(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108601814 A
(43)申请公布日 2018.09.28

(21)申请号 201680064997.4

(22)申请日 2016.10.14

(30)优先权数据
62/242,633 2015.10.16 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.05.07

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/057071 2016.10.14

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/066590 EN 2017.04.20

(71)申请人 西北大学
地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 J·R·莫斯卡尔 H·梅尔策

(74)专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285
代理人 张广育 曲蕾

(51)Int.Cl.
A61K 38/06(2006.01)
A61K 38/07(2006.01)
A61K 31/13(2006.01)
A61K 31/135(2006.01)
A61K 31/496(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61K 31/551(2006.01)
A61K 31/5513(2006.01)
A61P 25/24(2006.01)
A61P 25/18(2006.01)

权利要求书2页 说明书23页 附图3页

(54)发明名称

用于治疗精神分裂症、双相障碍、认知损害和重度抑郁障碍的非典型抗精神病药和NMDA调节剂的药物组合

(57)摘要

本公开的特征在于NMDA调节剂和非典型抗精神病药的组合。本公开提供例如治疗有需要的患者的精神分裂症、双相障碍和/或认知损害病症的方法,其包括施用例如雷帕替奈和非典型抗精神病药。

CN 108601814 A

1.一种治疗有需要的患者的精神分裂症的方法,其包括向所述患者施用:

非典型抗精神病药;和

选自由以下组成的组的NMDA调节剂:雷帕替奈、(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

2.一种治疗有需要的患者的双相障碍的方法,其包括向所述患者施用:

非典型抗精神病药;和

选自由以下组成的组的NMDA调节剂:雷帕替奈、(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

3.一种治疗有需要的患者的认知损害病症的方法,其包括向所述患者施用非典型抗精神病药;和选自由以下组成的组的NMDA调节剂:雷帕替奈、(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

4.如权利要求3所述的方法,其中所述认知损害病症归因于以下中的一者或多者:认知能力缺陷、先天性缺陷、环境因素或药物诱发。

5.如权利要求4所述的方法,其中所述认知损害病症是学习障碍、自闭症和/或阅读困难。

6.一种治疗有需要的患者的重度抑郁障碍的方法,其包括向所述患者施用

非典型抗精神病药;和

来自由以下组成的组的NMDA调节剂:雷帕替奈、(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

7.如权利要求6所述的方法，其中所述重度抑郁障碍是难治性的。

8.如权利要求1-7中任一项所述的方法，其中所述非典型抗精神病药选自由以下组成的组：鲁拉西酮、喹硫平、奥氮平、阿塞那平、利培酮、齐拉西酮、氯氮平、美哌隆、卡利拉嗪、阿立哌唑、匹莫范色林、ITI-007、RP506和瑞莫必利。

9.如权利要求1-8中任一项所述的方法，其中所述非典型抗精神病药是鲁拉西酮。

10.如权利要求1-9中任一项所述的方法，其中如果单独施用，那么所述NMDA调节剂和所述非典型抗精神病药各自以亚有效的剂量施用。

11.如权利要求1-10中任一项所述的方法，其中施用NMDA调节剂基本上与施用所述非典型抗精神病药同时发生。

12.如权利要求1-10中任一项所述的方法，其中依序施用所述NMDA调节剂和所述非典型抗精神病药。

13.如权利要求12所述的方法，其中所述NMDA调节剂在所述非典型抗精神病药之前施用。

14.如权利要求12所述的方法，其中所述NMDA调节剂在所述非典型抗精神病药之后施用。

15.一种基本上逆转或预防被亚慢性施用NMDAR拮抗剂的患者的认知损害的方法，其包括向所述患者施用亚有效量的NMDA调节剂和亚有效量的非典型抗精神病药。

16.如权利要求15所述的方法，其中所述NMDAR拮抗剂是氯胺酮。

17.如权利要求1-16中任一项所述的方法，其中所述NMDA调节剂是雷帕替奈。

18.如权利要求1-16中任一项所述的方法，其中所述NMDA调节剂是N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

19.一种药学上可接受的组合物，其包含NMDA调节剂和非典型抗精神病药。

20.如权利要求19所述的药学上可接受的组合物，其进一步包含NMDAR拮抗剂。

21.如权利要求20所述的药学上可接受的组合物，其中所述NMDAR拮抗剂是氯胺酮。

22.如权利要求19-21中任一项所述的药学上可接受的组合物，其中所述非典型抗精神病药是鲁拉西酮。

23.如权利要求19-22中任一项所述的药学上可接受的组合物，其中所述NMDA调节剂是雷帕替奈。

用于治疗精神分裂症、双相障碍、认知损害和重度抑郁障碍的非典型抗精神病药和NMDA调节剂的药物组合

[0001] 交叉引用

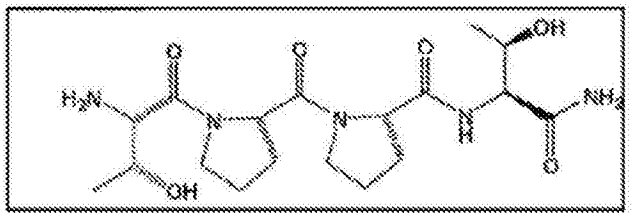
[0002] 本申请要求2015年10月16日提交的美国专利申请号62/242,633的优先权，所述美国专利申请的整个内容以引用的方式并入本文。

[0003] 背景

[0004] N-甲基-d-天冬氨酸(NMDA)受体(NMDAR)是尤其对兴奋性氨基酸谷氨酸和甘氨酸以及合成化合物NMDA起应答的突触后促离子型受体。NMDA受体控制二价离子与单价离子两者通过受体相关通道向突触后神经细胞中的流动。NMDA受体已在发育期间牵涉于指定神经元构造和突触连接性，并且可涉及于经验依赖性突触修饰中。此外，NMDA受体也被认为涉及于长期增强作用和中枢神经系统病症中。

[0005] NMDA受体据信由包埋在突触后膜中的若干蛋白质链组成。迄今为止发现的前两种类型的亚单位形成可能含有大多数变构结合位点的大型细胞外区域、成环和折叠以便形成可为Ca^{++}所渗透的孔或通道的若干跨膜区域、以及羧基末端区域。通道的打开和闭合由各种配体与蛋白质的驻留在细胞外表面上的结构域(变构位点)结合来调控。配体的结合被认为会影响蛋白质的总体结构的构象变化，其最终反映在通道打开、部分打开、部分闭合或闭合方面。

[0006] 近来，已报道NMDAR的改进型部分激动剂诸如雷帕替奈(rapastinel)在啮齿动物中使在完成海马体依赖性空间学习任务方面增强，从而指示它可具有认知增强性质以及抗抑郁性质。雷帕替奈由以下结构例示：

[0007] 

，

[0008] 具有分子量：413.47，以及化学式：$C_{18}H_{31}N_5O_6$。雷帕替奈在体内展现健脑、神经保护和抗伤害感受活性，并且使学习、记忆和认知增强。

[0009] 也已报道作为NMDAR非竞争性拮抗剂的氯胺酮(Ketamine)会产生速效抗抑郁性质；然而，它也在健康人中导致分裂和精神病样作用以及认知损害，并且在患有精神分裂症的患者中使精神病但非认知损害加剧。氯胺酮也在啮齿动物中导致认知缺陷，包括在作为人陈述性记忆的模拟的新奇物体识别(NOR)方面的缺陷。NOR依赖于海马体、内嗅、鼻周和颞叶联合皮质以及前额叶皮质的整合作用。谷氨酸通过它作用于NMDAR和α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸(AMPA)受体而对突触可塑性具有深远作用，并且因此在学习和记忆方面起主要作用。

[0010] 仍旧严重需要用以治疗抑郁患者诸如患有双极性抑郁的患者和/或用以治疗患有精神分裂症的患者的疗法，例如可单独或与其他活性剂联合施用的药物。

发明内容

[0011] 本公开的特征部分地在于包括一种或多种非典型抗精神病药和NMDA调节剂诸如雷帕替奈和本文公开的其他NMDA调节剂的组合(其各自有时在本文中称为“组分”)。这种组合的有益作用部分地基于发现施用雷帕替奈和非典型抗精神病药(例如鲁拉西酮(lurasidone))(例如亚急性剂量)可逆转和/或预防NMDAR拮抗剂诱发的认知损害(例如NMDAR拮抗剂诱发的新奇物体识别损害;例如通过用NMDAR拮抗剂重复给药来诱发)。所公开组合可进一步包括一种或多种其他生物活性成分(例如一种或多种其他抗抑郁化合物)和/或一种或多种药学上可接受的赋形剂和/或载体。可以依序方式(各组分在不同时间施用)或以基本上同时方式向患者施用组合的组分(有时在本文中也称为化学实体或化合物)。应了解组分可存在于相同药学上可接受的载体中,并且因此同时施用。或者,各组分可存在于单独药物载体中,诸如可同时或依序施用的常规口服剂型或胃肠外形式(或一种组分可为口服形式,而另一组分可为胃肠外形式)。因此,在一个方面,提供基本上逆转或预防被急性施用NMDAR拮抗剂的患者的认知损害的方法,其包括施用所公开NMDA调节剂诸如雷帕替奈和非典型抗精神病药(例如鲁拉西酮)。举例来说,本文提供一种治疗有需要的患者的精神分裂症或双相障碍的方法,其包括向所述患者施用:非典型抗精神病药;和选自由以下组成的组的NMDA调节剂:雷帕替奈、(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。在某些涵盖的方法中,如果单独施用,那么NMDA调节剂和非典型抗精神病药各自以亚有效的剂量施用。

