



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102186883 B

(45)授权公告日 2016.08.03

(21)申请号 200980141061.7

(22)申请日 2009.09.18

(30)优先权数据

61/098,088 2008.09.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2011.04.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/057401 2009.09.18

(87)PCT国际申请的公布数据

W02010/033757 EN 2010.03.25

(73)专利权人 西北大学

地址 美国伊利诺斯

(72)发明人 A·卡恩 J·莫斯卡尔 P·伍德

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038

代理人 李华英

(51)Int.Cl.

G07K 16/00(2006.01)

(56)对比文件

US 6541453 B2,2003.04.01,

US 5166136 A,1992.11.24,

US 6025471 A,2000.02.15,

CN 1817893 A,2006.08.16,

彭海燕,杜俊蓉.NMDA受体亚单位NR2B拮抗剂和神经退行性疾病.《中国药理学通报》.2007,第23卷(第4期),433-436.

审查员 马振莲

权利要求书1页 说明书23页 附图7页

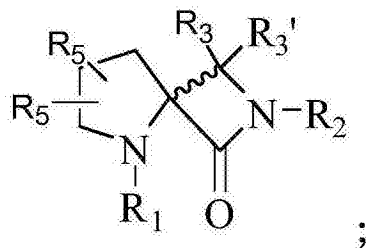
(54)发明名称

NMDA受体调节剂和其用途

(57)摘要

公开了在NMDA受体活性的调节中具有增强能力的化合物。考虑将这类化合物用于例如学习、认知活性和痛觉缺失的疾病和障碍的治疗中,特别是减轻和/或降低神经性疼痛。也公开了化合物的可口服制剂和包括静脉内制剂的其它可药用递送形式。

1. 下式所示的化合物：



和其可药用盐、立体异构体和N-氧化物；其中

R₁是H或-C(=O)-O-C₁-C₄烷基，其中C₁-C₄烷基由苯基取代；

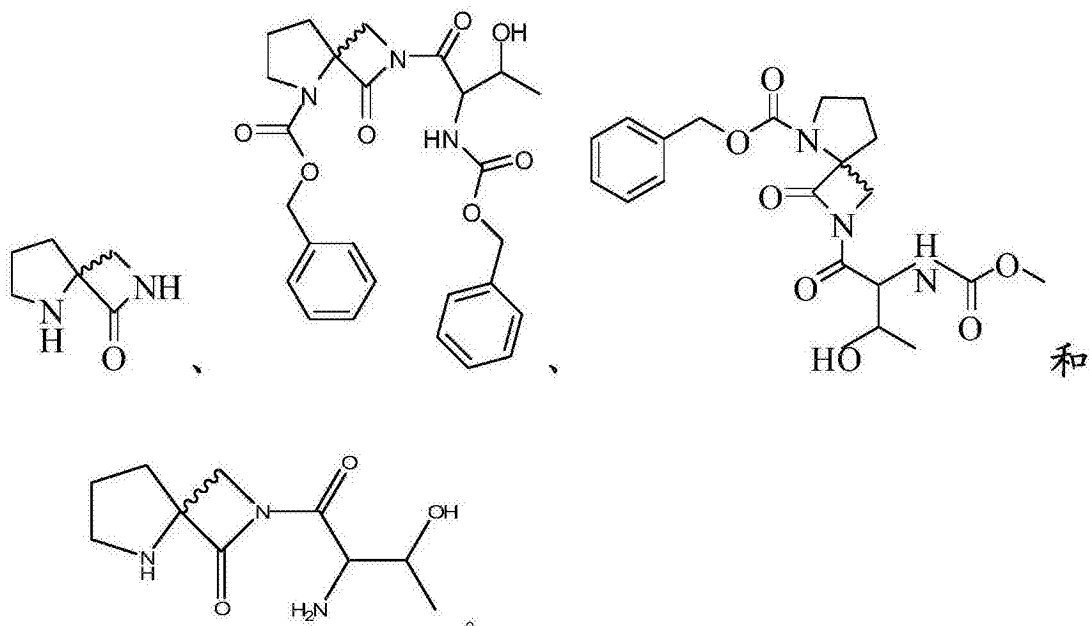
R₃和R₃'各自为H；

R₂是H或-C(=O)-C₂-C₄烷基，其中C₂-C₄烷基在一个碳上用NH₂取代且在另一个碳上用羟基取代；

R₅独立地选自H和C₁-C₄烷基。

2. 权利要求1的化合物，其中R₂是-C(=O)-C₂-C₄烷基，其中C₂-C₄烷基在一个碳上用NH₂取代且在另一个碳上用羟基取代。

3. 选自以下的非肽基化合物：



4. 可药用组合物，其包含权利要求1-3任一项的化合物和可药用赋形剂。

5. 权利要求1-3任一项的化合物在制备用于在有需要的患者中治疗抑郁、强迫观念与行为障碍或精神分裂症的药物中的用途。

NMDA受体调节剂和其用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求U.S.S.N.61/098,088的优先权,U.S.S.N.61/098,088于2008年9月18日提交,并通过引用完整地并入本文。

背景技术

[0003] N-甲基-d-天冬氨酸(NMDA)受体是突触后亲离子受体,其尤其响应于兴奋性氨基酸谷氨酸、甘氨酸和合成的化合物NMDA。NMDA受体通过与受体相关的通道控制二价和单价离子进入突触后神经细胞的流量(Foster等人,Nature 1987,329:395-396;Mayer等人,Trends in Pharmacol.Sci.1990,11:254-260)。在详述神经元结构和突触连系性的发展中已经涉及NMDA受体,且其可能涉及依赖经验的突触修饰。此外,也认为NMDA受体涉及长期增强和中枢神经系统障碍。

[0004] NMDA受体在突触的可塑性中发挥主要作用,该可塑性构成很多更高级的认知功能的基础,例如记忆的获取、保留和学习,以及在某些认知路径中和在疼痛的感觉中发挥主要作用(Collingridge等人,The NMDA Receptor,Oxford University Press,1994)。此外,NMDA受体的某些性质暗示它们可能涉及在脑中构成自身意识基础的信息处理。

[0005] 因为其表现为涉及广大范围的中枢神经系统障碍,NMDA受体已引起了特别的兴趣。例如,在由中风或创伤性损伤导致的脑局部缺血期间,过量的兴奋性氨基酸谷氨酸从损伤的或缺氧的神经元释放。该过量谷氨酸与NMDA受体结合,所述受体开放它们的配体门控离子通道;依次地钙的流入产生高水平的细胞内钙,其激活导致蛋白质降解和细胞死亡的生物化学级联。该现象,已知作为兴奋性中毒,也被认为是造成与从低血糖症和心脏停搏至癫痫范围内的其它障碍相关的神经损伤的原因。此外,已有初步的报道表明类似的涉及慢性神经变性的亨廷顿舞蹈病、帕金森病和阿尔茨海默病。已经显示NMDA受体的激活是中风后惊厥的原因,在某些癫痫模型中,已经显示NMDA受体的激活对于癫痫发作的产生是必需的。由于通过动物麻醉剂PCP(苯环利定)阻断NMDA受体 Ca^{++} 通道在人类中产生类似精神分裂症的精神病状态(Johnson,K.和Jones,S.中的综述,1990),也已经识别了涉及NMDA受体的神经精神病学。另外,NMDA受体也涉及某些类型的空间学习。

[0006] 相信NMDA受体由包埋在突触后膜中的若干蛋白质链组成。目前首先发现的两种类型的亚单元形成细胞外的巨大区域,其可能包含大部分变构结合位点、成圈的和折叠的若干跨膜区域以形成孔或通道,其是可渗透 Ca^{++} ,以及羧基末端区域。通过多种配体与位于细胞外表面的蛋白质的结构域(变构位置)结合调节通道的开放和关闭。认为配体的结合在整个蛋白质结构中影响构象变化,其最终反映于通道开放、部分开放、部分关闭或关闭。

[0007] NMDA受体化合物可以通过别构部位对NMDA受体发挥双重(激动剂/拮抗剂)效果。把这些化合物典型地叫做“部分激动剂”。在有主要位点配体时,部分激动剂将替代某些配体,因此减少通过受体的 Ca^{++} 流。当主要位点配体不存在或水平降低时,部分激动剂产生作用以增加通过受体通道的 Ca^{++} 流。

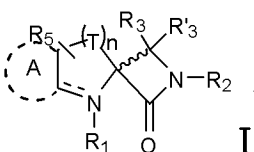
[0008] 在本领域中仍持续存在对于新的和更特异性/有效的化合物的需要,所述化合物

能够结合NMDA受体的甘氨酸结合位点,并提供药学益处。此外,在医学领域持续存在对于这类化合物能够口服递送的形式需要。

[0009] 发明概述

[0010] 本文至少部分地提供了作为NMDA调节剂的化合物,例如,NMDA的部分激动剂。例

如,本文公开了式I所示的化合物:



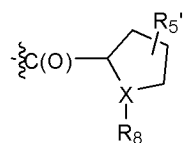
I

物;其中

[0011] 每次出现的T独立地是 CR_4R_4' , n是0、1、2或3;

[0012] A任选地存在且选自苯基或吡啶,其中A任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0013] R_1 选自H、羟基、 $-S(O)_2-C_1-C_4$ 烷基; $-SO_2$ 、 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基、苯基、 R_7 或

 其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基或苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0014] X是CH或N;

[0015] R_3 和 R_3' 独立选自H、卤素、羟基、苯基、 C_1-C_4 烷基、酰氨基、胺或 C_2-C_4 烯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0016] R_4 和 R_4' 独立选自H、卤素、羟基、苯基、 C_1-C_4 烷基、酰氨基、胺、 C_1-C_4 烷氧基或 C_2-C_4 烯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基、 C_1-C_4 烷氧基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0017] R_2 选自H、 R_7 、 $-S(O)_2$ 、 $S(O)_2-C_1-C_4$ 烷基、 C_1-C_4 烷基、羟基或苯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0018] R_5 和 R_5' 各自独立地选自H、卤素、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、氰基、氨基、苯基和羟基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0019] R_7 选自 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基,其中 C_1-C_4 烷基任选地由1个、2个或3个选自 R_b 的取代基取代;

[0020] R_8 选自H、 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基,其中 C_1-C_4 烷基任选地由1个、2个或3个选自 R_a 的取代基取代;

[0021] R_a 每次独立出现,其选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、 C_1-C_4 烷基和 C_1-C_4 烷氧基;

[0022] R_b 每次独立出现,其选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基和 $-NH-R_c$;且

[0023] R_c 每次独立出现,其选自 $-C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基;和 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基。

[0024] 本文也提供了包含公开的化合物和可药用赋形剂的可药用组合物。例如,这类组合物可以适于对患者口服给药。

[0025] 用于治疗认知障碍的方法,所述障碍例如与记忆丧失或学习障碍(impaired learning)相关的障碍,所述方法包括给予需要其的患者有效量的公开的化合物。例如,本文提供了在需要其的患者中治疗或缓解记忆丧失或学习障碍的方法。

[0026] 在一个实施方案中,提供了在需要其的患者中用于治疗神经性疼痛的方法,所述方法包括给予有效量的公开的化合物。

[0027] 本文也公开了在需要其的患者中用于治疗抑郁、强迫观念与行为障碍或精神分裂症的方法,所述方法包括给予有效量的公开的化合物。在另一个实施方案中,提供了在需要其的患者中用于治疗创伤后应激障碍、酒精依赖障碍或对成瘾性药物成瘾的方法,所述方法包括给予有效量的公开的化合物。

附图说明

[0028] 图1A-1D表明公开的化合物(AK52)在Shaffer侧突(collateral)-CA1突触双相改变突触后NMDA受体介导的兴奋性突触后电流(e.p.s.c.s),且选择性增强LTP的诱导。1A:在CA1锥形神经元中NMDA成分的AK52(1 μ M;实心棒)显著减少由Schaffer侧突诱发的e.p.s.c.s的时间过程(time course)。(各点是5种细胞的e.p.s.c.peNRXe振幅的平均值 $\pm$ SEM)1B:10倍低浓度的NMDA成分的AK52(100nM;灰色棒)增强在CA1锥形神经元中Schaffer侧突诱发的e.p.s.c.s的时程(time course)(各点是5种细胞的peNRX e.p.s.c.振幅的平均值 $\pm$ SEM)。1C:与对照未处理的切片(空心的环;n=8)相比,在用1 μ M(实心的环;n=10)和100nM(实心的菱形;n=6)NRX-10,052预处理的切片中,在Schaffer侧突-CA1突触由低频率刺激序列(train)(2Hz/10min;在箭头处开始)诱导的LTD的时程。(各点是标准化的n个切片的细胞外领域EPSP斜率的平均值 $\pm$ SEM。)1D:与对照未处理的切片(空心的环;n=15)相比,在用1 μ M(实心的环;n=10)或100nM(实心的菱形;n=8)NRX-10,052预处理的切片中,比较在Schaffer侧突-CA1突触由高频率刺激序列(3x100Hz/500ms;箭头)导致的LTP的试验的时程(各点是标准化的n个切片的细胞外领域e.p.s.p.斜率的平均值 $\pm$ SEM)。

