



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101917992 A

(43) 申请公布日 2010. 12. 15

(21) 申请号 200880017058. X

代理人 梁谋 郭文洁

(22) 申请日 2008. 03. 27

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/435 (2006. 01)

60/920, 496 2007. 03. 27 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 11. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/058530 2008. 03. 27

(87) PCT申请的公布数据

W02008/119057 EN 2008. 10. 02

(71) 申请人 奥默罗斯公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 J·E·伯格曼 N·S·卡特沙尔

G·A·德莫普洛斯 V·A·弗洛里奥

G·盖塔纳里斯 P·格雷 J·霍曼

R·安鲁斯特 曾红葵

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

权利要求书 6 页 说明书 85 页 序列表 15 页
附图 23 页

(54) 发明名称

用于治疗运动障碍的 PDE7 抑制剂的用途

(57) 摘要

本发明涉及通过给予治疗有效量的 PDE7 抑制剂以治疗帕金森病或腿多动综合征等与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法。本发明的一个方面提供 PDE 抑制剂与多巴胺激动剂或前体例如左旋多巴联合给药的方法。本发明的另一个方面, 相对于以下其它分子靶标, PDE7 抑制剂对 PDE7 可具有选择性: (i) 已知涉及帕金森病病理的分子靶标, 或 (ii) 治疗上有效的治疗帕金森病的其它药物所作用的分子靶标。

1. 一种治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法,该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制PDE7酶活性的PDE7抑制剂,其中对PDE7酶活性的这种抑制是PDE7抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。

2. 权利要求1的方法,其中所述神经性运动障碍可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗。

3. 权利要求1的方法,其中所述神经性运动障碍选自帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍(PLMD)、睡眠中周期性肢体运动(PLMS)、图雷特综合征和腿多动综合征(RLS)。

4. 权利要求3的方法,其中所述神经性运动障碍是帕金森病。

5. 权利要求4的方法,其中所述运动异常是静止性震颤、强直、运动过慢或姿势反射缺乏中的至少一种。

6. 权利要求3的方法,其中所述神经性运动障碍是腿多动综合征(RLS)。

7. 权利要求3的方法,其中所述神经性运动障碍是睡眠中周期性肢体运动(PLMS)。

8. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE7A和/或PDE7B活性的 IC_{50} 小于约 $1\mu M$ 。

9. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE7A和/或PDE7B活性的 IC_{50} 小于约100nM。

10. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE1B活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的5倍以上。

11. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE10活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的5倍以上。

12. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE3活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的10倍以上。

13. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE3和PDE4活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的10倍以上。

14. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE4和PDE8活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的10倍以上。

15. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂抑制PDE1、PDE2、PDE3、PDE4、PDE8、PDE10和PDE11活性的 IC_{50} 是抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者的10倍以上。

16. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂是选择性PDE7抑制剂,其抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制PDE1-6和PDE8-11酶家族中任何其它PDE酶活性的药物 IC_{50} 的1/10以下。

17. 权利要求1的方法,其中所述PDE7抑制剂是高度选择性PDE7抑制剂,其抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制PDE1-6和PDE8-11酶家族中任何其它PDE酶活性的药物 IC_{50} 的1/50以下。

18. 权利要求2或权利要求3的方法,其中所述PDE7抑制剂是这样的PDE7抑制剂,其抑制PDE7A活性的 IC_{50} 和抑制PDE7B活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制以下其它分子靶标活性的药物 IC_{50} 的1/2以下:(i) 已知涉及所选神经性运动障碍的病理的靶标,或(ii) 是治疗

上有效的治疗疾病的其它药物所作用的靶标。

19. 权利要求 4 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是这样的 PDE7 抑制剂,其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制以下其它分子靶标活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下:(i) 已知涉及帕金森病病理的靶标,或(ii) 是治疗上有效的治疗帕金森病的其它药物所作用的靶标。

20. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是这样的 PDE7 抑制剂,其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制已知与多巴胺信号转导途径有关的其它分子靶标活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下。

21. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂的分子量小于约 450g/ 摩尔。

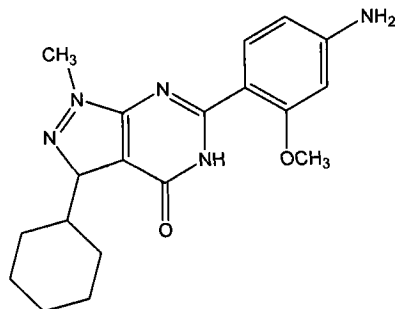
22. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂与多巴胺能药物或多巴胺能药物前体联合给予。

23. 权利要求 22 的方法,其中所述多巴胺能药物是左旋多巴(L-dopa)。

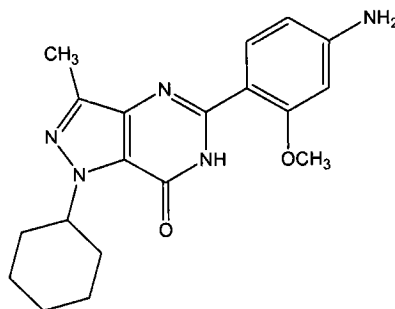
24. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂与激活多巴胺 D1 受体和 / 或增加黑质纹状体神经末梢和 / 或黑质纹状体突触间隙中的多巴胺浓度的治疗药或治疗药前体联合给予。

25. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂能够穿过血 / 脑屏障。

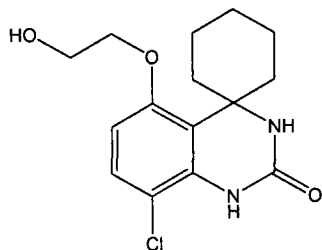
26. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是具有以下结构的化合物:



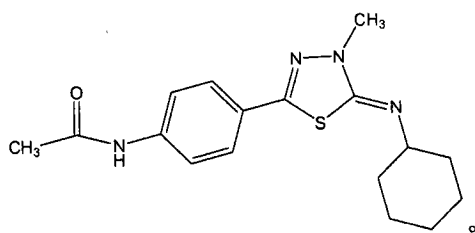
27. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是具有以下结构的化合物:



28. 权利要求 1 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是具有以下结构的化合物:



29. 权利要求 29 的方法,其中所述 PDE7 抑制剂是具有以下结构的化合物:



30. 一种鉴定用于治疗有需要的哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常的抑制 PDE7 活性的药物的方法,该方法包括:

- (a) 测定多种药物每一种的抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} ;
- (b) 从多种药物中选出抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的药物;
- (c) 测定抑制 PDE7 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的药物抑制 PDE4 活性的 IC_{50} ;
- (d) 通过选出抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者 10 倍以上的化合物,鉴定用于治疗运动障碍的药物;
- (e) 在神经性运动障碍模型实验中对已鉴定出的化合物的活性进行评价,其中抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$,且抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上;并且在模型实验中确定为有效治疗至少一种运动异常的所述药物,表明是用于治疗哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常的 PDE7 抑制剂。

31. 权利要求 30 的方法,其中所述神经性运动障碍可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗。

32. 权利要求 30 的方法,其中所述神经性运动障碍选自帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍 (PLMD)、睡眠中周期性肢体运动 (PLMS)、图雷特综合征和腿多动综合征 (RLS)。

33. 权利要求 32 的方法,其中所述神经性运动障碍是帕金森病。

34. 权利要求 32 的方法,其中所述神经性运动障碍是腿多动综合征 (RLS)。

35. 权利要求 32 的方法,其中所述神经性运动障碍是睡眠中周期性肢体运动 (PLMS)。

36. 权利要求 30 的方法,其中所述方法的步骤 (e) 还包括在神经性运动障碍模型实验中联合给予 PDE7 抑制剂与激活多巴胺 D1 受体和 / 或增加黑质纹状体神经末梢和 / 或黑质纹状体突触间隙中的多巴胺浓度的治疗药或治疗药前体,并且鉴定出当与多巴胺受体激动剂联合给予时对于至少一种运动异常产生大于累加效应的 PDE7 抑制剂。

37. 权利要求 30 的方法,该方法还包括测定抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的药物抑制 PDE3 的 IC_{50} ,并且通过选出抑制 PDE3 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者 10 倍以上的化合物,鉴定出用于治疗运动障碍的药物。

38. 权利要求 30 的方法,该方法还包括测定抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者小于约 $1 \mu M$ 的药物抑制 PDE5 的 IC_{50} ,并且通过选出抑制 PDE5 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者 10 倍以上的化合物,鉴定出用于治疗运动障碍的药物。

39. 一种治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法,该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的作为 PDE7 抑制剂的化合物,该化合物的特征是:

(i) 所述化合物的抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1\mu M$;

(ii) 所述化合物抑制 PDE3 的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上。

40. 权利要求 39 的方法, 其中所述神经性运动障碍可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗。

41. 权利要求 39 的方法, 其中所述神经性运动障碍选自帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍 (PLMD)、睡眠中周期性肢体运动 (PLMS)、图雷特综合征和腿多动综合征 (RLS)。

42. 权利要求 41 的方法, 其中所述神经性运动障碍是帕金森病。

43. 权利要求 42 的方法, 其中所述运动异常是静止性震颤、强直、运动过慢或姿势反射缺乏中的至少一种。

44. 权利要求 41 的方法, 其中所述神经性运动障碍是腿多动综合征 (RLS)。

45. 权利要求 41 的方法, 其中所述神经性运动障碍是睡眠中周期性肢体运动 (PLMS)。

46. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 100nM。

47. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE1B 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 5 倍以上。

48. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE10 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 5 倍以上。

49. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上。

50. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE8 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上。

51. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE1、PDE2、PDE3、PDE4、PDE8 和 PDE11 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上。

52. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是这样的化合物, 其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制 PDE1-6 和 PDE8-11 酶家族中的任何其它 PDE 酶活性的化合物 IC_{50} 的 1/10 以下。

53. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是这样的化合物, 其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制 PDE1-6 和 PDE8-11 酶家族中的任何其它 PDE 酶活性的化合物 IC_{50} 的 1/50 以下。

54. 权利要求 41 的方法, 其中所述化合物是这样的化合物, 其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是对其它分子靶标具有活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下, 所述分子靶标是已知涉及所选神经性运动障碍病理的分子靶标, 或者是治疗上有效的治疗疾病的其它药物所作用的分子靶标。

55. 权利要求 42 的方法, 其中所述化合物抑制 PDE7 活性的 IC_{50} 是对其它分子靶标具有活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下, 所述分子靶标是已知涉及帕金森病病理的分子靶标, 或者是在治疗上有效治疗帕金森病的其它药物所作用的分子靶标。

56. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是这样的化合物, 其抑制 PDE7A 的 IC_{50} 和抑

制 PDE7B 的 IC_{50} 中的较小者是对其它分子靶标具有活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下, 所述分子靶标是已知与多巴胺信号转导途径有关的分子靶标。

57. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物与多巴胺能药物或多巴胺能药物前体联合给予。

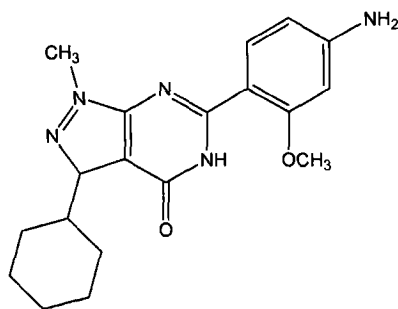
58. 权利要求 57 的方法, 其中所述多巴胺能药物是左旋多巴 (L-dopa)。

59. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物与激活多巴胺 D_1 受体和 / 或增加黑质纹状体神经末梢和 / 或黑质纹状体突触间隙中的多巴胺浓度的治疗药或治疗药前体联合给予。

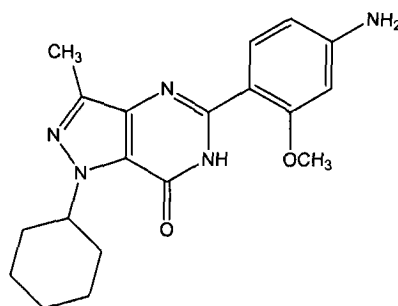
60. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物的分子量小于约 450g/ 摩尔。

61. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物能够穿过血 / 脑屏障。

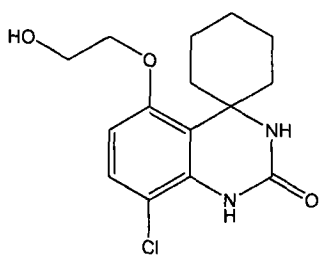
62. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是以下结构的化合物 :



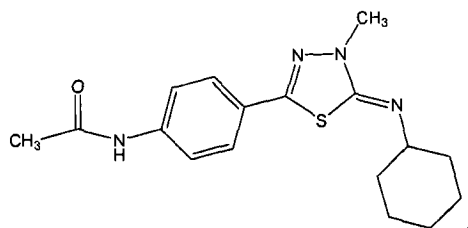
63. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是以下结构的化合物 :



64. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是以下结构的化合物 :



65. 权利要求 39 的方法, 其中所述化合物是以下结构的化合物 :



66. 一种治疗与神经障碍病理有关的运动异常的方法, 该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂, 其中对 PDE7 酶活性的这种抑制是 PDE7 抑

制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。

用于治疗运动障碍的 PDE7 抑制剂的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据美国的 35 U.S.C. § 119(e) 要求 2007 年 3 月 27 日申请的美国临时申请号 60/920,496 的权益,该申请的公开内容通过引用结合到本文中。

发明领域

[0003] 本发明涉及治疗与运动障碍病理有关的运动异常 (movement abnormality) 的方法,该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂。

[0004] 发明背景

[0005] 帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是影响中脑中的一小群神经元 (称为黑质) 的进行性疾病。PD 与多巴胺耗竭有关,多巴胺对于在纹状体中通过与细胞相互作用以维持运动控制十分重要。每 1,000 人中大约有 1 人染上此病,65 岁以上人群中大约 1% 患有 PD。PD 的常见症状包括静止性震颤、肌肉僵直 (或强直)、动作迟缓 (运动过慢) 和平衡缺失 (姿势功能障碍 (postural dysfunction))。

[0006] 帕金森病是可被一起归类为帕金森综合征 (Parkinsonism) 的三种截然不同的病况之一。帕金森病或震颤麻痹,是帕金森综合征最常见的形式,累及大约 75% 的病例,且起因或病因未知。帕金森综合征的第二种类型由药物和毒素引起,包括一氧化碳、锰和称为 MPTP (甲基苯基四氢吡啶) 的化合物。帕金森综合征的第三种类型,亦称血管性帕金森综合征,可由多次损伤产多巴胺的脑细胞的小中风引起。

[0007] 自 James Parkinson 于 1817 年命名并描述了该病症以来,已经尝试了许多疗法。大多数疗法是对症疗法,例如采用药物疗法 (例如左旋多巴 (levodopa)、多巴胺受体激动剂、MAO-B 抑制剂、COMT 抑制剂) 或脑深部电刺激疗法,以减轻该病的症状。最近,神经保护疗法已成为深入的研发工作的主题。

[0008] 多巴胺前体左旋多巴 (L-dopa) 和多巴脱羧酶抑制剂 (卡比多巴 (carbidopa)) 的治疗性组合,被认为是帕金森病症状最有效的疗法之一 (The Medical Letter 35:31-34, 1993)。然而,该组合的某些局限在开始该组合疗法的 2-5 年内变得明显起来。随着该病的发展,从各剂量得到的益处越来越少 (“疗效减退效应”),一些患者不可预测地在动与不动之间波动 (“开 / 关效应”)。“开”周期通常与血浆左旋多巴浓度高有关,常常包括异常的不自主动作 (即反常运动 (dyskinesias))。“关”周期与血浆左旋多巴浓度低和运动过慢发作有关。因此,存在另外的有效治疗帕金森病的需要。

[0009] 帕金森病的主要病理特征是投射到纹状体的黑质密部 (SNc) 中的多巴胺能神经元变性 (Forno L.S., J. Neuropathol Exp Neurol 55:259-272, 1996)。研究认为纹状体和其它基底核中,相对选择性多巴胺耗竭导致基底核 - 丘脑皮质运动原回路 (motor loop) 运动原区的冲动发放和同步化出现增加和失调 (Wichmann 和 DeLong, Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress, 第 122 章, “Neurocircuitry of Parkinson's Disease (帕金森病的神经回路)”, 2002)。除帕金森病以外,基底核功能异常也涉及多种具有运动异常的神经障碍。这类神经障碍包括腿多

动综合征 (restless leg syndrome) (Hening, W. 等, Sleep 22 :970-999, 1999) 和亨廷顿舞蹈病 (Huntington's disease) (Vonsattel, J. P. 等, J. Neuropathol. Exp. Neurol. 44 : 559-577, 1985)。用 MPTP 处理的灵长类和啮齿动物发生十分酷似人类帕金森病特征的行为和解剖变化, 该发现促进了对由基底核中多巴胺能传递丧失所引起的基底核病理生理变化结果的研究。参见例如 Bankiewicz, K. S. 等, Life Sci. 39 :7-16, 1986 ; Burns, R. S. 等, PNAS 80 :4546-4550, 1983。

[0010] 环核苷酸磷酸二酯酶 (PDE) 代表着将普遍存在的胞内第二信使腺苷 3', 5' - 一磷酸 (cAMP) 和鸟苷 3', 5' - 一磷酸 (cGMP) 水解成其相应的无活性 5' - 一磷酸代谢物的酶家族。一般认为存在至少 11 种不同类别的 PDE 同工酶 (PDE1-11), 各种酶具有独特的物理学特征和动力学特征, 并代表独特的基因家族。在各个不同类别的 PDE 内, 可有多达 4 个独特的亚型 (Crocker, I. 等, Drugs Today 35 (7) :519-535, 1999 ; Fawcett, L. 等, PNAS 97 (7) : 3702-3703, 2000 ; 以及 Yuasa, K. 等, J. Biol. Chem. 275 (40) :31496-31479, 2000)。

[0011] 实际上, 所有的磷酸二酯酶都在中枢神经系统 (“CNS”) 中表达, 使得该基因家族成为用于治疗精神疾病和神经变性疾病特别有吸引力的新靶标的来源。然而, 所有神经元均表达多种磷酸二酯酶, 这类酶在环核苷酸特异性、亲和力、调控和亚细胞区室化方面各不相同, 使得难以将特定疾病的靶标与疾病治疗联系起来。因此, 有需要鉴定出治疗特定 CNS 疾病 (例如伴有运动异常的帕金森病和其它神经障碍) 的磷酸二酯酶家族的靶标。

[0012] 尽管帕金森病研究和治疗中有所进展, 但是仍然存在对用于该疾病和伴有运动异常的其它神经障碍的新疗法的需要。本发明试图满足这一需要并提供更多相关的优势。

[0013] 发明概述

[0014] 如上所述, 一方面, 本发明提供治疗与神经性运动障碍 (neurological movement disorder) 病理有关的运动异常的方法。本发明这一方面的方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂, 其中对 PDE7 酶活性的这种抑制是 PDE7 抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。

[0015] 如上所述, 一方面, 本发明提供治疗与神经障碍病理有关的运动异常的方法。本发明这一方面的方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂, 其中对 PDE7 酶活性的这种抑制是 PDE7 抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。

[0016] 另一方面, 本发明提供鉴定抑制 PDE7 活性的药物的方法, 该药物用于治疗有需要的哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常。本发明这一方面的方法包括 (a) 测定抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的多种药物每一种的 IC_{50} ; (b) 从抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的多种药物中选出药物 ; (c) 测定抑制 PDE7 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的药物抑制 PDE4 活性的 IC_{50} ; (d) 通过选出抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者 10 倍以上的化合物, 鉴定出用于治疗运动障碍的药物 ; (e) 在神经性运动障碍模型实验中对已鉴定出的化合物的活性进行评价, 其中抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 、且抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者 10 倍以上、且在模型实验中被确定为有效治疗至少一种运动异常的药物, 表明是用于治疗哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常的 PDE7 抑制剂。

[0017] 另一方面, 本发明提供治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法。本发

明这一方面的方法包括给予有需要的患者治疗有效量的作为 PDE7 抑制剂的化合物,该化合物的特征是:(i) 该化合物抑制 PDE7A 和 / 或 PDE7B 活性的 IC_{50} 小于约 $1\mu M$; (ii) 该化合物抑制 PDE3 的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中较小者的 10 倍以上。

[0018] 本发明各个方面的方法用于治疗与神经障碍有关的运动异常。本发明各个方面的方法还用于治疗神经性运动障碍。本发明各个方面的方法进一步用于治疗与神经性运动障碍有关的运动异常。

[0019] 在本发明各方面的一些实施方案中,该方法用于治疗可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗的神经性运动障碍、与神经障碍有关的运动异常和 / 或与神经性运动障碍有关的运动异常。在一些实施方案中,该方法用于治疗选自以下的神经性运动障碍:帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍 (Dopamine-Responsive Dystonia)、夏 - 德雷格综合征 (Shy-Drager Syndrome)、周期性肢体运动障碍 (PLMD)、睡眠中周期性肢体运动 (Periodic Limb Movements in Sleep, PLMS)、图雷特综合征 (Tourette's Syndrome) 和腿多动综合征 (RLS)。

[0020] 在本发明各方面的一些实施方案中,该方法用于治疗与神经性运动障碍病理和 / 或神经障碍病理有关的运动异常。在本发明各方面的一些实施方案中,该方法用于治疗与可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗的神经性运动障碍病理有关的运动异常。在一些实施方案中,该方法用于治疗选自以下的与神经性运动障碍病理有关的运动异常:帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏 - 德雷格综合征、周期性肢体运动障碍 (PLMD)、睡眠中周期性肢体运动 (PLMS)、图雷特综合征和腿多动综合征 (RLS)。

[0021] 附图描述

[0022] 连同附图一起参考下面的详述,在更好地理解本发明的同时,将更容易理解上述方面和本发明的许多随附的优势。在某些附图中,统计显著性用记号表示,其中“*”是指 p 值 < 0.05 , “**”是指 p 值 < 0.01 , “***”是指 p 值 < 0.005 。附图中:

[0023] 图 1 是健康哺乳动物受治疗者的中脑的基底核神经传递途径的流程图,其中“+”与阴影箭头表示刺激途径,“-”与空心箭头表示抑制途径;

[0024] 图 2A 表示健康受治疗者体内多巴胺受体活化途径的假设模型,图中显示出多巴胺受体激活的胞内信号转导途径被将 cAMP 水解成为其 5' 一磷酸 (5' AMP) 的 PDE7 下调或拮抗的这一新的发现;

[0025] 图 2B 表示本发明的发明人提出的未接受治疗的患帕金森病 (PD) 受治疗者体内多巴胺受体活化途径的模型,图中显示出减量的多巴胺受体激活的胞内信号转导途径进一步被将 cAMP 水解成其 5' 一磷酸 (5' AMP) 的 PDE7 下调或拮抗,导致与健康受治疗者相比,活化 PKA 水平低下,神经元活化减少;

[0026] 图 2C 表示本发明的发明人假设的用 PDE7 抑制剂治疗的患帕金森病 (PD) 受治疗者体内多巴胺受体活化途径的模型,图中显示出有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂的存在阻断 cAMP 的水解,有效提高胞内 cAMP 水平,激活在胞内信号转导途径中调节下游元件磷酸化的蛋白激酶 A (“PKA”),导致神经元活化增加,与本发明方法的各种实施方案一致;

[0027] 图 3A 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 的 PDE7A 抑制活性

(IC₅₀) 曲线图,用每分钟计数 (“CPM”) 表示;

[0028] 图 3B 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 的 PDE7B 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0029] 图 4A 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM955) 的 PDE7A 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0030] 图 4B 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM955) 的 PDE7B 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0031] 图 5A 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM956) 的 PDE7A 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0032] 图 5B 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM956) 的 PDE7B 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0033] 图 6A 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM056) 的 PDE7A 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0034] 图 6B 是说明用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM056) 的 PDE7B 抑制活性 (IC₅₀) 曲线图,用 CPM 表示;

[0035] 图 7 曲线图对用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 在血浆和脑组织中随时间变化的浓度 (ng/g) 进行了比较;

[0036] 图 8 是说明在甲基苯基四氢吡啶 (“MPTP”) 帕金森病小鼠模型中进行实验的流程图,与仅左旋多巴的作用相比较,对单独给予或者与左旋多巴组合给予用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 进行了初步评价,见实施例 5;

[0037] 图 9 柱状图说明按照图 8 所示方案对 MPTP 小鼠模型墨水涂染爪步长进行的试验,试验表明在 MPTP 治疗小鼠中,用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 在单独给予或者与左旋多巴组合给予时加大步长,并对该抑制剂的疗效与仅左旋多巴以及与盐水对照进行了比较,见实施例 5;

[0038] 图 10 是表示图 9 中所显示的数据子集的柱状图,对 MPTP 小鼠模型中各种剂量的用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69 (化合物 1))、各种剂量的左旋多巴和 OM69 与左旋多巴的组合对步长的作用进行了比较,见实施例 5;

[0039] 图 11 是表示图 9 所显示的数据子集的柱状图,图中与盐水对照 (即非 MPTP 处理) 小鼠相比,对 MPTP 小鼠模型中用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 (OM69)、左旋多巴及其组合对步长的作用进行了比较,见实施例 5;

[0040] 图 12 流程图说明在 MPTP 帕金森病小鼠模型进行的实验,以证实代表性 PDE7 抑制剂 (OM69) 加大 MPTP 处理小鼠的步长,见实施例 6;

[0041] 图 13A 柱状图说明溶媒对照二甲基乙酰胺:聚乙二醇:甲磺酸 (DMA:PEG:MSA) 当单独给予时不改变 MPTP 处理小鼠的步长,见实施例 7;

[0042] 图 13B 柱状图说明溶媒对照酒石酸 (TA) 当单独给予时不改变 MPTP 处理小鼠的步长,见实施例 7;

[0043] 图 14 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图,试验表明代表性 PDE7 抑制剂 OM955 (化合物 2) 加大 MPTP 小鼠的步长,在 0.5mg/kg 剂量后 20 分钟基线步长完全恢复,见实施例 7;

[0044] 图 15A 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明在给药后 20 分钟, 1mg/kg 左旋多巴不会加大 MPTP 小鼠的步长至显著水平, 见实施例 7;

[0045] 图 15B 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明在给药后 20 分钟, 0.1mg/kg OM955 (化合物 2) 不会加大 MPTP 小鼠的步长至显著水平, 见实施例 7;

[0046] 图 15C 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明在给药后 20 分钟, 给予 0.1mg/kg OM955 (化合物 2) 和 1mg/kg 左旋多巴组合的小鼠显示 MPTP 处理小鼠的步长完全恢复至显著水平, 从而证实该组合的协同结果, 见实施例 7;

[0047] 图 16 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明代表性 PDE7 抑制剂 OM956 (化合物 3) 加大 MPTP 处理小鼠的步长, 在 0.5mg/kg 剂量后 20 分钟基线步长完全恢复, 见实施例 7;

[0048] 图 17 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明代表性 PDE7 抑制剂 OM056 (化合物 4) 加大 MPTP 处理小鼠的步长, 0.05mg/kg 剂量后 20 分钟基线步长完全恢复, 见实施例 7;

[0049] 图 18 是说明 MPTP 小鼠模型中墨水涂染爪步长试验的柱状图, 试验表明代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 以剂量依赖性方式加大 MPTP 处理小鼠的步长, 进一步证实了 OM69 和左旋多巴的组合使 MPTP 处理小鼠的步长超过累加性 (即协同) 增加, 见实施例 6。

[0050] 发明详述

[0051] 本发明是基于本发明的发明人预料不到的发现, 即在 1-甲基, 4-苯基, 1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 帕金森病 (PD) 小鼠模型中, 环核苷酸磷酸二酯酶 7 型 (PDE7) 的选择性抑制剂使运动功能显著改善。通过使用 MPTP 动物模型, 本发明的发明人证实在 MPTP 损伤小鼠中, 以相当于用左旋多巴治疗的方式, 但却以与要达到同等反应水平所需的左旋多巴剂量相比是预料不到的低的剂量, 给予选择性 PDE7 抑制剂可有效地恢复这些动物的步长。此外, 本发明的发明人证实, 当同时给予低于最佳剂量的左旋多巴和选择性 PDE7 抑制剂的组合时, 提供超出累加 (即协同) 效应, 也恢复 MPTP 损伤小鼠的步长至正常值。

[0052] I. 定义

[0053] 除非本文特别规定, 否则本文所使用的所有术语具有与本发明领域普通技术人员所理解的相同含义。本发明提供下列定义, 以便当该术语用于说明书和权利要求书以说明本发明时提供有关该术语的明确含义。

[0054] 本文所用术语“神经性运动障碍”是指以多巴胺信号转导缺乏或缺陷为特征的运动障碍, 临床表现为一种或多种与运动障碍病理有关的运动异常, 例如异常的不自主动作、静止性震颤、肌张力改变、动作难以启动 (运动过慢) 和 / 或姿势稳定性障碍。

[0055] 本文所用术语“帕金森病”是指以 4 种主要体征为特征的临床综合征: (1) 静止性震颤; (2) 强直, (3) 运动过慢, 和 (4) 缺乏姿势反射。

[0056] 本文所用术语“脑炎后帕金森综合征”是指在脑炎之后发生并假定是脑炎造成的帕金森综合征。

[0057] 本文所用术语“帕金森综合征”是指与帕金森病类似的任何类型的神经障碍, 以帕金森病的 4 种主要体征为特征: 静止性震颤、肌肉强直、运动过慢和缺乏姿势反射。

[0058] 本文所用术语“运动过慢”或“运动不能”是指缺乏自动或自发运动。

[0059] 本文所用术语“运动过度”或“反常运动”是指不自主动作过度或异常。

[0060] 本文所用术语“震颤”是指相对节律性的摆动性动作,它可以是由例如相对肌群的交替收缩产生(例如帕金森震颤)。

[0061] 本文所用术语“张力障碍”是指具有在动作结束时持续性收缩的不自主动作。

[0062] 本文所用术语“多巴胺反应性肌张力障碍”是指其中持续性肌肉收缩引起颤搐和重复性动作或姿势异常的神经性运动障碍,可通过增加多巴胺水平或提高经多巴胺能途径的信号转导的药物予以减轻。这种障碍可能与帕金森病、青少年型帕金森综合征、进行性核上性麻痹、皮质基底神经节变性(cortical basal ganglionic degeneration)、某些类型的多系统萎缩或 DYT3 X 连锁隐性张力障碍-帕金森综合征有关。

[0063] 本文所用术语“睡眠中周期性肢体运动”(PLMS)是指在睡眠期间患者腿部不自主地摆动或颤搐的障碍。如果这些动作导致睡眠障碍,则该综合征亦称周期性肢体运动障碍(PLMD)。

[0064] 本文所用术语“腿多动综合征”(RLS)是指一种病理生理不确定的神经障碍,其特征是通常当平躺时(像入睡时),尤其是在夜间发生的腿部疼痛、烧灼感、蠕动感或爬行感,急切地迫使腿部摆动,常常伴有难以入睡或保持安睡以及睡眠期间腿部不自主的颤搐。

[0065] 本文所用术语“夏-德雷格综合征”是指变性性神经障碍,其特征是直立性低血压、自主功能障碍(autonomic dysfunction)、膀胱功能障碍和帕金森样运动缺失(Parkinson's-like deficits in movement)。

[0066] 本文所用术语“多巴胺能药物”是指其功能是在中枢神经系统中提高或重复由多巴胺介导的作用的药物,包括多巴胺(如果可开发出临床上有效的递药方法)、多巴胺前体(例如左旋多巴)、多巴胺辅因子、多巴胺代谢酶的抑制剂、其它多巴胺受体激动剂和经代谢转化成多巴胺受体激动剂的前体化合物以及多巴胺重摄取抑制剂。

[0067] 本文所用术语“多巴胺受体激动剂”是指引起一个或多个多巴胺受体蛋白家族亚型活化的任何分子。

[0068] 本文所用术语“已知涉及帕金森病病理的分子靶标”包括儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、单胺氧化酶B(MAO-B)、多巴胺转运蛋白(DAT)、酪氨酸羟化酶、多巴胺受体、腺苷A_{2A}受体和加巴喷丁(gabapentin)受体。

[0069] 本文所用术语“已知与多巴胺信号转导途径有关的分子靶标”包括儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、单胺氧化酶B(MAO-B)、多巴胺转运蛋白(DAT)、酪氨酸羟化酶、多巴脱羧酶、多巴胺受体、N-甲基D-天冬氨酸(NMDA)受体、毒蕈碱性乙酰胆碱受体、γ-氨基丁酸(GABA)受体、腺苷酸环化酶、蛋白激酶A(PKA)、多巴胺和环腺苷酸调节的分子量为32,000的磷蛋白(DARPP32)及蛋白质磷酸酶-1。

[0070] 本文所用术语“治疗”包括减轻、缓解或掩蔽疾病或障碍的症状的对症疗法,以及用于防止、降低、停止或逆转待治疗病症或症状严重性发展的疗法。因此,术语“治疗”包括已确诊病症或症状的医药治疗性治疗和/或适当时的医药预防性给药。

[0071] 本文所用术语“治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常”是指逆转、缓解、改善或抑制一种或多种与神经性运动障碍有关的运动异常。

[0072] 本文所用术语“治疗神经性运动障碍”包括:(1)治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常;和/或(2)治疗神经性运动障碍。

[0073] 本文所用术语“治疗神经障碍”包括:(1)治疗与神经障碍病理有关的运动异常;

和 / 或 (2) 治疗神经障碍。

[0074] 本文所用术语“治疗”还包括根据有需要的受治疗者的情况,预防神经性运动障碍或预防与神经性运动障碍病理有关的运动异常或者预防神经障碍或预防与神经障碍病理有关的运动异常,包括运动异常的发作或与之有关的任何症状,以及降低运动异常的严重程度或防止运动异常的复发。

[0075] 本文所用术语“PDE7”一般是用来指由这两个基因(PDE7A 和 / 或 PDE7B) 中的一个或两个的转录物编码的所有翻译产物。

[0076] 本文所用术语“PDE7 抑制剂”是指直接或间接抑制或阻断 PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B 的磷酸二酯酶活性的物质,例如化合物、肽或核酸分子。在一些情况下,所述物质可直接与 PDE7 蛋白结合或相互作用。与 PDE7 结合的该物质可通过任何合适的方法,例如通过抑制 cAMP 或底物配体与 PDE7 的结合,起抑制或阻断 PDE7 活化的作用。在其它情况下,PDE7 抑制剂可间接地抑制 PDE7 活性,例如通过降低 PDE7 蛋白的表达。

[0077] 本文所用术语“哺乳动物受治疗者”包括所有哺乳动物,包括而不限于人、非人类灵长类、狗、猫、马、绵羊、山羊、牛、兔子、猪和啮齿动物。

[0078] II. 治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的 PDE7 抑制剂的用途

[0079] 多巴胺能系统通常与自主活动能力(locomotor activity) 和动作的调节密切相关。参见例如 Tran, A. H. 等, PNAS 102 :2117-2122, 2005 ;Tran, A. H. 等, PNAS 99 :8986-8991, 2002。例如,有证据表明多巴胺能功能障碍在以下疾病中起决定性作用:帕金森病、帕金森综合征、腿多动综合征(“RLS”)、周期性肢体运动障碍(PLMD)、睡眠中周期性肢体运动(“PLMS”)和其它运动障碍。在帕金森病中,纹状体中缺乏多巴胺,这是由于黑质和蓝斑中色素性神经元丧失与其多巴胺和去甲肾上腺素神经递质相应的丧失所导致的。在脑炎后帕金森综合征中,随着黑质神经元的丧失,中脑受到累及(Wyngaarden 和 Smith, Cecil Textbook of Medicine, 第17版,“Neurological and Behavioral Disease:第5节:TheExtrapyramidal Disorders ;Parkinsonism:(锥体外障碍:帕金森综合征)”,1985)。

[0080] 一般认为纹状体和其它基底核中的相对选择性多巴胺耗竭导致基底核-丘脑皮质运动原回路运动原区中冲动发放和同步化出现增加和失调(Wichmann 和 DeLong, Neuropsychopharmacology :The Fifth Generation of Progress, 第122章,“Neurocircuitry of Parkinson' s Disease(帕金森病的神经回路)”,2002)。

[0081] 基底核起通向锥体束运动系统的主要输入的作用。基底核包含5对核,包括:尾状核、豆状核、苍白球、底丘脑核和黑质。底丘脑核在间脑内。黑质位于中脑。尾状核、豆状核和苍白球位于大脑半球内,统称纹状体。尾状核和豆状核合起来被视为纹状体,用作通向基底核的神经输入的主要部位。纹状体接收来自大脑皮质所有部分和来自丘脑中央中核的输入。纹状体的主要输出是通向苍白球和黑质的网状带部分。黑质的背侧部分向纹状体发送输出(多巴胺能黑质纹状体途径),黑质的腹侧部分接收来自纹状体的纤维。

[0082] 图1表示健康哺乳动物受治疗者中脑基底核内的神经传递途径,其中“+”与阴影箭头表示刺激途径,“-”与空心箭头表示抑制途径。如图1所示,神经途径将基底核的输出途径与纹状体连接,所述基底核是一组功能上相关的皮质下核,包括苍白球外部(“GPe”)、苍白球内部(“GPi”)、黑质密部(“SNc”)和黑质网状部(“SNr”)。图1还表示将底丘脑核(“STN”)与 GPe、GPi 和 SNr 连接的途径。如图1所示,在健康受治疗者中,来自 SNc 内

的产多巴胺细胞的多巴胺 (“DA”) 向多巴胺 D1 受体 (“D1”) 发出刺激信号, 该受体一旦被激活, 便向 SNr 发出抑制信号, 并向 GPi 发出抑制信号。再如图 1 所示, 来自 SNc 内产多巴胺细胞的 DA 还向多巴胺 D2 受体 (“D2”) 发出抑制信号, 这就抑制了 D2 受体向 GPe 发送抑制信号。

[0083] 帕金森病突出的病理特征 (“PD”) 是投射到纹状体黑质密部 (SNc) 的多巴胺能神经元发生变性 (Forno, L. S., J. Neuropathol Exp Neurol 155 :259-272, 1996)。现已确定, 在帕金森病早期, 在纹状体感觉运动区中多巴胺消耗最大, 这与运动功能障碍的早期表现一致 (Kish, S. J. 等, N. Engl. J. Med. 318 :876-880, 1988)。

[0084] 在 PD 和帕金森综合征疾病中, SNc 内产多巴胺的细胞丧失, 导致通向纹状体的多巴胺能信号转导缺失。因为在健康受治疗者中, DA 通常通过 D1 受体激活通向 SNr 的抑制性纹状体输出 (见图 1), 所以该途径在 PD 中减弱。相反, 因为在健康受治疗者中, DA 通过 D2 受体抑制通往 GPe 的抑制性纹状体输出 (见图 1), 所以该途径在 PD 中增强。因此, 在 PD 中通向纹状体的多巴胺能信号转导缺失具有引起自丘脑到皮质的刺激途径的净抑制的净效应 (net effect)。

[0085] 环腺苷酸一磷酸 (cAMP) 是介导细胞对各种胞外刺激产生的生物应答的第二信使。当合适的激动剂与特定的细胞表面受体结合时, 腺苷酸环化酶被激活, 使腺苷三磷酸 (ATP) 转化成 cAMP。据推测, 激动剂诱导的细胞内 cAMP 的作用主要是由 cAMP 依赖性蛋白激酶的作用介导的。通过将核苷酸转运到细胞外, 或者通过环核苷酸磷酸二酯酶 (PDE) 的酶促切割, 来终止 cAMP 的胞内作用, 该酶将 3' - 磷酸二酯键水解形成 5' - 腺苷一磷酸 (5' -AMP), 这是一种无活性的代谢物。因此, PDE 的胞内酶家族在细胞中调节 cAMP 的水平。

[0086] 图 2A 表示提出的健康受治疗者体内多巴胺受体活化途径的模型。如图 2A 所示, 在健康受治疗者中, 黑质密部 (SNc) 中多巴胺能神经元产生的多巴胺 (DA) (用 3 个箭头表示) 结合并激活多巴胺 D1 受体, 这就导致腺苷酸环化酶被激活并增加 cAMP 水平。cAMP 激活蛋白激酶 A (“PKA”), 该酶调节胞内信号转导途径中下游元件的磷酸化, 导致神经元活化。如图 2A 所示, 据推测, 多巴胺受体激活的胞内信号转导途径受使 cAMP 水解成其 5' - 磷酸 (5' AMP) 的 PDE7 下调或拮抗。

[0087] 图 2B 表示提出的未接受治疗的患帕金森病 (PD) 受治疗者体内多巴胺受体活化途径的模型。如图 2B 所示, 在 PD 患者中, 含量减少的多巴胺 (DA) (与健康受治疗者的 3 个箭头相比, 用 1 个箭头表示) 可用来与多巴胺受体 (D1) 结合, 因为 SNc 内产多巴胺的细胞丧失, 导致通向纹状体的多巴胺能信号转导缺失 (参照图 1 中所示)。在 PD 患者中, 低水平的 DA 结合并激活多巴胺 D1 受体至较低程度, 这就导致腺苷酸环化酶的活化最小, cAMP 水平的增加减缓。因此, 蛋白激酶 A (“PKA”) 的活化程度较低, 进而又导致胞内信号转导途径的下游元件较少磷酸化, 神经元活化程度降低。如图 2B 所示, 据推测, 多巴胺受体激活的胞内信号转导途径量的降低受使 cAMP 水解成其 5' - 磷酸 (5' AMP) 的 PDE7 的进一步下调或拮抗, 导致与健康受治疗者相比, 活化 PKA 水平低下, 神经元活化降低。

[0088] 图 2C 表示提出的用 PDE7 抑制剂治疗的患帕金森病 (PD) 的受治疗者体内多巴胺受体活化途径的模型。如图 2C 所示, 在 PD 受治疗者中, 含量减少的多巴胺 (DA) (与健康受治疗者的 3 个箭头相比, 用 1 个箭头表示) 可用来与多巴胺受体 (D1) 结合, 因为 SNc 内产

多巴胺的细胞丧失,导致通向纹状体的多巴胺能信号转导缺失(参照图1中所示)。在PD受治疗者中,水平降低的DA结合并激活多巴胺D1受体至较低程度,导致了腺苷酸环化酶的活化最小,cAMP水平的增加减缓。然而,再如图2C中所示,有效抑制PDE7酶活性的PDE7抑制剂的存在阻断cAMP的水解,从而增加胞内cAMP水平,允许蛋白激酶A(“PKA”)活化至更正常的程度,这就调节了胞内信号转导途径下游元件的磷酸化,引起神经元活化增加。

[0089] 为了支持图2A-2C中所示的多巴胺信号转导模型,本发明的发明人发现给予抑制PDE7酶活性的PDE7抑制剂导致与运动障碍病理有关的运动异常(例如帕金森病)得到改善。本文所提供的数据证实PDE7抑制剂有效恢复肢体运动,正如在MPTP处理小鼠中通过前爪步长所测量的一样,而且在MPTP小鼠模型中,当PDE7抑制剂与左旋多巴组合时,观察到协同效应。根据本发明的发明人预料不到的发现,相信PDE7在脑部,尤其是在已知与运动有关的区域的突触后多巴胺信号转导中起作用。

[0090] 除帕金森病以外,基底核功能异常还涉及多种具有运动异常的神经障碍。这类神经障碍包括腿多动综合征(Henning, W. 等, Sleep 22:970-999, 1999)。因此,根据本文上述研究,我们认为PDE7抑制剂对这类神经性运动障碍可具有治疗效果。

[0091] 因此,虽然不希望受理论的束缚,但是我们认为PDE7抑制剂可用于通过抑制PDE7活性,从而防止基底核中cAMP的降解,来治疗以缺乏多巴胺受体信号转导等基底核功能异常为特征的神经障碍,例如帕金森病、脑炎后帕金森综合征、药物诱发的帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍(PLMD)、睡眠中周期性肢体运动(PLMS)和腿多动综合征(RLS)。因此我们认为PDE7抑制剂可用于治疗以运动异常为特征的这些和其它神经性运动障碍和神经障碍,这些障碍目前用左旋多巴、其它多巴胺激动剂或前体或其它多巴胺能药物治疗。

[0092] 在本发明的一些方面,PDE7抑制剂用于治疗与神经障碍病理有关的运动异常,不论这类障碍是否与多巴胺信号转导缺陷缺乏有关,其中对PDE7酶活性的这种抑制是PDE7抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。

[0093] 在一些实施方案中,本发明提供治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法,该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制PDE7酶活性的PDE7抑制剂,其中对PDE7酶活性的这种抑制是PDE7抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。在一些实施方案中,本发明提供改善运动障碍症状的方法,包括但不限于多巴胺受体胞内信号转导途径障碍,该方法包括给予抑制PDE7酶活性的PDE7抑制剂。在一些实施方案中,神经性运动障碍可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗。

[0094] 帕金森病

[0095] 帕金森综合征是由4种主要体征组成的临床综合征:(1)静止性震颤;(2)强直,(3)运动过慢,(4)缺乏姿势反射。运动过慢占帕金森症状和体征的大部分。帕金森综合征可分成下列病因组:原发性障碍亦称帕金森病,继发性获得性帕金森综合征(由于暴露于药物或毒素、之前的中风或脑炎所致)和“帕金森综合征叠加(Parkinsonism-plus)”综合征(帕金森患者的眼部运动受损、直立性低血压、小脑共济失调或痴呆)。

[0096] 黑质受损以及随之产生的纹状体多巴胺丧失导致帕金森综合征的运动过慢综合征。在帕金森病中,黑质和蓝斑存在色素性神经元丧失,其多巴胺和去甲肾上腺素神经递质也随之丧失。

[0097] PD 动物模型十分依赖于以下这一偶然发现：即全身性给予 MPTP (1- 甲基 -4- 苯基 -1,2,3,6- 四氢吡啶) 引起人、猴和啮齿动物黑质内特定神经元细胞死亡 (Jakowec, M. W. 等, *Comp. Med.* 54 (5) :497-513, 2004)。细胞死亡的模式使人联想到尸体解剖时在 PD 患者中观察到的模式。常用的帕金森病动物模型包括猴 MPTP 模型、大鼠 6-OHDA 模型和小鼠 MPTP 模型。如本文实施例 5-7 中所示, 可以使用 MPTP 损伤小鼠 PD 模型来评价用于本发明方法的 PDE7 抑制剂在以下方面的功效：减小或减少由 MPTP 诱导的其步长 (stride length)、网格步长 (grid step length) 和网格足过错 (grid foot faults) 方面的变化 (Tillerson, J. L. 等, *Exp. Neurol.* 178 (1) : ;80-90, 2002)。

[0098] 如实施例 5-7 中所示, 在 MPTP 处理小鼠中, PDE7 抑制剂有效恢复肢体运动。尽管治疗帕金森病的现有方法一般包括用多巴胺受体激动剂治疗, 在多巴胺信号转导减少的受治疗者体内, 本发明的方法针对对 PDE7 磷酸二酯酶活性的抑制以便提高 cAMP 水平, 从而引起 PKA 活性提高。据推测, PDE7 的抑制剂可能具有优于现有 PD 药物或降低这类药物的需求水平的优势。例如, 长期使用最常见的 PD 药物左旋多巴会引起严重的反常运动 (Bezard, E. 等, *Nat. Rev. Neurosci.* 2 (8) :577-88, 2001)。替代左旋多巴的任何 PD 药物可避免这种严重的副作用。

[0099] 再如实施例 5-7 中所示, PDE7 抑制剂和左旋多巴 (一种多巴胺受体激动剂) 的组合提供协同效应, 在 MPTP 处理小鼠中导致肢体运动甚至更大的改善。可供降低左旋多巴剂量的药物 (例如 PDE7 抑制剂) 与左旋多巴联用, 可延迟反常运动的发作。此外, 由于由左旋多巴疗法引起的多巴胺水平提高可能对黑质密部神经元造成氧化性损伤, 可供降低左旋多巴剂量的药物 (例如 PDE7 抑制剂) 可延迟该病的进程。因此, 本发明的 PDE7 抑制剂可与左旋多巴、其它多巴胺受体激动剂、多巴胺受体激动剂前体或其它多巴胺能药物联合给予、以组合剂型给予、同时 (即同一时间) 给予或序贯 (例如依次) 给予。

[0100] 腿多动综合征 (RLS)

[0101] 腿多动综合征 (RLS) 是同样涉及多巴胺系统的常见神经病症。RLS 是一种感觉运动障碍, 用于其诊断的主要强制性标准为：(1) 迫使腿部摆动, 通常伴有肢体不适感, (2) 在休息或不活动期间症状加重, (3) 通过运动症状得到改善, (4) 在傍晚或夜晚症状出现或加重 (Allen, R. P. 等, *SleepMed* 4 :101-119, 2003)。对于 RLS 诊断是常用但非必不可少的支持性标准, 包括存在睡眠中周期性肢体运动 (PLMS), 这是在睡眠期间下肢的不自主动作, 常常连续发生至少 4 次, 动作间的间隔为 5-90 秒钟 (Baier 等, *J. Neurological Sciences* 198 :71-77, 2002)。诊断 RLS 的其它支持性标准是易对低剂量多巴胺能治疗起反应 (Allen, R. P. 等, 同上)。在受累于帕金森病和其它形式的帕金森综合征的患者中, 出现严重的 RLS 和 PLMS (Poewe, W. 等, *Neurology* 63 :S12-S16, 2004)。

[0102] 已经确定 RLS 的发病机制以多巴胺能系统的神经功能障碍为特征。通过功能性成像研究 (Turjanski, N. 等, *Neurology* 52 :932-37, 1999) 及人 RLS 和 PLMS 的强效多巴胺激动剂治疗 (Montplaisier, J. 等, *Neurology* 52 :938-43, 1999; Trenkwalder, C. 等, *Neurology* 62 :1391-97, 2004; 及 Walters, A. S. 等, *Mov. Disord.* 19 :1414-23, 2004), 表明多巴胺能系统涉及 RLS。例如, 用下列用来治疗帕金森病的药物的临床研究表明对 RLS 具有功效：(1) DA 激动剂：Sinemet™ (左旋多巴、卡比多巴)、Stalevo™ (左旋多巴、卡比多巴、恩他卡朋 (entacapone))、Permax™ (培高利特 (pergolide))、

Parlodel™(溴隐亭(bromocryptine));(2)D2、D3、D4激动剂:Mirapex™(普拉克索(pramipexole))、Requip™(罗匹尼罗(ropinirole));(3)mACh拮抗剂:Cogentin™(本扎托品(benzotropine))、Artane™(苯海索(trihexyphenidyl));(4)MAO抑制剂:Eldepryl™(司来吉兰(selegiline));(5)COMT抑制剂Tasmar™(托卡朋(tolcapone))。参见例如 Hentz J.G. 等, Mov Disord. 15(2):324-7(2000);Walters A.S. 等, Ann Neurol 24(3):455-8(1988);Trenkwalder C. 等, Neurology 62(8):1391-7(2004);Polo O. 等, ClinNeuropharmacol 31(1):61(2007);Kohnen R. Sleep 22(8):1073-81(1999);以及 Shapiro C. Mov Disord 17(2):398-401(2002)。

[0103] 本文所述MPTP小鼠模型被普遍公认为帕金森病模型,但它还可代表特征是多巴胺不足的障碍或响应多巴胺受体激动剂的障碍(例如腿多动综合征)。因此,如同上的实施例5-7中所证实的一样,在MPTP处理动物中所观察到的反应,可适度地视作可转换成腿多动综合征及特征是多巴胺不足的其它运动障碍,例如多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、睡眠中周期性肢体运动(PLMS)和图雷特综合征。

[0104] 周期性肢体运动障碍(PLMD)/睡眠中周期性肢体运动(PLMS)

[0105] 周期性肢体运动障碍(PLMD)是以睡眠期间周期性肢体运动(PLMS)继发的睡眠障碍为特征的综合征。虽然常与RLS有关(Manconi M. 等, Sleep Med. 8(5):491-7(2007);Haba-Rubio J. 等, Neurophysiol Clin. 33(4):180-4(2003)),但是在下面的情况下也可观察到PLMD:脊髓损伤(De Mello M.T. 等, Spinal Cord. 42(4):218-21(2004))、嗜眠症(Hornyak M. 等, Sleep Med Rev. 10(3):169-77(2006))、其它睡眠障碍(Hornyak, 2006supra, Saletu M. 等, Hum Psychopharmacol. 16(2):177-187(2001))或尿毒症(Walker S.L., 等, Sleep 19(3):214-8(1996))。

[0106] 在不存在可识别的主要病理时可发生PLMD(Vetrugno R. 等, NeurolSci. 28增刊1:S9-S14(2007);Hornyak, 2006, 同上)。在所有这些情况下,用左旋多巴(Wolkove N. 等, CMAJ. 176(10):1449-54(2007);De Mello M.T. 等, 2004, 同上)或多巴胺能激动剂(Manconi M. 等, Sleep Med. 8(5):491-7(2007);Haba-Rubio J. 等, Neurophysiol Clin. 33(4):180-4(2003);Saletu M. 等, Hum Psychopharmacol. 16(2):177-187(2001))观察到的临床改善表明多巴胺信号转导是主要功能障碍。因此,由于PLMD和PLMS以多巴胺信号转导功能障碍为特征并可用左旋多巴治疗,所以我们认为当单独或与左旋多巴或其它多巴胺受体激动剂联合同时或序贯给予有需要的受治疗者时,PDE7抑制剂可用于治疗PLMD和/或PLMS。老年大鼠动物模型(参见Baier P.C. 等, J Neurol Sci. 15:198(1-2):71-7(2002))可用来评价PDE7抑制剂治疗PLMS的功效。

[0107] 包括夏-德雷格综合征在内的多系统萎缩

[0108] 多系统萎缩是一组进行性神经变性疾病,包括夏-德雷格综合征、橄榄体脑桥小脑萎缩和纹状体黑质变性。特征性症状包括帕金森样运动异常、直立性低血压、膀胱功能障碍和小脑功能障碍(Vanacore N., JNeural Transm. 112(12):1605-12(2005)。α突触核蛋白沉积于这两种疾病的尸体解剖样品中的发现,表明了与帕金森病的病理相似性(Yoshida M., Neuropathology 27(5):484-93(2007);Wenning G.K. 等, Acta Neuropathol. 109(2):129-40(2005);Moore D.J. 等, Annu Rev NeuroSci. 28:57-87(2005)。左旋多巴通常用于减轻帕金森症状的疗法中,估计其反应速度介于33%和