[0012] 在另一实施方案中,此处提供一种包含NMDA调节剂例如雷帕替奈和非典型抗精神病药(例如鲁拉西酮)的药学上可接受的组合物。举例来说,这种组合物可包括亚急性或亚有效剂量(基于单独施用药物)的雷帕替奈和/或鲁拉西酮。

[0013] 附图简述

[0014] 图1显示急性氯胺酮(ket;30mg/kg)而非雷帕替奈(rap;1.0mg/kg)在雄性C57BL/6J小鼠中诱发显著NOR缺陷。雷帕替奈(1.0mg/kg)显著预防氯胺酮诱发的NOR缺陷($$$P＜0.001)。

[0015] 图2显示雷帕替奈(1.0mg/kg)显著逆转亚慢性(sc)PCP和氯胺酮(10和30mg/kg;腹膜内;1天2次;7天;继之以7天洗脱)诱发的NOR缺陷(###P＜0.001)。

[0016] 图3显示亚有效剂量(SED)的急性雷帕替奈加SED鲁拉西酮(lur)显著逆转亚慢性氯胺酮诱发的NOR缺陷(##P＜0.001),但以上两种药物在这些剂量下都不是有效的。

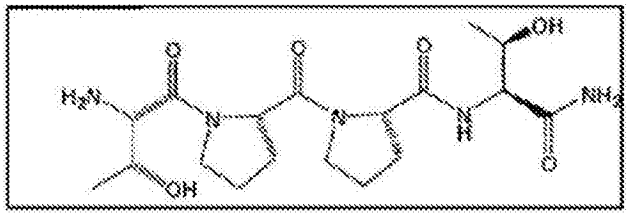
具体实施方式

[0017] 本公开的特征在于包括一种或多种诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及非典型抗精神病药的组合(其各自有时在本文中称为“组分”)。组合的有益作用部分地基

于发现施用NMDA调节剂诸如雷帕替奈(例如亚急性或亚有效剂量)以及非典型抗精神病药(例如鲁拉西酮)可逆转和/或预防认知损害(例如NMDAR拮抗剂诱发的在新奇物体识别方面的认知损害;例如通过用NMDAR拮抗剂重复给药来诱发)。组合可进一步包括一种或多种其他生物活性成分(例如一种或多种其他抗抑郁化合物)和/或一种或多种药学上可接受的赋形剂和/或载体。可以依序方式(各组分在不同时间施用)或以基本上同时方式向患者施用组合的组分(有时在本文中也称为化学实体或化合物)。应了解组分可存在于相同药学上可接受的载体中,并且因此同时施用。或者,各组分可存在于单独药物载体中,诸如可同时或依序施用的常规口服剂型或胃肠外形式(或一种组分可为口服形式,而另一组分可为胃肠外形式)。在一些实施方案中,用雷帕替奈(或例如所公开的NMDA调节剂)预治疗(或基本上共同施用非典型抗精神病药)(即在施用一种或多种非典型抗精神病药之前给予)可为特别有益的。

[0018] 定义

[0019] “雷帕替奈”(或“GLYX-13”)由下式表示:

[0020] 

[0021] 并且包括以上化合物的多晶型物、水合物、溶剂合物、游离碱和/或适合盐形式。

[0022] “治疗”包括导致病状、疾病、病症等的改进的任何作用,例如减轻、减弱、调节或消除。

[0023] 如本文所用,术语“NMDA受体拮抗剂”和“NMDAR拮抗剂”通常均指能够结合NMDA受体的甘氨酸结合位点,并且起拮抗或抑制N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)作用的作用的化学实体。

[0024] “药学上或药理学上可接受”包括在向动物或在适当时向人施用时不产生不利、过敏或其他不适当反应的分子实体和组合物。对于人施用,制剂应满足如由FDA生物制剂标准办公室(Office of Biologics standards)所要求的无菌性、致热原性、总体安全性和纯度标准。

[0025] 如本文所用的术语“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”是指可与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、等张剂和吸收延迟剂等。用于药物活性物质的所述介质和试剂的使用在本领域中是熟知的。本文所述的组合也可含有提供补充、额外或增强的治疗功能的其他活性化合物。

[0026] 如本文所用的术语“药物组合物”是指包含本文公开的组合的至少一种组分连同一种或多种药学上可接受的载体和/或赋形剂一起加以配制的组合物。

[0027] “个体”、“患者”或“受试者”可互换使用,并且包括任何动物,包括哺乳动物,优选是小鼠、大鼠、其他啮齿动物、兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马或灵长类动物,并且最优选是人。本发明的组合可如本文所述向哺乳动物诸如人施用,但也可向其他哺乳动物诸如需要兽医学治疗的动物例如家养动物(例如狗、猫等)、农场动物(例如母牛、绵羊、猪、马等)和实验室动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠等)施用。在一些实施方案中,在本发明方法中治疗的哺乳动物是

其中需要治疗例如抑郁的哺乳动物。

[0028] 如本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指可存在于本发明组合中使用的化合物中的酸性或碱性基团的盐。包括在本发明组合中的在性质上呈碱性的化合物能够与各种无机和有机酸形成广泛多种盐。可用于制备所述碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐，即含有药理学上可接受的阴离子的盐的那些，所述盐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、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、丁二酸盐、顺丁烯二酸盐、龙胆酸盐、反丁烯二酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、蔗糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲烷磺酸盐、乙烷磺酸盐、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))。包括在本发明组合中的在性质上呈酸性的化合物能够与各种药理学上可接受的阳离子形成碱盐。所述盐的实例包括碱金属或碱土金属盐，并且特别是钙、镁、钠、锂、锌、钾和铁盐。包括在本发明组合中的包括碱性或酸性部分的化合物也可与各种氨基酸形成药学上可接受的盐。包括在本发明组合中的化合物可含有酸性基团与碱性基团两者；例如一个氨基和一个羧酸基团。在这种情况下，化合物可以酸加成盐、两性离子或碱盐形式存在。在整篇本公开中，所公开化合物也可涵盖药学上可接受的盐。

[0029] 组合组分

[0030] 雷帕替奈可通过熟知重组或合成方法来获得，所述方法诸如以引用的方式并入本文的美国专利5,763,393和4,086,196中所述的那些。也涵盖雷帕替奈的多晶型物、水合物、同系物、溶剂合物、游离碱和/或适合盐形式，诸如但不限于乙酸盐。肽可呈环化或非环化形式，如US 5,763,393中进一步所述。在一些实施方案中，雷帕替奈类似物可包括在一个或多个Thr或Pro基团上插入或缺失某一部分，诸如缺失CH_3、OH或NH_2部分。在其他实施方案中，雷帕替奈可任选被一个或多个卤素、C_1-C_3烷基(任选被卤素或氨基取代)、羟基和/或氨基取代。预期在本文中使用的其他化合物包括US 5,763,393、US 6,107,271和Wood等，Neuro.Report,19,1059-1061,2008中公开的NMDAR的甘氨酸位点部分激动剂，所述专利和文献的整个内容以引用的方式并入本文。

[0031] 可了解此处公开的肽可包括天然氨基酸与非天然氨基酸两者，例如全是天然氨基酸(或其衍生物)，全是非天然氨基酸(或其衍生物)，或是天然氨基酸和非天然氨基酸的混合物。举例来说，雷帕替奈中的一个、两个、三个或更多个氨基酸可各自独立地具有D构型或L构型。

[0032] 涵盖的NMDA调节剂也包括(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺、(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺和N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺。

[0033] 涵盖的非典型抗精神病药包括鲁拉西酮、喹硫平(quetiapine)、奥氮平(olanzapine)、阿塞那平(asenapine)、利培酮(risperidone)、齐拉西酮(ziprasidone)、氯

氮平(clozapine)、美哌隆(melperone)、卡利拉嗪(cariprazien)、阿立哌唑(aripiprazole)、匹莫范色林(pimavenserin)、ITI-007、RP506和瑞莫必利(reomxipride)。

[0034] 在一些实施方案中,NMDAR拮抗剂选自由以下组成的组:氯胺酮、美金刚胺(memantine)、拉尼西明(lanicemine)(AZD6765)、CERC-301、右美沙芬(dextromethorphan)、右啡烷(dextrorphan)、苯环己哌啶(phencyclidine)、地佐环平(dizocilpine)(MK-801)、金刚烷胺(amantadine)、艾芬地尔(ifenprodil)、AV-101、AZD6423和利鲁唑(riluzole)或其药学上可接受的盐或前药。也涵盖以上提及的NMDAR拮抗剂的衍生物。在一实施方案中,NMDAR拮抗剂可选自由以下组成的组:一氧化二氮、阿托西汀(atomoxetine)、dextrallorphan、diphenidine、乙环利定(eticyclidine)、加环利定(gacyclidine)、伊波加因(ibogaine)、methoxetamine、硝基美金刚胺(nitromemantine)、咯环利定(rolicyclidine)、替诺环定(tenocyclidine)、methoxydine、替来他明(tiletamine)、奈拉美生(neramexane)、依利罗地(eliprodil)、乙苯噁啶(etoxadrol)、右奥沙屈(dexoxadrol)、美沙酮(methadone)、WMS-2539、NEFA、瑞马西胺(remacemide)、德芦西明(delucemine)、8A-PDHQ、阿替加奈(aptiganel)(赛瑞司他(Cerestat)、CNS-1102)、HU-211、瑞马西胺、钩藤碱(rhynchophylline)、TK-40、曲索罗地(Traxoprodil)(CP-101,606)、1-氨基环丙烷甲酸(ACPC)、犬尿喹啉酸(kynurenic acid)或其衍生物、2-羧基四氢喹啉或其衍生物、2-羧基吲哚或其衍生物、4-羟基-2-喹啉或其衍生物、4-羟基喹啉或其衍生物、喹喔啉-2,3-二酮或其衍生物、三环拮抗剂、拉科酰胺(lacosamide)、L-苯丙氨酸、米达福太(midafotel)和阿替加奈或其药学上可接受的盐或前药。

