引起的外周神经病、大脑的物理损伤、脊髓的物理损伤、与大脑损伤有关的中风和与神经变性有关的神经学疾病。

24. 权利要求 23 的方法，其中所述与神经变性有关的神经学疾病选自早老性痴呆、帕金森氏病和肌萎缩性脊髓侧索硬化。

10

25. 式 III 所示的化合物或其可药用盐，



15 其中：

A、B、C 和 D 相互独立地是 CH<sub>2</sub>、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub>；

20 R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub> 或它们的组合所取代；

n 是 1 或 2；

R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>；且

25 Ar<sub>1</sub> 是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中所述碳环或杂环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

30

26. 权利要求 25 的化合物，其中：

A 是 CH<sub>2</sub>；

B 是 CH<sub>2</sub>；

C 是 S、O 或 NH；

D 是 CH<sub>2</sub>；

5 R<sub>1</sub> 选自 3-苯基丙基和(3,4,5-三甲氧基)苯基丙基；且

R<sub>2</sub> 选自 3,3-二甲基戊基、环己基、3,3-二甲基丙基、苯基和 3,4,5-  
三甲氧基苯基。

10 27. 权利要求 26 的化合物，其中：

C 是 NH；且

R<sub>2</sub> 是 3,3-二甲基丙基或苯基。

15 28. 权利要求 25 的化合物，其中所述化合物对 FKBP 型亲免素具

有亲和性。

29. 权利要求 28 的化合物，其中所述 FKBP 型亲免素是 FKBP12。

30. 权利要求 25 的化合物，其中所述化合物可以抑制旋转异构酶

20 酶活性。

31. 含有神经营养有效量的权利要求 25 所述化合物以及可药用载体的药物组合物。

25 32. 实现动物神经元活性的方法，该方法包括：给动物施用神经营

养有效量的权利要求 25 所述化合物。

33. 权利要求 32 的方法，其中所述神经元活性选自：刺激受损的  
神经元、促进神经元再生、防止神经变性和治疗神经学疾病。

34. 权利要求 33 的方法，其中所述神经学疾病选自：由物理损伤或疾病引起的外周神经病、大脑的物理损伤、脊髓的物理损伤、与大脑损伤有关的中风和与神经变性有关的神经学疾病。
- 5 35. 权利要求 34 的方法，其中所述与神经变性有关的神经学疾病选自早老性痴呆、帕金森氏病和肌萎缩性脊髓侧索硬化。

# 说 明 书

## 杂环酯类及酰胺类化合物

### 5 发明背景

#### 1. 发明领域

本发明涉及对 FKBP 型亲免素具有亲和性的神经营养性低分子量、小分子杂环酯类和酰胺类化合物，以及该化合物作为与亲免素蛋白  
10 质、特别是肽基脯氨酸异构酶或旋转异构酶的酶活性有关的酶活性抑制剂的用途。

#### 2. 现有技术的描述

术语“亲免素”指作为主要的免疫抑制药物，环孢菌素 A(CsA)、  
FK506 和雷帕霉素的受体的多种蛋白质。已知的亲免素包括亲环素和  
15 FK506 结合蛋白或称 FKBP。环孢菌素 A 与亲环素 A 结合，而 FK506 和雷帕霉素与 FKBP12 结合。这些亲免素-药物复合物与各种细胞内信  
号传导系统、特别是免疫和神经系统相互作用。

已知亲免素具有肽基脯氨酸异构酶(PPIase)或旋转异构酶活性。已  
20 证实旋转异构酶活性可以催化亲免素蛋白的肽和蛋白质物质的顺式和  
反式异构体的相互转变。

最初是在免疫组织中发现并研究亲免素的。本领域技术人员最初认为，对亲免素的旋转异构酶活性的抑制作用导致 T-细胞增殖受到抑制，  
25 从而使免疫抑制药物如环孢菌素 A、FK506 和雷帕霉素显示出免疫抑制活性。进一步的研究表明，对旋转异构酶活性的抑制本身并不导致免疫抑制活性。参见，Schreiber 等，科学(Science)，1990, 250 卷，556-559 页。相反，免疫抑制似乎由免疫抑制药物和亲免素所形成的复合物引起。已经证实，亲免素-药物复合物的作用方式是与三元蛋白靶点相互  
30 作用。参见，Schreiber 等，细胞(Cell)，1991, 66 卷，807-815 页。对于

FKBP-FK506 和亲环素-CsA, 亲免素-药物复合物与钙调磷酸酶结合并抑制可以引起 T-细胞增殖的 T-细胞受体信号传导。同样, FKBP-雷怕霉素的亲免素-药物复合物可与 RAFT1/FRAP 蛋白相互作用并抑制 IL-2 受体信号传导。

5

已发现, 在中枢神经系统中存在着高浓度的亲免素。中枢神经系统中的亲免素比免疫系统中多 10-50 倍。在神经组织内, 亲免素似乎可以影响一氧化氮的合成、神经递质的释放和神经原突的延伸。

10

现已发现, 皮摩尔浓度的免疫抑制剂如 FK506 和雷怕霉素可以刺激在 PC12 细胞和感觉神经神经元、即脊神经节细胞(DRG)内长出轴突。参见, Lyons 等, 美国国家科学院院报(Proc. of Natl. Acad. Sci.), 1994, 91 卷, 3191-3195。在动物实验中, FK506 显示出可以刺激面部神经损伤后的神经再生。