60%之间 (Gilman S. 等, J Neural Transm. 112(12) :1687-94(2005) ;Colosimo C. 等, J Neural Transm. 112(12) :1695-704(2005))。由于一些多系统萎缩疾病 (包括夏 - 德雷格综合征) 可用左旋多巴治疗, 因此我们认为当单独给予或与左旋多巴、多巴胺受体激动剂或其它多巴胺能药物联合同时或序贯给予有需要的受治疗者时, PDE7 抑制剂可用于治疗对用多巴胺能药物治疗有治疗反应的多系统萎缩疾病的这些类型, 例如夏 - 德雷格综合征。已知 MPTP 模型是预测多系统萎缩 (包括夏 - 德雷格综合征) 的模型 (Stefanova N. 等, Trends Neurosci. 28(9) :501-6(2005))。多系统萎缩的动物模型 (参见 Stefanova N. 等, Trends Neurosci. 28(9) :501-6(2005)) 还可用来评价 PDE7 抑制剂治疗多系统萎缩疾病 (例如夏 - 德雷格综合征) 的功效。

[0109] 因此, 根据本文上述研究, 我们认为当单独给予或与多巴胺受体激动剂联合同时或序贯给予有需要的受治疗者时, PDE7 抑制剂可用于治疗对用多巴胺能药物治疗有治疗反应的多系统萎缩疾病, 包括夏 - 德雷格综合征。

[0110] 图雷特综合征

[0111] 图雷特综合征是其中主要症状为刻板动作和秽语症 (vocalizations) 或抽搐 (tics) 的神经发育障碍 (Müller N. Dialogues Clin Neurosci. 9(2) :161-71(2007) ; Leckman JF, 等, J Child Neurol. 21(8) :642-9(2006))。解剖和神经成像证据表明该病涉及基底核的多巴胺能系统 (Müller N. Dialogues Clin Neurosci. 9(2) :161-71(2007))。虽然阻断 D2 多巴胺受体的抗精神病药是用于治疗图雷特综合征致残抽搐的药物类别之一, 但是用多巴胺受体激动剂培高利特的双盲交叉临床研究表明该药显著改善抽搐 (Gilbert DL 等, Neurology. 28 ;54(6) :1310-5(2000))。

[0112] 由于图雷特综合征的特征是多巴胺信号转导功能障碍, 并可用多巴胺激动剂培高利特治疗, 因此, 我们认为当单独给予或与多巴胺受体激动剂或其它多巴胺能药物结合同时或序贯给予有需要的受治疗者时, PDE7 抑制剂可用于治疗图雷特综合征。

[0113] 亨廷顿舞蹈病

[0114] 亨廷顿舞蹈病是进行性遗传决定的致命性神经疾病, 其特征是急动 (舞蹈病), 严重程度增加并伴有认知减退, 最终导致完全无法运动, 日常生活的活动性功能丧失。纹状体内中等棘状神经元的选择性丧失是主要的病理特征, 一般被认为是舞蹈病动作 (choreic movement) 的首要病因 (Standaert DG 和 Young AB, Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, 第 10 版, McGraw-Hill New York 2001 ;第 22 章, 第 562-564 页)。没有药物可用于减缓亨廷顿舞蹈病的进程速度, 且极少数药物可连续用于改善症状。最新综述将抗精神病药例如氟哌啶醇 (haloperidol) 引用为“可能用于”治疗舞蹈病动作。同一综述指出左旋多巴和多巴胺激动剂普拉克索“可能用于”治疗强直 (Bonelli RM 等, Curr Pharm Des. 12(21) :2701-20. (2006))。少数报道提出左旋多巴或普拉克索可用于其中以帕金森症状为主的亨廷顿舞蹈病的特定变型 (韦斯特法尔变型 (Westphal variant)) (Bonelli RM 等, Clin Neuropharmacol. 25(1) :58-60(2002) ;Reuter I, J Neurol Neurosurg Psychiatry. 68(2) :238-41(2000))。然而, 没有进行对照试验。因此, 有可能的是, PDE7 抑制化合物可用于对左旋多巴、其它多巴胺激动剂或前体或者其它多巴胺能药物起反应的亨廷顿舞蹈病患者。

[0115] 多巴胺反应性肌张力障碍:

[0116] 多巴胺反应性肌张力障碍 (DRD) 是早期发作性进行性且主要由遗传决定的神经疾病,其特征是弥散性强直 (diffuse rigidity) 和其它帕金森样症状 (Segawa M 等, Adv Neurol. 14 :215-33(1976))。在纹状体中观察到多巴胺耗竭,但神经末梢却完整无缺。DRD 的主要病因是遗传性缺乏 GTP 环化水解酶,该酶是四氢生物蝶呤合成 (Segawa 病) 中的限速酶,四氢生物蝶呤接着又是酪氨酸羟化酶的重要辅因子 (Ichinose H 等, J BiolChem. 380(12) :1355-64(1999))。这种缺乏导致黑质纹状体末梢中的多巴和多巴胺耗竭。用左旋多巴 / 卡比多巴组合 (例如息宁 (Sinemet)) 治疗取得重大成功,并成为该病的治疗标准 (Jeon B, J Korean Med Sci. 12(4) :269-79(1997))。因为该病易对左旋多巴和中等棘状神经元中多巴胺信号转导途径的完整性起反应,所以我们认为也将证实本发明的 PDE7 抑制化合物可有效治疗 DRD。

[0117] III. PDE7 抑制剂

[0118] 根据环核苷酸磷酸二酯酶 7 型 (PDE7) 的主要氨基酸序列和截然不同的酶促活性, PDE7 被鉴定为独特家族。被鉴定为 PDE7 (PDE7A 和 PDE7B) 的 PDE 基因编码 cAMP 特异性 PDE。PDE7 的生化 and 药理特性具有高亲和力 cAMP 特异性 PDE ($K_m = 0.2 \mu M$), 它不受 cGMP 影响也不受其它 PDE 选择性抑制剂影响。PDE7 酶选择性分解 cAMP, 并被表征为不受咯利普兰 (rolipram) 抑制的酶, 咯利普兰是独特的 cAMP 特异性 PDE 家族的 PDE4 的选择性抑制剂。在 PDE7 家族内鉴定出两个亚型, 即 PDE7A (Michael, T. 等, J Biol. Chem. 268(17) : 12925-12932, 1993; Han, P. 等, J Biol. Chem. 272(26) :16152-16157, 1997) 和 PDE7B (美国专利第 6, 146, 876 号; Gardner, C. 等, BioChem. Biophys. Res. Commun. 272(1) :186-192, 2000; Sasaki, T. 等, BioChem. Biophys. Res. Commun. 271(3) :575-583, 2000)。两个基因产物的 C 端催化结构域具有 70% 同一性 (Hetman J. M. 等, PNAS 97(1) :472-476 (2000))。

[0119] PDE7A 具有 3 个剪切变异体 (PDE7A1、PDE7A2 和 PDE7A3); 通过 N 端和 C 端两端的可变剪接产生这些变异体 (Bloom, T. J. 和 J. A. Beavo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93 : 14188-14192, 1996)。PDE7A 的核苷酸序列, 即转录物变异体 1, 容易通过登录号 NM_002603 在公共数据库中获取。人 PDE7A1 蛋白 (SEQ ID NO :2, 由 SEQ ID NO :1 编码) 具有 456 个氨基酸, 沿还原 SDS-PAGE 迁移的表观分子量为 53-55kDa。

[0120] PDE7A 的核苷酸序列, 即转录物变异体 2, 容易通过登录号 NM_002604 在公共数据库中获取。人 PDE7A2 蛋白 (SEQ ID NO :4, 由 SEQ ID NO :3 编码) 具有 424 个氨基酸。

[0121] PDE7A 蛋白在羧基端具有约 270 个氨基酸区域, 与其它水解 cAMP 的 PDE 的类似区域具有显著相似性 ($\sim 23\%$ 同源性)。该区域起催化结构域的作用。该蛋白质的氨基端区域不同于其它 PDE 的此区域, 并可能介导该酶家族所独有的特殊性质和调节性质。

[0122] 人 PDE7B 的核苷酸序列容易通过登录号 NM_018945 在公共数据库中获取, 以 SEQ ID NO :6 提供, 由 SEQ ID NO :7 编码。研究报道了 PDE7B 的 3 个剪切变异体 :PDE7B1、PDE7B2 和 PDE7B3。PDE7B 公布于 W001/62904、美国专利第 6, 146, 876 号。

[0123] PDE7B2 和 PDE7B3 两者均具有独特的 N 端序列。人 PDE7B 基因产物在还原 SDS-PAGE 上的表观分子量为 53-55kDa (Sasaki, T., Kotera, J., Omori, K., Biochemical J. 361 : 211-220, 2002)。同 PDE7A 中一样, PDE7B 具有十分保守的大约 270 个氨基酸区域, 这是所有 PDE 羧基端常见的区域, 起催化结构域的作用。与 PDE7A 蛋白相似, PDE7B 蛋白质的氨基端区域不同, 可能解释 PDE 家族所独有的特殊性质和调节性质。PDE7B 蛋白在催化结构域内

显示与其它 cAMP 依赖性 PDE 同源 (23%)。按照 WO 2004/044196, PDE7B 多肽与 PDE7A 有 61% 同源性。

[0124] 比起其它 PDE 家族, PDE7 也仅位于哺乳动物受治疗者体内。在大多数经分析的组织中检测出有 PDE7A 表达, 包括脑、心脏、肾、骨骼肌、脾和子宫 (Bloom 等, PNAS 93:14188, 1996)。在脑内, PDE7A 广泛分布在神经元细胞群和非神经元细胞群中 (Miro 等, Synapse 40:201, 2001)。PDE7A 广泛表达于脑内 (包括基底核和黑质), 为 PDE7A 在运动控制以及其它脑功能中所起的作用提供了理论基础。

[0125] 虽然 PDE7A 表达广泛分布于脑组织内, 但是 PDE7B 脑部表达受到更严格的限制, 并高度富集于与运动控制有关的区域, 例如纹状体 (Reyes-Irisarri 等, Neuroscience 132:1173, 2005)。然而, 虽然脑组织中存在 PDE7, 但是在本申请公开的数据之前, 没有数据将 PDE7 与任何特定 CNS 疾病 (例如帕金森病) 联系起来。相反, 根据表明用小干扰 RNA (siRNA) 抑制 PDE7 可调节 T 细胞增殖的研究, 将 PDE7 抑制剂的使用集中在免疫应用方面。参见 Rotella, D. P., Drug Discovery 2007, 22-23。

[0126] 与图 2A-2C 中所示的多巴胺信号转导模型一致, PDE7A 和 PDE7B 的表达模式与多巴胺能系统重叠, 支持了这样的理论, 即 PDE7 参与调节运动功能。因此, 虽然不希望受理论的束缚, 但是我们认为通过抑制 PDE7 治疗 PD 起促进多巴胺信号转导的作用, 与多巴胺受体激动剂相比, 可以是用于治疗 PD 的选择性机制。我们还认为 PDE7 抑制剂可用作与一种或多种多巴胺受体激动剂或其它多巴胺能药物联合 (即在组合产品中, 同时或序贯) 给药的治疗剂。

[0127] 在本发明方法的实施中, 抑制 PDE7 磷酸二酯酶活性的代表性 PDE7 抑制剂包括: 与 PDE7 结合并抑制 PDE7 酶活性的分子 (例如与 PDE7 结合并降低酶促活性的小分子抑制剂或封闭性肽 (blocking peptide)), 以及在转录和 / 或翻译水平上降低 PDE7 表达的分子 (例如 PDE7 反义核酸分子、PDE7 特异性 RNAi 分子和 PDE7 核酶), 从而防止 PDE7 切割 cAMP。PDE7 抑制剂可单独作为主要疗法或者可与其它治疗药 (例如多巴胺受体激动剂) 组合作为辅助疗法使用以提高治疗益处, 正如上文所论述的一样。

[0128] PDE7 抑制的特征是由于按照本发明方法给予 PDE7 抑制剂所产生的至少一种下列变化: 抑制 PDE7 依赖性酶促切割 cAMP 中的 3' - 磷酸二酯键形成 5' - 腺苷一磷酸 (5' -AMP) (例如按实施例 1 中所述方法测定)、降低 PDE7 的基因或蛋白质表达水平, 例如通过基因表达分析 (例如 RT-PCR 分析) 或蛋白质分析 (例如蛋白质印迹) 测定。

[0129] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂是抑制 PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B 两者表达的分子或组合物, 例如与对应于靶 PDE7 基因的细胞 mRNA 和 / 或基因组 DNA 特异性杂交以抑制其转录和 / 或翻译的反义核苷酸或抑制性小核苷酸 (例如 siRNA), 或者特异性切割靶 PDE7 的 mRNA 的核酶。

[0130] PDE7 抑制剂的效价强度

[0131] 在一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂足以强效抑制 PDE7 (PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B) 的酶活性的化合物, 其 $IC_{50} \leq 1 \mu M$, 优选小于或约为 $0.1 \mu M$ 。在一个实施方案中, PDE7 抑制剂足以强效抑制 PDE7 (PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B) 的酶活性, 其 IC_{50} 为约 0.1nM 至约 500nM。在一个实施方案中, PDE7 抑制剂强效抑制 PDE7 (PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B) 的酶活性, IC_{50} 为约 1nM 至约 100nM。

[0132] 用于测定 PDE7 (PDE7A 或 PDE7B) 抑制剂的 IC_{50} 的代表性方法如本文实施例 1 中提供,且是本领域众所周知的,例如披露于 Bardelle 等人的闪烁亲近测定法 (SPA) (Bardelle 等, Anal Biochem 15 :275(2) :148-55(1999))。

[0133] PDE7A 或 PDE7B 选择性抑制剂

[0134] 在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂是 PDE7A 抑制剂。在一个实施方案中, PDE7A 抑制剂强效抑制 PDE7A 的酶活性,其 IC_{50} 约为 0.1nM 至约 500nM。在一个实施方案中, PDE7A 抑制剂的 IC_{50} 约为 1nM 至约 100nM。用于测定 PDE7A 抑制剂的 IC_{50} 的一个合适实验采用在杆状病毒系统中表达的重组人 PDE7A2 酶。该实验方法是 SPA 测定法 (Bardelle 等,同上) 的改动方法。用于测定 PDE7A 抑制的一个示例性测定法见实施例 1。

[0135] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂具有针对 PDE7A 的同工酶选择性活性。PDE7A 选择性抑制剂降低 PDE7A 活性超过降低 PDE7B 活性的至少 2 倍,更优选至少 10 倍、至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍。在一些实施方案中, PDE7A 抑制剂是抑制 PDE7A 活性的选择性超出抑制任何其它 PDE (PDE1-6、7B 和 8-11) 酶活性的至少 10 倍 (例如至少 20 倍或至少 50 倍或至少 100 倍) 的抑制剂。

[0136] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂是 PDE7B 抑制剂。由于因 PDE7B 表达受限制以及在与运动控制有关的脑区 (例如纹状体) 中高水平表达可能降低副作用,因此 PDE7B 的抑制剂可用于治疗神经性运动障碍,例如帕金森病。

[0137] 在一个实施方案中, PDE7B 抑制剂的 IC_{50} 约为 0.1nM 至约 500nM。在一个实施方案中, PDE7B 抑制剂足以强效抑制 PDE7B 的酶活性,其 IC_{50} 约为 0.1nM 至约 500nM。在一个实施方案中, PDE7B 抑制剂的 IC_{50} 约为 1nM 至约 100nM。用于测定 PDE7B 抑制剂 IC_{50} 的方法是本领域众所周知的,例如 Bardelle 等人 (同上) 披露的测定法。用于测定 PDE7AB 抑制的示例性测定法见实施例 1。

[0138] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂具有针对 PDE7B 的同工酶选择性活性。PDE7B 选择性抑制剂降低 PDE7B 活性超过降低 PDE7A 活性的至少 2 倍,更优选至少 10 倍、至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍。在一些实施方案中, PDE7B 抑制剂是抑制 PDE7B 活性的选择性超过任何其它 PDE (PDE1-6、7A 和 8-11) 酶活性的至少 10 倍 (例如至少 20 倍或至少 50 倍或至少 100 倍) 的抑制剂。

[0139] 与其它 PDE 相比的 PDE7 的选择性

[0140] 在一些实施方案中,抑制 PDE1B 活性的 PDE7 抑制剂的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 5 倍以上 (例如至少 10 倍、至少 20 倍或至少 50 倍或至少 100 倍)。换句话说, PDE7 抑制剂在抑制 PDE7A 或 PDE7B 活性 (PDE7 抑制剂对 PDE7A 或 PDE7B 同工酶哪一个具有最大作用) 时,比它在抑制 PDE1B 活性时更强效 (达 5 倍、10 倍、20 倍、50 倍或 100 倍)。举例来说,对于本说明书的目的,该性质可甚至更简单地表述为 PDE7 抑制剂在抑制 PDE7 活性时比它抑制 PDE1B 活性时更强效 (达 5 倍、10 倍、20 倍、50 倍或 100 倍)。

[0141] 根据小鼠中 PDE1B 基因缺失刺激多巴胺代谢并使动物对多巴胺能激动剂的作用变得敏感的报道 (Siuciak 等, Neuropharmacology 53(1) :113-23(2007)),对 PDE7 和 PDE1B 两者的双重抑制可在运动障碍治疗中提供额外益处。

[0142] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE10 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50}

和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 5 倍以上（例如至少 10 倍或至少 20 倍或至少 50 倍或至少 100 倍）。根据 PDE10 选择性抑制剂引起纹状体中 cAMP 水平升高的报道 (Siuciak J. A. 等, *Neuropharmacology* 51(2):386-96(2006)), 对 PDE7 和 PDE10 两者的双重抑制可在运动障碍治疗中提供额外益处。

[0143] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE3 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上（例如至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍）。这是因为有研究表明给予心力衰竭患者 PDE3 选择性抑制剂增加他们的死亡率 (Packer M. 等, *N Engl JMed.* 325(21):1468-75(1991))。

[0144] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上（例如至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍）。这是因为研究显示, 小鼠 PDE4 基因之一的缺失导致心肌病 (Lehnart S. E. 等, *Cell* 123(1):25-35(2005))。

[0145] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE3 活性和 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上（例如至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍）。

[0146] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE8 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上（例如至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍）。

[0147] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE4 活性和 PDE8 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上（例如至少 20 倍、至少 50 倍或至少 100 倍）。按照该实施方案, 已知特异性 / 优先水解 cAMP 的 PDE 家族包括 PDE4、PDE7 和 PDE8。

[0148] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂抑制 PDE1、PDE2、PDE3、PDE4、PDE8、PDE10 和 PDE11 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者的 10 倍以上。按照该实施方案, 已知特异性 / 优先水解 cAMP 的 PDE 家族包括 PDE4、PDE7 和 PDE8, 且 PDE1、PDE2、PDE3、PDE10, PDE11 家族针对 cAMP 和 cGMP 显示出相当大的活性。

[0149] 在一些实施方案中, PDE 抑制剂是这样的选择性 PDE7 抑制剂, 即抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是抑制 PDE1-6 和 PDE8-11 酶家族的任何其它 PDE 酶的抑制剂 IC_{50} 的 1/10 以下（例如 1/20、1/50、或 1/100）。

[0150] 例如, 可通过将药物抑制 PDE7 (PDE7A、PDE7B 或 PDE7A 与 PDE7B) 酶活性的能力与其抑制其它 PDE 家族的 PDE 酶的能力进行比较, 来鉴定选择性 PDE7 抑制剂。例如, 可测定药物抑制 PDE7 活性以及 PDE1、PDE2、PDE3、PDE4、PDE5、PDE6、PDE8、PDE9、PDE10 和 PDE11 的能力, 来对药物进行评价。本文实施例 2 中提供了将药物抑制 PDE7 酶活性的能力与抑制其它 PDE 家族的 PDE 酶的能力进行比较的示例性方法。可通过标准体外、体内或离体测定法, 例如本文所述测定法, 来测定抑制各个 PDE (1-6 和 8-11) 同工酶的 IC_{50} 与抑制 PDE7 的 IC_{50} 的比率（即较敏感的 PDE7A 或 PDE7B）。

[0151] 与已知涉及神经性运动障碍的其它非 PDE 分子靶标相比的 PDE7 选择性

[0152] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂对 PDE7 有选择性, 且对已知或被认为是涉及神经性运动障碍病理的非 PDE 分子靶标基本无活性。在一些实施方案中, PDE7 抑制剂是这样的

PDE7 抑制剂,其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是对以下其它分子靶标具有抑制活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下(例如 1/5 以下、1/10 以下,例如 1/20 以下、1/50 以下或 1/100 以下):(i) 已知涉及选自以下神经性运动障碍病理的靶标:帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍(PLMD)、睡眠中周期性肢体运动(PLMS)和腿多动综合征(RLS),或(ii)治疗上有效的治疗疾病的其它药物所作用的分子靶标。

[0153] 在其它实施方案中,PDE7 抑制剂对 PDE7 有选择性,且对已知涉及帕金森病病理的非 PDE 分子靶标基本无活性。在一些实施方案中,PDE7 抑制剂是这样 PDE7 抑制剂,其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者是对以下其它分子靶标具有抑制活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下(例如 1/5 以下、1/10 以下、1/20 以下、1/50 以下或 1/100 以下):(i) 已知涉及帕金森病病理的靶标,例如儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、单胺氧化酶 B(MAO-B)、多巴胺转运蛋白(DAT)、酪氨酸羟化酶、多巴胺受体、腺苷 A_{2A} 受体、毒蕈碱性乙酰胆碱受体、N-甲基 D-天冬氨酸(NMDA)受体、 γ -氨基丁酸(GABA)受体和加巴喷丁受体,或(ii)治疗上有效的治疗帕金森病的其它药物所作用的分子靶标。用于将某一药物抑制 PDE7 酶活性的能力与其抑制已知涉及帕金森病病理的其它分子靶标的能力进行比较的示例性方法见本文实施例 4。

[0154] 在其它实施方案中,PDE7 抑制剂对 PDE7 有选择性,且对已知与多巴胺信号转导途径有关的非 PDE 分子靶标基本无活性。在一些实施方案中,PDE7 抑制剂是这样的 PDE7 抑制剂,其抑制 PDE7A 活性的 IC_{50} 和抑制 PDE7B 活性的 IC_{50} 中的较小者具有对已知与多巴胺信号转导途径有关的以下其它分子靶标具有活性的药物 IC_{50} 的 1/2 以下(例如 1/5 以下、1/10 以下,例如 1/20 以下、1/50 以下或 1/100 以下):例如儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、单胺氧化酶 B(MAO-B)、多巴胺转运蛋白(DAT)、酪氨酸羟化酶、多巴脱羧酶、多巴胺受体、腺苷酸环化酶、蛋白激酶 A(PKA)、多巴胺和环腺苷酸调节的分子量为 32,000 的磷蛋白(DARPP32)及蛋白质磷酸酶-1。用于将某一药物抑制 PDE7 酶活性的能力与其抑制已知与多巴胺信号转导途径有关的其它分子靶标的能力进行比较的示例性方法见本文实施例 4。

[0155] PDE7 抑制剂的类型

[0156] PDE7 抑制剂可以是任何类型的物质,包括但不限于化合物、蛋白质或多肽、肽模拟物、核酸分子或核酶。在一些实施方案中,PDE7 抑制剂是小分子抑制剂,包括具有低分子量(即小于约 450g/摩尔)的天然物质和合成物质,例如肽、肽模拟物和非肽抑制剂,例如化合物。

[0157] 化合物:

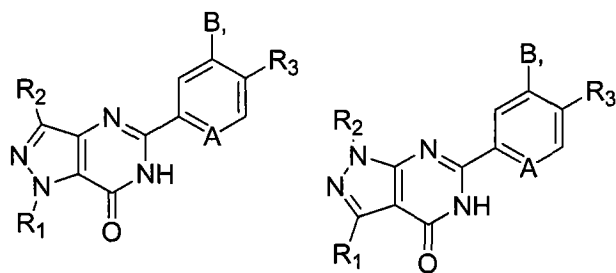
[0158] 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂包括可以通过常规途径(例如口服、肌内、皮下、经皮、经口腔、静脉内等)进入血流并最终通过血管系统穿过血脑屏障以抑制脑内 PDE7 的分子。因此,对于这些给药方法,PDE7 抑制剂具有穿过血脑屏障的能力。下文所述的具有穿过血脑屏障能力的这些 PDE 抑制剂(例如分子量小于约 450g/摩尔且是足够亲脂的 PDE 抑制剂),当通过最终转运到脑部血流中的途径给予时,可用于本发明的方法。

[0159] 下面描述了用于本发明方法的示例性 PDE7 抑制剂。

[0160] 在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 EP 1 454 897、WO 2003/053975 和 US 20050148604 的化合物,所述各专利和专利申请通过引用

以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0161]



[0162] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0163] A 表示 N 或 CR₄,

[0164] B 表示氢原子或卤素原子,

[0165] R₁ 表示任选取代的 C₃₋₇ 环烷基或叔丁基,

[0166] R₂ 表示氢、甲基或乙基,

[0167] R₃ 表示氢、硝基、氰基或卤素原子、NR₅R₆、C(=X)R₇、SO₂NR₅R₆、OR₈、NR₈CONR₅R₆、NR₈SO₂R₉、NR₈CO₂R₉、杂芳基、任选取代的 C₁₋₃ 烷基、任选取代的 C₁₋₆ 烯基或者任选取代的饱和或不饱和的杂环烷基,

[0168] R₄ 表示氢,或需要时被一个或多个氟原子取代的 C₁₋₃ 烷氧基,

[0169] R₅ 和 R₆ 相同或不同,表示氢原子、任选取代的 C₁₋₆ 烷基、任选取代的杂环烷基或任选取代的酰基,或者与它们所连接的氮原子一起形成氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、吗啉代、硫代吗啉代、哌嗪基或高哌嗪基,这些基团的每一个被以下基团任选取代:任选取代的 C₁₋₄ 烷基、OH、C₁₋₃ 烷氧基、CO₂H、NR₅R₆、氧代基、NR₉COR₇ 或 C(=O)R₇,

[0170] R₇ 表示任选取代的 C₁₋₆ 烷基、OH、OR₈ 或 NR₅R₆,

[0171] R₈ 表示氢、任选取代的 C₁₋₆ 烷基或任选取代的杂环烷基,

[0172] R₉ 表示任选取代的 C₁₋₆ 烷基,

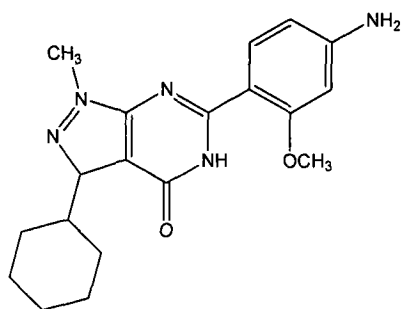
[0173] X 表示 O、S 或 NH。

[0174] 关于上述化合物,“任选取代(的)”是指任选取代的直链、支链或环状烷基,例如甲基、乙基、丙基或环己基;羟基;氰基;烷氧基,例如甲氧基或乙氧基;任选取代的氨基,例如氨基、甲基氨基或二甲基氨基;任选取代的酰基,例如乙酰基或丙酰基;羧基;任选取代的芳基,例如苯基或萘基;任选取代的杂芳基,例如吡啶基、噻唑基、咪唑基或吡唑基(pyrazyl);任选取代的饱和或不饱和的杂环烷基,例如哌嗪基或吗啉基(morphonyl);任选取代的氨基甲酰基;任选取代的酰氨基;卤素原子,例如氯、氟或溴;硝基;任选取代的磺基;任选取代的磺酰胺基;氧代基;脲基;以及任选取代的直链、支链或环状烯基,例如乙烯基、丙烯基或环己烯基。

[0175] 杂芳基如 R³ 的实例包括 5-7 元具有 2-8 个碳原子并含有 1-4 个由氧原子、氮原子或硫原子组成的杂原子的单环杂芳基,以及包含两个或更多个这类相同或不同的单环化合物稠合在一起的多环杂芳基,单环杂芳基和多环杂芳基的实例为吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噻唑基、吡啶基、吡唑基(pyrazyl)、吡啶基、喹啉基、异喹啉基和四唑基。

[0176] 在一个实施方案中,用于本发明的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0177]

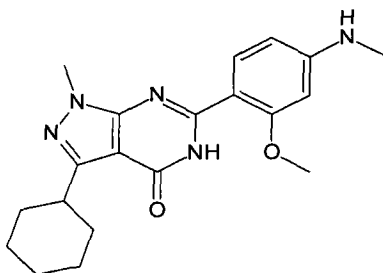
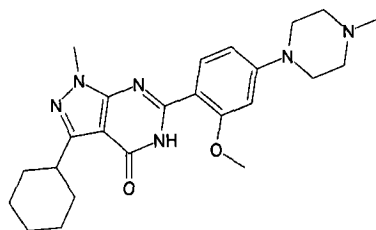
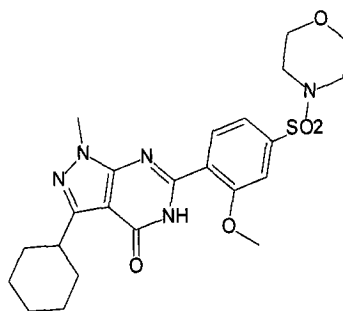


化合物 1。

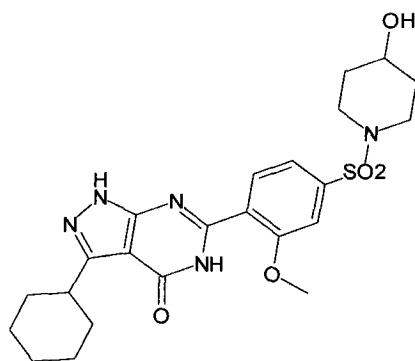
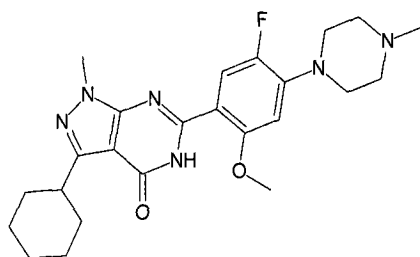
[0178] 实施例 1 和实施例 2 描述了化合物 1 在抑制所选的 PDE 中的活性。实施例 5 和实施例 6 描述了化合物 1 在 MPTP 帕金森病模型中的疗效。

[0179] 在其它实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

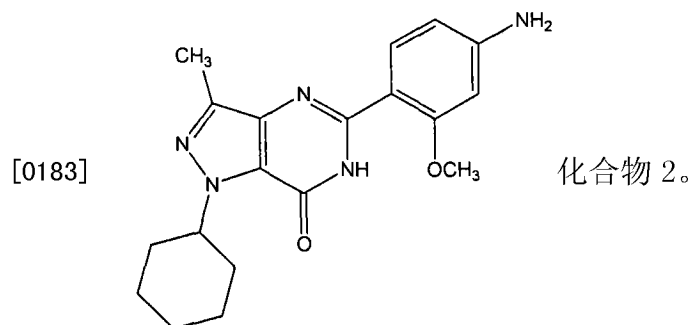
[0180]



[0181]



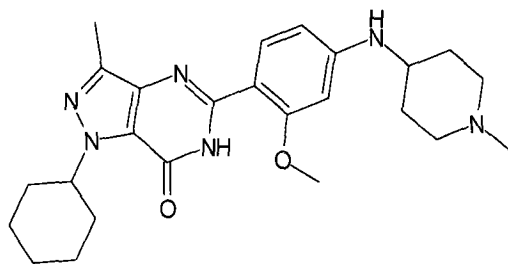
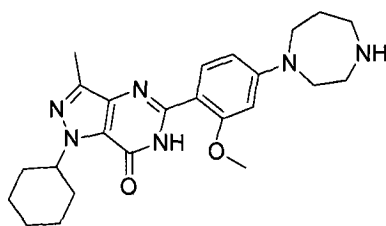
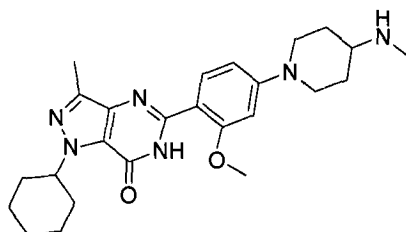
[0182] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:



[0184] 实施例 1 和实施例 2 描述了化合物 2 在抑制所选的 PDE 中的活性。实施例 7 描述了化合物 2 在 MPTP 帕金森病模型中的疗效。

[0185] 在其它实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

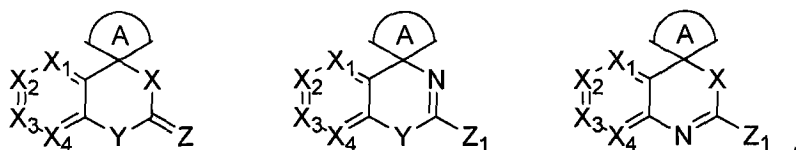
[0186]



[0187] 上述化合物的制备参见 EP 1 454 897、WO 2003/053975 和 US20050148604。

[0188] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利文献的化合物:US 2002/0198198、WO2002/076953、WO 2002/074754、WO 2006/092691、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4623-4626 以及 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4627-4631,所述各参考文献通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其互变异构体、其外消旋体、其异构体及其药学上可接受的衍生物具有下列结构式:

[0189]



[0190] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0191] (a) X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 相同或不同,且选自:

[0192] N,前提条件是 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 中不超过 2 个基团同时表示氮原子,或者,

[0193] C- R_1 ,其中 R_1 选自:

[0194] Q_1 ,或者

[0195] 低级烷基、低级烯基或低级炔基,这些基团是未取代的或者被一个或若干个基团 Q_2 取代;

[0196] 基团 X_5 - R_5 ,其中,

[0197] X_5 选自：

[0198] 单键，

[0199] 低级亚烷基、低级亚烯基或低级亚炔基 (alkynylene)；被 1-2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开，这些基团的碳原子是未取代的或者被一个或若干个相同或不同的选自以下的基团取代：SR₆、OR₆、NR₆R₇、=O、=S 或 =NR₆，其中 R₆ 和 R₇ 相同或不同，且选自氢或低级烷基，

[0200] R₅ 选自芳基；杂芳基；被 C(=O) 或被 1、2 或 3 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基；被 C(=O) 或者被 1、2 或 3 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基；或二环基，这些基团是未取代的或者被一个或若干个选自 Q₃、杂芳基的基团取代，或者是被 Q₃ 任选取代的低级烷基；

[0201] 其中 Q₁、Q₂ 和 Q₃ 相同或不同，且选自：

[0202] 氢、卤素、CN、NO₂、SO₃H、P(=O)(OH)₂、OR₂、OC(=O)R₂、C(=O)OR₂、SR₂、S(=O)R₂、NR₃R₄、Q-R₂、Q-NR₃R₄、NR₂-Q-NR₃R₄ 或 NR₃-Q-R₂，其中 Q 选自 C(=NR)、C(=O)、C(=S) 或 SO₂，R 选自氢或低级烷基，R₂、R₃ 和 R₄ 相同或不同，且选自：

[0203] 氢、被 C(=O) 任选分隔开的低级烷基、(CH₂)_n-芳基、(CH₂)_n-杂芳基、被 C(=O) 或者被 1 或 2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的 (CH₂)_n-环烷基，其中 n 为选自 0、1、2、3 或 4 的整数；

[0204] 这些基团是未取代的或者被一个或若干个选自以下的基团取代：低级烷基、卤素、CN、CH₃、SO₃H、SO₂CH₃、CF₃、C(=O)NHSO₂CH₃、OR₆、COOR₆、C(=O)R₆、NR₆R₇、C(=O)NR₆R₇ 或 SO₂NR₆R₇，其中 R₆ 和 R₇ 相同或不同，且选自氢或者被一个或两个选自 OR、COOR 或 NRR₈ 的基团任选取代的低级烷基，其中 R 和 R₈ 为氢或低级烷基，

[0205] R₆ 和 R₇ 和 / 或 R₃ 和 R₄，可与它们所连接的氮原子一起形成 4-8 元杂环，该环可含有一个或两个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子，并可被以下基团取代，

[0206] 4-8 元杂环，该环可含有一个或两个选自 O、S 或 N 的杂原子，并可被低级烷基取代，或者，

[0207] 被 OR'、NR'、R''、C(=O)NR'、R'' 或 COOR' 任选取代的低级烷基，其中 R' 和 R'' 相同或不同，且选自 H、被 OR 或 COOR 任选取代的低级烷基，其中 R 为氢或低级烷基，且 R' 和 R'' 可与它们所连接的氮原子一起形成 4-8 元杂环，该环可含有一个或两个选自 O、S 或 N 的杂原子；或者，

[0208] (b) X 为 O、S 或 NR₉，其中 R₉ 选自氢、CN、OH、NH₂、低级烷基、低级烯基或低级炔基，这些基团是未取代的或者被以下基团取代：被 1 或 2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基；被 1 或 2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基；芳基；杂芳基；OR₁₀ 或 NR₁₀R₁₁，其中 R₁₀ 和 R₁₁ 相同或不同，且选自氢或低级烷基；

[0209] (c) Y 选自 O、S 或 N-R₁₂，其中 R₁₂ 选自氢、CN、OH、NH₂、低级烷基、低级烯基或低级炔基，这些基团是未取代的或者被以下基团取代：被 1 或 2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基；被 1 或 2 个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基；芳基；杂芳基；OR₁₀ 或 NR₁₀R₁₁，其中 R₁₀ 和 R₁₁ 相同或不同，且选自氢或低级烷基；

[0210] (d) Z 选自 CH-NO₂、O、S 或 NR₁₃，其中 R₁₃ 选自氢；CN；OH；NH₂；芳基；杂芳基；被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基；被一个或若干个选自

O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基 ;C(=O)R₁₄ ;C(=O)NR₁₄R₁₅ ;OR₁₄ 或者未取代或被一个或若干个相同或不同且选自 OR₁₄ 或 NR₁₄R₁₅ 的基团取代的低级烷基 ;

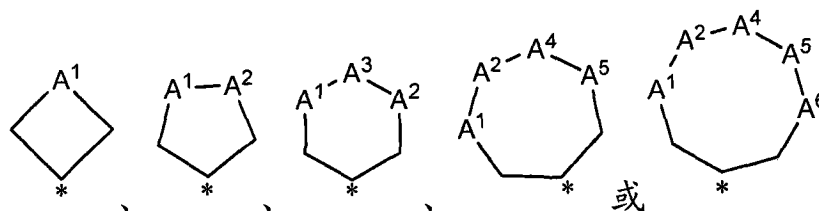
[0211] R₁₄ 和 R₁₅ 独立选自氢或低级烷基,或者,R₁₄ 和 R₁₅ 可与它们所连接的氮原子一起形成 4-8 元杂环,该杂环可含有一个或两个选自 O、S 或 N 的杂原子,并可被低级烷基取代 ;

[0212] (e)Z₁ 选自 H、CH₃ 或 NR₁₆R₁₇,其中 R₁₆ 和 R₁₇ 相同或不同,且选自氢 ;CN ;芳基 ;杂芳基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基 ;C(=O)R₁₄ ;C(=O)NR₁₄R₁₅ ;OR₁₄ 或者未取代或被一个或若干个选自 OR₁₄ 或 NR₁₄R₁₅ 的基团取代的低级烷基,

[0213] R₁₄ 和 R₁₅ 选自氢或低级烷基,且 R₁₄ 和 R₁₅ 和 / 或 R₁₆ 和 R₁₇ 可与它们所连接的氮原子一起形成 4-8 元杂环,该杂环可含有一个或两个选自 O、S 或 N 的杂原子,并可被低级烷基取代 ;

[0214] (f)A 为选自以下的环 :

[0215]



[0216] 其中

[0217] A₁、A₂、A₃、A₄、A₅ 和 A₆ 相同或不同,选自 O、S、C、C(=O)、SO、SO₂ 或 NR₁₈,其中 R₁₈ 选自氢 ;芳基 ;杂芳基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基 ;未取代或被芳基、杂芳基取代的低级烷基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烷基 ;被一个或若干个选自 O、S、S(=O)、SO₂ 或 N 的杂原子任选分隔开的环烯基 ;CN ;NR₁₉R₂₀ ;C(=O)NR₁₉R₂₀ ;OR₁₉ ;C(=O)R₁₉ 或 C(=O)OR₁₉,其中 R₁₉ 和 R₂₀ 相同或不同,且选自氢或低级烷基 ;

[0218] * 表示由 A 环和含有 X 和 / 或 Y 的主环共用的碳原子 ;

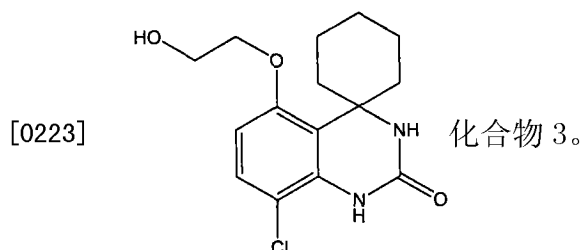
[0219] A 环中的各个碳原子是未取代或者被 1 或 2 个相同或不同选自以下的基团取代 :被 OR₂₁、NR₂₁R₂₂、COOR₂₁ 或 CONR₂₁R₂₂ 任选取代的低级烷基、低级卤代烷基、CN、F、=O、SO₂NR₁₉R₂₀、OR₁₉、SR₁₉、C(=O)OR₁₉、C(=O)NR₁₉R₂₀ 或 NR₁₉R₂₀,其中 R₁₉ 和 R₂₀ 相同或不同,且选自氢或被 OR₂₁、NR₂₁R₂₂、COOR₂₁ 或 CONR₂₁R₂₂ 任选取代的低级烷基,其中 R₂₁ 和 R₂₂ 相同或不同,且选自氢或低级烷基,且 R₁₉ 和 R₂₀ 和 / 或 R₂₁ 和 R₂₂ 可与它们所连接的氮原子一起形成 4-8 元杂环 ;

[0220] A 环中不相邻的两个原子可通过 2、3 或 4 个碳原子链连接,该链由 1 个选自 O、S 或 N 的杂原子分隔开 ;前提条件是 A₁、A₂、A₃、A₄、A₅ 和 A₆ 中不超过 2 个基团同时表示杂原子。

[0221] 对于上述化合物,卤素包括氟、氯、溴和碘。优选的卤素为 F 和 Cl。低级烷基包括具有 1-6 个碳原子的直链和支链碳链。这类烷基的实例包括甲基、乙基、异丙基和叔丁基。低级烯基包括具有 2-6 个碳原子和至少一个双键的直链和支链烃基。这类烯基的实例为乙烯基、3-丁烯-1-基、2-乙烯基丁基和 3-己烯-1-基。低级炔基包括具有 2-6 个碳原子和至少一个三键的直链和支链烃基。这类炔基的实例为乙炔基、3-丁炔-1-基、丙炔基、2-丁

炔-1-基和3-戊炔-1-基。低级卤代烷基包括被一个或若干个卤素取代如上定义的的低级烷基。卤代烷基的实例为三氟甲基。芳基应理解是指含有介于6和10个碳原子的芳香碳环。芳基的实例为苯基。杂芳基包括具有5-10环原子,其中1-4个独立选自O、S和N的芳环。代表性杂芳基在5或6元芳环中具有1、2、3或4个杂原子。这类基团的实例为四唑、吡啶基和噻吩基。代表性环烷基含有3-8个碳原子。这类基团的实例为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。术语“被分隔开”是指在主链上,碳原子被杂原子或如本文定义的基团置换。例如,在“被C(=O)或者被1个选自O、S、S(=O)SO₂或N的杂原子任选分隔开的环烷基或环烯基”中,术语“被分隔开”是指C(=O)或杂原子可置换环中的碳原子。这类基团的实例为吗啉或哌嗪。环烯基包括3-10元含有至少一个双键的环烷基。杂环包括如上定义的杂芳基和如上定义的环烷基或环烯基,被1、2或3个选自O、S、S(=O)、SO₂或N的杂原子分隔开来。二环取代基是指相同或不同且选自芳基、杂环基环、环烷基或环烯基的两个环耦合在一起形成所述二环取代基。二环取代基的实例为吡啶基。

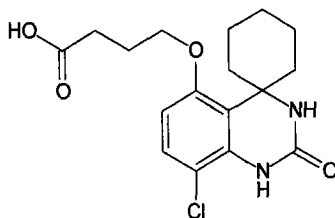
[0222] 在一个实施方案中,用于本发明方法的PDE7抑制剂具有下列结构式:



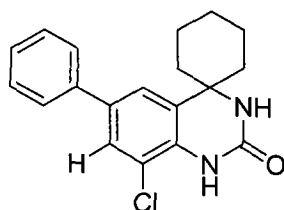
[0224] 实施例1和实施例2描述了化合物3在抑制所选的PDE中的活性。实施例7描述了化合物3在MPTP帕金森病模型中的疗效。

[0225] 在其它实施方案中,用于本发明方法的PDE7抑制剂具有下列结构式:

[0226]



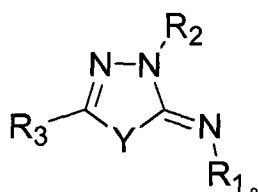
[0227]



[0228] 上述化合物的制备参见 US 2002/0198198、WO 2002/076953、WO2002/074754、WO 2006/092691、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4623-4626 以及 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4627-4631。

[0229] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利文献的化合物:EP 1193 261、WO 2002/28847、US20030045557、美国专利第 7,122,565 号、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4607-4613 以及 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4615-4621,所述各参考文献通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的衍生物具有下列结构式:

[0230]



[0231] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0232] Y 为 S 或 O;

[0233] R_1 为 C_1 - C_{10} 烷基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、环烷基、环烯基、杂环、芳基或多环基团;各自被一个或若干个相同或不同的基团 X_1 - R_4 任选取代,其中 X_1 为单键、低级亚烷基、 C_2 - C_6 亚烯基、环亚烷基、亚芳基或二价杂环, R_4 为:

[0234] (1)H、=O、 NO_2 、CN、卤素、低级卤代烷基、低级烷基、羧酸生物电子等排体(carboxylic acid bioisostere);

[0235] (2) $COOR_5$ 、 $C(=O)R_5$ 、 $C(=S)R_5$ 、 SO_2R_5 、 SOR_5 、 SO_3R_5 、 SR_5 、 OR_5 ;

[0236] (3) $C(=O)NR_7R_8$ 、 $C(=S)NR_7R_8$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_7R_8$ 、 $C(=N-CN)NR_7R_8$ 、 $C(=N-SO_2NH_2)NR_7R_8$ 、 $C(=NR_7)NHR_8$ 、 $C(=NR_7)R_8$ 、 $C(=NR_9)NHR_8$ 、 $C(=NR_9)R_8$ 、 $SO_2NR_7R_8$ 或 NR_7R_8 ,其中 R_7 和 R_8 相同或不同,且选自 OH、 R_5 、 R_6 、 $C(=O)NR_5R_6$ 、 $C(=O)R_5$ 、 SO_2R_5 、 $C(=NR_9)NHR_{10}$ 、 $C(=NR_9)R_{10}$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-SO_2NH_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-CN)NR_9R_{10}$ 或 $C(=S)NR_9R_{10}$;

[0237] R_2 为低级烷基、 C_2 - C_{10} 烯基、 C_2 - C_{10} 炔基、环烷基、环烯基、杂环、芳基;各自被一个或若干个相同或不同且选自以下的基团任选取代:

[0238] (1)H、羧酸生物电子等排体、低级卤代烷基、卤素,

[0239] (2) $COOR_5$ 、 OR_5 、 SO_2R_5 ,

[0240] (3) $SO_2NR_{11}R_{12}$ 、 $C(=O)NR_{11}R_{12}$ 、 $NR_{11}R_{12}$,其中 R_{11} 和 R_{12} 相同或不同,且选自 OH、 R_5 、 R_6 、 $C(=O)NR_5R_6$ 、 $C(=O)R_5$ 、 SO_2R_5 、 $C(=S)NR_9R_{10}$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-CN)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-SO_2NH_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=NR_9)NHR_{10}$ 或 $C(=NR_9)R_{10}$;

[0241] R_3 为 $X_2-R'_3$,其中 X_2 为单键或选自以下的基团: C_1 - C_4 亚烷基、 C_2 - C_6 亚烯基、 C_2 - C_6 亚炔基,各自被一个或若干个相同或不同且选自以下的基团任选取代:

[0242] (1)H、 C_1 - C_3 烷基、 C_3 - C_4 环烷基、芳基、杂环、=O、CN,

[0243] (2) OR_5 、=NR₅;或者

[0244] (3) $NR_{13}R_{14}$,其中 R_{13} 和 R_{14} 相同或不同,且选自 R_5 、 R_6 、 $C(=O)NR_5R_6$ 、 $C(=O)R_5$ 、 SO_2R_5 、 $C(=S)NR_9R_{10}$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=NR_9)NHR_{10}$ 或 $C(=NR_9)R_{10}$;

[0245] R'_3 为环烷基、环烯基、芳基、杂环或多环基团；各自被一个或若干个基团 X_3-R_{17} 任选取代，其中 X_3 为单键、低级亚烷基、 C_2-C_6 亚烯基、 C_2-C_6 亚炔基、环亚烷基、亚芳基、二价杂环或二价多环基团，且 R_{17} 为：

[0246] (1) H、 $=O$ 、 NO_2 、CN、低级卤代烷基、卤素、羧酸生物电子等排体、环烷基，

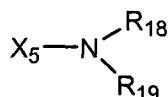
[0247] (2) $COOR_5$ 、 $C(=O)R_5$ 、 $C(=S)R_5$ 、 SO_2R_5 、 SOR_5 、 SO_3R_5 、 SR_5 、 OR_5 ；

[0248] (3) $C(=O)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(=S)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(=N-CN)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(=N-SO_2NH_2)NR_{15}R_{16}$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_{15}R_{16}$ 、 $SO_2NR_{15}R_{16}$ 、 $C(=NR_{15})NHR_{16}$ 、 $C(=NR_{15})R_{16}$ 、 $C(=NR_9)NHR_{16}$ 、 $C(=NR_9)R_{16}$ 或 $NR_{15}R_{16}$ ，其中 R_{15} 和 R_{16} 相同或不同，且选自 OH 、 R_5 、 R_6 、 $C(=O)NR_5R_6$ 、 $C(=O)R_5$ 、 SO_2R_5 、 $C(=S)NR_9R_{10}$ 、 $C(=CH-NO_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-CN)NR_9R_{10}$ 、 $C(=N-SO_2NH_2)NR_9R_{10}$ 、 $C(=NR_9)NHR_{10}$ 或 $C(=NR_9)R_{10}$ ，

[0249] (4) 被一个或若干个基团 R_5 任选取代的杂环；

[0250] 其中 R_5 和 R_6 相同或不同，且选自 H、低级烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 X_4 -环烷基、 X_4 -环烯基、 X_4 -芳基、 X_4 -杂环或 X_4 -多环基团，其中 X_4 为单键、低级亚烷基或 C_2-C_6 亚烯基；各自被一个或若干个相同或不同且选自以下的基团任选取代：卤素、 $=O$ 、 $COOR_{20}$ 、CN、 OR_{20} 、被 OR_{20} 任选取代的 O-低级烷基、 $C(=O)$ -低级烷基、低级卤代烷基，

[0251]

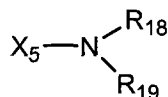


[0252] 其中 X_5 为单键或低级亚烷基， R_{18} 、 R_{19} 和 R_{20} 相同或不同，且选自 H 或低级烷基；

[0253] X_6 -杂环、 X_6 -芳基、 X_6 -环烷基、 X_6 -环烯基或 X_6 -多环基团，其中 X_6 为单键或低级亚烷基，这些基团被一个或若干个相同或不同选自以下的基团任选取代：卤素、 $COOR_{21}$ 、 OR_{21} 或 $(CH_2)_nNR_{21}R_{22}$ ，其中 n 为 0、1 或 2， R_{21} 和 R_{22} 相同或不同，且选自 H 或低级烷基；

[0254] R_9 选自 H、CN、OH、低级烷基、O-低级烷基、芳基、杂环、 SO_2NH_2 ，或者

[0255]



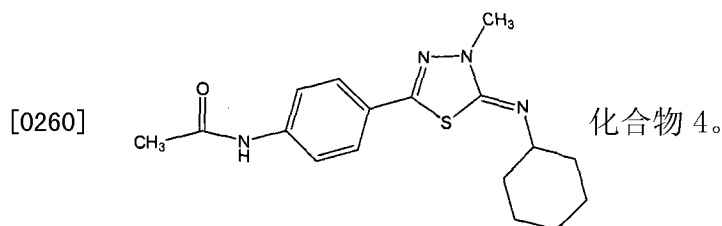
[0256] 其中 X_5 为单键或低级亚烷基， R_{18} 和 R_{19} 相同或不同，且选自 H 或低级烷基；

[0257] R_{10} 选自氢、低级烷基、环丙基或杂环。

[0258] 对于上述化合物，芳基是指在环结构中只含有碳原子的不饱和碳环，碳原子数介于 5 和 10 之间，包括苯基、萘基或四氢萘基。杂环是指不饱和或饱和的单环，在环结构中含有介于 1 和 7 个之间的碳原子，且环结构中有至少一个杂原子（例如氮、氧或硫），优选为 1-4 个相同或不同的选自氮、硫和氧原子的杂原子。合适的杂环包括吗啉基、哌嗪基、吡咯烷基、哌啶基、嘧啶基、2-呋喃基和 3-呋喃基、2-噻吩基和 3-噻吩基、2-吡啶基、2-吡喃基和 3-吡喃基、羟基吡啶基、吡唑基、异噻唑基、四唑、咪唑、三唑等。多环基团包括至少两个相同或不同的选自芳基、杂环、环烷基、环烯基的环稠合在一起形成的所述多环基团，例如 2-苯并噻吩基和 3-苯并噻吩基、2-苯并呋喃基和 3-苯并呋喃基、2-吲哚基、2-喹啉基和 3-喹啉基、吡啶基、喹唑啉基、吲哚基苯并 [1,3] 二氧杂环戊烯基和 9-硫代氧杂蒽烷基 (thioxantanyl)。二环基是指相同或不同且选自芳基、杂环、环烷基或环烯基的两个环稠合在一起形成的所述二环基。卤素是指氟、氯、溴或碘。低级烷基是指含有 1-6 个碳原子的直

