



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102007121 B

(45) 授权公告日 2013. 08. 14

(21) 申请号 200980113797. 3

A61K 31/506 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 04. 02

A61P 25/18 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/046943 2008. 04. 22 US

(56) 对比文件

WO 2007020502 A2, 2007. 02. 22,

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 10. 19

审查员 孙文倩

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/039293 2009. 04. 02

(87) PCT申请的公布数据

W02009/131815 EN 2009. 10. 29

(73) 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 J·M·肖斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 周铁 李连涛

(51) Int. Cl.

C07D 403/12 (2006. 01)

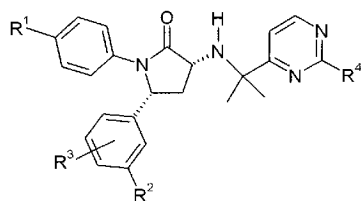
权利要求书2页 说明书23页

(54) 发明名称

作为CB-1配体的1,5-二苯基-吡咯烷-2-酮
化合物

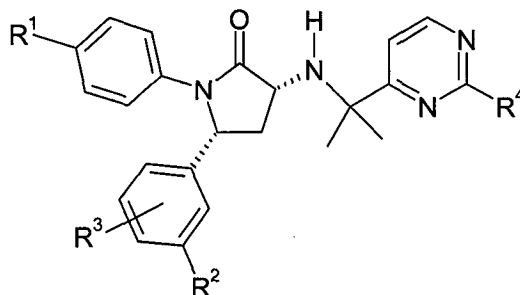
(57) 摘要

本发明公开了用于治疗与精神分裂症
有关的肥胖和认知损害的式(I)的CB-1
受体反向激动剂化合物和药物组合物。



(I)

1. 下式的化合物或其药用盐：



R^1 选自氢、氯、氰基、三氟甲基、二氟甲氧基和三氟甲氧基；

R^2 选自氢、卤素、氰基、被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷基和被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷氧基；

R^3 选自氢、氟和氯；

R^4 选自三氟甲基、氰基和环丙基；

前提条件是当 R^1 是氢、氯、氰基或三氟甲基时， R^2 是被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷氧基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，其中 R^2 选自氢，氟，氯，氰基，三氟甲基，1,1-二氟乙基，三氟甲氧基，二氟甲氧基和 1,1,2,2-四氟乙氧基。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物或其药用盐，其中 R^2 选自三氟甲基，1,1-二氟乙基，二氟甲氧基，三氟甲氧基和 1,1,2,2-四氟乙氧基，且 R^3 是氢。

4. 根据权利要求 1-3 的任一项所述的化合物或其药用盐，其中 R^1 是二氟甲氧基或三氟甲氧基。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，其中 R^2 是被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷氧基。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物或其药用盐，其中 R^3 是氢。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，所述化合物是 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮。

8. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，所述化合物是 (3R,5R)-3-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮。

9. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，所述化合物是 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2-酮。

10. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药用盐，所述化合物是 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-乙基氨基]-5-苯基-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2-酮。

11. 药物组合物，其包含根据权利要求 1-10 的任一项所述的化合物或其药用盐和药用载体或赋型剂。

12. 根据权利要求 1-10 的任一项所述的化合物或其药用盐在制备用于治疗选自下列

之中的疾病或辅助戒烟的药物中的用途：与过量食物摄入有关的饮食性疾病、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状、物质滥用、酒精依赖和与抗精神病药治疗有关的体重增加。

13. 根据权利要求 1-10 的任一项所述的化合物或其药用盐在制备用于联合治疗选自下列之中的疾病的药物中的用途：精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状和与抗精神病药治疗有关的体重增加，其中所述药物与抗精神病药以同时、分开或顺序组合的方式给药。

作为 CB-1 配体的 1,5- 二苯基 - 吡咯烷 -2- 酮化合物

[0001] 大麻素 CB-1 受体 (CB-1) 主要存在于中枢和周围神经系统中,且少量存在于几个外周器官中。大麻素 CB-2 受体 (CB-2) 主要地存在于免疫系统中。大麻素受体配体的药理学和治疗潜力已有人作了综述 (Pacher 等人, Pharmacol. Rev. (2006) 58, 389)。CB-1 受体拮抗剂 / 反向激动剂已表明可有效减少肥胖动物模型的进食和体重。已经表明, CB-1 拮抗剂 / 反向激动剂进一步加强了抗精神病药在各种试验中的活性, 并且可有效用于治疗精神分裂症的阴性症状和认知症状。另外, 在抗精神病药治疗诱导的体重增加的动物模型中已经证明了 CB-1 拮抗剂 / 反向激动剂的体重减轻效应, 因此还可有效用于控制在目前抗精神病药治疗中所发现的在治疗中出现的体重增加和代谢综合症。另外, 已经表明, CB-1 受体拮抗剂 / 反向激动剂减少了饮酒动物模型的酒精消耗, 因此可用于酗酒和 / 或物质滥用的治疗。

[0002] 作用于 CB-2 受体的化合物可能影响免疫功能。因此, 对 CB-1 受体具有活性的治疗剂的开发中, 希望对 CB-1 受体的选择性高于对 CB-2 受体的选择性, 以避免不希望有的效应。

[0003] 已经研究了许多中枢作用的 CB-1 受体拮抗剂 / 反向激动剂用于治疗肥胖和 / 或其它病症。例如, WO2007/020502 公开了某些取代的吡咯烷 -2- 酮化合物作为 CB-1 拮抗剂。

[0004] 口服给药通常是用于治疗肥胖和 / 或精神分裂症的药剂的优选给药途径。对于显示了良好的口服生物利用率的化合物, 它们典型地必须具有良好的水溶性和足够的代谢稳定性以使肝脏中的第一道降解最小化。内源性大麻素配体和它们结合在 CB-1 受体中的互补位点是高度亲脂性的。因此, 已知的 CB-1 受体配体也倾向于是亲脂性的, 这导致了差的溶解度。还有许多 CB-1 受体配体是相对代谢不稳定的。许多 CB-1 化合物的这些溶解度和 / 或代谢性能已经导致了有限的口腔吸收和生物利用率。

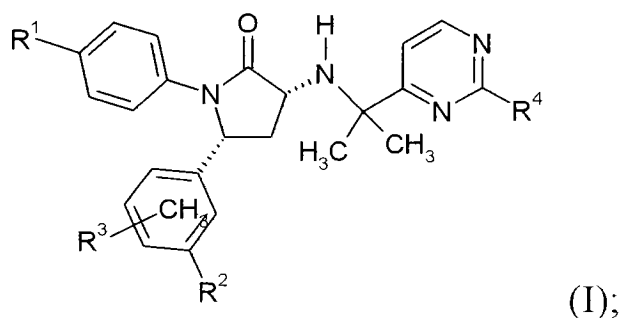
[0005] 一些化合物的氧化代谢可能导致反应性的、亲电子的代谢中间产物的形成。这种中间产物易于与身体中的其他亲核体如蛋白、谷胱甘肽、DNA、RNA 等反应, 这能够导致不希望有的毒性效应。

[0006] 治疗剂的药物动力学性能能够受共同给药的其他药剂的影响。这些所谓的药物 - 药物相互作用可以导致该治疗剂在血浆中的浓度的增加或减低, 导致与该治疗剂的耐受性和 / 或功效有关的问题。通过可饱和的机制 (例如 CYP3A4、CYP2D6、CYP2C9 和 CYP1A2) 代谢清除的化合物尤其容易受到这种药物 - 药物相互作用。相反地, 抑制这些可饱和机制的化合物容易引起这种药物 - 药物相互作用。一些已知的 CB-1 拮抗剂 / 反向激动剂显示出这种倾向。

[0007] 对于相比于 CB-2 受体具有高选择性、具有高体内效力 (低 nM Kb)、具有可接受的生物利用率、不形成反应性的代谢中间产物并且具有降低的药物 - 药物相互作用的潜在性的 CB-1 受体拮抗剂或反向激动剂存在着需求。本发明的化合物提供一些或所有这些优点。

[0008] 本发明提供了式 (I) 的化合物及其药用盐:

[0009]



[0010] 其中：

[0011] R^1 选自氢、氯、氰基、三氟甲基、二氟甲氧基和三氟甲氧基；

[0012] R^2 选自氢、卤素、氰基、被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷基和被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷氧基；

[0013] R^3 选自氢、氟和氯；

[0014] R^4 选自三氟甲基、氰基和环丙基；

[0015] 前提条件是当 R^1 是氢、氯、氰基或三氟甲基时， R^2 是被 1-5 个氟基取代的 (C_1-C_3) 烷氧基。

[0016] 本领域普通技术人员将认识到，本发明的化合物可以具有不同的特定氢原子的连接点的形式存在，因此是互变异构的。单个互变异构体及其混合物被认为在式 (I) 的化合物的范围内，就好像被特定地绘出一样。互变异构体的每一种形式可以存在、相互转化，并且在规定的条件下进行互变异构。

[0017] 本发明的另一个方面提供了包括根据式 (I) 的化合物或其药用盐和药用载体、稀释剂或赋型剂的药物组合物。

[0018] 本发明的该方面的一个实施方案提供了包括根据式 (I) 的化合物或其药用盐和药用载体、稀释剂或赋型剂的药物组合物，其中式 (I) 化合物或其盐的单一立体异构体的光学纯度大于 90%，优选大于 95%，例如大于 99%。

[0019] 本发明的另一个方面提供了用于治疗根据式 (I) 的化合物或其药用盐。

[0020] 本发明的该方面的一个实施方案提供了根据式 (I) 的化合物或其药用盐，其用于治疗与过量食物摄入有关的饮食性疾病、体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状、物质滥用、酒精依赖和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加，或者用作戒烟辅助物。

[0021] 本发明的该方面的另一个实施方案提供了根据式 (I) 的化合物或其药用盐，其用于与抗精神病药以同时、分开或顺序组合的方式来治疗体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加。

[0022] 在本发明的另一个方面中，提供了根据式 (I) 的化合物或其药用盐在制备用于治疗与过量食物摄入有关的饮食性疾病、体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状、物质滥用、酒精依赖和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加，或者用于辅助戒烟的药物中的用途。

[0023] 本发明的该方面的一个实施方案提供了根据式 (I) 的化合物或其药用盐在制备药物中的用途，所述药物用于体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、

与精神分裂症有关的阴性症状和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加的联合治疗,其中所述药物与抗精神病药以同时、分开或顺序组合的方式给药。

[0024] 在本发明的该方面的另一个方面,提供了治疗哺乳动物,尤其人的与过量食物摄入有关的饮食性疾病、体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状、物质滥用、酒精依赖和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加或用于辅助戒烟的方法,包括将有效量的根据式 (I) 的化合物或其药用盐给药于需要这种治疗的哺乳动物。