[0029] 图2A-2E表明低浓度的公开的化合物B显著地增强在Schaffer侧突-CA1突触药理学-分离的突触后NMDA受体-介导的兴奋性突触后电流(e.p.s.c.s)且增强LTP,而20倍更高的浓度减少NMDA e.p.s.c.s。2A:在CA1锥形神经元中记录的化合物B(50nM;实心棒)引起的单个休克Schaffer侧突诱导的药理学-分离的NMDA e.p.s.c.s的显著增强的时程。2B:由化合物B(50nM;实心棒)引起的突发(burst)诱发的(4脉冲/100Hz)NMDA e.p.s.c.s增强的时程。2C:在CA1锥形神经元中记录的化合物B(1 μ M;实心棒)引起的单个休克Schaffer侧突诱导的NMDA e.p.s.c.s的显著减弱的时程。2D:在CA1锥形神经元中记录的由化合物B(1 μ M;实心棒)引起的突发-诱发的(4脉冲100Hz)Schaffer侧突-诱发的NMDA e.p.s.c.s减少的时程。2E:与对照未处理的切片(空心的环)相比,在CA1锥形神经元突触上由50nM化合物B(实心的环)引起的高频率(100Hz/500ms x 3;实心箭头)Schaffer侧突刺激-诱发的LTP的增强。(各点是n个细胞e.p.s.c.peNRX振幅的平均值 $\pm$ SEM。))。

[0030] 图3A-3C表明100nM和1 μ M浓度的公开的化合物(AK51)均在Schaffer侧突-CA1突触增强药理学-分离的突触后的NMDA受体-介导的(e.p.s.c.s)且增强LTP。3A:在CA1锥形神经元中记录的(n=x)由NRX-10,051(100nM;实心棒)引起的单个休克Schaffer侧突-诱导的药理学-分离的NMDA e.p.s.c.s显著增强的时程(n=x)。3B:在CA1锥形神经元中记录的由AK51(1 μ M;实心棒)引起的的单个休克Schaffer侧突-诱导的药理学-分离的NMDA e.p.s.c.s显著增强的时程(n=y)。3C:与对照未处理的切片(空心的环)相比,在CA1锥形神经元上的突触由100nM(空心的环)和1 μ M(实心的环)的AK51引起的的高频率(100Hz/500msx3;实心箭

头)Schaffer侧突刺激-诱发的LTP的增强。3D:与对照未处理的切片(空心的环,n=8)相比,在用1 μ M(实心的环;n=10)或100nM(实心的菱形;n=6)NRX-10,051预处理的切片中在Schaffer侧突-CA1突触由低频率刺激序列(2Hz/10min;在箭头处开始)导致的LTD的时程。各点是n个细胞e.p.s.c.peNRX振幅的平均值 $\pm$ EM。)

[0031] 图4表明公开的化合物增强NMDA电流和LTP。A:在全细胞记录下在CA1锥形神经元中100nM AK51(实心棒)20min浴应用对标准化药理学-分离的NMDA受体-门控电流效果的时程(平均值 $\pm$ SEM,n=5)。B:在全细胞记录下在CA1锥形神经元中1 μ M AK51(实心棒)20min浴应用(bath application)对标准化药理学-分离的NMDA受体-门控电流效果的时程(平均值 $\pm$ SEM,n=6)。C:与未处理的对照切片(空心的环,n=6)相比,100nM AK51(实心棒,实心的环,n=8)的浴应用对由高频率Schaffer侧突刺激(箭头,2x100Hz/500msec)导致的细胞外的兴奋性突触后电位斜率(平均值 $\pm$ SEM,fEPSP)的长期增强(LTP)程度的效果的时程。D:与未处理的对照切片(空心的环,n=6)相比,1 μ M AK51(实心棒,实心的环,n=8)的浴应用对由高频率Schaffer侧突刺激(箭头,2x100Hz/500msec)导致的fEPSP斜率(平均值 $\pm$ SEM细胞外的兴奋性突触后有效)的LTP程度的效果的时程。E:与未处理的对照切片(空心的环,n=8)相比,1 μ M AK51(实心棒,实心的环,n=10)的浴应用对由低频率Schaffer侧突刺激(箭头,2Hz/10min)导致的fEPSP斜率(平均值 $\pm$ SEM)的长期抑制程度的效果的时程。

[0032] 图5描述在大鼠中使用公开的化合物的T型迷宫测定的结果。

[0033] 图6描述在大鼠中福尔马林神经性疼痛测试的结果。

[0034] 图7表明公开的化合物AK-55-A的一种异构体有效地增强NMDA电流和LTP,而AK-55-B不行。

[0035] 图8描述由GC/MS定量并显示AK-51和[2H7]脯氨酸内标的曲线下面积,基于根据Wood等人,Journal of Chromatography B,831,313-9(2005)改进的方法,在TBDMS衍生化后用GC/MS通过选择性离子监测分析。对该化合物测定的定量范围是0.312pmol至10pmol柱。用于SIM的离子是241.2(该化合物)和350.3(氘代脯氨酸)。R²=0.9998(二次非线性回归)。

[0036] 发明详述

[0037] 本公开内容通常指能够调节NMDA的化合物,所述化合物例如NMDA拮抗剂或部分激动剂,和组合物和/或使用公开的化合物的方法。

[0038] 在本公开内容的说明书中通篇使用下列定义:

[0039] 本文使用的术语“烯基”意指不饱和的直链或支化的烃,所述烃具有至少1个碳-碳双键,例如2-12、2-10或2-6个碳原子的直链或支化的基团,本文分别指C₂-C₁₂烯基、C₂-C₁₀烯基和C₂-C₆烯基。示例性的烯基基团包括,但是不限于,乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基、己烯基、丁二烯基、戊二烯基、己二烯基、2-乙基己烯基、2-丙基-2-丁烯基、4-(2-甲基-3-丁烯)-戊烯基等。

[0040] 本文使用的术语“烷氧基”意指连结至氧的烷基基团(-O-烷基)。示例性烷氧基基团包括,但是不限于,具有1-12、1-8或1-6个碳原子的烷基的基团,本文分别指C₁-C₁₂烷氧基、C₁-C₈烷氧基和C₁-C₆烷氧基。示例性烷氧基基团包括,但是不限于甲氧基、乙氧基等。类似地,示例性“烯氧基”基团包括,但是不限于乙烯基氧基、烯丙氧基、丁烯基氧基等。

[0041] 本文使用的术语“烷基”意指饱和的直链或支化的烃。示例性烷基基团包括,但是

不限于,甲基、乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丙基、2-甲基-2-丙基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-3-丁基、2,2-二甲基-1-丙基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基等。

[0042] 如不另外指明,烷基、烯基和炔基基团可以任选地经一个或多个基团取代,所述基团选自烷氧基、烷基、环烷基、氨基、卤素和-C(=O)烷基。在某些实施方案中,烷基、烯基和炔基基团不是经取代的,即,它们是未经取代的。

[0043] 本文使用的术语“炔基”意指不饱和的直链或支化的烃,所述烃具有至少1个碳-碳三键。示例性炔基基团包括,但是不限于,乙炔基、丙炔基和丁炔基。

[0044] 本文使用的术语“酰胺”或“酰氨基”意指 $-R_aC(=O)N(R_b)-$ 、 $-R_aC(=O)N(R_b)R_c-$ 或 $-C(=O)NR_bR_c$ 形式的残基,其中 R_a 、 R_b 和 R_c 各自独立地选自烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰胺、氨基、芳基、芳基烷基、氨基甲酸根、氨基甲酸盐、氨基甲酸酯、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、氢、羟基、酮和硝基。酰胺可以通过碳、氮、 R_b 、 R_c 或 R_a 连结至另一个基团。酰胺也可以是环状的,例如 R_b 和 R_c 、 R_a 和 R_b 或 R_a 和 R_c 可以连接以形成3至12员环,例如3至10员环或5至6员环。术语“甲酰氨基”意指结构 $-C(=O)NR_bR_c$ 。

[0045] 本文使用的术语“胺”或“氨基”意指 $-NR_dR_e$ 形式的残基,其中 R_d 和 R_e 独立选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、环烷基、卤代烷基、杂芳基和杂环基。氨基也可以是环状的,例如, R_d 和 R_e 与N一同连接以形成3至12员环,例如,吗啉基或哌啶基。术语氨基也包括任何氨基基团的相应的季铵盐,例如, $-[N(R_d)(R_e)(R_f)]^+$ 。示例性氨基基团包括氨基烷基基团,其中至少1个 R_d 、 R_e 或 R_f 是烷基基团。在某些实施方案中, R_d 和 R_e 是氢或烷基。

[0046] 本文使用的术语“卤”或“卤素”或“卤代”意指F、Cl、Br或I。本文使用的术语“卤代烷基”意指经一个或多个卤素原子取代的烷基基团。

[0047] 术语“杂环基”或“杂环基团”是本领域内公认的,意指饱和的或部分不饱和的3至10员环结构,或者3至7员环,所述环结构包括1至4个例如氮、氧和硫的杂原子。杂环也可以是单、二或其它多环的环系统。杂环可以与一个或多个芳基、部分不饱和的或饱和的环稠和。杂环基基团包括,例如,生物素基、色烯基、二氢呋喃基、二氢吡喃基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二噻唑基、高哌啶基、咪唑烷基、异喹啉基、异噻唑烷基、异噻唑烷基、吗啉基、草脲胺基、噻唑烷基、吩噻噻基(phenoxanthenyl)、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯烷-2-酮基、吡咯啉基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢吡喃基、四氢噻吩基、噻唑烷基、硫杂戊环基(thiolanyl)、硫代吗啉基、噻喃基、咕吨基、内酯、例如氮杂环丁酮和吡咯烷酮的内酰胺、磺内酰胺、磺内酯等。杂环可以在一个或多个位置经取代基取代,所述取代基例如烷酰基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰氨基、脒基、氨基、芳基、芳基烷基、叠氨基、氨基甲酸酯、氨基甲酸根、氨基甲酸盐、碳酸酯、碳酸根、碳酸盐、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、亚氨基、酮、硝基、磷酸根、磷酸盐、磷酸酯、膦酸根、次膦酸根、硫酸酯、硫酸根、硫醚(sulfide)、磺酰氨基、磺酰基和硫代羰基。在某些实施方案中,杂环基团不是经取代的,即,杂环基团是未经取代的。

[0048] 术语“杂环烷基”是本领域公认的,且意指如上述定义的饱和的杂环基基团。本文使用的术语“杂环基烷氧基”意指连结至烷氧基基团的杂环基。术语“杂环基氧基烷基”意指

连结至氧(-O-)的杂环基,该氧连结至烷基基团。

[0049] 本文使用的术语“羟基”和“羟基”意指-OH残基。

[0050] “药用或药理学可接受的”包括适当地给予动物或人时不产生副作用、过敏或其它不利反应的分子本身和组合物。对于人类用药,制备物应满足FDA办公室关于生物制品标准无菌、致热原性、一般安全性和纯度标准的要求。

[0051] 在本公开内容中使用的术语“部分NMDA受体激动剂”定义为能够与NMDA受体甘氨酸结合位点结合的化合物;在低浓度NMDA受体激动剂基本上作为激动剂,在高浓度它基本上作为拮抗剂。对于每种和每个“部分激动剂”这些浓度通过试验测定。

[0052] 本文使用的“可药用载体”或“赋形剂”包括任何和所有生理兼容的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌试剂、等渗和吸收延迟剂等。在一个实施方案中,载体适于肠胃外给药。可代替地,载体可以适于静脉内、腹膜内、肌内、舌下或口服给药。可药用载体包括用于即时制备无菌可注射溶液或分散剂的无菌水溶液或分散剂和无菌粉剂。这类介质和试剂对药理活性物质的用途是本领域众所周知的。考虑了除了任何与活性化合物不兼容的常规介质或试剂之外的任何常规介质或试剂在本发明的药物组合物中的用途。补充的活性化合物也可以并入组合物。

[0053] 本文使用的术语“可药用盐”意指酸性或碱性基团的盐,所述基团可以在本组合物中使用的化合物中存在。包含于本发明组合物的本身是碱性的化合物能够与多种无机酸和有机酸形成多种盐。可以用于制备这类碱性化合物的可药用酸加成盐的酸是形成非毒性酸加成盐的那些,即,含有药理学可接受的阴离子的盐,其包括但不限于苹果酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸酯、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、glucaronate、糖质酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即,1,1'-亚甲基-双(2-羟基-3-萘甲酸盐))。除了上述提及的酸,包含于本发明组合物的含有氨基部分的化合物可以与多种氨基酸形成可药用盐。包含于本发明组合物的本身是酸性的化合物能够与多种药理学可接受的阳离子形成碱盐。这类盐的实例包括碱金属或碱土金属盐,以及特别是,钙盐、镁盐、钠盐、锂盐、锌盐、钾盐和铁盐。