链或支链烷基。低级烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、叔丁基、异丁基、正丁基、戊基、己基等。烯基是指含有一个或若干个双键、优选一个或两个双键的直链或支链的不饱和碳原子链。炔基是指含有一个或若干个三键、优选一个或两个三键的直链或支链的不饱和碳原子链。低级卤代烷基是指被一个或若干个卤素取代的低级烷基；优选的低级卤代烷基包括全卤代烷基，例如 CF_3 。环烷基是指含有 3-10 个碳原子的饱和单碳环；包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。环烯基是指含有 3-10 个碳原子的不饱和单碳环。合适的环烯基的实例为 3-环己烯和 3-环戊烯。羧酸生物电子等排体具有典型含义；常见的羧酸生物电子等排体为四唑-5-基、 $\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{H})\text{OH}$ 、异噁唑-3-基、羟基噻二唑基、磺酰胺基、磺酰基甲酰氨基、膦酸、膦酰基氨基 (phosphonamido)、次膦酸、磺酸、酰基磺酰胺基、巯基唑 (mercaptoazole)、酰基氨脒。

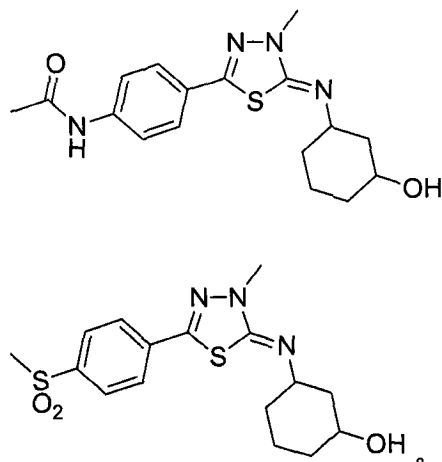
[0259] 在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式：



[0261] 实施例 1 和实施例 2 描述了化合物 4 在抑制若干 PDE 中的活性。实施例 7 描述了化合物 4 在 MPTP 帕金森病模型中的疗效。

[0262] 在其它实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式：

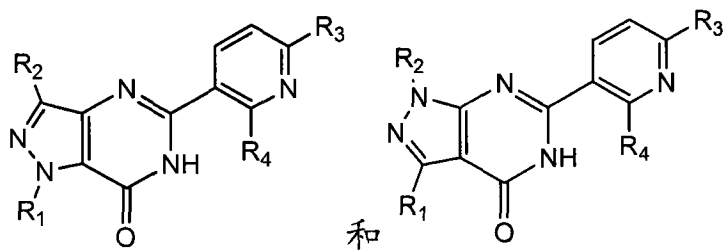
[0263]



[0264] 上述化合物的制备参见 EP 1 193 261、WO 02/28847、US20030045557、美国专利第 7,122,565 号、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4607-4613 以及 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14(2004)4615-4621。

[0265] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物：WO 2004/111054、US 20060128728 和 US 20070270419，所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有下列结构式：

[0266]



[0267] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0268] R_1 是取代或未取代的 C_{3-8} 环烷基或叔丁基；

[0269] R_2 为氢原子或 C_{1-3} 烷基；

[0270] R_3 为基团： NR_5R_6 、 $C(=O)R_7$ 或 $S(O)_{0-2}R_8$ ；

[0271] R_4 为氢原子或为未取代的或被一个或多个氟原子取代的 C_{1-3} 烷氧基；

[0272] R_5 和 R_6 彼此相同或不同，为氢原子、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基、取代或未取代的酰基、取代或未取代的杂环烷基及与结合 R_5 和 R_6 的氮原子一起形成的取代或未取代的杂环烷基环；

[0273] R_7 为基团： OR_9 或 NR_5R_6 ；

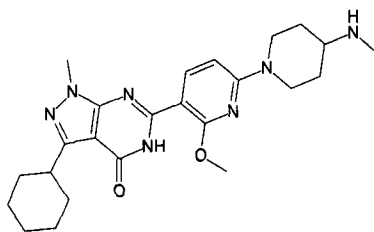
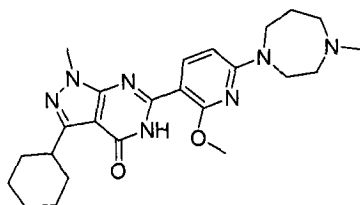
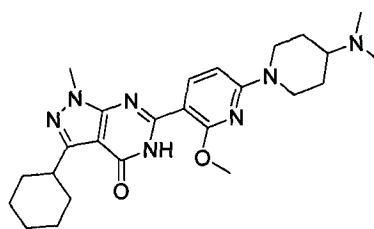
[0274] R_8 为氢原子、卤素原子、基团： NR_5R_6 、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基或者取代或未取代的芳基；

[0275] R_9 为氢原子或者取代或未取代的 C_{1-6} 烷基。

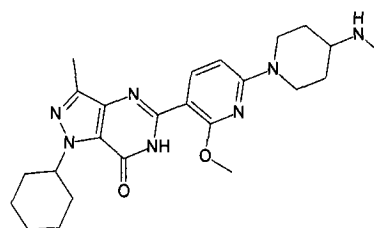
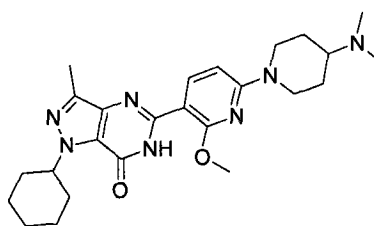
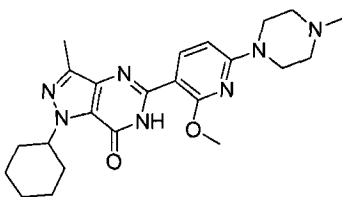
[0276] 对于上述化合物，术语“ C_1-C_3 烷基”包括具有 1-3 个碳原子的直链或支链烷基。术语“ C_3-C_8 环烷基”包括具有 3-8 个碳原子的环烷基，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环辛基。术语“杂环烷基”为 3-7 元含有 1-4 个相同或不同的例如氧、氮或硫原子的杂原子的杂环基，实例可包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、高哌嗪基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、吗啉基和氮杂环丁烷基。术语“ C_1-C_3 烷氧基”是指具有 1-3 个碳原子的烷氧基。术语“酰基”是指具有 1-8 个碳原子的酰基。术语“芳基”为具有 6-12 个碳原子的苯基、萘基、联苯基。术语“杂芳基”为 5-7 元含有 2-8 个碳原子和 1-4 个相同或不同的例如氧、氮、硫原子的杂原子的单环或其多环基团。实例包括吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噻唑基、吡嗪基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、吡啶基、吡唑基、哒嗪基和嘧啶基。“取代或未取代的 C_1-C_6 烷基”的合适取代基的实例包括羟基和卤素原子，“取代或未取代的酰基”的合适取代基的实例包括卤素原子和硝基。此外，“取代或未取代的芳基”的合适取代基的实例包括 C_1-C_3 烷基、卤素原子、氨基、酰基、酰胺基、羟基、酰氨基、羧基和磺酰基。“取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基”的合适取代基的实例为 C_1-C_3 烷基、羟基和氧代基，“取代或未取代的杂环烷基”的合适取代基的实例可包括羧基、酰基、烷氧基、氨基、烷基氨基、酰氨基、羟基、氧代基、亚乙基二氧基、甲基、乙基和羟基乙基。

[0277] 在其它实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式：

[0278]



[0279]

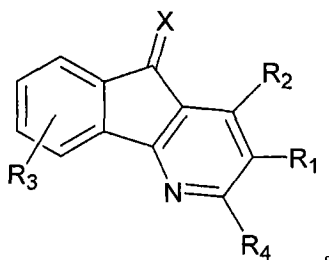


[0280] 上述化合物的制备参见 WO 2004/111054、US 20060128728 和 US20070270419。

[0281] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:美国专利第 6,903,109 号、US20040082578、WO 2003/088963 和 US

20060154949, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及其药学上可接受的盐、酯和前药形式具有下列结构式:

[0282]



[0283] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0284] (a) R_1 选自:

[0285] (i) COR_5 , 其中 R_5 选自 H、任选取代的 C_{1-8} 直链或支链烷基、任选取代的芳基和任选取代的芳基烷基; 其中烷基、芳基和芳基烷基上的取代基选自 C_{1-8} 烷氧基、苯乙酰基氧基、羟基、卤素、对甲苯磺酰氧基、甲磺酰氧基、氨基、氰基、烷氧羰基或 $NR_{20}R_{21}$, 其中 R_{20} 和 R_{21} 独立选自氢、 C_{1-8} 直链或支链烷基、 C_{3-7} 环烷基、苄基或芳基;

[0286] (ii) $COOR_6$, 其中 R_6 选自 H、任选取代的 C_{1-8} 直链或支链烷基、任选取代的芳基和任选取代的芳基烷基; 其中烷基、芳基和芳基烷基上的取代基选自 C_{1-8} 烷氧基、苯乙酰基氧基、羟基、卤素、对甲苯磺酰氧基、甲磺酰氧基、氨基、氰基、烷氧羰基或 $NR_{20}R_{21}$, 其中 R_{20} 和 R_{21} 独立选自氢、 C_{1-8} 直链或支链烷基、 C_{3-7} 环烷基、苄基或芳基;

[0287] (iii) 氰基;

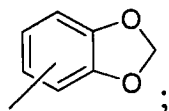
[0288] (iv) 与 R_4 形成的内酯或内酰胺;

[0289] (v) $CONR_7R_8$, 其中 R_7 和 R_8 独立选自 H、 C_{1-8} 直链或支链烷基、 C_{3-7} 环烷基、三氟甲基、羟基、烷氧基、酰基、烷基羰基、羧基、芳基烷基、芳基、杂芳基和杂环基; 其中烷基、环烷基、烷氧基、酰基、烷基羰基、羧基、芳基烷基、芳基、杂芳基和杂环基可被以下基团取代: 羧基、烷基、芳基、取代芳基、杂环基、取代杂环基、杂芳基、取代杂芳基、异羟肟酸、磺酰胺基、磺酰基、羟基、巯基、烷氧基或芳基烷基;

[0290] 或者 R_7 和 R_8 与它们所连接的氮一起形成杂环基或杂芳基;

[0291] (vi) 包括任选取代的杂芳基的羧酸酯或羧酸生物电子等排体;

[0292] (b) R_2 选自任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的 C_{3-7} 环烷基、任选取代的杂环基, 其中杂环基为 1,3- 二氧杂环戊烷或呋喃, 或者 R_2 为



[0293] (c) R_3 为 1-4 个独立选自以下的基团:

[0294] (i) 氢、卤素、 C_{1-8} 直链或支链烷基、芳基烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-8} 烷氧基、氰基、 C_{1-4} 烷氧羰基、三氟甲基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、卤素、硝基、羟基、三氟甲氧基、 C_{1-8} 羧酸基 (carboxylate)、芳基、杂芳基和杂环基;

[0295] (ii) $NR_{10}R_{11}$, 其中 R_{10} 和 R_{11} 独立选自 H、 C_{1-8} 直链或支链烷基、芳基烷基、 C_{3-7} 环烷基、羧基烷基、芳基、杂芳基或杂环基, 或者 R_{10} 和 R_{11} 与它们所连接的氮一起形成杂环基或杂芳基

基；

[0296] (iii) $\text{NR}_{12}\text{COR}_{13}$, 其中 R_{12} 选自氢或烷基, R_{13} 选自氢、烷基、取代烷基、 C_{1-3} 烷氧基、羧基烷基、 $\text{R}_{30}\text{R}_{31}\text{N}(\text{CH}_2)_p$ 、 $\text{R}_{30}\text{R}_{31}\text{NCO}(\text{CH}_2)_p$ 、芳基、芳基烷基、杂芳基或杂环基, 或者 R_{12} 和 R_{13} 与羰基一起形成含有杂环基的羰基, 其中 R_{30} 和 R_{31} 独立选自 H、OH、烷基和烷氧基, p 为 1-6 的整数, 其中烷基可被以下基团取代: 羧基、烷基、芳基、取代芳基、杂环基、取代杂环基、杂芳基、取代杂芳基、异羟肟酸、磺酰胺、磺酰基、羟基、巯基、烷氧基或芳基烷基;

[0297] (d) R_4 选自 (i) 氢, (ii) C_{1-3} 直链或支链烷基, (iii) 苄基, (iv) $\text{NR}_{13}\text{R}_{14}$, 其中 R_{13} 和 R_{14} 独立选自氢和 C_{1-6} 烷基; 其中 C_{1-3} 烷基和苄基被一个或多个选自以下的基团任选取代: C_{3-7} 环烷基、 C_{1-8} 烷氧基、氰基、 C_{1-4} 烷氧羰基、三氟甲基、 C_{1-8} 烷基磺酰基、卤素、硝基、羟基、三氟甲氧基、 C_{1-8} 羧酸、氨基、 $\text{NR}_{13}\text{R}_{14}$ 、芳基和杂芳基;

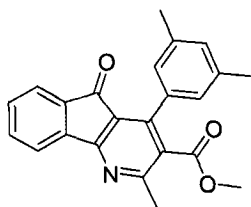
[0298] (e) X 选自 S 和 O。

[0299] 在一个替代实施方案中, R_1 、 R_3 和 R_4 如上定义, R_2 为 $\text{NR}_{15}\text{R}_{16}$, 其中 R_{15} 和 R_{16} 独立选自氢、 C_{1-8} 直链或支链烷基、芳基烷基、 C_{3-7} 环烷基、芳基、杂芳基和杂环基, 或者 R_{15} 和 R_{16} 与它们所连接的氮一起形成杂环基或杂芳基。

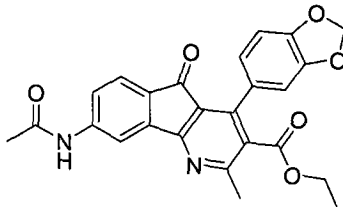
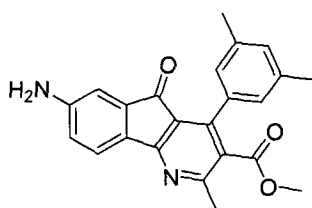
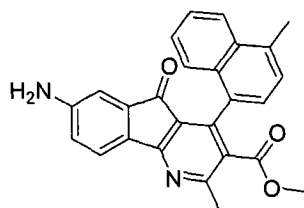
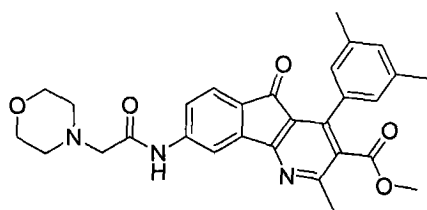
[0300] 对于上述化合物, “烷基”是指直链、环状和支链烷基。烷基可被一个或多个以下基团任选取代: 例如卤素、OH、CN、巯基、硝基、氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷硫基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基-氨基、二($\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基)氨基、(一、二、三和全)卤代-烷基、甲酰基、羧基、烷氧基羰基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基 -CO-O- 、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基 -CO-NH- 、氨甲酰、异羟肟酸、磺酰胺、磺酰基、巯基、芳基、芳基($\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基、杂环基和杂芳基)。术语“生物电子等排体”定义为“具有产生大体类似的生物学性质的理化性质的基团或分子”(Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, M. E. Wolff 编著, 第 5 版, 第 1 卷, 1995, 第 785 页)。本文所用术语“酰基”, 不论是单独使用还是作为取代基的部分, 是指通过脱去羟基由有机酸衍生的具有 2-6 个碳原子有机基团(支链或直链)。“芳基”或“Ar”不论是单独使用还是作为取代基的部分是指碳环芳基, 包括但不限于苯基、1-萘基或 2-萘基等。碳环芳基上的 1-5 个氢原子可被以下基团独立置换: 卤素、OH、CN、巯基、硝基、氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷硫基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基-氨基、二($\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基)氨基、(一、二、三和全)卤代-烷基、甲酰基、羧基、烷氧基羰基、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基 -CO-O- 、 $\text{C}_1\text{-C}_8\text{-}$ 烷基 -CO-NH- 或氨甲酰。示例性芳基包括例如苯基、萘基、联苯、氟苯基、二氟苯基、苄基、苯甲酰氧基苯基、乙氧羰基苯基、乙酰基苯基、乙氧基苯基、苯氧基苯基、羟基苯基、羧基苯基、三氟甲基苯基、甲氧基乙基苯基、乙酰氨基苯基、甲苯基、二甲苯基、二甲基氨基甲酰基苯基等。术语“杂芳基”是指具有 5-10 个环原子的环状完全不饱和基团, 其中一个环原子选自 S、O 和 N; 0-2 个环原子为独立选自 S、O 和 N 的额外杂原子; 其余环原子为碳。该基团可通过任何环原子与分子其余部分连接起来。术语“杂环基(heterocycle)”、“杂环的”和“杂环(heterocycle)”是指任选取代的完全饱和或部分饱和的环状基团, 例如在至少一个含碳原子环中具有至少一个杂原子的 4-7 元单环、7-10 元双环或 10-15 元三环系统。含杂原子杂环基中的各个环可具有 1、2 或 3 个选自氮原子、氧原子和硫原子的杂原子, 其中氮杂原子和硫杂原子还可任选被氧化。氮原子可任选被季铵化。杂环基可连接在任何杂原子或碳原子上。

[0301] 在其它实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0302]



[0303]



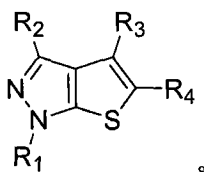
[0304] 上述化合物的制备参见美国专利第 6, 903, 109 号、US 20040082578、W0 2003/088963 和 US 20060154949。

[0305] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:美国专利第 6, 958, 328 号、W02002/085894 和 US 20030212089,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。这些 PDE7 抑制剂具有与上述专利(例如美国专利第 6, 903, 109 号)相同的结构式,只是 R_1 不是羧酸酯或羧酸生物电子等排体。这些化合物的制备参见美国专利第 6, 958, 328 号、US 20030212089 和 W0 2002/085894。

[0306] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下文献的化合物:W0 2006/004040 和 EP 1 775 298,所述各专利和专利申请通过引用以其

整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有下列结构式:

[0307]



[0308] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0309] R_1 为取代或未取代的 C_{3-8} 烷基、取代或未取代的环烷基或者取代或未取代的杂环烷基(例如环己基、环庚基或四氢吡喃基);

[0310] R_2 为氢原子或者取代或未取代的 C_{1-3} 烷基(例如甲基);

[0311] R_3 为氢原子、取代或未取代的 C_{1-3} 烷基或卤素原子;

[0312] R_4 为取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基或基团 $CONR_5R_6$ 或 CO_2R_7 ,

[0313] 其中 R_5 和 R_6 彼此相同或不同,为氢原子、可被卤素原子取代的取代或未取代的 C_{1-6} 烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的环烷基、基团 NR_7COR_8 、 COR_8 、 NR_9R_{10} 、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基,或者取代或未取代的杂环烷基,其中与结合 R_5 和 R_6 的氮原子一起形成所述环;

[0314] 其中 R_7 为氢原子或者取代或未取代的 C_{1-3} 烷基;

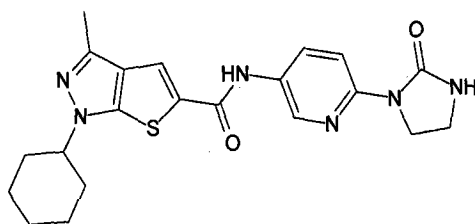
[0315] 其中 R_8 为取代或未取代的杂环烷基,或基团 OH 、 OR_7 或 NR_9R_{10} ;

[0316] 其中 R_9 和 R_{10} 彼此相同或不同,为氢原子、取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的酰基、基团 SO_2R_7 ,或者取代或未取代的杂环烷基,其中与结合 R_5 和 R_6 的氮原子一起形成所述环。

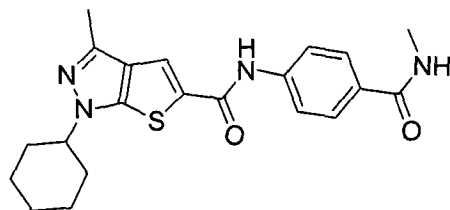
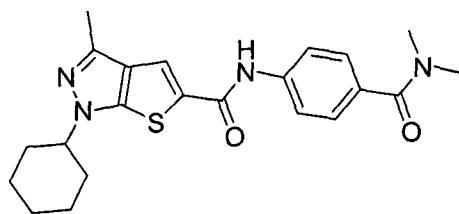
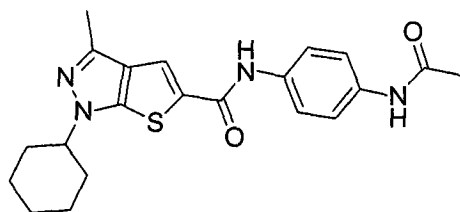
[0317] 对于上述化合物,术语“环烷基”是指具有 3-8 个碳原子的环烷基。术语“杂环烷基”可为 3-7 元含有 1-4 个相同或不同的例如氧、氮或硫原子的杂原子的单环或多环杂环烷基。术语“芳基”可为芳烃基,由单苯环或者结合或稠合苯环组成,例如苯基、萘基、联苯等;芳基还可为二环或三环基团,由苯环与环烷基或杂环稠合组成,例如 1,2,3,4-四氢萘、2,3-二氢茚、二氢吡啶、苯并呋喃等。术语“杂芳基”可为 5-7 元单环杂芳基或多环杂芳基,具有 2-8 个碳原子与 1-4 个例如氧、氮、硫原子的杂原子,其中多环杂芳基具有由相同或不同的单环杂芳基或苯环彼此稠合的环系;或者多环基团由杂芳基与环烷基或杂环烷基环稠合组成。本发明的合适取代基的实例可包括可被一个或多个以下基团取代的直链、支链或环状 C_1-C_8 烷基:甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、环己基、环庚基、甲氧基甲基、羟基甲基、三氟甲基、 C_1-C_3 烷氧基、卤素原子和羟基;羟基;氰基;取代或未取代的烷氧基,例如甲氧基、乙氧基;可被 C_1-C_6 烷基或酰基取代的氨基,例如氨基、甲基氨基、乙基氨基、二甲基氨基、酰基氨基等;羧基;取代或未取代的酯基;磷酸基;磺基;取代或未取代的芳基;取代或未取代的杂芳基;可被取代的饱和或不饱和杂环烷基;取代或未取代的氨基甲酰基;取代或未取代的酰胺基;取代或未取代的硫代酰胺基;卤素原子;硝基;取代或未取代的磺基;取代或未取代的磺酰基酰胺基;氧代基;取代或未取代的脲基;直链、支链或环烯基,例如乙烯基、丙烯基、环己烯基等。

[0318] 在其它实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0319]



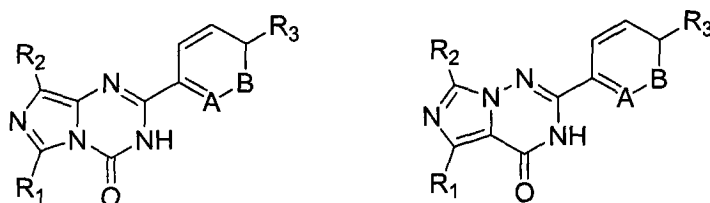
[0320]



[0321] 上述化合物的制备参见 EP 1 775 298 和 WO 2006/004040。

[0322] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:WO 2004/111053 和 US 20060128707,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有下列结构式:

[0323]



[0324] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0325] A 为 N 或 CR₄;

[0326] B 为 N 或 CH ;

[0327] R_1 为取代或未取代的 C_{3-8} 环烷基或叔丁基 ;

[0328] R_2 为氢原子或 C_{1-6} 烷基 ;

[0329] R_3 为氢原子 ; 硝基 ; 氰基 ; 卤素原子 ; 杂芳基 ; 取代或未取代的 C_{1-6} 烷基 ; 取代或未取代的 C_{2-6} 烯基 ; 被取代或未取代的饱和或不饱和杂环烷基 ; 基团 : NR_5R_6 、 $C(O)R_7$ 、 SO_2R_7 、 OR_8 、 NR_8COR_7 、 $NR_8SO_2R_7$;

[0330] R_4 为氢原子或者未取代或被一个或多个氟原子取代的 C_{1-3} 烷氧基 ;

[0331] R_5 和 R_6 彼此相同或不同, 为氢原子 ; 取代或未取代的 C_{1-6} 烷基 ; 取代或未取代的酰基 ; 或者取代或未取代的杂环烷基 ;

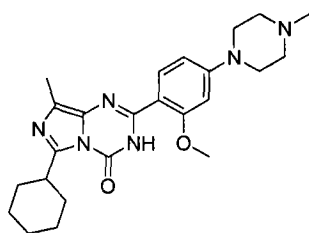
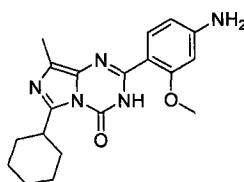
[0332] R_7 为氢原子 ; 取代或未取代的 C_{1-6} 烷基 ; 取代或未取代的杂环烷基 ; OH ; OR_8 或 NR_5R_6 ;

[0333] R_8 为氢原子、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基或者取代或未取代的杂环烷基。

[0334] 对于上述化合物, 术语“ C_1-C_6 烷基”是指具有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基, 术语“ C_2-C_6 烯基”是指具有 2-6 个碳原子的直链或支链烯基。术语“环烷基”是指具有 3-8 个碳原子的环烷基, 例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。术语“杂环烷基”为 3-7 元含有 1-4 个相同或不同的例如氧、氮或硫原子的杂原子的杂环基, 实例可包括哌啶基、吡咯烷基、哌嗪基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、吗啉基、氮杂环丁烷基和高哌嗪基。术语“杂芳基”为 5-7 元含有 2-8 个碳原子和 1-4 个相同或不同的例如氧、氮或硫原子的杂原子的单环或其多环基团。实例包括吡咯、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噻唑基、吡嗪基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、吡啶基、吡唑基、哒嗪基和嘧啶基。“卤素原子”包括氟、氯、溴和碘。“取代或未取代的 C_1-C_6 烷基”、“取代或未取代的 C_3-C_8 环烷基”、“取代或未取代的烯基”、“取代或未取代的杂环烷基”和“取代或未取代的酰基”的合适取代基的实例包括直链或支链、或者取代或未取代的烷基, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、叔丁基 ; 取代或未取代的环烷基, 例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基 ; 羟基 ; 氰基 ; 烷氧基, 例如甲氧基和乙氧基 ; 取代或未取代的氨基, 例如氨基、甲基氨基、乙基氨基和二甲基氨基 ; 取代或未取代的酰基, 例如乙酰基和丙酰基 ; 取代或未取代的芳基 ; 取代或未取代的杂芳基 ; 取代或未取代的饱和或不饱和杂环烷基 ; 取代或未取代的氨基甲酰基 ; 取代或未取代的酰胺基 ; 卤素原子 ; 硝基 ; 取代或未取代的磺基 ; 氧代基 ; 脲基 ; 取代或未取代的直链或支链或环烯基, 例如乙烯基、丙烯基和环己烯基。

[0335] 在其它实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式 :

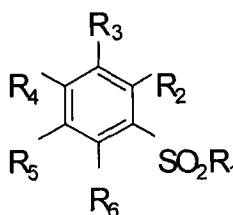
[0336]



[0337] 上述化合物的制备参见 US 20060128707 和 WO 2004/111053。

[0338] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利文献的化合物:美国专利第 6,617,357 号、US20020156064 和 Molecular Pharmacology, 66:1679-1689, 2004, 所述各参考文献通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有下列结构式:

[0339]



[0340] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0341] R_1 为 NR_aR_b , 其中 R_a 和 R_b 独立地为 H 或 C_{1-6} 烷基, 或者表示由碳或者碳与一个或多个选自 O、N 或 S 的额外杂原子组成的 5-7 元环;

[0342] R_2 为 H、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-3} 烷基 -Ar、 C_{1-3} 烷基 - C_{3-6} 环烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-4} 烯基 -Ar 或 C_{2-4} 烯基 - C_{3-6} 环烷基, 其中 Ar 为取代或未取代的苯基;

[0343] R_3 为 NO_2 、卤素、CN、 $C(O)OR_7$ 、 COR_1 或 NR_aR_b , 其中 R_a 和 R_b 独立地为 H 或 C_{1-6} 烷基;

[0344] R_4 为 H、 OC_{1-6} 烷基、卤素、 $C(O)NR_aR_b$ 、 $C(O)OR_7$ 、 C_{1-8} 烷基、 $OCHF_2$ 、 CH_2OR_8 、 OC_{1-3} 烷基 -Ar 或 $CH_2NHC(O)CH_3$;

[0345] R_5 为 H、卤素或烷基;

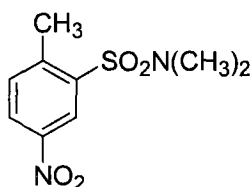
[0346] R_6 为 C_{1-8} 烷基、 OC_{1-4} 烷基或卤素;

[0347] R_7 为氢或为酯或酰胺 - 形成基团;

[0348] R_8 为氢或 C_{1-6} 烷基。

[0349] 在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

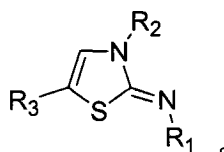
[0350]



[0351] 上述化合物的制备参见美国专利第 6, 617, 357 号、US 20020156064 和 Molecular Pharmacology, 66 :1679-1689, 2004。

[0352] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下文献的化合物:美国专利第 6, 852, 720 号、EP 1 348 433 和 WO 2003/082277, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂其外消旋体、其异构体、其 N-氧化物或其药学上可接受的酸式盐或碱式盐具有下列结构式:

[0353]



[0354] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0355] R_1 为选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团,这些基团被一个或多个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代:卤素、三氟甲基、硝基、氰基、氧代、 NR_4R_5 、 CO_2R_4 、 $CONR_4R_5$ 、 OR_4 、 $S(O)NR_4$ 、 $S(O)NR_4R_5$ 、四唑基和被 1-3 个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代的 (C_1-C_6) 烷基; OR_4 、 NR_4R_5 和 CO_2R_4 ;其中 n 为 0-2 的整数,0 和 2 也包括在内, R_4 和 R_5 相同或不同且彼此独立地为氢原子或者式 X_1-R_a 基团,其中 X_1 为单键或 (C_1-C_6) 亚烷基, R_a 为选自 (C_1-C_6) 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团,

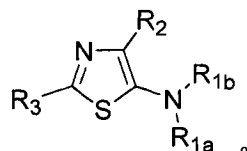
[0356] R_2 为选自 (C_1-C_6) 烷基、 (C_2-C_6) 烯基、 (C_2-C_6) 炔基、芳基和环烷基的基团,

[0357] R_3 为选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团,这些基团被一个或多个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代:卤素、硝基、氰基、三氟甲基、氧代、 (C_1-C_6) 烷基、 OR_6 、 NR_6R_7 、 COR_6 、 CO_2R_6 、 $CONHOH$ 、 $CONR_6R_7$ 、 $S(O)_mR_6$ 、 $S(O)_mNR_6R_7$ 、 NR_6COR_7 、 $NR_6SO_2R_7$ 、 $N(SO_2R_7)_2$ 、 $NR_6CONR_7R_8$ 、 $C(=N-CN)NR_6R_7$ 、 $NR_8C(=N-CN)NR_6R_7$ 和被 (C_1-C_4) 烷基任选取代的四唑基,其中 m 为 0-2 的整数,0 和 2 也包括在内, R_6 和 R_7 相同或不同且彼此独立地为氢原子或者式 X_2R_6 基团,其中 X_2 为单键或 (C_1-C_6) 亚烷基, R_6 为选自 (C_1-C_6) 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团,这些基团被 1-3 个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代:羟基、 (C_1-C_6) 烷氧基、 (C_1-C_6) 烷基、氨基、一 (C_1-C_6) 烷基氨基、二 (C_1-C_6) 烷基氨基(各烷基氨基相同或不同,彼此独立)、羧基、 (C_1-C_6) 烷氧基羰基和苄基, R_8 表示氢原子或 (C_1-C_6) 烷基。

[0358] 上述化合物的制备参见美国专利第 6, 852, 720 号、EP 1 348 433 和 WO 2003/082277。

[0359] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:美国专利第 6, 753, 340 号、US20030191167、EP 1 348 701 和 WO 2003/082839, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂其外消旋体、其异构体、其 N-氧化物或其药学上可接受的酸式盐或碱式盐具有下列结构式:

[0360]



[0361] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0362] R_{1a} 为基团选自氢、 (C_1-C_6) 烷基和芳基 (C_1-C_6) 烷基，

[0363] R_{1b} 为选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团，这些基团被一个或多个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代：卤素、三氟甲基、硝基、氰基、氧代、 NR_4R_5 、 CO_2R_4 、 $CONR_4R_5$ 、 OR_4 、 $S(O)_nNR_4$ 、 $S(O)_nNR_4R_5$ 、四唑基和被 1-3 个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代的 (C_1-C_6) 烷基： OR_4 、 NR_4R_5 和 CO_2R_4 ，其中 n 为 0-2 的整数，0 和 2 也包括在内， R_4 和 R_5 相同或不同且彼此独立地为氢原子或者式 X_1-R_a 基团，其中 X_1 为单键或 (C_1-C_6) 亚烷基， R_a 为选自以下的基团： (C_1-C_6) 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，

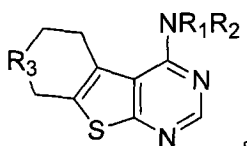
[0364] R_2 为选自 (C_1-C_6) 烷基、 (C_2-C_6) 烯基、 (C_2-C_6) 炔基、芳基和环烷基的基团，

[0365] R_3 为选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团，这些基团被一个或多个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代：卤素、硝基、氰基、三氟甲基、氧代、 (C_1-C_6) 烷基、 OR_6 、 NR_6R_7 、 COR_6 、 CO_2R_6 、 $CONHOH$ 、 $CONR_6R_7$ 、 $S(O)_mR_6$ 、 $S(O)_mNR_6R_7$ 、 NR_6COR_7 、 $NR_6SO_2R_7$ 、 $N(SO_2R_7)_2$ 、 $NR_6CONR_7R_8$ 、 $C(=N-CN)NR_6R_7$ 、 $NR_6C(=N-CN)NR_6R_7$ 和被 (C_1-C_4) 烷基任选取代的四唑基，其中 m 为 0-2 的整数，0 和 2 也包括在内， R_6 和 R_7 相同或不同且彼此独立地为氢原子或式 X_2-R_b 基团，其中 X_2 为单键或 (C_1-C_6) 亚烷基， R_b 为选自 (C_1-C_6) 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基的基团，这些基团被 1-3 个相同或不同彼此独立选自以下的基团任选取代：羟基、 (C_1-C_6) 烷氧基、 (C_1-C_6) 烷基、氨基、一 (C_1-C_6) 烷基氨基、二 (C_1-C_6) 烷基氨基（各烷基氨基相同或不同、彼此独立）、羧基、 (C_1-C_6) 烷氧基羰基和苄基， R_8 为氢原子或 (C_1-C_6) 烷基。

[0366] 这些化合物的制备参见美国专利第 6,753,340 号、US 20030191167、EP 1 348 701 和 WO 2003/082839。

[0367] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物：美国专利第 6,849,638 号、US20030119829 和 WO 2002/088138，所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及其药学上可接受的盐具有下列结构式：

[0368]



[0369] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0370] R_1 和 R_2 独立选自氢、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的完全饱和杂环、6-12 个碳原子的芳基，该芳基可被以下基团取代：1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基；6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1、2 个选自 N、S 和 O

的杂原子的杂芳基、4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基;6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基及 R_4-R_5 ,或者 R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 5-7 元可含有 1-2 个选自 NH、NR₈、S 和 O 的额外杂原子的饱和环,或者与它们所连接的氮原子结合在一起形成 5-7 元可含有 1-2 个选自 N、S 和 O 的额外杂原子的不饱和环;

[0371] 其中所述饱和或不饱和环可被选自以下的 1-2 个取代基取代:OH、1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的完全饱和杂环、卤素、1-2 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子的烷氧基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基及 R_9-R_{10} ;或者

[0372] R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 8-10 元饱和二环;

[0373] R_3 选自 NH、S、S(=O)₂ 和 O;

[0374] R_4 选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、C(=C)、S(=O)₂ 和 C(=O)O;

[0375] R_5 选自氢、OH、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、1-8 个碳原子的烷氧基、6-12 个碳原子的芳基,该芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基;6-12 个碳原子的芳基及 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基;4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基及 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的完全饱和杂环及 NR₆R₇,

[0376] R_6 和 R_7 独立选自氢、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基和 2-8 个碳原子的炔基,或者 R_6 和 R_7 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 5-7 元可含有 1-2 个选自 N、S 和 O 的额外杂原子的不饱和环,或者形成 5-7 元可含有 1-2 个选自 NH、S 和 O 的额外杂原子的饱和环;

[0377] R_8 选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、 $R_{11}-R_{12}$ 、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的完全饱和杂环、6-12 个碳原子的芳基,该芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂

原子的杂芳基、4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基;

[0378] R_9 选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基和 2-8 个碳原子的炔基;

[0379] R_{10} 选自 OH、6-12 个碳原子的芳基,该芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,以及 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基;

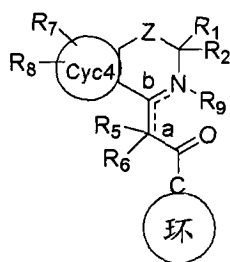
[0380] R_{11} 选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基和 2-8 个碳原子的炔基;

[0381] R_{12} 选自 3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的完全饱和杂环、6-12 个碳原子的芳基,该芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,以及 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基。

[0382] 这些化合物的制备参见美国专利第 6,849,638 号、US 20030119829 和 WO 2002/088138。

[0383] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:US 2005222138 和 WO 2003/064389,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0384]



[0385] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0386] R_1 和 R_2 各自独立地为：(1) 氢原子，或 (2) C_{1-8} 烷基，或者

[0387] R_1 和 R_2 可与它们所连接的碳原子一起形成环 1 (Cyc1)，

[0388] 其中 R_1 和 R_2 不同时表示氢原子；

[0389] Z 为 (1) CR_3R_4 ，(2) O，(3) S，或 (4) 化学键；

[0390] R_3 和 R_4 各自独立地为：(1) 氢原子，(2) C_{1-8} 烷基，(3) C_{1-8} 烷氧基，或 (4) 羟基，或者

[0391] R_3 和 R_4 可与它们所连接的碳原子一起形成环 1 或 C(O)；

[0392] R_5 和 R_6 各自独立地为：(1) 氢原子，或 (2) C_{1-8} 烷基，或者

[0393] R_5 和 R_6 可与它们所连接的碳原子一起形成环 1；

[0394] 由 R_1 和 R_2 、 R_3 和 R_4 、 R_5 和 R_6 表示的环 1 各自独立地为 (1) C_{3-10} 环烷基，或 (2) 3-10 元含有 1-2 个选自氧、氮和硫的杂原子的单环杂环，环 1 可被 R_{10} 取代；

[0395] R_{10} 为 (1) C_{1-8} 烷基，(2) C_{1-8} 烷氧基，(3) 羟基，(4) $COOR_{11}$ ，(5) 氧代，(6) SO_2R_{12} ，或 (7) COR_{13} ；

[0396] R_{11} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

[0397] R_{12} 和 R_{13} 为 (1) C_{1-8} 烷基，或 (2) 可被 C_{1-8} 烷基取代的苯基；

[0398] R_7 和 R_8 各自独立地为：(1) 氢原子，(2) C_{1-8} 烷基，(3) C_{1-8} 烷氧基，(4) 羟基，(5) 氰基，(6) 卤素原子，(7) $COOR_{14}$ ，(8) $CONR_{15}R_{16}$ ，(9) 环 2，(10) C_{2-8} 烯基，(11) C_{2-8} 炔基，(12) $NR_{51}R_{52}$ ，(13) 硝基，(14) 甲酰基，(15) C_{2-8} 酰基，(16) 被以下基团取代的 C_{1-8} 烷基：羟基、 C_{1-8} 烷氧基、环 2、 $NR_{51}R_{52}$ 或 NR_{53} -环 2，(17) $NR_{54}COR_{55}$ ，(18) $NR_{56}SO_2R_{57}$ ，(19) $SO_2NR_{58}R_{59}$ ，(20) 被 $COOR_{14}$ 取代的 C_{2-8} 烯基，(21) $CH=N-OH$ ，(22) C_{1-8} 亚烷基 $-NR_{60}-(C_{1-8} \text{ 亚烷基})-R_{61}$ ，(23) C_{1-8} 烷硫基，(24) 被 1-3 个卤素原子取代的 C_{1-8} 烷基，(25) 被 1-3 个卤素原子取代的 C_{1-8} 烷氧基，(26) 被环 2 取代的 C_{1-8} 烷氧基，(27) O-环 2，(28) OSO_2R_{65} ，或 (29) $CH=N-OR_{137}$ ；

[0399] R_{14} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

[0400] R_{15} 和 R_{16} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

[0401] R_{51} 和 R_{52} 、 R_{58} 和 R_{59} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

[0402] R_{53} 、 R_{54} 、 R_{56} 和 R_{60} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

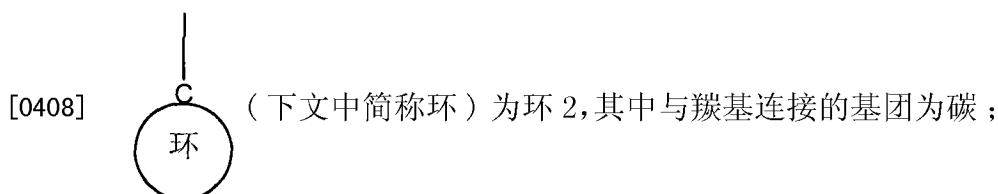
[0403] R_{55} 为氢原子、 C_{1-8} 烷基或 C_{1-8} 烷氧基； R_{57} 为 C_{1-8} 烷基；

[0404] R_{61} 为 $NR_{62}R_{63}$ 或羟基；

[0405] R_{62} 和 R_{63} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基；

[0406] R_{65} 为 C_{1-8} 烷基；

[0407] R_{137} 为 C_{1-8} 烷基；



[0409] 由环表示的 R_7 、 R_8 和环 2 各自独立地为: (1) C_{3-15} 一环、二环或三环 (稠合或螺) 碳环, 或 (2) 含有 1-4 个选自氧、氮和硫的杂原子的 3-15 元一环、二环或三环 (稠合或螺) 杂环;

[0410] 环 2 可被 1-5 个 R_{17} 或 $R_{17'}$ 取代;

[0411] R_{17} 为 (1) C_{1-8} 烷基, (2) C_{2-8} 烯基, (3) C_{2-8} 炔基, (4) C_{1-8} 烷氧基, (5) C_{1-8} 烷硫基, (6) 羟基, (7) 卤素原子, (8) 硝基, (9) 氧代, (10) 羧基, (11) 甲酰基, (12) 氰基, (13) $NR_{18}R_{19}$, (14) 可被 1-5 个 R_{20} 取代的苯基、苯氧基或苯硫基, (15) 可被 1-5 个 R_{21} 取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 烷硫基, (16) $OCOR_{22}$, (17) $CONR_{23}R_{24}$, (18) $SO_2NR_{25}R_{26}$, (19) $COOR_{27}$, (20) $COCOR_{28}$, (21) COR_{29} , (22) $COCOR_{30}$, (23) $NR_{31}COR_{32}$, (24) SO_2R_{33} , (25) $NR_{34}SO_2R_{35}$ 或 (26) SOR_{64} ;

[0412] R_{18} 和 R_{19} 、 R_{31} 和 R_{34} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0413] R_{20} 和 R_{21} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、羟基、卤素原子、硝基或 $COOR_{36}$;

[0414] R_{22} 和 R_{64} 各自独立地为 C_{1-8} 烷基;

[0415] R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 和 R_{26} 各自独立地为氢原子、 C_{1-8} 烷基或苯基;

[0416] R_{27} 、 R_{28} 、 R_{29} 、 R_{30} 、 R_{32} 、 R_{33} 和 R_{35} 为 (1) C_{1-8} 烷基, (2) C_{2-8} 烯基, (3) 被 1-5 个 R_{37} 取代的 C_{1-8} 烷基, (4) 二苯基甲基, (5) 三苯基甲基, (6) 环 3, (7) 被环 3 取代的 C_{1-8} 烷基或 C_{2-8} 烯基, (8) 被 0- 环 3、S- 环 3 或 SO_2 - 环 3 取代的 C_{1-8} 烷基;

[0417] R_{36} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0418] R_{37} 为 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷硫基、苯氧基、卤素原子、硝基或 $COOR_{38}$;

[0419] R_{38} 为氢原子、 C_{1-8} 烷基或 C_{2-8} 烯基;

[0420] 环 3 为 (1) C_{3-15} 一环、二环或三环 (稠合或螺) 碳环, 或 (2) 3-15 元含有 1-4 个选自氧、氮和硫的杂原子的一环、二环或三环 (稠合或螺) 杂环;

[0421] 环 3 可被 1-5 个 R_{39} 取代;

[0422] R_{39} 为 (1) C_{1-8} 烷基, (2) C_{2-8} 烯基, (3) C_{2-8} 炔基, (4) C_{1-8} 烷氧基, (5) C_{1-8} 烷硫基, (6) 羟基, (7) 卤素原子, (8) 硝基, (9) 氧代, (10) 氰基, (11) 苄基, (12) 苄氧基, (13) 被 1-5 个 R_{40} 取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 烷硫基, (14) 可被 1-5 个 R_{41} 取代的苯基、苯氧基、苯硫基、苯基磺酰基或苯甲酰基, (15) $OCOR_{42}$, (16) SO_2R_{43} , (17) $NR_{44}COR_{45}$, (18) $SO_2NR_{46}R_{47}$, (19) $COOR_{48}$ 或 (20) $NR_{49}R_{50}$;

[0423] R_{40} 为卤素原子;

[0424] R_{41} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、卤素原子或硝基;

[0425] R_{42} 、 R_{43} 和 R_{45} 为 C_{1-8} 烷基;

[0426] R_{44} 和 R_{48} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0427] R_{46} 和 R_{47} 、 R_{49} 和 R_{50} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0428] $R_{17'}$ 为 (1) SH, (2) $NR_{66}CHO$, (3) 环 5, (4) 被环 5 取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{2-8} 烯基或 C_{2-8} 炔基, (5) $CO-(NH-氨基酸残基-CO)_n-OH$, (6) $NR_{67}CONR_{68}R_{69}$, (7) $CONR_{70}NR_{71}R_{72}$, (8) $CONR_{73}OR_{74}$, (9) $CONR_{75}COR_{76}$, (10) $C(S)NR_{77}R_{78}$, (11) $CONR_{79}C(S)COOR_{80}$, (12) $NR_{81}COCOR_{82}$, (13) $NR_{83}COOR_{84}$,

(14) $\text{CONR}_{85}\text{C}(\text{S})\text{R}_{86}$, (15) OCOR_{87} , (16) SOR_{88} , (17) $\text{CONR}_{89}\text{R}_{90}$, (18) $\text{SO}_2\text{NR}_{91}\text{R}_{92}$, (19) COOR_{93} , (20) COCOR_{94} , (21) COR_{95} , (22) COCOR_{96} , (23) $\text{NR}_{97}\text{COR}_{98}$, (24) SO_2R_{99} , (25) $\text{NR}_{100}\text{SO}_2\text{R}_{101}$ 或 (26) $\text{NR}_{102}\text{R}_{103}$;

[0429] n 为 1 或 2 的整数;

[0430] R_{66} 、 R_{73} 、 R_{75} 、 R_{77} 、 R_{79} 、 R_{81} 、 R_{83} 、 R_{85} 、 R_{97} 、 R_{100} 和 R_{102} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0431] R_{67} 和 R_{68} 、 R_{70} 和 R_{71} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0432] R_{89} 和 R_{91} 为 (1) 氢原子, (2) C_{1-8} 烷基, (3) 苯基, 或 (4) 被氰基或 C_{1-8} 烷氧基取代的 C_{1-8} 烷基;

[0433] R_{103} 为环 6;

[0434] R_{69} 、 R_{72} 、 R_{74} 、 R_{76} 、 R_{78} 、 R_{80} 、 R_{82} 、 R_{84} 、 R_{86} 、 R_{87} 、 R_{88} 、 R_{90} 和 R_{92} 为 (1) 氢原子, (2) C_{1-8} 烷基, (3) C_{2-8} 烯基, (4) C_{2-8} 炔基, (5) 被 1-5 个 R_{104} 取代的 C_{1-8} 烷基, (6) 二苯基甲基, (7) 三苯基甲基, (8) 环 6, (9) 被环 6 取代的 C_{1-8} 烷基或 C_{2-8} 烯基, 或 (10) 被 0- 环 6、S- 环 6 或 SO_2 - 环 6 取代的 C_{1-8} 烷基;

[0435] R_{104} 为 (1) C_{1-8} 烷氧基, (2) C_{1-8} 烷硫基, (3) 苄氧基, (4) 卤素原子, (5) 硝基, (6) COOR_{105} , (7) 氰基, (8) $\text{NR}_{106}\text{R}_{107}$, (9) $\text{NR}_{108}\text{COR}_{109}$, (10) 羟基, (11) SH , (12) SO_3H , (13) $\text{S}(\text{O})\text{OH}$, (14) OSO_3H , (15) C_{2-8} 烯氧基, (16) C_{2-8} 炔氧基, (17) COR_{110} , (18) $\text{SO}_2\text{R}_{111}$, 或 (19) 被羟基取代的 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 烷硫基;

[0436] R_{105} 为氢原子、 C_{1-8} 烷基或 C_{2-8} 烯基;

[0437] R_{106} 和 R_{107} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0438] R_{108} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

[0439] R_{109} 和 R_{111} 为 C_{1-8} 烷基;

[0440] R_{110} 为 C_{1-8} 烷基或卤素原子;

[0441] R_{93} 、 R_{94} 、 R_{95} 、 R_{96} 、 R_{98} 、 R_{99} 和 R_{101} 为 (1) C_{2-8} 炔基, (2) 被 R_{128} 取代的 C_{1-8} 烷基, R_{128} 可被 1-4 个 R_{29} 取代, (3) 环 8, (4) 被环 8 取代的 C_{1-8} 烷基或 C_{2-8} 烯基, 或 (5) 被 0- 环 8、S- 环 8 或 SO_2 - 环 8 取代的 C_{1-8} 烷基; R_{128} 为 (1) 氰基, (2) $\text{NR}_{106}\text{R}_{107}$, (3) $\text{NR}_{108}\text{COR}_{109}$, (4) 羟基, (5) SH , (6) SO_3H , (7) $\text{S}(\text{O})\text{OH}$, (8) OSO_3H , (9) C_{2-8} 烯氧基, (10) C_{2-8} 炔氧基, (11) COR_{110} , (12) $\text{SO}_2\text{R}_{111}$, 或 (13) 被羟基取代的 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 烷硫基;

[0442] R_{129} 具有与 R_{104} 相同的含义;

[0443] 环 5 和环 6 可被 1-5 个 R_{112} 取代;

[0444] R_{112} 为 (1) C_{1-8} 烷基, (2) C_{2-8} 烯基, (3) C_{2-8} 炔基, (4) C_{1-8} 烷氧基, (5) C_{1-8} 烷硫基, (6) 羟基, (7) 卤素原子, (8) 硝基, (9) 氧代, (10) 氰基, (11) 苄基, (12) 苄氧基, (13) 被 1-5 个 R_{113} 取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 烷硫基, (14) 可被 1-5 个 R_{114} 取代的苯基、苯氧基、苯硫基或苯甲酰基, (15) COR_{115} , (16) $\text{SO}_2\text{R}_{116}$, (17) $\text{NR}_{117}\text{COR}_{118}$, (18) $\text{SO}_2\text{NR}_{119}\text{R}_{120}$, (19) COOR_{121} , (20) $\text{NR}_{122}\text{R}_{123}$, (21) COR_{124} , (22) $\text{CONR}_{125}\text{R}_{126}$, (23) SH , (24) 被羟基或 NR_{127} - 苯甲酰基取代的 C_{1-8} 烷基, 或 (25) 环 7;

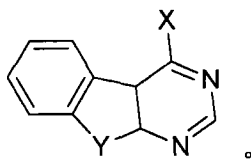
[0445] R_{113} 为卤素原子;

[0446] R_{114} 为 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、卤素原子或硝基;

[0447] R_{115} 、 R_{116} 和 R_{118} 为 C_{1-8} 烷基;

[0448] R_{117} 、 R_{121} 、 R_{124} 和 R_{127} 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;

- [0449] R_{119} 和 R_{120} 、 R_{122} 和 R_{123} 、 R_{125} 和 R_{126} 各自独立地为氢原子或 C_{1-8} 烷基；
- [0450] 环 7 可被 1-5 个选自以下的基团取代：(1) C_{1-8} 烷基，(2) C_{1-8} 烷氧基，(3) 卤素原子，或 (4) 硝基；
- [0451] 环 8 可被 R_{130} 取代，且可被 1-4 个 R_{131} 进一步取代；
- [0452] R_{130} 为 (1) COR_{124} ，(2) $CONR_{125}R_{126}$ ，(3) SH，(4) 被羟基或 NR_{127} - 苯甲酰基取代的 C_{1-8} 烷基，或 (5) 环 7；
- [0453] R_{131} 具有与 R_{112} 相同的含义；
- [0454] 环 5、环 6、环 7 和环 8 为 (1) C_{3-15} 一环、二环或三环（稠合或螺）碳环，或 (2) 3-15 元含有 1-4 个选自 1-4 氧、氮或硫的杂原子的一环、二环或三环（稠合或螺）杂环；
- [0455] 其中当 $R_{17'}$ 为环 5 时，则环 5 不是可被 1-5 个选自以下基团取代的苯基： C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、羟基、卤素原子、硝基、 $COOH$ 或 $COO(C_{1-8}$ 烷基)；
- [0456] 其中环 7 不是苯基；
- [0457] 环 4 为 (1) C_{5-7} 单环碳环，或 (2) 5-7 元含有 1-2 个选自氧、氮和硫的杂原子的单环杂环；(下文简称虚线 a) 和 (下文简称虚线 b) 为 (1) 化学键或 (2) 双键；
- [0458] R_9 (1) 不存在或 (2) 为氢原子；
- [0459] 其中
- [0460] (1) 当虚线 a 为化学键时，虚线 b 为双键， R_9 不存在，
- [0461] (2) 当虚线 a 为双键，则虚线 b 为化学键， R_9 为氢原子， R_6 不存在，
- [0462] (3) 不包括 2-(3,3-二甲基-3,4-二氢-(2H)-异喹啉-1-亚基)-1-苯基乙-1-酮或其药学上可接受的盐。
- [0463] 这些化合物的制备参见 US 2005222138 和 WO 2003/064389。
- [0464] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2003/057149 的化合物，该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及其药学上可接受的盐具有下列结构式：
- [0465]