[0035] 方法

[0036] 在一个方面,提供基本上逆转或预防患者的认知损害病症的方法,其包括施用非典型抗精神病药(例如像选自由以下组成的组的非典型抗精神病药:鲁拉西酮、喹硫平、奥氮平、阿塞那平、利培酮、齐拉西酮、氯氮平、美哌隆、卡利拉嗪、阿立哌唑、匹莫范色林、ITI-007、RP506和瑞莫必利)和诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈。

[0037] 在另一方面,提供治疗有需要的患者的认知损害病症的方法,其包括施用一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及非典型抗精神病药。认知损害病症可归因于以下中的一者或多者:认知能力缺陷、先天性缺陷、环境因素或药物诱发,并且包括但不限于学习障碍和/或阅读困难。在一些实施方案中,施用一定量(例如亚急性量)的雷帕替奈发生在施用一种或多种非典型抗精神病药之前或之后。在其他实施方案中,施用诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈基本上与施用一种或多种非典型抗精神病药同时发生。

[0038] 在另一方面,提供治疗包括但不限于以下的病症、病状或疾病的方法:神经病症或其他病症(例如中风、精神病障碍、疼痛(例如神经病变性疼痛)、抑郁(例如重度抑郁)、帕金森氏病(Parkinson's disease)和阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease));中枢神经系统疾病(例如神经变性疾病、中风、创伤性脑损伤和脊髓损伤);精神分裂症;和/或抑郁(例如难治性抑郁),所述方法包括施用本文所述的组合,例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。其他示例性病状包括但不限于学习障碍、自闭障碍、注意力缺陷活动过度障碍、焦虑、偏头痛、妥瑞氏综合征(Tourette's syndrome)、恐惧症、创伤后应激障碍、痴呆、与衰老相关的记忆缺陷、AIDS痴呆、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、痉挛、肌阵挛、肌肉痉挛、双相障碍、神经病变性疼痛、物质滥用

障碍、尿失禁、缺血、特殊学习障碍、癫痫发作、中风后惊厥、脑缺血、低血糖症、心脏停搏和癫痫。在一些实施方案中，基本上同时施用雷帕替奈和一种或多种非典型抗精神病药。在其他实施方案中，依序施用雷帕替奈和一种或多种非典型抗精神病药，例如在一种或多种非典型抗精神病药之前或之后施用雷帕替奈。

[0039] 涵盖的方法包括治疗有需要的患者的自闭症和/或自闭症谱系障碍的方法，其包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。在一实施方案中，涵盖一种用于减轻有需要的患者的自闭症的症状的方法，其包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。举例来说，在施用后，组合可减少自闭症的一种或多种症状的发生，所述症状诸如目光接触回避、不能社交、注意力缺陷、情绪不良、活动过度、对声音异常敏感、不当言语、睡眠中断和持续言动。所述发生减少可相对于在一个或多个未治疗个体中的发生来衡量。

[0040] 在一些实施方案中，罹患自闭症的患者也罹患另一医学病状，诸如脆性X染色体综合征、结节性硬化、先天性风疹综合征和未治疗的苯丙酮酸尿症。

[0041] 在一些实施方案中，涵盖治疗有需要的患者的病症的方法，其中所述病症选自由以下组成的组：脑缺血、中风、脑创伤、脑肿瘤、急性神经病变性疼痛、慢性神经病变性疼痛、睡眠障碍、药物成瘾、抑郁、某些视力障碍、酒精戒断、焦虑、记忆和学习无能、自闭症、癫痫、AIDS痴呆、多系统萎缩、进行性核上麻痹、弗里德里希氏共济失调(Friedrich's ataxia)、唐氏综合征(Down's syndrome)、脆性X染色体综合征、结节性硬化、橄榄-桥脑-小脑萎缩、脑性麻痹、药物诱发的视神经炎、外周神经病变、骨髓病、缺血性视网膜病变、糖尿病性视网膜病变、青光眼、心脏停搏、行为障碍、冲动控制障碍、阿尔茨海默氏病、伴随早期阿尔茨海默氏病的记忆丧失、注意力缺陷障碍、ADHD、精神分裂症、采用鸦片剂进行改善、尼古丁成瘾、酒精成瘾、创伤性脑损伤、脊髓损伤、创伤后应激综合征和亨廷顿氏舞蹈病，所述方法包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种NMDAR拮抗剂。

[0042] 在一些实施方案中，本文涵盖治疗有需要的患者的注意力缺陷障碍、ADHD(注意力缺陷活动过度障碍)、精神分裂症、焦虑、采用鸦片剂进行改善、尼古丁和/或酒精成瘾(例如治疗所述成瘾或改善从所述成瘾进行戒断的副作用的方法)、脊髓损伤、糖尿病性视网膜病变、创伤性脑损伤、创伤后应激综合征和/或亨廷顿氏舞蹈病的方法，其包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。举例来说，罹患精神分裂症、成瘾(例如酒精或鸦片剂)、自闭症、亨廷顿氏舞蹈病、创伤性脑损伤、脊髓损伤、创伤后应激综合征和糖尿病性视网膜病变的患者可全都遭受NMDA受体表达或功能改变。

[0043] 举例来说，本文提供一种治疗有需要的患者的抑郁的方法，其包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。在某些实施方案中，将治疗抗性患者鉴定为在施用本文所述的组合之前已用至少两种类型的抗抑郁治疗加以治疗的患者。在其他实施方案中，治疗抗性患者是被鉴定为不愿意或不能耐受至少一种类型的抗抑郁治疗的副作用的患者。

[0044] 最常见的抑郁病状包括重度抑郁障碍和心境恶劣障碍。其他抑郁病状在独特情况

下显现。所述抑郁病状包括但不限于精神病性抑郁、产后抑郁、季节性情感障碍(SAD)、情绪障碍、由慢性医学病状诸如癌症或慢性疼痛、化学疗法、慢性应激引起的抑郁、创伤后应激障碍和双相障碍(或躁狂抑郁障碍)。

[0045] 难治性抑郁发生在对标准药理学治疗(包括三环抗抑郁剂、MAOI、SSRI以及双重和三重摄取抑制剂和/或抗焦虑药物)以及非药理学治疗(诸如心理疗法、电惊厥疗法、迷走神经刺激和/或经颅磁性刺激)具有抗性的罹患抑郁的患者中。可将治疗抗性患者鉴定为尽管经受一种或多种标准药理学或非药理学治疗,但未能感受到抑郁的一种或多种症状(例如持久性焦虑感或悲伤感、感觉无助、绝望、悲观)的缓和的患者。在某些实施方案中,治疗抗性患者是尽管经受用两种不同抗抑郁药物治疗,但未能感受到抑郁的一种或多种症状的缓和的患者。在其他实施方案中,治疗抗性患者是尽管经受用四种不同抗抑郁药物治疗,但未能感受到抑郁的一种或多种症状的缓和的患者。也可将治疗抗性患者鉴定为不愿意或不能耐受一种或多种标准药理学或非药理学治疗的副作用的患者。

[0046] 举例来说,本文涵盖用于治疗某一子组的抑郁患者的方法,例如伴有精神病特征的患有单相或双相抑郁的例如可能倾向于经受精神病的那些患者。因此,涵盖的具有情绪障碍的患者所处的由氯胺酮所致的额外认知损害或精神病复发的风险可高于由雷帕替奈所致的风险,即使单次治疗也是这样,因为在与为治疗抑郁所需的剂量类似的剂量下,氯胺酮对认知和精神病变的不利作用可由单次施用而显现。如已有时用氯胺酮所进行,在多次施用氯胺酮以持久、周期性治疗抗性抑郁的情况下,认知损害和精神病的风险可较高。本文例如涵盖施用亚有效剂量雷帕替奈,此可增强多受体AAPD/抗抑郁药物鲁拉西酮的亚有效剂量。在一实施方案中,非典型AAPD诸如鲁拉西酮可使治疗抗性抑郁患者(例如正用氯胺酮治疗)的认知损害和精神病的风险降低。

[0047] 在另一方面,提供一种用于增强疼痛缓解以及用于对动物提供止痛的方法。在一些实施方案中,提供用于治疗神经病变性疼痛的方法。神经病变性疼痛可为急性的或慢性的。在一些情况下,神经病变性疼痛可与诸如疱疹、HIV、创伤性神经损伤、中风、缺血后、纤维肌痛、反射交感神经性营养不良、复杂性区域性疼痛综合征、脊髓损伤、坐骨神经痛、幻肢痛、糖尿病性神经病变和癌症化学治疗诱发的神经病变性疼痛的病状相关。也涵盖用于增强疼痛缓解以及用于对患者提供止痛的方法。

[0048] 在某些实施方案中,提供用于治疗精神分裂症的方法。举例来说,类偏执狂型精神分裂症、紊乱型精神分裂症(即青春型精神分裂症)、紧张型精神分裂症、未分型精神分裂症、残余型精神分裂症、精神分裂症后抑郁和单纯型精神分裂症可使用本文涵盖的方法和组合物治疗。精神病障碍诸如分裂情感性障碍、妄想性障碍、短暂性精神病障碍、分享性精神病障碍和伴有妄想或幻觉的精神病障碍也可使用本文涵盖的组合物治疗。