[0025] 本发明的该方面的另一个实施方案提供了治疗人的体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知损害、与精神分裂症有关的阴性症状和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加的方法,包括将有效量的根据式 (I) 的化合物或其药用盐与抗精神病药以同时、分开或顺序组合的方式给药于需要这种治疗的人。

[0026] 另外,本发明提供了适合于治疗与过量食物摄入有关的饮食性疾病、体重增加、肥胖、精神分裂症、与精神分裂症有关的认知受损、与精神分裂症有关的阴性症状、物质滥用、酒精依赖和 / 或与抗精神病药治疗有关的体重增加或者辅助戒烟的药物制剂,包括式 (I) 的化合物或其药用盐以及药用载体、稀释剂或赋型剂。

[0027] 在本发明的化合物与抗精神病药同时、分开或顺序组合治疗的用途中,非典型的抗精神病药是优选的,例如奥氮平、氯氮平和 / 或利哌利酮。

[0028] 式 (I) 化合物是 CB-1 受体的选择性的反向激动剂或拮抗剂。这些化合物尤其对 CB-1 受体的选择性高于对 CB-2 受体的选择性。作为 CB-1 受体的反向激动剂 (或拮抗剂),所述化合物用于治疗 and / 或预防与 CB-1 受体有关的病症。这种病症包括例如与过量食物摄入有关的饮食性疾病、肥胖、精神分裂症、尤其与精神分裂症有关的阴性症状,例如与精神分裂症有关的认知损害,物质滥用、酒精依赖、戒烟和与抗精神病药治疗有关的体重增加。参见 DSM-IV-TR., Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 修订第四版, Text Revision (2000)。技术人员将认识到,具有用于病理心理疾病的可供选择的命名法则、疾病分类学和分类系统,并且这些系统随着医学科学进展而演变。

[0029] 式 (I) 的化合物还可以用来改善体重增加,不论该相关的体重增加对象是否能够被分类为临床肥胖。

[0030] 本发明的另一个方面提供了诱导体重减轻的美容方法,包括将式 (I) 的化合物给药于人。

[0031] 有效量的式 (I) 化合物可以给药于需要这种治疗或预防的患者,以便实施该方法或治疗。对根据本发明的方法的预防给药的需要通过使用公知的危险因素来确定。个体化合物的有效量在最终分析中由负责治疗的医生来决定,但取决于诸如所要治疗的疾病、该疾病和存在的其他疾病或病症的严重度、所选择的给药途径、患者可能同时需要的其他药物和治疗以及在医生判断中的其他因素之类的因素。式 (I) 的化合物的治疗或预防剂量的大小当然随患者体重和年龄、所要治疗的疾病的性质和严重度、所使用的特定化合物以及所需的给药途径而变化。

[0032] 该剂量可以按单个日剂量给药,或者总的日剂量可以按分开的多个剂量给药,例如每日两次、三次或四次。此外,基于选择用于给药的个体化合物的性能和 / 或剂型的特征 (即改进释放),该剂量可以不频繁给药,例如每周一次、每周两次、每月一次等。对于不频

繁给药,单位剂量可以相应地更大。当经由透皮途径或通过连续静脉内溶液给药时,该剂量给药当然在整个给药方案中是连续而非间歇的。

[0033] 如在上文和整个发明说明书中使用的,除非另有说明,下面的术语将具有以下含义:

[0034] 本文所使用的术语“(C₁-C₃) 烷基”是指甲基、乙基、丙基和异丙基。

[0035] “卤素”是指氟、氯或溴。

[0036] “(C₁-C₃) 烷氧基”是指甲氧基、乙氧基、丙氧基和异丙氧基。

[0037] “反向激动剂”是指通过逆转该受体的组成性活性(constitutive activity)而具有负性内在活性的那些化合物。反向激动剂用于抑制或逆转激动剂的活性。

[0038] “肥胖”是指具有大量体脂的病症。如果其具有 30kg/m² 或更高的体重指数(BMI),则认为该人是肥胖的。BMI = 27-30 的人一般被认为是超重。通常,正常体重的人具有 19.9-26.9 的 BMI。肥胖可以归因于任何原因,不论是遗传性的还是环境性的。可导致肥胖或者为肥胖的原因的疾病的实例包括饮食过量、身体活动减少和显示代谢活动减低的病理学条件。本发明不受按 BMI 标准的肥胖的确切定义的影响,所有此类定义被认为是等同物。

[0039] 在这里作为形容词使用的术语“药物的”或“药用的”是指对接受者基本上无毒和基本上无害的。

[0040] “药物组合物”进一步是指,载体、溶剂、赋型剂和/或盐必须与该组合物的活性成分(例如式(I)的化合物)相容。根据本领域普通技术人员的理解,术语“药物制剂”和“药物组合物”通常是可互换的,并且对于本申请的目的来说也是如此使用。还应该理解的是,根据本发明的药物组合物会具有一种或多种式(I)的化合物,且对于给定的药物组合物根据需要还可以含有一种或多种其它活性成分。

[0041] (肥胖或体重增加)的“预防”是指在肥胖疾病发病之前给予治疗以防止肥胖发生。另外,如果在已经肥胖的患者中开始治疗,这种治疗预期会防止进一步的体重增加或防止体重增加的进一步进展。这种预防的一个例子是防止用抗精神病药治疗的人的进一步体重增加。

[0042] 本文所使用的缩写如下定义:

[0043] “THF”表示四氢呋喃。

[0044] “MTBE”表示甲基叔丁基醚。

[0045] “HOAc”表示乙酸。

[0046] “Et₂O”是指乙醚。

[0047] “BSA”表示牛血清白蛋白。

[0048] “GDP”表示鸟苷二磷酸。

[0049] “GTP”表示鸟嘌呤核苷-5' - 三磷酸。

[0050] “GTP-γ³⁵S”表示鸟嘌呤核苷-5' (γ-硫代)-三磷酸。

[0051] “HEPES”表示(4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸)。

[0052] “HOAc”表示乙酸。

[0053] “i. v.”或“iv”是指静脉内。

[0054] “p. o.”或“po”是指口服。

[0055] “THF”表示四氢呋喃。

[0056] “ T_r ”是指保留时间。

[0057] 虽然所有本发明的化合物可用作 CB-1 反向激动剂（或拮抗剂），但某些类型是优选的，例如具有任何以下列举的取代基选择的化合物：

[0058] 1) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-CF_3$ 或 $-CN$ 。

[0059] 2) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 或 $-CF_3$ 。

[0060] 3) R^1 是 $-OCF_3$ 或 $-OCHF_2$ 。

[0061] 4) R^1 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ 。

[0062] 5) R^2 是氢，氟，氯，氰基，三氟甲基，1,1-二氟乙基，三氟甲氧基，二氟甲氧基或 1,1,2,2-四氟乙氧基。

[0063] 6) R^2 是三氟甲基，1,1-二氟乙基，二氟甲氧基，三氟甲氧基或 1,1,2,2-四氟乙氧基。

[0064] 7) R^2 是三氟甲基，1,1-二氟乙基，二氟甲氧基，三氟甲氧基或 1,1,2,2-四氟乙氧基，且 R^3 是氢。

[0065] 8) R^2 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ 。

[0066] 9) R^2 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ，且 R^3 是氢。

[0067] 10) R^2 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 或 1,1,2,2-四氟乙氧基。

[0068] 11) R^2 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 或 1,1,2,2-四氟乙氧基，且 R^3 是氢。

[0069] 12) R^3 是氢。

[0070] 13) R^4 是 $-CF_3$ 。

[0071] 14) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ ，且 R^2 是氢，氟，氯，氰基，三氟甲基，1,1-二氟乙基，三氟甲氧基，二氟甲氧基或 1,1,2,2-四氟乙氧基。

[0072] 15) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ ，且 R^2 是三氟甲基、1,1-二氟乙基、三氟甲氧基、二氟甲氧基或 1,1,2,2-四氟乙氧基，且 R^3 是氢。

[0073] 16) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-CF_3$ 或 $-CN$ ； R^2 是氢、 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^3 是氢；且 R^4 是 $-CF_3$ 。

[0074] 17) R^1 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^2 是氢、 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^3 是氢；且 R^4 是 $-CF_3$ 。

[0075] 18) R^1 是 $-OCF_3$ 、 $-CF_3$ 或 $-CN$ ； R^2 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^3 是氢；且 R^4 是 $-CF_3$ 。

[0076] 19) R^1 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^2 是 $-OCF_3$ 或 $-CF_3$ ； R^3 是氢；且 R^4 是 $-CF_3$ 。

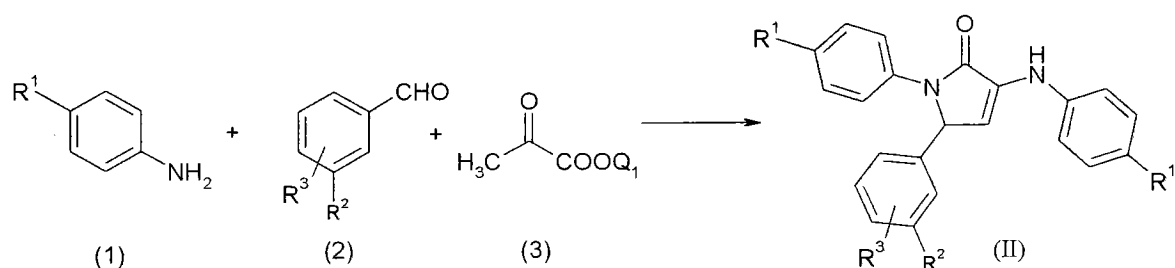
[0077] 本发明的优选的具体化合物是本文实施例中所述的化合物，包括它们的游离碱和药用盐。

[0078] 一般反应路线

[0079] 本发明的化合物能够根据下面的合成反应路线通过本领域公知且完全了解的方法来制备。这些反应路线的步骤的适合的反应条件是本领域中公知的，并且溶剂和共反应剂的适当替代是在本领域技术人员的能力范围内。同样地，本领域技术人员将体会到，合成中间体根据需要可以通过各种公知技术来分离和 / 或提纯，且常常可以在后续合成步骤中直接使用各种中间体，只需很少的提纯或不用提纯。而且，技术人员将体会到，在一些情况下，结构部分引入的顺序不是关键性的。制备式 I 的化合物所需的特定步骤次序取决于所要合成的特定化合物、起始化合物以及取代结构部分的相对不稳定性，这是熟练化学工作者所充分领会的。除非另有说明，所有取代基如上文所定义，且所有试剂在本领域中是公知的。