15

出人意料的是, 现已发现某些对 FKBP 具有高亲和性的化合物是很强的旋转异构酶抑制剂并显示出极佳的神经营养作用。此外, 这些旋转异构酶抑制剂全无免疫抑制活性。这些发现表明, 可以使用旋转异构酶抑制剂治疗各种外周神经病并促进中枢神经系统(CNS)内神经元的再生长。研究证实, 神经变性疾病如早老性痴呆、帕金森氏病和肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)可能起因于在疾病中受到影响的特定神经元群体的特异性神经营养物质的损失或利用率降低。

20

已鉴定了多种影响中枢神经系统中特定神经元群体的神经营养因子。例如, 据推测早老性痴呆是由于神经生长因子(NGF)的减少或损失引起的。因此, 已经有人建议用外源性神经生长因子或其它神经营养蛋白如脑衍生的生长因子、神经胶质衍生的生长因子、睫状神经营养因子和神经营养蛋白-3 来治疗 SDAT 患者, 以增加变性神经元群体的存活。

30

由于大蛋白在向神经系统靶点的传递和生物利用度上存在困难, 从

而使这些蛋白质在治疗各种神经疾病的临床应用中受到了限制。相反，具有神经营养活性的免疫抑制药物相对较小，所以它们具有非常好的生物利用度和特异性。但是，在长期给药时，免疫抑制药物会显示出多种潜在的严重副反应，包括神经毒性，例如肾小球过滤的损伤和不可逆的间质纤维化(Kopp 等，J. Am. Soc. Nephrol., 1991, 1: 162)；神经系统缺陷(neurological deficits)，例如无意识的震颤，或非特异性大脑绞痛如非定位头痛(De Groen 等，新英格兰医学杂志(N. Engl. J. Med.), 1987, 317: 861)；和伴有并发症的高血压(Kahan 等，英格兰医学杂志，1989, 321: 1725)。

10

15

为了防止使用免疫抑制化合物时所伴随的副反应，本发明提供了含有小分子 FKBP 旋转异构酶抑制剂的非免疫抑制性化合物，该化合物可促进轴突长出(outgrowth)，并在其中神经元容易修复的各种神经病理学情形中，促进神经元的生长和再生，所述神经病理学情形包括：由物理损伤或糖尿病等疾病所引起的神经损伤；中枢神经系统(脊髓和大脑)的物理损伤；与中风有关的大脑损伤；以及与神经变性有关的神经疾病，例如帕金森氏病、SDAT(早老性痴呆)和肌萎缩性脊髓侧索硬化。

### 发明概述

20

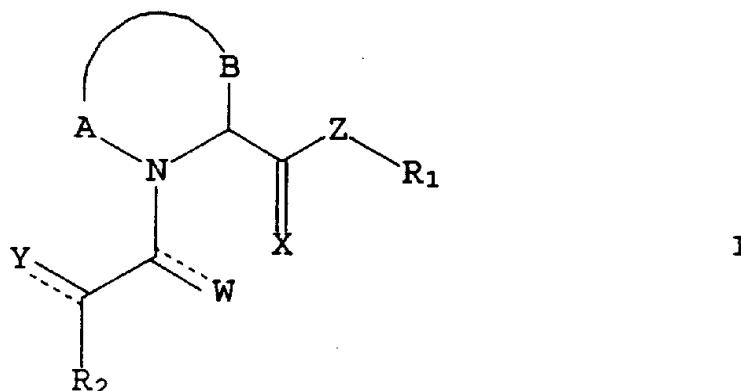
本发明涉及对 FKBP 型亲免素具有亲和性的神经营养性低分子量、小分子化合物。在与这些蛋白质结合后，所述神经营养性化合物便成为与亲免素蛋白质、特别是肽基脯氨酸异构酶或旋转异构酶的酶活性有关的强效酶活性抑制剂。本发明化合物的主要特征在于，这些化合物除神经营养活性外没有任何明显的免疫抑制活性。

25

具体地讲，本发明涉及式 I 化合物或其可药用盐：

30

5



其中：

10 A 和 B 与它们各自所连接的氮原子和碳原子一起形成一个 5-7 元饱和或不饱和杂环，所述杂环除氟原子外，还含有至少一个处于任何化学稳定氧化态的 O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub> 杂原子；

X 是 O 或 S；

Z 是 O、NH 或 NR<sub>1</sub>；

15 W 和 Y 相互独立地是 O、S、CH<sub>2</sub> 或 H<sub>2</sub>；

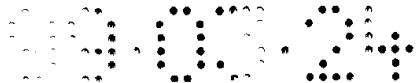
R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、Ar<sub>2</sub> 或它们的组合所取代；

20 n 是 1 或 2；

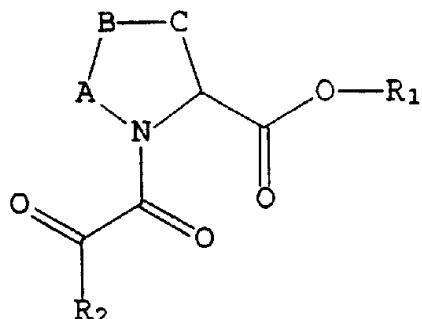
R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>，其中所述烷基、链烯基、环烷基或环烯基是未取代的或在一个或多个位置上被 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 直链或支链烷基或链烯基、羟基或其组合所取代；且