[0049] 类偏狂型精神分裂症的特征可在于其中存在妄想或幻听,但不存在思维障碍、紊乱行为或情感冷淡。妄想可为迫害性的和/或宏伟的,但除这些之外,也可存在其他主题诸如猜忌、笃信宗教或躯体症状。

[0050] 紊乱型精神分裂症的特征可在于其中共同存在思维障碍和情感冷淡。

[0051] 紧张型精神分裂症的特征可在于其中受试者可为几乎不动的或展现激动的无目的运动。症状可包括紧张性木僵和蜡样屈曲。

[0052] 未分型精神分裂症的特征可在于其中存在精神病症状,但尚未满足类偏执狂型、

紊乱型或紧张型的准则。

[0053] 残余型精神分裂症的特征可在于其中阳性症状仅以低强度存在。

[0054] 精神分裂症后抑郁的特征可在于其中抑郁发作出现在精神分裂症疾患的余波中，其中可仍然存在某一低水平的精神分裂症症状。

[0055] 单纯型精神分裂症的特征可在于主要阴性症状隐袭性和进行性发展，不具有精神病发作史。

[0056] 在一些实施方案中，提供用于治疗可存在于其他精神障碍中的精神病症状的方法，所述精神障碍包括但不限于双相障碍、边缘人格障碍、药物中毒和药物诱发的精神病。

[0057] 在另一实施方案中，提供用于治疗可存在于例如妄想性障碍中的妄想(例如“非怪异型”)的方法。

[0058] 还提供用于治疗在包括但不限于社交焦虑障碍、回避性人格障碍和分裂型人格障碍的病状的情况下的社交退缩的方法。

[0059] 另外，提供用于治疗强迫性障碍(OCD)的方法。

[0060] 在另一实施方案中，提供一种在有需要的患者中治疗阿尔茨海默氏病或例如治疗例如伴随早期阿尔茨海默氏病的记忆丧失的方法，其包括施用本文所述的组合，例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药。本文还提供一种在体外或在体内(例如在细胞中)调节阿尔茨海默氏淀粉样蛋白(例如β淀粉样肽，例如亚型$A\beta_{1-42}$)的方法，其包括使所述蛋白与本文所述的组合例如一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药接触。举例来说，在一些实施方案中，雷帕替奈或另一所公开化合物可阻断所述淀粉样蛋白抑制海马体切片中长期增强作用的能力，以及阻断凋亡性神经元细胞死亡。在一些实施方案中，所公开化合物(例如雷帕替奈)可对有需要的阿尔茨海默氏病患者提供神经保护性质，例如可提供对较晚期阿尔茨海默氏病相关的神经元细胞死亡的治疗作用。

[0061] 在一些实施方案中，患者是人，例如人儿科患者。

[0062] 本公开涵盖“组合疗法”，其包括(但不限于)共同施用一定量的诸如本文所述的NMDA调节剂例如雷帕替奈以及一种或多种非典型抗精神病药，作为意图提供由这些治疗剂的共同作用所致的有益作用的特定治疗方案的一部分。组合的有益作用包括但不限于由治疗剂的组合产生的药物动力学或药力学共同作用。组合施用这些治疗剂通常历经确定时期(视所选组合而定，通常是数天、数周、数月或数年)进行。组合疗法意图包括以依序方式施用多种治疗剂，即其中各治疗剂在不同时间施用，以及以基本上同时方式施用这些治疗剂或至少两种治疗剂。基本上同时施用可例如通过向受试者施用具有固定比率的各治疗剂的单一片剂或胶囊，或以多个各治疗剂的单一胶囊来实现。依序或基本上同时施用各治疗剂可通过包括但不限于口服途径、静脉内途径、肌肉内途径和直接通过粘膜组织来吸收的任何适当途径来实现。治疗剂可通过相同途径或通过不同途径施用。举例来说，所选组合的第一治疗剂可通过静脉内注射施用，而组合的另一治疗剂可口服施用。或者，举例来说，所有治疗剂都可口服施用，或所有治疗剂都可通过静脉内注射施用。

[0063] 组合疗法也可包括进一步与其他生物活性成分和非药物疗法组合来施用如上所述的治疗剂。当组合疗法进一步包含非药物治疗时，非药物治疗可在任何适合时间进行，只要实现由治疗剂和非药物治疗的组合的共同作用所致的有益作用即可。举例来说，在适当

情况下，当暂时从治疗剂的施用移除非药物治疗也许达到数天或甚至数周时，仍然实现有益作用。

[0064] 在一些实施方案中，本文所述的组合的一种或多种组分可以胃肠外方式向患者施用，包括但不限于皮下和静脉内。在一些实施方案中，本文所述的组合的一种或多种组分也可通过缓慢控制静脉内输注或通过从植入装置释放来施用。在一些实施方案中，在施用一次(单次)剂量的雷帕替奈之后1小时、2小时4小时、8小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周或甚至在8天之后，患者例如在认知损害方面具有实质性改进。

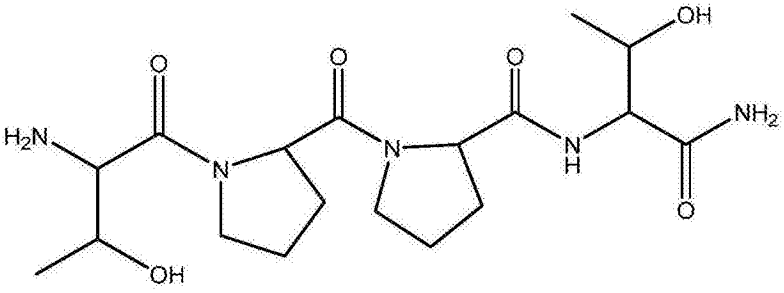
[0065] 所公开化合物的为在疗法中使用所需的治疗有效量随所治疗病状的性质、所需治疗时长、患者的年龄和状况而变化，并且最终由主治医师决定。然而，一般来说，用于成人治疗的剂量通常在本文所述的组合的各组分是每天约0.01mg/kg至约1000mg/kg(例如每天约0.01mg/kg至约100mg/kg，每天约0.01mg/kg至约10mg/kg，每天约0.1mg/kg至约100mg/kg，每天约0.1mg/kg至约50mg/kg，每天约0.1mg/kg至约10mg/kg)的范围内。在某些实施方案中，用于成人治疗的雷帕替奈剂量通常在每天约0.01mg/kg至约100mg/kg(例如每天约0.01mg/kg至约10mg/kg，每天约0.1mg/kg至约100mg/kg，每天约0.1mg/kg至约50mg/kg，每天约0.1mg/kg至约10mg/kg，每天约1mg/kg)的范围内。所需剂量可宜以单次剂量施用，或以在适当间隔下施用的多次剂量形式，例如以每天两次、三次、四次或更多次亚剂量形式施用。

[0066] 许多因素可导致本文所述的组合的各组分历经广泛剂量范围加以施用。当与其他治疗剂组合给予时，本发明化合物的剂量可在相对较低剂量下给予。在某些实施方案中，雷帕替奈的剂量可为约1ng/kg至约100mg/kg。雷帕替奈的剂量可处于包括但不限于以下的任何剂量下：约1ug/kg、25ug/kg、50ug/kg、75ug/kg、100ug/kg、125ug/kg、150ug/kg、175ug/kg、200ug/kg、225ug/kg、250ug/kg、275ug/kg、300ug/kg、325ug/kg、350ug/kg、375ug/kg、400ug/kg、425ug/kg、450ug/kg、475ug/kg、500ug/kg、525ug/kg、550ug/kg、575ug/kg、600ug/kg、625ug/kg、650ug/kg、675ug/kg、700ug/kg、725ug/kg、750ug/kg、775ug/kg、800ug/kg、825ug/kg、850ug/kg、875ug/kg、900ug/kg、925ug/kg、950ug/kg、975ug/kg、1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0067] 在一些实施方案中，所公开化合物例如雷帕替奈可在逆转或预防认知损害的量下进行给药。

[0068] 所公开化合物可作为液体或固体制剂的一部分加以提供，所述制剂例如水性或油性混悬液、溶液、乳液、糖浆和/或酏剂。也可将组合物配制成供在使用之前用水或其他适合媒介物复原的干燥产品。所述液体制剂可含有添加剂，包括但不限于混悬剂、乳化剂、非水性媒介物和防腐剂。混悬剂包括但不限于山梨糖醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖/糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶和氢化可食用脂肪。乳化剂包括但不限于卵磷脂、脱水山梨糖醇单油酸酯和阿拉伯胶。非水性媒介物包括但不限于可食用油、杏仁油、分馏椰子油、油性酯、丙二醇和乙醇。防腐剂包括但不限于羟基苯甲酸甲酯或羟基苯甲酸丙酯和山梨酸。也可配制涵盖的化合物以进行胃肠外施用，包括但不限于通过注射或连续输注。注射用制剂可呈于油性或水性媒介物中的混悬液、溶液或乳液形式，并且可含有配制剂，包括但不限于混悬剂、稳定剂和分散剂。组合物也可以供用适合媒介物复原的粉末形式提供，

所述媒介物包括但不限于无菌无热原水(例如注射用水)。

[0069] 在一些实施方案中,所公开化合物例如雷帕替奈可作为适于静脉内注射的水性组合物的一部分加以提供。在某些实施方案中,所述组合物可包括:(i)60mg/mL至约200mg/mL(例如约125mg/mL至约175mg/mL;例如约150mg/mL或约75mg/mL)的具有下式的药物活性化合物:或其药学上可接受的盐;