[0080] 反应路线 I

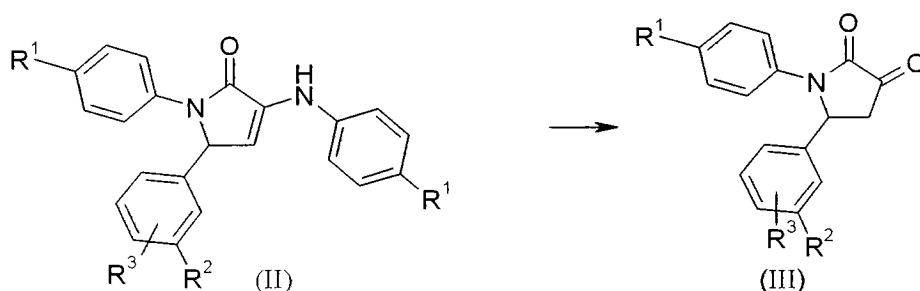
[0081]



[0082] 在反应路线 I 中, 式 (II) 的化合物可通过 Andreichikov 及其同事所述的方法来制备 (Andreichikov 等人, Zhurnal Organicheskoi Khimii 22(10), 2208-13(1986)), 其中式 (1) 的胺和式 (2) 的醛的混合物用丙酮酸的酯 (3) 在适合的溶剂如冰 HOAc 中处理, 其中 Q_1 是 C_{1-3} 烷基。适合的丙酮酸的酯包括丙酮酸乙酯。该反应可以在室温和溶剂沸点之间的温度下进行。在某些情况下, 产物 (II) 可以在反应的过程中或者在添加溶剂之后沉淀, 其中该产物在所述溶剂中不是高度可溶的。这些溶剂包括异丙醇和水以及它们的混合物。如果形成了沉淀, 式 (II) 的化合物可以通过过滤和真空干燥或者通过过滤和色谱法来分离。或者, 该化合物可以通过反应的浓缩和残留物的色谱法来分离, 或者通过有机萃取物的水后处理和浓缩以及色谱法来分离。

[0083] 反应路线 II

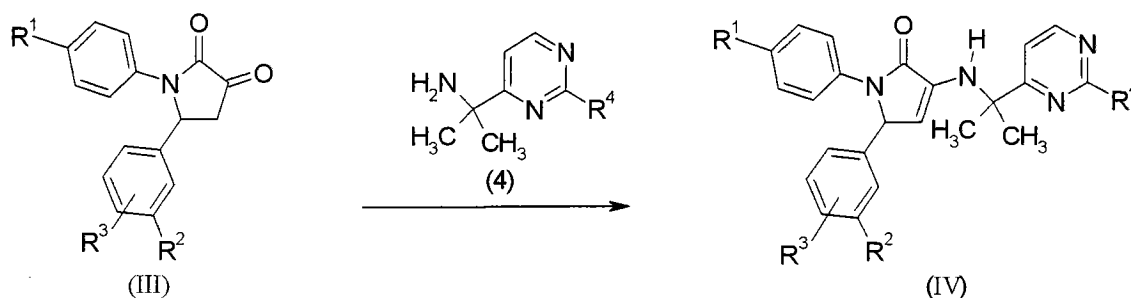
[0084]



[0085] 在反应路线 II 中, 式 (III) 的化合物可以通常任选在酸的存在下用水处理式 (II) 的化合物来制备。该反应还可以任选在附加溶剂如四氢呋喃、乙酸和乙醇或它们的混合物的存在下进行。适合的酸包括三氟乙酸和盐酸。通常有利的是在至少一当量的 2,5-二甲氧基四氢呋喃的存在下进行该反应。一旦已经形成式 (III) 的化合物, 它可以通过添加水并冷却以形成沉淀和随后通过过滤分离沉淀来进行分离, 或者通过添加溶剂如甲苯和醋酸异丙酯的混合物, 再用水和饱和碳酸氢钠水溶液洗涤来进行分离。有机层可以用干燥剂如硫酸钠干燥, 再浓缩, 以提供作为粗混合物的产物。该有机层还可以直接在下一反应中使用, 不用进一步浓缩或提纯。

[0086] 反应路线 III

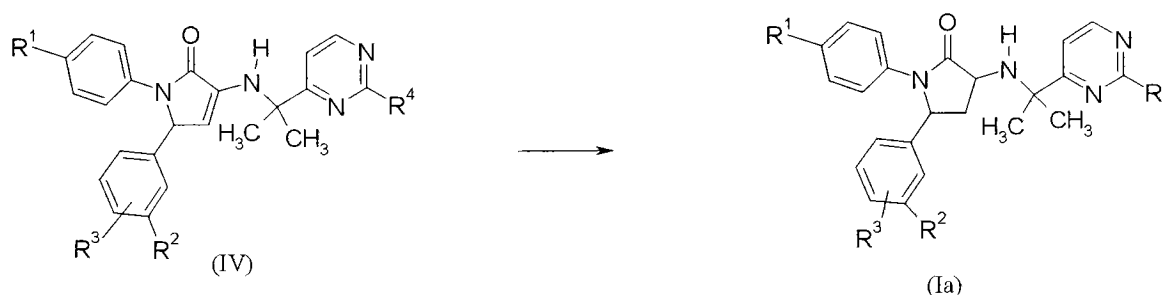
[0087]



[0088] 在反应路线 III 中, 式 (IV) 的化合物可以通过在适合的溶剂如甲苯、甲醇、醋酸异丙酯或所述溶剂的混合物中用式 (4) 的化合物处理式 (III) 的化合物的溶液来制备。该反应还可以在催化剂如 HOAc 的存在下进行。如果需要, 式 (IV) 的化合物可以通过本领域已知的方法例如通过沉淀或通过硅胶色谱法来分离。

[0089] 反应路线 IV

[0090]



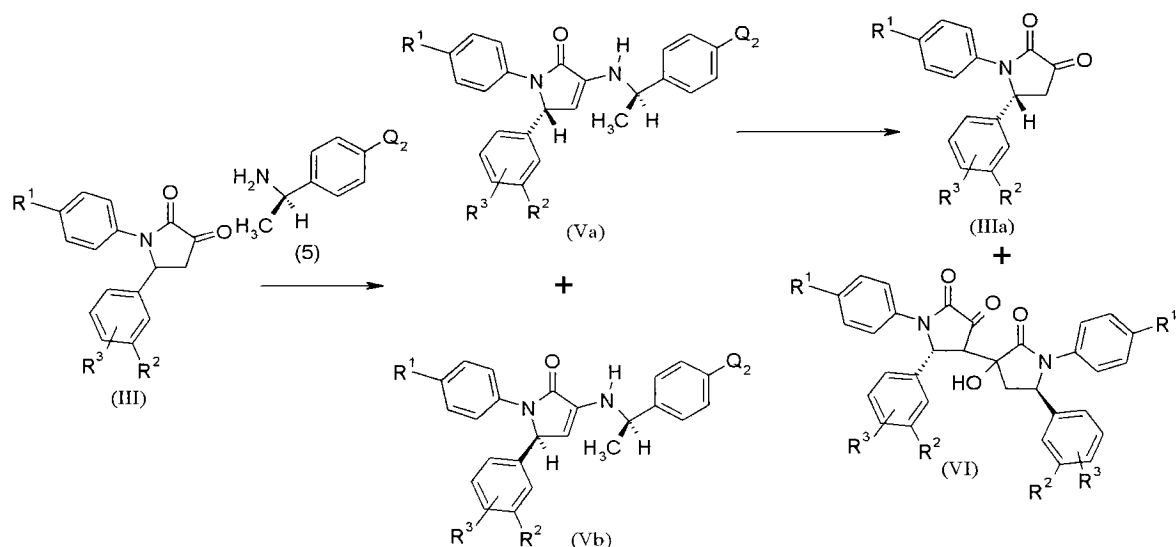
[0091] 在反应路线 IV 中, 式 (Ia) 的化合物可以通过在适当的还原条件下处理式 (IV) 的化合物来形成。适合的还原条件包括在溶剂如四氢呋喃中在 HOAc 的存在下用 NaCNBH₃ 处理。式 (Ia) 的化合物可以通过诸如产物的水后处理或者沉淀之类的方式来分离。可以使用诸如硅胶色谱法之类的技术来进行进一步提纯。

[0092] 在式 (Ia) 的化合物的合成中, 式 (III) 或式 (IV) 的中间体的任何一个可以在后续反应中不用提纯粗中间体而直接使用。

[0093] 式 (Ia) 化合物的单一对映异构体通常比相应的外消旋物优选。这些对映异构体可以通过使用诸如应用手性固定相的制备色谱法之类的技术拆分式 (Ia) 的化合物来制备。对映异构体也可以通过拆分来制备, 这包括用旋光活性酸形成外消旋混合物的盐, 和提纯所需的非对映异构体盐。所需的非对映异构体盐可以通过结晶来提纯。或者, 式 (II)、(III) 或 (IV) 的任何中间体可以进行拆分, 以提供基本上单一对映异构体, 然后后者可以使用如上所述的方法来转化, 从而提供对映异构体纯化形式的式 (Ia) 的化合物例如式 (I) 的化合物。式 (II)、(III) 或 (IV) 的中间体可以通过使用诸如采用手性固定相的制备色谱法之类的技术拆分相应的外消旋化合物来制备。

[0094] 反应路线 V

[0095]



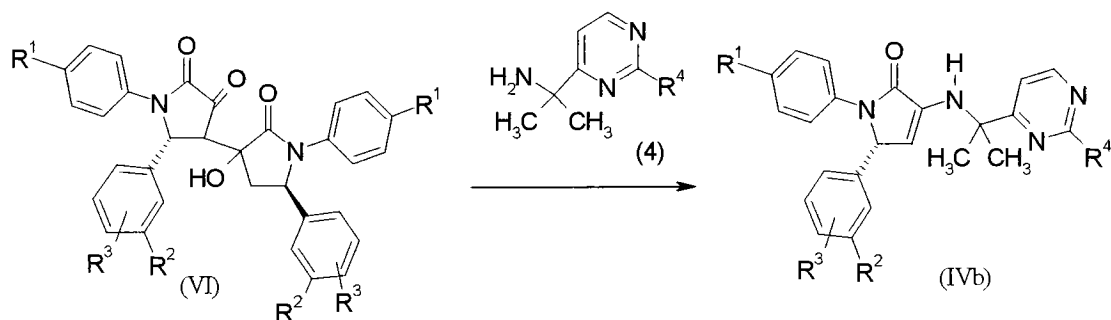
[0096] 制备式 (III) 的化合物的提纯对映异构体的可供选择且通常优选的方法在反应路线 V 中示出。式 (III) 的外消旋化合物与式 (5) 的化合物反应, 其中 Q₂ 是氢或卤素, 从而形成式 (Va) 和 (Vb) 的化合物的非对映异构体混合物。优选的式 (5) 的化合物包括 R-α-甲基苄基胺或 S-α-甲基苄基胺。该缩合可以如先前在反应路线 III 中所述通过将式 (III) 的化合物和化合物 (5) 在惰性溶剂中合并来进行。该反应还可以在催化剂如 HOAc 的存在下进行。式 (Va) 和 (Vb) 的非对映异构体然后使用诸如硅胶色谱法或从惰性溶剂例如异丙醇或甲醇 /KOH 中结晶之类的技术来分离。反应路线 V 中的所需非对映异构体 (表示为 (Va)) 然后被水解, 形成纯化的式 (IIIa) 的对映异构体。适合的水解条件包括用盐酸或三氟乙酸水溶液和水和任选的 2,5-二甲氧基四氢呋喃处理所需非对映异构体的 HOAc 溶液。在有些情况下, 该粗 (IIIa) 可以含有大量的式 (VI) 的二聚体。