[0054] 本公开内容的化合物可以包含一个或多个手性中心和/或双键,因此,其作为立体异构体而存在,所述异构体例如几何异构体、对映异构体或非对映异构体。当用于本文时,术语“立体异构体”由所有几何异构体、对映异构体或非对映异构体组成。这些化合物可以通过符号“R”或“S”根据环绕于手性(stereogenic)碳原子的取代基的构型命名。本发明包括这些化合物的多种立体异构体和其混合物。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体或非对映异构体的混合物在命名法中可以命名为“(±)”,但是技术人员将识别结构无疑可以表示手性中心。

[0055] 本发明的化合物的单独的立体异构体可以从商业上可获得的含有不对称或手性中心的原料合成制备,或通过制备外消旋混合物接着进行那些本领域的普通技术人员众所周知的拆分方法而制备。这些拆分方法通过下述举例说明:(1)将对映异构体的混合物连接至手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得的非对映异构体的混合物,从助剂中释放光学纯的产物,(2)使用光学活性拆分剂形成盐或(3)在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体

的混合物。立体异构混合物也可以通过众所周知的方法拆分为组成它们的立体异构体,例如手性相气相色谱法、手性相高效液相色谱法、将化合物结晶为手性盐络合物或将化合物在手性溶剂中结晶。也可以通过众所周知的不对称合成方法从立体异构纯的中间体、试剂和催化剂得到立体异构体。

[0056] 几何异构体也可以存在于本发明的化合物中。符号表示键,其可以是如本文所描述的单键、双键或三键。本发明包括碳-碳双键周围的取代基排列或碳环周围的取代基排列所导致的多种几何异构体和其混合物。碳-碳双键周围的取代基命名为“Z”或“E”构型,其中术语“Z”和“E”依照IUPAC标准使用。除非另有说明,描述双键的结构包括“E”和“Z”两种异构体。

[0057] 碳-碳双键周围的取代基可以可代替地称为“顺式”或“反式”，其中“顺式”表示取代基在双键的同一边，“反式”表示取代基在双键的对边。碳环周围的取代基的排列命名为“顺式”或“反式”，术语“顺式”表示取代基在环平面的同一边，术语“反式”表示取代基在环平面的对边。化合物的混合物，其中取代基排列在环平面相同边或对边被命名为“顺/反”。

[0058] 本文公开的化合物可以与例如水、乙醇等可药用溶剂以溶剂化形式存在,以及以非溶剂化形式存在,本发明意欲包括溶剂化和非溶剂化形式。在一个实施方案中,化合物是无定形的。在一个实施方案中,化合物是多晶型。在另一个实施方案中,化合物在晶体形式中。

[0059] 本发明也包括本发明同位素标记的化合物,其与那些本文描述的化合物相同,除了一个或多个原子用具有与通常在自然界中发现的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子代替。可以并入本发明化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,其分别例如 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。

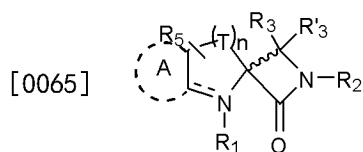
[0060] 某些同位素标记的公开的化合物(例如,那些用 ^3H 和 ^{14}C 标记的)适用于化合物和/或底物组织分布测试。由于它们易于制备和测定,氚(即, ^3H)和碳-14(即, ^{14}C)同位素是特别优选的。另外,由于更好的代谢稳定性(例如,体内半衰期的增加或需要剂量的减少),用例如氘(即, ^2H)的较重同位素取代可以提供某些治疗优势,因此可以在某些情况中优选。同位素标记的本发明的化合物通常可以通过与下列那些在实施例中公开的方法类似的方法制备,本文中实例是通过将非同位素标记的试剂替换为同位素标记的试剂。

[0061] 用于本公开内容的“NMDA”定义为N-甲基-d-天冬氨酸。

[0062] 在本申请文件中,术语“治疗有效量”意指将引发研究者、兽医、医生或其它临床医师探索的组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的受试化合物的量。以治疗有效量给予本发明的化合物以治疗疾病。可代替地,化合物的治疗有效量是达到期望的治疗和/或预防性效果所需要的量,例如其终归定义为得到行为(例如,学习)、生理学反应(例如,LTP诱导)的最大增强或抑制神经性疼痛所需要的量。

[0063] 化合物

[0064] 公开的化合物包括式I所示的那些:

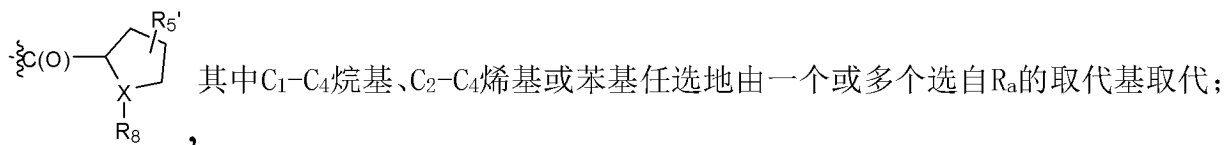


[0066] 和其可药用盐、立体异构体和N-氧化物;其中

[0067] T每次独立出现,其是 CR_4R_4' ,且n是0、1、2或3;

[0068] A任选地存在且选自苯基或吡啶,其中A任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0069] R_1 选自H、羟基、 $-S(O)_2-C_1-C_4$ 烷基; $-SO_2-C_1-C_4$ 烷基、 C_2-C_4 烯基、苯基、 R_7 或



[0070] X是CH或N;

[0071] R_3 和 R_3' 独立选自H、卤素、羟基、苯基、 C_1-C_4 烷基、酰氨基、胺或 C_2-C_4 烯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0072] R_4 和 R_4' 独立选自H、卤素、羟基、苯基、 C_1-C_4 烷基、酰氨基、胺、 C_1-C_4 烷氧基或 C_2-C_4 烯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基、 C_1-C_4 烷氧基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0073] R_2 选自H、 R_7 、 $-S(O)_2$ 、 $S(O)_2-C_1-C_4$ 烷基、 C_1-C_4 烷基、羟基或苯基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0074] R_5 和 R_5' 各自独立地选自H、卤素、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、氰基、氨基、苯基和羟基,其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0075] R_7 选自 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基,其中 C_1-C_4 烷基任选地由1个、2个或3个选自 R_b 的取代基取代;

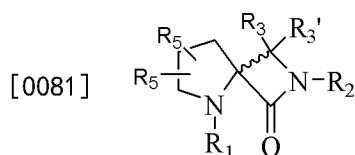
[0076] R_8 选自H、 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基,其中 C_1-C_4 烷基任选地由1个、2个或3个选自 R_a 的取代基取代;

[0077] R_a 每次独立出现,其选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、 C_1-C_4 烷基和 C_1-C_4 烷氧基;

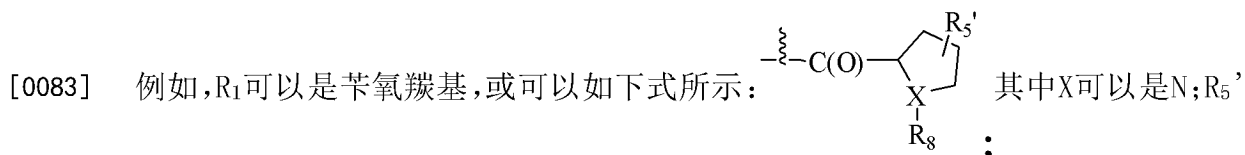
[0078] R_b 每次独立出现,其选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基和 $-NH-R_c$;且

[0079] R_c 每次独立出现,其选自 $-C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基;和 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基。

[0080] 例如,公开的化合物可以包括下式所示的那些:



[0082] 其中 R_1 是 $C(O)-C_2-C_4$ 烷基,其中 C_2-C_4 烷基在一个碳上用 NH_2 或 N -苄氧羰基取代且在不同碳上用羟基取代。例如, R_1 可以是 $C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基(例如,甲基、乙基、丙基,其中 C_1-C_4 烷基经苯基取代。



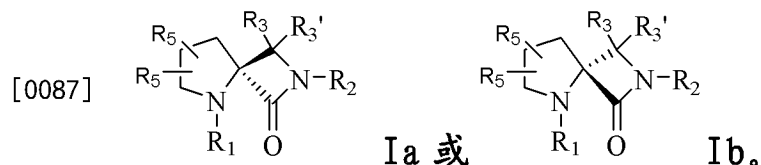
可以是H;且 R_8 可以是 $-C(O)-C_2-C_4$ 烷基(例如乙基、丙基、正丁基或叔丁基),其中 C_2-C_4 烷基在一个碳上用 NH_2 或 N -苄氧羰基取代且在不同碳上用羟基取代。

[0084] 在某些实施方案中, R_3 可以是苯基(如上述任选地取代),或可以是H。在某些实施

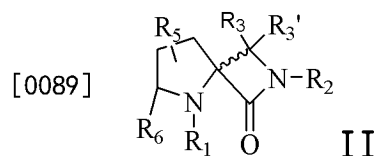
方案中, R_2 可以是 $-C(O)-C_2-C_4$ 烷基(例如乙基、丙基、正丁基或叔丁基), 任选地在一个碳上用 NH_2 取代且在另一碳上用羟基取代。

[0085] 对于任何所考虑的包括 C_1-C_4 烷基(例如 R_1 、 R_3 、 R_5)的 R -基团, 烷基可以选自甲基、乙基、丙基、正丁基或叔丁基, 且其中所述 C_1-C_4 烷基任选地由 1 个、2 个或 3 个选自 F, Cl 或 Br 的取代基取代。

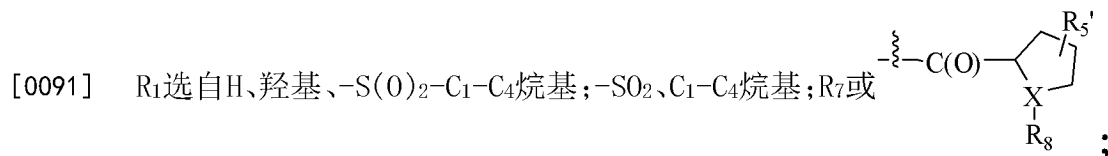
[0086] 这类化合物可以具有不同的异构体, 在某些实施方案中, 其可以如下所示:



[0088] 在另一个实施方案中, 考虑如式 II 所示的化合物:



[0090] 和其可药用盐、立体异构体和 N -氧化物; 其中



[0092] X 是 CH 或 N;

[0093] R_3 和 R_3' 各自独立地选自 H、卤素、羟基、苯基、 C_1-C_4 烷基、酰氨基、胺或 C_2-C_4 烯基, 其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

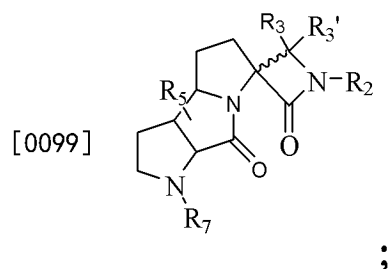
[0094] R_2 选自 H、 R_7 、 $-S(O)_2$ 、 $S(O)_2-C_1-C_4$ 烷基、 C_1-C_4 烷基、羟基或苯基, 其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0095] R_5 选自 H、卤素、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、氰基、氨基、苯基和羟基, 其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由一个或多个选自 R_a 的取代基取代;

[0096] R_6 选自 H、卤素、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 烷氧基、 C_2-C_4 烯基、氰基、氨基、苯基和羟基, 其中 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基和苯基任选地由 1 个、2 个或 3 个选自 R_a 的取代基取代;