(ii)水(例如注射用水);和(iii)酸;其中稳定水性组合物在25℃下具有约3.9至约5.5(例如约4.0至约5.0,约4.2至约5.0,约4.1至约4.7,约4.2至约4.8,约4.0,约4.5)的pH。在某些实施方案中,可将所述组合物安置在容器(例如预填充注射器或小瓶)内,其中化合物的量可提取为至少一个单次剂量。在某些实施方案中,单次剂量可具有约1mL至约4mL(例如3mL)的体积。

[0070] 在某些实施方案中,水性组合物可包括约200mg至约500mg(例如约450mg;约375;或约225mg)的药物活性化合物。

[0071] 在某些实施方案中,酸可选自由反丁烯二酸、苹果酸、乳酸、盐酸、氢溴酸、乙酸、柠檬酸、磷酸、硝酸、硫酸和抗坏血酸组成的组。在某些实施方案中,酸提供水性组合物中的氯离子(例如盐酸)。

[0072] 实施例

[0073] 用于实施例1-3的材料和方法

[0074] N=40、45和48的三组雄性C57BL/6J小鼠(2-1/2-3月龄,Jackson,MA,USA)分别用于实施例1、2、3中。在保持在21±2℃和50±15%相对湿度下的受控环境中,以14:10小时光照-黑暗时期(光照开启:05:00am)成组舍饲小鼠(5只/笼)。所有实验都在光照期期间进行。食物和水可随意取用。在到达后,使小鼠习惯于聚居地1周,在所述时间期间,不对它们进行处理。所有实验都根据芝加哥西北大学(Northwestern University,Chicago)的机构动物护理和使用委员会要求进行。

[0075] 雷帕替奈从SAI Life Sciences(India)获得。PCP是来自国立药物滥用研究所(National Institute of Drug Abuse)的慷慨赠品。氯胺酮购自Sigma Aldrich(St.Louis,MO)。鲁拉西酮由Sumitomo Dainippon Pharma Co.,Ltd.(Osaka,Japan)提供。将雷帕替奈、PCP和氯胺酮溶解于0.9%无菌盐水(Sal)中。在每kg体重10mL的体积下,腹膜内(ip)施用PCP和氯胺酮。静脉内(iv)给予雷帕替奈。选择雷帕替奈的剂量(1.0mg/kg),因为它在幼小成年大鼠和老年大鼠中以及在兔痕迹性眨眼条件反射任务中均产生最优学习增强作用。基于先前研究选择氯胺酮的剂量(30mg/kg)和PCP的剂量(10mg/kg),所述研究显示这些剂量在小鼠和大鼠中诱发显著认知损害。基于在C57BL/6J小鼠中进行的先前NOR研究选择鲁拉西酮的剂量(0.1mg/kg),所述研究确定在亚慢性PCP处理的小鼠中鲁拉西酮使NOR恢复的有效剂量。

[0076] 对于急性药物处理,在NOR任务(以下描述)的获取试验之前30分钟向亚慢性氯胺

酮或亚慢性PCP处理的动物施用雷帕替奈(1.0mg/kg,静脉内)、鲁拉西酮(0.1mg/kg,腹膜内)或氯胺酮(30mg/kg,腹膜内)。对于亚慢性药物处理,将7-10只小鼠/组随机指定于Sal、PCP或氯胺酮。盐水处理的小鼠接受0.9%NaCl;药物处理组接受PCP(10mg/kg;腹膜内),或氯胺酮(30mg/kg;腹膜内),每日两次,持续7天。这继之以7天洗脱时期,在所述时间期间,使小鼠在舍笼中不受打扰直至启动习惯化(参见以下)。

[0077] 基于显示当黑色反射面用于NOR框的内表面时,动物未能进行许多探索的初步实验,将在小鼠中进行的NOR测试从Hashimoto等(Hashimoto K.;Fujita Y.;Shimizu E.;Iyo M.European Journal of Pharmacology 2005,519:114-7)加以略微修改(即框的尺寸,替代黑色反射面将白色背景用于框壁,以及试验的持续时间)。当使用大型物体时,获得类似观察结果。因此,使用白色框壁和小型探索物体。用于小鼠的NOR框的尺寸与用于大鼠的尺寸类似。观察到当试验的持续时间是3或5时,C57BL/6J小鼠进行较少探索。因此,在两个试验中均允许动物探索10分钟,并且注意到探索时间显著增加,于是使用试验的较长持续时间。NOR装置由用有机玻璃制得的开放框(52cm L;52cm W;31cm H)组成,具有白壁和实体底面。使框位于地面以上约30cm,放在台子中心以使顶置灯不能提供空间暗示。在从亚慢性药物处理或盐水处理洗脱7天之后的那天,在获取试验之前三天的每一天,使小鼠以一组形式习惯于空NOR场地一小时。在获取试验期间,允许小鼠持续10分钟探索两个相同物体(例如A1和A2)。这继之以24小时试验间间隔,此后使小鼠返回至舍笼中。在保持试验期间,允许小鼠探索来自获取试验的熟悉物体(A)和新奇物体(例如B)。在保持试验中,使用伪随机时程,对各测试小鼠随机指定新奇物体的位置。伪随机序列遵循由Gellerman(1933)提议的准则以降低物体和地点偏好的影响。此外,为避免偏倚或嗅迹,一式三份使用物体,即用于获取试验中的相同物体不存在于保持试验中。在视频上记录行为以对物体探索进行盲性评分。将物体探索定义为动物舔舐、嗅闻或在嗅闻同时用前爪触碰物体。通过使用两个秒表来手动记录在各试验中对各物体的探索时间,并且如果小鼠在获取试验与保持试验两者中均未能探索>1(s),那么将它们从分析排除。接着计算保持试验的辨别指数(DI)[(探索新奇物体花费的时间-探索熟悉物体花费的时间)/总体探索时间]。

[0078] 所有数据都表示为平均值±S.E.M.(每组n=7-10)。通过重复测量方差分析(ANOVA)来分析探索数据,随后当根据ANOVA而检测到显著作用时,进行成对比较。通过单因素ANOVA来分析DI数据,随后当根据ANOVA而检测到显著作用时,进行邦弗伦尼检验(Bonferroni test)。

[0079] 实施例1雷帕替奈预防雄性C57BL/6J小鼠中急性氯胺酮诱发的NOR缺陷

[0080] 在任何组中,在获取试验期间,都未见对物体探索的显著作用($F_{3,31}=0.90$;P=0.96;数据未显示)。在保持试验中,在药物处理与物体探索时间之间存在显著相互作用($F_{3,31}=24.76$;***P<0.001;数据未显示)。进一步事后分析揭示被给予盐水和盐水加雷帕替奈(1.0mg/kg)的野生型小鼠显示相较于熟悉物体,明显偏好新奇物体,即相对于熟悉物体,花费显著更多时间来探索新奇物体(P<0.001)。在用急性氯胺酮(30mg/kg)处理的小鼠中,这个作用消除-即这些小鼠花费类似时间量来探索两个物体。此外,在急性氯胺酮(30mg/kg)之前被给予雷帕替奈(1.0mg/kg)的小鼠显示相较于熟悉物体,明显偏好新奇物体(P<0.01)。

[0081] 在各组之间在总体探索时间(获取试验+保持试验)方面未观察到显著作用。来自

所有处理组的小鼠都在获取试验和保持试验中花费几乎相等时间来探索(盐水+盐水＝72.5±5.7;雷帕替奈+盐水＝76.876.8±3.8;氯胺酮+盐水＝82.4±11.0;雷帕替奈+氯胺酮＝79.2±8.3)。

[0082] 在DI方面,在各组之间存在显著相互作用($F_{3,31}$＝28.23;***P＜0.001;图1)。相较于盐水加盐水、盐水加雷帕替奈以及雷帕替奈(1.0mg/kg)加氯胺酮(30mg/kg)处理的小鼠,急性氯胺酮加盐水处理的小鼠的DI显著降低(***P＜0.001;###P＜0.001;$$$P＜0.001;图1)。因此,1.0mg/kg雷帕替奈显著预防急性氯胺酮诱发的DI降低。

[0083] 实施例2雷帕替奈显著逆转C57BL/6J小鼠中亚慢性PCP和亚慢性氯胺酮诱发的NOR缺陷

[0084] 对于任何组中,在获取试验期间,都未见对物体探索的显著作用($F_{4,47}$＝0.76;P＝0.23;数据未显示)。在保持试验中,在药物处理与物体探索时间之间存在显著相互作用($F_{4,47}$＝10.45;***P＜0.001;数据未显示)。进一步事后分析揭示被给予盐水的野生型小鼠显示相较于熟悉物体,明显偏好新奇物体(P＜0.001)。在用亚慢性氯胺酮处理的小鼠或亚慢性PCP处理的动物中,这个作用消除。相较于熟悉物体,急性雷帕替奈(1.0mg/kg)处理的动物显著更多探索新奇物体,由此逆转由亚慢性PCP或亚慢性氯胺酮诱发的缺陷(P＜0.001;数据未显示)。在DI方面,在各组之间存在显著相互作用($F_{4,47}$＝9.30;***P＜0.001;图2)。相较于盐水加盐水处理的对照小鼠,亚慢性PCP处理的小鼠和亚慢性氯胺酮处理的小鼠的DI显著降低(*P＜0.05和**P＜0.01;图2)。被给予1.0mg/kg雷帕替奈的亚慢性PCP处理的动物和亚慢性氯胺酮处理的动物的DI得以显著增加,由此显著显示对由亚慢性PCP处理与亚慢性氯胺酮处理两者产生的NOR损害的逆转(###P＜0.001;图2)。