- [0466] 上述化合物的取代基的定义如下：
- [0467] (1) X 选自卤素和 NR_1R_2 ，
- [0468] (2) Y 选自 NR_3 、S 和 O，前提条件是当 X 为 Cl 时，Y 不为 S，
- [0469] (3) R_1 和 R_2 独立选自氢、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、3-7 个碳原子的环烷基、5-9 个碳原子的多环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的杂环烷基、6-12 个碳原子的芳基，该芳基可被以下基团取代：1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基，该杂芳基可被以下基团取代：1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个

碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基, 及 R_4R_5 , 或者 R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 5-7 元单环饱和环, 任选含有 1-2 个选自 NH、NR₆、S 和 O 的额外杂原子, 或者 R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 6-10 元稠合多环饱和环, 任选含有 1-2 个选自 NH、NR₆、S 和 O 的额外杂原子, 或者 R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子结合在一起形成 5-7 元不饱和环, 任选含有 1-2 个选自 N、S 和 O 的额外杂原子, 其中所述单环饱和环、多环饱和环或不饱和环可被 1-2 个选自以下取代基取代: OH、1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的杂环烷基、卤素、1-2 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子的烷氧基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基, 及 R_7R_8 ,

[0470] (4) R_3 选自氢、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、3-7 个碳原子的环烷基及 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基, 该杂芳基可被以下基团取代: 1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基,

[0471] (5) R_4 选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、C(=O)、S(=O)₂ 和 C(=O)O,

[0472] (6) R_5 选自氢、OH、1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基、2-8 个碳原子的炔基、1-8 个碳原子的烷氧基、1-8 个碳原子的烷硫基(thioxy)、6-12 个碳原子的芳基, 该芳基可被以下基团取代: 1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基、4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基, 该杂芳基可被以下基团取代: 1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基、或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基、3-7 个碳原子的环烷基、2-6 个碳原子和 1-2 个选自 NH、S 和 O 的杂原子的杂环烷基, 及 NR₉R₁₀,

[0473] (7) R_6 和 R_7 独立选自 1-8 个碳原子的烷基、2-8 个碳原子的烯基和 2-8 个碳原子的炔基,

[0474] (8) R_8 选自 OH、6-12 个碳原子的芳基, 该芳基可被以下基团取代: 1-6 个碳原子的烷基、2-6 个碳原子的烯基、2-6 个碳原子的炔基、1-6 个碳原子的烷氧基、卤素、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、1-6 个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷氧基、6-12 个碳原子的芳基或 4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的杂芳基、4-11 个碳原子和 1-2 个选自 N、S 和 O 的杂原子的

杂芳基,该杂芳基可被以下基团取代:1-6个碳原子的烷基、2-6个碳原子的烯基、2-6个碳原子的炔基、1-6个碳原子的烷氧基、卤素、1-6个碳原子和最高达到全卤代水平的一定数量的卤素原子的卤代烷基、6-12个碳原子的芳基或4-11个碳原子和1-2个选自N、S和O的杂原子的杂芳基;

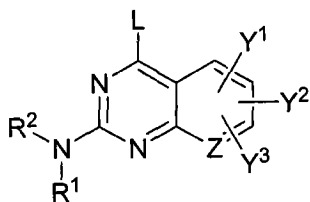
[0475] (9) R_9 和 R_{10} 独立选自氢、1-8个碳原子的烷基、2-8个碳原子的烯基和2-8个碳原子的炔基,或者 R_9 和 R_{10} 与它们所连接的氮原子结合在一起形成5-7元可含有1-2个选自N、S和O的额外杂原子的不饱和环,或者形成5-7元可含有1-2个选自NH、 NR_{11} 、S和O的额外杂原子的饱和环;

[0476] (10) R_1 选自1-8个碳原子的烷基、2-8个碳原子的烯基和2-8个碳原子的炔基。

[0477] 这些化合物的制备参见WO 2003/057149。

[0478] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的PDE7抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:US 20030092721、美国专利第7,022,849号、WO 2002/102315和US 2006116516,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的PDE7抑制剂具有下列结构式:

[0479]



[0480] 上述化合物的取代基的定义如下: R_1 为H或烷基;

[0481] R_2 为(a)杂芳基或杂环基,其中任一个可被基团T1、T2、T3中的1-3个任选取代;或者(b)与杂芳环或杂环稠合的芳基,该复合环系可被基团T1、T2、T3中的1-3个任选取代;

[0482] L为(a) OR_4 、 $C(O)R_4$ 、 $C(O)OR_4$ 、 SR_4 、 NR_3R_4 、 $C(O)NR_3R_4$ 、 $NR_3SO_2R_{4b}$ 、卤素、硝基或卤代烷基;或者(b)烷基、芳基、杂芳基、杂环基或环烷基,其中的任一个可被基团T1a、T2a和/或T3a中的1-3个任选取代;

[0483] Y_1 、 Y_2 和 Y_3 独立地为(a)氢、卤素或 $-OR_{4a}$;或者(b)烷基、烯基或炔基,其中的任一个可被基团T1b、T2b和/或T3b中的1-3个任选取代;

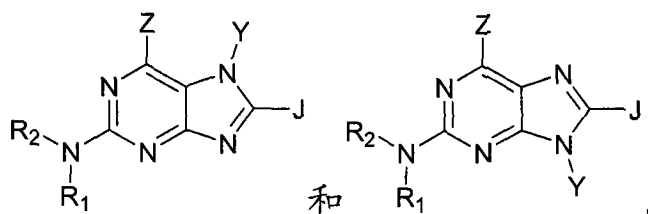
[0484] R_3 和 R_4 独立地为H、烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基,其中的任一个被基团T1a、T2a和/或T3a中的1-3个任选取代;或者

[0485] R_3 和 R_4 可与它们所连接的氮原子一起结合形成4-8元被基团T1a、T2a和/或T3a中的1-3个任选取代的杂环;

[0486] R_{4a} 为氢、烷基、烯基、芳基、杂芳基、(芳基)烷基、(杂芳基)烷基、杂环基、(杂环基)烷基、环烷基或(环烷基)烷基,其中的任一个可被基团T1b、T2b和/或T3b中的1-3个任选取代;

[0487] R_{4b} 为烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基,其中的任一个被基团T1a、T2a和/或T3a中的1-3个任选取代;

- [0488] Z 为 N 或 CH ;
- [0489] T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 各自独立为 ;
- [0490] (1) 氢或 T6, 其中 T6 为 : (i) 烷基、(羟基) 烷基、(烷氧基) 烷基、烯基、炔基、环烷基、(环烷基) 烷基、环烯基、(环烯基) 烷基、芳基、(芳基) 烷基、杂环基、(杂环基) 烷基、杂芳基或 (杂芳基) 烷基 ; (ii) 本身又被一个或多个相同或不同的基团 (i) 取代的基团 (i) ; 或 (iii) 被一个或多个下列 T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 中定义的基团 (2) 至基团 (13) 取代的基团 (i) 或基团 (ii) ;
- [0491] (2) -OH 或 -OT6 ;
- [0492] (3) -SH 或 -ST6 ;
- [0493] (4) -C(O)_tH、-C(O)_tT6 或 -O-C(O)T6, 其中 t 为 1 或 2 ;
- [0494] (5) -SO₃H、-S(O)_tT6 或 S(O)_tN(T9)T6 ;
- [0495] (6) 卤素 ;
- [0496] (7) 氰基 ;
- [0497] (8) 硝基 ;
- [0498] (9) -T4-NT7T8 ;
- [0499] (10) -T4-N(T9)-T5-NT7T8 ;
- [0500] (11) -T4-N(T10)-T5-T6 ;
- [0501] (12) -T4-N(T10)-T5-H ; 和
- [0502] (13) 氧代 ;
- [0503] T4 和 T5 各自独立地为单键、T11S(O)_tT12-、T11C(O)T12-、T11C(S)T12、T11OT12、T11ST12、T11OC(O)T12、T11C(O)OT12、T11C(= NT9a)T12 或 T11C(O)C(O)T12 ;
- [0504] T7、T8、T9、T9a 和 T10 为 ;
- [0505] (1) 各自独立地为氢或 T6 定义中提供的基团, 或
- [0506] (2) T7 和 T8 可连在一起成为亚烷基或亚烯基, 与它们所连接的原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环, 该环是未取代的或者被一个或多个 T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 的描述中所列的基团取代, 或者
- [0507] (3) T7 或 T8 连同 T9 可为亚烷基或亚烯基, 与它们所连接的氮原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环, 该环是未取代的或者被一个或多个 T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 的描述中所列的基团取代, 或者
- [0508] (4) T7 和 T8 或 T9 和 T10 可与它们所连接的氮原子一起结合形成基团 N = CT13T14, 其中 T13 和 T14 独立地为 H 或 T6 定义中所提供的基团 ; T11 和 T12 独立地为单键、亚烷基、亚烯基或亚炔基。
- [0509] 这些化合物的制备参见 US 20030092721、美国专利第 7,022,849 号、WO 2002/102315 和 US 2006116516。
- [0510] 在另一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物 : 美国专利第 6,838,559 号、U.S. 20030100571 和 WO 2002/102314, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式 :
- [0511]



[0512] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0513] R_1 为 H 或烷基；

[0514] R_2 为 (a) 杂芳基或杂环基，其中任一个可被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个任选取代；
(b) 被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个取代的芳基，前提条件是 T1、T2、T3 中至少一个不是 H；或
(c) 与杂芳环或杂环稠合的芳基，其中该复合环系可被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个任选取代；

[0515] Y 为烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基、杂芳基、(芳基)烷基或(杂芳基)烷基，其中任一个可被基团 T1a、T2a、T3a 中的 1-3 个任选取代；

[0516] J 为 (a) 氢、卤素或 OR_4 ，或者 (b) 烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、杂环基或环烷基，其中任一个可被基团 T1b、T2b、T3b 中的 1-3 个任选取代；

[0517] Z 为 (a) OR_4 、 SR_4 、 NR_3R_4 、 $NR_3SO_2R_{4a}$ 、卤素、硝基、卤代烷基；或者 (b) 烷基、芳基、杂芳基、杂环基或环烷基，其中任一个可被基团 T1c、T2c、T3c 中的 1-3 个任选取代；

[0518] R_3 为 H、烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基，在化合价允许的情况下，其中任一基团可被基团 T1c、T2c、T3c 的 1-3 个独立地任选取代；

[0519] R_4 为烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基，在化合价允许的情况下，其中任一基团可被基团 T1d、T2d 或 T3d 的 1-3 个独立地任选取代；或者

[0520] R_3 和 R_4 可与它们所连接的氮原子一起结合形成 4-8 元被基团 T1c、T2c 或 T3c 中的 1-3 个任选取代的杂环；

[0521] R_{4a} 为氢、烷基、烯基、芳基、杂芳基、(芳基)烷基、(杂芳基)烷基、杂环基、(杂环基)烷基、环烷基或(环烷基)烷基，其中任一个可被基团 T1d、T2d 或 T3d 中的 1-3 个任选取代；

[0522] T1、T1a、T1b、T1c、T1d、T2、T2a、T2b、T2c、T2d、T3、T3a、T3b、T3c 和 T3d (下文亦简称 T1-1d、T2-2d 和 T3-3d) 独立地为：

[0523] (1) 氢或 T6，其中 T6 为：

[0524] (a) 烷基、(羟基)烷基、(烷氧基)烷基、烯基、炔基、环烷基、(环烷基)烷基、环烯基、(环烯基)烷基、芳基、(芳基)烷基、杂环基、(杂环基)烷基、杂芳基或(杂芳基)烷基；

[0525] (b) 自身被一个或多个相同或不同的基团 (a) 取代的基团 (a)；或者

[0526] (c) 被一个或多个 (优选 1-3 个) T1-1d、T2-2d 和 T3-3d 中定义的下列基团 (2)-(13) 独立取代的基团 (a) 或基团 (b)，

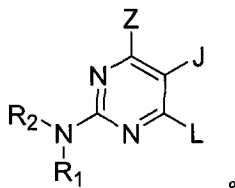
[0527] (2) OH 或 OT6，

[0528] (3) SH 或 ST6，

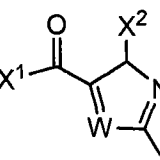
- [0529] (4) $C(O)_tH$, $C(O)_tT6$ 或 $OC(O)T6$, 其中 t 为 1 或 2 ;
- [0530] (5) SO_3H , $S(O)_tT6$ 或 $S(O)_tN(T9)T6$,
- [0531] (6) 卤素,
- [0532] (7) 氰基,
- [0533] (8) 硝基,
- [0534] (9) $T4NT7T8$,
- [0535] (10) $T4N(T9)-T5NT7T8$,
- [0536] (11) $T4N(T10)-T5-T6$,
- [0537] (12) $T4N(T10)-T5H$,
- [0538] (13) 氧代,
- [0539] $T4$ 和 $T5$ 各自独立地为单键、 $T11-S(O)_t-T12$ 、 $T11-C(O)-T12$ 、 $T11-C(S)-T12$ 、 $T11-O-T12$ 、 $-T11S-T12$ 、 $-T11OC(O)-T12$ 、 $-T11-C(O)O-T12$ 、 $-T11C(=NT9a)-T12$ 或 $T11-C(O)-C(O)-T12$;
- [0540] $T7$ 、 $T8$ 、 $T9$ 、 $T9a$ 和 $T10$ 为 :
- [0541] (1) 各自独立地为氢或 $T6$ 定义中提供的基团, 或者
- [0542] (2) $T7$ 和 $T8$ 可连在一起成为亚烷基或亚烯基, 与它们所连接的原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环, 该环是未取代的或被一个或多个 $T1-1d$ 、 $T2-2d$ 和 $T3-3d$ 的描述中所列的基团取代, 或者
- [0543] (3) $T7$ 或 $T8$ 连同 $T9$ 可为亚烷基或亚烯基, 与它们所连接的氮原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环, 该环是未取代的或被一个或多个 $T1-1d$ 、 $T2-2d$ 和 $T3-3d$ 的描述中所列的基团取代, 或者
- [0544] (4) $T7$ 和 $T8$ 或 $T9$ 和 $T10$ 可与它们所连接的氮原子一起结合形成基团 $N=CT13T14$, 其中
- [0545] $T13$ 和 $T14$ 各自独立地为 H 或 $T6$ 定义中所提供的基团 ; 和
- [0546] $T11$ 和 $T12$ 各自独立地为单键、亚烷基、亚烯基或亚炔基。
- [0547] 这些化合物的制备参见美国专利第 6,838,559 号、U.S. 20030100571 和 WO 2002/102314。

[0548] 在另一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物 : 美国专利第 7,087,614 号, U.S. 20030162802 和 WO 2002/192313, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式 :

[0549]



[0550] 上述化合物的取代基的定义如下 :

[0551] R_{1a} 为氢或烷基; R_{2a} 为 X^1 ; W 为 S; X_1 为烷氧基; X_2 为烷基;

[0552] Z 为卤素、卤代烷基、噁唑基、 $NR_{3a}R_{4a}$ 、 $C(O)-N(H)-$ 亚烷基- $COOH$ 、或者未取代或被杂芳基、 CO_tH 或 CO_tT_6 取代的苯基;

[0553] R_{3a} 为氢或烷基;

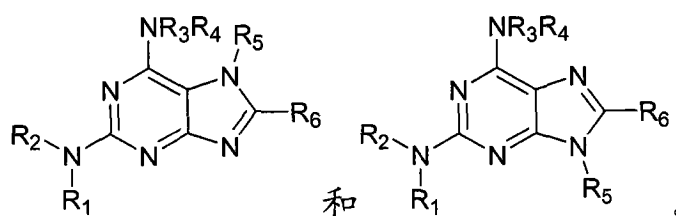
[0554] R_{4a} 为烷基、烷氧基、未取代或取代的(杂芳基)烷基、未取代或取代的杂环基、未取代或取代的(杂环基)烷基,或(芳基)烷基,其中芳基被基团 $T1$ 和/或 $T2$ 的一个或两个取代和/或被基团 $T3$ 进一步取代;或者 R_{3a} 和 R_{4a} 与它们所连接的氮原子一起结合形成未取代或取代的杂环;

[0555] R_{5a} 为未取代或取代的(杂芳基)烷基,或(芳基)烷基,其中芳基被基团 $T1$ 和/或 $T2$ 的一个或两个取代和/或被基团 $T3$ 进一步取代;或者 R_{5a} 和 R_{6a} 与它们所连接的氮原子一起结合形成未取代或取代的杂环; R_{6a} 为氢或烷基; J 为氢或烷基; $T1$ 和 $T2$ 独立地为烷氧基、烷氧基羰基、杂芳基、 SO_3H 或 SO_2R_{8a} , 其中 R_{8a} 为烷基、氨基、烷基氨基或二烷基氨基;或者 $T1$ 和 $T2$ 与它们所连接的芳环一起结合形成二环; $T3$ 为 H、烷基、卤素、卤代烷基或氰基; t 为 1 或 2; $T6$ 为烷基、卤代烷基、环烷基、烷氧基或杂芳基。

[0556] 这些化合物的制备参见美国专利第 7,087,614 号、U.S. 20030162802 和 WO 2002/192313。

[0557] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:US 20030104974、WO 2002/088080 和 WO 2002/088079,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0558]

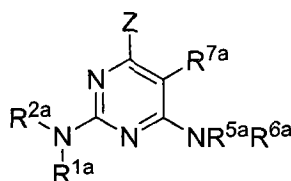


[0559] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0560] R_1 为 H 或烷基; R_2 为任选取代的杂芳基或 4-取代芳基; R_3 为氢或烷基; R_4 为烷基、任选取代的(芳基)烷基、任选取代的(杂芳基)烷基、任选取代的杂环基或任选取代的(杂环基)烷基;或者 R_3 和 R_4 可与它们所连接的氮原子一起结合形成任选取代的杂环; R_5 为烷基、任选取代的(芳基)烷基或任选取代的(杂芳基)烷基; R_6 为氢或烷基。

[0561] 在一个相关实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

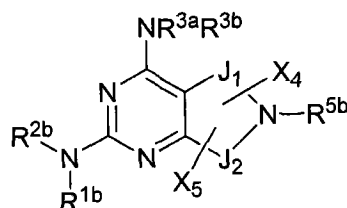
[0562]



[0563] 其中 R_{1a} 为 H 或烷基 ; R_{2a} 为任选取代的杂芳基 ; Z 为卤素、烷基、取代烷基、卤代烷基或 $NR_{3a}R_{4a}$; R_{3a} 为氢或烷基 ; R_{4a} 为烷基、任选取代的 (杂芳基) 烷基、任选取代的杂环基、任选取代的 (杂环基) 烷基或 (芳基) 烷基, 其中芳基被基团 T1 和 T2 中的一个或两个取代并被基团 T3 任选进一步取代 ; 或者 R_{3a} 和 R_{4a} 可与它们所连接的氮原子一起结合形成任选取代的杂环 ; R_{5a} 为 (芳基) 烷基, 其中芳基被基团 T1 和 T2 中的一个或两个取代并被基团 T3 任选进一步取代 ; R_{6a} 为氢或烷基 ; R_{7a} 为氢或烷基 ; T1 和 T2 独立地为烷氧基、烷氧基羰基、杂芳基或 SO_2R_{8a} , 其中 R_{8a} 为烷基、氨基、烷基氨基或二烷基氨基 ; 或者 T1 和 T2 与它们所连接的原子一起结合形成环 (例如苯并二氧杂环戊烯) ; T3 为 H、烷基、卤素、卤代烷基或氰基。

[0564] 在另一个相关实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式 :

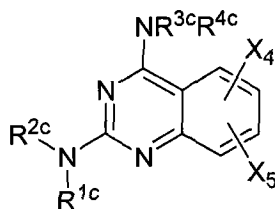
[0565]



[0566] 其中 R_{1b} 为 H 或烷基 ; R_{2b} 为任选取代的杂芳基 ; R_{3b} 为 H 或烷基 ; R_{4b} 为任选取代的 (芳基) 烷基 ; R_{5b} 为 H、烷基或 $C(O)(CH_2)_vOYR_{6b}$, 其中 Y 为化学键或 $C(O)$, R_{6b} 为氢或烷基, v 为 0-2 的整数 ; J_1 和 J_2 独立地为任选取代的 C_{1-13} 亚烷基, 前提条件是 J_1 和 J_2 不同时大于 C_2 亚烷基 ; X_4 和 X_5 为与 J_1 和 J_2 的一个或两个中的任何可用碳原子结合的任选取代基, 独立选自氢、 OR_7 、 NR_8R_9 、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、芳基、取代芳基、杂环烷基或杂芳基 ; R_7 为氢、烷基、取代烷基、烯基、炔基、环烷基、取代环烷基、 $C(O)$ 烷基、 $C(O)$ 取代烷基、 $C(O)$ 环烷基、 $C(O)$ 取代环烷基、 $C(O)$ 芳基、 $C(O)$ 取代芳基、 $C(O)O$ 烷基、 $C(O)O$ 取代烷基、 $C(O)$ 杂环烷基、 $C(O)$ 杂芳基、芳基、取代芳基、杂环烷基和杂芳基 ; R_8 和 R_9 独立选自氢、烷基、取代烷基、环烷基、取代环烷基、烯基、炔基、 $C(O)$ 烷基、 $C(O)$ 取代烷基、 $C(O)$ 环烷基、 $C(O)$ 取代环烷基、 $C(O)$ 芳基、 $C(O)$ 取代芳基、 $C(O)O$ 烷基、 $C(O)O$ 取代烷基、 $C(O)$ 杂环烷基、 $C(O)$ 杂芳基、 $S(O)_2$ 烷基、 $S(O)_2$ 取代烷基、 $S(O)_2$ 环烷基、 $S(O)_2$ 取代环烷基、 $S(O)_2$ 芳基、 $S(O)_2$ 取代芳基、 $S(O)_2$ 杂环烷基、 $S(O)_2$ 杂芳基、芳基、取代芳基、杂环烷基和杂芳基, 或者 R_8 和 R_9 与它们所连接的氮原子一起构成任选取代的杂环烷基或杂芳环。

[0567] 在又一个相关的实施方案中, 用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式 :

[0568]

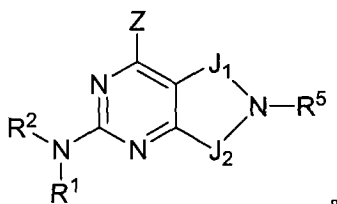


[0569] 其中 R_{1c} 为 H 或烷基 ; R_{2c} 为任选取代的杂芳基 ; R_{3c} 为 H 或烷基 ; R_{4c} 为任选取代的 (芳基) 烷基 ; X_4 和 X_5 为与 J_1 和 J_2 的一个或两个中的任何可用碳原子结合的任选取代基, 独立选自氢、 OR_7 、 NR_8R_9 、烷基、取代烷基、烯基、取代烯基、炔基、取代炔基、环烷基、取代环烷基、芳基、取代芳基、杂环烷基或杂芳基。

[0570] 这些化合物的制备参见 US 20030104974、WO 2002/088080 和 WO2002/088079。

[0571] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:US 20030092908 和 WO 2002/087513,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式:

[0572]



[0573] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0574] R_1 为氢或烷基;

[0575] R_2 为:(a) 杂芳基或杂环基,其中任一个可被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个任选取代;
(b) 被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个取代的芳基,前提条件是 T1、T2、T3 中至少一个不是 H;或者
(c) 与杂芳环或杂环稠合的芳基,该复合环系可被基团 T1、T2、T3 中的 1-3 个任选取代;

[0576] Z 为 NR_3R_4 、 $NR_3SO_2R_{4a}$ 、 OR_4 、 SR_4 、卤代烷基或卤素;

[0577] R_3 和 R_4 独立地为 H、烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基,化合价允许的情况下,其中任一基团可被基团 T1a、T2a 或 T3a 中 1-3 个独立地任选取代;或者

[0578] R_3 和 R_4 可与它们所连接的氮原子一起形成杂环或杂芳环,化合价允许的情况下,其可被基团 T1a、T2a 或 T3a 中 1-3 个独立地任选取代;

[0579] R_{4a} 为烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基,化合价允许的情况下,其中任一基团可被基团 T1a、T2a 或 T3a 中 1-3 个独立地任选取代;

[0580] R_{3b} 和 R_{4b} 独立地为 H、烷基、烯基、芳基、(芳基)烷基、杂芳基、(杂芳基)烷基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环基或(杂环基)烷基;

[0581] R_5 为:

[0582] (1) 氢或氰基;

[0583] (2) 烷基、烯基、炔基、环烷基、(环烷基)烷基、芳基、(芳基)烷基、杂环基、(杂环基)烷基、杂芳基或(杂芳基)烷基,化合价允许的情况下,其中任一基团可被基团 T1b、T2b 或 T3b 中 1-3 个独立地任选取代;或

[0584] (3) $C(O)R_6$ 、 $C(O)OR_6$ 、 $C(O)-C(O)OR$ 或 SO_2R_{6a} ;

[0585] R_6 为 H、烷基、烯基、 $NR_{3b}R_{4b}$ 、杂环基、(杂环基)烷基、(羟基)烷基、(烷氧基)烷基、(芳氧基)烷基、 $(NR_{3b}R_{4b})$ 烷基、杂芳基、芳基或(芳基)烷基,化合价允许的情况下,其中任一基团可被基团 T1b、T2b 或 T3b 中 1-3 个独立地任选取代;

[0586] R_{6a} 为烷基、烯基、 $NR_{3b}R_{4b}$ 、杂环基、(杂环基)烷基、(羟基)烷基、(烷氧基)烷基、(芳氧基)烷基、 $(NR_{3b}R_{4b})$ 烷基、杂芳基、芳基或(芳基)烷基,化合价允许的情况下,其中任一基团可被基团 T1b、T2b 或 T3b 中 1-3 个独立地任选取代;

[0587] J_1 和 J_2 独立地为任选取代的 C_{1-3} 亚烷基,前提条件是 J_1 和 J_2 不同时大于 C_2 亚烷

基；

[0588] T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 各自独立为：

[0589] (1) 氢或 T6, 其中 T6 为 (i) 烷基、(羟基)烷基、(烷氧基)烷基、烯基、炔基、环烷基、(环烷基)烷基、环烯基、(环烯基)烷基、芳基、(芳基)烷基、杂环基、(杂环基)烷基、杂芳基或(杂芳基)烷基；(ii) 本身又被一个或多个相同或不同的基团 (i) 取代的基团 (i)；或 (iii) 被一个或多个 (优选 1-3) T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 中定义的下列基团 (2)-(13) 独立取代的基团 (i) 或基团 (ii)，

[0590] (2) OH 或 OT6，

[0591] (3) SH 或 ST6，

[0592] (4) C(O)_tH、C(O)_tT6 或 OC(O)T6, 其中 t 为 1 或 2，

[0593] (5) SO₃H、S(O)_tT6 或 S(O)_tN(T9)T6，

[0594] (6) 卤素，

[0595] (7) 氰基，

[0596] (8) 硝基，

[0597] (9) T4-NT7T8，

[0598] (10) T4-N(T9)-T5-NT7T8，

[0599] (11) T4-N(T10)-T5-T6，

[0600] (12) T4-N(T10)-T5H，

[0601] (13) 氧代，

[0602] T4 和 T5 各自独立地为 (1) 单键，(2) T11-S(O)_t-T12，(3) T11-C(O)-T12，(4) T11-C(S)-T12，(5) -T11-O-T12，(6) T11-S-T12，(7) T11-O-C(O)-T12，(8) T11-C(O)-O-T12，(9) T11-C(=NT9a)-T12，或 (10) T11-C(O)-C(O)-T12，

[0603] T7、T8、T9、T9a 和 T10，

[0604] (1) 各自独立地为氢或 T6 定义中提供的基团，或者

[0605] (2) T7 和 T8 可连在一起成为亚烷基或亚烯基，与它们所连接的原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环，该环是未取代的或被 T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 的描述中所列的一个或多个基团取代，或者

[0606] (3) T7 或 T8 连同 T9 可为亚烷基或亚烯基，与它们所连接的氮原子一起构成 3-8 元饱和或不饱和环，该环是未取代的或被 T1-1b、T2-2b 和 T3-3b 的描述中所列的一个或多个基团取代，或者

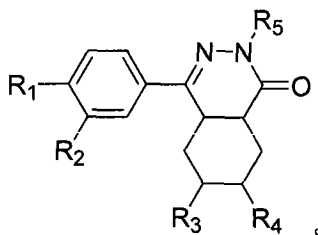
[0607] (4) T7 和 T8 或 T9 和 T10 可与它们所连接的氮原子一起结合形成基团 N = CT13T14, 其中 T13 和 T14 各自独立地为 H 或 T6 定义中所提供的基团；

[0608] T11 和 T12 各自独立地为单键、亚烷基、亚烯基或亚炔基。

[0609] 这些化合物的制备参见 US 20030092908 和 WO 2002/087513。

[0610] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物：US 20040127707 和 WO 2002/085906, 所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及这些化合物的盐具有下列结构式：

[0611]



[0612] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0613] R_1 为 1-2C- 烷氧基或完全或主要被氟取代的 1-2C- 烷氧基，

[0614] R_2 为氟、溴或氯，

[0615] R_3 和 R_4 同时为氢或一起形成额外的化学键，

[0616] R_5 为 R_6 、 $C_mH_{2m}-R_7$ 、 $C_nH_{2n}-C(O)R_8$ 、 $CH(R_9)_2$ 、 $C_pH_{2p}-Y$ - 芳基 1 (Aryl1)、 R_{12} 或 R_{26} ，其中：

[0617] R_6 为 1-8C- 烷基、3-10C- 环烷基、3-7C- 环烷基甲基、3-7C- 烯基、3-7C- 炔基 (alkynyl)、苯基-3-4C- 烯基、7-10C- 多环烷基、萘基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、喹啉基、喹喔啉基、噌啉基、异喹啉基、喹啉基、茛满基、吲唑基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、噁唑基、噻唑基、N- 甲基哌啶基、四氢吡喃基、6- 甲基-3- 三氟甲基- 吡啶基-2- 基、1,3,4- 三甲基-1H- 吡唑并 [3,4-b] 吡啶基-6- 基、3- 噻吩-2- 基 [1,2,4] 噻二唑-5- 基、1,1- 二氧化 (dioxide)- 四氢噻吩-3- 基、1- 氧代-1,3- 二氢- 异苯并呋喃-5- 基、4-(4- 基- 丁-1- 氧基) 苯甲酸或者未取代的或被 R_{61} 和 / 或 R_{62} 取代的苯基，其中：

[0618] R_{61} 为羟基、1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、硝基、氰基、卤素、羧基、羟基羰基-1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基羰基、羟基-1-4C- 烷基、氨基、一-1-4C- 烷基氨基或二-1-4C- 烷基氨基、1-4C- 烷基羰基氨基、氨基羰基、一-1-4C- 烷基氨基羰基或二-1-4C- 烷基氨基羰基、氨基磺酰基、一-1-4C- 烷基氨基磺酰基或二-1-4C- 烷基氨基磺酰基、4- 甲基苯基磺酰胺基、咪唑基、四唑-5- 基、2-(1-4C- 烷基) 四唑-5- 基或 2- 苄基四唑-5- 基，

[0619] R_{62} 为 1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、硝基或卤素，

[0620] R_7 为羟基、卤素、氰基、硝基、硝酰氧基 ($O-NO_2$)、羧基、羧基苯基氧基、苯氧基、1-4C- 烷氧基、3-7C- 环烷氧基 (cydoalkoxy)、3-7C- 环烷基甲氧基、1-4C- 烷基羰基、1-4C- 烷基羰基氧基、1-4C- 烷基羰基氨基、1-4C- 烷氧基羰基、氨基羰基、一-1-4C- 烷基氨基羰基或二-1-4C- 烷基氨基羰基、氨基、一-1-4C- 烷基氨基或二-1-4C- 烷基氨基，或者未取代或被 R_{71} 和 / 或 R_{72} 取代的哌啶基、哌嗪基、吡咯烷基或吗啉基，其中：

[0621] R_{71} 为羟基、1-4C- 烷基、羟基-1-4C- 烷基或 1-4C- 烷氧基羰基，

[0622] R_{72} 为 1-4C- 烷基、羧基、氨基羰基或 1-4C- 烷氧基羰基，

[0623] R_8 为未取代或被 R_{81} 和 / 或 R_{82} 取代的苯基、萘基、菲基或蒽基，其中：

[0624] R_{81} 为羟基、卤素、氰基、1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基、羧基、氨基羰基、一-1-4C- 烷基氨基羰基或二-1-4C- 烷基氨基羰基、1-4C- 烷基羰基氧基、1-4C- 烷氧基羰基、氨基、一-1-4C- 烷基氨基或二-1-4C- 烷基氨基、1-4C- 烷基羰基氨基或者完全或主要被氟取代的 1-4C- 烷氧基，

[0625] R_{82} 为羟基、卤素、1-4C- 烷基、1-4C- 烷氧基或者完全或主要被氟取代的 1-4C- 烷氧基，

[0626] R_9 为 C_qH_{2q} - 苯基，

[0627] Y 为化学键或 O (氧)，

[0628] 芳基₁为未取代的苯基、萘基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、喹唑啉基、喹喔啉基、噌啉基、异喹啉基、喹啉基、香豆素基(coumarinyl)、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、N-苯并琥珀酰亚氨基(benzosuccinimidy)、咪唑基、吡唑基、噁唑基、噻唑基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、2-(1-4C-烷基)-噻唑-4-基或被R₁₀和/或R₁₁取代的苯基,其中

[0629] R₁₀为羟基、卤素、硝基、氰基、1-4C-烷基、三氟甲基、1-4C-烷氧基、羧基、羟基羰基-1-4C-烷基、1-4C-烷基羰基氧基、1-4C-烷氧基羰基、氨基、-1-4C-烷基氨基或二-1-4C-烷基氨基、1-4C-烷基羰基氨基、氨基羰基、-1-4C-烷基氨基-羰基或二-1-4C-烷基氨基-羰基、咪唑基或四唑基,R₁₁为羟基、卤素、硝基、1-4C-烷基或1-4C-烷氧基,

[0630] m为1-8的整数,n为1-4的整数,p为1-6的整数,q为0-2的整数,

[0631] R₁₂为式(a)  N-R₁₃基团

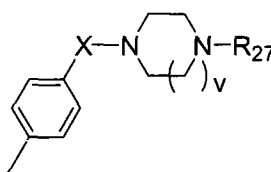
[0632] 其中R₁₃为S(O)₂-R₁₄、S(O)₂-(CH₂)_r-R₁₅、(CH₂)_s-S(O)₂-R₁₆、C(O)-R₁₇、C(O)-(CH₂)_r-R₁₈、(CH₂)_s-C(O)-R₁₉、杂芳基1(Hetaryl1)、芳基₂或芳基₃-1-4C-烷基,R₁₄为1-4C-烷基、5-二甲基氨基萘-1-基、N(R₂₀)R₂₁、苯基或被R₂₂和/或R₂₃取代的苯基,R₁₅为N(R₂₀)R₂₁,R₁₆为N(R₂₀)R₂₁,

[0633] R₁₇为1-4C-烷基、羟基羰基-1-4C-烷基、苯基、吡啶基、4-乙基-哌嗪-2,3-二酮-1-基、2-氧代-咪唑烷-1-基或N(R₂₀)R₂₁,R₁₈为N(R₂₀)R₂₁,R₁₉为N(R₂₀)R₂₁、苯基、被R₂₂和/或R₂₃和/或R₂₄取代的苯基,R₂₀和R₂₁彼此独立地为氢、1-7C-烷基、3-7C-环烷基、3-7C-环烷基甲基或苯基,或者R₂₀和R₂₁一起并同时包括它们所连接的氮原子共同形成4-吗啉基-环、1-吡咯烷基-环、1-哌啶基-环、1-六氢氮杂萘基(hexahydroazepino)-环或式(b)  N-R₂₅的1-哌嗪基-环,

[0634] 其中R₂₅为吡啶-4-基、吡啶-4-基甲基、1-4C-烷基-二甲基氨基、二甲基氨基羰基甲基、N-甲基-哌啶-4-基、4-吗啉代-乙基或四氢呋喃-2-基甲基-,R₂₂为卤素、硝基、氰基、羧基、1-4C-烷基、三氟甲基、1-4C-烷氧基、1-4C-烷氧基羰基、氨基、单-1-4C-烷基氨基(alkylamino)或二-1-4C-烷基氨基、氨基羰基-1-4C-烷基羰基氨基、单-1-4C-烷基氨基羰基-基或二-1-4C-烷基氨基羰基,R₂₃为卤素、氨基、硝基、1-4C-烷基或1-4C-烷氧基,R₂₄为卤素,

[0635] 杂芳基₁为嘧啶-2-基、噻吩并-[2,3-d]嘧啶-4-基、1-甲基-1H-吡唑并-[3,4-d]嘧啶-4-基、噻唑基、咪唑基或呋喃基,芳基₂为吡啶基、苯基或被R₂₂和/或R₂₃取代的苯基,芳基₃为吡啶基、苯基、被R₂₂和/或R₂₃取代的苯基、2-氧代-2H-苯并吡喃-7-基或4-(1,2,3-噻二唑-4-基)苯基,

[0636] r为1-4的整数,s为1-4的整数,

[0637] R₂₆为式(c)  的基团,

[0638] 其中R₂₇为C(O)-R₂₈、(CH₂)_t-C(O)-R₂₉、(CH₂)_u-R₃₀、芳基₄、杂芳基₂、苯基丙-1-烯-3-基

或 1- 甲基哌啶 -4- 基, R_{28} 为氢、1-4C- 烷基、 OR_{31} 、呋喃基、吡啶基、苯基、被 R_{34} 和 / 或 R_{35} 取代的苯基或被 R_{36} 和 / 或 R_{37} 取代的吡啶基, R_{29} 为 $N(R_{32})R_{33}$, R_{30} 为 $N(R_{32})R_{33}$ 、四氢呋喃基或吡啶基, R_{31} 为 1-4C- 烷基、 R_{32} 为氢、1-4C- 烷基、3-7C- 环烷基或 3-7C- 环烷基甲基, R_{33} 为氢、1-4C- 烷基、3-7C- 环烷基或 3-7C- 环烷基甲基, 或者

[0639] R_{32} 和 R_{33} 一起并同时包括它们所连接的氮原子共同形成 4- 吗啉基 -、1- 吡咯烷基 -、1- 哌啶基 - 或 1- 氮杂环庚烷基 - 环,

[0640] 芳基₄ 为苯基、吡啶基、嘧啶基、被 R_{34} 和 / 或 R_{35} 取代的苯基、被 R_{36} 和 / 或 R_{37} 取代的吡啶基, R_{34} 为卤素、硝基、1-4C- 烷基、三氟甲基或 1-4C- 烷氧基, R_{35} 为卤素或 1-4C- 烷基, R_{36} 为卤素、硝基、1-4C- 烷基、三氟甲基或 1-4C- 烷氧基, R_{37} 为卤素或 1-4C- 烷基,

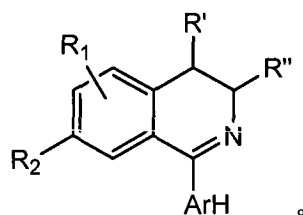
[0641] 杂芳基₂ 为吡啶 -4- 基、2- 甲基 - 喹啉 -4- 基、5- 氯 -6- 氧代 -1- 苯基 -1,6- 二氢 - 哒嗪 -4- 基、3- 苯基 -1,2,4- 噻二唑 -5- 基或 3- 邻 - 甲苯基 -1,2,4- 噻二唑 -5- 基,

[0642] t 为 1-4 的整数, u 为 1-4 的整数, v 为 1-2 的整数, X 为 $-C(O)-$ 或 $-S(O)_2-$ 。

[0643] 这些化合物的制备参见 US 20040127707 和 WO 2002/085906。

[0644] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物:美国专利第 6,818,651 号、US20040044212 和 WO 2002/040450,所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其水合物、溶剂化物、盐、盐的水合物或盐的溶剂化物具有下列结构式:

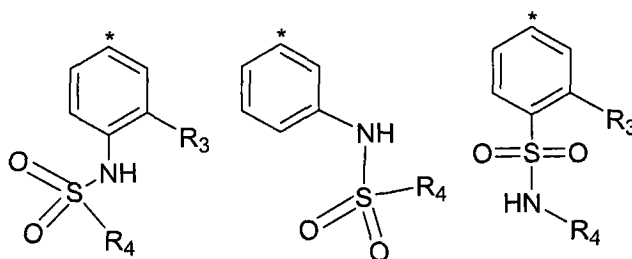
[0645]



[0646] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0647] 或者 R_1 表示氢, R_2 表示氟、氯、溴、氰基、三氟甲基或苯氧基, 或者 R_1 表示氢、氟、氯、溴、三氟甲基或氰基, R_2 表示氢, R' 和 R'' 二者均表示氢或者一起表示化学键, Ar 表示下列式 IIa、式 IIb 或式 IIc 的苯基:

[0648]



[0649] 其中 R_3 表示氢、羟基、硝基、氨基、羧基、氨基羰基、1-4C- 烷氧基、三氟甲氧基、1-4C- 烷氧基羰基或一 -1-4C- 烷基氨基羰基或二 -1-4C- 烷基氨基羰基,

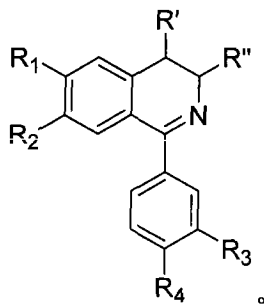
[0650] R_4 表示 1-4C- 烷基、萘基、5- 二甲基氨基萘 -1- 基、苯基乙烯 -2- 基、3,5- 二甲基异噻唑 -4- 基、5- 氯 -3- 甲基苯并 [b] 噻吩 -2- 基、6- 氯 - 咪唑并 [2,1b] - 噻唑 -5- 基, 或者表示被一个或多个相同或不同的选自以下基团取代的苯基或噻吩基: 卤素、氰基、1-4C- 烷基、三氟甲基、完全或主要被氟取代的 1-4C- 烷氧基、1-4C- 烷氧基、1-4C- 烷基羰基氨基、

1-4C- 烷氧基羰基、苯基磺酰基或异噁唑基。

[0651] 这些化合物的制备参见美国专利第 6,818,651 号、US 20040044212 和 WO 2002/040450。

[0652] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2002/040449 的化合物,该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其盐具有下列结构式:

[0653]



[0654] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0655] 或者 R_1 表示氢, R_2 表示氟、氯、溴、氰基、三氟甲基或苯氧基,或者

[0656] R_1 表示氢、氟、氯、溴、三氟甲基或氰基, R_2 表示氢,

[0657] R' 和 R'' 二者均表示氢或者一起表示化学键,

[0658] R_3 表示氢、羟基、硝基、氨基、羧基、氨基羰基、1-4C- 烷氧基、三氟甲氧基、1-4C- 烷氧基羰基或一 1-4C- 烷基氨基羰基或二 1-4C- 烷基氨基羰基, R_4 表示 $C(O)-X-R_5$ 、 $N(H)-C(O)-R_6$ 或 $N(H)-C(O)-N(H)-R_7$, 其中:

[0659] X 表示 O 或 $N(H)$,

[0660] R_5 表示氢、1-4C- 烷基、3-7C- 环烷基甲基、6,6- 二甲基二环 [3,3,1] 庚-2- 基、3-7C- 炔基、1-4C- 烷基羰基-1-4C- 烷基、氨基羰基-1-4C- 烷基、呋喃-2- 基甲基、2- 吡啶基-2- 基乙-1- 基、2- 吡啶基-3- 基甲基、N- 甲基哌啶-3- 基、1- 苄基哌啶-4- 基、吗啉-4- 基-乙-2- 基、吗啉-4- 基-乙-1- 基、2- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯-4- 基-乙-1- 基、苯并二氢呋喃-4- 基、1- 甲氧基羰基-2- 吡啶-3- 基-乙-1- 基、1,3- 双- 甲氧基羰基丙-1- 基、1- 甲氧基羰基-3- 甲硫基 (methylsulfanyl)- 乙-1- 基、1- 甲氧基羰基-2- 噻唑-2- 基-乙-1- 基或 4- 甲基噻唑-5- 基-乙-2- 基,或者表示未取代或者被一个或多个选自卤素、三氟甲基和苯基取代的苄基-、苄基-乙-1- 基或 1- 甲氧基羰基-2- 苄基-乙-2- 基,

[0661] R_6 表示 2,4- 二氯苯氧基甲基、2- 叔丁氧基羰基氨基-乙-1- 基、1- 乙酰基哌啶-4- 基, $Ar1$ 或 $Ar2-CH=CH-$,

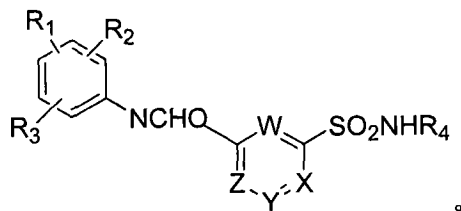
[0662] 其中 $Ar1$ 表示 3- 氯苯基、4- 三氟甲氧基苯基、3- 苯氧基苯基、吡啶-5- 基、2- 甲基吡啶基-5- 基、喹啉-6- 基或 2- 苯并噻唑-6- 基, $Ar2$ 表示呋喃-2- 基、呋喃-3- 基、噻吩-2- 基、吡啶-3- 基、3- 三氟甲基苯基、3- 甲氧基苯基或吡啶基-3- 基,

[0663] R_7 表示 1-4C- 烷基、3-7C- 烯基、3-7C- 环烷基、1- 乙氧基羰基-2- 苄基-乙-1- 基、噻吩-2- 基乙-1- 基或未取代或被一个或多个选自以下的基团取代的苄基: 卤素、氰基、1-4C- 烷基、三氟甲基、1-4C- 烷硫基、1-4C- 烷氧基、完全或主要被氟取代的 1-4C- 烷氧基、1-4C- 烷基羰基和苯氧基。

[0664] 这些化合物的制备参见 WO 2002/040449。

[0665] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2001/098274 的化合物,该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及其盐、溶剂化物、水合物和 N-氧化物具有下列结构式:

[0666]



[0667] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0668] W、X、Y 和 Z 可相同或不同,各自表示氮原子或 C(R₅) 基团 [其中 R₅ 为氢或卤素原子或烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、羟基、-NO₂ 或 -CN],前提条件是 W、X、Y 和 Z 中的两个或更多个为 C(R₅) 基团;

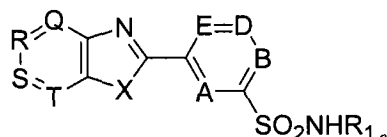
[0669] R₁、R₂ 和 R₃ 可相同或不同,各自为原子或基团 -L₁(Alk₁)_rL₂(R₆)_s,其中 L₁ 和 L₂ 可相同或不同,各自为共价键或接头原子或基团, r 为零或整数 1, Alk₁ 为脂肪链或杂脂肪链 (heteroaliphatic chain), s 为 1、2 或 3 的整数, R₆ 为氢或卤素原子或选自以下的基团: 烷基、-OR₇ [其中 R₇ 为氢原子或任选取代的烷基]、-SR₇、NR₇R₈ [其中 R₈ 可相同或不同且如刚才 R₇ 的定义]、-NO₂、CN、CO₂R₇、SO₃H、S(O)R₇、SO₂R₇、OCO₂R₇、CONR₇R₈、OCONR₇R₈、CSNR₇R₈、OCR₇、OCOR₇、N(R₇)COR₈、N(R₇)CSR₈、S(O)NR₇R₈、SO₂NR₇R₈、N(R₇)SO₂R₈、N(R₇)CON(R₈)(R₉) [其中 R₉ 为氢原子或任选取代的烷基]、N(R₇)CSN(R₈)(R₉)、N(R₇)SO₂N(R₈)(R₉)、C(R₇)=NO(R₈)、环脂族基、杂环脂族基、芳基或杂芳基];前提条件是 R₁、R₂ 或 R₃ 中的一个或多个为氢原子以外的取代基;

[0670] R₄ 表示任选取代的苯基、1-萘基或 2-萘基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基或吡嗪基。

[0671] 这些化合物的制备参见 WO 2001/098274。

[0672] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2001/074786 的化合物,该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂及其盐、溶剂化物、水合物和 N-氧化物具有下列结构式:

[0673]



[0674] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0675] R₁ 表示芳基或杂芳基;

[0676] A、B、P 和 E 可相同或不同,各自表示氮原子或 C(R₂) 基团 [其中 R₂ 为氢或卤素原子或烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、羟基、-NO₂ 或 -CN 基团],前提条件是 A、B、D 和 E 中的两个或更多个为 C(R₂) 基团; X 表示氧或硫原子或 N(R₃) 基团,其中 R₃ 为氢原子或烷基;

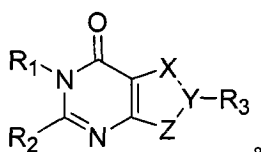
[0677] Q、R、S 和 T 可相同或不同,各自表示氮原子或基团 C(R₄) [其中 R₄ 为一个原子或基团 -L₁(Alk₁)_rL₂(R₅)_s,其中 L₁ 和 L₂ 可相同或不同,各自为共价键或接头原子或基团, r 为零或整数 1, 烷基为脂肪链或杂脂肪链, s 为 1、2 或 3 的整数, R₅ 为氢或卤素原子或选自以下

的基团:烷基、 OR_6 [其中 R_6 为氢原子或任选取代的烷基]、 SR_6 、 NR_6R_7 [其中 R_7 可相同或不同且如刚才 R_6 的定义]、 NO_2 、 CN 、 CO_2R_6 、 SO_3H 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}_6$ 、 SO_2R_6 、 OCO_2R_6 、 CONR_6R_7 、 OCONR_6R_7 、 CSNR_7R_7 、 OCR_6 、 OCOR_6 、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{COR}_7$ 、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{CSR}_7$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{SO}_2\text{R}_7$ 、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{CON}(\text{R}_7)(\text{R}_8)$ [其中 R_8 为氢原子或任选取代的烷基]、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{CSN}(\text{R}_7)(\text{R}_8)$ 、 $\text{N}(\text{R}_6)\text{SO}_2\text{N}(\text{R}_7)(\text{R}_8)$ 、 $\text{C}(\text{R}_6)=\text{NO}(\text{R}_7)$ 、环脂族基、杂环脂族基、芳基或杂芳基],前提条件是 Q、R、S 和 T 中的两个或更多个为 $\text{C}(\text{R}_4)$ 基团。

[0678] 这些化合物的制备参见 WO 2001/074786。

[0679] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2000/068230 的化合物,该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐具有下列结构式:

[0680]



[0681] 上述化合物的取代基的定义如下:

[0682] X-Y-Z 表示 $\text{NR}_4-\text{C}=\text{N}$ 或 $\text{N}=\text{C}-\text{NR}_4$;

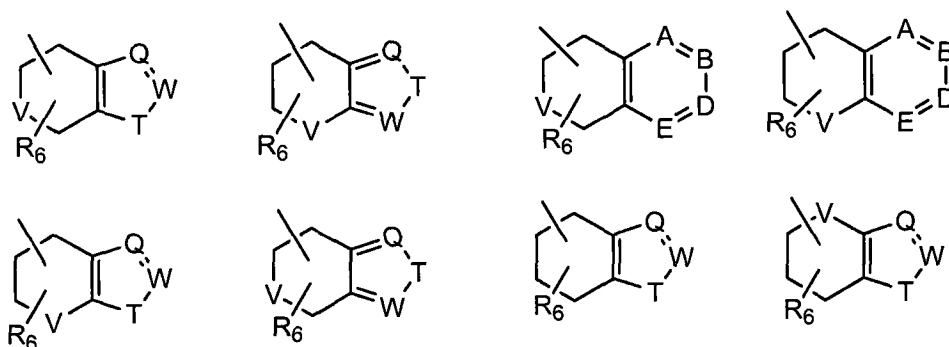
[0683] R_1 表示 H、烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基或杂环烷基;

[0684] R_2 表示 OR_8 、 NR_8R_9 、 SR_{13} 、烷基或 CF_3 ;

[0685] R_3 表示卤素、烷基、 CF_3 或 OR_8 ;

[0686] R_4 , 可与 X 或 Z 连接,为选自以下的残基:

[0687]



[0688] 其中通过饱和环上的任何位置连接,前提是连接不发生在 V 的邻位上,饱和环可在任何位置上可被一个或多个 R_6 取代;

[0689] A、B、D 和 E 相同或不同,各自表示 Cl_nR_5 、N 或 N-O;

[0690] V 表示 O、S、 NR_7 或 $\text{C}(\text{L}^1_m\text{R}_{14})(\text{L}^2_n\text{R}_{14})$;

[0691] Q 和 W 相同或不同,各自表示 Cl_nR_5 或 N;

[0692] T 表示 O、S 或 NR_7 ;

[0693] L^1 和 L^2 相同或不同,各自表示 $\text{C}(\text{R}_{15})_2$;

[0694] m 和 n 相同或不同,各自表示 0、1、2、3、4 或 5;