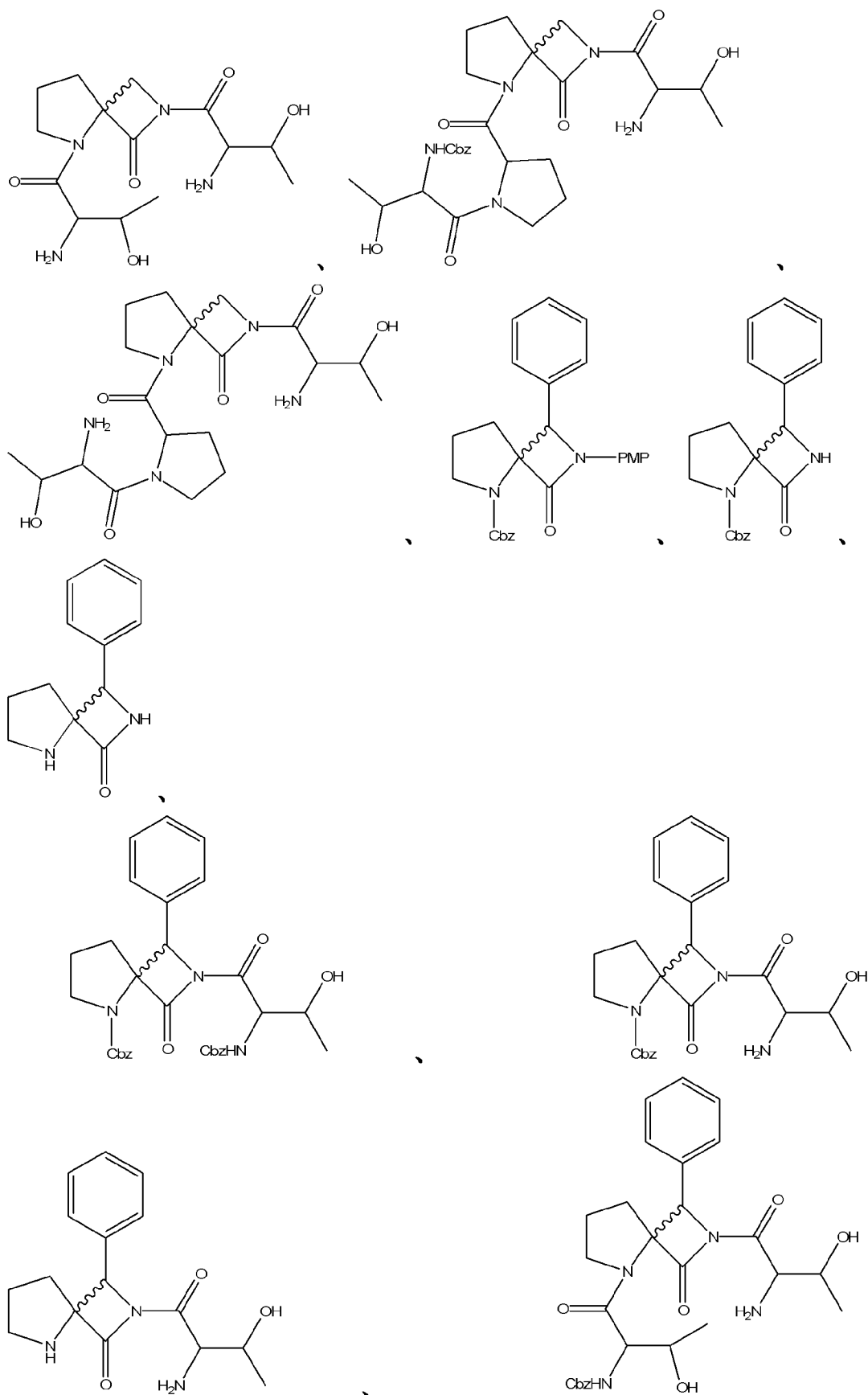
[0097] R_7 选自 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $-C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基, 其中 C_1-C_4 烷基任选地由 1 个、2 个或 3 个选自 R_b 的取代基取代; 或

[0098] 或 R_1 和 R_6 , 与式 I 一同形成:

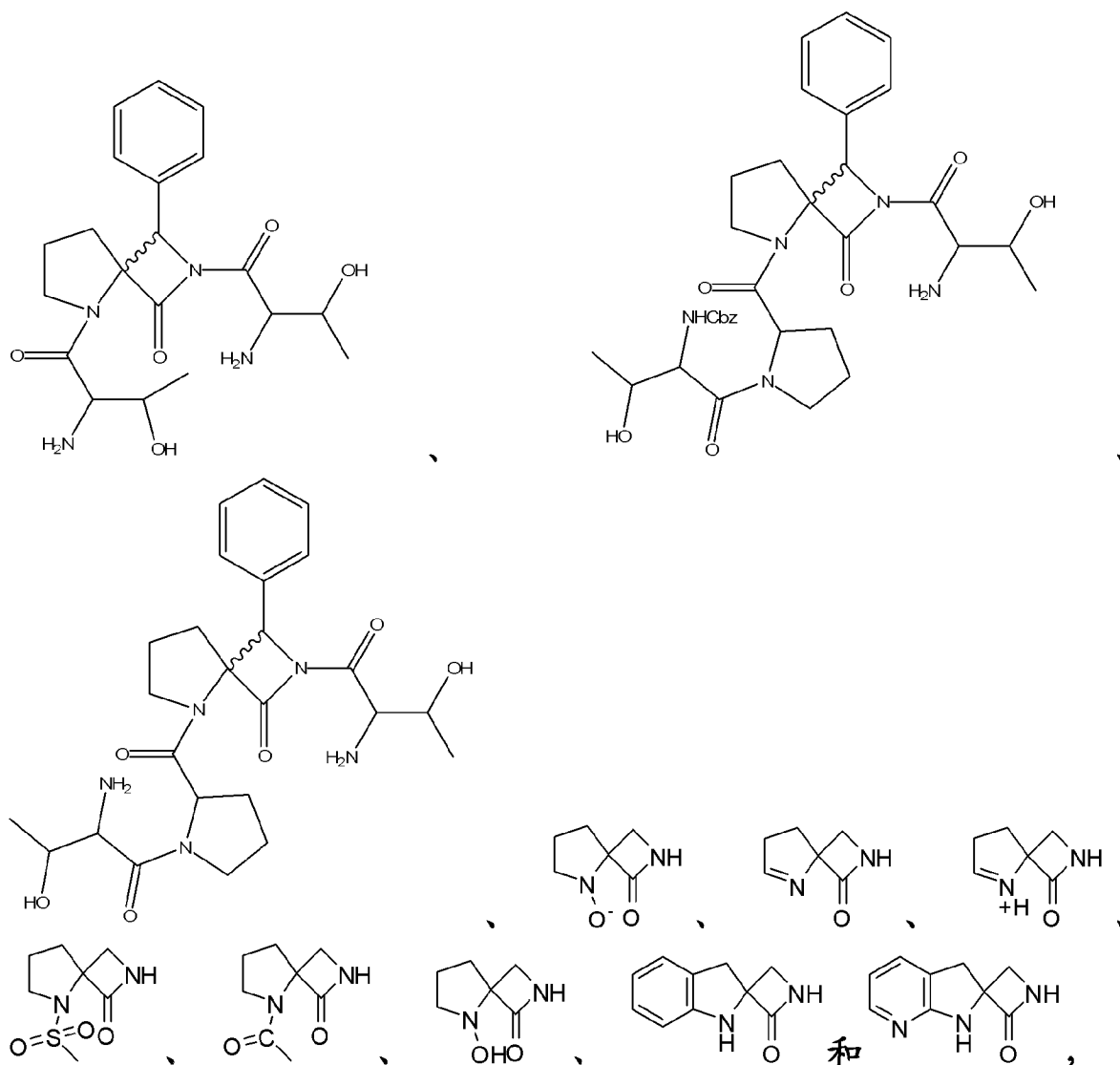


[0100] R_8 选自 H、 $-C(O)-C_1-C_4$ 烷基或 $-C(O)-O-C_1-C_4$ 烷基, 其中 C_1-C_4 烷基任选地由 1 个、2 个或 3 个选自 R_a 的取代基取代;

[0101] R_a 每次独立出现, 其选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、 C_1-C_4 烷基和 C_1-C_4 烷氧基;

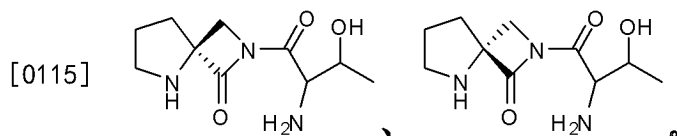


[0112]



[0113] 和其可药用盐、立体异构体或N-氧化物。

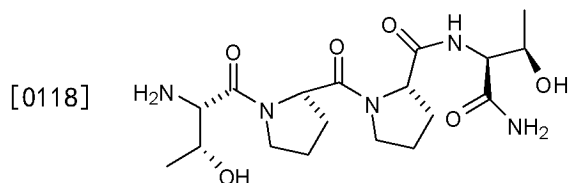
[0114] 本公开内容的化合物和其制剂意欲包括任意一个或多个化合物的D-异构体形式、L-异构体形式或外消旋混合物(D-和L-异构体两种形式)。此外,化合物的制剂意欲包括一个或多个本文描述的类似物的L-异构体形式和D-异构体形式的任何组合或比例。相对于公开的化合物或化合物的混合物的外消旋的制剂,包括更大比率的D-和/或L-异构体类似物形式的公开的化合物的这些和其它制剂可以具有增强治疗的特性。例如,公开的化合物可以是对映异构体,例如:



[0116] 公开的化合物可以用于NMDA受体开放的有效的阳离子通道,例如可以与NMDA受体的谷氨酸位点结合或相关以助于开放阳离子通道。公开的化合物可以通过作为激动剂用于调节(打开或关闭)NMDA受体。

[0117] 如本文所描述的化合物可以是甘氨酸位点的NMDA受体部分激动剂。在本上下文中使用的部分激动剂将理解为意指在低浓度,类似物作为激动剂,且在高浓度,类似物作为拮

抗剂。甘氨酸结合不受谷氨酸或谷氨酸的竞争性抑制剂的抑制,在NMDA受体上也不在与谷氨酸相同的位点结合。甘氨酸第二个单独的结合位点存在于NMDA受体上。因此,NMDA受体的配体门控离子通道在至少这两种不同的别构部位的控制下。公开的化合物可以能够与NMDA受体的甘氨酸结合位点结合或相关。在某些实施方案中,公开的化合物可以具有为存在于NMDA受体甘氨酸位点的部分激动剂的活性10倍或更大的能力。例如,与GLYX-13相比,公开的化合物可以具有10倍至20倍增强的能力。GLYX-13如下式所示:

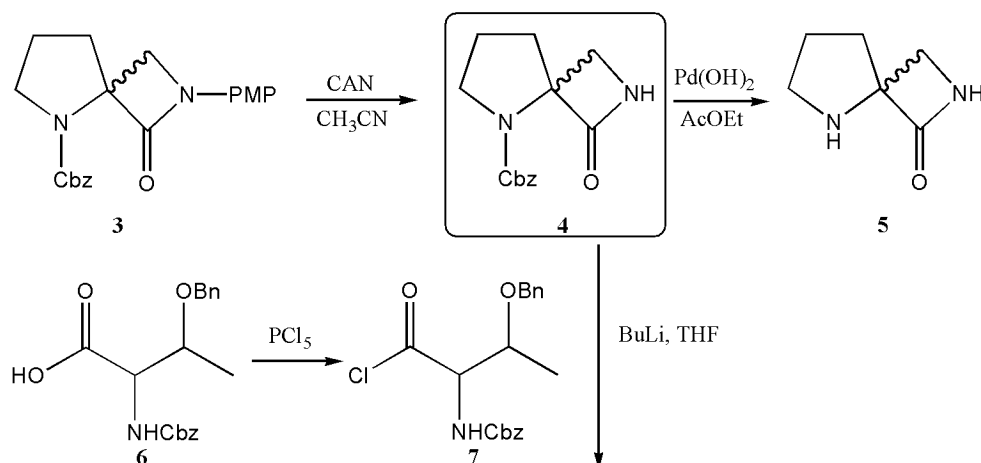


[0119] 例如,通过在50nM浓度的海马趾CA1锥形神经元培养物中的突发(burst)活化NMDA受体-门控单个神经元电导(conductance)(I_{NMDA})的测量,与GLYX-13相比,本文提供的化合物可以至少约20倍强大。在另一个实施方案中,在100nM至1 μ M浓度的海马趾CA1锥形神经元中提供化合物可以能够增强单个休克诱发的NMDA受体-门控单个神经元电导(I_{NMDA})。通过测量在体外海马趾切片中在Schaffer侧突-CA-1突触长期增强(LTP)的程度,与GLYX-13相比,公开的化合物可以增强能力。