[0097] 在反应路线 V 中, 式 (III) 的外消旋化合物可以由在反应路线 II 中所示的方法获得的粗产物。另外, 水解反应获得的式 (IIIa) 的提纯对映异构体 (任选含有 (VI)) 不用进一步提纯而直接用于反应路线 III 中所示的方法。

[0098] 在反应路线 V 中, 选择化合物 (5) 的 (R)-对映异构体来举例说明该方法。本领域技术人员将认识到, 化合物 (5) 的 (S)-对映异构体也可以在该方法中使用。是否使用 (R) 或 (S)-对映异构体的选择可以根据哪种将获得更容易分离的所需非对映异构体来做出。

[0099] 反应路线 VI

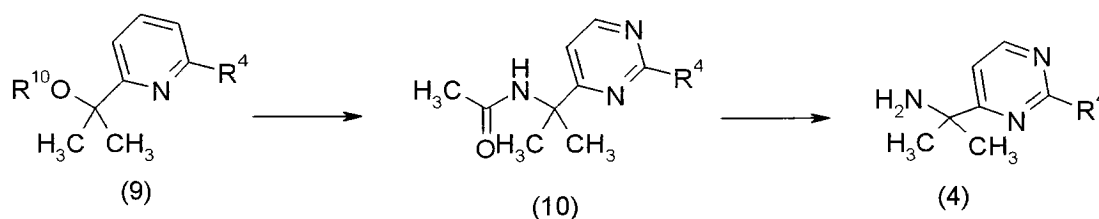
[0100]



[0101] 在反应路线 VI 中, 式 (IVb) 的化合物还可以通过在如化合物 (III) 与 (4) 的反应 (反应路线 III) 中所述的相同条件下用化合物 (4) 处理式 (VI) 的化合物来形成。

[0102] 反应路线 VII

[0103]



[0104] 在反应路线 VII 中, 化合物 (4) 通过在酸的存在下用乙腈处理化合物 (9) 来制备, 以提供式 (10) 的化合物, 其中 R^{10} 是氢、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 。适合的酸包括硫酸或适合的路易斯酸如三氟化硼乙醚络合物。在将以上物质合并以后, 将该反应加热, 冷却至大约室温, 并用氢氧化钠水溶液猝灭。化合物 (10) 通过传统方式例如用适合的溶剂如乙酸乙酯萃取和浓缩有机层来分离。将化合物 (10) 在盐酸水溶液中加热至约 100°C 。该化合物用乙醚萃取。该水层用氢氧化钠水溶液碱化, 再用乙醚萃取。将有机层合并, 用硫酸钠干燥, 过滤, 再浓缩, 得到化合物 (4)。

[0105] 制备和实施例

[0106] 在制备和实施例中提到的高效液相色谱法 (HPLC) 的条件:

[0107] 方法 1

[0108] LC 柱: Phenomenex® Gemini® C_{18} 2.0x 50mm 3.0 μm

[0109] 梯度: 5-100% 乙腈 w/0.1% 甲酸, 7.0 分钟, 然后在 100% 下保持 1.0 分钟。

[0110] 柱温度: $50^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$

[0111] 自动取样器温度: 环境温度

[0112] 流速: 1.0 mL/min.

[0113] 在 214 和 300nm 波长下检测信号

[0114] 方法 2

[0115] LC 柱: Phenomenex® Gemini® C_{18} 2.0x 50mm 3.0 μm

[0116] 梯度: 5-100% 乙腈 w/0.1% 甲酸, 3.5 分钟; 然后在 100% 下保持 0.5 分钟。

[0117] 柱温度: $50^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$

[0118] 自动取样器温度: 环境温度

[0119] 流速: 1.0 mL/min

[0120] 在 214 和 300nm 波长下检测信号

[0121] 方法 3

[0122] LC 柱: Zorbax® RX- C_{18} 4.6x 250mm 5 μm

[0123] 梯度: 50-90% 乙腈 w/0.03M 磷酸盐缓冲液 (磷酸盐缓冲液 = 5.52g NaH_2PO_4 和 1.4mL H_3PO_4 在 2L Milli-Q H_2O 中), 15 分钟。

[0124] 柱温度: 40°C

[0125] 自动取样器温度: 环境温度

[0126] 流速: 1.5 mL/min。

[0127] 在 260nm 波长下检测信号。

[0128] 方法 4

[0129] LC 柱: Zorbax® SB-phenyl 4.6x 150mm 5 μm

[0130] 等梯度:36% A 和 64% B,其中 A = 0.05M NH_4OAc /水 (pH 5.0) 和 B = 乙腈,10 分钟。

[0131] 柱温度:35°C

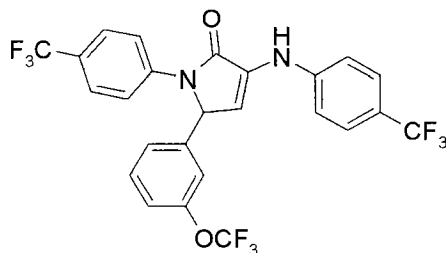
[0132] 自动取样器温度:环境温度

[0133] 流速:2.0mL/min。

[0134] 在 206nm 波长下检测信号。

[0135] 制备 1:(±)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-3-(4-三氟甲基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

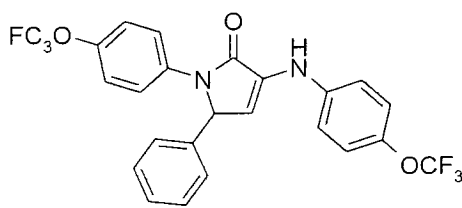
[0136]



[0137] 将 3-(三氟甲氧基)-苯甲醛 (25.0g, 132mmol) 和丙酮酸乙酯 (15.3g, 132mmol) 在冰醋酸 (125mL) 中在环境温度下搅拌 10 分钟。在连续搅拌下经 15 分钟滴加 4-(三氟甲基)苯胺 (46.7g, 290mmol), 将该溶液加热到 30°C, 再搅拌约 22 小时。将该溶液冷却到 26°C, 添加异丙醇 (125mL) 和水 (125mL)。将该溶液在室温下搅拌 15 分钟, 将该沉淀过滤, 用异丙醇-水的 1:1 混合物 (100mL×2) 洗涤。在真空和 40°C 下干燥, 获得白色粉末状的 (±)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-3-(4-三氟甲基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (60.46g, 84%) :LC-MS ESI m/z : 545.1 (M-H^-), R_t = 10.9min., 方法 3。¹H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 8.76 (s, 1H), 7.86 (d, 2H, J = 8.5Hz), 7.70 (d, 2H, J = 8.5Hz), 7.56 (d, 2H, J = 9.0Hz), 7.47 (d, 2H, J = 8.5Hz), 7.44-7.41 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.29 (d, 1H, J = 8.0Hz), 7.22 (d, 1H, J = 8.0Hz), 6.66 (d, 1H, J = 3.0Hz), 6.29 (d, 1H, J = 2.5Hz)。

[0138] 制备 2:(±)-5-苯基-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

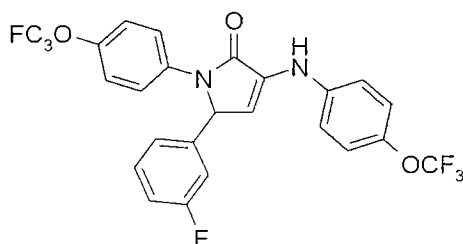
[0139]



[0140] 将 4-(三氟甲氧基)苯胺 (1.86L, 13.75mol) 分批添加到苯甲醛 (559mL, 5.50mol) 和丙酮酸乙酯 (605mL, 5.50mol) 在冰醋酸 (5.0L) 中的溶液中。发现放热至 43°C。在环境温度下搅拌 18 小时。过滤出沉淀, 并且用冰醋酸 (500mL) 洗涤湿滤饼。在真空下干燥 3 小时, 获得白色结晶固体状的 (±)-5-苯基-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (1999g, 74%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 8.43 (s, 1H), 7.74 (d, J = 12Hz, 2H), 7.19-7.38 (m, 11H), 6.42 (s, 1H), 6.08 (s, 1H)。LC-MS ESI m/z : 495.0 ($\text{M}+1^+$), 493.0 ($\text{M}-1^-$), T_r = 6.60min., 方法 1。

[0141] 制备3:(±)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

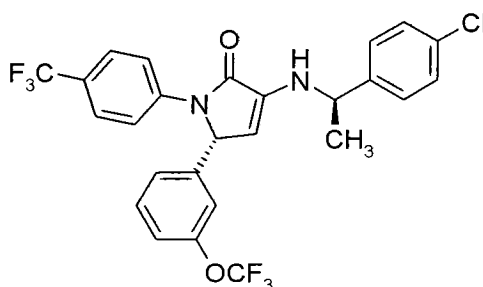
[0142]



[0143] 将3-氟苯甲醛(10.0mL, 94.3mmol)、4-(三氟甲氧基)苯胺(31.9mL, 235.7mmol)和丙酮酸乙酯(10.4mL, 94.3mmol)在冰醋酸(150mL)中混合。在环境温度下搅拌18小时。过滤该沉淀,并用己烷洗涤,获得(±)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮(23.4g, 48%)。LC-MS ESI m/z : 511 ($M-1$)⁻, T_r = 5.45min., 方法1。

[0144] 制备4:1-(4-三氟甲基苯基)-3-[1(R)-1-(4-氯苯基)-乙基氨基]-5(R)-(3-三氟甲氧基苯基)-1,5-二氢吡咯-2-酮

[0145]