25 Ar<sub>1</sub> 和 Ar<sub>2</sub> 相互独立地是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

30



本发明的一个优选实施方案是式 II 化合物或其可药用盐，



II

其中：

A、B 和 C 相互独立地是 CH<sub>2</sub>、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub>；

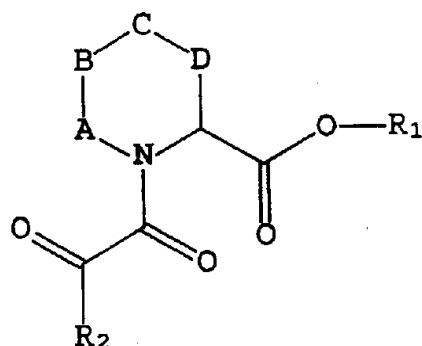
10 R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub> 或它们的组合所取代；

n 是 1 或 2；

15 R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>；且

20 Ar<sub>1</sub> 是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

本发明的另一个优选实施方案是式 III 化合物或其可药用盐，



III

其中：

30 A、B、C 和 D 相互独立地是 CH<sub>2</sub>、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub>；

R<sub>1</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub> 或它们的组合所取代；

n 是 1 或 2；

5 R<sub>2</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> 环烯基或 Ar<sub>1</sub>；且

Ar<sub>1</sub> 是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

本发明还涉及含有神经营养有效量的式 I、II 或 III 的化合物以及可药用载体的药物组合物。

15

本发明还涉及在动物中实现神经元活性的方法，该方法包括：给动物施用神经营养有效量的式 I、II 或 III 的化合物。

#### 附图概述

20 图 1(A)是化合物 1(1pM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性显微照片。

图 1(B)是化合物 1(10pM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性显微照片。

25 图 1(C)是化合物 1(100pM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性显微照片。

图 2(A)是化合物 2(10pM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性显微照片。

图 2(B)是化合物 2(100pM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性显微照片。

30 图 2(C)是化合物 2(10nM)促进轴突在感觉神经元中长出的代表性

显微照片。

### 发明详述

#### 定义

5 若无另外说明，“烷基”指含有 1-6 个碳原子的直链或支链饱和烃基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基等。

10 “烷氧基”指基团-OR，其中的 R 是本文所定义的烷基。R 优选是含有 1-3 个碳原子的直链或支链饱和烃基。

若无另外说明，“卤素”指氟、氯、溴或碘。

15 “苯基”包括，可选地被取代基单取代或多取代的苯基的所有可能异构体，所述取代基选自烷基、烷氧基、羟基、卤素和卤代烷基。

术语“可药用盐”指具有所需的药理学活性并且在生物学及其它方面没有不利影响的所述化合物的盐。该盐可以是与无机酸及有机酸形成的盐，例如乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一酸盐。碱盐包括铵盐、碱金属盐如钠盐和钾盐、碱土金属盐如钙盐和镁盐、与有机碱如二环己基胺盐、N-甲基-D-葡糖胺形成的盐，以及与氨基酸如精氨酸、赖氨酸等形成的盐。此外，还可用试剂将碱性含氮基团季铵化，所述试剂是例如低级烷基卤化物如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯；长链卤化物如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化

物和碘化物；芳烷基卤化物如苄基和苯乙基溴化物等。由此得到可在水或油中溶解或分散的产物。

本发明的化合物具有不对称中心，因此可以制得立体异构体的混合物或单个的立体异构体。单个的立体异构体可以通过使用旋光性原料、通过在合成的某些适宜阶段拆分中间体的外消旋或非外消旋混合物、或者通过拆分式(I)化合物制得。应当理解，单个的立体异构体以及立体异构体的混合物(外消旋的和非外消旋的)均包括在本发明的范围内。本发明的化合物具有至少一个不对称中心，因此可以制得立体异构体的混合物或单独的 R- 和 S- 立体异构体。单个的对映体可以通过在合成的某些适宜阶段拆分中间体的外消旋或非外消旋混合制得。应当理解，单独的 R- 和 S- 立体异构体以及立体异构体的混合物均包括在本发明的范围内。首选 S- 立体异构体，因其活性更高。