[0085] 总体探索时间:在各组之间在总体探索时间(获取试验+保持试验)方面未观察到显著作用。来自所有处理组的小鼠都在获取试验和保持试验中花费几乎相等时间来探索(盐水+盐水＝74.5±5.7;亚慢性PCP＝74.8±5.5;亚慢性氯胺酮＝80.3±7.2;亚慢性PCP+雷帕替奈＝73.8±3.8;亚慢性氯胺酮+雷帕替奈＝86.2±8.3)。

[0086] 这些结果表明在小鼠中雷帕替奈在不使NOR受损方面不同于NMDAR非竞争性拮抗剂诸如PCP、氯胺酮和地佐环平(MK-801)的作用。

[0087] 实施例3亚有效剂量的雷帕替奈加亚有效剂量的鲁拉西酮逆转亚慢性氯胺酮诱发的NOR缺陷

[0088] 对于任何组中,在获取试验期间,都未见对物体探索的显著作用($F_{4,43}$＝0.92;P＝0.13;数据未显示)。在保持试验中,在药物处理与物体探索时间之间存在显著相互作用($F_{4,43}$＝12.45;***P＜0.001;数据未显示)。进一步事后分析揭示被给予盐水的野生型小鼠显示相较于熟悉物体,明显偏好新奇物体(P＜0.001)。在用亚急性氯胺酮处理的小鼠中以及在被给予亚急性氯胺酮加亚有效剂量的雷帕替奈(0.3mg/kg)和亚急性氯胺酮加亚有效剂量的鲁拉西酮(0.1mg/kg)的动物中,这个作用消除。然而,当亚急性氯胺酮被给予亚有效剂量的鲁拉西酮加亚有效剂量的雷帕替奈时,相较于熟悉物体,动物显著更多探索新奇物体(P＜0.001;数据未显示)。DI显示在各组之间存在显著相互作用($F_{4,43}$＝10.04;***P＜0.001;图3)。相较于盐水对照,亚急性氯胺酮加盐水处理的小鼠、亚急性氯胺酮加雷帕替奈(0.3mg/kg)处理的小鼠以及亚急性氯胺酮加鲁拉西酮(0.1mg/kg)处理的小鼠显示DI显著降低(***P＜0.001)。亚有效剂量的雷帕替奈和鲁拉西酮的组合的作用不显著不同于单独

给予的任一药物的有效剂量的作用。

[0089] 亚有效剂量的雷帕替奈(0.3mg/kg)加亚有效剂量的鲁拉西酮(0.1mg/kg)的组合显著逆转由亚急性氯胺酮产生的DI降低(###P＜0.001;图3)。雷帕替奈使非典型抗精神病药/抗抑郁药物鲁拉西酮增强以使(亚急性)氯胺酮处理的小鼠的NOR恢复。

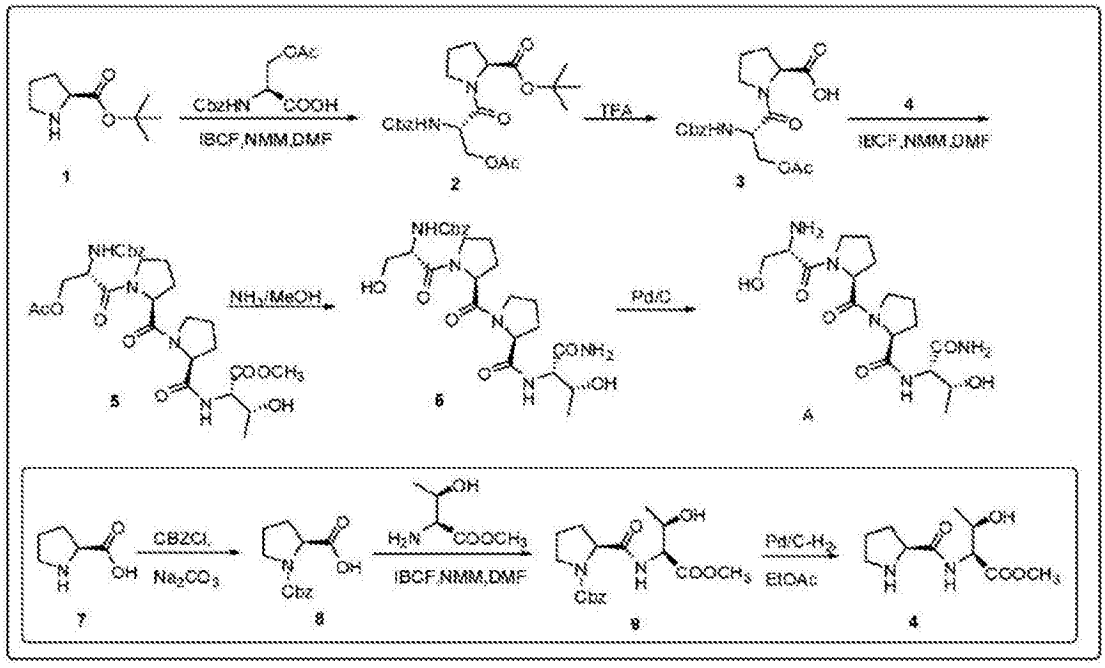
[0090] 总体探索时间:在各组之间在总体探索时间(获取试验+保持试验)方面未观察到显著作用。来自所有处理组的小鼠都在获取试验和保持试验中花费几乎相等时间来探索(盐水+盐水＝77.5±6.7;亚慢性氯胺酮＝86.3±5.2;亚慢性氯胺酮+亚有效剂量的雷帕替奈＝73.2±4.7;亚慢性氯胺酮+亚有效剂量的鲁拉西酮＝71.5±6.2;亚慢性氯胺酮+亚有效剂量的雷帕替奈+亚有效剂量的鲁拉西酮＝78.5±5)。

[0091] 实施例1-3研究强烈表明作为NMDAR甘氨酸位点功能性部分激动剂的雷帕替奈(i)不诱发NOR缺陷;(ii)显著预防急性氯胺酮诱发的NOR缺陷,并且逆转由亚慢性施用NMDAR拮抗剂氯胺酮和PCP产生的NOR缺陷;以及(iii)当与抗精神病/抗抑郁亚有效剂量的鲁拉西酮组合以亚有效的剂量施用时,使亚慢性氯胺酮处理的小鼠的NOR恢复。因为在scNMDAR-精神分裂症认知损害模型中具有改善作用的药物诸如鲁拉西酮也有效改进一些患有精神分裂症的患者的认知损害,所以雷帕替奈也可在患有精神分裂症或情绪障碍的患者中具有一些直接认知益处。

[0092] 实施例4-合成(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物A)。

[0093] 使用以下反应顺序(方案A)来合成(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0094] 方案A.合成化合物A。

[0095] 

[0096] 合成(S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-甲酸叔丁酯(2):

[0097] 将(S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酸(1.5g,5.33mmol)溶解于CH2Cl2(15mL)中。在-15℃下添加N-甲基吗啉(NMM)(0.64mL,5.87mmol)和氯甲酸异丁酯(IBCF)

(0.72mL,6.12mmol),并且在惰性气氛下搅拌30分钟。将(S)-吡咯烷-2-甲酸叔丁酯(1)(998mg,5.87mmol)和NMM(0.64mL,5.87mmol)于DMF(5mL)中的混合物逐滴添加至反应混合物中,并且在室温下再继续搅拌3小时。反应混合物用DCM(200mL)稀释,用水(50mL)、柠檬酸溶液(10mL)和盐水(10mL)洗涤。分离的有机层经无水Na2SO4干燥并在减压下浓缩。所得粗残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用30%EtOAc/己烷洗脱以提供化合物2(1.6g,69.5%)。

[0098] ^{1}H-NMR:(200MHz,DMSO-d6):δ7.81-7.76(d,J=20.5Hz,1H),7.35-7.30(m,5H),5.03-4.97(m,2H),4.61-4.55(m,1H),4.32-4.16(m,2H),4.08-3.87(m,2H),3.65-3.59(m,1H),2.21-2.11(m,2H),1.98(s,3H),1.91-1.75(m,2H),1.37(s,9H);质量m/z:435.0[M++1]。

[0099] 合成(S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-甲酸(3):

[0100] 向化合物2(1g,2.30mmol)于CH_2Cl_2(5mL)中的溶液中添加20%TFA-DCM(10mL),并且在室温下搅拌2小时。反应混合物用水(10mL)稀释,并且用EtOAc(2x 15mL)萃取。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以产生化合物3(800mg,92%)。

[0101] ^{1}H-NMR:(200MHz,DMSO-d_6):δ12.58(br s,1H),7.81-7.77(d,J=8.0Hz,1H),7.35-7.27(m,5H),5.04-4.96(m,2H),4.66-4.60(m,1H),4.32-4.24(m,2H),4.04-3.86(m,1H),3.66-3.59(t,J=12.6Hz,2H),2.17-2.07(m,3H),1.98-1.80(m,4H);质量m/z:379.0[M^++1]。

[0102] 合成(2S,3R)-2-((S)-1-((S)-1-((R)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丁酸甲酯(5):

[0103] 将化合物3(1.0g,2.64mmol)溶解于CH_2Cl_2(10mL)中,在-15℃下将NMM(0.32g,3.17mmol)和IBCF(0.41g,3.04mmol)添加至反应混合物中,并且在惰性气氛下搅拌30分钟。在-15℃下将(2S,3R)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸甲酯(4)(0.73g,3.17mmol)和NMM(0.35mL)于DMF(3mL)中的混合物逐滴添加至反应混合物中,并且在室温下再继续搅拌3小时。反应混合物用DCM(200mL)稀释,用水(20mL)、柠檬酸溶液(2x 20mL)和盐水(2x 50mL)洗涤。分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用5%CH_3OH/EtOAc洗脱以提供化合物(5)(0.29g,19%)。