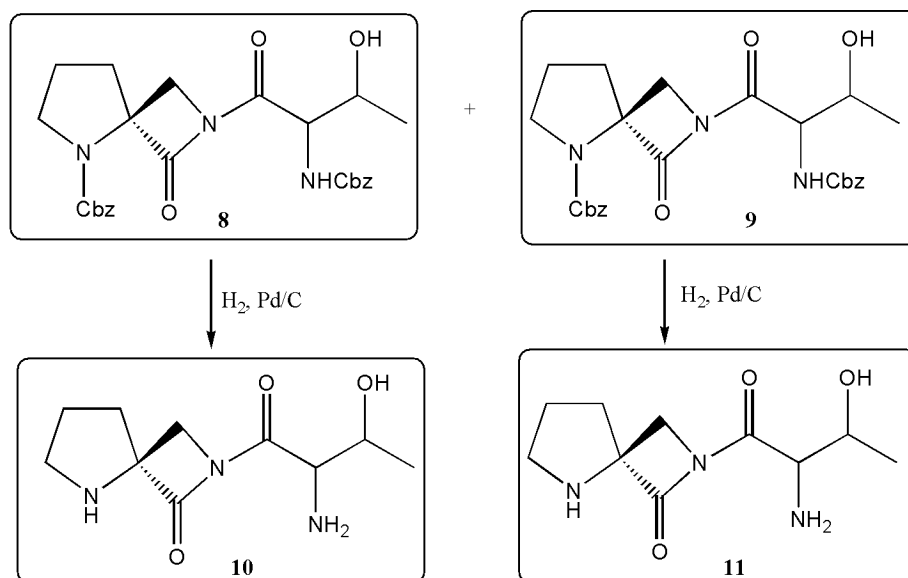
[0120] 合成途径

[0121] 下列方案是可以用于制备公开的化合物和其中间体的代表性的合成方案。

[0122] 方案1:化合物的制备

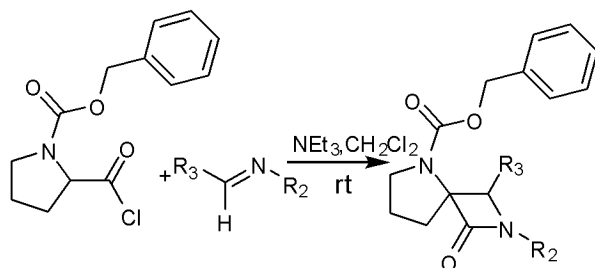


[0123]



[0124] 方案2

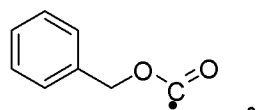
[0125]



[0126] 硝酸高铈铵或“CAN”是式(NH₄)₂Ce(NO₃)₆的化学化合物。在有机合成中该橘红色水溶性盐广泛用作氧化剂。在定量分析中该化合物用作标准氧化剂。

[0127] PMP意指对甲氧基苄叉；Cbz意指可以描述为下式的苄氧羰基残基：

[0128]



[0129] 组合物

[0130] 在其它方面,提供了包含公开的化合物和任选地包含可药用赋形剂的制剂和组合物。在某些实施方案中,所考虑的制剂包含一个或多个公开的化合物的外消旋混合物。

[0131] 可以将所考虑的制剂制备成所使用的多种形式的任何形式。仅为举例,而不限制,可以将化合物制备成制剂,其适于口服给药、皮下注射或其它在药学领域已知的用于给予动物活性试剂的方法。

[0132] 如本文所描述的在制剂中公开的化合物的量可以根据例如疾病状态、个体年龄、性别和体重的因素而变化。可以调整剂量方案以产生最佳治疗反应。例如,可以给予单次推注,随着时间可以给予若干分剂量,或通过治疗情况的紧急程度指明,剂量可以按比率减少或增加。在剂量单位形式中配制肠胃外组合物用于减少给药和均匀给药是特别有优势的。本文使用的剂量单位形式意指适于对被治疗的哺乳动物受试者单元给药的物理上离散的单元;各单元含有预定量的活性化合物,其经计算可与所需要的药物载体结合以得到期望的治疗效果。

[0133] 本发明的剂量单元形式的规格由以下规定和直接取决于(a)所选择化合物的独特的特性和所实现的特殊的治疗效果,和(b)合成这类用于在个体中治疗敏感性的活性化合物的领域的固有限制。

[0134] 本文使用的“可药用载体”或“赋形剂”包括任何和所有

[0135] 通常在制备和保存的情况下治疗组合物必须是无菌和稳定的。组合物可以配制为适于高药物浓度的溶液、微乳液、脂质体或其它有序的结构。载体可以是溶剂或分散介质,所述溶液或分散介质包含,例如,水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和其适合的混合物。例如,通过使用例如卵磷脂的包衣,在分散体的情况下通过保持所需要的颗粒尺寸,和通过使用表面活性剂,可以保持适当的流动性。在很多实例中,将优选在组合物中包含等渗剂,所述等渗剂例如,糖类、例如甘露糖醇、山梨糖醇的多元醇或氯化钠。可以通过在组合物中包含例如单硬脂酸盐和明胶的延长吸收的试剂实现可注射的复合物的延长吸收。

[0136] 可以在延时释放制剂中,例如在包括缓释聚合物的组合物中,给予化合物。可以与防止化合物快速释放的载体制备化合物,例如包含植入物和微囊递送系统的控释制剂。可以使用生物可降解和生物相容的聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、聚乳酸和聚乳酸、聚乙醇酸共聚物(PLG)。很多用于制备这类制剂的方法通常是那些本领域技术人员已知的。

[0137] 可以通过将所需要量的化合物与一种上文列举的成分或其组合掺入适当的溶剂中,按照需要,接着进行过滤灭菌,制备无菌可注射溶液。通常,通过将活性化合物掺入无菌赋形剂中制备分散体,所述赋形剂包含碱性的分散介质和那些上文列举的所需要的其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥,所述方法从其先前无菌过滤溶液中得到活性成分和任何附加的期望的成分的粉末。

[0138] 依照本发明可代替的方面,可以采用一种或多种附加的增强化合物的溶解度的化合物配制化合物。

[0139] 方法

[0140] 提供了用于治疗认知障碍和用于增强学习的方法。这种方法包括给予一种或多种公开的化合物的可药用制剂至需要其的患者。也考虑了治疗患有与年龄相关的记忆缺陷、精神分裂症、特殊学习障碍、癫痫发作、中风后惊厥、脑局部缺血、低血糖症、心脏停搏、癫痫、偏头痛以及亨廷顿病、帕金森病和阿尔茨海默氏病的患者的方法。

[0141] 所考虑的其它方法包括脑局部缺血、中风、脑创伤、脑肿瘤、急性神经性疼痛、慢性神经性疼痛、睡眠障碍、药物成瘾、抑郁、某些视觉障碍、酒精戒断、焦虑、记忆和学习障碍的治疗。仍在另一个方面中,提供了用于增强疼痛的缓解和用于向动物提供痛觉缺失的方法。

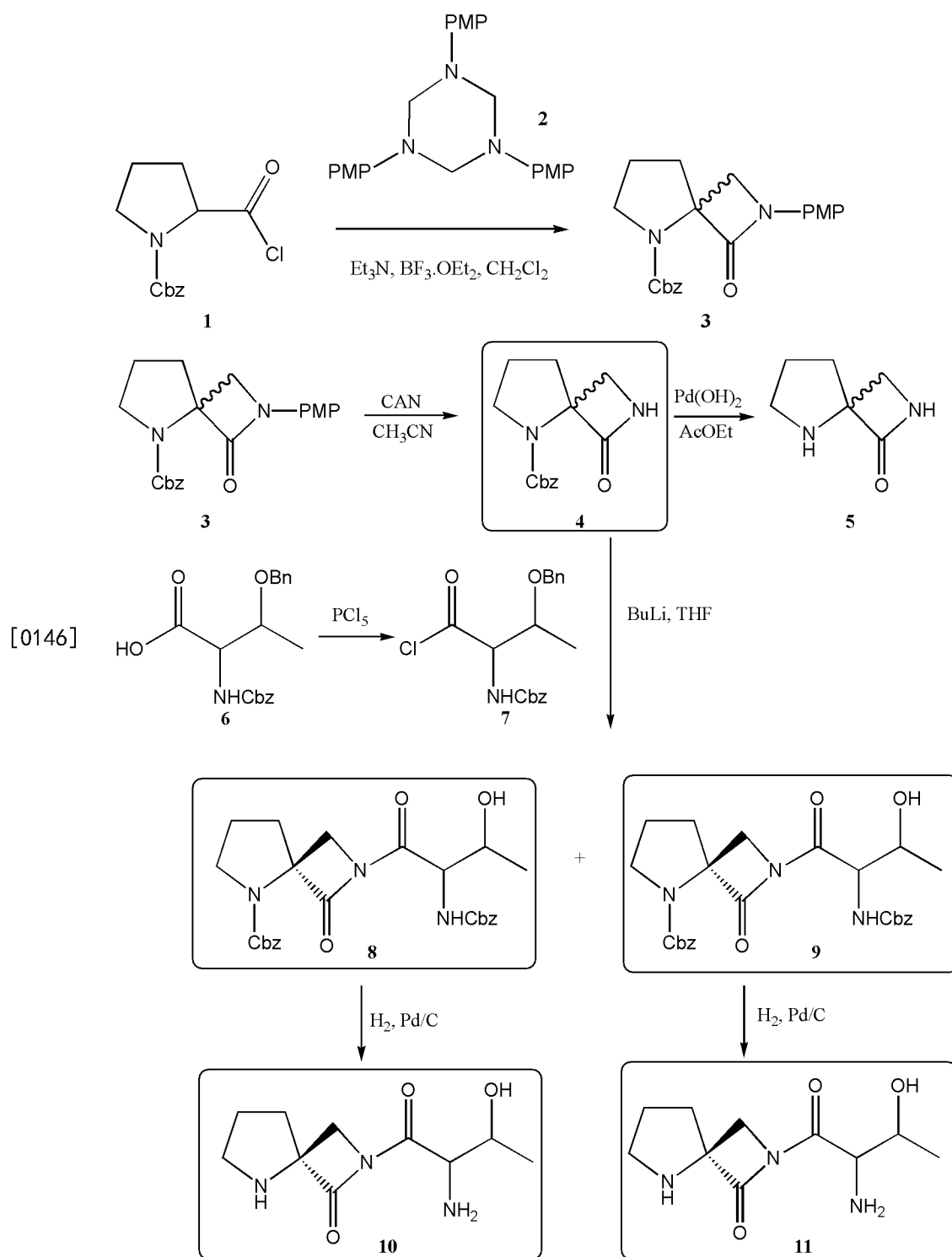
实施例

[0142] 下列实例仅提供说明的目的,而不意欲限制本公开内容的范围。

[0143] 实施例1-吡咯烷-衍生的螺 β -内酰胺衍生物的合成

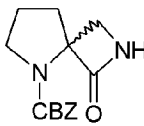
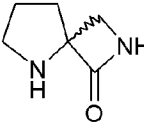
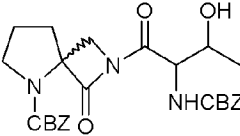
[0144] 使用下列反应序列(方案A)合成螺内酰胺。六氢1,3,5-三嗪、Cbz-L-脯氨酰氯和N-(Cbz)O-(苄基醚)-L-苏氨酰氯作为原料。

[0145] 方案A:



[0147] 表1.

[0148]

编号 #	结构	量	HPLC % 纯度	质量 (M ⁺ H)	HNMR
4		20 mg	93	261	是
5 (AK-51)		150 mg	—	127	是 (>95% 纯度)
8		17 mg	73	496	—

[0149] 实施例2-化合物和中间体的合成

[0150] 螺内酰胺3。通过从三嗪2衍生的亚甲基亚胺的施陶丁格反应实施C4未经取代的螺内酰胺3的合成。在从Cbz-L-脯氨酰氯衍生的乙烯酮和亚甲基亚胺之间的[2+2]-环加成反应以下列方式进行：通过酰氯与三乙胺在-40℃脱氯化氢45min产生乙烯酮，然后加入三嗪2的二氯甲烷溶液和三氟化硼合乙醚(其解聚合三嗪)。在12小时之后，得到了作为对映异构体的混合物的相应的螺内酰胺3，收率30至50%。在CAN的存在下从螺内酰胺3氧化移除PMP基团，得到N-未经取代的衍生物螺内酰胺4，其用Pd(OH)₂/C处理得到相应的螺内酰胺中间体5。

[0151] 在通过硅胶色谱纯化之后得到了93%纯度(HPLC)的螺内酰胺4。在使用20%至70%乙酸乙酯/环己烷梯度洗脱的硅胶色谱之后，得到了纯度>90%纯度(通过NMR)的螺内酰胺5，收率50%。

[0152] 实施例3-中间体化合物的合成途径

[0153] 三嗪2。将甲醛(37%)的水溶液(17mL)加入至在0℃冷却的对茴香胺(24.6g, 200mmol)在乙酸乙酯/水(1:1)的混合物(500mL)中的溶液中。将反应混合物在0℃搅拌3小时，然后在室温搅拌1小时，分离有机层，用水(50mL)洗涤，用Na₂SO₄干燥。在真空下移除溶剂，得到白色固体。用乙醚洗涤一次该固体以得到26.3g(固体在40℃干燥过夜)纯的三嗪2，收率97%。

[0154] 螺内酰胺中间体3。将干燥的三乙胺(10.4mL, 74.7mmol)逐滴加入至N-苄氧基羰基-L-脯氨酰氯在干燥的二氯甲烷(65mL)中冷却至-40℃的搅拌的溶液(5g, 18.7mmol)。溶液变为黄色以证实形成乙烯酮。