“异构体”是具有相同分子式的不同化合物。

“立体异构体”是仅在原子的空间排列方式上不同的异构体。

“对映体”是彼此互为不能重叠的镜像的一对立体异构体。

“非对映异构体”是彼此不呈镜像的立体异构体。

“外消旋混合物”是指含有等量单个对映体的混合物。“非外消旋混合物”是含有不等量单个对映体或立体异构体的混合物。

本文所用术语“治疗”包括对动物、特别是人的疾病和/或病情进行的各种处理，包括：

- (i) 在易患疾病和/或病情但仍未被确诊的患者中，预防该疾病和/或病情的发生；
- (ii) 抑制疾病和/或病情，即阻止其发展； 或

30

(iii) 缓解疾病和/或病情，即，使疾病和/或病情消退。

以下以式 II 化合物为例说明本发明化合物所采用的命名系统。

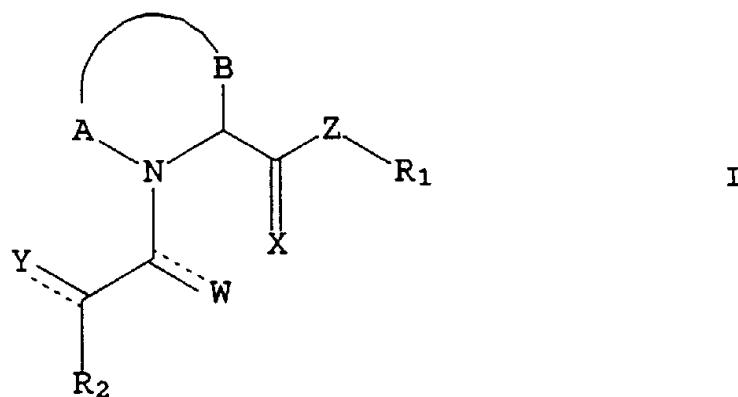
其中 A 是  $\text{CH}_2$ , B 是 S, C 是  $\text{CH}_2$ , R<sub>1</sub> 是 3-苯基丙基且 R<sub>2</sub> 是 3,3-二甲基戊基的式 II 化合物的命名为(2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧代戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯。

### 本发明的化合物

本发明的神经营养性的低分子量、小分子 FKBP 抑制剂化合物对 FKBP 型亲免素如 FKBP12 具有亲和性。当本发明的神经营养性化合物与 FKBP 型亲免素结合时，发现它们可以抑制结合蛋白的肽基脯氨酸顺反异构酶活性或旋转异构酶活性，并出人意料地刺激轴突的生长。

### 式 I

具体地讲，本发明涉及式 I 化合物或其可药用盐：



其中：

A 和 B 与它们各自所连接的氮原子和碳原子一起形成一个 5-7 元饱和或不饱和杂环，所述杂环除氮原子外，还含有至少一个处于任何化学稳定氧化态的 O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH 或 NR<sub>1</sub> 杂原子；

X 是 O 或 S；

Z 是 O、NH 或 NR<sub>1</sub>；

W 和 Y 相互独立地是 O、S、CH<sub>2</sub> 或 H<sub>2</sub>；

# 发明专利申请

R<sub>1</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、通过C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>直链或支链烷基或链烯基连接的(Ar<sub>1</sub>)<sub>n</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、通过C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>直链或支链烷基或链烯基连接的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、Ar<sub>2</sub>或它们的组合所取代；

5 n是1或2；

R<sub>2</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>环烯基或Ar<sub>1</sub>，其中所述烷基、链烯基、环烷基或环烯基是未取代的或在一个或多个位置上被C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基或链烯基、羟基或其组合所取代；且

10 Ar<sub>1</sub>和Ar<sub>2</sub>相互独立地是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在1-3个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>直链或支链烷基或链烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为5-6元环；其中的杂环含有1-6个选自O、N、S及其组合的杂原子。

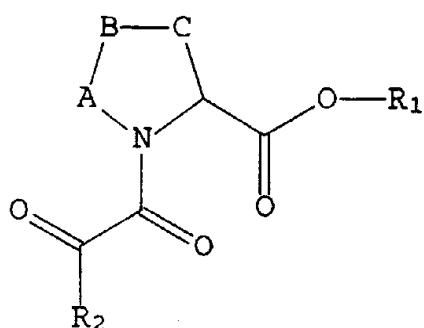
15

单环和二环的碳环和杂环包括但不限于：萘基、吲哚基、呋喃基、噻唑基、噻吩基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、芴基和苯基。

## 式II

20 本发明的一个优选实施方案是式II化合物或其可药用盐，

25



III

其中：

30 A、B和C相互独立地是CH<sub>2</sub>、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、NH或NR<sub>1</sub>；

# 第十一章

$R_1$  是  $C_1-C_5$  直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上被  $(Ar_1)_n$ 、通过  $C_1-C_6$  直链或支链烷基或链烯基连接的  $(Ar_1)_n$  或它们的组合所取代；

$n$  是 1 或 2；

5       $R_2$  是  $C_1-C_9$  直链或支链烷基或链烯基、 $C_3-C_8$  环烷基、 $C_5-C_7$  环烯基或  $Ar_1$ ；且

10      $Ar_1$  是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、 $C_1-C_6$  直链或支链烷基或链烯基、 $C_1-C_4$  烷氧基、 $C_1-C_4$  链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