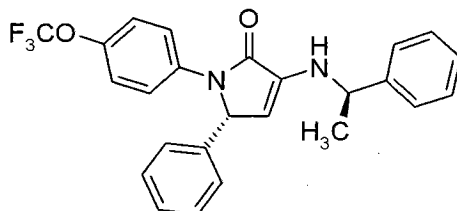


[0146] 将乙醇(120mL)、冰醋酸(15mL)、水(3.0mL, 164.7mmol)、三氟乙酸(6.2mL, 82.4mmol)、(±)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-3-(4-三氟甲基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮(30.0g, 54.9mmol)和2,5-二甲氧基-四氢呋喃(10.7mL, 82.4mmol)混合。将该溶液加热至50℃,并将该反应混合物搅拌18小时。中断加热溶液,添加水(35mL),再将反应混合物冷却到-19℃。过滤淤浆,用水-甲醇的1:4混合物(20mL)洗涤固体。将滤液转移到分液漏斗中,用6%盐水(280mL)洗涤,将6%盐水(100mL)、甲醇(40mL)、乙醚(100mL)和饱和碳酸氢钠溶液(43mL)添加到有机相中。分离各层,将甲醇(60mL)加到有机相中,并将该溶液浓缩至含有(±)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮的大约1体积。添加甲醇(60mL)和(R)-4-氯-α-甲基苄胺(7.8mL, 55.0mmol),并在室温下搅拌24小时。通过HPLC检测反应完成(方法4),然后将该溶液冷却至-7℃,并在该温度下继续搅拌72小时。将氢氧化钾(0.69g, 10.5mmol)在甲醇(11mL)中的预混合溶液添加到反应混合物中,将该溶液加热到10℃,再搅拌另外4小时。将该溶液冷却到-7℃,将该淤浆过滤,再用甲醇(5mL×3)冲洗所得产品。在真空中将固体干燥,获得白色固体状的1-(4-三氟甲基-苯基)-3-[1(R)-(4-氯-苯基)-乙基氨基]-5(R)-(3-三氟甲氧基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮(12.3g, 47.7%); LC-MS ESI m/z : 539.0 ($M-H$)⁻, T_r = 4.3min., 方法4。¹H NMR(500MHz, DMSO- d_6) δ 7.76(d, 2H, J =

8.5Hz), 7.62(d, 2H, $J = 9.0\text{Hz}$), 7.38-7.36(m, 2H), 7.30-7.27(m, 3H), 7.10(dd, 1H, $J = 8.5, 1.0\text{Hz}$), 7.05(d, 1H, $J = 7.5\text{Hz}$), 6.95(s, 1H), 6.06(d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$), 5.96(d, 1H, $J = 3.0\text{Hz}$), 5.22(d, 1H, $J = 3.0\text{Hz}$), 4.35-4.32(m, 1H), 1.43(d, 3H, $J = 6.5\text{Hz}$)。

[0147] 制备 5: 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(R)-苯基-1,5-二氢-吡咯-2-酮

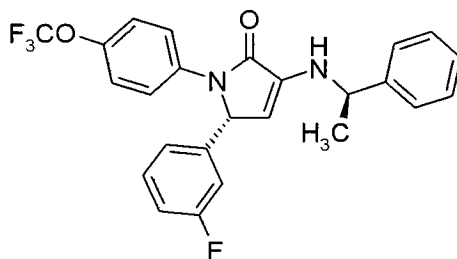
[0148]



[0149] 将乙酸 (464mL, 8.09mol)、2,5-二甲氧基四氢呋喃 (393mL, 3.03mol)、水 (2.27L) 和三氟乙酸 (153mL, 2.02mol) 按序添加到 (±)-5-苯基-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (1000g, 2.02mol) 在 THF (8.43L) 中的溶液中。将该反应混合物在环境温度下搅拌 18 小时。添加甲苯 (4.0L) 和醋酸异丙酯 (2.0L)。用水 (8.0L) 和饱和碳酸氢钠溶液 (6.0L) 洗涤该混合物。丢弃水层。向有机层添加 (R)-(+)-α-甲基苄胺 (390mL, 3.03mol)。将该溶液在环境温度下搅拌 3 小时。将该反应混合物浓缩, 获得黑油状的 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-(5)-(S)-苯基-1,5-二氢-吡咯-2-酮和 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-(R)-5-苯基-1,5-二氢-吡咯-2-酮的混合物。将该混合物 (888g, 2.02mol) 溶解在异丙醇 (2.0L) 中, 再冷却到 -7℃。过滤该沉淀, 并用冷异丙醇洗涤。在真空下干燥 12 小时, 得到灰白色固体状的 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-(R)-5-苯基-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (130g, 29%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.64(d, $J = 8\text{Hz}$, 2H), 7.34(d, $J = 8\text{Hz}$, 2H), 7.24(m, 4H), 7.11(m, 4H), 6.98(d, $J = 4\text{Hz}$, 2H), 5.78(m, 2H), 5.13(s, 1H), 4.30(m, 1H), 1.44(d, $J = 4\text{Hz}$, 3H)。LC-MS ESI m/z : 439(M+H)⁺, $T_r = 6.30\text{min.}$, 方法 1。

[0150] 制备 6: 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

[0151]

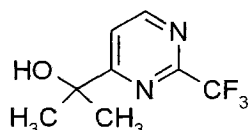


[0152] 将水 (46.8mL, 2.6mol)、乙酸 (10.5mL, 182.7mmol)、三氟乙酸 (6.9mL, 91.3mol) 和 2,5-二甲氧基四氢呋喃 (6.5mL, 50.2mmol) 加入到 (±)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(4-三氟甲氧基-苯基氨基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (23.4g, 45.7mmol) 在 THF (45mL) 中的溶液中。将该反应混合物在 30℃ 下搅拌 18 小时。观察到 (R)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮的显著形成 (LC-MS

ESI m/z : 352 (M-H)⁻, 方法 1)。将该反应混合物倒入甲苯 (200mL)、醋酸异丙酯 (50mL) 和水 (100mL) 中, 并搅拌 5 分钟。分离各层, 用水 (50mL) 和 5% 碳酸氢钠溶液 (50mL) 洗涤有机层。向该有机层中添加 (R)-(+)- α -甲基苄胺 (7.7mL, 59.9mmol)。将该溶液在环境温度下搅拌 18 小时。添加 (R)-(+)- α -甲基苄胺 (3.0mL, 24.8mmol), 并加热至 30℃, 保持 3 小时。用水和盐水洗涤反应混合物。将反应混合物浓缩, 获得 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(S)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮和 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮的混合物。将该混合物溶解在异丙醇 (70mL) 中, 并在环境温度下搅拌 72 小时。过滤该沉淀, 用异丙醇洗涤, 获得白色固体状的 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (6.30g, 30%)。LC-MS ESI m/z : 457 (M+H)⁺, T_r = 5.13min., 方法 1。

[0153] 制备 7: 2-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇

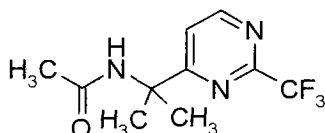
[0154]



[0155] 将 THF (200mL) 和甲基溴化镁 (3.0M 的乙醚溶液, 81mL, 243mmol) 的溶液冷却到 0℃。经 5 分钟的时间添加三氟甲基嘧啶-4-甲酸甲酯 (16.7g, 81mmol) 在 THF (100mL) 中的溶液。在 0℃ 下搅拌 30 分钟, 然后缓慢地倾倒入饱和氯化铵水溶液中。用乙醚萃取水层, 合并各有机层, 用硫酸钠干燥, 过滤, 再在减压下浓缩, 得到透明无色油状的 2-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇 (16.7g, 100%)。MS (m/z): 207.2 (M+H)⁺。

[0156] 制备 8: N-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基]-乙酰胺

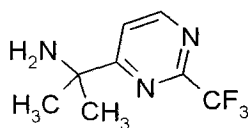
[0157]



[0158] 将乙腈 (300mL) 和 2-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇 (16.5g, 80mmol) 的溶液加热至 90℃。在单独的反应容器内, 将乙腈 (70mL) 冷却至 0℃, 并以使得温度不超过 10℃ 的这种速率添加硫酸 (19.2mL, 360mmol)。将该冷却的硫酸溶液添加到 2-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇和乙腈的加热溶液中, 并在 90℃ 下搅拌 60 分钟。冷却到室温, 浓缩至约 1/3 原始体积, 并添加 5N NaOH 水溶液 (150mL)。在乙酸乙酯和盐水之间分配, 然后用乙酸乙酯 (3×) 萃取水层。在减压下浓缩合并的有机层, 获得黄色固体状的 N-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基]-乙酰胺 (15.4g, 78%)。MS (m/z): 248.0 (M+H)⁺。

[0159] 制备 9: 1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙胺

[0160]

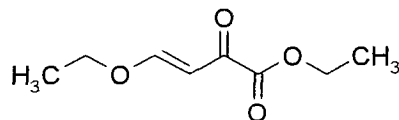


[0161] 将 N-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基]-乙酰胺 (15.4g, 62mmol) 和 5N HCl 水溶液 (150mL) 的溶液加热到 100℃, 保持 20 小时, 然后冷却到室温。用乙醚

(2×) 萃取反应物,然后用 5N NaOH 水溶液使该水层变成碱性。用乙醚 (3X) 萃取水层,用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤,再在减压下浓缩,得到棕色油状的 1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙胺 (7.2g,56%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃): δ 8.80(d,J = 5.3Hz,1H), 7.68(d,J = 5.3Hz,1H), 1.76(br s,2H), 1.49(s,6H)。

[0162] 制备 10:(E)-4-乙氧基-2-氧代-丁-3-烯酸乙酯

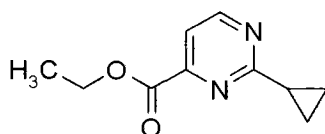
[0163]



[0164] 参考文献:Dujardin, G;Rossignol, S.;Brown, E. Synthesis,1998,763-770。在环境温度下将乙基乙二酰氯酯 (67mL,600mmol) 添加到乙酸钡 (1.35g,6mmol)、乙基乙烯基醚 (315mL,3.3mol) 和三乙胺 (125mL,900mmol) 的溶液中。加热到 55℃,并保持 24 小时,冷却到室温,然后将反应混合物在乙醚和水之间分配。在减压下浓缩有机层,获得棕色油状的 (E)-4-乙氧基-2-氧代-丁-3-烯酸乙酯 (72g,70%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃): δ 7.84(d,J = 13.2Hz,1H), 6.15(d,J = 13.2Hz,1H), 4.29(q,J = 7.6Hz,2H), 4.03(q,J = 6.8Hz,2H), 1.34(m,6H)。