[0155] 在-40℃45分钟之后，逐滴加入预先在CH₂Cl₂(35mL)中混合的三嗪2(2.52g, 6.16mmol)和BF₃OEt₂(2.37mL, 18.7mmol)的紫色溶液。将混合物缓慢加热至室温过夜，然后用饱和的NaHCO₃水溶液淬灭。用CH₂Cl₂(20mL)萃取两次水层；用盐水(20mL)洗涤合并的有机层，用无水Na₂SO₄干燥。然后浓缩溶液，通过在硅胶上使用100%/环己烷至20%乙酸乙酯/环己烷的梯度洗脱的柱色谱法纯化得到7.01g纯产物，收率37%。

[0156] 螺内酰胺中间体4。在1小时内将预先在H₂O(30mL)中溶解的CAN(10.8g, 19.6mmol)

逐滴地加入至在-10℃搅拌的螺内酰胺3(2.4g, 6.55mmol)在乙腈(49mL)中的溶液中。在加入完成之后,将混合物搅拌45min(TLC显示不留有原料)。用乙酸乙酯(100mL)和饱和的NaHCO₃(50mL)稀释反应混合物。将水(100mL)和固体亚硫酸氢钠(20当量)加入至有机层。用盐水洗涤有机层,用无水Na₂SO₄干燥。然后浓缩溶液,通过在硅胶上使用100%/环己烷至50%乙酸乙酯/环己烷的梯度洗脱的柱色谱法纯化得到0.87g纯产物,收率50%。

[0157] 螺内酰胺中间体5(AK-51)。将0.5g的4溶解在20mL乙酸乙酯中,通过套管转移至在H₂(1atm)下含有50mg 10%Pd(OH)₂-C催化剂的烧瓶中。将混合物在H₂下在50PSi搅拌过夜,然后通过硅藻土滤除催化剂。浓缩有机层,通过硅胶色谱纯化得到120mg产物,收率50%。

[0158] N-(Cbz)-O-(苄基醚)-L-苏氨酰氯7。将PC15(0.61g, 2.9mmol)加入至N-(Cbz)-O-(苄基醚)-L-苏氨酸(0.95g, 2.7mmol)在干燥乙醚(27mL)中的搅拌的溶液,将混合物在室温搅拌3小时。然后在高真空下在室温移除溶剂。加入甲苯,按照上述方法移除。没有任何纯化,将粗白色固体用于偶联反应。

[0159] 螺内酰胺中间体8和9。将BuLi(0.32mL, 0.80mmol, 在己烷中)逐滴地加入至螺内酰胺4(200mg, 0.76mmol)在干燥THF(4mL)中在-78℃搅拌的溶液。在加入完成之后,将混合物在-78℃搅拌1小时。在-78℃加入在THF(4mL)中的N-(Cbz)-O-(苄基醚)-L-苏氨酰氯7。将混合物在-78℃至室温搅拌过夜。

[0160] 反应混合物用饱和的NH₄Cl(10mL)淬灭,加入乙酸乙酯(10mL)。用乙酸乙酯两次萃取水层。用MgSO₄干燥合并的有机层,浓缩得到0.44g的粗产物。采用100%CH₂Cl₂至2%MeOH/CH₂Cl₂梯度通过硅胶洗脱粗产物,得到44%至73%纯度范围的级分。对0.28g的螺内酰胺4重复该反应,在色谱法之后得到50%至73%纯度范围的级分。

[0161] 实施例4-NMDA受体结合测试

[0162] 组织制备:

[0163] 按照先前Ransom和Stec(1988)的描述,从大鼠海马或从大鼠前脑(雄性斯普拉格-道利大鼠)制备粗突触膜,充分洗涤以移除内源性氨基酸。简要地说,粗突触膜混悬在20体积的5mM pH 7.4(用于[³H]TCP结合试验)的Tris-HCl缓冲液中,或在20体积的5mM pH 7.4(用于[³H]甘氨酸-结合研究)的Tris-乙酸盐缓冲液中,使用Polytron(Virtisshear; Virtis, NY, U.S.A.)混合均匀。然后在48,000g离心20min使膜沉淀。该步骤重复两次,将匀浆储存于-70℃相同的缓冲液中。在每次使用之前,将匀浆在室温解冻,沉淀,再洗涤4次。对于[³H]甘氨酸试验,首先将沉淀在25℃在5mM含有0.04% Triton X-100的Tris-乙酸缓冲液中温育30分钟,然后通过匀浆化和离心洗涤4次。最终将洗涤的膜以2-3mg/ml的浓度混悬于5mM Tris-HCl缓冲液或5mM Tris-乙酸缓冲液中。

[0164] TCP结合测试:按照先前的描述(Haring等人,1986,1987;Kloog等人,1988a)实施特异性[³H]TCP结合的测量。最终反应混合物由在200μl的5mM Tris-HCl缓冲液中的50-100 μg的膜蛋白质组成且包含[³H]TCP或[³H]TCP和适当的浓度的NMDA-受体配体或mAbs。通过将膜添加至反应混合物引起反应。除非另有说明,在非平衡情况下在25℃实施结合测试1小时。测定在含有100μM非标记的PCP的平行样品中的非特异性结合。通过在Whatman GF/B玻璃过滤器上过滤测定结合反应,所述过滤器已用0.1%聚乙烯亚胺预先处理1小时。

[0165] 在用20nM[³H]TCP平衡受体120min之后测量[³H]TCP从其膜-结合位点的分离。在NMDA-受体配体或mAb存在和不存在下通过添加100μM未标记的PCP引起分离反应。在温育指

明的附加时段之后,立即终止反应(0时刻)。

[0166] 考察3个化合物的效果1)在海马趾CA1锥形神经元中NMDA受体-门控单个神经元电导(I_{NMDA})和2)在体外海马趾切片中在Schaffer侧突CA1突触长期增强(LTP)和长期抑制(LTD)的程度。已报告GLYX-13显示在低浓度(1-10 μ M)增强突发活化的 I_{NMDA} 和LTP,尽管同时降低LTD和单个脉冲诱发的 I_{NMDA} 。100倍高的100 μ M浓度的GLYX-13转而降低LTP和突发 I_{NMDA} ,而不再影响LTD。

[0167] 与GLYX-13相比,化合物B显示20倍能力增强。50nM的该化合物显著增强单个休克(1A)和突发诱发的(1B) I_{NMDA} ,以及加倍LTP的程度(1E)。形成对比的是,1 μ M NRX-10,050显著减少单个休克(1C)和突发诱发的((ID) I_{NMDA} ,表明100 μ M GLYX-13。(参见图2)。

[0168] AK-51显示低于化合物B的能力,但是在其激动作用中具有更广的浓度范围(图3)。100nM(2A)和1 μ M NRX-10,051增强单个休克诱发的 I_{NMDA} ,尽管1 μ M NRX-10,051加倍LTP的程度(2D),而不改变LTD(2E)。

[0169] AK-52仅仅在低浓度(100nM;3A)产生单个休克诱发的 I_{NMDA} 的轻度增强,其转而在1 μ M浓度(3B)显著降低 I_{NMDA} 。100nM AK-52产生与化合物B和AK-51类似程度的LTP的增强,但是其在1 μ M浓度转为轻微但是显著的LTP的降低,而没有改变LTD。

[0170] 与GLYX-13相比,这3个化合物显示能力大约20倍增强。在低浓度(50nM)化合物B是最有效的 I_{NMDA} 增强剂。尽管AK-51对 I_{NMDA} 的增强程度更小,当AK-51增加10-倍(100nM至1 μ M)时,该效果保持。AK-52是最弱的 I_{NMDA} 增强剂,且该效果更快逆转为明显降低 I_{NMDA} 。

[0171] 这些化合物类似程度地约加倍增强LTP的程度。GLYX-13是可以同时增加LTP和减少LTD的唯一的化合物:AK-52不影响LTD,甚至在降低 I_{NMDA} 的浓度下也不影响LTD。GLYX-13可以选择性增强由含有NR2A/B亚单元的NMDA受体介导的 I_{NMDA} ,且这些受体集中于突触外的位置,由诱导LTP的神经元突发更强激活。尽管所有测定的化合物对LTP和 I_{NMDA} 具有有效的效果,对LTD效果更弱暗示与GLYX-13相比,它们对含有NR2A/B的NMDA受体甘氨酸位点具有增加的选择性。

[0172] 实施例5-T型迷宫学习模型

[0173] 将雄性3个月大的Fisher 344 X Brown Norway F1杂交大鼠(FBNF1)用于该研究。T型迷宫由密封迷宫的黑色有机玻璃制成的臂(45cm长x10cm宽x10cm高)组成。两个衬以铁丝网的塑料瓶盖被固定在各目标臂的末端,其中放置食物奖励(Cheerios,100mg/片)。在开始训练之前,对动物逐渐减少食量至它们自由饲喂重量的约85%。在开始训练之前连续3天,使动物适应T型迷宫,迷宫中放置食物。在训练第一天,奖励选择右侧臂的动物,且训练至10次中连续9次正确选择的标准。在训练第2天,奖励选择左侧臂的动物,且训练至10次中连续9次正确选择的标准。在随后的测定日,在开始测定之前60min,以盲方式(blind manner)通过胃管饲法(4",16-ga;Braintree Scientific,Braintree MA)给动物注射AK51(0.3,1,3,10,30mg/kg口服),或DMSO溶媒(1mg/ml;Sigma,Saint Louis MO)(每组n=8-9。在测定的首次试验中,两臂用食物装饵引诱,随后20次试验仅仅奖励改变的选择(与动物先前的选择相反)(~30秒间隔-试验间隔)。计算各动物符合标准(连续5次正确选择)的试验的数量。通过ANOVA分析数据,接着进行比较单独给予药物剂量和溶媒($\alpha=.05$)的Fisher PLSD post hoc检验。

[0174] 图5描述在剥夺食物的3个月大的大鼠中在改变T型迷宫任务(20次试验)中符合标

准的试验的平均值($\pm$ SEM)。在开始测定之前60min,对动物口服注射在DMSO溶媒中的0、0.3、1、3、10或30mg/kg AK051(每组n=8-9)。Fisher PLSD post hoc与溶媒相比,*** $P < .001$,** $P < .01$ 。

[0175] 实施例6神经性疼痛的福尔马林测定

[0176] 按照先前的描述(Abbott等人,Pain,60,91-102,1995;Wood等人,Neuroreport,19,1059-1061,2008)实施试验。将雄性3个月大的Fisher 344 X Brown Norway F1杂交大鼠(FBNF1)用于本研究。在开始测定之前,在连续2天内每天10min使动物适应测定室(30x30x60cm不透明的有机玻璃)。在测定当天,在注射福尔马林之前60min(每组n=8-9),以盲方式通过胃管饲法(4",16-ga;Braintree Scientific,Braintree MA)给动物注射AK51(0.3,1,3,10,30mg/kg口服),或DMSO溶媒(1mg/ml;Sigma,Saint Louis MO)。在注射福尔马林之前10min将动物放置进测定室。对于福尔马林注射,手动限制住大鼠,给予皮下注射1.5%福尔马林(50 μ L 26-ga针;Sigma,Saint Louis MO)进在左后爪足底表面上的侧足垫。在注射福尔马林之后,将大鼠放回测定室。注射福尔马林后50min,从下面在成角度的镜子帮助下对动物录像。在晚期(注射福尔马林后30-50min),以盲方式,通过对两种测量具有评定者之间和内部高($r > 0.9$)可靠性的受训练试验者,离线定量舔注射的脚爪所花费的总时间和注射的脚爪退缩的总数量。在测定立即之后将所有动物用CO₂安乐死。通过ANOVA分析数据,接着进行比较单独药物剂量和溶媒($\alpha = .05$)的Fisher PLSD post hoc检验。图6描述在足垫注射福尔马林(50 μ L的1.5%福尔马林)之后在反应后期(30-50min)按照退缩中减少%定义的痛觉缺失平均值($\pm$ SEM)%。

[0177] 实施例7-增强学习和记忆的口服制剂

[0178] 在二甲基亚砜(DMSO)中制备AK-51的口服制剂。以300 μ L的体积给予所有剂量。然后通过管饲法(用插入的饲喂针强制通过口饲喂)口服给予动物计算的体积以将基于体重的如下规定剂量递送至动物:0.0mg/kg 300 μ L DMSO(溶媒);0.3mg/kg,在DMSO中300 μ L;1.0mg/kg,在DMSO中300 μ L;3.0mg/kg,在DMSO中300 μ L;10.0mg/kg,在DMSO中300 μ L;30.0mg/kg,在DMSO中300 μ L。

[0179] 在用上文所述的剂量之一开始测定之前60分钟注射动物。然后,使用交替的T型迷宫任务(20次试验)评价动物中的学习行为。该方案在实施例5中描述。简要地说,T型迷宫是选择任务。将受试大鼠放置于“T”的底部。短暂延迟之后,允许其探索迷宫和选择进入右侧或左侧臂。根据不同标准对选择评分,所述标准包括自发交替、提示性奖励或暗示优先选择。基于本研究中适用的标准,使用T型迷宫测定学习和记忆。对于各动物测定,放置在迷宫的一端的食物用作正强化物。