[0104] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.83-7.81(m,1H),7.72-7.70(m,1H),7.36-7.35(m,5H),5.07-5.01(m,2H),4.99-4.93(m,1H),4.58(s,1H),4.50-4.48(m,1H),4.26-4.22(m,2H),4.07-4.00(m,2H),3.89-3.86(m,1H),3.61-3.55(m,5H),3.53(s,1H),3.39(s,1H),2.12(s,1H),1.98(s,3H),1.94-1.83(m,4H),1.81-1.80(m,3H),1.05(d,J=6.5Hz,3H)。质量m/z:591.0[M^++1]。

[0105] 合成(R)-1-((S)-2-((S)-2-((2S,3R)-1-(氨基氧基)-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-羰基)-吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酸苄酯(6):

[0106] 将氨甲醇溶液(3mL)添加至化合物5(0.28g,0.47mmol)中,并且在室温下搅拌18小时。在减压下蒸发挥发物以提供化合物6(0.21g,82.3%)。

[0107] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.38-7.31(m,5H),7.26(s,1H),7.10-7.03(m,2H),6.65(br s,1H),5.04-5.01(m,2H),4.98-4.84(m,1H),4.76-4.75(m,1H),4.61(s,1H),

4.38-4.31(m,2H),4.02-4.00(m,2H),3.77-3.74(m,1H),3.67-3.56(m,3H),3.44-3.37(m,2H),2.14-1.86(m,8H),1.01-1.00(m,3H)。

[0108] 质量m/z:550[M^++1]。

[0109] 合成(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺(化合物A):向化合物6(0.21g,0.39mmol)于甲醇(5mL)中的溶液中添加10%Pd/C(30mg),并且在氢气氛下搅拌反应混合物2小时。反应混合物经硅藻土过滤,在真空中蒸发溶剂,并且所得粗残余物与乙醚一起研磨以产生A(130mg,83.3%)。

[0110] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ7.39(d,J=8.0Hz,1H),7.08-7.03(m,2H),6.65(br s,1H),4.89-4.85(m,1H),1.61-1.59(m,1H),4.39-4.38(m,1H),4.02-4.00(m,2H),3.68-3.52(m,4H),3.43-3.36(m,2H),3.22-3.10(m,2H),2.19-2.13(m,1H),2.07-1.98(m,1H),1.93-1.81(m,5H),1.75(s,2H),1.01-1.00(m,3H)。

[0111] LCMS m/z:400.2[M^++1]。

[0112] HPLC纯度:99.27%。

[0113] 合成(S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-甲酸(8):向(S)-吡咯烷-2-甲酸(7)(2.0g,17.39mmol)于THF:H_2O(20mL,1:1)中的搅拌溶液中添加Na_2CO_3(2.76g,26.08mmol)和Cbz-Cl(3.54g,20.80mmol),并且在室温下搅拌18小时。反应混合物用EtOAc(10mL)洗涤,并且水层用3N HCl酸化并用EtOAc(2x 20mL)萃取。合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以产生化合物8(3.0g,69.7%)。

[0114] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ12.62(br s,1H),7.36-7.22(m,5H),5.12-5.00(m,2H),4.24-4.15(dd,J=5.0,36.0Hz,1H),3.46-3.31(m,2H),2.25-2.15(m,1H),1.94-1.79(m,3H)。

[0115] 质量m/z:250.0[M^++1]。

[0116] 合成(S)-2-((2S,3R)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-甲酸苄酯(9):

[0117] 将化合物8(5.0g,20.08mmol)溶解于CH_2Cl_2(50mL)中,添加NMM(2.43mL,22.08mmol)和IBCF(2.74mL,23.09mmol),并且在-15℃下在惰性气氛下搅拌30分钟。在-15℃下逐滴添加(2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酸甲酯(2.93g,22.08mmol)和NMM(2.43mL,22.08mmol)于DMF(15mL)中的混合物。在室温下搅拌所得反应混合物3小时。将它用DCM(200mL)稀释,并且有机层用水(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗物质通过硅胶柱色谱法纯化,用30%EtOAc/己烷洗脱以提供化合物9(3.1g,42%)。

[0118] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ7.98-7.94(m,1H),7.35-7.27(m,5H),5.09-4.94(m,3H),4.44(dd,J=5.5,8.5Hz,1H),4.29-4.27(m,1H),4.12(s,1H),3.62(s,3H),3.44-3.30(m,2H),2.20-2.08(m,1H),1.87-1.78(m,3H),1.08-0.94(2d,3H)。

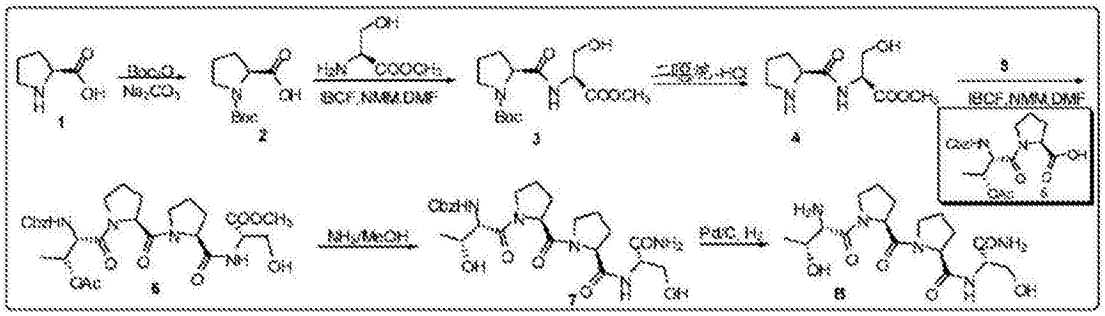
[0119] 质量m/z:365.0[M^++1]。

[0120] 实施例5-合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺(化合物B):

[0121] 使用以下反应顺序(方案B)来合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-

基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺：

[0122] 方案B.合成化合物B

[0123] 

[0124] 合成(S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-甲酸(2)：

[0125] 向(S)-吡咯烷-2-甲酸(1)(3.0g,26.08mmol)于THF:H_2O(60mL,1:1)中的冰冷搅拌溶液中添加Na_2CO_3(5.52g,52.16mmol)、Boc_2O(6.25g,26.69mmol)，并且在室温下搅拌16小时。反应混合物用水稀释，并且用EtOAc(50mL)洗涤。水层用2N HCl酸化，并且用EtOAc(2x 100mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以产生(S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-甲酸(2)(4.8g,86％)。

[0126] ^{1}H-NMR：(500MHz,DMSO-d_6)：δ12.49(br s,1H)，4.08-4.03(m,1H)，3.36-3.24(m,2H)，2.22-2.11(m,1H)，1.87-1.76(m,3H)，1.39(s,9H)。

[0127] 质量m/z:216.0[M^++1]。

[0128] 合成(S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3)：

[0129] 将化合物2(2.0g,9.00mmol)溶解于冷却至-15℃的CH_2Cl_2(10mL)中，添加NMM(1.12mL,10.2mmol)和IBCF(1.26mL,1.15mmol)，并且在0℃下搅拌20分钟。在-15℃下逐滴添加(S)-2-氨基-3-羟基丙酸甲酯(1.59g,10.2mmol)和NMM(1.12mL)于DMF(3mL)中的混合物，并且在室温下搅拌所得反应混合物1小时。将它用DCM(200mL)、水(50mL)稀释，并且用2N HCl(20mL)和盐水(2x 50mL)洗涤。分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗残余物通过硅胶柱色谱法纯化，用20％EtOAc/己烷洗脱以提供呈糖浆状的化合物3(2.3g)。

[0130] 质量m/z:317.0[M^++1]。

[0131] 合成(S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)丙酸甲酯(4)：

[0132] 将(S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3)(500mg,1.58mmol)溶解于1,4-二噁烷(3mL)中，并且添加在二噁烷(3.16mL,3.16mmol)中的HCl溶液，在室温下搅拌4小时。在减压下蒸发挥发物以提供呈固体状的化合物4(280mg)。

[0133] ^{1}H-NMR：(200MHz,DMSO-d_6)：δ9.99(br s,1H)，9.12-9.08(m,1H)，8.53(br s,1H)，5.48(br s,2H)，4.43-4.22(m,2H)，3.82-3.67(m,4H)，3.56(s,3H)，2.36-2.27(m,1H)，1.93-1.86(m,3H)。

[0134] 质量m/z:217.0[M^++1]。

[0135] 合成(S)-2-((S)-1-((S)-1-((2R,3S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸甲酯(6)：

[0136] 将(2S)-1-((2R)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丁酰基)-吡咯烷-2-甲酸(5)

(1.3g,2.62mmol)溶解于CH_2Cl_2(15mL)中,在-10℃下添加NMM(0.43mL)和IBCF(0.51mL),并且在惰性气氛下搅拌30分钟。将(S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丙酸甲酯(4)(992mg,3.93mmol)和NMM(0.43mL)于DMF(5mL)中的混合物逐滴添加至反应混合物中,并且在室温下再继续搅拌3小时。反应混合物用DCM(200mL)稀释,用水(20mL)、柠檬酸溶液(2x 20mL)和盐水(2x 50mL)洗涤。分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗物质通过硅胶柱色谱法纯化,用5%CH_3OH/CH_2Cl_2洗脱以提供化合物6(270mg,17.5%)。