在特别优选的式 II 化合物中：

A 是  $CH_2$ ；

15     B 是  $CH_2$  或 S；

C 是  $CH_2$  或 NH；

$R_1$  选自 3-苯基丙基和 3-(3-吡啶基)丙基；且

$R_2$  选自 3,3-二甲基戊基、环己基和叔丁基。

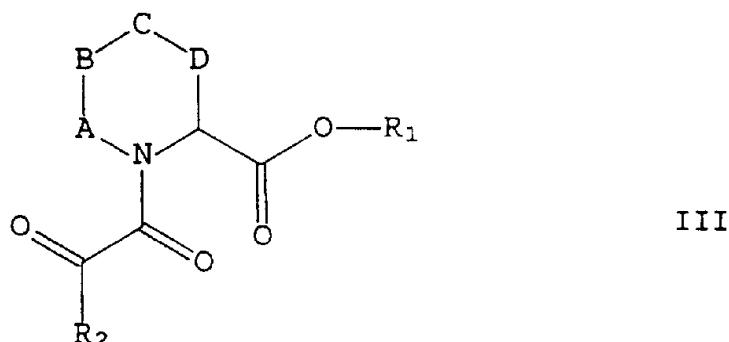
20     该实施方案的具体例子如表 I 所示。

表 I

序号	A	B	C	$R_1$	$R_2$
1	$CH_2$	S	$CH_2$	3-苯基丙基	3,3-二甲基戊基
2	$CH_2$	S	$CH_2$	3-(3-吡啶基)丙基	3,3-二甲基戊基
3	$CH_2$	S	$CH_2$	3-苯基丙基	环己基
4	$CH_2$	S	$CH_2$	3-苯基丙基	叔丁基
5	$CH_2$	$CH_2$	NH	3-苯基丙基	3,3-二甲基戊基
6	$CH_2$	$CH_2$	NH	3-苯基丙基	环己基
7	$CH_2$	$CH_2$	NH	3-苯基丙基	叔丁基

式 III

本发明的另一个优选实施方案是式 III 化合物或其可药用盐，



其中：

A、B、C 和 D 相互独立地是  $\text{CH}_2$ 、O、S、 $\text{SO}$ 、 $\text{SO}_2$ 、NH 或  $\text{NR}_1$ ；

$R_1$  是  $C_1-C_5$  直链或支链烷基或链烯基，该基团在一个或多个位置上

板( $\text{Al}_1$ )<sub>n</sub>、通过C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>直链或支链氨基或酰基连接的( $\text{R}_1$ )<sub>m</sub>项目中的组合所取代；

n 是 1 或 2;

R<sub>2</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>直链或支链烷基或链烯基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>环烯基或Ar<sub>1</sub>；且

$\text{Ar}_1$  是单环、二环或三环的碳环或杂环，其中的环是未取代的或在 1-3 个位置上被卤素、羟基、硝基、三氟甲基、 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_6$  直链或支链烷基或链烯基、 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$  烷氧基、 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$  链烯氧基、苯氧基、苄氧基、氨基或其组合所取代；其中各环的大小为 5-6 元环；其中的杂环含有 1-6 个选自 O、N、S 及其组合的杂原子。

在特别优选的式 III 化合物中：

A是CH<sub>2</sub>;

B 是 CH<sub>2</sub>:

C 是 S、O 或 NH;

D 是  $\text{CH}_2$ :

R<sub>1</sub> 选自 3-苯基丙基和(3,4,5-三甲氧基)苯基丙基；且

$R_2$  选自 3,3-二甲基戊基、环己基、3,3-二甲基丙基、苯基和 3,4,5-三甲氧基苯基。

该实施方案的具体例子如表 II 所示。

5

表 II

序号	A	B	C	C	$R_1$	$R_2$
8	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	S	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	3,3-二甲基戊基
9	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	O	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	3,3-二甲基戊基
10	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	S	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	环己基
11	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	O	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	环己基
12	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	S	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	苯基
13	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	O	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	苯基
14	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	NH	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	3,3-二甲基戊基
15	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	NH	CH <sub>2</sub>	3-苯基丙基	苯基

本发明的化合物以立体异构体的形式存在，所述立体异构体可以是对映体或非对映体。对映体、外消旋形式以及非对映体的混合物均包括在本发明的范围内。对映体和非对映体可以通过本领域技术人员已知的方法分离。

### 本发明化合物的使用方法

本发明的化合物对 FK506 结合蛋白、特别是存在于大脑的 FKBP12 具有亲和性。当本发明的化合物与大脑中的 FKBP 结合时，可以显示出极佳的神经营养活性。该活性可用于刺激受损的神经元、促进神经元再生、防止神经变性和治疗已知与神经元变性有关的几种神经疾病和外周神经病。

基于上述原因，本发明还涉及实现动物神经元活性的方法，该方法包括：给动物施用神经营养有效量的式 I、II 或 III 的化合物。

# 发明名称

在优选的实施方案中，神经元活性选自：刺激受损的神经元、促进神经元再生、防止神经变性和治疗神经学疾病。

5 可以治疗的神经学疾病包括，但不限于：三叉神经痛；舌咽神经痛；面神经麻痹；重症肌无力；肌营养不良；肌萎缩性脊髓侧索硬化；进行性肌萎缩；进行性延髓继承性肌萎缩；突出型、破损或脱垂型无椎间盘(invertabrate disk)综合征；颈椎关节强硬；神经丛疾病；胸腔出口性破坏综合症；外周神经病如由铅、氨基砜、蜱引起的神经病、卟啉症或格-  
10 巴二氏综合征；早老性痴呆；和帕金森氏病。

本发明的化合物特别适用于治疗如下神经学疾病：由物理损伤或疾病引起的外周神经病、大脑的物理损伤、脊髓的物理损伤、与大脑损伤有关的中风、与神经变性有关的神经学疾病。与神经变性有关的神经学疾病的例子包括早老性痴呆、帕金森氏病和肌萎缩性脊髓侧索硬化。  
15

为此，可将本发明的化合物以含有常规无毒可药用载体、辅料和赋形剂的制剂形式进行口服给药、胃肠外给药、吸入喷雾给药、局部给药、直肠给药、经鼻给药、颊部给药、阴道给药，或通过植入的药物储库进行给药。本文所用术语“胃肠外”给药包括皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、鞘内、心室内、胸骨内和颅内注射或灌注。  
20