[0695] R_5 相同或不同,各自表示 H、卤素、烷基、环烷基、 OR_8 、 NR_8R_9 、 CO_2R_{10} 、 $\text{CONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 CONHOH 、 $\text{SO}_2\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 $\text{SONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 COR_{13} 、 SO_2R_{13} 、 SOR_{13} 、 SR_{13} 、 CF_3 、 NO_2 或 CN;

[0696] R_6 表示 H、烷基、环烷基、 OR_8 、 NR_8R_9 、 CO_2R_{10} 、 $\text{CONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 $\text{SONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 COR_{13} 、

SO_2R_{13} 、 SOR_{13} 、 SR_{13} 、 CF_3 、 CN 或 $=\text{O}$;

[0697] R_7 表示 H 或烷基 ;

[0698] R_8 表示 H、烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基或杂环烷基 ;

[0699] R_9 表示 R_8 或烷基羰基、烷氧基羰基、烷基磺酰基、环烷基羰基、环烷氧基羰基、环烷基磺酰基、环烷基烷基羰基、环烷基烷氧基羰基、环烷基烷基磺酰基、芳基羰基、芳基磺酰基、杂芳基羰基、杂芳基磺酰基、杂环基羰基、杂环基磺酰基、芳基烷基羰基、芳基烷氧基羰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基羰基、杂芳基烷氧基羰基、杂芳基磺酰基、杂环烷基羰基、杂环基烷氧基羰基或杂环烷基磺酰基 ;或者

[0700] NR_8R_9 表示杂环,例如吗啉 ;

[0701] R_{10} 表示 H、烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基或杂环烷基 ;

[0702] R_{11} 和 R_{12} 相同或不同,各自为 R_8 ,或者 $\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ 表示杂环,例如吗啉 ;

[0703] R_{13} 表示烷基、环烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基或杂环烷基 ;

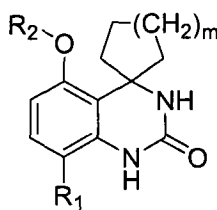
[0704] R_{14} 相同或不同,各自选自 H、烷基、环烷基、 OR_8 、 NR_8R_9 、 CO_2R_{10} 、 $\text{CONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 CONHOH 、 $\text{SO}_2\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 $\text{SONR}_{11}\text{R}_{12}$ 、 COR_{13} 、 SO_2R_{13} 、 SOR_{13} 、 SR_{13} 、 CF_3 、 NO_2 和 CN ,前提条件是当 m 和 n 同时为 0 时,如果一个 R_{14} 为 OR_8 、 NR_8R_9 或 SR_{13} ,则另一个不为 OR_8 、 NR_8R_9 或 SR_{13} ;

[0705] R_{15} 表示 H、烷基或 F。

[0706] 这些化合物的制备参见 WO 2000/068230,其通过引起以其整体结合到本文中。

[0707] 在另一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物 :US 20040106631、EP 1 400 244 和 WO2004/026818,各专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中,用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其外消旋体、异构体、药学上可接受的衍生物具有下列结构式 :

[0708]



[0709] 上述化合物的取代基的定义如下 :

[0710] m 为 1、2 或 3 ; R_1 为甲基、氯、溴或氟 ; R_2 为 $-\text{Q}^1-\text{Q}^2-\text{Q}^3-\text{Q}^4$ 或 (C_1-C_6) 烷基,所述 (C_1-C_6) 烷基被 1-3 个以下基团取代 : OR_4 、 COOR_4 、 NR_4R_5 、 $\text{NRC}(=\text{O})\text{R}_4$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_4\text{R}_5$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_4\text{R}_5$;

[0711] R_4 为被 1-3 个以下基团取代的 (C_1-C_6) 烷基 :F、CN、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}_6$ 、 SO_3H 、 SO_2R_6 、 SR_7 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 NR' $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 NR' SO_2R_6 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_7\text{R}_8$;

[0712] R_5 为 H 或被 1-3 个以下基团任选取代的 (C_1-C_6) 烷基 :F、CN、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}_6$ 、 SO_3H 、 SO_2R_6 、 SR_7 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 NR' $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 NR' SO_2R_6 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_7\text{R}_8$;或者

[0713] 所述 (C_1-C_6) 烷基为 :

[0714] (1) 被 1-3 个以下基团取代 : $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_{4a}$ 、 SR_{4a} 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}_3$ 、 $\text{C}(=\text{NR}_9)\text{R}_{4a}$ 、 $\text{C}(=$

$\text{NR}_9)-\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 、 $\text{NR}-\text{C}(=\text{NR}_9)-\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 、 $\text{NR}\text{COOR}_{4a}$ 、 $\text{NR}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 、 $\text{NR}-\text{SO}_2-\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 、 $\text{NR}-\text{C}(=\text{NR}_9)-\text{R}_{4a}$ 或 $\text{NR}-\text{SO}_2-\text{R}_3$;

[0715] (2) 被一个或两个以下基团任选取代： OR_{4a} 、 COOR_{4a} 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{R}_{4a}$ 、 $\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 、 $\text{NRC}(=\text{O})\text{R}_{4a}$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_{4a}\text{R}_{5a}$;

[0716] R_9 为 H 、 CN 、 OH 、 OCH_3 、 SO_2CH_3 、 SO_2NH_2 或 (C_1-C_6) 烷基； R_3 为被 1-3 个以下基团任选取代的 (C_1-C_6) 烷基： F 、 CN 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}_6$ 、 SO_3H 、 SO_2R_6 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ 、 OR_7 、 SR_7 、 COOR_7 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 、 NR_7R_8 、 $\text{NR}'-\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 $\text{NR}'-\text{SO}_2\text{R}_6$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_7\text{R}_8$;

[0717] R_{4a} 和 R_{5a} 相同或不同，为 H 或被 1-3 个以下基团任选取代的 (C_1-C_6) 烷基： F 、 CN 、 $\text{S}(=\text{O})\text{R}_6$ 、 SO_3H 、 SO_2R_6 、 $\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ 、 OR_7 、 SR_7 、 COOR_7 、 $\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 $\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 、 NR_7R_8 、 $\text{NR}'-\text{C}(=\text{O})\text{R}_7$ 、 $\text{NR}'-\text{SO}_2\text{R}_6$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ 或 $\text{SO}_2\text{NR}_7\text{R}_8$;

[0718] Q^1 为单键或 (C_1-C_6) 亚烷基； Q^2 为 4-6 元饱和杂环基，含有 O 或 N 中的 1 个或 2 个； Q^3 为 (C_1-C_6) 亚烷基； Q^4 为 4-8 元芳环或非芳环杂环基，含有 O 、 S 、 $\text{S}(=\text{O})$ 、 SO_2 或 N 中的 1-4 个，所述杂环基被 1-3 个以下基团任选取代： OR 、 NRR' 、 $-\text{CN}$ 或 (C_1-C_6) 烷基；

[0719] R 为 H 或 (C_1-C_6) 烷基；

[0720] R_6 为被 1 个或 2 个 OR' 任选取代的 (C_1-C_6) 烷基；

[0721] R_7 和 R_8 相同或不同，为 H 或被 1 个或 2 个 OR' 任选取代的 (C_1-C_6) 烷基；

[0722] R_9 为 H 、 CN 、 OH 、 OCH_3 、 SO_2CH_3 、 SO_2NH_2 或 (C_1-C_6) 烷基；

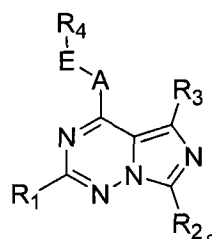
[0723] R' 为 H 或 (C_1-C_6) 烷基； R'' 为 H 或 (C_1-C_6) 烷基；

[0724] 前提条件是 (1) 与 Q^1 结合的 Q^2 中的原子为碳原子；(2) 与 Q^3 结合的 Q^4 中的原子为碳原子。

[0725] 这些化合物的制备参见 US 20040106631、EP 1 400 244 和 W02004/026818。

[0726] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下文献的化合物：美国专利第 6, 936, 609 号和 US20040249148，所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂或其盐具有下列结构式：

[0727]



[0728] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0729] R_1 表示 $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ -芳基，被选自以下的基团任选相同或不同地取代：卤素、甲酰基、氨基甲酰基、氰基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、 (C_1-C_6) -烷基或 (C_1-C_6) -烷氧基，且被 $\text{SO}_2\text{NR}_5\text{R}_6$ 基团任选取代，其中 R_5 和 R_6 相互独立地表示氢或 (C_1-C_6) -烷基，或者 NR_5R_6 表示 4-8 元通过氮原子结合的杂环基，被选自以下的基团任选相同或不同地取代：氧代、卤素、 (C_1-C_6) -烷基和 (C_1-C_6) -酰基，

[0730] R_2 表示具有 1-10 个碳原子的饱和或部分不饱和烃基，

[0731] R_3 表示甲基或乙基，

[0732] A 表示 O、S 或 NR_7 ，其中 R_7 表示氢或被 $(\text{C}_1\text{--C}_3)\text{--}$ 烷氧基任选取代的 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷基，

[0733] E 表示化学键或 $(\text{C}_1\text{--C}_3)\text{--}$ 链烷二基 (alkanediyl)，

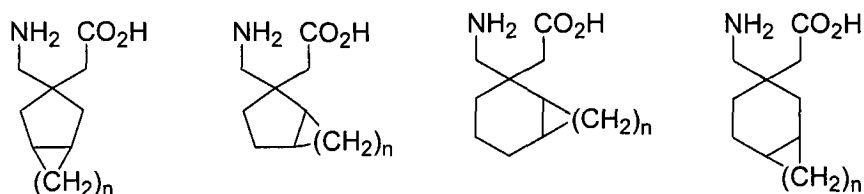
[0734] R_4 表示 $(\text{C}_6\text{--C}_{10})\text{--}$ 芳基或 5-10 元杂芳基，其中芳基和杂芳基被选自以下的基团任选相同或不同地取代：卤素、甲酰基、羧基、氨基甲酰基、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、氨基磺酰基、氰基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷氧基、1,3- 二氧杂-丙-1,3- 二基、 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷硫基、 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷基亚磺酰基和 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷基-磺酰基、 $-\text{NR}_8\text{R}_9$ 和任选甲基-取代的 5-6 元杂芳基或苯基，

[0735] 其中 R_8 和 R_9 相互独立地表示氢、 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 烷基或 $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{--}$ 酰基。

[0736] 这些化合物的制备参见美国专利第 6, 936, 609 号和 US20040249148。

[0737] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于 WO 2006/092692 的化合物，该专利通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式：

[0738]

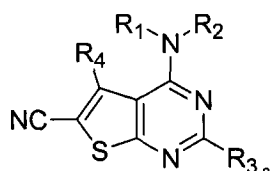


[0739] 其中 n 为 1-4 的整数，其中存在立构中心，各中心可独立地为 R 或 S。

[0740] 这些化合物的制备参见 WO 2006/092692。

[0741] 在另一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂选自概略或详细披露于以下专利的化合物：US 2006229306 和 WO 2004/065391，所述各专利和专利申请通过引用以其整体明确结合到本文中。在一个实施方案中，用于本发明方法的 PDE7 抑制剂具有下列结构式：

[0742]



[0743] 上述化合物的取代基的定义如下：

[0744] R_1 和 R_2 任一个

[0745] (1) 独立地表示：

[0746] (a) 氢原子；

[0747] (b) 选自烷基、烯基和炔基的基团，其中各个烷基、烯基和炔基独立地被一个或多个选自以下的取代基任选取代：卤素原子、羟基、烷氧基、芳氧基、烷硫基、羟基羰基、烷氧基羰基 (alcoyloxycarbonyl)、一烷基氨基酰基和二烷基氨基酰基、氧代、氨基以及一烷基氨基和二烷基氨基；或者

[0748] (c) 式 $(\text{CH}_2)_n\text{--R}_6$ 基团，其中 n 为 0-4 的整数， R_6 表示环烷基或环烯基；

[0749] (2) R_1 和 R_2 与它们所连接的氮原子一起形成含有 1-4 个选自氮、氧和硫的杂原子的 3-8 元环，该环为饱和或不饱和的且被一个或多个选自以下的取代基任选取代：卤素原

子、烷基、羟基、烷氧基、酰基、羟基羰基、烷氧基羰基、亚烷基二氧基、氨基、一烷基氨基和二烷基氨基、一烷基氨基酰基和二烷基氨基酰基、硝基、氰基和三氟甲基；

[0750] R_3 为式 $(CH_2)_{n-G}$ 基团，其中 n 为 0-4 的整数， G 表示含有 0-4 个杂原子的单环或二环芳基或杂芳基，该基团被一个或多个选自以下的取代基任选取代：

[0751] (1) 卤素原子；

[0752] (2) 烷基和亚烷基，其中各个烷基和亚烷基独立地被一个或多个选自卤素原子的取代基任选取代；

[0753] (3) 苯基、羟基、羟基烷基、烷氧基、亚烷基二氧基、芳氧基、烷硫基、氨基、一烷基氨基和二烷基氨基、酰基氨基、硝基、酰基、羟基羰基、烷氧基羰基、氰基、二氟甲氧基和三氟甲氧基；

[0754] R_4 表示氢原子、烷基或芳基。

[0755] 这些化合物的制备参见 US 2006229306 和 WO 2004/065391。

[0756] 其它用于本发明方法的化合物包括咪唑并吡啶衍生物 (WO2001/34601)、二氢嘌呤衍生物 (WO 2000/68203)、吡咯衍生物 (WO2001/32618)、苯并硫代吡喃并咪唑酮 (benzothiopyranoimidazolone) 衍生物 (DE 19950647)、杂环化合物 (WO 2002/87519)、鸟嘌呤衍生物 (Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 :1081, 2001) 和苯并噻吩并噻二嗪衍生物 (Eur. J. Med. Chem. 36 :333, 2001)。上述已发表的各项专利申请和杂志文章通过引用以其整体明确结合到本文中。

[0757] 多肽或肽抑制剂

[0758] 在一些实施方案中，PDE7 抑制剂包含分离的 PDE7 多肽或肽抑制剂，包括抑制 PDE7 活性的经分离的天然肽抑制剂和合成肽抑制剂。本文所用术语“分离的 PDE7 多肽或肽抑制剂”是指通过结合 PDE7、与 PDE7 竞争结合底物以抑制 PDE7 依赖性切割 cAMP，和 / 或与 PDE7 直接相互作用以抑制 PDE7 依赖性切割 cAMP 的多肽或肽，所述多肽或肽是基本纯的，基本上不含天然可与之一起存在的其它物质，以达到可用于或适用于其预期应用的程度。

[0759] 肽抑制剂已被成功用于在体内干扰蛋白质 - 蛋白质间的相互作用和催化部位。例如，结构上与 LFA-1 相关的黏着分子的肽抑制剂最近已获准用于凝血病的临床治疗 (Ohman, E. M. 等, European Heart J. 16 :50-55, 1995)。研究发现小的线性肽 (< 30 个氨基酸) 防止或干扰整联蛋白依赖性粘附 (Murayama, O. 等, J. BioChem. 120 :445-51, 1996)。长度范围为 25-200 个氨基酸残基的较长的肽已被成功用来阻断整联蛋白依赖性粘附 (Zhang, L. 等, J. Biol. Chem. 271 (47) :29953-57, 1996)。一般而言，较长的肽抑制剂比短肽具有较高的亲和力和 / 或较慢的解离速率，因此，可以是更强效的抑制剂。研究还表明环状肽抑制剂是整联蛋白的有效抑制剂，体内用于治疗人的炎症性疾病 (Jackson, D. Y. 等, J. Med. Chem. 40 :3359-68, 1997)。产生环状肽的一种方法包括合成其中肽的末端氨基酸为半胱氨酸的肽，从而通过末端氨基酸之间的二硫键结合使肽以环状形式存在，研究表明这可在体内改进亲和力和半寿期以治疗造血系统肿瘤 (例如 Larson 的美国专利第 6, 649, 592 号)。

[0760] 合成的 PDE7 肽抑制剂

[0761] 以模拟对 PDE7 酶活性十分重要的靶区 (例如 PDE7 的催化结构域) 的氨基酸序列为例，来说明用于本发明方法的 PDE7 抑制肽。PDE7A 和 PDE7B 在催化结构域具有 70% 同

一性 (Hetman, J. M. 等, PNAS97(1):472-476, 2000)。PDE7A1 的催化结构域为 SEQ ID NO:2 的氨基酸残基 185-456。PDE7A2 的催化结构域为 SEQ ID NO:4 的氨基酸残基 211-424。PDEB 的催化结构域为 SEQ ID NO:6 的氨基酸残基 172-420。用于实施本发明方法的抑制肽的大小范围约为 5 个氨基酸至约 250 个氨基酸。还可采用分子建模和合理的分子设计以制备和筛选模拟 PDE7 催化域的分子结构并抑制 PDE7 酶活性的肽。用于建模的分子结构包括抗 PDE7 单克隆抗体的 CDR 区。与特定靶标结合的肽的鉴定方法是本领域众所周知的。例如, 分子印记可用于从头构建大分子结构, 例如与特定分子结合的肽。参见例如 Shea, K. J., "Molecular Imprinting of Synthetic Network Polymers: The De Novo Synthesis of Macromolecular Binding and Catalytic Sites (含成网状聚合物的分子印记: 大分子结合部位和催化部位的从头合成)", TRIP2(5): [无页码数], 1994。

[0762] 举例来说, 模拟 PDE7 结合肽的一种制备方法如下。使显示抑制 PDE7 的抗 PDE7 抗体结合区的功能单体 (模板) 聚合。然后移开模板, 接着在由模板余留的空处使第二类单体聚合, 以提供具有一种或多种所需要的类似于模板性质的新分子。除了以这种方式制备肽以外, 还可制备作为 PDE7 抑制剂的其它 PDE7 结合分子, 例如多糖、核苷、药物、核蛋白、脂蛋白、糖、糖蛋白、类固醇、脂质和其它生物活性材料。该方法用于设计各种比其天然对应物更稳定的生物学模拟物, 因为它们通常通过功能单体的自由基聚合制备, 产生具有生物不能降解主链的化合物。

[0763] PDE7 抑制肽可采用本领域众所周知的技术制备, 例如最初由 Merrifield 提出的固相合成技术 (J. Amer. Chem. Soc. 85:2149-2154, 1963) 制备。可采用例如 Applied Biosystems 431 肽合成仪 (Foster City, Calif.), 按照生产商提供的说明书进行自动合成。其它技术可参见例如 Bodanszky, M. 等, Peptide Synthesis, 第二版, John Wiley & Sons, 1976, 以及本领域技术人员已知的其它参考文献。肽还可采用本领域技术人员已知的标准遗传工程技术制备。

[0764] 可以在若干实验之一 (包括例如实施例 1 中所述的 PDE7 磷酸二酯酶实验) 中, 测定候选 PDE7 抑制肽作为 PDE7 抑制剂所起作用的能力。

[0765] PDE7 的表达抑制剂

[0766] 在本发明方法的一些实施方案中, PDE7 抑制剂是能够抑制 PDE7 依赖性 cAMP 切割 (PDE7A、PDE7B 或两者) 的 PDE7 表达抑制剂。在本发明实施方案的实施中, 代表性 PDE7 表达抑制剂包括 PDE7 反义核酸分子 (例如反义 mRNA、反义 DNA 或反义寡核苷酸)、PDE7 核酶和 PDE7RNAi 分子。

[0767] 反义 RNA 和 DNA 分子通过与 PDE7 mRNA 杂交并阻止 PDE7 蛋白翻译, 从而起直接阻断 PDE7 mRNA 翻译的作用。可以按多种不同的方式构建反义核酸分子, 只要能够干扰 PDE7 表达。例如, 可以使 PDE7A1 cDNA (SEQ ID NO:1)、PDE7A2 cDNA (SEQ ID NO:3) 或 PDE7B cDNA (SEQ ID NO:5) 的编码区 (或其部分) 相对于其正常转录方向逆转以便于其互补序列转录, 从而来构建反义核酸分子。设计和给予反义寡核苷酸的方法是本领域众所周知的, 参见例如 Mautino 等, Hum Gene Ther 13:1027-37, 2002; 及 Pachori 等, Hypertension 39:969-75, 2002, 所述各文献均通过引起结合于此。

[0768] 反义核酸分子通常与一个或多个靶基因的至少一部分基本相同。然而, 核酸无需完全相同才可抑制表达。一般可使用较高同源性以弥补较短反义核酸分子的作用。最小百

分比同一性通常大于约 65%，但是较高的百分比同一性可更有效地阻抑内源序列的表达。通常优选基本上大于约 80% 的较大百分比同一性，尽管通常最优选约 95% 至完全同一性。

[0769] 反义核酸分子无需与靶基因一样具有相同的内含子或外显子模式，靶基因非编码区段在实现反义抑制靶基因表达时可与编码区段同样有效。至少约 8 个左右核苷酸的 DNA 序列可用作反义核酸分子，尽管优选较长的序列。在本发明中，有益的 PDE7 抑制剂的代表性实例为反义 PDE7 核酸分子，该反义 PDE7 核酸分子与由 SEQ ID NO :1 中所示核酸序列组成的一部分 PDE7A1 cDNA 的互补序列有至少 90% 同一性。有益的 PDE7 抑制剂的另一代表性实例为反义 PDE7 核酸分子，该反义 PDE7 核酸分子与由 SEQ ID NO :3 中所示核酸序列组成的一部分 PDE7A2 cDNA 的互补序列有至少 90% 同一性。有益的 PDE7 抑制剂另一代表性实例为反义 PDE7 核酸分子，该反义 PDE7 核酸分子与由 SEQ ID NO :5 中所示核酸序列组成的一部分 PDE7B cDNA 的互补序列有至少 90% 同一性。

[0770] 反义寡核苷酸寻靶结合 PDE7 mRNA 是可用来降低 PDE7 蛋白质合成水平的另一种机制。例如，针对多聚半乳糖醛酸酶和毒蕈碱 2 型乙酰胆碱受体各自的 mRNA 序列的反义寡核苷酸抑制其合成 (Cheng 的美国专利第 5,739,119 号和 Shewmaker 的美国专利第 5,759,829 号)。此外，使用核内蛋白即细胞周期蛋白、多药抗药性基因 (MDG1)、ICAM-1、E- 选择蛋白、STK-1、纹状体 GABA_A 受体和人 EGF，证实了反义抑制的实例 (参见例如 Baracchini 的美国专利第 5,801,154 号、Baker 的美国专利第 5,789,573 号、Considine 的美国专利第 5,718,709 号和 Reubenstein 的美国专利第 5,610,288 号)。

[0771] 已披露的一个系统可供普通技术人员确定哪一种寡核苷酸可用于本发明，该系统包括使用 RNA 酶 H 切割探测靶 mRNA 中合适的位点作为转录物内序列可及性的标志。Scherr, M. 等, *Nucleic Acids Res.* 26 :5079-5085, 1998 ; Lloyd 等, *Nucleic Acids Res.* 29 :3665-3673, 2001。将与 PDE7 转录物某些区域互补的反义寡核苷酸的混合物加到表达 PDE7 的细胞提取物中并杂交以产生 RNA 酶 H 易损位点。该方法可与计算机辅助序列筛选相结合，所述计算机辅助序列筛选可根据其在宿主细胞内形成可降低或阻止与靶 mRNA 特异性结合的二聚体、发夹结构或其它二级结构的相对能力，来预测选择反义组合物的最佳序列。可采用 OLIGO 引物分析软件 (Rychlik, I., 1997) 和 BLASTN 2.0.5 算法软件 (Altschul, S. F. 等, *Nucl. Acids Res.* 25 :3389-3402, 1997) 进行这些二级结构分析和靶位选择考虑事项。针对靶序列的反义化合物的长度优选包含约 8 至约 50 个核苷酸。特别优选包含约 9 至约 35 个左右核苷酸的反义寡核苷酸。本发明的发明人认为范围为 9-35 个核苷酸 (即 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 左右个碱基长度的核苷酸) 的所有寡核苷酸组合物对于实施基于反义寡核苷酸的本发明方法是非常优选的。非常优选的 PDE7 mRNA 的靶区为位于 AUG 翻译起始密码子上或接近 AUG 翻译起始密码子的靶区，以及与 mRNA 的 5' 区 (例如 PDE7 基因核苷酸序列 (SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :5) 的 0 和 +10 区之间) 基本互补的序列。

[0772] 本文所用术语“寡核苷酸”是指核糖核酸 (RNA) 或脱氧核糖核酸 (DNA) 或其模拟物的寡聚体或多聚体。该术语还包括由天然存在的核苷酸、糖和共价核苷酸间 (主链) 键以及具有非天然存在的修饰的寡核苷酸组成的寡核苷酸碱基 (oligonucleobase)。这些修饰可供引入某些所需要的通过天然存在的寡核苷酸无法提供的性质，例如毒性性质的减少，对核酸酶降解的稳定性的提高，细胞摄取的增加。在示例性实施方案中，本发明的反义化合

物与天然 DNA 的区别在于：磷酸二酯主链经修饰能延长其中磷酸取代基被硫代磷酸置换的反义寡核苷酸的寿命。同样，寡核苷酸的 1 个或 2 个末端可被一个或多个间插在核酸链相邻碱基对之间的吡啶衍生物取代。

[0773] 反义的另一替代是使用“RNA 干扰”(RNAi)。双链 RNA(dsRNA)可在哺乳动物体内引起基因沉默。RNAi 的天然功能和共抑制似乎可保护基因组免受可动遗传元件的侵袭，可动遗传元件例如当其被激活时在宿主细胞内产生异常 RNA 或 dsRNA 的反转录转座子和病毒(参见例如 Jensen, J. 等, Nat. Genet. 21:209-12, 1999)。可通过将能够形成双链 RNA 分子的两条 RNA 链进行合成以制备双链 RNA 分子，每条链长约为 19-25(例如 19-23 个核苷酸)。例如，用于本发明方法的 dsRNA 分子可包含相应于 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5 及其互补序列中的至少一个的一部分 RNA。优选至少一个 RNA 链具有 1-5 个核苷酸的 3' 突出端。经合成的 RNA 链在形成双链分子的条件下来结合。RNA 序列可包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:5 中的至少 8 个核苷酸部分，总长不超过 25 个核苷酸。对于给定靶标的 siRNA 序列的设计为本领域技术人员所掌握。可获得设计 siRNA 序列并确保至少 70% 敲减表达的商业化服务(Qiagen, Valencia, CA)。示例性 PDE7 shRNA 和 siRNA 可获自 Sigma-Aldrich 公司(产品号 SHDNA_-NM_002603、SASI_Hs01_00183420 至 SASI_Hs01_00010490)。

[0774] dsRNA 可作为药物组合物给予，并可通过已知方法进行，其中将核酸导入所需的靶细胞中。常用的基因转移方法包括磷酸钙法、DEAE-葡聚糖法、电穿孔法、显微注射法和病毒法。这类方法参见 Ausubel 等, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., 1993。可修饰治疗性核酸分子以穿过血脑屏障。例如，研究表明通过脑室内给药给予的针对淀粉状蛋白前体蛋白(APP)A β 中央区的硫代磷酸反义寡核苷酸可以在 Alzheimer 小鼠模型中逆转学习和记忆缺陷。Banks W. A. 等, Journal of Pharm. and Exp. Therapeutics, 297(3):1113-1121, 2001。

[0775] 核酶：

[0776] 在一些实施方案中，PDE7 抑制剂为特异性切割靶 PDE7(例如 PDE7A、PDE7B 或两者)的 mRNA 的核酶。靶向 PDE7 的核酶可被用作 PDE7 抑制剂以降低 PDE7 的量和/或生物活性。核酶是可以切割核酸分子的催化性 RNA 分子，具有与核酶序列完全或部分同源的序列。可以设计编码与靶 RNA 特异性配对并在特异性位置上切割磷酸二酯主链的 RNA 核酶的核酶转基因，从而在功能上使靶 RNA 失活。在进行这种切割时，核酶本身不发生变化，因此能够再循环切割其它分子。纳入反义 RNA 内的核酶序列赋予其 RNA 切割活性，从而增加反义构建体的活性。

[0777] 用于实施本发明的核酶通常包含至少约 9 个核苷酸的杂交区(在核苷酸序列中与至少部分靶 PDE7 mRNA 互补)和适于切割靶 PDE7 mRNA 的催化区(一般参见欧洲专利号 0 321 201;WO 88/04300;Haseloff, J. 等, Nature 334:585-591, 1988;Fedor, M. J. 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1668-1672, 1990;Cech, T. R. 等, Ann. Rev. Biochem. 55:599-629, 1986)。

[0778] 核酶可以掺入核酶序列的 RNA 寡核苷酸的形式直接靶向细胞，或者可作为编码所需核酶 RNA 的表达载体导入细胞。核酶还可以反义多核苷酸中所述的多种相同方式利用和应用。

[0779] 用于本发明方法的反义 RNA 和 DNA、核酶和 RNAi 分子可通过本领域已知的合成 DNA 和 RNA 分子的任何方法制备。这些包括本领域众所周知的用于化学合成脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的技术,例如固相亚磷酰胺化学合成法。或者, RNA 分子可通过编码反义 RNA 分子的 DNA 序列的体外和体内转录来产生。可将这类 DNA 序列掺到各种将掺入合适 RNA 聚合酶启动子(例如 T7 或 SP6 聚合酶启动子)的载体中。或者,可将组成型或诱导型合成(取决于所用的启动子)反义 RNA 的反义 cDNA 构建体稳定导入细胞系。

[0780] 可提供各种众所周知的 DNA 分子修饰作为提高稳定性和半寿期的方法。有益的修饰包括但不限于向分子的 5' 端和 / 或 3' 端添加核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸的侧翼序列,或者在脱氧核糖核苷酸主链内使用硫代磷酸或 2' -O- 甲基而不是磷酸二酯键。

[0781] IV. 用于治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的 PDE7 抑制剂的筛选方法

[0782] 另一方面,提供鉴定抑制 PDE7 活性用于治疗有需要的哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常的药物的方法。本发明这一方面的方法包括:(a) 测定多种药物每一种的抑制 PDE7 活性的 IC_{50} ; (b) 从抑制 PDE7 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的多种药物中选出药物;(c) 测定抑制 PDE7 活性的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$ 的药物抑制 PDE4 活性的 IC_{50} ; (d) 通过选出抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7 的 IC_{50} 的 10 倍以上的化合物,鉴定用于治疗运动障碍的药物;(e) 在神经性运动障碍模型实验中对已鉴定出的化合物的活性进行评价,其中药物抑制 PDE7 的 IC_{50} 小于约 $1 \mu M$,抑制 PDE4 活性的 IC_{50} 是抑制 PDE7 的 IC_{50} 的 10 倍以上,且在模型实验中被确定为有效治疗至少一种运动异常的动物,表明是用于治疗哺乳动物受治疗者的与神经性运动障碍病理有关的运动异常的 PDE7 抑制剂。

[0783] 可用于实施本发明这一方面方法的代表性药物包括结合 PDE7 并抑制 PDE7 酶活性的分子(例如结合 PDE7 并降低酶促活性的小分子抑制剂或封闭性肽)及在转移和 / 或翻译水平上降低 PDE7 表达的分子(例如 PDE7 反义核酸分子、PDE7 特异性 RNAi 分子和 PDE7 核酶),从而阻止 PDE7 切割 cAMP。

[0784] V. 通用组合物描述和定义。

[0785] 一方面,本发明提供治疗与神经性运动障碍病理有关的运动异常的方法,该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂,其中对 PDE7 酶活性的这种抑制是 PDE7 抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。在本方法的一些实施方案中,神经性运动障碍可用多巴胺受体激动剂或多巴胺受体激动剂前体治疗。在本方法的一些实施方案中,神经性运动障碍选自帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍 (PLMD)、睡眠中周期性肢体运动 (PLMS) 和腿多动综合征 (RLS)。

[0786] 在其它实施方案中,神经性运动障碍选自图雷特综合征、亨廷顿舞蹈病(即亨廷顿舞蹈症)和药物诱发的帕金森综合征。

[0787] 对于用于本发明方法的各 PDE7 抑制化合物,所有可能的立体异构体和几何异构体都包括在内。化合物不仅包括外消旋化合物,还包括旋光异构体。当 PDE7 抑制剂需要作为单一对映异构体时,可以通过拆分最终产物或由异构体纯的原料进行立体有择合成或使用手性助剂来获得,例如参见 Ma, Z. 等, Tetrahedron :Asymmetry 8(6) :883-888, 1997。可通过本领域已知的任何合适方法获得拆分的最终产物、中间体或原料。另外,在其中可能存在化合物互变异构体的情况下,本发明将包括化合物的所有互变异构形式。

[0788] 含有酸性部分的 PDE7 抑制剂可与合适的阳离子形成药学上可接受的盐。合适的药学上可接受的阳离子包括碱金属（例如钠或钾）和碱土金属（例如钙或镁）阳离子。PDE7 抑制剂的含有碱性中心的药学上可接受的盐，是与药学上可接受的酸形成的酸加成盐。实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐或硫酸氢盐、磷酸盐或磷酸氢盐、乙酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、葡糖酸盐、甲磺酸盐（methanefulgonate）、苯磺酸盐和对甲苯磺酸盐。根据上述情况，本文出现任何提及用于本发明方法的化合物时都包括 PDE7 抑制剂及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

[0789] 在治疗上可以纯的化合物给予本发明的化合物，但是优选作为药物组合物或剂型给予 PDE7 抑制剂。因此，本发明进一步提供包含 PDE7 抑制剂或其药学上可接受的盐连同一种或多种药学上可接受的载体以及任选其它治疗和 / 或预防成分的药物组合物或剂型。合适的载体可与剂型的其它成分相配伍，对其接受者无毒。本发明的化合物还可装载于递送系统以提供缓释或提高化合物的摄取或活性，例如用于注射的脂质体或水凝胶系统；用于口服或胃肠外递药的微粒、纳米粒或微团系统；或者用于口服递药的分段胶囊系统（staged capsule system）。

[0790] 具体地讲，用于本发明方法的选择性 PDE7 抑制剂单独使用或与一种或多种另外的治疗剂联用，例如多巴胺受体激动剂、多巴胺受体激动剂前体、另一种多巴胺能药物或上述物质的组合。多巴胺受体激动剂和前体的实例包括例如左旋多巴（亦称“L-dopa”）、卡比多巴、溴隐亭、培高利特、普拉克索、罗匹尼罗、卡麦角林（cabergoline）、阿扑吗啡（apomorphine）和利舒脲（lisuride）。与选择性 PDE7 抑制剂组合的其它药物包括抗胆碱能药，例如盐酸比哌立登（biperiden）、甲磺酸本扎托品、丙环定（procyclidine）和苯海索；单胺氧化酶 B 抑制剂，例如 Eldepryl™、Atapryl™ 和 Carbex™ 及 NMDA 拮抗剂金刚烷胺（amantadine）（Symmetrel™）。

[0791] 在一个实施方案中，选择性 PDE7 抑制剂可与一种或多种另外的激活多巴胺 D1 受体和 / 或增加黑质纹状体神经末梢和 / 或黑质纹状体突触间隙中的多巴胺浓度的治疗药或治疗药的前体联用。这类药物包括左旋多巴、非选择性多巴胺受体激动剂，例如阿扑吗啡、溴隐亭和培高利特；D1 选择性药物，例如 ABT-431、A86929 和 SKF38393。

[0792] 在一个实施方案中，本发明提供治疗与帕金森病病理有关的运动异常的方法，该方法包括给予有需要的患者一定量的有效抑制 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂，其中这类 PDE7 抑制是 PDE7 抑制剂在治疗运动异常中的主要治疗作用方式。如本文实施例 5-7 中所证实的一样，选择性 PDE7 抑制剂可用于治疗与帕金森病病理有关的运动异常。在帕金森病的情况下，治疗包括减轻、减缓、掩蔽或预防至少一种选自以下运动异常症状的对症疗法：静止性震颤、强直、运动过慢或缺乏姿势反射。

[0793] 适用于本发明的化合物和药物组合物包括其中以有效量给予活性成分以达到其既定目的的化合物和药物组合物。更具体地讲，“治疗有效量”是指有效防止待治疗的受治疗者的症状发展，或者减轻待治疗的受治疗者存在的症状的用量。尤其按照本文所提供的详细公开内容，有效量的确定为本领域技术人员所掌握。要进一步了解的是，用于治疗所需要的本发明化合物的量随待治疗疾病的性质、患者年龄和健康状况而变化，最终由主治医师作出决定。然而，一般用于成人治疗的剂量范围通常为每日 0.001mg/kg 至约 100mg/kg。

[0794] “治疗有效剂量”是指达到治疗或改善与神经性运动障碍病理有关的运动异常所

需效果的化合物用量。可以在细胞培养物或实验动物中通过标准药理学方法测定这类化合物的毒性和治疗功效,例如用于测定 LD50(群体中 50%致死的剂量)和 ED50(群体中 50%有效治疗的剂量)的方法。

[0795] 在一个实施方案中,治疗有效剂量是足以抑制神经元细胞内 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂的量。在本发明方法的另一个实施方案中,治疗有效剂量是足以抑制纹状体神经元内 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂的量。可采用 PDE7 抑制的细胞实验(例如参见 Smith S. J. 等, *Molecular Pharmacology* 66(6):1679-1689(2004),通过引用结合到本文中),来测定足以穿过细胞膜并抑制细胞内 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂的有效剂量。可采用测定 PDE 抑制剂对纹状体 cAMP 水平的作用的实验,来测定足以抑制纹状体 PDE7 酶活性的 PDE7 抑制剂的有效剂量,参见 Siuciak J. A. 等, *Neuropharmacology* 51:386-396(2006),通过引用结合到本文中。

[0796] 毒性作用和治疗效果间的剂量比是治疗指数,用 LD50 与 ED50 之比表示。优选治疗指数高的化合物。由这类分析获得的数据可用于配制用于人的剂量范围。这类化合物的剂量优选介于包括 ED50 范围在内的循环浓度内,这取决于所采用的剂型和所利用的给药途径。

[0797] 可以利用实验动物模型,例如实施例 5-7 中所述的小鼠 MPTP 模型,通过标准药理学方法测定 PDE7 抑制剂的毒性和治疗功效。可利用该动物模型,采用标准方法测定 NOAEL(无明显损害作用水平)和 MED(最小有效剂量)。NOAEL 和 MED 作用的剂量比为治疗比率,用 NOAEL/MED 之比表示。最优选治疗比率或治疗指数大的 PDE7 抑制剂。由细胞培养实验和动物研究获得的数据可用于配制各种用于人的剂量。PDE7 抑制剂的剂量优选介于循环浓度范围内,包括几乎无毒或无毒的 MED。剂量可在该范围内变化,这取决于所采用的剂型和所使用的给药途径。

[0798] 对于任何化合物剂型,可以利用动物模型对治疗有效剂量进行评价。例如,可以在动物模型配制达到包括 MED 在内的循环血浆浓度或脑组织范围的剂量。还可测定 PDE7 抑制剂在血浆或脑内的定量水平,例如参见本文实施例 4。

[0799] 各医师根据患者情况选择确切的剂型、给药途径和剂量。可个别调整剂量和剂量间隔以提供足以维持治疗效果的活性部分的血浆水平。

[0800] 可以单剂量适当地给予所需剂量,或作为多剂量以适当间隔给予所需剂量,例如每天 2 次、3 次、4 次或以上分剂量。在实践中,医师决定最适于各个患者的实际给药方案,且剂量随具体患者的年龄、体重和反应而变化。上述剂量是平均情况的示例性剂量,不过可能有个别病例,其中较高或较低剂量是有益的,这些也都落入本发明的范围内。

[0801] 可以标准方式给予本发明的剂型用于治疗适应症,例如口服、胃肠外、经粘膜(例如舌下或通过口腔给药)、局部、经皮、直肠、通过吸入(例如经鼻或深肺部吸入)。胃肠外给药包括但不限于静脉内、动脉内、腹膜内、皮下、肌肉内、鞘内和关节内。还可采用高压技术,例如 POWDERJECT™ 系统实现胃肠外给药。

[0802] 另一方面,本发明提供包含 PDE7 抑制剂用于治疗以下神经性运动障碍的药物组合物:例如帕金森病、脑炎后帕金森综合征、多巴胺反应性肌张力障碍、夏-德雷格综合征、周期性肢体运动障碍(PLMD)、睡眠中周期性肢体运动(PLMS)、图雷特综合征或腿多动综合征(RLS)。

[0803] 对于口腔或口服给药, 药物组合物可以是以常规方式配制的片剂或锭剂的形式。例如, 用于口服给药的片剂和胶囊剂可含有常用的赋形剂, 例如粘合剂 (例如糖浆、阿拉伯树胶、明胶、山梨醇、西黄蓍胶、淀粉胶浆或聚乙烯吡咯烷酮)、填充剂 (例如乳糖、糖、微晶纤维素、玉米淀粉、磷酸钙或山梨醇)、润滑剂 (例如硬脂酸镁、硬脂酸、滑石粉、聚乙二醇或二氧化硅)、崩解剂 (例如马铃薯淀粉或羟基乙酸淀粉钠) 或润湿剂 (例如月桂硫酸钠)。可按照本领域众所周知的方法给片剂包衣。

[0804] 或者, 可将本发明的化合物掺入口服液体药剂中, 例如水性或油性混悬剂、溶液剂、乳剂、糖浆剂或酏剂。此外, 含有这些化合物的剂型可以是无水产品, 用前与水或其它合适的溶媒配制。这类液体药剂可含有常用添加剂, 例如悬浮剂, 例如山梨醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖 / 蔗糖糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶和氢化可食用脂肪; 乳化剂, 例如卵磷脂、失水山梨醇单油酸酯或阿拉伯树胶; 非水性溶媒 (可包括食用油), 例如杏仁油、分馏椰子油、油性酯、丙二醇和乙醇; 防腐剂, 例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯和山梨酸。

[0805] 这类制剂还可配制成例如含有常用栓剂基质, 例如可可脂或其它甘油脂的栓剂。用于吸入的组合物通常可以溶液剂、混悬剂或乳剂的形式提供, 可作为干粉或使用常规抛射剂的气雾剂形式给予, 抛射剂例如二氯二氟甲烷或三氯氟甲烷。通常局部和经皮剂型包含常用的水性或非水性溶媒, 例如滴眼剂、乳膏剂、软膏剂、洗剂、糊剂或药用硬膏剂 (medicated plaster)、贴剂或膜剂的形式。

[0806] 另外, 可以制备本发明的组合物用于通过注射或连续输注经胃肠外给药。用于注射的剂型可以是油性或水性溶媒中的混悬剂、溶液剂或乳剂的形式, 可含有调制剂 (formulation agent), 例如悬浮剂、稳定剂和 / 或分散剂。或者, 活性成分可为粉末的形式, 临用前用合适的溶媒 (例如无菌无热原水 (hydrogen-free water)) 配制。

[0807] 本发明的组合物还可配制成贮库制剂。可通过植入 (例如皮下或肌内) 或者通过肌内注射给予这类长效剂型。因此, 本发明的化合物可用合适的聚合材料或疏水材料 (例如可接受油中的乳剂)、离子交换树脂配制, 或者可配制成微溶性衍生物 (例如微溶性盐)。

[0808] 因此, 在又一方面, 本发明提供包含 PDE7 抑制剂连同其药学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物。本发明进一步提供包含 PDE7 抑制剂的药物组合物的制备方法, 该方法包括将 PDE7 抑制剂连同其药学上可接受的稀释剂或载体相混合。

[0809] 血脑屏障:

[0810] 在一些实施方案中, 给予 PDE7 抑制剂以便穿过或越过血脑屏障。优选治疗方法中所给予的抑制剂、化合物或组合物可以足够的量并按足够的速度穿过血脑屏障以便可治疗运动障碍。使药物穿过血脑屏障的方法为本领域所知, 包括使药物大小最小化、提供有利于通过的疏水因子以及具有相当大通透性的穿过血脑屏障的载体分子缀合。

[0811] 在一些实施方案中, PDE7 抑制剂的有效量是在脑组织内达到给定 PDE7 抑制剂活性 IC_{50} 或以上浓度的量。在一些实施方案中, 以这样的方式和剂量给予 PDE7 抑制剂, 得到抑制 PDE7A 或 PDE7B 较大者的 IC_{50} 浓度约 1、1.5、2、2.5、5、10、20 倍以上的峰值浓度。

[0812] 在一些情况下, 通过外科手术植入与泵装置连接的导管给予 PDE7 抑制剂或药物组合产品。泵装置可植入, 或者可放置在体外。可以不连续脉冲方式或作为连续输注给予 PDE7 抑制剂。注射到脑部不同部位的装置为本领域所知。在某些实施方案中, PDE7 抑制

剂或包含 PDE7 抑制剂的组合物通过注射局部给予脑室、黑质、纹状体、蓝斑、迈内特基底核 (nucleus basalis Meynert)、脚桥核 (pedunculopontine nucleus)、大脑皮质和/或脊髓。

实施例

[0813] 实施例 1

[0814] 本实施例描述了用于测定 PDE7 抑制剂功效的实验,证实了用于本发明方法的若干代表性 PDE7 抑制剂抑制 PDE7 的功效。

[0815] 方法:

[0816] 在利用杆状病毒系统表达的重组人 PDE7A 和 PDE7B 酶进行的 PDE7 磷酸二酯酶实验中,测定了表 1 中所列举的化合物的抑制活性。重组人 PDE7A 酶购自 BPS Bioscience (Catalog #60070), Genbank 检索号 NM_002603 (氨基酸 121 至末端),带有 N 端 GST 标签, MW = 66kDa,在杆状病毒转染的 Sf9 细胞表达系统中进行表达,比活为 302pmol/分钟/ μ g。重组人 PDE7B 酶购自 BPS Bioscience (Catalog #60071), Genbank 检索号 NM_018945 (氨基酸 107 至末端),带有 N 端 GST 标签, MW = 66kDa,在杆状病毒转染的 Sf9 细胞表达系统中进行表达,比活为 53pmol/分钟/ μ g。

[0817] 表 1: PDE7 抑制化合物

[0818]

编号	化合物参考号	MW
OM69	1	353.42
OM056	2	353.42
OM955	3	310.78
OM956	4	330.45

[0819] PDE7 活性实验:

[0820] 所用实验方法为闪烁亲近测定法 (SPA) (得自 GE Healthcare, 产品编码 TRKQ7100), 用 [^{3} H]-cGMP 为底物 (SPA 手册, Amersham Biosciences)。将纯的人 PDE7A 和 PDE7B (得自 BPS Bioscience, San Diego, CA) 用含有 25mM Tris-Cl (pH8.0)、100mM NaCl、0.05% 吐温 20 (Tween 20)、50% 甘油和 3mM DTT 的溶液稀释保存。PDE7 实验在下列反应混合物 (终浓度) 中进行: 50mM Tris-Cl (pH8.0)、8.3mM $MgCl_2$ 、1.7mM EGTA、0.5mg/ml BSA、5% DMSO (除对于 OM056 为 2.5% DMSO 外) 和 2ng PDE7A 或 0.2ng PDE7B 重组蛋白, 最终体积为 0.1mL。

[0821] 为了测定针对 PDE7A 或 PDE7B 的 IC_{50} 值, 在单块板上以 8 种抑制剂浓度按一式两份进行了实验, 用已知的 PDE7 抑制剂 (BRL50481) 作为阳性对照。抑制剂浓度的范围为 0.61nM 至 10,000nM, 只是在 OM056 的情况下, 浓度范围为 0.24nM 至 4,000nM。通过加入酶引发反应, 在 30℃ 下温育 20 分钟, 然后通过加入 50 μ l 含有 Zn^{2+} 的 SPA 微珠终止反应。

[0822] 混合物经震荡, 使之沉淀 3 小时, 然后在 Wallac[®] 平板计数器中通过闪烁计数对

由底物产生的 $[^3\text{H}]-5'$ AMP 进行定量测定。将用净 cpm 值表示的结果用 Excel Solver[®] 与 4 参数逻辑模型拟合。

[0823] 结果：

[0824] PDE7 磷酸二酯酶抑制实验的结果概括于下表 2, 并如图 3A 至图 6B 中所示。

[0825] 表 2: 代表性 PDE7 抑制化合物对 PDE7A 和 PDE7B 抑制的 IC_{50} 值

[0826]

化合物 ID	化合物编号	PDE7A IC_{50}	PDE7B IC_{50}	7A/7B 之比
OM69	1	1.30nM	4.8nM*	3.69
OM056	2	5.67nM	9.27nM	1.63
OM955	3	51.8nM	106nM	2.05
OM956	4	140nM	144nM	1.03

[0827] * 本发明的发明人以前测定了 OM69 对 PDE7A 和 PDE7B 活性的抑制。我们注意到有关用 OM69 抑制 PDE7B 的 IC_{50} 值, 在采用不同实验方法的最初实验中, 测定的 IC_{50} 值为 96.9nM。在该最初实验中, 背景信号 (每分钟计数) 比最大信号高, 希尔系数低, 最初实验结果的可靠性受到质疑。

[0828] 上表 2 中所显示的实验结果表明, OM69 抑制 PDE7B 的 IC_{50} 值为 4.8nM, 我们认为这是比较准确的数值, 因为如图 3B 所示, 与 4 参数逻辑剂量-反应模型拟合的 r^2 值为 0.9988, 正如对简单竞争性抑制剂所预期的一样。在最初的实验研究中, 用 OM69 抑制 PDE7A 的 IC_{50} 值为 3.5nM, 与表 2 中所显示的抑制 PDE7A 的值 1.30nM 不一致。

[0829] 图 3A、图 4A、图 5A 和图 6A 是说明 PDE7A 抑制活性 (IC_{50}) 的曲线图, 分别用每分钟计数 (“CPM”) 对代表性 PDE7 抑制剂 OM69、OM955、OM956 和 OM056 的浓度作图来表示, 浓度范围为 0.61nM 至 10,000nM (对于 OM69、OM955 和 OM956), 或者浓度范围为 0.24nM 至 4,000nM (对于 OM056)。

[0830] 图 3B、图 4B、图 5B 和图 6B 是说明 PDE7B 抑制活性 (IC_{50}) 的曲线图, 分别用每分钟计数 (“CPM”) 对代表性 PDE7 抑制剂 OM69、OM955、OM956 和 OM056 的浓度作图来表示, 浓度范围为 0.61nM 至 10,000nM (对于 OM69、OM955 和 OM956), 或者浓度范围为 0.24nM 至 4,000nM (对于 OM056)。

[0831] 这些结果表明, OM69 和 OM056 抑制 PDE7A 和 PDE7B 的功效高, 而 OM955 和 OM956 抑制这两种酶的功效适中。OM69、OM056、OM955 和 OM956 化合物在 PDE7A 和 PDE7B 之间几乎没有或者根本没有选择性。

[0832] 实施例 2

[0833] 本实施例描述了用于测定 PDE7 抑制剂选择性的一组实验, 实验表明与所测定的所有其它磷酸二酯酶相比, OM69 (化合物 1)、OM056 (化合物 2)、OM955 (化合物 3) 和 OM956 (化合物 4) 各自选择性地抑制 PDE7。这些实验包括了每个 PDE 家族的代表, 只是 PDE6 除外。

[0834] 方法：

[0835] 用 [^3H]-cAMP 作为 PDE 3A、4A、8A 的底物,或者用 [^3H]-cGMP 作为 PDE 1B、2A、5A、9A、10A 和 11A 的底物,通过闪烁亲近测定法 (SPA, GE Healthcare :产品编码 TRKQ7100),测定了磷酸二酯酶活性。纯化的人 PDE1B、PDE2A、PDE3A、PDE4A、PDE5A、PDE8A、PDE9A 和 PDE11A4 得自 BPS Bioscience, San Diego, CA。纯化的鼠 PDE10A 也得自 BPS Biosciences。要注意的是,鼠 PDE10A 具有无法与人 PDE10 区别开来的活动和抑制行为。因此,我们认为用鼠 PDE10A 得到的结果可代表人 PDE10。

[0836] 将纯化的 PDE 酶各自在含有 25mM Tris-Cl (pH8.0)、100mM NaCl、0.05%吐温 20、50%甘油和 3mM DTT 溶液中稀释保存。PDE 实验在下列实验混合物 (终浓度) 中进行: 50mM Tris-Cl (pH8.0)、8.3mM MgCl_2 、1.7mM EGTA、0.5mg/ml BSA、2.5% DMSO 和介于 0.2ng 和 6ng 之间的 PDE 蛋白 (取决于酶活性), 最终体积为 0.1mL。

[0837] 用 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1)、OM056 (化合物 2)、OM955 (化合物 3) 和 OM956 (化合物 4) 以 4 种浓度 (10 μM 、1.25 μM 、0.156 μM 和 0.019 μM) 按一式两份进行了实验。通过加入酶引发反应,在 30°C 下温育 20 分钟,然后通过加入 50 μL 含有 Zn^{2+} 的 SPA 微珠终止反应。

[0838] 混合物经震荡后,使之沉淀 3 小时。然后在 Wallac[®] 平板计数器中,通过闪烁计数对由底物产生的 [^3H]-AMP 或 [^3H]-GMP 进行了定量测定。将用净 cpm 值表示的结果用 Excel Solver[®] 与 4 参数逻辑模型拟合。为了计算选择比,将用各个酶得到的 IC_{50} 值除以实施例 1 中用 PDE7A 得到的 IC_{50} 值。

[0839] 结果：

[0840] 表 3 表示用 4 种 PDE7 抑制化合物针对一组受试 PDE 所测定的选择性实验结果。表 3 中数值的单位用 PDE7A 对于其它 PDE 的选择性倍数表示,通过用针对所示 PDE 的 IC_{50} 值除以针对实施例 1 中的 PDE7A 的 IC_{50} 值来测定。因此,例如,对于 OM955 与 PDE1B 的值为 342 倍,是指与 PDE7A 相比,OM955 作为 PDE1B 抑制剂有效性降低 342 倍。括号中所表示的数字是实施例 1 的各种化合物针对 PDE7A 的 IC_{50} 值。表 3 中所提供的表示为“>”的选择性倍数数值反映了其中最高浓度的化合物仅稍微抑制酶靶标 (即小于 50%) 的情况,然而不能使用较高的浓度,因为化合物在实验混合物中变得不溶解。因此,仅可产生选择性的最小估计值。