[0180] 在T型迷宫测定中通过口服给予1.0mg/kg剂量AK-51的动物显示学习行为的统计学显著增强($P < 0.001$)。在T型迷宫测定中通过口服给予3.0mg/kg剂量非肽类似物NRX-10,051的动物也显示学习行为的统计学显著增强($P < 0.01$)。

[0181] 实施例8异构体

[0182] 在实施例4NDMA结合测试中使用AK-55的两种不同异构体。AK-55的一种异构体有效地增强NMDA,而另一种不能。图7A表示在全细胞记录下在CA1锥形神经元中1 μ M AK55(实心棒)15min浴应用对标准化药理学-分离的NMDA受体-门控电流的效果的时程(平均值 $\pm$ SEM,n=6)。B:在全细胞记录下在CA1锥形神经元中1 μ M AK55(实心棒)15min浴应用对药理

学-分离的NMDA受体-门控电流的效果的时程(平均值 $\pm$ SEM, n=7)。C:与未处理的对照切片(空心的环, n=8)相比, 1 μ M AK6(实心棒, 实心的环, n=8)的浴应用对由高频率Schaffer侧突刺激(2x100Hz/500毫秒)导致的细胞外兴奋性突触后的电位斜率(平均值 $\pm$ SEM fEPSP)的长期增强(LTP)程度的效果的时程。

[0183] 实施例9生物化学测试

[0184] 表B描述了AK51针对多种靶标的结合测试的结果:

[0185] 表B

[0186]

靶标	物种	浓度	%抑制
谷氨酸, AMPA	大鼠	10 μ M	-8
谷氨酸, 红藻氨酸	大鼠	10 μ M	-13
谷氨酸, 促代谢型, mGlu5	人类	10 μ M	-7
谷氨酸, NMDA, 激动型(agonism)	大鼠	10 μ M	27
谷氨酸, NMDA, 甘氨酸	大鼠	10 μ M	-6
谷氨酸, NMDA, 苯环利定	大鼠	10 μ M	-5
谷氨酸, NMDA, 多胺	大鼠	10 μ M	-14
谷氨酸, 非选择性	大鼠	10 μ M	-10
甘氨酸, 土的宁敏感型	大鼠	10 μ M	4
钾通道hERG	人类	10 μ M	3