当将本发明的化合物进行胃肠外给药时，为了能够对中枢神经系统靶点进行有效的治疗，该化合物应能迅速渗过血脑屏障。不能渗过血脑屏障的化合物可以通过心室内途径给药而产生效果。  
25

本发明的化合物可以以无菌可注射制剂的形式给药，例如无菌可注射的含水或油状混悬液。这些混悬液可根据本领域已知的方法用适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂进行配制。无菌可注射制剂还可以是在无毒的胃肠外可接受稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或混悬液，例如在 1,3-  
30

# 专利号：CN108830333A

丙二醇中的溶液。可以使用的可接受赋形剂和溶剂是水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外，无菌的固定油也通常用作溶剂或悬浮溶媒。为此，可使用任何品牌的固定油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸如油酸及其甘油酯衍生物，包括橄榄油和蓖麻油、特别是其聚氧乙基化的形式也可用于制备可注射制剂。这些油溶液或混悬液还可含有长链醇稀释剂或分散剂。  
5

可将化合物以胶囊、片剂、含水混悬液或溶液的形式口服给药。片剂可以含有乳糖和玉米淀粉等载体和/或润滑剂如硬脂酸镁。胶囊可含有稀释剂，包括乳糖和干燥的玉米淀粉。含水混悬液可含有乳化剂和悬浮剂以及活性成分。口服剂型还可含有甜味剂和/或矫味剂和/或着色剂。  
10

本发明的化合物还可以以栓剂的形式直肠给药。该组合物可以通过将药物与适宜的无刺激性赋形剂混合进行制备，所述赋形剂在室温下为固体，但在直肠温度下为液体，从而可以在直肠中熔化并释放药物。这种物质包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。  
15

本发明的化合物还可以局部给药，特别是当需要治疗的疾病涉及易于进行局部给药的部位或器官时，包括眼、皮肤或下肠道的神经学疾病。对于这些部位，很容易制备适宜的局部制剂。  
20

对于眼的局部给药或眼科应用，可将化合物配制在等渗的、pH 调节过的无菌盐水中的微粒化混悬液的形式，或者优选地，配制在等渗的、pH 调节过的无菌盐水中的溶液的形式，其中可以含或不含防腐剂如洁尔灭。或者，对于眼科应用，可将化合物用例如凡士林配制成软膏。  
25

对于皮肤的局部给药，可将化合物配制在适宜的软膏形式，其中，所含化合物悬浮或溶于例如以下一种物质或多种物质的混合物中：矿物油、液体石蜡、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯化合物、乳化蜡  
30



和水。或者，可将化合物配制成适宜的洗剂或霜剂，其中，所含活性化合物悬浮或溶于例如以下一种物质或多种物质的混合物中：矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、吐温 60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡基硬脂醇(cetearyl alcohol)、2-辛基十二醇、苄醇和水。

5

下肠道的局部给药可以通过直肠栓剂(见上)或适宜的灌肠制剂进行。

10 在治疗上述疾病时，所用剂量为含约 0.1mg-10000mg 活性成分，优选约 0.1mg-1000mg。可与载体物质混合制备单剂量形式的活性成分的量取决于待治疗的宿主以及具体的给药方式。

15 可以理解，对于任何具体患者的具体剂量水平取决于各种因素，包括所用具体化合物的活性、患者的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、排泄率、药物组合以及所治疗具体疾病的严重程度和给药方式。

20 可将该化合物与其它神经营养剂如神经营养性生长因子(NGF)、神经胶质衍生的生长因子、脑衍生的生长因子、睫状神经营养因子和神经营养蛋白-3 同时给药。其它神经营养剂的剂量水平取决于上述因素以及药物联合的神经营养效果。

### 本发明的药物组合物

本发明还涉及药物组合物，所述组合物含有：

- 25 (i)神经营养有效量的式 I、II 或 III 的化合物，和  
(ii)可药用载体。

以上关于本发明化合物应用和给药的讨论同样适用于本发明的药物组合物。

30

### 实施例

以下实施例仅用以说明本发明而并不限定其范围。若无另外说明，所有的百分数均以最终化合物的 100%重量为基础。

### 实施例 1

5           (2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧代戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯(1)的合成

1-(1,2-二氧代-2-甲氧基乙基) 2-(4-噻唑烷)甲酸酯

将 L-硫代脯氨酸(1.51g; 11.34mmol)在 40mL 无水二氯甲烷中的溶液冷却至 0°C，然后用 3.3mL(2.41g; 23.81mmol)三乙胺处理。将该混合物搅拌 30 分钟后，滴加甲基草酰氯(1.81g; 14.74mmol)的溶液。将形成的混合物于 0°C 搅拌 1.5 小时，用硅藻土过滤除去固体，干燥并浓缩。将粗产物在硅胶柱上纯化，用甲醇的 10%二氯甲烷溶液洗脱，得到 2.0g 橙黄色固体状草氨酸酯。

15           (2S)-1-(1,2-二氧代-2-甲氧基乙基) 2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯

将 1-(1,2-二氧代-2-甲氧基乙基) 2-(4-噻唑烷)甲酸酯(500mg; 2.25mmol)、3-苯基-1-丙醇(465mg; 3.42mmol)、二环己基碳二亚胺(750mg; 3.65mmol)、4-二甲氨基吡啶(95mg; 0.75mmol)和樟脑磺酸(175mg; 0.75mmol)在 30mL 二氯甲烷中搅拌过夜。将混合物用硅藻土过滤除去固体并色谱分离(25%乙酸乙酯/己烷)，得到 690mg 产物：

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 1.92-2.01 (m, 2H); 2.61-2.69 (m, 2H); 3.34 (m, 1H); 4.11-4.25 (m, 2H); 4.73 (m, 1H); 5.34 (m, 1H); 7.12 (m, 3H); 7.23 (m, 2H).