[0841] 表 3:代表性 PDE7 抑制化合物的 PDE7A 选择性

[0842]

靶标	OM69 (化合物 1) 选择性倍数	OM056 (化合物 2) 选择性倍数	OM955 (化合物 3) 选择性倍数	OM956 (化合物 4) 选择性倍数
PDE1B	29.608	> 1750	342	> 71
PDE2A	11.100	5670	209	546
PDE3A	8170	> 1750	> 192	> 71

PDE4A	6500	942	113	> 71
PDE5A	4630	3300	355	> 71
PDE7A	1 (1.30nM)	1 (5.67nM)	1 (51.8nM)	1 (140nM)
PDE7B	3.7	1.6	2.0	1.0
PDE8A	> 7700	> 1750	> 192	> 71
PDE9A	> 7700	> 1750	> 192	> 71
PDE10A	1050	428	379	106
PDE11A	7070	2600	> 192	> 71

[0843] 结果讨论：

[0844] 如表 3 所示，与 PDE1B、PDE2A、PDE3A、PDE4A、PDE5A、PDE8A、PDE9A、PDE10A 和 PDE11A 相比，代表性 PDE7 抑制剂 OM69、OM056、OM955 和 OM956 均对 PDE7A 和 PDE7B 有选择性。

[0845] 如表 3 所示，OM69（化合物 1）是 PDE7A（ $IC_{50} = 1.3nM$ ）和 PDE7B（ $IC_{50} = 4.8nM$ ）两者的强效抑制剂，与其它 PDE 相比，抑制 PDE7A 酶的选择性大于 1000 倍，且与其它 PDE 相比，抑制 PDE7B 酶的选择性大于 250 倍。

[0846] 表 3 进一步显示，OM056（化合物 2）是 PDE7A（ $IC_{50} = 5.7nM$ ）和 PDE7B（ $IC_{50} = 9.27$ ）两者的强效抑制剂，与其它 PDE 相比，抑制 PDE7A 酶的选择性大于 400 倍，且与其它 PDE 相比，抑制 PDE7B 酶的选择性大于 200 倍。

[0847] 表 3 进一步显示，OM955（化合物 3）是 PDE7A（ $IC_{50} = 51.8nM$ ）和 PDE7B（ $IC_{50} = 106nM$ ）两者的效力适中的抑制剂，与其它 PDE 相比，抑制 PDE7A 酶的选择性大于 100 倍，且与其它 PDE 相比，抑制 PDE7B 酶的选择性大于 50 倍。

[0848] 同样如表 3 所示，OM956（化合物 4）是 PDE7A（ $IC_{50} = 140nM$ ）和 PDE7B（ $IC_{50} = 144nM$ ）两者的效力适中的抑制剂，与其它 PDE 相比，抑制 PDE7A 和 PDE7B 酶的选择性大于 71 倍。

[0849] 这些结果连同实施例 4-7 中所表示的结果一起，表明给予 MPTP 小鼠模型这些化合物后，抑制 PDE7 活性对于改善运动异常是必要的并且是充分的。此外，使用选择性 PDE7 的抑制剂而不是非选择性 PDE 抑制剂提供了较低毒性的优势，因为它们不会显著抑制已知引起不良作用的 PDE（例如 PDE3 和 PDE4）。

[0850] 实施例 3

[0851] 本实施例描述了用于体内评价 PDE7 抑制剂的代谢稳定性和 PDE7 抑制剂分配到小鼠脑的能力的方法。

[0852] 动物试验方案

[0853] 小鼠品系：成年雄鼠 C57BL/6J；退役种鼠，介于 7-9 月龄之间（Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA），单独关养。

[0854] 给予化合物：将各 PDE7 抑制剂（OM69（化合物 1）、OM056（化合物 2）、OM955（化合

物 3) 和 OM956 (化合物 4)) 溶于由 DMSO、0.03M 磷酸和吐温 80 (5 : 95 : 0.2) 组成的溶媒中,以 10mg/kg 的剂量通过腹膜内途径注射。

[0855] 采集血样和脑样:临收获组织之前,小鼠用阿佛丁麻醉。在注射后 15 分钟、30 分钟、60 分钟、120 分钟和 240 分钟每个时间点上,从 3 只动物中采集全脑或血浆样品。通过眶后放血来采集血样。制备血浆,并经离心去除红细胞。小鼠用盐水灌注去除污染血。取脑并在液氮中快速冷冻用于后续分析。将血浆和脑样品保存在 -80℃ 下或干冰上,通过 LC/MS/MS 分析如下测定化合物的浓度:

[0856] 全脑组织使用 Mini-Beadbeater-8TM (BioSpec Products, Bartlesville, OK) 匀浆。血浆或均匀的脑样品用乙腈沉淀,并采用 Captiva® 0.20 微米滤板 (Varian Corp, Lake Forest, CA) 过滤到 96 孔板中。将滤液在氮气氛围、50℃ 下蒸发至干,然后重配用于 LC-MS 分析。

[0857] 采用 Thermo Ultra 三重四级质谱仪 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA), 利用电喷雾电离以数据采集多重反应监测模式, 获得血浆和脑样品抑制化合物的定量测定值。将样品提取物注入 2.1x30mm Xterra C18-MS 高压液相色谱 (HPLC) 充填柱 (Waters Corp, Milford, MA) 中。采用 Thermo Surveyor MS Plus HPLC 四级泵系统 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) 和 HTC PAL 自动注射器 (LEAP Technologies, Chapel Hill, NC), 供应从 HPLC 柱洗脱化合物的流动相。

[0858] 结果:

[0859] 在每个时间点,从 3 小鼠中收集有关 OM69 (化合物 1)、OM056 (化合物 2)、OM955 (化合物 3) 和 OM956 (化合物 4) 的组织浓度数据,并取平均值。图 7 曲线图表示在 240 分钟时程期间化合物 OM69 (化合物 1) 的血浆浓度、脑浓度和脑 / 血浆比率。如图 7 所示,在暴露的头 15 分钟内,在血浆 (51ng/g) 和脑组织 (25ng/g) 检测到 OM69。在腹膜内注射后 30 分钟观察到峰值水平 (血浆 59ng/g 和脑 44ng/g), 之后血浆和脑水平均快速下降。在所有时间点上,当脑和血浆水平均大于 LC/MS/MS 实验 (2ng/g) 中的定量下限时,脑 / 血浆之比为 45-75%。

[0860] 采用所述用于化合物 OM69 的方法,对于各受试化合物,将脑内的总暴露量 (曲线下面积 :AUC) 除以血浆内的总暴露量,计算得出比率。结果见下表 4。比值大于“1”表明化合物集中于脑内。表示为“> 1”的值表明,在第一次测量时,脑内的化合物水平已较高。因此,在这些情况下比值为 1 表示最小估计值。

[0861] 表 4 :PDE7 抑制化合物的脑 / 血浆比

[0862]

化合物	脑总暴露量 / 血浆总暴露量之比
OM69 (化合物 1)	0.78
OM056 (化合物 2)	1.8
OM955 (化合物 3)	> 1

OM956 (化合物 4)	> 1
---------------	-----

[0863] 结果讨论：

[0864] 图 7 中所示数据表明, OM69 (化合物 1) 在脑内达到 44ng/g 的浓度, 在注射 1mg/kg 剂量后 30 分钟, 变成 124nM。假定为线性摄取, 且脑内均匀分布, 预期给小鼠 0. 1mg/kg 的剂量会产生 12. 4nM 的最大浓度, 按照实施例 1 中报告的 1. 3nM 和 4. 8nM 的 IC_{50} 值, 这足以在脑内实现 PDE7 抑制。对于在 MPTP 模型中测试的 3 种其它化合物进行类似计算 (见实施例 5-7), 在其中观察到功效的剂量和时间点上, 得到最大脑浓度的下列结果: OM955 : 241nM, 剂量 0. 5mg/kg; OM956 : 328nM, 剂量 0. 5mg/kg; OM056 : 71nM, 剂量 0. 5mg/kg。在各种情况下, 我们注意到这些水平比抑制 PDE7A 或 PDE7B 的化合物的 IC_{50} 值中较大值大至少 2 倍。

[0865] 实施例 4

[0866] 本实施例表明代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 不与已知的帕金森病靶标发生显著的相互作用。

[0867] 方法：

[0868] 针对一组已知的帕金森病靶标测定了代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1), 以确定是否存在与任何受试靶标相互作用的证据。

[0869] 实验：

[0870] 1. 儿茶酚 -O- 甲基转移酶 (COMT) 酶实验

[0871] 按照 Zurcher, G. 等人所述方法 (J. Neurochem 38 :191-195, 1982) 作下列修改后, 对儿茶酚 -O- 甲基转移酶 (COMT) 进行了测定。从猪肝中分离出 COMT 源。底物为 3mM 儿茶酚 +S- 腺苷基 -L-[甲基 - ^3H] 甲硫氨酸。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (含有 12U/ml ADA 的 100mM 磷酸钾、10mM $MgCl_2$ 、3mM DTT (pH7. 4)) 对 10 μ M 化合物 OM69 进行了测定。将反应物在 37°C 下预温育 15 分钟, 加入 COMT 酶, 将反应物在 37°C 下温育 60 分钟。对 [^3H]- 愈创木酚进行计数和定量。在本实验中对阳性对照化合物 3, 5- 二硝基儿茶酚进行了测定, IC_{50} 历史值为 0. 31 μ M。

[0872] 2. 单胺氧化酶 MAO-B 酶实验

[0873] 按照 Urban, P. 等人所述方法 (FEBS Lett 286 (1-2) :142-146, 1991) 作下列修改后, 对单胺氧化酶 MAO-B 进行了测定。从昆虫 Hi5 细胞中分离出人重组 MAO-B。底物为 50 μ M 犬尿胺。溶媒对照为 1% DMSO。在实验 1 中的温育缓冲液 (100mM 磷酸钾 (pH7. 4)) 中, 测定了 10 μ M 化合物 OM69。在实验 2 中, 对 10 μ M 和 1 μ M 化合物 OM69 进行了测定。将反应物在 37°C 下预温育 15 分钟, 加入 MAO-B 酶, 将反应物在 37°C 下温育 60 分钟。对 4- 羟基喹啉进行了分光荧光定量测定。在本实验中对阳性对照化合物 R(-)- 苄甲炔胺进行了测定, 其历史 IC_{50} 值为 5. 3nM。

[0874] 3. 酪氨酸羟化酶实验

[0875] 按照 Roskoski, R., Jr. 等人所述方法 (J. Biochem 218 :363-370 (1993)) 作下列修改后, 对酪氨酸羟化酶进行了测定。从 Wistar 大鼠脑中分离出酪氨酸羟化酶。底物为 100 μ M L-[3, 5- ^3H] 酪氨酸 +L- 酪氨酸。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (125mM MES (pH6. 0)、0. 5mg/ml 过氧化氢酶、12. 5mM DTT、0. 5mM (6R)-5, 6, 7, 8- 四氢生物蝶呤) 中, 对 10 μ M 化合物 OM69 进行了测定。将反应物在 37°C 下预温育 15 分钟。加入酪氨酸羟化

酶,将反应物在 37℃ 下温育 20 分钟。对 $[^3\text{H}]\text{-H}_2\text{O}$ 进行了定量测定。在本实验中对阳性对照化合物 α -甲基-L-丙氨酸进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 20 μM 。

[0876] 4. 多巴胺 D_1 放射性配体结合实验

[0877] 按照 Dearry, A. 等人所述方法 (Nature 347 :72-76, 1990) 作下列修改后,进行了多巴胺 D_1 放射性配体结合实验。使人重组多巴胺 D_1 受体在 CHO 细胞中表达。实验中所用的配体为 1.4nM $[^3\text{H}]\text{SCH-23390}$ 。非特异性配体为 10 μM (+)-丁克吗。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、1.4mM 抗坏血酸、0.001% BSA、150mM NaCl) 中对 10 μM 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 37℃ 下温育 2 小时。对放射性配体结合进行了定量。实验中对阳性对照化合物 R(+)-SCH-23390 进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 1.4nM。

[0878] 5. 多巴胺 D_{2L} 放射性配体结合实验

[0879] 按照 Grandy, D. K. 等人所述方法 (PNAS 86 :9762-9766, 1989) 作下列修改后,进行了多巴胺 D_{2L} 放射性配体结合实验。使人重组多巴胺 D_{2L} 受体在 CHO 细胞中表达。实验中所用的配体为 0.16nM $[^3\text{H}]\text{-螺哌隆}$ 。非特异性配体为 10 μM 氟哌啶醇。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、1.4mM 抗坏血酸、0.001% BSA、150mM NaCl) 中对 10 μM 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 25℃ 下温育 2 小时。对放射性配体结合进行了定量。本实验对阳性对照化合物螺哌隆进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 0.26nM。

[0880] 6. 多巴胺 D_3 放射性配体结合实验

[0881] 按照 Sokoloff, P. 等人所述方法 (Nature 347 :146-151, 1990) 作下列修改后,进行了多巴胺 D_3 放射性配体结合实验。使人重组多巴胺 D_3 受体在 CHO 细胞中表达。实验中所用的配体为 0.7nM $[^3\text{H}]\text{-螺哌隆}$ (spiperone)。非特异性配体为 25 μM S(-) 舒必利 (Sulpiride)。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、1.4mM 抗坏血酸、0.001% BSA、15mM NaCl) 中对 10 μM 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 37℃ 下温育 2 小时。对放射性配体结合进行了定量。本实验对阳性对照化合物螺哌隆进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 0.36nM。

[0882] 7. 多巴胺 $\text{D}_{4.2}$ 放射性配体结合实验

[0883] 按照 Van Tol, H. H. M. 等人所述方法 (Nature 350 :610-614, 1991) 作下列修改后,进行了多巴胺 $\text{D}_{4.2}$ 放射性配体结合实验。使人重组多巴胺 $\text{D}_{4.2}$ 受体在 CHO-K1 细胞中表达。实验中所用的配体为 0.5nM $[^3\text{H}]\text{-螺哌隆}$ 。非特异性配体为 10 μM 氟哌啶醇。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、1.4mM 抗坏血酸、0.001% BSA、150mM NaCl) 中对 10 μM 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 25℃ 下温育 2 小时。对放射性配体结合进行了定量。本实验对阳性对照化合物螺哌隆进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 0.5nM。

[0884] 8. 多巴胺 D_5 放射性配体结合实验

[0885] 按照 Sunahara, R. K. 等所述方法 (Nature 350 :614-619, 1991) 作下列修改后,进行了多巴胺 D_5 放射性配体结合实验。使人重组多巴胺 D_5 受体在 CHO 细胞中表达。实验中所用的配体为 2nM $[^3\text{H}]\text{-SCH-23390}$ 。非特异性配体为 10 μM 氟哌噻吨 (Flupentixol)。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、1.4mM 抗坏血酸、0.001% BSA、150mM NaCl) 中对 10 μM 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 37℃ 下温育 2 小时。对放射性配体结合进行了定量。在本实验中对阳性对照化合物 R(+)-SCH-23390 进行了测定,其历史 IC_{50} 值为 1.5nM。

[0886] 9. 加巴喷丁放射性配体结合实验

[0887] 按照 Gee, N. S. 等人所述方法 (J. Biol. Chem. 271(10):5768-5776, 1996) 作下列修改后, 进行了加巴喷丁放射性配体结合实验。从 Wistar 大鼠脑皮质获得加巴喷丁。实验中所用的配体为 $0.02 \mu\text{M}$ [^3H] 加巴喷丁。非特异性配体为 $100 \mu\text{M}$ 加巴喷丁。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (10mM HEPES (pH7.4)) 对 $10 \mu\text{M}$ 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 25°C 下温育 30 分钟。对放射性配体结合进行了定量。在本实验中对阳性对照化合物加巴喷丁进行了测定, 其历史 IC_{50} 值为 $0.04 \mu\text{M}$ 。

[0888] 10. 多巴胺转运蛋白 (DAT) 放射性配体结合实验

[0889] 按照 Giros, B. 等人所述方法 (Trends Pharmacol Sci 14:43-49, 1993) 作下列修改后, 进行了多巴胺转运蛋白 (DAT) 放射性配体结合实验。使人重组 DAT 在 CHO-K1 细胞中表达。实验中所用的配体为 0.15nM [^{125}I]-RTI-55。非特异性配体为 $10 \mu\text{M}$ 诺米芬辛 (Nomifensine)。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、100mM NaCl、 $1 \mu\text{M}$ 亮抑酶肽、 $10 \mu\text{M}$ PMSF) 中对 $10 \mu\text{M}$ 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 4°C 下温育 3 小时。对放射性配体结合进行了定量。在实验中对阳性对照化合物 GBR-12909 进行了测定, 其历史 IC_{50} 值为 1.7nM 。

[0890] 11. 腺苷 $\text{A}_{2\text{A}}$ 受体放射性配体结合实验

[0891] 按照 Varani, K. 等人所述方法 (Br. J. Pharmacol. 117:1693-1701, 1996) 作下列修改后, 进行了腺苷 $\text{A}_{2\text{A}}$ 受体放射性配体结合实验。使人重组 $\text{A}_{2\text{A}}$ 受体在 HEK-293 细胞中表达。实验中所用的配体为 $0.05 \mu\text{M}$ [^3H] CGS-21680。非特异性配体为 $50 \mu\text{M}$ NECA。溶媒对照为 1% DMSO。在温育缓冲液 (50mM Tris-HCL (pH7.4)、10mM MgCl_2 、1mM EDTA、2U/mL 腺苷脱氨酶) 中对 $10 \mu\text{M}$ 化合物 OM69 进行了测定。使反应物在 25°C 下温育 90 分钟。对放射性配体结合进行了定量。在本实验中对阳性对照化合物 CGS-21680 进行了测定, 其历史 IC_{50} 值为 $0.13 \mu\text{M}$ 。

[0892] 结果:

[0893] 上述实验结果概括于下表 5。在标记为“OM69”一栏中的括号内标出了在实验中所用的 OM69 的量。结果用抑制配体结合靶标或抑制靶标的酶促活性的百分比表示。阳性对照按规定包括在各实验中, 作为对实验性能的检查。

[0894] 表 5: 用代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 对已知帕金森病靶标的抑制水平

[0895]

靶标	OM69 (化合物 1)	阳性对照	
		预计 IC ₅₀	实测 IC ₅₀
儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)	19.0% (10.0 μM)	0.31 μM	0.606 μM
单胺氧化酶 MAO-B (Exp #1)	49.0% (10.0 μM)	5.3 nM	6.69 nM
单胺氧化酶 MAO-B (Exp #2)	67.0% (10.0 μM)	5.3 nM	9.96 nM
单胺氧化酶 MAO-B (Exp #2)	27.0% (1.0 μM)	5.3 nM	9.96 nM
酪氨酸羟化酶	4.0% (10.0 μM)	20 μM	20.2 μM
多巴胺 D ₁	-5.0% (10.0 μM)	1.4 nM	1.83 nM
多巴胺 D _{2L}	4.0% (10.0 μM)	0.26 nM	0.277 nM
多巴胺 D ₃	-13.0% (10.0 μM)	0.36 nM	0.774 nM
多巴胺 D _{4.2}	-16.0% (10.0 μM)	0.5 nM	0.441 nM
多巴胺 D ₅	4.0% (10.0 μM)	1.5 nM	2.31 nM

[0896]

靶标	OM69 (化合物 1)	阳性对照	
		预计 IC ₅₀	实测 IC ₅₀
加巴喷丁	15.0% (10.0 μM)	0.04 μM	0.0796 μM
多巴胺转运蛋白 (DAT)	18.0% (10.0 μM)	1.7 nM	0.975 nM
腺苷 A _{2A} 受体	41.0% (10.0 μM)	0.13 μM	0.0924 μM

[0897] 结果讨论：

[0898] 表 5 中的结果表明,即使在其 PDE7B 的 IC₅₀ 为 2000 倍以上的浓度下,代表性 PDE7 抑制剂 OM69 也基本不抑制 COMT、酪氨酸羟化酶、多巴胺转运蛋白、加巴喷丁受体或任何多巴胺受体亚型。

[0899] 至于腺苷 A_{2A} 受体结果,尽管表 5 中的结果显示在 10 μM 的浓度下,OM69 抑制与 A_{2A} 受体结合达 41%,但是至少出于下列原因,我们认为 A_{2A} 不是 OM69 的靶标。如实施例 3 所示,在 1mg/kg 剂量之后,OM69 在小鼠脑达到 30-60ng/g 的水平。假设为线性药代动力学特征,则如实施例 5 和实施例 6 中所表明的一样,在小鼠 MPTP 模型中是非常有效的 0.1mg/kg 剂量,会产生脑内水平 3-6ng/g,这相当于 3-6ng/ml 或 8.5-17nM。在此浓度下,使用 OM69 的 IC₅₀ 保守值 10 μM, A_{2A} 受体所占百分比可能仅约为 0.17%。因此,结论是 A_{2A} 不是 OM69 的靶标。

[0900] 至于 MAO-B 实验,在 $1\ \mu\text{M}$ 浓度下的百分比抑制 27% 可表明 IC_{50} 值约为 $2.7\ \mu\text{M}$ 。因此,如果 OM69 以 17nM 的浓度存在于脑内(同前述段落讨论的一样),则它可能抑制的 MAO-B 小于 0.7%。因此,结论是 MAO-B 不是 OM69 的靶标。

[0901] 实施例 5

[0902] MPTP 帕金森病模型中代表性 PDE7 抑制化合物的药理学评价

[0903] 在本实施例中,在 小鼠 MPTP 帕金森病模型的初步研究中对代表性 PDE7 抑制剂 OM69(化合物 1)进行了评价。

[0904] 动物试验方案

[0905] 小鼠品系:成年雄鼠 C57BL/6J;退役种鼠,介于 7-9 月龄之间(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA),单独关养。

[0906] 处理:注射前 2 周每天对动物进行处理,以便使之适应行为测试。所有小鼠在标准 12 小时光/暗周期下喂养,并使之任意得到实验室颗粒饲料和水。

[0907] 给予 MPTP:按 15mg/kg (游离碱)的剂量,使小鼠接受 2 次甲基苯基四氢吡啶(“MPTP”)皮下注射,注射间隔为 10-12 小时。给予对照小鼠(假损伤组)盐水而不是 MPTP。

[0908] 给予 PDE7 抑制化合物:给予 MPTP 或盐水后 7 天,给予小鼠 OM69。对于各剂量,在 100% DMSO 中制备 OM69 化合物的 100x 母液,接着将 100x 稀释到磷酸缓冲盐溶液(PBS)中。然后将 $100\ \mu\text{L}$ 该 1X 溶液经腹膜内(IP)注射给药。

[0909] 之前的药代动力学研究测出,OM69 在 12 小时内清除出小鼠体内,因此可利用连续数天给予各种试验化合物,使得可从各组损伤动物获得的信息最大化。

[0910] 步长:用 MPTP 或盐水注射前,预先训练动物不停地走过清洁纸张进入其关养笼。为了评价步长,将动物的前爪放入黑色墨水中,测量在正常行走期间前爪步伐(仅直线)的长度。在完成此项任务后,立即将动物放回其关养笼中。通过测量身体同侧每步间的距离,从第一步的中趾测到第二步的足跟,求出步长。计算至少 4 步清晰步伐的平均值。

[0911] 实验方案

[0912] 雄性退役种小鼠(12-15 只/组,共约 48-60 只动物)用盐水或 $2 \times 15\text{mg/kg}$ MPTP(12 只盐水;36 只 MPTP)处理诱发帕金森病状态(Parkinsonian state)(多巴胺的神经化学性(neurochemical)丧失伴随相应的行为缺陷)。概括说明该方案的流程图见图 8。

[0913] 如图 8 所示,在第一天,测量了基线步长,然后小鼠用 MPTP($n = 9$)或用盐水进行处理作为对照($n = 10$)。在第 8 天,再次测量步长,从盐水处理动物中得到步长的对照值。在此次测量后,在第 8 天给予左旋多巴(5mg/kg)或 OM69(0.1mg/kg)进行首次治疗,见图 8。给药后 20 分钟,测量每只动物的步长。左旋多巴(5mg/kg)或 OM69(0.1mg/kg)均不改变盐水处理小鼠的步长。图 8 中所显示的给药治疗在连续几天内进行,每次给药后 20 分钟都测量了步长。如上所述,之前的药代动力学研究测出 OM69 在给药后 12 小时内由小鼠体内清除出,因此认为给药后 20 分钟进行的步长试验所测量的只是治疗当天给予的化合物的作用。

[0914] 如图 8 所示,在第 8 天,第 1 组动物用左旋多巴(5mg/kg)治疗,第 2 组动物用 OM69(0.1mg/kg)治疗。在第九天,第 1 组动物用左旋多巴(1mg/kg)治疗,第 2 组动物用 OM69(0.01mg/kg)治疗。在第十天,将治疗组交叉,第 1 组动物用 OM69(0.01mg/kg)治疗,第 2 组动物用左旋多巴(1mg/kg)治疗。

[0915] 再如图 8 所示,对于组合药物研究,将第 1 组和第 2 组中的所有小鼠合在一起。

在给予 MPTP 后第 11 天,第 1 组和第 2 组的所有动物 ($n = 9$) 用左旋多巴 (1mg/kg) 和 OM69 (0.01mg/kg) 联合治疗,在给药后 20 分钟进行了步长试验。在给予 MPTP 后第 12 天,第 1 组和第 2 组的所有动物 ($n = 9$) 用左旋多巴 (1mg/kg) 和 OM69 (0.03mg/kg) 联合治疗,在给药后 20 分钟进行了步长试验。在第 11 天和第 12 天进行的这些组合药物研究中,无法得到 9 只动物中 2 只的平均步长数据,因为这 2 只动物或者是跑动而不是按正常速度行走,或者时走时停而不是连续行走。因此,对于组合药物研究,这 2 只动物不包括在内,仅给其余 7 只动物 ($n = 7$) 评分。

[0916] 步长增加

[0917] 用于本实施例的 MPTP 模型是普遍认可的小鼠 PD 模型,本领域技术人员认为可用于预测人类 PD (Tillerson, J. L. 等, Exp. Neurol. 178(1) :80-90, 2002 ;Tillerson, J. L. 等, J. Neurosci Methods 123(2) :189-200, 2003)。

[0918] 为了评价或比较在这些剂量下 OM69 和左旋多巴的效果,将给予同等剂量的小鼠数据合并。因此,采用由所有 9 只动物中得到的测量值,求出用左旋多巴 (1mg/kg) 治疗的动物的平均步长。同样,采用由所有 9 只动物中得到的测量值,求出用 OM69 (0.01mg/kg) 治疗的动物的平均步长。本实施例所述 MPTP 研究的结果见图 9-11。

[0919] 图 9-11 是表示墨水涂染爪步长测试结果的柱状图。这些柱状图表明,代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 加大 MPTP 损伤小鼠的步长,且与左旋多巴相比,在显著较低剂量下加大步长。

[0920] 如图 9 和图 11 所示,与盐水对照比较起来,用 MPTP 处理的小鼠缩短其步长,通过从墨水涂染小鼠爪留下的足迹来测量。参见图 9 (#1 对 #4) 和图 11 (#1 对 #2)。

[0921] 如图 9 和图 10 所示,用左旋多巴治疗的 MPTP 处理小鼠以剂量依赖性方式加大其步长。参见图 9 (#4 对 #5 和 #6) 和图 10 (#1 对 #2 和 #6)。

[0922] 预料不到地测出,代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 当腹膜内给予 0.1mg/kg 时,在 MPTP 处理小鼠中具有与 50 倍高剂量的左旋多巴 (5mg/kg) 相同的加大步长的效果。如图 9 所示,在上述浓度下,左旋多巴 (#5) 和 OM69 (#7) 两者完全恢复到未用 MPTP 处理所观察到的步长 (#1)。这些结果证实了预料不到的发现结果,即用于本发明方法的代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 在与左旋多巴相比显著较低的剂量下,有效加大 MPTP 小鼠的步长。

[0923] 如图 9-11 所示,在较低的左旋多巴 (1mg/kg) (参见图 9, #6 ;图 10, #2) 或 OM69 (0.01mg/kg) (参见图 9, #8 ;图 10, #3) 剂量下,在 MPTP 处理小鼠的步长方面只观察到较小作用。然而,比起两种单独的药物所观察到的步长加大合计数,当这些较低剂量的 OM69 和左旋多巴联合给予时,步长的加大作用趋于更大。参见图 9, #9 和图 10, #4。这些结果证实,在 MPTP 受损小鼠中,按与左旋多巴相比显著较低的剂量给予代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 有效地加大步长,因此适用于旨在治疗与运动障碍病理有关的运动异常例如帕金森病的本发明方法。

[0924] 实施例 6

[0925] MPTP 帕金森病模型中代表性 PDE7 抑制化合物的药理学评价:验证性

[0926] 研究

[0927] 在本实施例中,在小鼠 MPTP 帕金森病模型中对代表性 PDE7 抑制剂 OM69 (化合物 1) 进行了评价。本研究被设计来证实实施例 5 的研究结果,并提供 OM69 效果的统计依据。

[0928] 动物试验方案。

[0929] 小鼠品系：成年雄鼠 C57BL/6J；退役种鼠，介于 7-9 月龄之间 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA)，单独关养。

[0930] 处理：注射前 2 周每天对动物进行处理，以便使之适应行为测试。所有小鼠在标准 12 小时光 / 暗周期下喂养，并使之任意得到实验室颗粒饲料和水。

[0931] 给予 MPTP：按 15mg/kg (游离碱) 的剂量，使小鼠接受 2 次甲基苯基四氢吡啶 (“MPTP”) 皮下注射，注射间隔为 10-12 小时。给予对照小鼠 (假损伤组) 盐水而不是 MPTP。

[0932] 给予 OM69 (化合物 1)：给予 MPTP/ 盐水后 7 天，给予小鼠 OM69。对于各剂量，在 100% DMSO 中制备 OM69 的 100x 母液，接着将 100x 稀释到磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 中。然后将 100 μ L 该 1X 溶液经腹膜内 (IP) 注射给药。

[0933] 步长：用 MPTP 或盐水注射前，预先训练动物不停地走过清洁纸张进入其关养笼。为了评价步长，将动物的前爪放入黑色墨水中，测量在正常行走期间前爪步伐 (仅直线) 的长度。在完成此项任务后，立即将动物放回其关养笼中。通过测量身体同侧每步间的距离，从第一步的中趾测到第二步的足跟，求出步长。计算至少 4 步清晰步伐的平均值。

[0934] 统计分析

[0935] 应用 Prism 4.0 软件对数据进行了分析。通过单向方差分析及适当时通过 Student-Newman-Keuls 事后检验对各组进行了分析。达到 $p < 0.05$ 被视为显著。表 6 中有统计差异的步长图的治疗组用字母注明。有相同字母的组没有统计差异；没有相同字母的组彼此有显著差异。

[0936] 实验方案：

[0937] 雄性退役种小鼠 (共 28 只动物) 用 2x15mg/kg MPTP (12 只盐水；36 只 MPTP) 处理诱发帕金森病状态 (多巴胺的神经化学性丧失伴随相应的行为缺陷)。概括说明该方案的流程图见图 12。在第 1 天，测量了基线步长，然后所有小鼠用 MPTP 或盐水处理。在第 8 天，再次测量步长，然后将 MPTP 处理动物随机分成两组，每组 14 只。如实施例 5 所示，在连续几天内按图 12 中规定的连续疗法给药，在每种情况下，都在给药后 20 分钟测定了步长。流程图中框内的“n”值表示在当天获得有效数据的动物的编号 (偶尔少数几只动物未能执行步行任务)。

[0938] 在第 9 天，第 1 组动物用 OM69 (0.01mg/kg) 治疗，第 2 组用左旋多巴 (1mg/kg) 治疗。在第 10 天，第 1 组动物用 OM69 (0.03mg/kg) 治疗，第 2 组用左旋多巴 (5mg/kg) 治疗。在第 11 天，第 1 组动物用 OM69 (0.05mg/kg) 治疗，第 2 组用 OM69 (0.1mg/kg) 治疗。在第 12 天，第 1 组用 OM69 (0.07mg/kg) 治疗。

[0939] 接着，对于组合药物研究，将两组合在一起。在第 14 天，所有动物均用左旋多巴 (1mg/kg) 和 OM69 (0.01mg/kg) 两者治疗。在第 15 天，所有动物用左旋多巴 (1mg/kg) 与较高剂量的 OM69 (0.03mg/kg) 联合治疗。

[0940] 结果：

[0941] 这些研究的结果概括于表 6 中，其中对用左旋多巴按两种不同剂量、用 OM69 (化合物 1) 按 5 种不同剂量、以及左旋多巴和 OM69 的联合治疗的 MPTP 处理小鼠的步长与未处理对照小鼠和未接受药物的 MPTP 处理小鼠的进行了比较。图 18 表明了这一子集的数据。

[0942] 表 6：MPTP 损伤小鼠的步长

[0943]

治疗	步长 (cm) MEAN±SEM	成功完成任务 动物的编号	字母标记
未处理	7.21±0.06	28	A
MPTP	5.68±0.09	25	B
1mg/kg 左旋多巴	5.78±0.09	13	B
5mg/kg 左旋多巴	7.29±0.07	14	A
0.01mg/kg OM69	5.77±0.17	11	B
治疗	步长 (cm) MEAN±SEM	成功完成任务 动物的编号	字母标记
0.03mg/kg OM69	5.93±0.14	14	B
0.05mg/kg OM69	6.38±0.14	13	C
0.07mg/kg OM69	6.65±0.18	13	C
0.1mg/kg OM69	7.23±0.07	14	A
1mg/kg 左旋多巴 +0.03 mg/kg OM69	6.81±0.07	26	C
1mg/kg 左旋多巴 +0.05 mg/kg OM69	7.26±0.04	25	A

[0944]

[0945] 结果讨论：

[0946] OM69 与左旋多巴的比较：

[0947] 参照表 6, 在本实验中, MPTP 引起步长显著缩短 (字母“B”与“A”)。用 1mg/kg 左旋多巴治疗不会导致步长显著加大, 但是用 5mg/kg 左旋多巴治疗使步长回复到对照 (未损伤) 值 (“A”与“A”)。用低剂量 OM69 (0.01mg/kg 或 0.03mg/kg) 治疗同样不加大步长, 但用中等剂量治疗则导致统计显著性地 ($p < 0.05$) 加大步长 (“C”与“B”)。用较高剂量 (0.1mg/kg) 的 OM69 治疗也导致统计显著性地 ($p < 0.05$) 加大步长, 而且, 使步长回复到对照 (未损伤) 值 (“A”与“A”)。这些结果证实, PDE7 抑制化合物 OM69 在恢复 MPTP 处理小鼠的步长中与左旋多巴一样有效, 而且效价强度比左旋多巴的大约 50 倍。

[0948] 联合给予 OM69 和左旋多巴：

[0949] 在本实验中还测试了 OM69 与左旋多巴的两种剂量组合。第一组合 (1mg/kg 左旋多巴加上 0.03mg/kg OM69) 引起步长统计显著性地 ($p < 0.05$) 加大 1.13cm, 大于在该剂

量下单独使用各药物时非显著性加大的总和 (0.35cm)。第 2 组合 (1mg/kg 左旋多巴加上 0.05mg/kg OM69) 同样导致步长统计显著性地 ($p < 0.05$) 加大, 而且, 使步长回复到对照 (未损伤) 值 (“A”与“A”)。这一加大的幅度 (1.58cm) 在统计上显著 ($p < 0.0001$) 大于用 0.05mg/kg OM69 的加大值加上用 1mg/kg 左旋多巴非显著性加大值 (0.8cm) 的总和, 如图 18 的图中右手侧理论累加柱所表示。这些结果强有力的表明, PDE7 抑制化合物 OM69 和左旋多巴以大于累加 (greater-than-additive) 的方式相互作用以纠正 MPTP 处理小鼠的步长。

[0950] 实施例 7

[0951] MPTP 帕金森病模型中一组代表性 PDE7 抑制化合物的药理学评价

[0952] 在本实施例中, 在小鼠 MPTP 帕金森病模型中对一组代表性 PDE7 抑制剂进行了评价, 以便检验这一假说, 即不论所用抑制剂的具体化学结构如何, 抑制 PDE7 均可改善该模型的帕金森症状, 因此, 抑制 PDE7 便足以产生所观察到的步长改进。

[0953] 动物试验方案

[0954] 小鼠品系: 成年雄鼠 C57BL/6J; 退役种鼠, 介于 7-9 月龄之间 (Charles River Laboratories, Wilmington, MA), 单独关养。相隔一周连续对 3 组共 35 只小鼠进行了试验。

[0955] 处理: 注射前 2 周每天对动物进行处理, 以便使之适应行为测试。所有小鼠在标准 12 小时光 / 暗周期下喂养, 并使之任意得到实验室颗粒饲料和水。

[0956] 给予 MPTP: 按 15mg/kg (游离碱) 的剂量, 使小鼠接受 2 次甲基苯基四氢吡啶 (“MPTP”) 皮下注射, 注射间隔为 10-12 小时。给予对照小鼠 (假损伤组) 盐水而不是 MPTP。

[0957] 步长: 用 MPTP 或盐水注射前, 预先训练动物不停地走过清洁纸张进入其关养笼。为了评价步长, 将动物的前爪放入黑色墨水中, 测量在正常行走期间前爪步伐 (仅直线) 的长度。在完成此项任务后, 立即将动物放回其关养笼中。通过测量身体同侧每步间的距离, 从第一步的中趾测到第二步的足跟, 求出步长。计算至少 4 步清晰步伐的平均值。本实验的时间表如下:

[0958] 第 0 周 -- 步伐训练任务: (至少 4 段时间)

[0959] 天 1 天 -- 采集基线步长

[0960] 第 2 天 a -- 采集第二次基线步长

[0961] 第 2 天 b -- MPTP 注射

[0962] 第 7 天 -- 采集并筛选步伐缺陷

[0963] 第 8 天 a -- 采集第二次缺陷步伐

[0964] 第 8 天 b -- 开始化合物试验

[0965] 第 9 天及以后 -- 连续几天给予不同剂量的化合物。

[0966] 给予化合物: 由于这些化合物间的水溶性在大范围内变化, 所以需要许多不同的剂型。给予 100 μ l 左旋多巴的磷酸缓冲盐溶液。对于用左旋多巴治疗的动物, 在左旋多巴治疗之前 15 分钟, 给予多巴脱羧酶抑制剂苄丝肼 (benserazide) (100 μ l 的 12.5mg/kg 溶液) 以使外周血中左旋多巴的破坏最小化。给予 OM955 (化合物 3) 和 OM056 (化合物 2) 200 μ l 二甲基乙酰胺: 聚乙二醇 400 : 0.03M 甲磺酸 (DMA : PEG : MSA-10% : 40% : 50%) 溶液。给予 200 μ l OM956 (化合物 4) 的 0.03M 酒石酸 (TA) 溶液。图 13A 和图 13B 显示, 当这些溶媒的任一种单独给予时, 不改变 MPTP 处理小鼠的步长。因此, 所观察到的治疗

效果仅是由 PDE7 抑制化合物本身引起的。对于各受试化合物,进行了初步实验以鉴定在 MPTP 模型中的最有效剂量。在某些情况下,观察到高于最佳剂量的剂量不会引起步长显著加大。在使用左旋多巴的 MPTP 处理小鼠中也观察到这种“作用过度 (overshoot)”现象,其中较低剂量改善活动减退,而较高剂量诱发反常运动或活动不受控制 (Lundblad M. 等, *Exp Neurol*. 194(1) :66-75(2005) ;Pearce R.K. 等, *Mov Disord*. 10(6) :731-40(1995) ;Fredriksson, A. 等, *Pharmacol-Toxicol*. 67(4) :295-301(1990))。

[0967] 实验方案 :

[0968] 雄性退役种小鼠用盐水或 2x15mg/kg MPTP 处理以诱发帕金森病状态 (多巴胺的神经化学性丧失伴随相应的行为缺陷)。在第 1 天,测量了基线步长,然后小鼠用 MPTP 或用盐水作为对照处理。在第 8 天,再次测量步长,从盐水处理动物中得到步长的对照值。然后将动物随机分成治疗组。对 0.1mg/kg、0.5mg/kg 和 0.1mg/kg 化合物 OM955 (化合物 3) 与 1mg/kg 左旋多巴的组合进行了测定。对 0.1mg/kg 和 0.5mg/kg 的化合物 OM956 (化合物 4) 进行了测定。对 0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.5mg/kg 和 1mg/kg 的化合物 OM056 (化合物 2) 进行了测定。

[0969] 结果 :

[0970] 本研究的结果见图 14-17。图 14 显示在 0.5mg/kg 剂量下, OM955 引起 MPTP 处理小鼠的步长呈统计显著性的改善 ($p < 0.005$, 与 MPTP 组相比)。在注射后 20 分钟和 1 小时,步长完全恢复到未损伤动物的步长。图 15A-C 证实 OM955 和左旋多巴的组合发挥出超过累加效应的作用以恢复步长。图 15A 和图 15B 分别显示,当单独给予低剂量左旋多巴 (1mg/kg) 或 OM955 (0.1mg/kg) 时不会加大步长。然而,图 15C 显示当同时给予这些低剂量时,步长完全恢复到未损伤动物的步长 ($p < 0.005$, 与 MPTP 组相比)。

[0971] 图 16 显示,剂量同样为 0.5mg/kg 的 OM956 引起 MPTP 处理动物的步长呈统计显著性的加大 ($p < 0.01$, 与 MPTP 组相比)。图 17 显示 0.05mg/kg 低剂量的 OM056 也同样引起 MPTP 处理动物的步长呈统计显著性的加大 ($p < 0.05$, 与 MPTP 组相比)。

[0972] 本实施例的结果表明,彼此在结构上不相关且结构上与 OM69 不相关的 3 种不同的 PDE7 抑制化合物,全都引起 MPTP 处理动物的步长与用 OM69 的观察结果 (见实施例 5 和实施例 6) 相同的完全恢复。由于这些化合物唯一已知的共同特征是抑制 PDE7 的能力,并且由于测试了这些化合物之一 (OM69) 与其它已知帕金森病靶标的相互作用,并发现与这些靶标无显著的相关作用,因此得出的结论是, PDE7 抑制活性在用这些化合物报告的步长改进中既是必要的又是充分的。

[0973] 虽然举例说明和描述了示例性实施方案,但是要了解的是在不偏离本发明的精神和范围的情况下,可对其作各种变动。

序列表

<110>Omeros Corporation

Bergmann, J. E.

Cutshall, N. S.

Demopulos, G. A.

Florio, V.

Gaitanaris, G.

Gray, P.

Hohman, J.

Onrust, R.

Zeng, H.

<120>THE USE OF PDE7INHIBITORS FOR THE TREATMENT OF MOVEMENT
DISORDERS

<130>OMER-1-31122

<150>US 60/920,496

<151>2007-03-27

<160>6

<170>PatentIn version 3.5

<210>1

<211>1739

<212>DNA

<213>人 (Homo sapiens)

<220>

<221>CDS

<222>(157).. (1527)

<400>1

ggggatcact gttggaaggc agctgcttga ggtccaaggc agtcagtgte ccctctcttt	60
tgccctggga cagctggtat ttatcagact cctaagaagt ttcccttgct ccctagtaga	120
agagagagat tatgcagcgg gcttttgatt gatcca atg gga att aca ttg atc	174

	Met Gly Ile Thr Leu Ile	
	1 5	
tgg tgt ctg gcc ttg gtt ctt atc aag tgg atc acc tct aag agg cgt		222
Trp Cys Leu Ala Leu Val Leu Ile Lys Trp Ile Thr Ser Lys Arg Arg		
10 15 20		
gga gct att tcc tat gac agt tct gat cag act gca tta tac att cgt		270
Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Ser Ser Asp Gln Thr Ala Leu Tyr Ile Arg		
25 30 35		
atg cta gga gat gta cgt gta agg agc cga gca gga ttt gaa tca gaa		318
Met Leu Gly Asp Val Arg Val Arg Ser Arg Ala Gly Phe Glu Ser Glu		
40 45 50		
aga aga ggt tct cac cca tat att gat ttt cgt att ttc cac tct caa		366
Arg Arg Gly Ser His Pro Tyr Ile Asp Phe Arg Ile Phe His Ser Gln		
55 60 65 70		
tct gaa att gaa gtg tct gtc tct gca agg aat atc aga agg cta cta		414
Ser Glu Ile Glu Val Ser Val Ser Ala Arg Asn Ile Arg Arg Leu Leu		
75 80 85		
agt ttc cag cga tat ctt aga tct tca cgc ttt ttt cgt ggt act gcg		462
Ser Phe Gln Arg Tyr Leu Arg Ser Ser Arg Phe Phe Arg Gly Thr Ala		
90 95 100		
gtt tca aat tcc cta aac att tta gat gat gat tat aat gga caa gcc		510
Val Ser Asn Ser Leu Asn Ile Leu Asp Asp Asp Tyr Asn Gly Gln Ala		
105 110 115		
aag tgt atg ctg gaa aaa gtt gga aat tgg aat ttt gat atc ttt cta		558
Lys Cys Met Leu Glu Lys Val Gly Asn Trp Asn Phe Asp Ile Phe Leu		
120 125 130		
ttt gat aga cta aca aat gga aat agt cta gta agc tta acc ttt cat		606
Phe Asp Arg Leu Thr Asn Gly Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Phe His		
135 140 145 150		
tta ttt agt ctt cat gga tta att gag tac ttc cat tta gat atg atg		654
Leu Phe Ser Leu His Gly Leu Ile Glu Tyr Phe His Leu Asp Met Met		
155 160 165		
aaa ctt cgt aga ttt tta gtt atg att caa gaa gat tac cac agt caa		702
Lys Leu Arg Arg Phe Leu Val Met Ile Gln Glu Asp Tyr His Ser Gln		
170 175 180		
aat cct tac cat aac gca gtc cac gct gcg gat gtt act cag gcc atg		750
Asn Pro Tyr His Asn Ala Val His Ala Ala Asp Val Thr Gln Ala Met		
185 190 195		
cac tgt tac tta aag gaa cct aag ctt gcc aat tct gta act cct tgg		798

His Cys Tyr Leu Lys Glu Pro Lys Leu Ala Asn Ser Val Thr Pro Trp	
200	205
gat atc ttg ctg agc tta att gca gct gcc act cat gat ctg gat cat	846
Asp Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ala Ala Thr His Asp Leu Asp His	
215	220
cca ggt gtt aat caa cct ttc ctt att aaa act aac cat tac ttg gca	894
Pro Gly Val Asn Gln Pro Phe Leu Ile Lys Thr Asn His Tyr Leu Ala	
235	240
act tta tac aag aat acc tca gta ctg gaa aat cac cac tgg aga tct	942
Thr Leu Tyr Lys Asn Thr Ser Val Leu Glu Asn His His Trp Arg Ser	
250	255
gca gtg ggc tta ttg aga gaa tca ggc tta ttc tca cat ctg cca tta	990
Ala Val Gly Leu Leu Arg Glu Ser Gly Leu Phe Ser His Leu Pro Leu	
265	270
gaa agc agg caa caa atg gag aca cag ata ggt gct ctg ata cta gcc	1038
Glu Ser Arg Gln Gln Met Glu Thr Gln Ile Gly Ala Leu Ile Leu Ala	
280	285
aca gac atc agt cgc cag aat gag tat ctg tct ttg ttt agg tcc cat	1086
Thr Asp Ile Ser Arg Gln Asn Glu Tyr Leu Ser Leu Phe Arg Ser His	
295	300
ttg gat aga ggt gat tta tgc cta gaa gac acc aga cac aga cat ttg	1134
Leu Asp Arg Gly Asp Leu Cys Leu Glu Asp Thr Arg His Arg His Leu	
315	320
gtt tta cag atg gct ttg aaa tgt gct gat att tgt aac cca tgt cgg	1182
Val Leu Gln Met Ala Leu Lys Cys Ala Asp Ile Cys Asn Pro Cys Arg	
330	335
acg tgg gaa tta agc aag cag tgg agt gaa aaa gta acg gag gaa ttc	1230
Thr Trp Glu Leu Ser Lys Gln Trp Ser Glu Lys Val Thr Glu Glu Phe	
345	350
ttc cat caa gga gat ata gaa aaa aaa tat cat ttg ggt gtg agt cca	1278
Phe His Gln Gly Asp Ile Glu Lys Lys Tyr His Leu Gly Val Ser Pro	
360	365
ctt tgc gat cgt cac act gaa tct att gcc aac atc cag att ggt ttt	1326
Leu Cys Asp Arg His Thr Glu Ser Ile Ala Asn Ile Gln Ile Gly Phe	
375	380
atg act tac cta gtg gag cct tta ttt aca gaa tgg gcc agg ttt tcc	1374
Met Thr Tyr Leu Val Glu Pro Leu Phe Thr Glu Trp Ala Arg Phe Ser	
395	400
aat aca agg cta tcc cag aca atg ctt gga cac gtg ggg ctg aat aaa	1422

Asn Thr Arg Leu Ser Gln Thr Met Leu Gly His Val Gly Leu Asn Lys	
410 415 420	
gcc agc tgg aag gga ctg cag aga gaa cag tcg agc agt gag gac act	1470
Ala Ser Trp Lys Gly Leu Gln Arg Glu Gln Ser Ser Ser Glu Asp Thr	
425 430 435	
gat gct gca ttt gag ttg aac tca cag tta tta cct cag gaa aat cgg	1518
Asp Ala Ala Phe Glu Leu Asn Ser Gln Leu Leu Pro Gln Glu Asn Arg	
440 445 450	
tta tca taa cccccagaac cagtgggaca aactgcctcc tggagggtttt	1567
Leu Ser	
455	
tagaaatgtg aaatggggtc ttgaggtgag agaacttaac tcttgactgc caaggtttcc	1627
aagtgagtga tgccagccag cattatattat ttccaagatt tcctctgttg gatcatttga	1687
accacattgt taattgcaag acccgaacat acagcaatat gaatttggct tt	1739

<210>2

<211>456

<212>PRT

<213> 人 (Homo sapiens)

<400>2

Met Gly Ile Thr Leu Ile Trp Cys Leu Ala Leu Val Leu Ile Lys Trp	
1 5 10 15	
Ile Thr Ser Lys Arg Arg Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Ser Ser Asp Gln	
20 25 30	
Thr Ala Leu Tyr Ile Arg Met Leu Gly Asp Val Arg Val Arg Ser Arg	
35 40 45	
Ala Gly Phe Glu Ser Glu Arg Arg Gly Ser His Pro Tyr Ile Asp Phe	
50 55 60	
Arg Ile Phe His Ser Gln Ser Glu Ile Glu Val Ser Val Ser Ala Arg	
65 70 75 80	
Asn Ile Arg Arg Leu Leu Ser Phe Gln Arg Tyr Leu Arg Ser Ser Arg	
85 90 95	
Phe Phe Arg Gly Thr Ala Val Ser Asn Ser Leu Asn Ile Leu Asp Asp	
100 105 110	
Asp Tyr Asn Gly Gln Ala Lys Cys Met Leu Glu Lys Val Gly Asn Trp	
115 120 125	
Asn Phe Asp Ile Phe Leu Phe Asp Arg Leu Thr Asn Gly Asn Ser Leu	
130 135 140	

Val Ser Leu Thr Phe His Leu Phe Ser Leu His Gly Leu Ile Glu Tyr			
145	150	155	160
Phe His Leu Asp Met Met Lys Leu Arg Arg Phe Leu Val Met Ile Gln			
165	170	175	
Glu Asp Tyr His Ser Gln Asn Pro Tyr His Asn Ala Val His Ala Ala			
180	185	190	
Asp Val Thr Gln Ala Met His Cys Tyr Leu Lys Glu Pro Lys Leu Ala			
195	200	205	
Asn Ser Val Thr Pro Trp Asp Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ala Ala			
210	215	220	
Thr His Asp Leu Asp His Pro Gly Val Asn Gln Pro Phe Leu Ile Lys			
225	230	235	240
Thr Asn His Tyr Leu Ala Thr Leu Tyr Lys Asn Thr Ser Val Leu Glu			
245	250	255	
Asn His His Trp Arg Ser Ala Val Gly Leu Leu Arg Glu Ser Gly Leu			
260	265	270	
Phe Ser His Leu Pro Leu Glu Ser Arg Gln Gln Met Glu Thr Gln Ile			
275	280	285	
Gly Ala Leu Ile Leu Ala Thr Asp Ile Ser Arg Gln Asn Glu Tyr Leu			
290	295	300	
Ser Leu Phe Arg Ser His Leu Asp Arg Gly Asp Leu Cys Leu Glu Asp			
305	310	315	320
Thr Arg His Arg His Leu Val Leu Gln Met Ala Leu Lys Cys Ala Asp			
325	330	335	
Ile Cys Asn Pro Cys Arg Thr Trp Glu Leu Ser Lys Gln Trp Ser Glu			
340	345	350	
Lys Val Thr Glu Glu Phe Phe His Gln Gly Asp Ile Glu Lys Lys Tyr			
355	360	365	
His Leu Gly Val Ser Pro Leu Cys Asp Arg His Thr Glu Ser Ile Ala			
370	375	380	
Asn Ile Gln Ile Gly Phe Met Thr Tyr Leu Val Glu Pro Leu Phe Thr			
385	390	395	400
Glu Trp Ala Arg Phe Ser Asn Thr Arg Leu Ser Gln Thr Met Leu Gly			
405	410	415	
His Val Gly Leu Asn Lys Ala Ser Trp Lys Gly Leu Gln Arg Glu Gln			
420	425	430	
Ser Ser Ser Glu Asp Thr Asp Ala Ala Phe Glu Leu Asn Ser Gln Leu			
435	440	445	
Leu Pro Gln Glu Asn Arg Leu Ser			