[0165] 制备 11:2-环丙基-嘧啶-4-甲酸乙酯

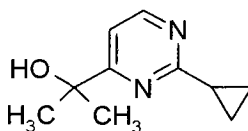
[0166]



[0167] 参考文献:Riley, T. A.;Hennen, W. J.;Dalley, N. K.;Wilson, B. E.;J. Heterocyclic Chem.,1987,24,955-964。用微波将环丙基甲脒盐酸盐 (2.05g,17mmol)、(E)-4-乙氧基-2-氧代-丁-3-烯酸乙酯 (4.39g,25.5mmol)、乙醇 (12mL) 和乙醇钠 (1.16g,17mmol) 的混合物在 140℃下加热 20 分钟。将反应混合物在减压下浓缩,将该残留物在乙酸乙酯和盐水之间分配。分离有机层,并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法 (10-30% 乙酸乙酯/己烷) 提纯该残留物,得到浅黄色油状的 2-环丙基-嘧啶-4-甲酸乙酯 (1.5g,46%)。MS(m/z):193.0(M+H)⁺。

[0168] 制备 12:2-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇

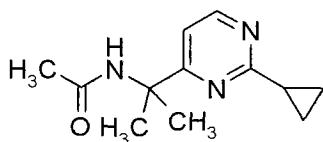
[0169]



[0170] 将 THF(150mL) 和甲基溴化镁 (3.0M 的乙醚溶液,52mL,243mmol) 的溶液冷却到 0℃。在 5 分钟的时间内添加 2-环丙基-嘧啶-4-甲酸乙酯 (9.9g,52mmol) 在 THF(50mL) 中的溶液。在 0℃下搅拌 45 分钟,然后缓慢地倾倒入饱和氯化铵水溶液中。用乙醚萃取水层,用硫酸钠干燥合并的各有机层,过滤,再在减压下浓缩,得到橙色固体状的 2-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇 (9.15g,100%)。MS(m/z):179.0(M+H)⁺。

[0171] 制备 13:N-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基]-乙酰胺

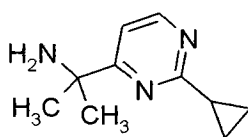
[0172]



[0173] 将乙腈 (150mL) 和 2-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇 (8.85g, 50mmol) 的溶液加热至 90℃。在单独的反应容器内, 将乙腈 (50mL) 冷却至 0℃, 并以使得温度不超过 10℃ 的这种速率添加硫酸 (11.9mL, 223mmol)。将该冷却的硫酸溶液添加到 2-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-丙-2-醇和乙腈的加热溶液中, 并在 95℃ 下搅拌 4 天。冷却到室温, 并添加 5N NaOH 水溶液 (100mL)。用乙酸乙酯 (3×) 萃取水层。在减压下浓缩合并的有机层, 获得黄色油状的 N-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基]-乙酰胺 (4.5g, 41%)。MS(m/z): 220.0 (M+H)⁺。

[0174] 制备 14: 1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙胺

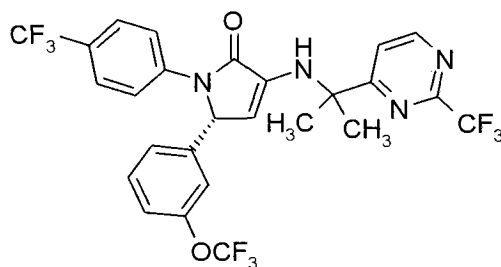
[0175]



[0176] 将 N-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基]-乙酰胺 (4.5g, 20.5mmol) 和 5N HCl 水溶液 (125mL) 的溶液加热到 100℃, 并保持 18 小时。将该混合物冷却到室温。用乙醚 (2×) 萃取反应物, 然后用 5N NaOH 水溶液使该水层变成碱性。用乙醚 (3×) 萃取水层, 用硫酸钠干燥合并的有机层, 过滤, 并在减压下浓缩, 得到暗黄色油状的 1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙胺 (1.3g, 36%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 8.45 (d, J = 5.6Hz, 1H), 7.12 (d, J = 5.6Hz, 1H), 2.30 (m, 1H), 1.76 (br s, 2H), 1.41 (s, 6H), 1.09 (m, 2H), 1.02 (m, 2H)。

[0177] 制备 15: (R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-1-(4-三氟甲基-苯基)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

[0178]

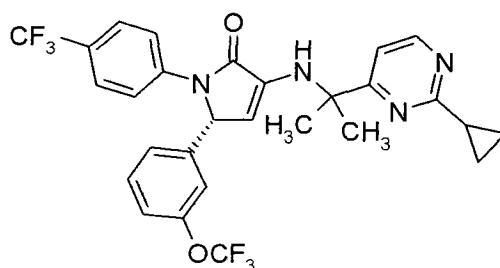


[0179] 将三氟乙酸 (7.56mL, 100mmol) 添加到 1-(4-三氟甲基-苯基)-3-[(R)-1-(4-氯-苯基)-乙基氨基]-5-(R)-3-(三氟甲氧基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (10.8g, 20.0mmol) 在乙酸 (100mL) 和水 (5mL) 中的溶液中。在环境温度下搅拌 60 分钟。观察到 (R)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮的显著形成 (LC-MS ESI m/z: 426 (M+Na)⁺, T_r = 2.76min., 方法 2)。用甲苯 (200mL) 和水 (150mL) 稀释反应。用水和饱和碳酸氢钠水溶液洗涤有机层。通过硫酸钠过滤有机层。将乙酸 (9.17mL, 160mmol) 和 1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙胺 (4.51g, 22mmol) 添加到含有 (R)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮

的该甲苯溶液中。加热到 55℃,保持 18 小时。在减压下浓缩反应混合物,得到暗紫色油。通过硅胶色谱法(25%乙酸乙酯-己烷)提纯该残留物,获得作为紫色泡沫的(R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-1-(4-三氟甲基-苯基)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮(7.70g,65%)。LC-MS ESI m/z :613(M+Na)⁺, T_r = 3.35min.,方法2。

[0180] 制备 16:(R)-3-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮

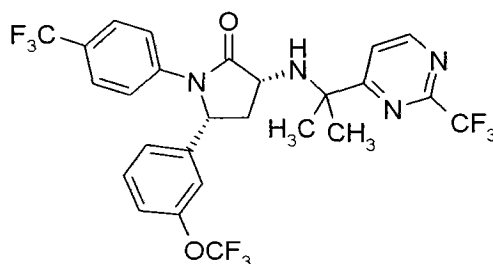
[0181]



[0182] 使用 1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙胺基本上如在制备 15 方法中所述制备标题化合物。收率:38%,LC-MS ESI m/z :563(M+H)⁺, T_r = 3.46min.,方法2。

[0183] 实施例 1:(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮

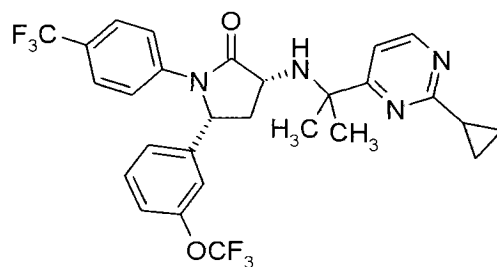
[0184]



[0185] 将(R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-1-(4-三氟甲基-苯基)-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮(7.5g,12.7mmol)在乙酸(60mL)和THF(15mL)中的溶液冷却到0℃,再添加氰基硼氢化钠(1.60g,25.4mmol)。在5分钟之后移走冷却浴,并在环境温度下搅拌60分钟。用乙酸乙酯稀释反应混合物,缓慢地倒入到饱和碳酸氢钠水溶液中。分离有机层,并在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(15-40%乙酸乙酯-己烷)提纯该残留物,获得作为紫色泡沫的(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮(5.20g,69%)。为了除去紫色,将(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮溶解在甲醇(150mL)中,并添加活性炭。在环境温度下搅拌20分钟,过滤,并在减压下浓缩,得到白色泡沫(4.6g,88%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 8.79(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.90(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.46(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.36(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.27(t, J = 7.9Hz, 1H), 7.08(d, J = 7.9Hz, 1H), 7.04(d, J = 8.4Hz, 1H), 6.98(s, 1H), 5.04(dd, J = 6.2, 9.7Hz, 1H), 3.51-3.45(m, 1H), 2.90-2.81(m, 1H), 1.89-1.81(m, 1H), 1.56(s, 3H), 1.50(s, 3H)。LC-MS ESI m/z :593(M+H)⁺, T_r = 3.07min.,方法2。

[0186] 实施例 2 : (3R,5R)-3-[1-(2-环丙基-嘧啶-4-基)-1-甲基-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮

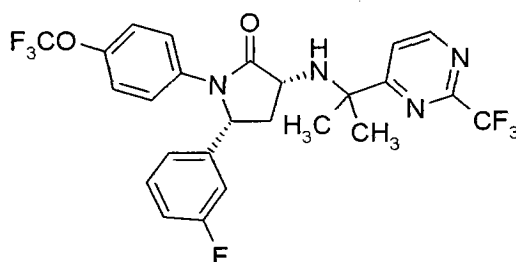
[0187]



[0188] 基本上如实施例 1 的方法中所述那样制备标题化合物,保持反应在 -10°C , 使用 1 当量的氰基硼氢化钠。收率 42%, ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.46 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.44 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.36 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.28-7.24 (m, 2H), 7.08 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.03 (d, $J = 7.9\text{Hz}$, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.00 (dd, $J = 6.2, 10.1\text{Hz}$, 1H), 3.36 (dd, $J = 7.9, 10.6\text{Hz}$, 1H), 3.30-3.25 (br s, 1H), 2.84-2.77 (m, 1H), 2.23-2.16 (m, 1H), 1.91-1.82 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.18-1.08 (m, 2H), 1.05-0.97 (m, 2H). LC-MS ESI m/z : 565 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, $T_r = 2.49\text{min.}$, 方法 2。

[0189] 实施例 3 : (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2-酮

[0190]