25

(2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧代戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯 (1)

30           将(2S)-1-(1,2-二氧代-2-甲氧基乙基) 2-(4-噻唑烷)甲酸 3-苯基-1-丙酯(670mg; 1.98mmol)的四氢呋喃(10mL)溶液冷却至-78°C，然后用 2.3mL

1.0M 的 1,1-二甲基丙基氯化镁的乙醚溶液处理。将混合物搅拌 3 小时后，将其倒入饱和氯化铵溶液中，用乙酸乙酯萃取，将有机相用水洗涤，干燥并浓缩。将粗产物在硅胶柱上纯化，用乙酸乙酯的 25%己烷溶液洗脱，得到 380mg 黄色油状的实施例 1 的化合物；

5

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : δ 0.86 (t, 3H); 1.21 (s, 3H); 1.26 (s, 3H); 1.62-1.91 (m, 3H); 2.01 (m, 2H); 2.71 (m, 2H); 3.26-3.33 (m, 2H); 4.19 (m, 2H); 4.58 (m, 1H); 7.19 (m, 3H); 7.30 (m, 2H).

10

元素分析 C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub>S: C, 63.63; H, 7.23; N, 3.71。实测值: C, 64.29; H, 7.39; N, 3.46。

## 实施例 2

15

### (2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧代戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-(3-吡啶基)-1-丙酯(2)的合成

按照实施例 1 的方法，在最后一步中使用 3-(3-吡啶基)-1-丙醇，制得(2S)-1-(3,3-二甲基-1,2-二氧代戊基)-2-(4-噻唑烷)甲酸 3-(3-吡啶基)-1-丙酯；

20

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : δ 0.89 (t, 3H, J=7.3); 1.25 (s, 3H); 1.28 (s, 3H); 1.77 (q, 2H, J=7.3); 2.03 (tt, 2H, J=6.4, 7.5); 2.72 (t, 2H, J=7.5); 3.20 (dd, 1H, J=4.0, 11.8); 3.23 (dd, 1H, J=7.0, 11.8); 4.23 (t, 2H, J=6.4); 4.55 (d, 2H, J=8.9); 5.08 (dd, 1H, J=4.0, 7.0); 7.24 (m, 1H); 8.48 (m, 2H).

25

元素分析 C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S-0.5H<sub>2</sub>O: C, 58.89; H, 7.02; N, 7.23。实测值: C, 58.83; H, 7.05; N, 7.19。

30

如上所述，本发明的化合物对 FK506 结合蛋白、特别是 FKBP12 具有亲和性。可以通过测定对 FKBP 的肽基脯氨酸顺反异构酶活性的抑

制作用来证实该亲和性。

### K<sub>i</sub> 试验方法

可以通过文献中记载的方法(Harding 等, 自然, 1989, 341:758-760; Holt 等, 美国化学会志(J. Am. Chem. Soc.), 115: 9923-9938)评估本发明化合物对肽基脯氨酸异构酶(旋转异构酶)活性的抑制作用。这些值以表观 K<sub>i</sub> 值的形式得到并列于表 III 中。通过分光光度法, 在与糜蛋白酶联合的试验中监测模型底物 N-琥珀酰基-Ala-Ala-Pro-Phe-对硝基酰苯胺中丙氨酸-脯氨酸键的顺反异构作用, 糜蛋白酶可以从底物的反式形式中释放出对硝基酰苯胺。测定加入不同浓度的抑制剂对该反应的抑制作用, 将数据以一级速率常数的改变作为抑制剂浓度的函数进行分析, 得到表观 K<sub>i</sub> 值。

在塑料比色杯中加入 950mL 冰冷的分析缓冲液(25mM HEPES, pH 7.8, 100mM NaCl)、10mL FKB(P(2.5mM, 溶于 10mM Tris-HCl, pH 7.5, 100mM NaCl, 1mM 二硫苏糖醇)、25mL 糜蛋白酶(50mg/ml, 溶于 1mM HCl)和 10mL 各种浓度的试验化合物的二甲亚砜溶液。加入 5mL 底物(N-琥珀酰基-Ala-Phe-Pro-Phe-对硝基酰苯胺, 5mg/mL, 溶于 3.25mM LiCl 的三氟乙醇溶液)引发反应。

用分光光度计监测 90 秒内在 390nm 上的吸收值随时间的变化, 然后从吸收值随时间变化的数据中测定速率常数。

对代表性化合物所进行的实验的数据列于表 III 中“K<sub>i</sub>”栏下。

本发明化合物的神经营养效果可以按照如下描述在体外细胞生物学实验中证实。

### 小鸡脊神经节培养和轴突长出

从孵育了十天的鸡胚中切下脊神经节(DRG)。在 37℃含 5% 二氧化

碳的环境中，将整个神经节外植物在薄层 Matrigel 包被的 12 孔板上培养，所述平板含有用 2mM 谷氨酰胺和 10% 胎牛血清补充的 Liebovitz L15 加高葡萄糖培养基，还含有 10 $\mu$ M 胞昔  $\beta$ -D 阿拉伯呋喃糖昔(Ara C)。24 小时后，用各种浓度的亲免疫配体处理 DRG。药物处理 48 小时后，在装有 Zeiss Axiovert 的相差或 Hoffman Modulation 相差倒置显微镜下对神经节进行观察。对外植物进行显微照相，测定轴突长出的量。将长度大于 DRG 直径的轴突计为阳性，测定各实验条件下轴突的总数量。每孔培养 3-4 个 DRG，各种处理均一式两份地进行。