450	455	
<210>3		
<211>2990		
<212>DNA		
<213> 人 (Homo sapiens)		
<220>		
<221>CDS		
<222>(1).. (1275)		
<400>3		
atg gaa gtg tgt tac cag ctg ccg gta ctg ccc ctg gac agg ccg gtc		48
Met Glu Val Cys Tyr Gln Leu Pro Val Leu Pro Leu Asp Arg Pro Val		
1 5 10 15		
ccc cag cac gtc ctc agc cgc cga gga gcc atc agc ttc agc tcc agc		96
Pro Gln His Val Leu Ser Arg Arg Gly Ala Ile Ser Phe Ser Ser Ser		
20 25 30		
tcc gct ctc ttc ggc tgc ccc aat ccc cgg cag ctc tct cag agg cgt		144
Ser Ala Leu Phe Gly Cys Pro Asn Pro Arg Gln Leu Ser Gln Arg Arg		
35 40 45		
gga gct att tcc tat gac agt tct gat cag act gca tta tac att cgt		192
Gly Ala Ile Ser Tyr Asp Ser Ser Asp Gln Thr Ala Leu Tyr Ile Arg		
50 55 60		
atg cta gga gat gta cgt gta agg agc cga gca gga ttt gaa tca gaa		240
Met Leu Gly Asp Val Arg Val Arg Ser Arg Ala Gly Phe Glu Ser Glu		
65 70 75 80		
aga aga ggt tct cac cca tat att gat ttt cgt att ttc cac tct caa		288
Arg Arg Gly Ser His Pro Tyr Ile Asp Phe Arg Ile Phe His Ser Gln		
85 90 95		
tct gaa att gaa gtg tct gtc tct gca agg aat atc aga agg cta cta		336
Ser Glu Ile Glu Val Ser Val Ser Ala Arg Asn Ile Arg Arg Leu Leu		
100 105 110		
agt ttc cag cga tat ctt aga tct tca cgc ttt ttt cgt ggt act gcg		384
Ser Phe Gln Arg Tyr Leu Arg Ser Ser Arg Phe Phe Arg Gly Thr Ala		
115 120 125		
gtt tca aat tcc cta aac att tta gat gat gat tat aat gga caa gcc		432
Val Ser Asn Ser Leu Asn Ile Leu Asp Asp Asp Tyr Asn Gly Gln Ala		
130 135 140		

aag tgt atg ctg gaa aaa gtt gga aat tgg aat ttt gat atc ttt cta	480
Lys Cys Met Leu Glu Lys Val Gly Asn Trp Asn Phe Asp Ile Phe Leu	
145 150 155 160	
ttt gat aga cta aca aat gga aat agt cta gta agc tta acc ttt cat	528
Phe Asp Arg Leu Thr Asn Gly Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Phe His	
165 170 175	
tta ttt agt ctt cat gga tta att gag tac ttc cat tta gat atg atg	576
Leu Phe Ser Leu His Gly Leu Ile Glu Tyr Phe His Leu Asp Met Met	
180 185 190	
aaa ctt cgt aga ttt tta gtt atg att caa gaa gat tac cac agt caa	624
Lys Leu Arg Arg Phe Leu Val Met Ile Gln Glu Asp Tyr His Ser Gln	
195 200 205	
aat cct tac cat aac gca gtc cac gct gcg gat gtt act cag gcc atg	672
Asn Pro Tyr His Asn Ala Val His Ala Ala Asp Val Thr Gln Ala Met	
210 215 220	
cac tgt tac tta aag gaa cct aag ctt gcc aat tct gta act cct tgg	720
His Cys Tyr Leu Lys Glu Pro Lys Leu Ala Asn Ser Val Thr Pro Trp	
225 230 235 240	
gat atc ttg ctg agc tta att gca gct gcc act cat gat ctg gat cat	768
Asp Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ala Ala Thr His Asp Leu Asp His	
245 250 255	
cca ggt gtt aat caa cct ttc ctt att aaa act aac cat tac ttg gca	816
Pro Gly Val Asn Gln Pro Phe Leu Ile Lys Thr Asn His Tyr Leu Ala	
260 265 270	
act tta tac aag aat acc tca gta ctg gaa aat cac cac tgg aga tct	864
Thr Leu Tyr Lys Asn Thr Ser Val Leu Glu Asn His His Trp Arg Ser	
275 280 285	
gca gtg ggc tta ttg aga gaa tca ggc tta ttc tca cat ctg cca tta	912
Ala Val Gly Leu Leu Arg Glu Ser Gly Leu Phe Ser His Leu Pro Leu	
290 295 300	
gaa agc agg caa caa atg gag aca cag ata ggt gct ctg ata cta gcc	960
Glu Ser Arg Gln Gln Met Glu Thr Gln Ile Gly Ala Leu Ile Leu Ala	
305 310 315 320	
aca gac atc agt cgc cag aat gag tat ctg tct ttg ttt agg tcc cat	1008
Thr Asp Ile Ser Arg Gln Asn Glu Tyr Leu Ser Leu Phe Arg Ser His	
325 330 335	
ttg gat aga ggt gat tta tgc cta gaa gac acc aga cac aga cat ttg	1056
Leu Asp Arg Gly Asp Leu Cys Leu Glu Asp Thr Arg His Arg His Leu	
340 345 350	

gtt tta cag atg gct ttg aaa tgt gct gat att tgt aac cca tgt cgg	1104
Val Leu Gln Met Ala Leu Lys Cys Ala Asp Ile Cys Asn Pro Cys Arg	
355 360 365	
acg tgg gaa tta agc aag cag tgg agt gaa aaa gta acg gag gaa ttc	1152
Thr Trp Glu Leu Ser Lys Gln Trp Ser Glu Lys Val Thr Glu Glu Phe	
370 375 380	
ttc cat caa gga gat ata gaa aaa aaa tat cat ttg ggt gtg agt cca	1200
Phe His Gln Gly Asp Ile Glu Lys Lys Tyr His Leu Gly Val Ser Pro	
385 390 395 400	
ctt tgc gat cgt cac act gaa tct att gcc aac atc cag att ggt aac	1248
Leu Cys Asp Arg His Thr Glu Ser Ile Ala Asn Ile Gln Ile Gly Asn	
405 410 415	
tat aca tat tta gat ata gct ggt tag aaaaatgcc a ctgtttttat	1295
Tyr Thr Tyr Leu Asp Ile Ala Gly	
420	
caagaaggga aatatatttg aaatataaaa tattaaaatt atgctcattt ctatttttaa	1355
aaataattta agaaatttta cccttgtttt cccttgttat ggctcttcta attctcattt	1415
aatttttagga tgtaaaaagt atatttttgc agaacaggca gcagcaataa cttgtttctg	1475
ttcttatgta aataagaatc cattattcgc tcatgtggaa gcttcttttg catcatttgg	1535
gactgccatt taaaaaagga taggtaaaca aagaaatgac aaaaataaaa taaataaaat	1595
aaaaatggat aggtgggtgac ccactgagcc tgatcataat acgaagacca gcttctgcc	1655
ctgcctttcc agactcttac cactgcctgt tgattaaatc taactcttca acatcctaga	1715
caggccctta taatcttgct tcaaatgctg tgcagccatc ttgcctcaac ttccctctca	1775
tttgcctaca gcatctcggt acgcttctgt gtttcccaag tatacgtgt tctttcgctc	1835
tttgtcttc gccagtgtt tccatgtgcc tegttagatt atttttcttg aagaggcagc	1895
tcaaatgtca ctttctccag aagctgtctt ccacttgcct taggcagagt cagtcacttt	1955
tcttctagat tccaaagtgc ctgateccact tggttgtgga ttccctggagc ctagcaccac	2015
accagaagca cgaggccctt gagaactgtg tgttgagtga actaataact gtattataga	2075
aagcataatg aaaatgtcct gtgactgaag tatgtgtagc ttgttgcagg agtcacagga	2135
aagttgacta ggattgagtg tgttgggctt tgggtataaa ggagggggat tctacggggg	2195
cagtagctca acaaggaata gagggaggag tgtaattttg gtagctgggtg ttgaataggg	2255
cctttgagaa tcagactgaa cacagtgaaa tatgtgcca aagttcagaa agatgaagtt	2315
tccagaaact aagaaggtag cacaatatgt ggcatcatac tcagaaagga agaccatgcc	2375
atggggccag aaattcagaa acgtaattct tacattgtga ttgcaatgga tactcatgaa	2435
agaaagtggg tagtggccga tttgccttca gactgacagg tagagaaggg aagagcgtgt	2495
agaactgtgg ccatacttta ggagtgtgag ggatgctgaa tctcccagag agtcacact	2555
ggccaggaat gctgagagta gcagatgctt ttcttttggg aggatagtaa aacaatttag	2615
aaccagatat gctttgtctt gattctcaag tagaataatc ttcaaatgca aaagaataca	2675
ttagaaatgg acaaaagtgg ccaggagcgg tagctcatac ttgtaacca gcactttggg	2735

101

210	215	220	
His Cys Tyr Leu Lys Glu Pro Lys Leu Ala Asn Ser Val Thr Pro Trp			
225	230	235	240
Asp Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ala Ala Thr His Asp Leu Asp His			
	245	250	255
Pro Gly Val Asn Gln Pro Phe Leu Ile Lys Thr Asn His Tyr Leu Ala			
	260	265	270
Thr Leu Tyr Lys Asn Thr Ser yal Leu Glu Asn His His Trp Arg Ser			
	275	280	285
Ala Val Gly Leu Leu Arg Glu Ser Gly Leu Phe Ser His Leu Pro Leu			
	290	295	300
Glu Ser Arg Gln Gln Met Glu Thr Gln Ile Gly Ala Leu Ile Leu Ala			
305	310	315	320
Thr Asp Ile Ser Arg Gln Asn Glu Tyr Leu Ser Leu Phe Arg Ser His			
	325	330	335
Leu Asp Arg Gly Asp Leu Cys Leu Glu Asp Thr Arg His Arg His Leu			
	340	345	350
Val Leu Gln Met Ala Leu Lys Cys Ala Asp Ile Cys Asn Pro Cys Arg			
	355	360	365
Thr Trp Glu Leu Ser Lys Gln Trp Ser Glu Lys Val Thr Glu Glu Phe			
	370	375	380
Phe His Gln Gly Asp Ile Glu Lys Lys Tyr His Leu Gly Val Ser Pro			
385	390	395	400
Leu Cys Asp Arg His Thr Glu Ser Ile Ala Asn Ile Gln Ile Gly Asn			
	405	410	415
Tyr Thr Tyr Leu Asp Ile Ala Gly			
	420		

<210>5

<211>2100

<212>DNA

<213> 人 (Homo sapiens)

<220>

<221>CDS

<222>(304).. (1656)

<400>5

cagtcagttg gtctgggcac tgcagcaggc tgggtctgtg cccagcactt gtctgggaga

60

aaagtgggtgt tactcaccca gggagagtct ctctttctac cttecttctt tctcgatctc	120
cttgtgtgct tttgtgtttc tttatttctt ttcttttttt ttcttttttt ttttttgta	180
cttaattata ttctaatec tggatgaagt tgctggattc tgcagcacia gtcttcatga	240
acaagcagca ccgctcagag atttcacggc attcaaaggt cacagaactg ccactatggt	300
taa atg tct tgt tta atg gtt gag agg tgt ggc gaa atc ttg ttt gag	348
Met Ser Cys Leu Met Val Glu Arg Cys Gly Glu Ile Leu Phe Glu	
1 5 10 15	
aac ccc gat cag aat gcc aaa tgt gtt tgc atg ctg gga gat ata cga	396
Asn Pro Asp Gln Asn Ala Lys Cys Val Cys Met Leu Gly Asp Ile Arg	
20 25 30	
cta agg ggt cag acg ggg gtt cgt gct gaa cgc cgt ggc tcc tac cca	444
Leu Arg Gly Gln Thr Gly Val Arg Ala Glu Arg Arg Gly Ser Tyr Pro	
35 40 45	
ttc att gac ttc cgc cta ctt aac agt aca aca tac tca ggg gag att	492
Phe Ile Asp Phe Arg Leu Leu Asn Ser Thr Thr Tyr Ser Gly Glu Ile	
50 55 60	
ggc acc aag aaa aag gtg aaa aga cta tta agc ttt caa aga tac ttc	540
Gly Thr Lys Lys Lys Val Lys Arg Leu Leu Ser Phe Gln Arg Tyr Phe	
65 70 75	
cat gca tca agg ctg ctt cgt gga att ata cca caa gcc cct ctg cac	588
His Ala Ser Arg Leu Leu Arg Gly Ile Ile Pro Gln Ala Pro Leu His	
80 85 90 95	
ctg ctg gat gaa gac tac ctt gga caa gca agg cat atg ctc tcc aaa	636
Leu Leu Asp Glu Asp Tyr Leu Gly Gln Ala Arg His Met Leu Ser Lys	
100 105 110	
gtg gga atg tgg gat ttt gac att ttc ttg ttt gat cgc ttg aca aat	684
Val Gly Met Trp Asp Phe Asp Ile Phe Leu Phe Asp Arg Leu Thr Asn	
115 120 125	
gga aac agc ctg gta aca ctg ttg tgc cac ctc ttc aat acc cat gga	732
Gly Asn Ser Leu Val Thr Leu Leu Cys His Leu Phe Asn Thr His Gly	
130 135 140	
ctc att cac cat ttc aag tta gat atg gtg acc tta cac cga ttt tta	780
Leu Ile His His Phe Lys Leu Asp Met Val Thr Leu His Arg Phe Leu	
145 150 155	
gtc atg gtt caa gaa gat tac cac agc caa aac ccg tat cac aat gct	828
Val Met Val Gln Glu Asp Tyr His Ser Gln Asn Pro Tyr His Asn Ala	
160 165 170 175	
gtt cac gca gcc gac gtc acc cag gcc atg cac tgc tac ctg aaa gag	876
Val His Ala Ala Asp Val Thr Gln Ala Met His Cys Tyr Leu Lys Glu	

180	185	190	
cca aag ctt gcc agc ttc ctc acg cct ctg gac atc atg ctt gga ctg			924
Pro Lys Leu Ala Ser Phe Leu Thr Pro Leu Asp Ile Met Leu Gly Leu			
195	200	205	
ctg gct gca gca gca cac gat gtg gac cac cca ggg gtg aac cag cca			972
Leu Ala Ala Ala Ala His Asp Val Asp His Pro Gly Val Asn Gln Pro			
210	215	220	
ttt ttg ata aaa act aac cac cat ctt gca aac cta tat cag aat atg			1020
Phe Leu Ile Lys Thr Asn His His Leu Ala Asn Leu Tyr Gln Asn Met			
225	230	235	
tct gtg ctg gag aat cat cac tgg cga tct aca att ggc atg ctt cga			1068
Ser Val Leu Glu Asn His His Trp Arg Ser Thr Ile Gly Met Leu Arg			
240	245	250	255
gaa tca agg ctt ctt gct cat ttg cca aag gaa atg aca cag gat att			1116
Glu Ser Arg Leu Leu Ala His Leu Pro Lys Glu Met Thr Gln Asp Ile			
260	265	270	
gaa cag cag ctg ggc tcc ttg atc ttg gca aca gac atc aac agg cag			1164
Glu Gln Gln Leu Gly Ser Leu Ile Leu Ala Thr Asp Ile Asn Arg Gln			
275	280	285	
aat gaa ttt ttg acc aga ttg aaa gct cac ctc cac aat aaa gac tta			1212
Asn Glu Phe Leu Thr Arg Leu Lys Ala His Leu His Asn Lys Asp Leu			
290	295	300	
aga ctg gag gat gca cag gac agg cac ttt atg ctt cag atc gcc ttg			1260
Arg Leu Glu Asp Ala Gln Asp Arg His Phe Met Leu Gln Ile Ala Leu			
305	310	315	
aag tgt gct gac att tgc aat cct tgt aga atc tgg gag atg agc aag			1308
Lys Cys Ala Asp Ile Cys Asn Pro Cys Arg Ile Trp Glu Met Ser Lys			
320325330335			
cag tgg agt gaa agg gtc tgt gaa gaa ttc tac agg caa ggt gaa ctt			1356
Gln Trp Ser Glu Arg Val Cys Glu Glu Phe Tyr Arg Gln Gly Glu Leu			
340	345	350	
gaa cag aaa ttt gaa ctg gaa atc agt cct ctt tgt aat caa cag aaa			1404
Glu Gln Lys Phe Glu Leu Glu Ile Ser Pro Leu Cys Asn Gln Gln Lys			
355	360	365	
gat tcc atc cct agt ata caa att ggt ttc atg agc tac atc gtg gag			1452
Asp Ser Ile Pro Ser Ile Gln Ile Gly Phe Met Ser Tyr Ile Val Glu			
370	375	380	
ccg ctc ttc cgg gaa tgg gcc cat ttc acg ggt aac agc acc ctg tcg			1500
Pro Leu Phe Arg Glu Trp Ala His Phe Thr Gly Asn Ser Thr Leu Ser			

385	390	395	
gag aac atg ctg ggc cac ctc gca cac aac aag gcc cag tgg aag agc			1548
Glu Asn Met Leu Gly His Leu Ala His Asn Lys Ala Gln Trp Lys Ser			
400	405	410	415
ctg ttg ccc agg cag cac aga agc agg ggc agc agt ggc agc ggg cct			1596
Leu Leu Pro Arg Gln His Arg Ser Arg Gly Ser Ser Gly Ser Gly Pro			
420	425	430	
gac cac gac cac gca ggc caa ggg act gag agc gag gag cag gaa ggc			1644
Asp His Asp His Ala Gly Gln Gly Thr Glu Ser Glu Glu Gln Glu Gly			
435	440	445	
gac agc ccc tag gggccggccc aacttagacg cggtctctcct ccggcagggc			1696
Asp Ser Pro			
450			
ccccagaggg cagaagcagc gtggagggggc cctcacgcag cagcccagcc actttctgag			1756
tgtttgtcctg gggctctttg gaacgccatc ttcctccac ttacctgcct cccctccttt			1816
tcgcaaatgt acagaagcca ttgttcacct cagcattcgc tgccgaaatg agcaactcca			1876
ttcagtaacg tgggagctga tcccacgggc aggtctctcc tgctccagga gaagactagg			1936
aggaagaatg aggtgtctct gccgtgtccg ccttgttccg ggtcgcactg gaacaggcag			1996
caattcctaa gtccggagcg tttagcgtt tgctatctga ctgctgatct gcgtgacaga			2056
aacaccagca tatttgcaac gccaaggata ttggtcttaa gtgc			2100

<210>6

<211>450

<212>PRT

<213> 人 (Homo sapiens)

<400>6

Met Ser Cys Leu Met Val Glu Arg Cys Gly Glu Ile Leu Phe Glu Asn			
1	5	10	15
Pro Asp Gln Asn Ala Lys Cys Val Cys Met Leu Gly Asp Ile Arg Leu			
20	25	30	
Arg Gly Gln Thr Gly Val Arg Ala Glu Arg Arg Gly Ser Tyr Pro Phe			
35	40	45	
Ile Asp Phe Arg Leu Leu Asn Ser Thr Thr Tyr Ser Gly Glu Ile Gly			
50	55	60	
Thr Lys Lys Lys Val Lys Arg Leu Leu Ser Phe Gln Arg Tyr Phe His			
65	70	75	80
Ala Ser Arg Leu Leu Arg Gly Ile Ile Pro Gln Ala Pro Leu His Leu			
85	90	95	

Leu Asp Glu Asp Tyr Leu Gly Gln Ala Arg His Met Leu Ser Lys Val		
100	105	110
Gly Met Trp Asp Phe Asp Ile Phe Leu Phe Asp Arg Leu Thr Asn Gly		
115	120	125
Asn Ser Leu Val Thr Leu Leu Cys His Leu Phe Asn Thr His Gly Leu		
130	135	140
Ile His His Phe Lys Leu Asp Met Val Thr Leu His Arg Phe Leu Val		
145	150	155
Met Val Gln Glu Asp Tyr His Ser Gln Asn Pro Tyr His Asn Ala Val		
165	170	175
His Ala Ala Asp Val Thr Gln Ala Met His Cys Tyr Leu Lys Glu Pro		
180	185	190
Lys Leu Ala Ser Phe Leu Thr Pro Leu Asp Ile Met Leu Gly Leu Leu		
195	200	205
Ala Ala Ala Ala His Asp Val Asp His Pro Gly Val Asn Gln Pro Phe		
210	215	220
Leu Ile Lys Thr Asn His His Leu Ala Asn Leu Tyr Gln Asn Met Ser		
225	230	235
Val Leu Glu Asn His His Trp Arg Ser Thr Ile Gly Met Leu Arg Glu		
245	250	255
Ser Arg Leu Leu Ala His Leu Pro Lys Glu Met Thr Gln Asp Ile Glu		
260	265	270
Gln Gln Leu Gly Ser Leu Ile Leu Ala Thr Asp Ile Asn Arg Gln Asn		
275	280	285
Glu Phe Leu Thr Arg Leu Lys Ala His Leu His Asn Lys Asp Leu Arg		
290	295	300
Leu Glu Asp Ala Gln Asp Arg His Phe Met Leu Gln Ile Ala Leu Lys		
305	310	315
Cys Ala Asp Ile Cys Asn Pro Cys Arg Ile Trp Glu Met Ser Lys Gln		
325	330	335
Trp Ser Glu Arg Val Cys Glu Glu Phe Tyr Arg Gln Gly Glu Leu Glu		
340	345	350
Gln Lys Phe Glu Leu Glu Ile Ser Pro Leu Cys Asn Gln Gln Lys Asp		
355	360	365
Ser Ile Pro Ser Ile Gln Ile Gly Phe Met Ser Tyr Ile Val Glu Pro		
370	375	380
Leu Phe Arg Glu Trp Ala His Phe Thr Gly Asn Ser Thr Leu Ser Glu		
385	390	395
Asn Met Leu Gly His Leu Ala His Asn Lys Ala Gln Trp Lys Ser Leu		

405	410	415
Leu Pro Arg Gln His Arg Ser Arg Gly Ser Ser Gly Ser Gly Pro Asp		
420	425	430
His Asp His Ala Gly Gln Gly Thr Glu Ser Glu Glu Gln Glu Gly Asp		
435	440	445
Ser Pro		
450		