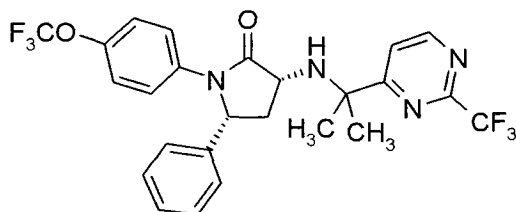


[0191] 将 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-((R)-1-苯基-乙基氨基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮 (685mg, 1.5mmol)、THF (4mL)、水 (1mL)、2,5-二甲氧基四氢呋喃 (0.23mL, 1.8mmol)、乙酸 (0.34mL, 6.0mmol) 和三氟乙酸 (0.23mL, 3.0mmol) 的混合物在 35°C 下搅拌 18 小时。观察到 (R)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮的显著形成 (LC-MS ESI m/z : 354 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, $T_r = 2.65\text{min.}$, 方法 2)。将该反应物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中,并用 10mL 的 1 : 1 甲苯 : 醋酸异丙酯稀释。分离有机层,通过硫酸钠过滤。将乙酸 (0.69mL, 12.0mmol) 和 1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙胺 (339mg, 1.65mmol) 添加到含有 (R)-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2,3-二酮的该溶液中。加热到 55°C , 保持 24 小时。将该反应混合物浓缩,获得暗紫色油。观察到 3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮的显著形成 (LC-MS ESI m/z : 541 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, $T_r = 3.32\text{min.}$, 方法 2)。将粗 3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-5(R)-(3-氟-苯基)-1,5-二氢-吡咯-2-酮溶解在乙酸 (6mL) 和 THF (15mL) 中,冷却到 0°C ,并添加氰基硼氢化钠 (189mg, 3.0mmol)。在 5 分钟之

后移走冷却浴,并在环境温度下搅拌 30 分钟。用乙酸乙酯稀释反应物,缓慢地将它倒入到饱和碳酸氢钠水溶液中。在减压下浓缩该有机层,通过硅胶色谱法(10-35%乙酸乙酯-己烷)提纯残留物,获得泡沫状的(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-氟-苯基)-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2-酮(340mg,41%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 8.79(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.92(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.29-7.26(m, 2H), 7.22-7.18(m, 1H), 7.05(d, J = 8.8Hz, 2H), 6.93(d, J = 7.5Hz, 1H), 6.90-6.83(m, 2H), 4.96(dd, J = 6.2, 9.7Hz, 1H), 3.45(dd, J = 8.1, 10.8Hz, 1H), 2.84-2.77(m, 1H), 1.88-1.80(m, 1H), 1.56(s, 3H), 1.49(s, 3H)。LC-MS ESI m/z :543(M+H)⁺, T_r = 2.97min., 方法 2。

[0192] 实施例 4:(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-乙基氨基]-5-苯基-1-(4-三氟甲氧基-苯基)-吡咯烷-2-酮

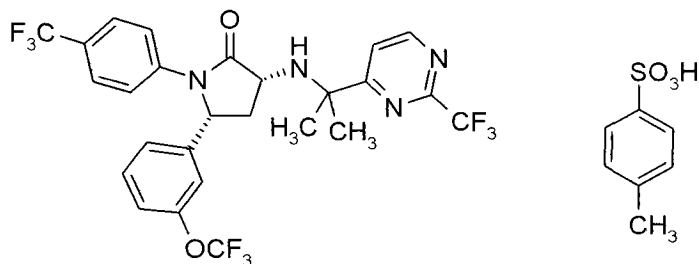
[0193]



[0194] 基本上如实施例 3 的方法中所述那样制备标题化合物。收率 47%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 8.77(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.93(d, J = 5.3Hz, 1H), 7.28(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.25-7.17(m, 2H), 7.16-7.13(m, 3H), 7.02(d, J = 8.8Hz, 2H), 4.96(dd, J = 6.2, 9.7Hz, 1H), 3.46(dd, J = 7.9, 10.6Hz, 1H), 2.83-2.76(m, 1H), 1.91-1.83(m, 1H), 1.56(s, 3H), 1.49(s, 3H)。LC-MS ESI m/z :525(M+H)⁺, Tr = 2.92min., 方法 2。

[0195] 实施例 5:(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮甲苯磺酸盐

[0196]



[0197] 将(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮(4.57g, 7.71mmol)溶解在异丙醇(10mL)中。添加对甲苯磺酸一水合物(1.49g, 7.71mmol),并加热到 45℃,直到溶液是均匀的。冷却到环境温度,并添加晶种。在环境温度下放置 64 小时。过滤该沉淀,并用庚烷洗涤。在真空下干燥 4 小时,得到白色粉末状的(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮甲苯磺酸盐(5.06g, 86%)。LC-MS ESI m/z :593(M+H)⁺, T_r = 4.92min., 方法 1。

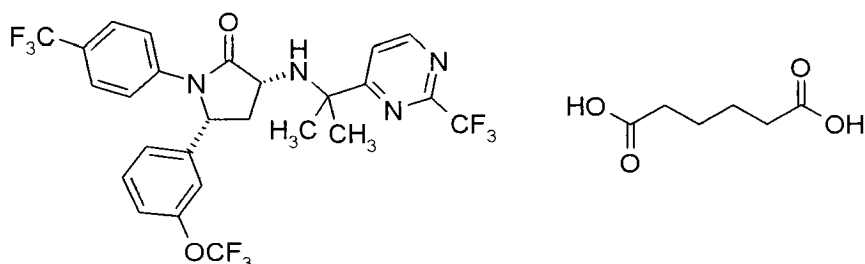
[0198] 晶种形成

[0199] 将(3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三

氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮 (61.4mg, 104 μ mol) 溶解在异丙醇 (1mL) 中。添加对甲苯磺酸一水合物 (20.0mg, 104 μ mol), 以获得均一溶液。添加 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(6-三氟甲基-吡啶-3-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮甲苯磺酸盐 (< 1mg), 从而引发结晶。使该溶液接触大气, 用 18 小时蒸干, 获得灰白色固体状的 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮甲苯磺酸盐 (77mg, 97%)。

[0200] 实施例 6: (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮己二酸盐

[0201]



[0202] 将 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮 (105mg, 0.177mmol) 溶解在甲醇 (0.8mL) 和乙酸乙酯 (2mL) 中。添加己二酸 (30mg, 0.20mmol), 在室温下蒸发一夜, 得到定量质量平衡的作为糖状固体的 (3R,5R)-3-[1-甲基-1-(2-三氟甲基-嘧啶-4-基)-乙基氨基]-5-(3-三氟甲氧基-苯基)-1-(4-三氟甲基-苯基)-吡咯烷-2-酮己二酸盐 (129mg, 100%); ES/MS m/z : 593.0 $[M+H]^+$ 。

[0203] 如上所述, 本发明的化合物是选择性的和高度有效的 CB-1 受体反向激动剂或拮抗剂, 因此借助于该药理作用可用于治疗各种疾病。下面的试验可用来证明所要求保护的化合物的 CB-1 受体活性, 它们对 CB-1 受体的选择性以及它们在据认为可通过 CB-1 受体反向激动作用或拮抗作用来治疗的各种疾病的动物模型中的活性。

[0204] 根据定义可知, 纯拮抗剂抑制配体介导的受体活化 (即阻断依赖于激动剂的受体刺激)。一些受体, 包括该 CB-1 受体在内, 即使在缺乏激动剂 (内源 / 外源) 的情况下也能产生信号转导, 其被称为受体基础活性或组成性活性。用这种受体, 反向激动剂不仅抑制依赖于激动剂的受体刺激, 而且减低 / 抑制该受体的基础活性。因为 CB-1 受体具有基础信号活动, 反向激动剂比纯拮抗剂优选作为 CB-1 介导的疾病的治疗剂。本发明的化合物是 CB-1 受体的选择性的反向激动剂或拮抗剂。

[0205] CB₁ 和 CB₂ 体外功能试验

[0206] 可使用 SPA (闪烁邻近试验) 型 GTP- γ -³⁵S 结合试验, 以激动剂和拮抗剂两种模式, 测试本发明的化合物对 CB-1 和 CB-2 受体的功能活性。在试验缓冲液 (20mM HEPES, 100mM NaCl, 5mM MgCl₂, pH 7.4) 中在室温下制备所有试验组分。在用于激动剂模式试验的含有 BSA (0.125% 终浓度) 的试验缓冲液中制备试验化合物的半对数稀释物。对于拮抗剂模式试验, 以同样方式制备试验化合物, 但还包括 80% 有效剂量的完全激动剂 (methanandamide)。用于拮抗剂试验的 GTP- γ -³⁵S 结合可以使用以前描述的抗体捕捉技

术的改良以 96 孔方式来测定。(DeLapp, NW 等人, (1999) J Pharmacol Exp Ther 289 : 946-955。)CB-2 受体激动剂活性可按照类似方法使用 hCB2-Sf9 膜来测定。CB-1 受体激动剂活性可按照全膜捕捉技术使用 hCB1-CHO 膜来测定。所有孵育在室温下进行。

[0207] 拮抗剂模式试验

[0208] hCB1-CHO 和 rCB1-CHO 拮抗剂试验：

[0209] 将 hCB1-CHO 或者 rCB1-CHO 膜 (Applied Cell Sciences, Rockville, MD) 和 GDP (1 μ M 最终) 加入到冰冷试验缓冲液中, 并均化。将稀释化合物、GTP- γ - 35 S (500 nM 终浓度) 和膜加入到试验板的孔中, 并在室温下孵育 30 分钟。接着, 添加含有 Nonidet P40 洗涤剂 (0.2% 终浓度)、兔多克隆 IgG $G\alpha_{i-3}$ 抗体 (由新泽西州普林斯顿 Covance 提供) 和 1.25 mg 抗兔抗体闪烁邻近试验珠粒 (新泽西州 Piscataway 的 GE Healthcare) 的混合物。将板密封, 打旋, 再孵育另外 2 小时。然后将板在 700 $\times$ g 下离心 10 分钟, 进行放射性计数。

[0210] hCB1-Sf9 和 hCB2-Sf9 拮抗剂试验：

[0211] 基本上如以上用 1 μ M (终浓度) GDP (用于 hCB1-Sf9) 和 0.05 μ M (终浓度) GDP (用于 hCB2-Sf9) 制备 hCB1-Sf9 和 hCB2-Sf9 膜 (Perkin Elmer, Boston, MA)。该试验基本上如以上对于 CHO 膜所述那样进行。稀释的膜用试验化合物预孵育 15 分钟, 这之后添加 GTP- γ - 35 S, 再孵育另外 35 分钟。按序添加 Nonidet P40 和抗 $-G_i-$ 抗体, 在每次添加之后孵育 15 分钟。然后添加 SPA 珠粒, 将板密封, 打旋, 然后在室温下孵育 1 小时。

[0212] 激动剂模式试验

[0213] hCB1-CHO 激动剂试验：

[0214] 将 hCB1-CHO 膜、GDP (1 μ M 终浓度) 和皂角苷 (10 μ g/mL 终浓度, Sigma, St Louis, MO) 合并, 如以上拮抗剂试验那样在冰上制备。将稀释的试验化合物、GTP- γ - 35 S (500 nM 终浓度) 和膜在试验板上合并, 并孵育 30 分钟。然后, 然后添加 1 mg/孔的小麦胚芽凝集素 SPA 珠粒 (新泽西州 Piscataway 的 GE Healthcare), 将板密封, 打旋, 再孵育 1 小时, 然后按照以上关于拮抗剂试验相同的方式进行旋转和计数。