10 对代表性化合物所进行的实验的数据列于表 III 中“ED50”栏下。图 1(A-C)和 2(A-C)分别给出了化合物 1(1pM, 10pM, 100pM)和 2(10pM, 100pM, 10nM)促进感觉神经元中轴突长出的代表性显微照片。

15 表 III  
体外试验结果

<u>化合物</u>	<u>Ki, nM</u>	<u>ED50, nM</u>
1	215	0.031
2	638	2.0

以上所述的所有出版物和专利均引入本文作为参考。

20 以上对本发明进行了描述，很明显，可以对其进行各种改变。这些改变并不能被看作是脱离了本发明的实质和范围，并且所有这些改变均包括在如下权利要求的范围内。

说 明 书 附 图

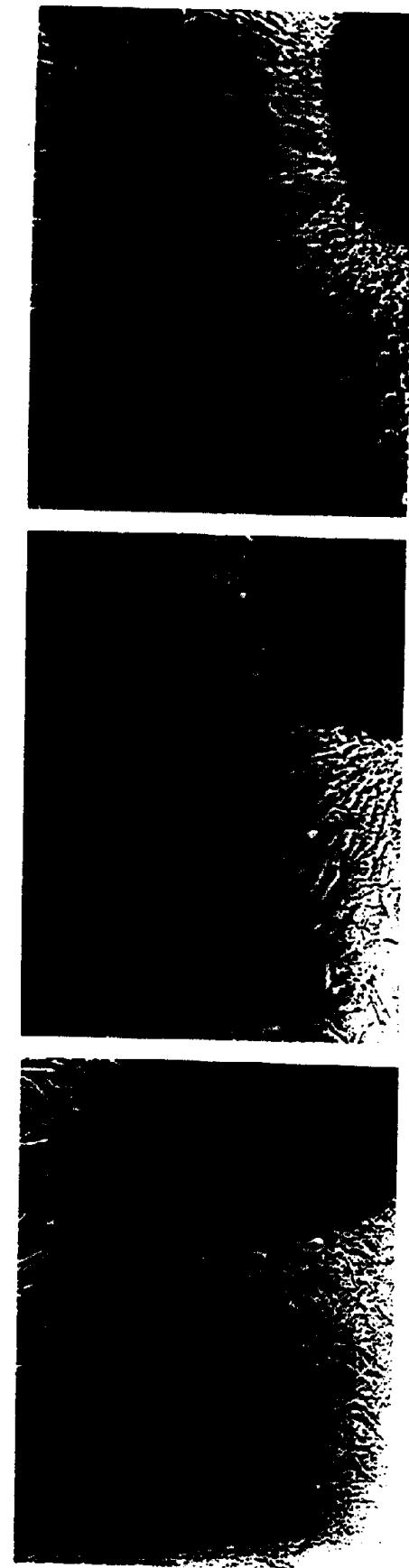


图 1(A)

图 1(B)

图 1(C)

图 2(C)

10 nM

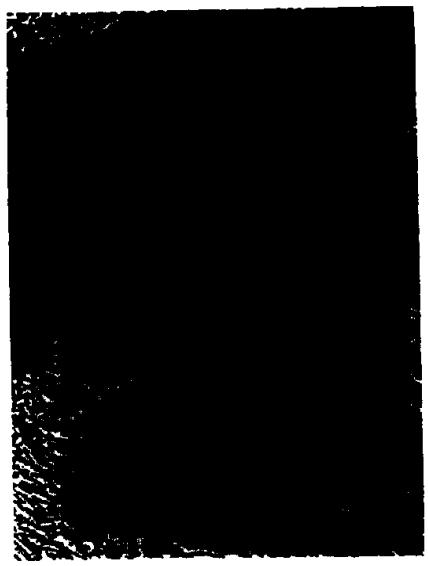


图 2(B)

100 pM

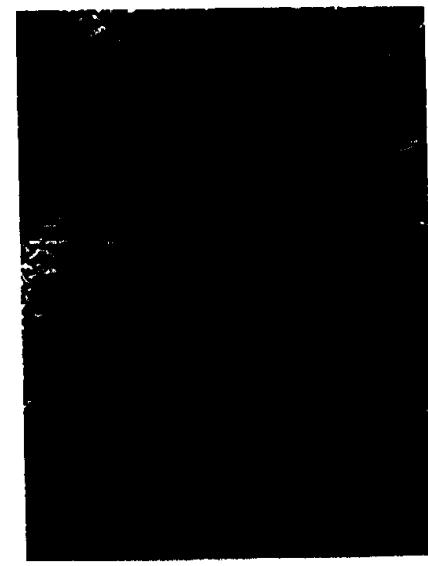


图 2(A)

10 pM



在感觉神经元培养中轴突的长出