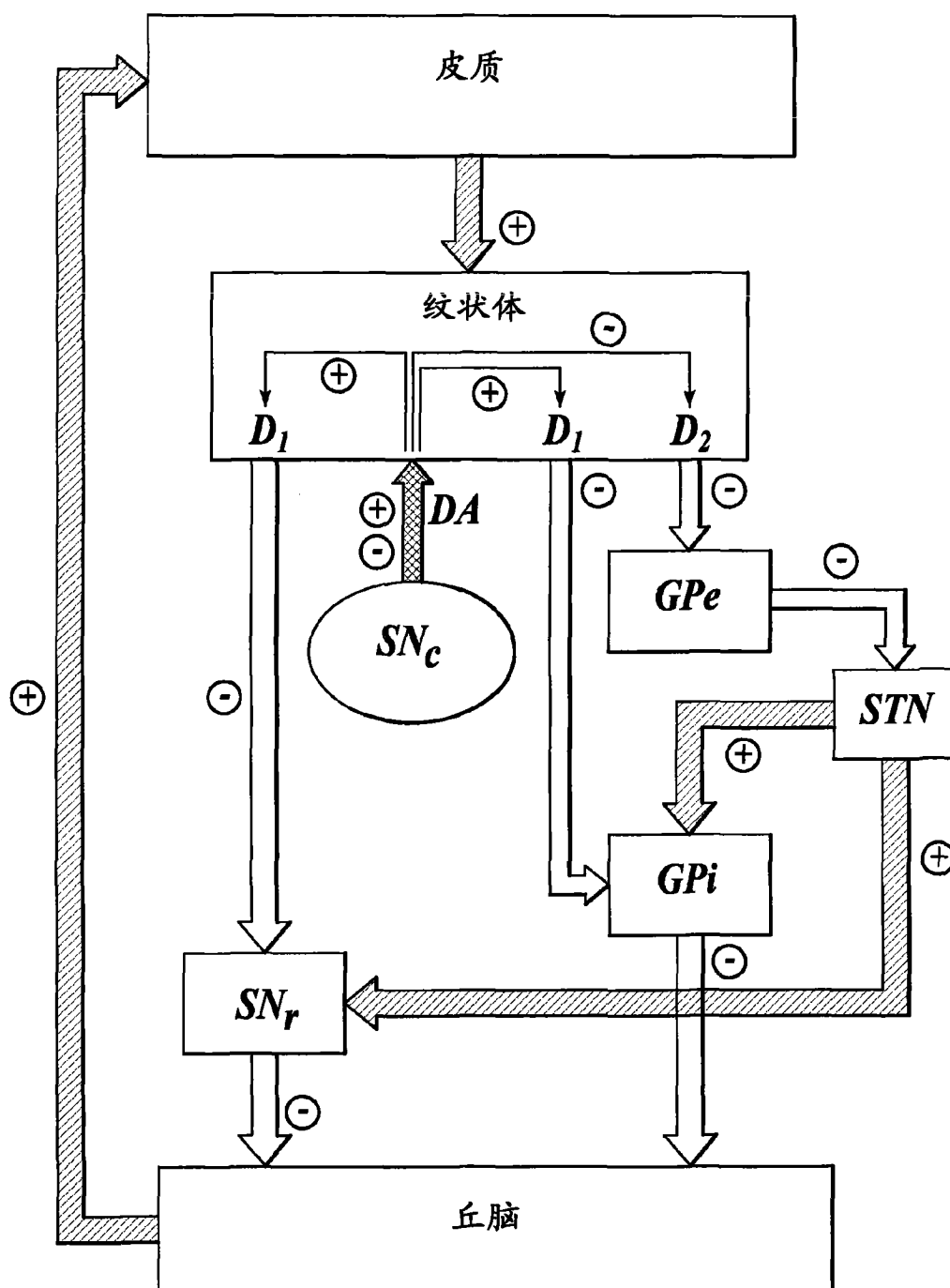


图 1

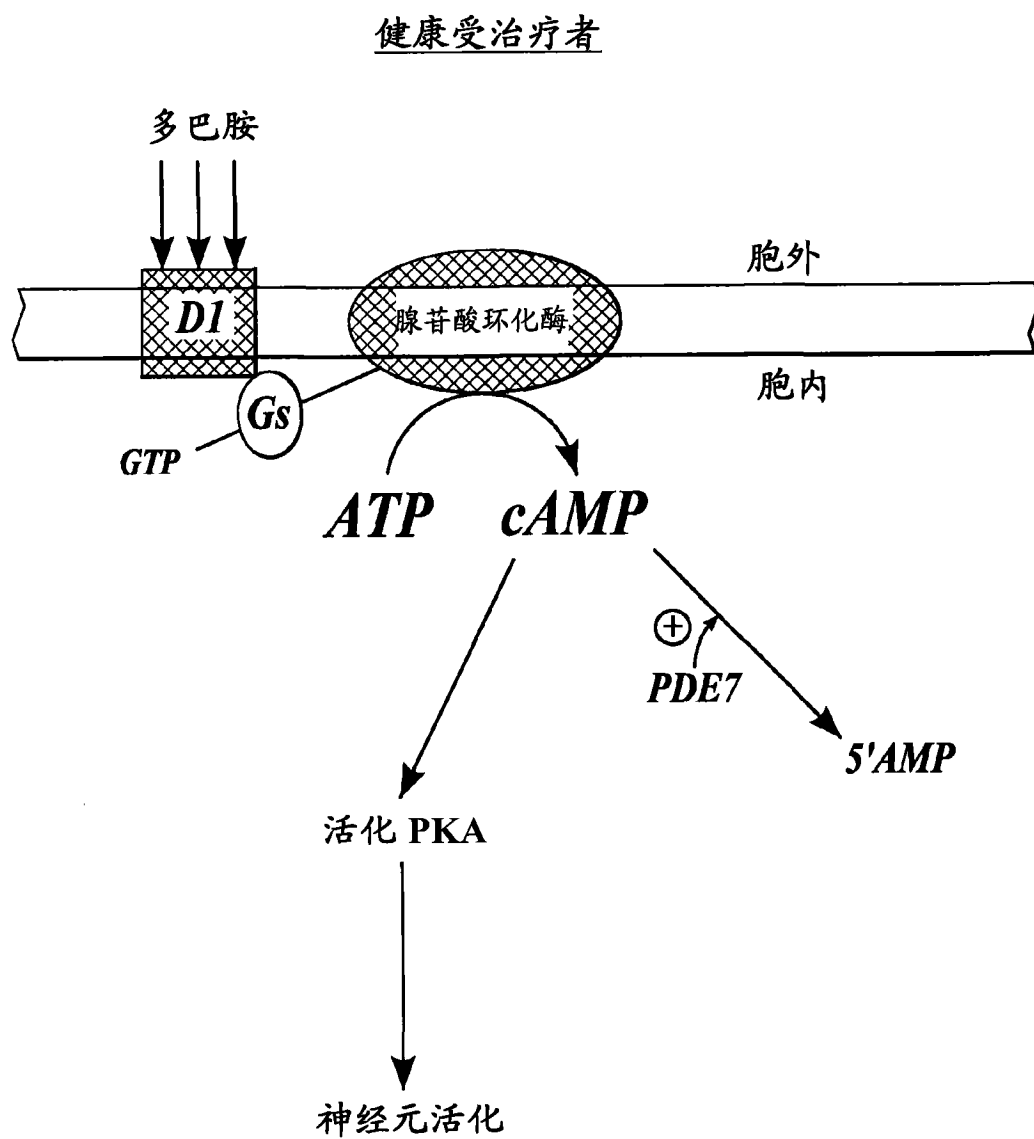


图 2A

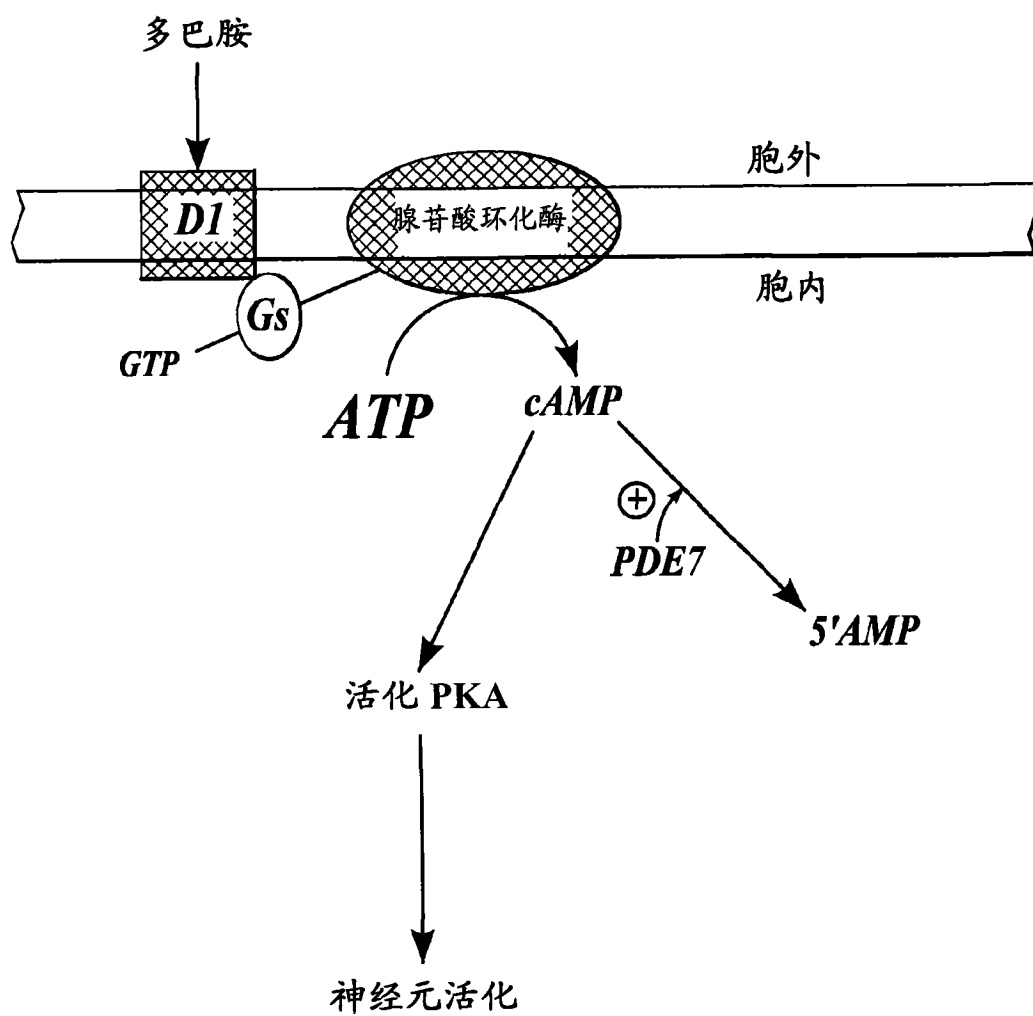
未经治疗的帕金森病

图 2B

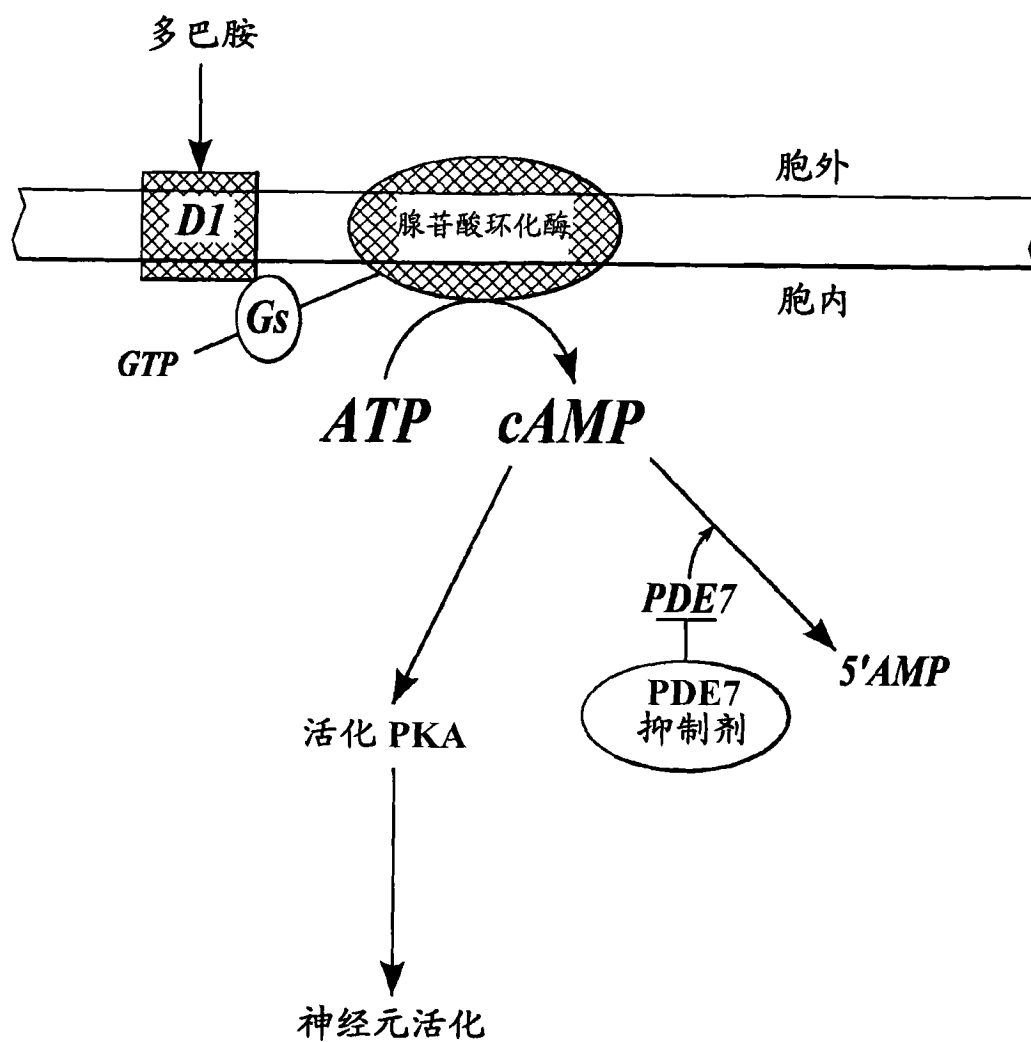
用 PDE7 抑制剂治疗的帕金森病

图 2C

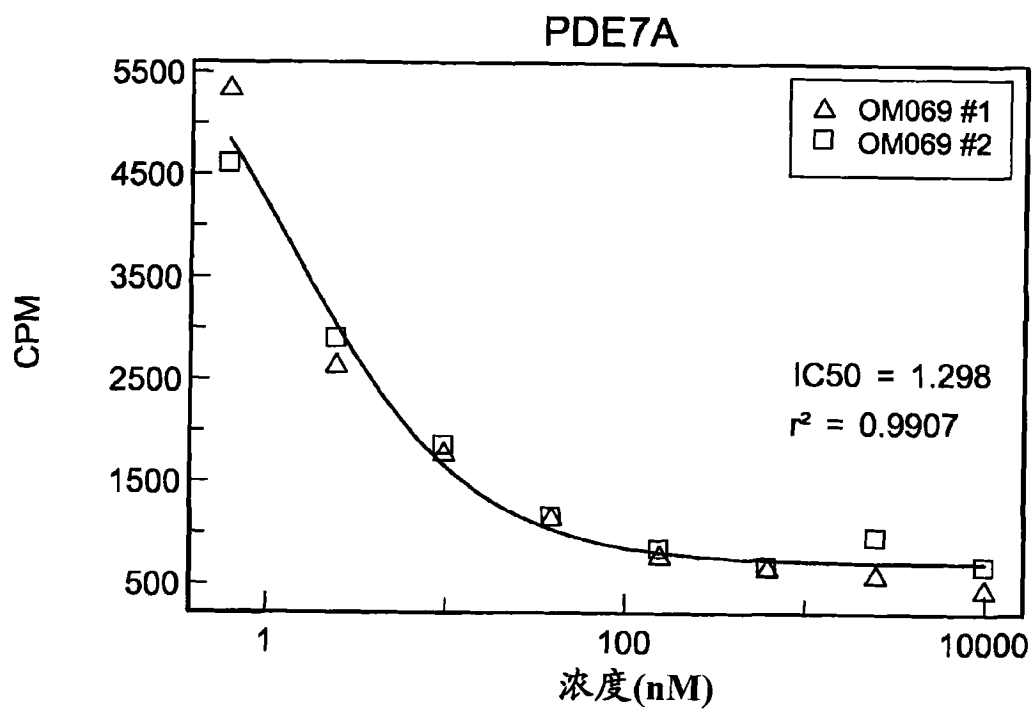


图 3A

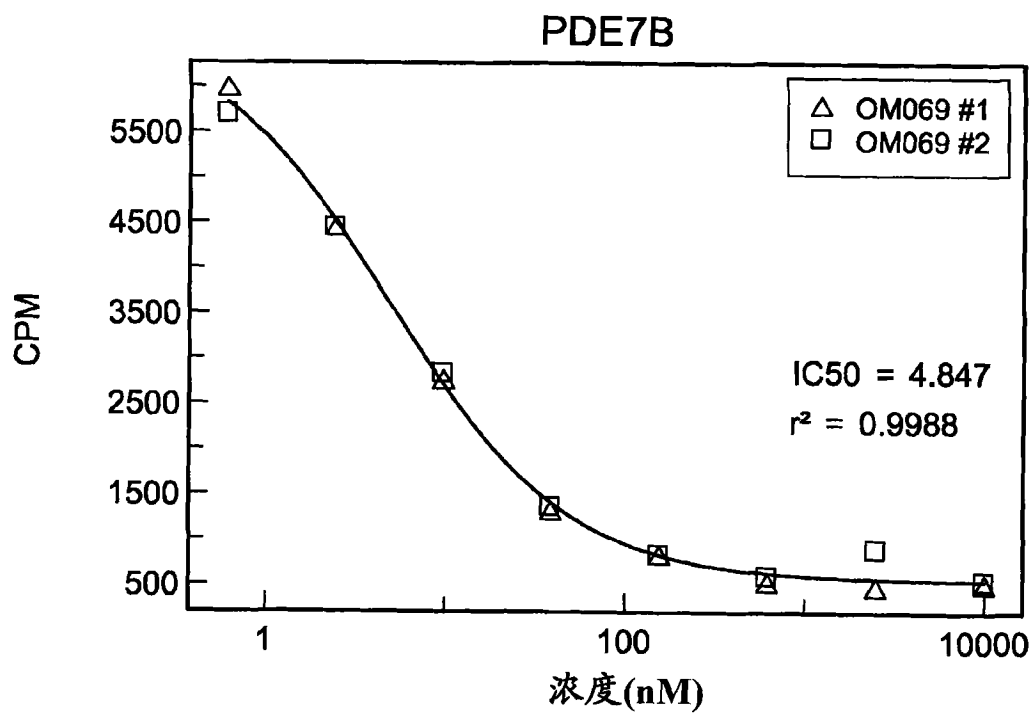


图 3B

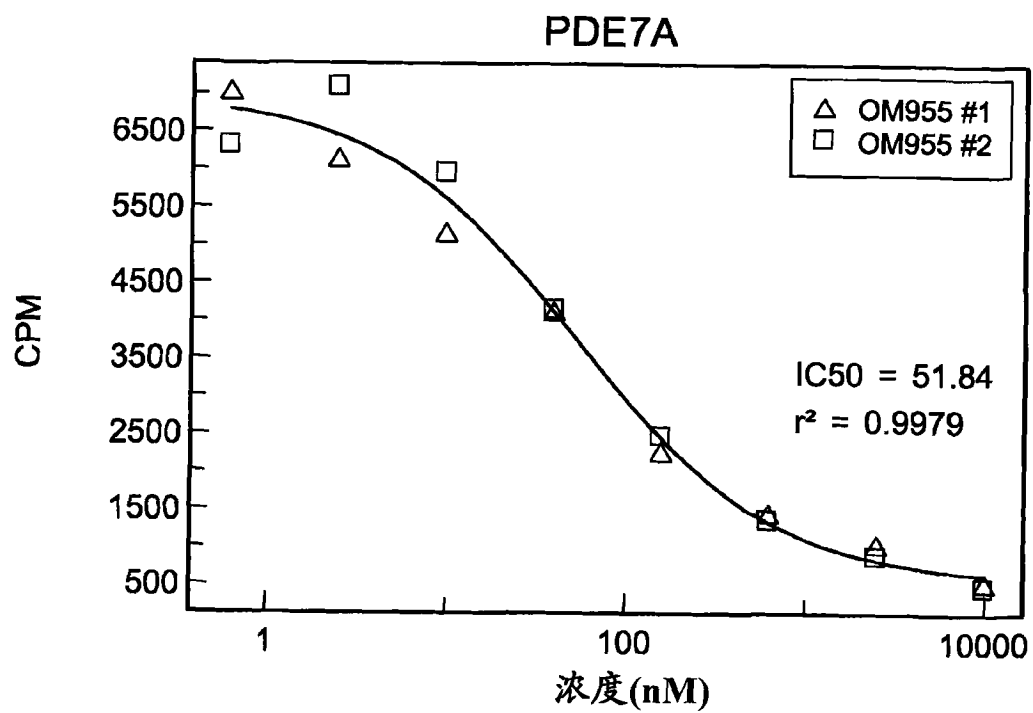


图 4A

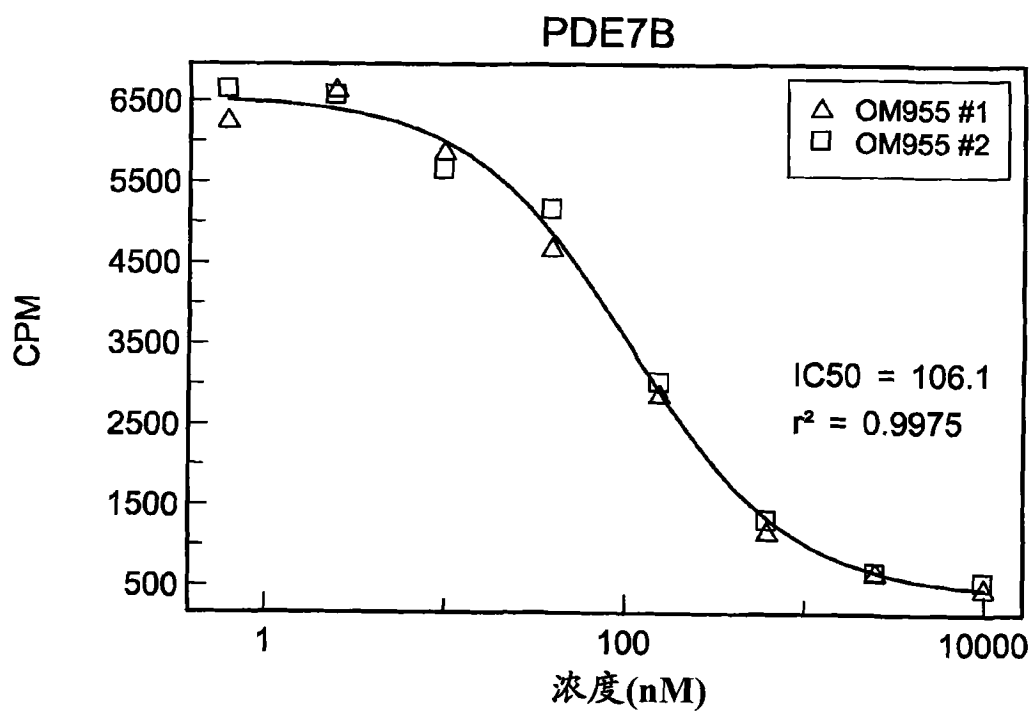


图 4B

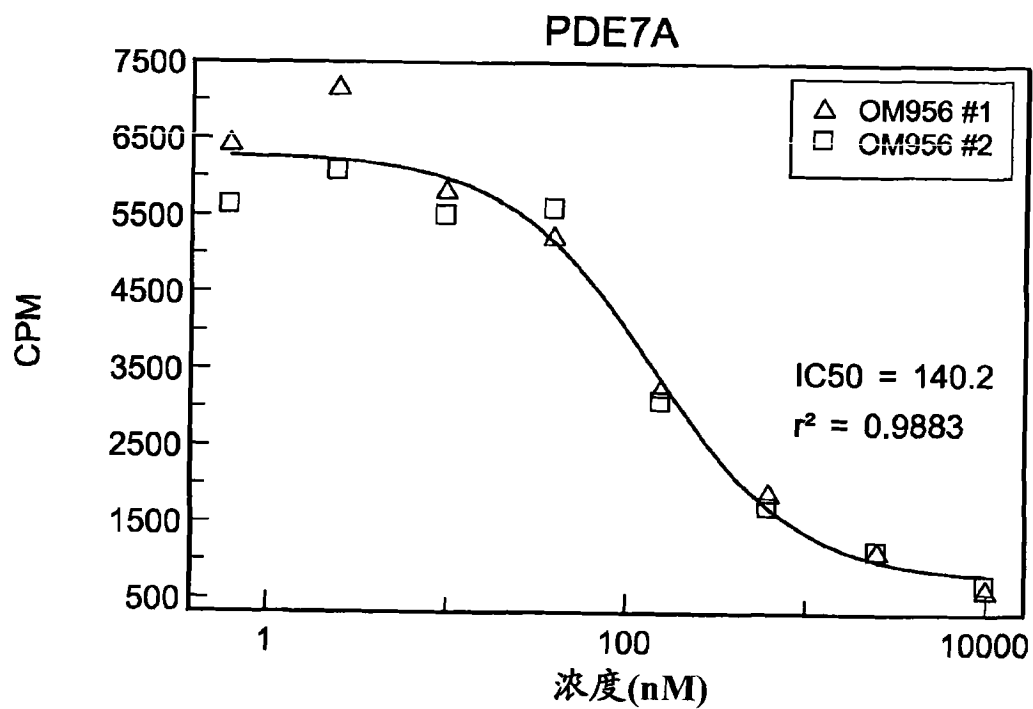


图 5A

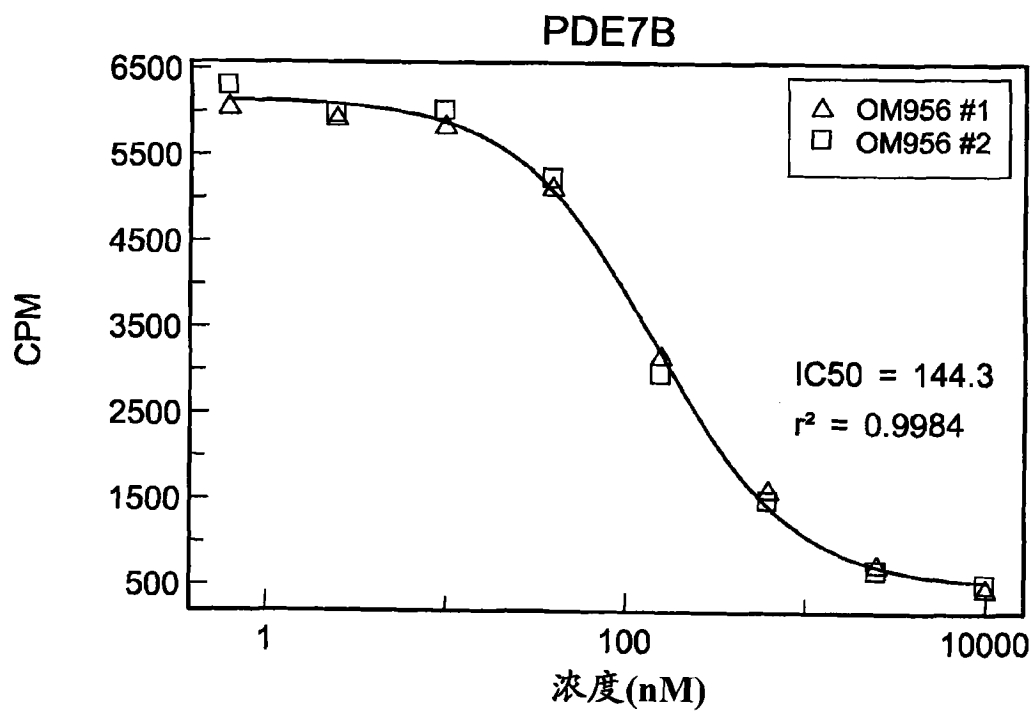


图 5B

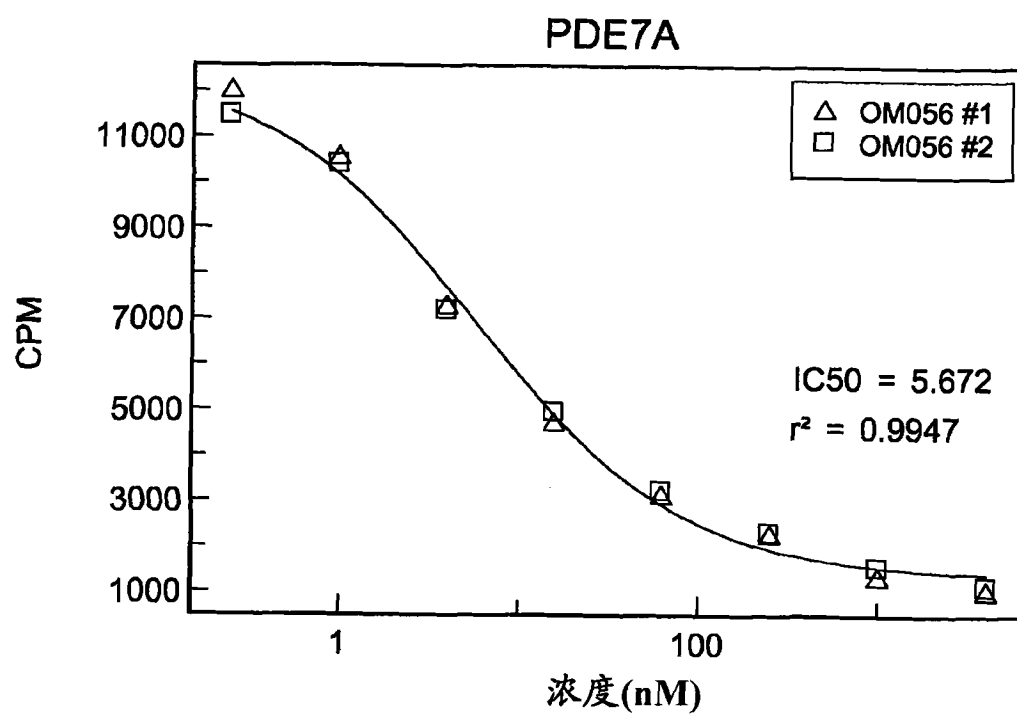


图 6A

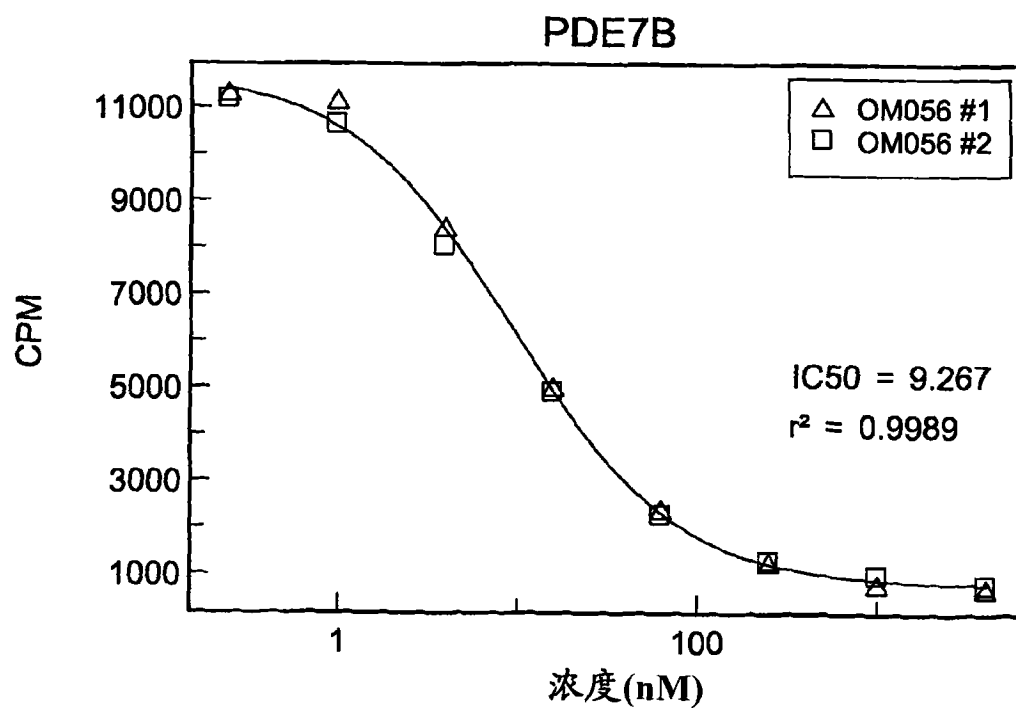


图 6B

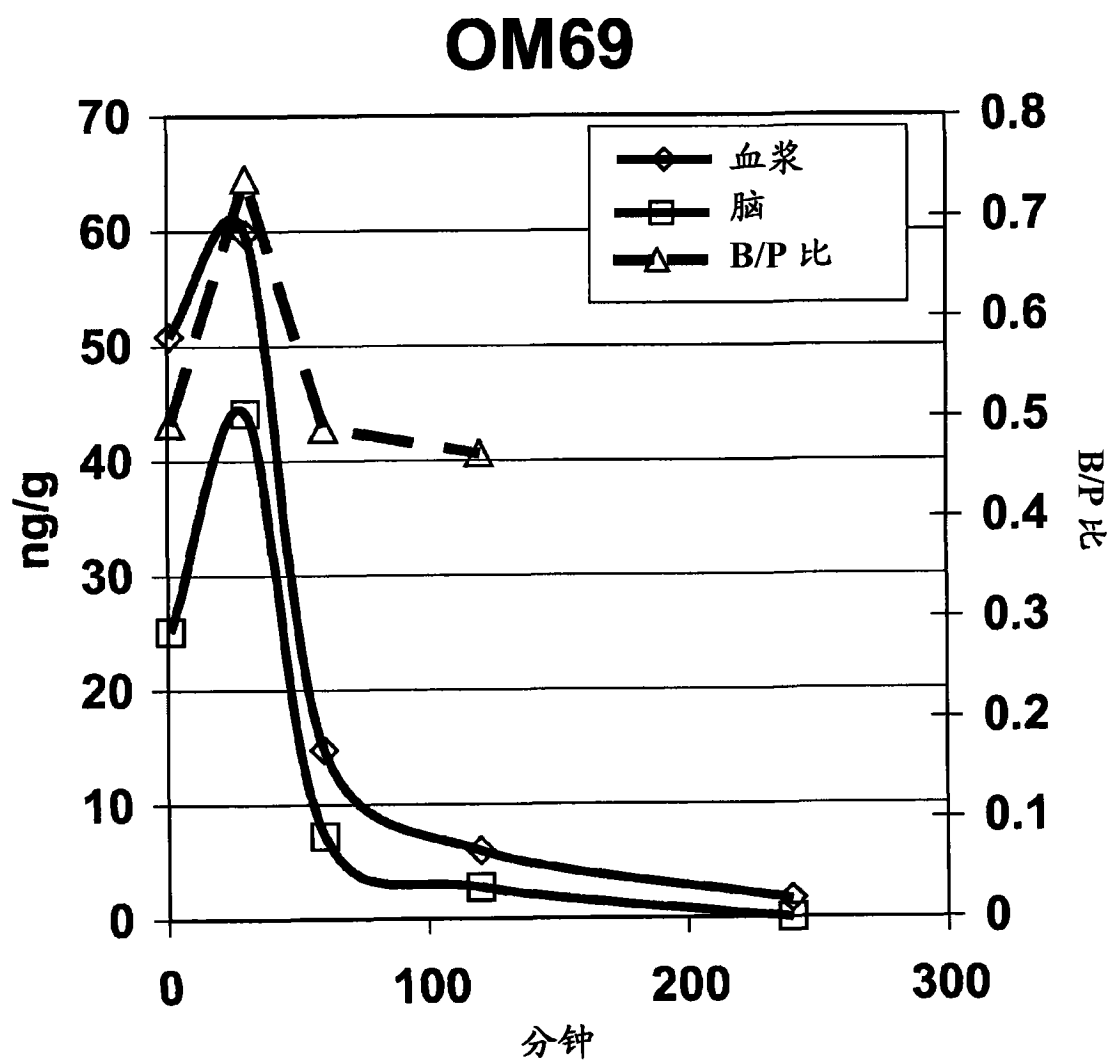


图 7

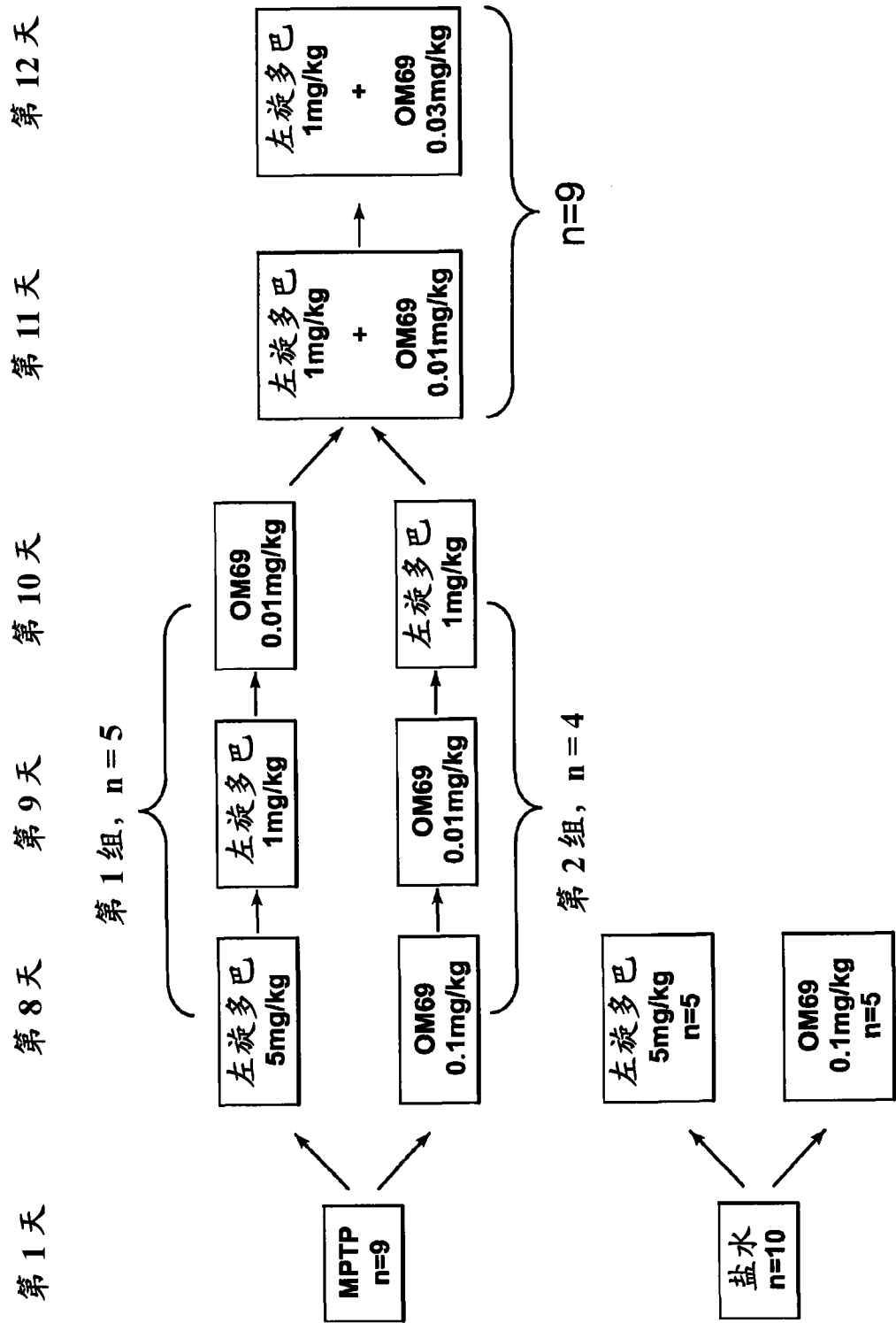


图 8

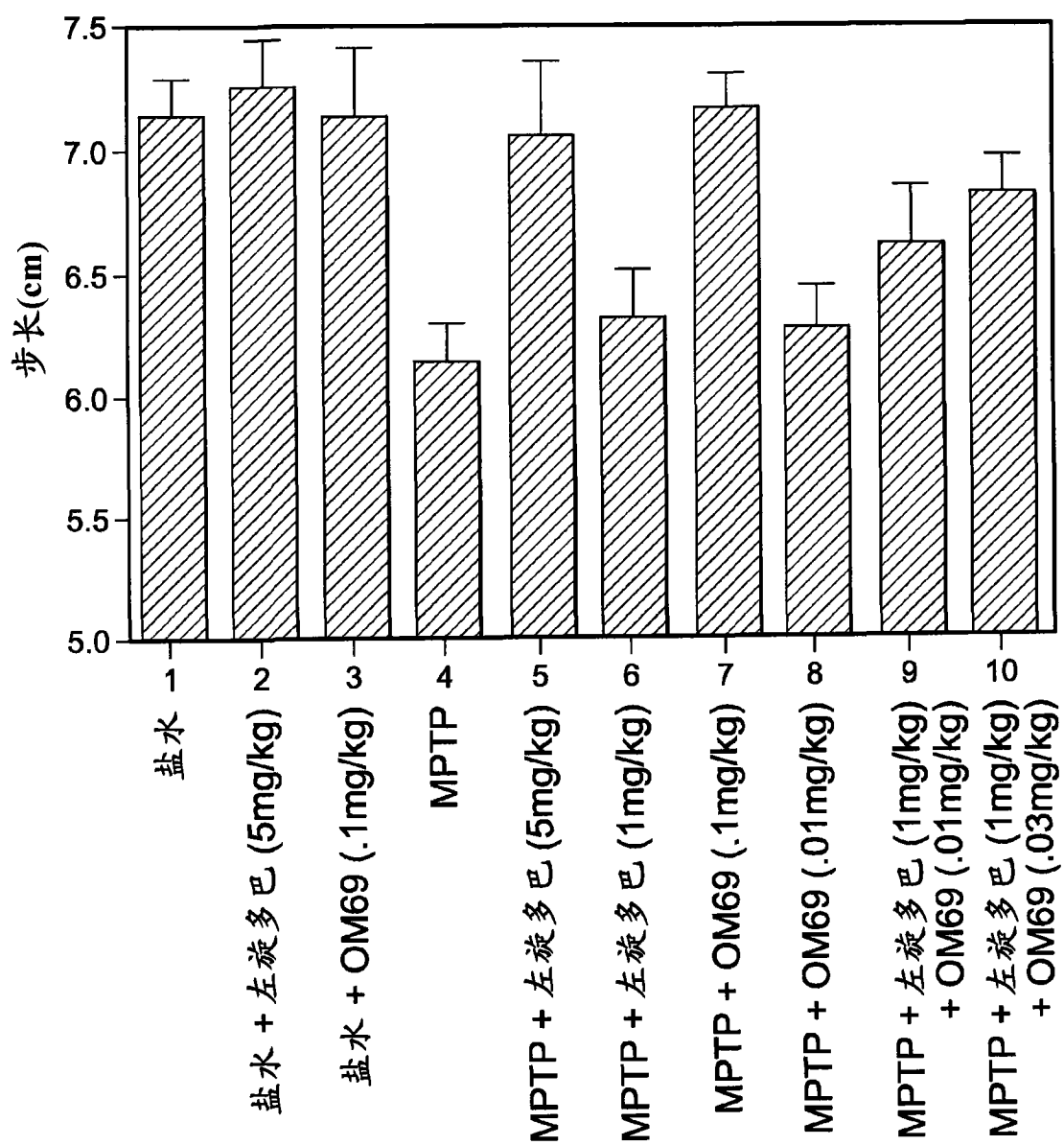


图 9

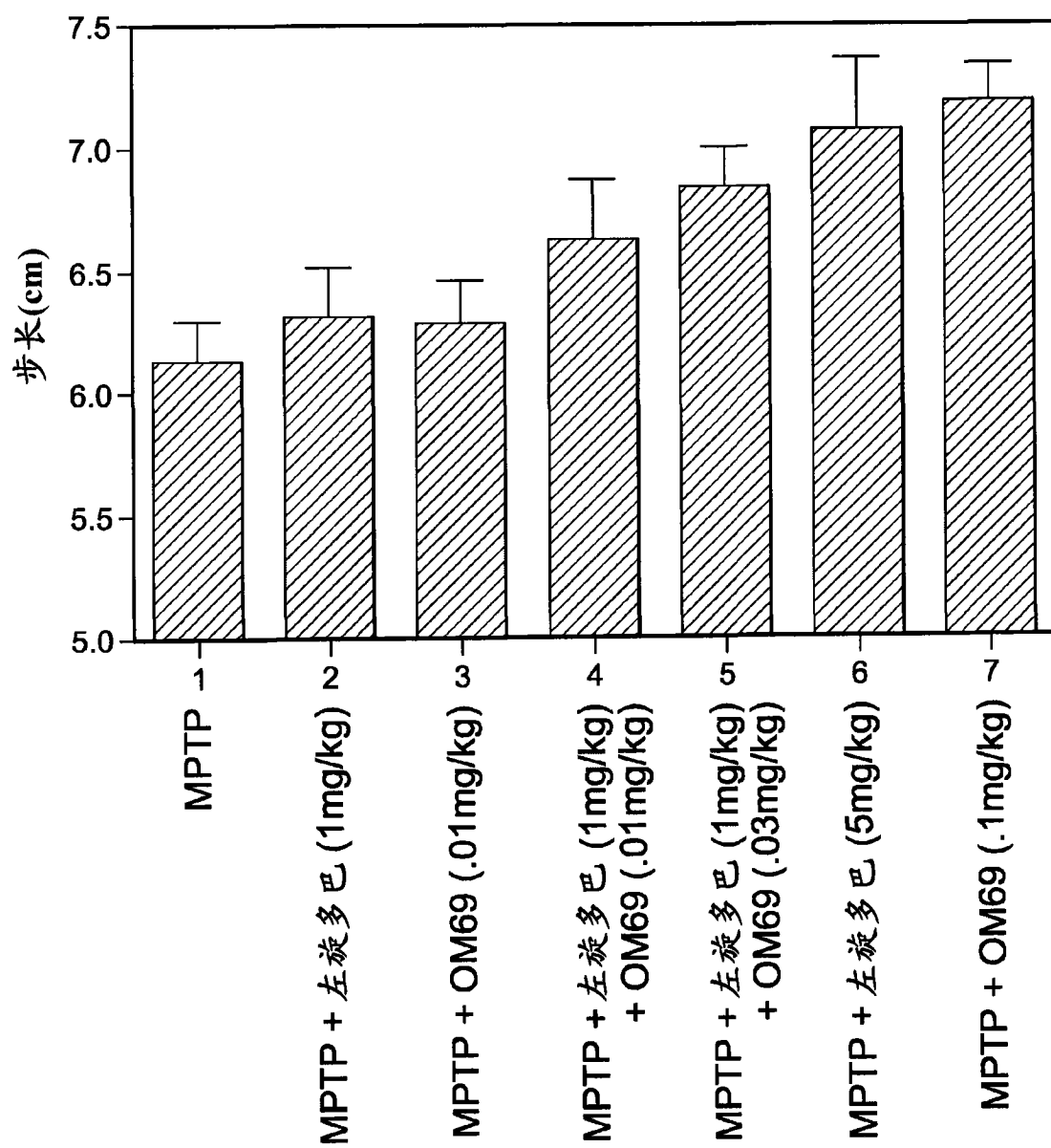


图 10

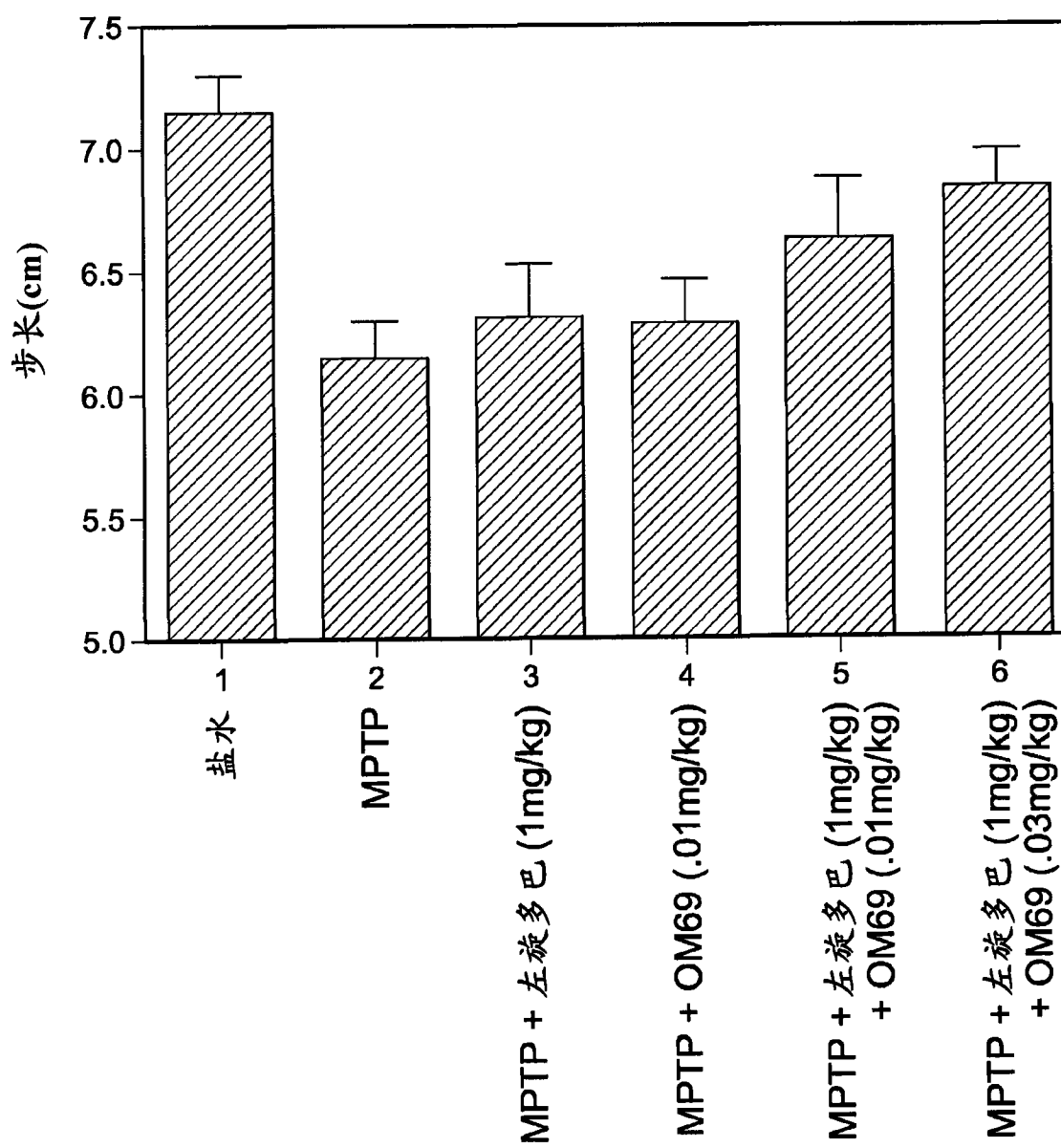


图 11

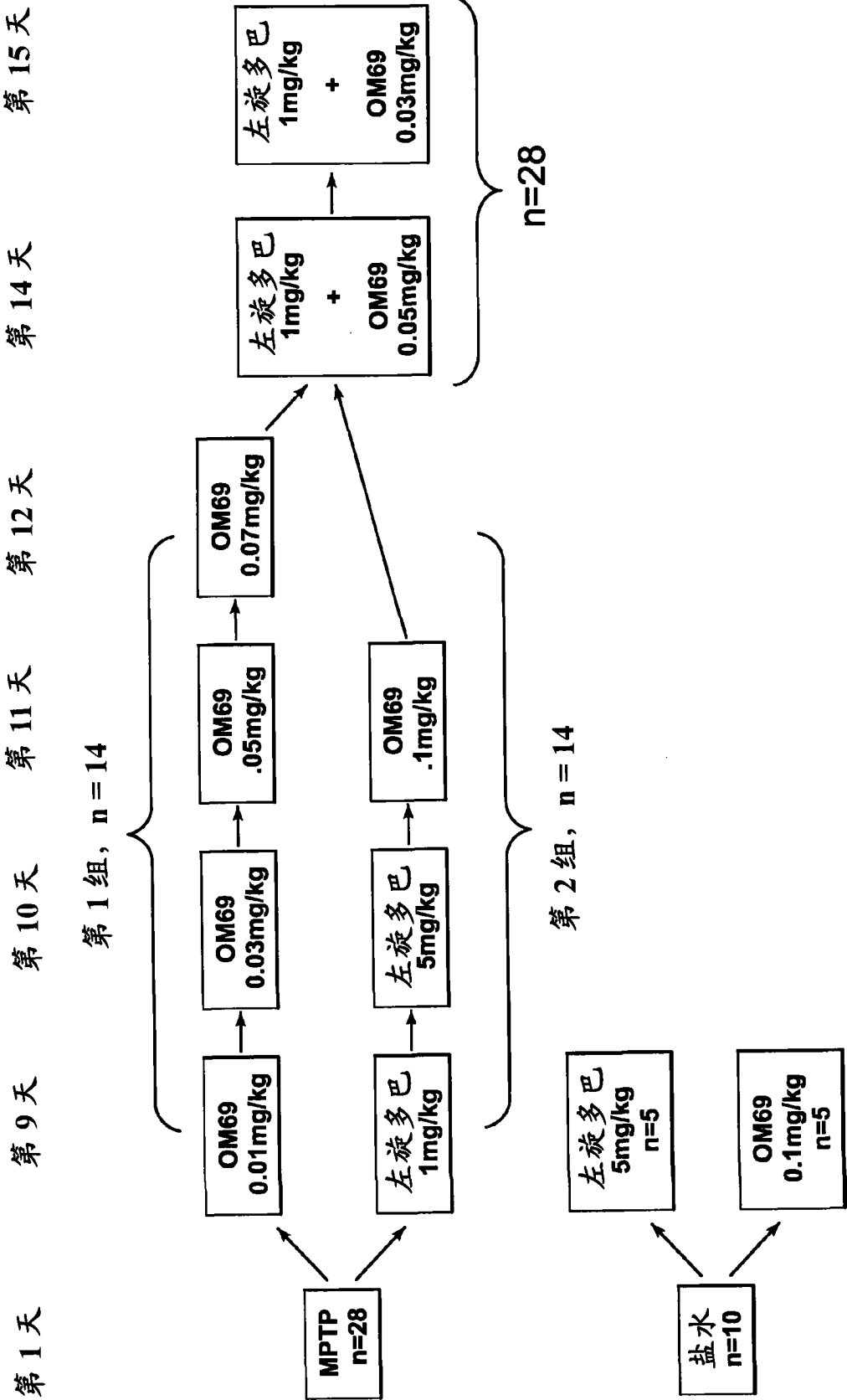


图 12

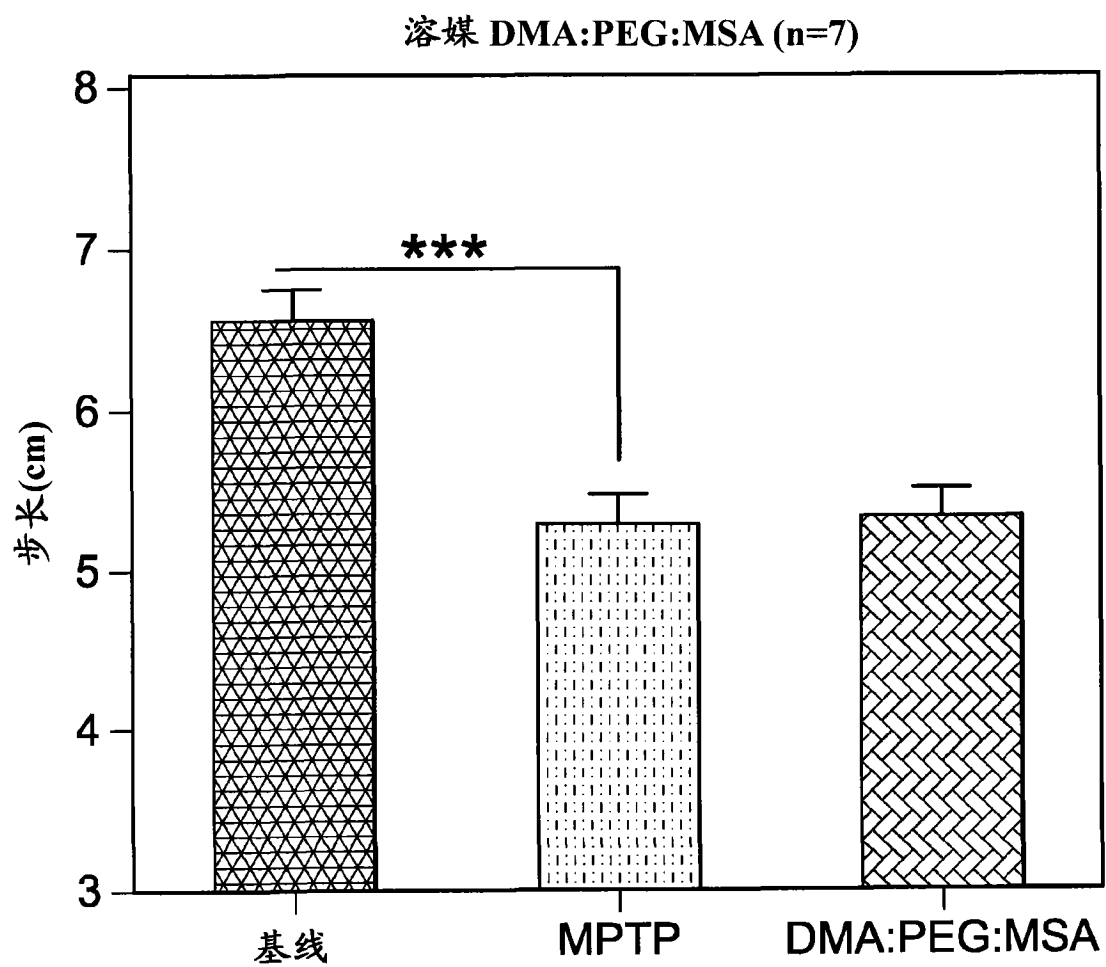


图 13A

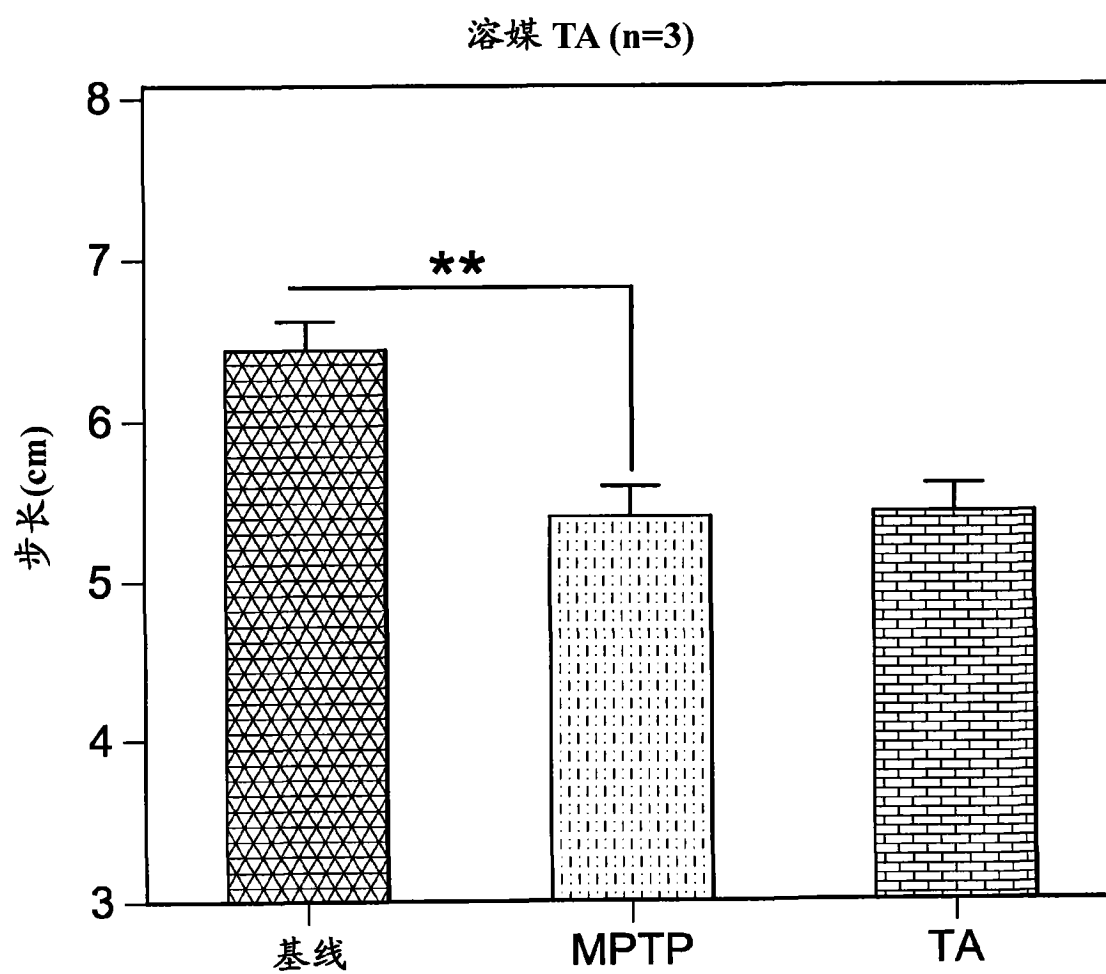


图 13B

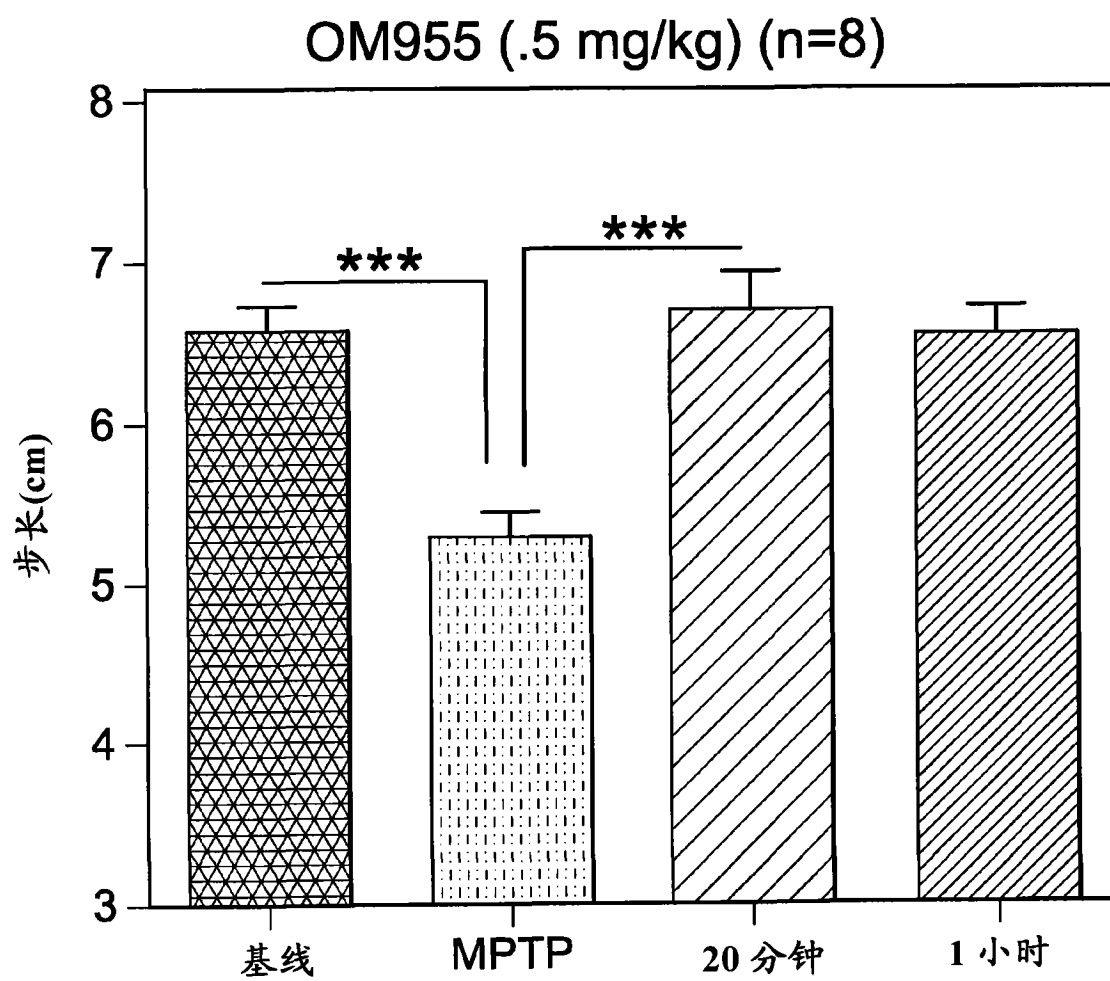


图 14

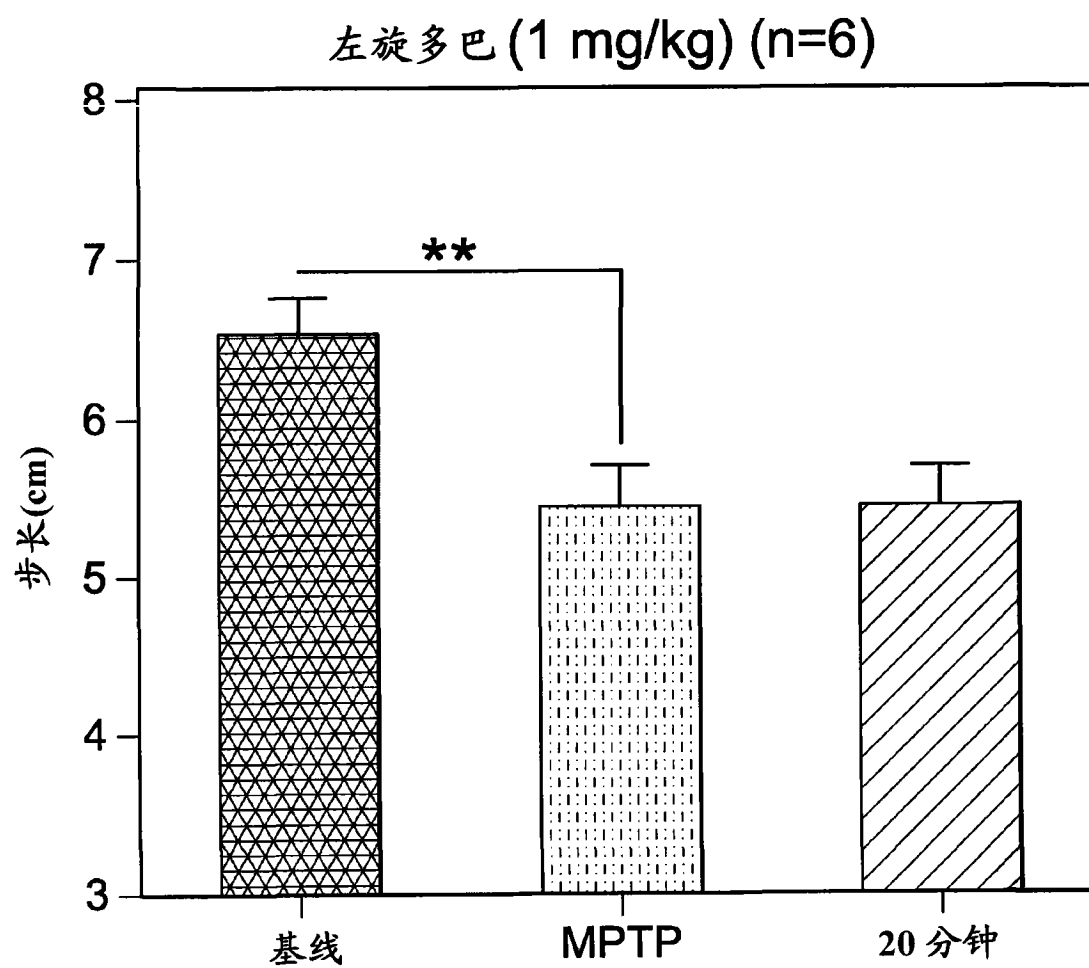


图 15A

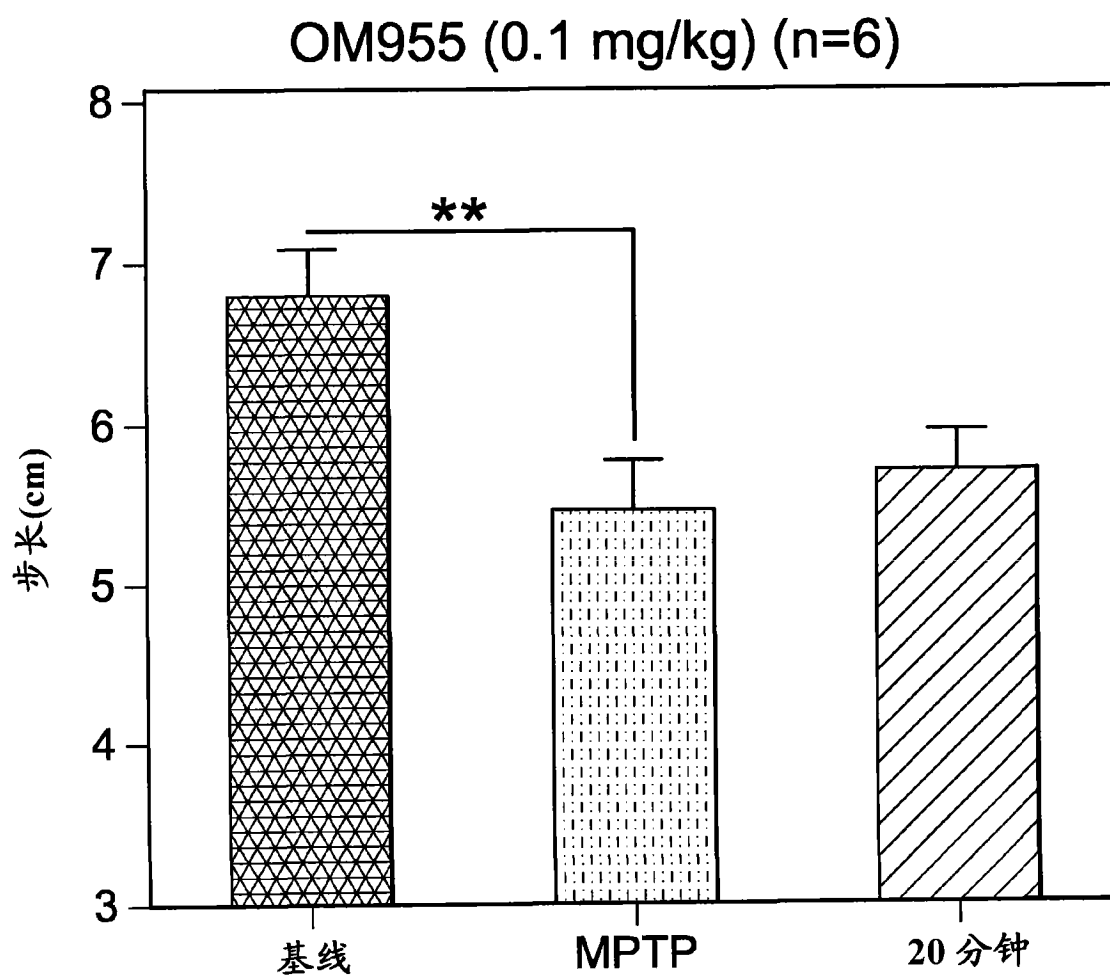


图 15B

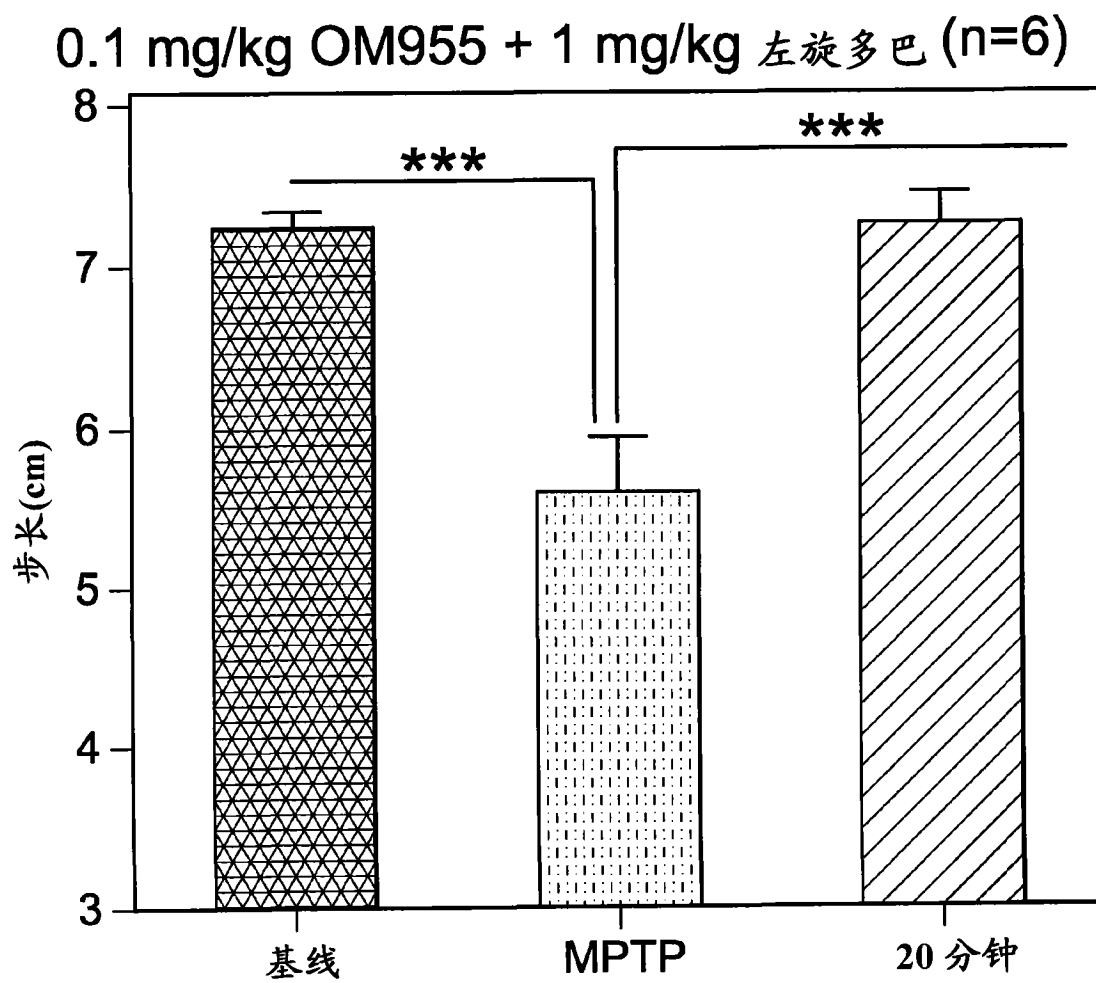


图 15C

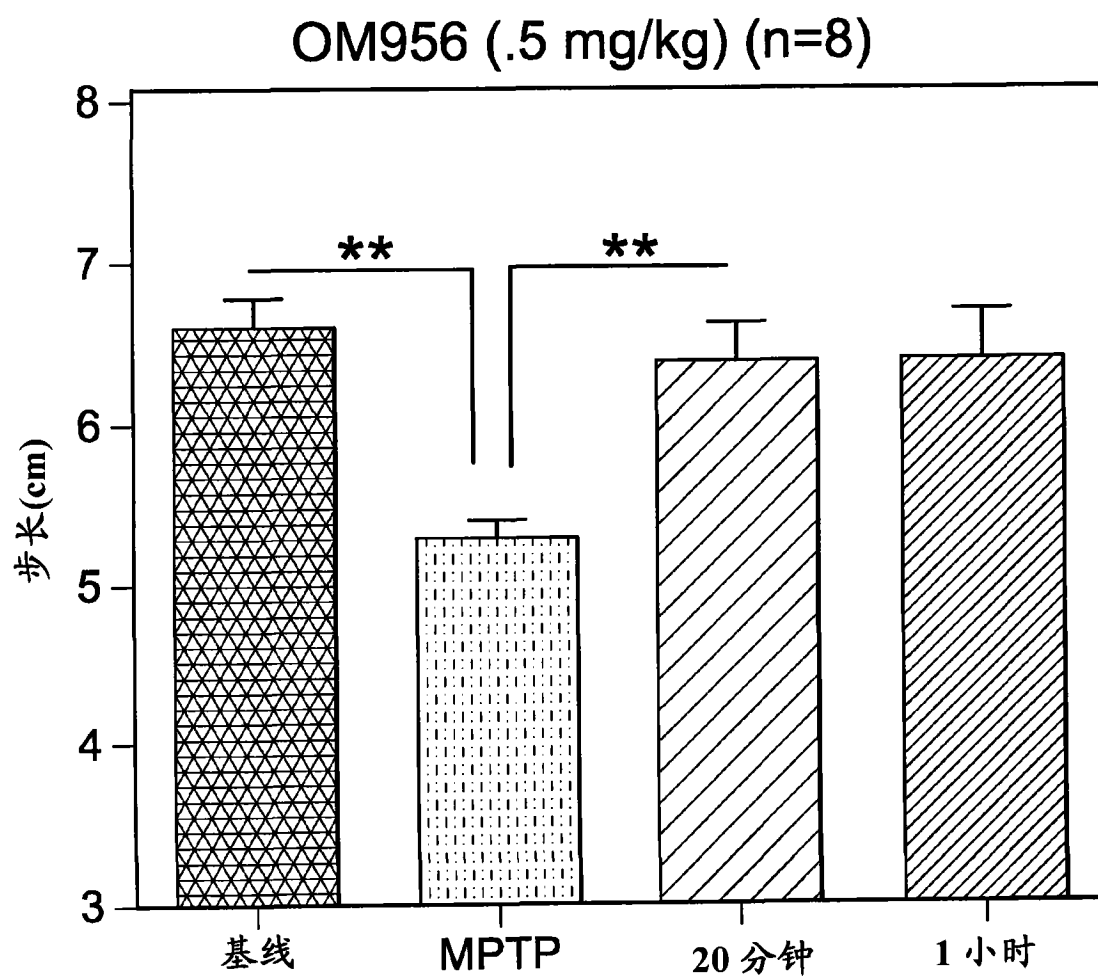


图 16

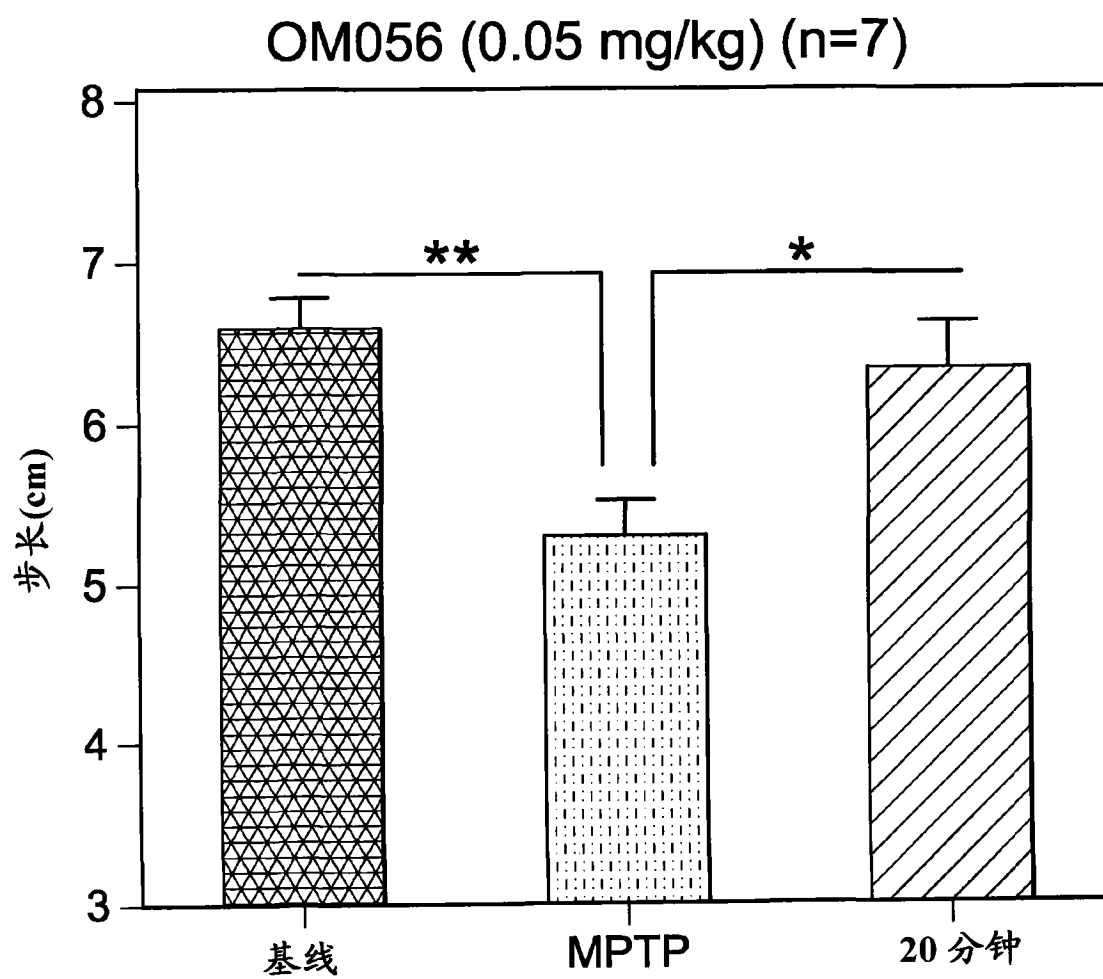


图 17

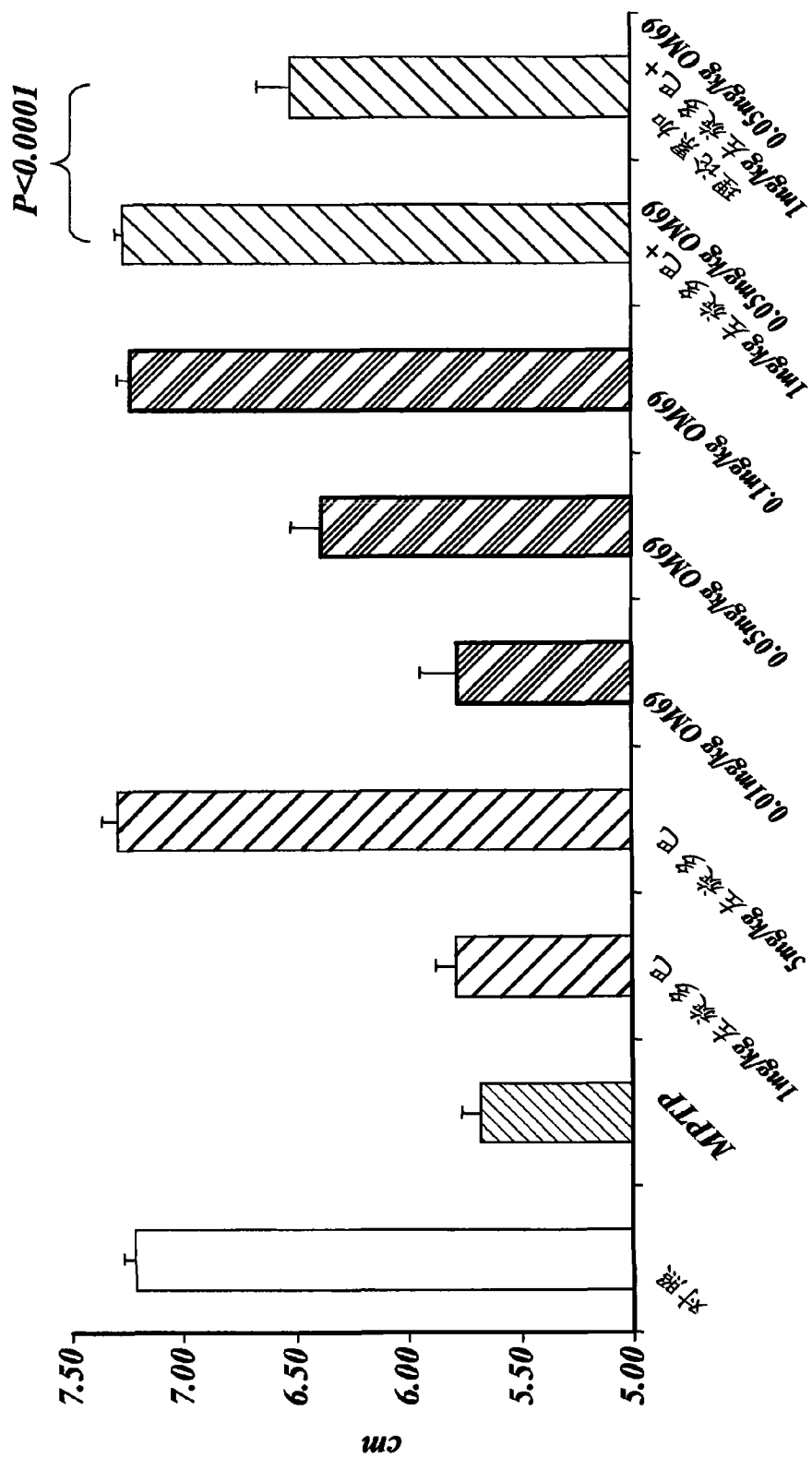


图 18