[0215] hCB2-Sf9 激动剂试验：

[0216] hCB2-Sf9 试验以基本上如以上 hCB1-sf9 和 hCB2-sf9 拮抗剂试验那样进行, 不添加攻击激动剂。将 1 μ M (终浓度) GDP 添加到膜溶液中, 再一起添加 nonidet P40、抗 $-G_i-$ 抗体和 SPA 珠粒的混合物。

[0217] 如下进行数据分析: 从所有孔中减去本底值。激动剂功效百分率通过将激动剂/反向激动剂剂量反应数据校正为完全激动剂 (methanandamide) 所获得的反应来测定。拮抗剂抑制百分率通过将该数据首先校正为由完全激动剂 (methanandamide) 的饱和浓度产生的信号来计算。然后, 该数据使用 4 参数逻辑对比拟合 (购自 IDBS, Emeryville, CA 的 Activity Base™ 和 XLFit3™) 来分析。K_b 值使用改良 Cheng-Prusoff 关系式来测定: $K_b = IC_{50} / (1 + [激动剂] / EC_{50})$, 其中“IC₅₀”由位移曲线的四参数拟合来测定, “[激动剂]”是激动剂攻击浓度 (nM), “EC₅₀”由完全激动剂浓度反应曲线的四参数拟合来测定 (Cheng 和 Prusoff 1973)。平均 K_b 值作为至少三个独立测定值的平均值 $\pm$ 平均数标准误差 (SEM) 来计算。(Cheng YC 和 Prusoff WH. (1973), Biochem Pharmacol 22 : 3099-3108。)发现实施例化合物是有效的 CB-1 反向激动剂 ($K_b \leq 10$ nM, 通常 < 2 nM), 并且选择性高于对 CB-2 受体的选择性 ($K_{b\ CB-2} / K_{b\ CB-1} > 500$, 通常 > 1000)。

[0218] 表 6 和 7 总结了某些本发明的化合物的拮抗剂 / 反向激动剂性质。该数据指示, 试验化合物对于大鼠和人受体而言是有效的 CB-1 反向激动剂, 相比于 CB-2 受体是有选择性的。该激动剂功效低于 0 表示所述化合物降低了体外 CB-1 受体的基础 (组成性) 活性, 这表示所述化合物对于 CB-1 受体为反向激动剂。

[0219] 表 6

[0220]

实施例 No.	rCB-1 SPA GTP γ S CHO 膜拮抗剂	hCB-1 SPA GTP γ S CHO 膜拮抗剂	hCB-2 SPA GTP γ S Sf9 膜拮抗剂
1	0.177	0.895	>8710
2		0.644	>10800
3	0.195	0.916	397
4	.176	0.83	288

[0221] 所有值为 :Kb nM

[0222] 表 7

[0223]

实施例No.	hCB-1 SPA GTP γ S CHO 膜激动剂		hCB-2 SPA GTP γ S Sf9 膜激动剂
	相对 EC ₅₀ 反向 (nM)	% 相对效力	相对EC ₅₀ (nM)
1	0.558	-99.3	>8710
2	2.39	-108	>10800
3	1.11	-107	379
4	2.52	-105	288

[0224] 强迫游泳试验 (FST)

[0225] 强迫游泳试验是沿用已久的抑郁、焦虑和无动机 (缺乏动机) 的动物模型 (Porsolt 等人, Nature (1977) 266, 730) (J. M. Witkin 等人, Trends Pharmacol Sci. 2005 26 : 609-17)。它还可以用作精神分裂症的阴性症状的治疗模型。

[0226] 将雄性 NIH 瑞士小鼠 (Harlan Sprague-Dawley) 在试验之前按 12 只小鼠 / 笼收养 7-10 天。在试验当天, 将重 25-30g 的小鼠在定量给药之前至少 1 小时运送到试验室。小鼠按 6-8 分钟间隔用赋形药 (1% CMC/0.5% SLS/0.08% 聚维酮 /0.05CB1 反向激动剂的防沫剂) 或试验化合物定量给药 (p. o.), 然后将它放入清洁笼子里 (4 只小鼠 / 笼)。

[0227] 为了试验, 将小鼠分别地放置到用 22-25℃ 水填充至 6cm 的透明塑料圆筒 (约 10cm 直径 × 25cm 高度) 内 6 分钟。记录在最后 4 分钟过程中不动的持续时间。当漂浮不动或者仅仅做保持其头部在水以上所需的那些运动时, 小鼠被认为是不动。

[0228] 该不动时间（按秒计）使用 Dunnett 试验通过 ANOVA 来分析。最小有效剂量 (MED) 被认为是发现与赋形药对照组相比不动时间统计学显著减少的试验化合物的最小剂量。

[0229] 生物利用率

[0230] 获得生物利用率的方法在本领域中是公知的。一个这样的参考文献是 Medicinal Research Reviews 第 21 卷, 第 5 号, 382-396 (2001)。化合物的生物利用率可以基本上如下估计。

[0231] 使用三或四只 250-450 克雄性 Sprague-Dawley 大鼠或大约 10kg 比格犬（雌性或雄性）的群组。对于研究的 i. v. 部分, 动物不需要禁食。狗通过头静脉插管进行 i. v. 给药, 并通过颈静脉采集血液。动物首先以 0.25mg/kg i. v. 来给药, 然后使用 EDTA 作为抗凝剂在 0.0830、0.25、0.50、1、2、4、8、12、24、48、72、96 和 120 小时采集血样 (0.2mL)。接着, 在至少两天之后和在 18-24 小时禁食之后, 动物通过口服管饲法以 1.0mg/kg 给药。在研究期间, 采集的全部血液 (ml) 不超过总体重的 1% (克)。如果需要更大的血量, 取样的血量用来自供体动物的肝素化全血替代。当使用交叉研究设计时, 大鼠按照每一研究日的最终样本近似等于在该研究过程中除去的样本来接受肝素化全血的量。

[0232] 通过 LC/MS/MS 分析来测定化合物血浆浓度。然后使用标准非房室模型药物动力学进行数据分析。口服生物利用率如下计算：

[0233] $(AUC_{0-\infty, \text{口服}} / AUC_{0-\infty, \text{i. v.}}) \times (\text{剂量, i. v.} / \text{剂量, 口服}) \times 100\%$

[0234] 测试了实施例 5 的化合物, 发现大鼠口服生物利用率如下：

[0235] 禁食, 雄性 SD 大鼠

[0236] IV : 0.25mg/kg, 配方 : 20% v/v MEOP/80% v/v 净化水

[0237] PO : 1mg/kg, 配方 : 1% NaCMC/0.5% SLS/0.05% 防沫剂, 在净化水中

[0238] 口服生物利用率为 51+/-19% (平均标准偏差, n = 3 只大鼠), 并以 $AUC_{0-24 \text{ 小时}}$ 为基础。

[0239] 人 CYP 指纹

[0240] CYP 指纹是成熟的技术, 并且用作药物科学中药物-药物相互作用的潜在危险的指示。本发明的化合物可通过众所周知的方法分析, 基本上如下: 将化合物在 37°C 下以 4 μ M 的终浓度用汇集的混合性别人肝微粒体和 1mM NADPH (烟碱腺嘌呤磷酸二核苷酸) (终浓度) 且不用任何 CYP 抑制剂孵育 0 和 30 分钟, 并且用每一种 CYP 抑制剂单独孵育 30 分钟。各抑制剂对于个体细胞色素 P450 是特异性的。用于 CYP 2C9、2D6 和 3A 的特异性抑制剂分别是磺胺苯吡唑、奎尼丁和酮康唑。酮康唑 (CYP3A) 是用 DMSO 配制成 25mM, 然后在缓冲液中稀释至 10 μ M 的终浓度。奎尼丁 (CYP2D6) 用 50/50 乙腈/水配制成 5mM, 然后用缓冲液稀释至 10 μ M 的终浓度。磺胺苯吡唑 (CYP2C9) 是用 DMSO 配制成 100mM, 然后在缓冲液中稀释至 5 μ M 的终浓度。样本通过 LC-MS 以正离子或负离子电喷雾模式使用与 MicroMass Q-ToF-2 质谱仪耦合的 Waters Acquity UltraPerformance LC 来分析。

[0241] 使用 MetaboLynx™ 4.1 版进行分析数据。在抑制剂存在时, 低于 30% 的代谢物峰面积的减少 (相对于不受抑制的对照孵育) 接受低药物-药物相互作用 (DDI) 风险的标识, 30% -70% 之间的峰面积的减少接受中等 DDI 风险, 而超过 75% 的减少接受高 DDI 风险。

[0242] 实施例化合物基本上如上所述测试, 发现具有如下 CYP 指纹：

[0243] 表 6

[0244] 药物 - 药物相互作用 (DDI) 的风险

[0245]

实施例 No.	CYP3A	CYP2D6	CYP2C9
1	低	低	低
2	低	低	低
3	低	低	低
4	低	低	低
5	低	低	
6	低	低	

[0246] 饲养模型的体内功效

[0247] 基本上可如下所示在大鼠饲养模型中测试本发明化合物减少体重的能力。通过自断奶后没有限制地喂饲由大约 40% 脂肪、大约 39% 碳水化合物和大约 21% 蛋白热焓组成的饮食至少 12 周, 建立饮食诱导的肥胖 (DIO) 雄性 Long-Evans 大鼠。将试验化合物或赋形药给予大鼠群组 (p. o., 一天一次) 两周。作为在处理两周之后与赋形药组相比产生 17 克差异所需的剂量 (T17 效力), 测定化合物效力。这表示在 2 周之后与赋形药处理相比 3-4% 的体重的最低生物学相关的减轻。

[0248] 抗精神病药体重增加模型:

[0249] 基本上可如下所示在大鼠饲养模型中测试本发明化合物在用抗精神病药治疗过程中维持 / 减轻体重的能力。饲养随意获取正常啮齿动物食物 Purina LabDiet 5001 (12.3% 脂肪) 和水的瘦的成年雌性 Sprague-Dawley 大鼠。用赋形药 (1% 乳酸) 在第 1-14 天处理一组 (n ~ 7), 同时剩余的大鼠用奥氮平 (2mg/kg, po) 处理。在食物摄入之后, 监测两周治疗过程中的体重和脂肪质量的变化。在 14 天的给药后, 划分奥氮平治疗动物 (每组 n ~ 8), 在第 15-28 天中, 一组用 0.3mg/kg 试验化合物加上奥氮平治疗, 第二组用 1mg/kg 试验化合物加上奥氮平治疗, 最后一组用赋形药加上奥氮平治疗。