[0187] 等价体

[0188] 本领域技术人员将识别或可以确定只需使用常规试验的本文描述的本发明的特定实施方案的很多等价体。这类等价体意欲包含于下列权利要求中。

[0189] 交叉引用

[0190] 本文引用的所有专利、公开的专利申请、网页和其它参考文献的全部内容在此清楚地通过引用完整地并入本文。

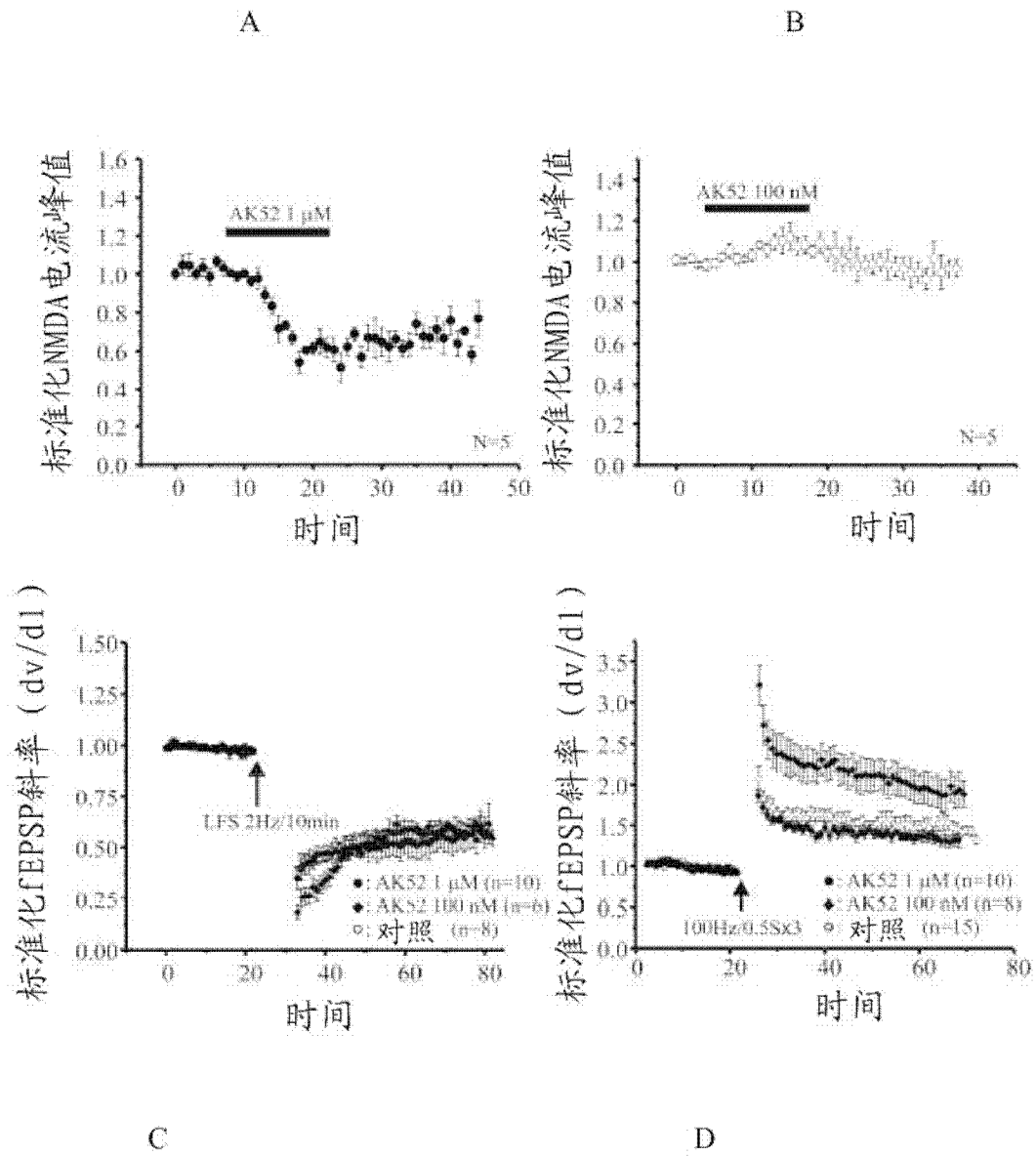


图1

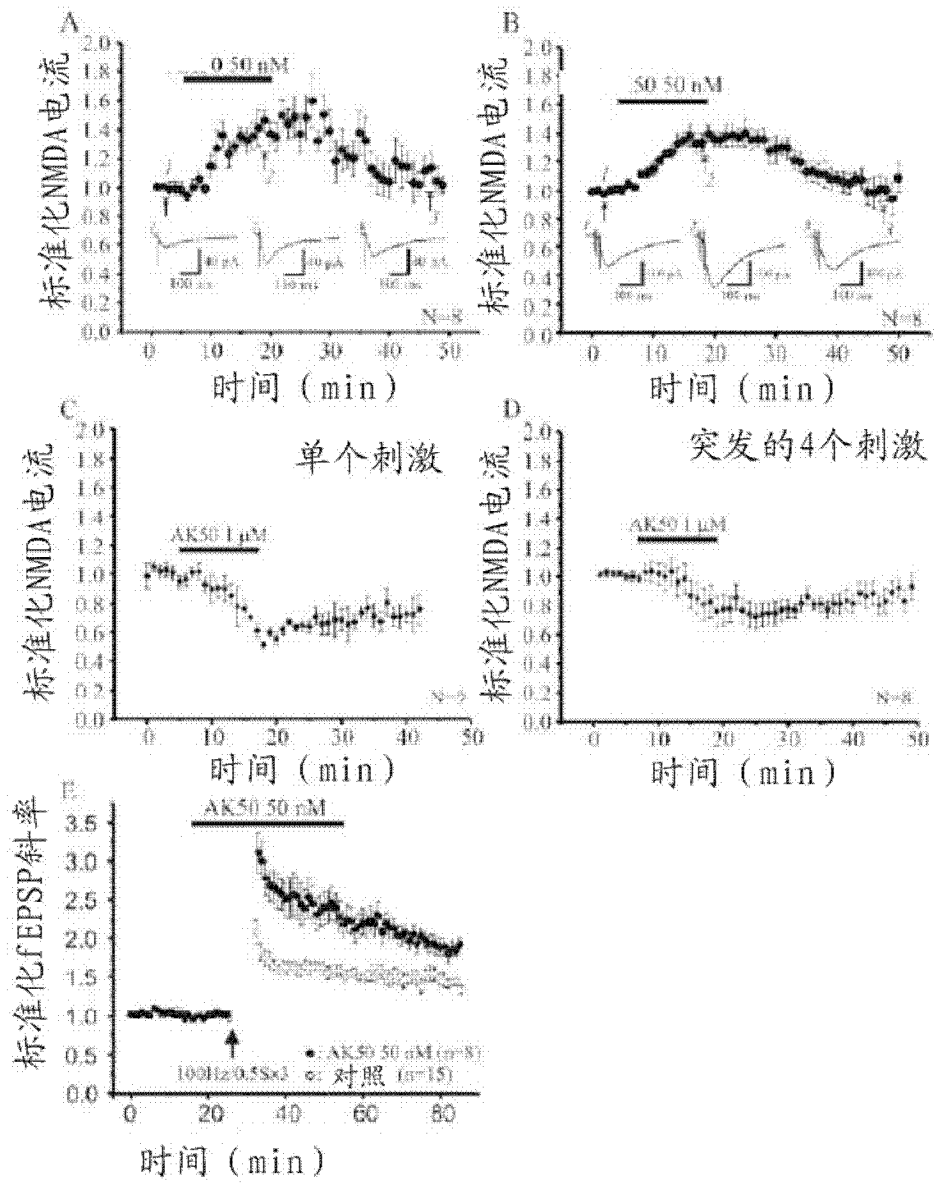


图2

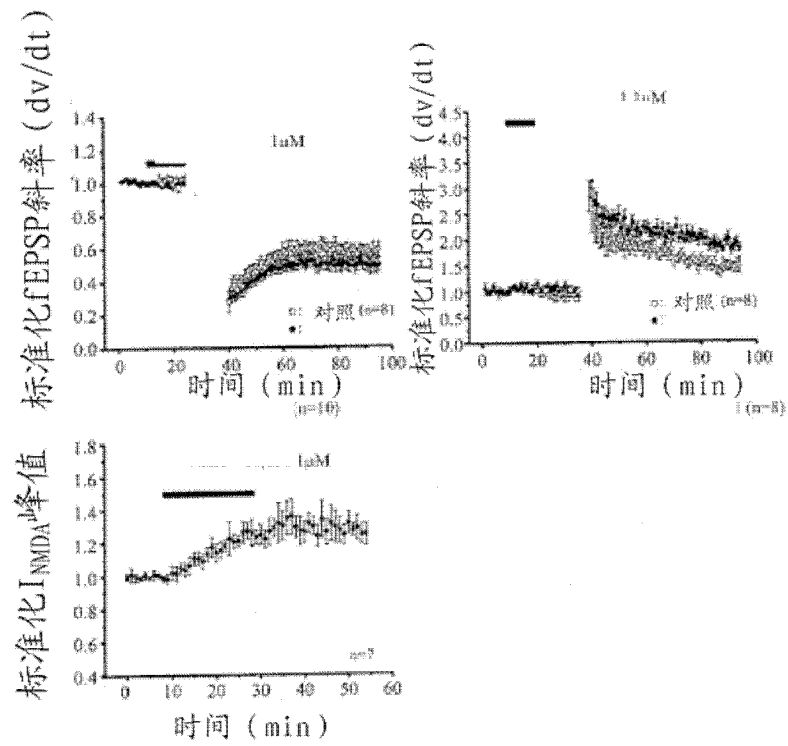


图3

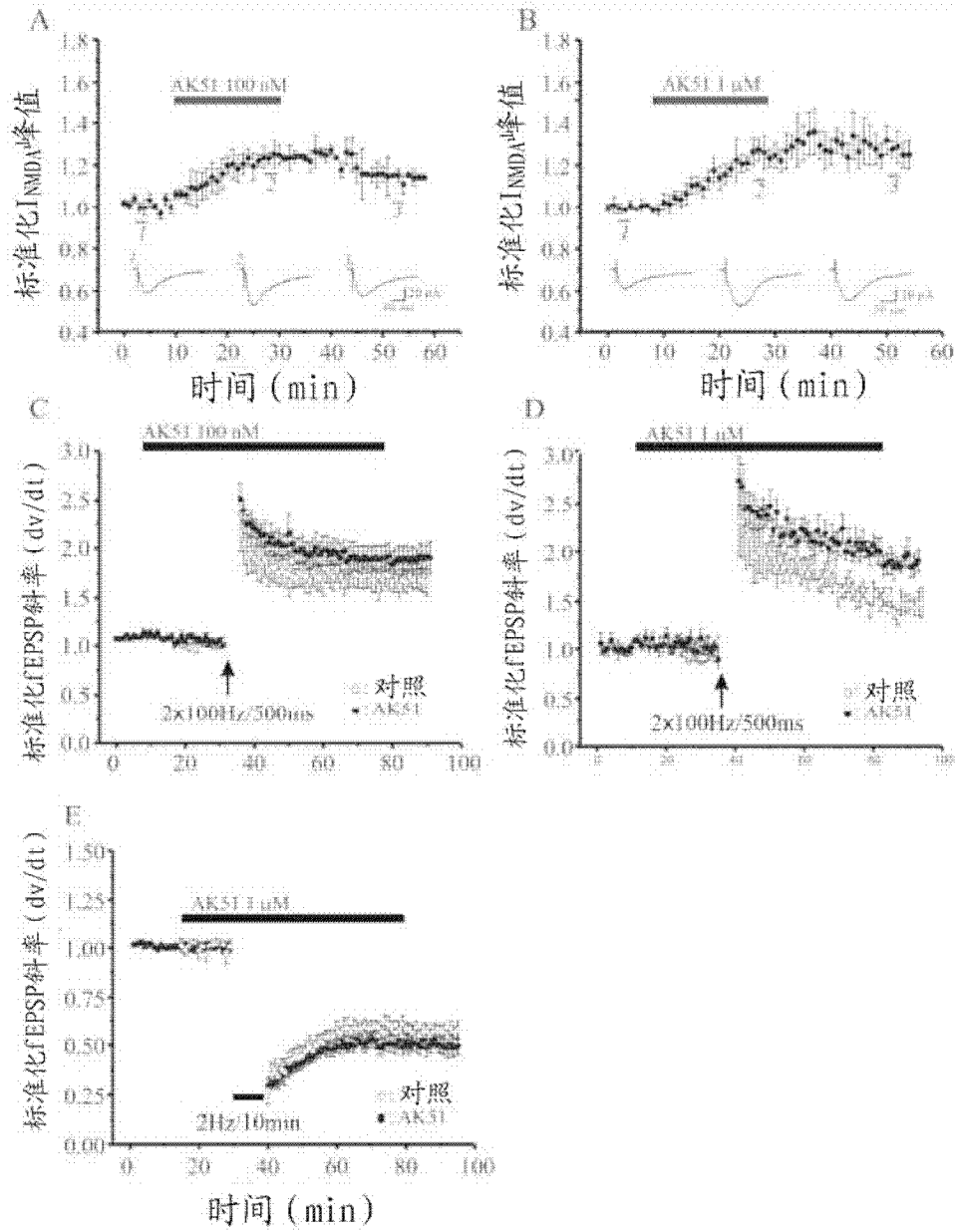


图4

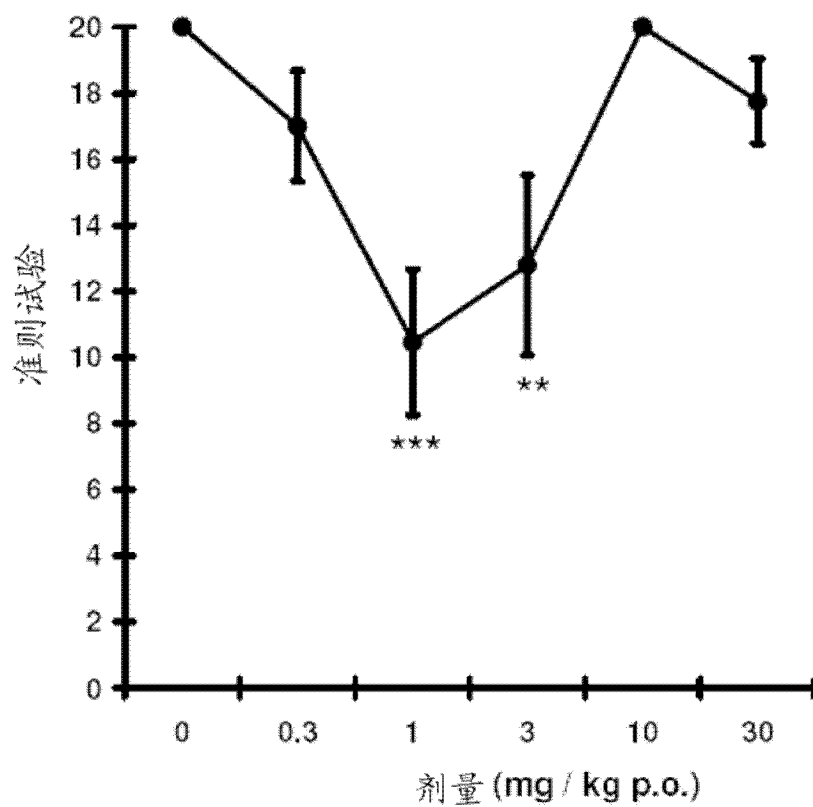


图5

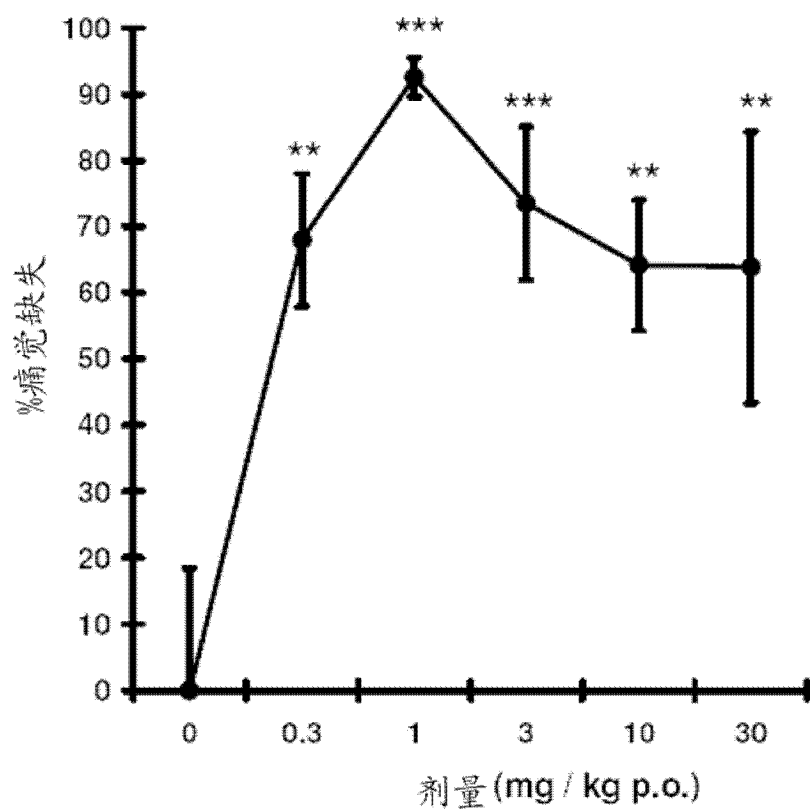


图6

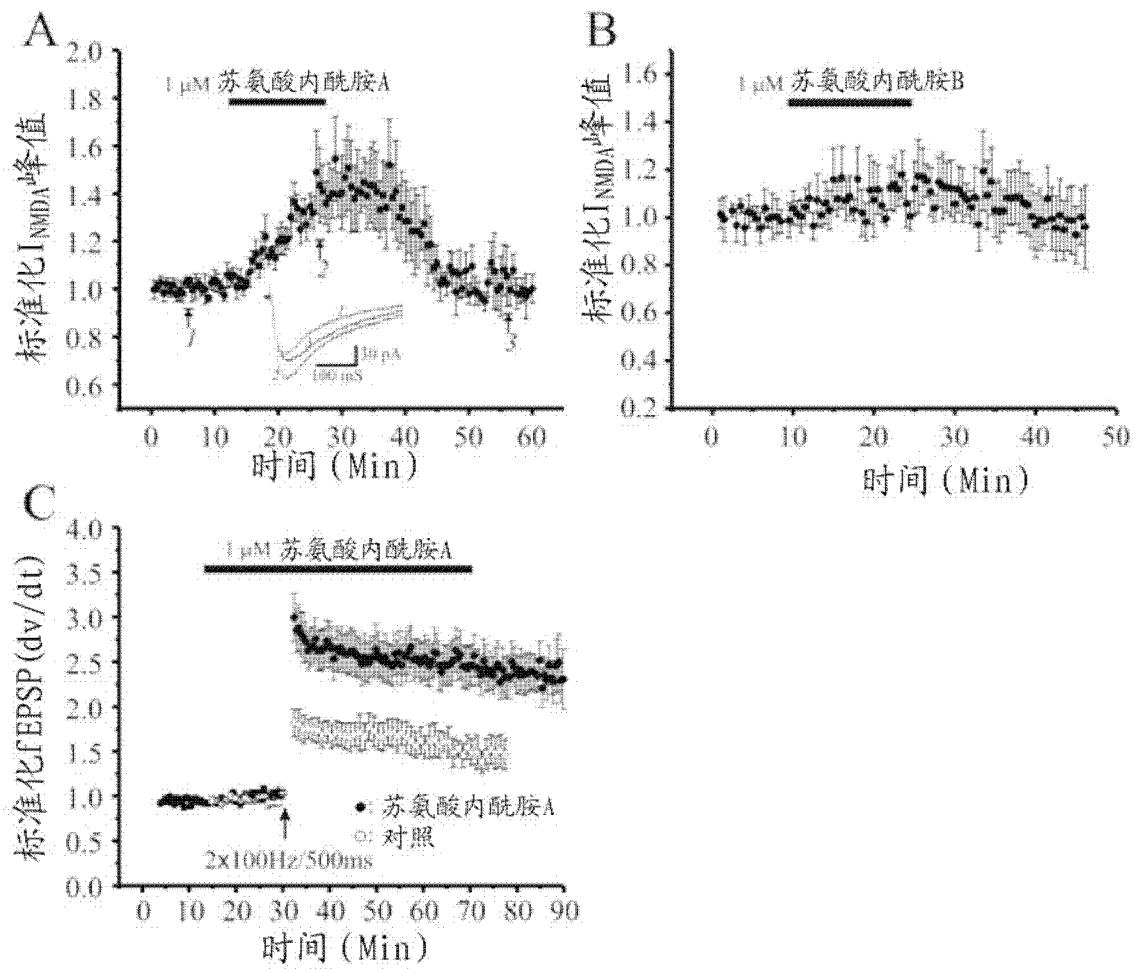


图7

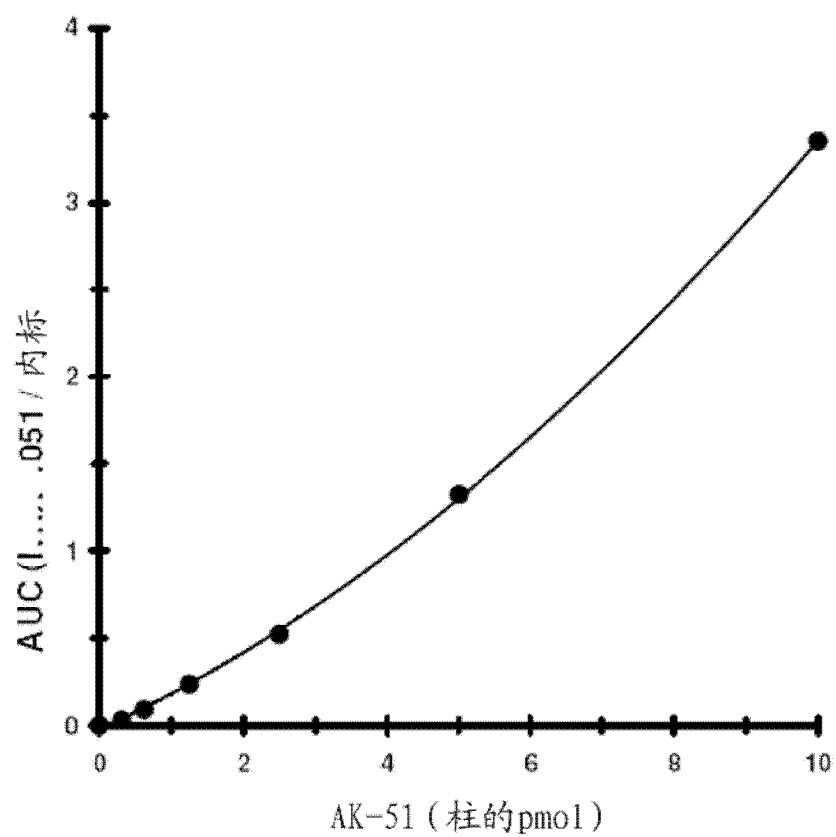


图8