[0137] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ8.13(d,J=8.0Hz,1H),7.74(d,J=7.5Hz,1H),7.38-7.31(m,5H),5.08-4.96(m,3H),4.85-4.82(m,1H),4.56(d,J=8.0Hz,1H),4.44-4.42(m,2H),4.27(d,J=7.0Hz,1H),4.10(d,J=10.5Hz,2H),3.81-3.78(m,1H),3.72-3.70(m,1H),3.61-3.59(m,3H),3.54-3.50(m,2H),2.16-2.14(m,1H),2.05-2.01(m,1H),1.90(s,3H),1.87-1.86(m,3H),1.85-1.84(m,3H),1.21-1.20(d,J=6.0Hz,3H)。

[0138] 质量m/z:591.0[M^++1]。

[0139] 合成(2R,3S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-(氨基氧基)-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸苄酯(7):

[0140] 向化合物6(250g,0.42mmol)于CH_3OH(2mL)中的溶液中添加MeOH-NH_3(10mL),并且在室温下搅拌16小时。在减压下蒸发挥发物以提供化合物7(190mg,84%)。

[0141] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.60(d,J=7.5Hz,1H),7.35-7.30(m,5H),7.18(d,J=7.0Hz,1H),7.11-7.06(m,2H),5.05-4.97(m,2H),4.82-4.81(m,1H),4.60-4.59(m,2H),4.33-4.31(m,1H),4.15-4.08(m,2H),3.81-3.79(m,1H),3.72-3.64(m,2H),3.59-3.53(m,4H),2.14(s,1H),2.03(d,J=9.0Hz,1H),1.95-1.85(m,5H),1.75(s,1H),1.10(d,J=6.5Hz,3H)。

[0142] 质量m/z:550.0[M^++1]。

[0143] 合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺(B):

[0144] 向化合物7(190mg,0.35mmol)于甲醇(5mL)中的溶液中添加10%Pd/C(50mg),并且在氢气氛下搅拌反应混合物2小时。反应混合物经硅藻土垫过滤,在真空中蒸发溶剂,并且粗物质通过碱性氧化铝柱色谱法纯化,使用含0-5%CH_3OH的CH_2Cl_2作为洗脱液以产生化合物B(130mg,73%)。

[0145] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.65-7.60(m,1H),7.12-7.03(m,2H),4.81(br s,1H),4.58-4.57(m,1H),4.49(m,1H),4.38-4.19(m,1H),4.10-4.06(m,1H),3.69-3.62(m,2H),3.59-3.56(m,4H),3.49-3.45(m,2H),3.37-3.26(m,2H),2.19-2.15(m,1H),2.09-1.99(m,1H),1.95-1.84(m,5H),1.75(s,1H),1.06(d,J=13.0Hz,3H)。

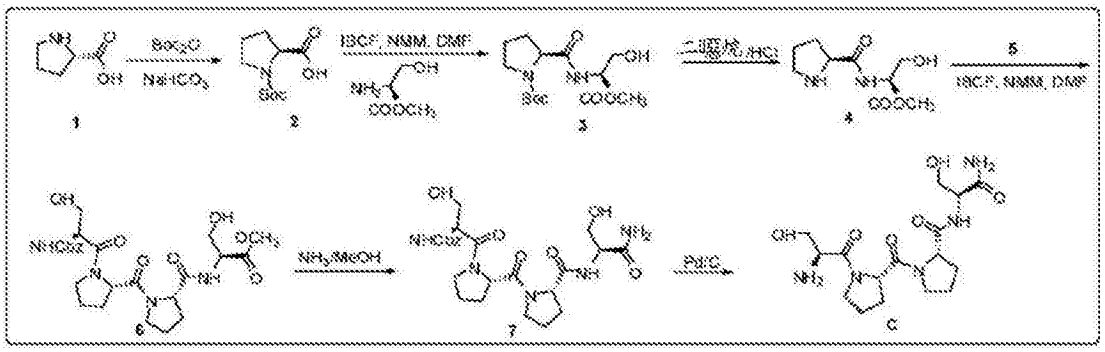
[0146] LCMS m/z:400.8[M^++1]。

[0147] HPLC纯度:97.71%。

[0148] 实施例6-合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺(化合物C):

[0149] 使用以下反应顺序(方案C)来合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺

[0150] 方案C.合成化合物C。

[0151] 

[0152] 合成(S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-甲酸(2)：

[0153] 在0℃下向(S)-吡咯烷-2-甲酸(3.0g,26.08mmol)于THF:H_2O(60mL,1:1)中的搅拌溶液中添加Na_2CO_3(5.52g,52.16mmol)和Boc_2O(6.25g,26.69mmol)，并且在室温下搅拌16小时。反应混合物用水稀释，并且用EtOAc(50mL)洗涤。水层用2N HCl酸化，并且用EtOAc(2x 50mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以产生(S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-甲酸2(4.8g,85.7%)。

[0154] ^{1}H-NMR：(500MHz,DMSO-d_6)：δ12.49(br s,1H)，4.08-4.03(m,1H)，3.36-3.24(m,2H)，2.22-2.11(m,1H)，1.87-1.76(m,3H)，1.39(s,9H)。

[0155] 质量m/z:216.0[M^++1]。

[0156] 合成(S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3)：

[0157] 将化合物2(2.0g,9.00mmol)溶解于冷却至-15℃的CH_2Cl_2(10mL)中，添加NMM(1.12mL,10.2mmol)和IBCF(1.26mL,1.15mmol)，并且在0℃下搅拌20分钟。在-15℃下逐滴添加(S)-2-氨基-3-羟基丙酸甲酯(1.59g,10.2mmol)和NMM(1.12mL)于DMF(3mL)中的混合物。在室温下搅拌所得反应混合物1小时。反应混合物用DCM(200mL)和水(25mL)稀释，并且用2N HCl(20mL)和盐水(10mL)洗涤。分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗物质通过硅胶柱色谱法纯化，用20%EtOAc/己烷洗脱以提供呈固体状的化合物3(2.3g)。

[0158] 质量m/z:317.0[M^++1]。

[0159] 合成(S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)丙酸甲酯(4)：

[0160] 向(S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯3(500mg,1.58mmol)于1,4-二噁烷(3mL)中的溶液中添加HCl于二噁烷(3.16mL,3.16mmol)中的溶液，并且在室温下搅拌4小时。在减压下蒸发挥发物以提供呈固体状的化合物4(280mg)。

[0161] ^{1}H-NMR：(200MHz,DMSO-d_6)：δ9.99(br s,1H)，9.12-9.08(m,1H)，8.53(br s,1H)，5.48(br s,2H)，4.43-4.22(m,2H)，3.82-3.67(m,4H)，3.56(s,3H)，2.36-2.27(m,1H)，1.93-1.86(m,3H)。

[0162] 质量m/z:217.0[M^++1]。

[0163] 合成(S)-2-((S)-1-((S)-1-((S)-2-(苄氧基羰基氨基)-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸甲酯(6)：

[0164] 将(S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-甲酸(5)(400mg,1.05mmol)溶解于CH_2Cl_2(2mL)中，在-15℃下添加NMM(0.13mL)和IBCF(0.14mL)，并

且在惰性气氛下搅拌30分钟。将(S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丙酸甲酯盐酸盐(4)(293mg,1.16mmol)和NMM(0.13mL)于DMF(2mL)中的混合物逐滴添加至反应混合物中,并且在室温下再继续搅拌3小时。反应混合物用DCM(200mL)稀释,用水(20mL)和盐水(10mL)洗涤。分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗物质通过硅胶柱色谱法纯化,用5%CH_3OH/CH_2Cl_2洗脱以提供化合物6(80mg,13%)。

[0165] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ8.09(d,J=7.5Hz,1H),7.71(d,J=8.0Hz,1H),7.36-7.31(m,6H),5.07-4.99(m,3H),4.59-4.58(m,2H),4.41-4.40(m,1H),4.29-4.24(m,3H),3.86(t,J=9.5Hz,1H),3.72-3.68(m,1H),3.64-3.57(m,3H),3.40-3.38(m,3H),2.14-2.01(m,2H),1.98(s,3H),1.90-1.80(m,6H)。

[0166] 质量m/z:535.0[M^++1]。

[0167] 合成(S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酸苄酯(7):

[0168] 向(S)-2-((S)-1-((S)-1-((S)-2-(苄氧基羰基氨基)-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸甲酯(6)(60mg,1.04mmol)于MeOH中的溶液中添加MeOH-NH_3(3mL),在室温下搅拌16小时。在减压下蒸发挥发物以提供化合物7(30mg,55%)。

[0169] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.60(d,J=7.5Hz,1H),7.36-7.31(m,6H),7.11-7.06(m,2H),5.04-4.98(m,2H),4.82-4.74(m,2H),4.61-4.59(m,1H),4.36-4.30(m,2H),4.10-4.07(m,1H),3.67-3.65(m,2H),3.59-3.55(m,6H),3.44-3.40(m,2H),1.95-1.92(m,6H)。

[0170] 质量m/z:520.0[M^++1]。

[0171] 合成(S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺(C):

[0172] 将(S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙烷-2-基氨基甲酸苄酯7(300mg,0.57mmol)溶解于甲醇(8mL)中,添加10%Pd/C(50mg),并且在氢气氛下搅拌反应混合物2小时。过滤反应混合物,并且在减压下浓缩滤液以产生化合物C(150mg,68%)。

[0173] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ7.62(d,J=8.0Hz,1H),7.24(br s,1H),7.14-7.07(m,2H),4.87-4.82(m,2H),4.59-4.57(m,1H),4.37-4.31(m,2H),4.11-4.07(m,2H),3.70-3.39(m,8H),2.17-2.01(m,2H),1.95-1.79(m,6H)。

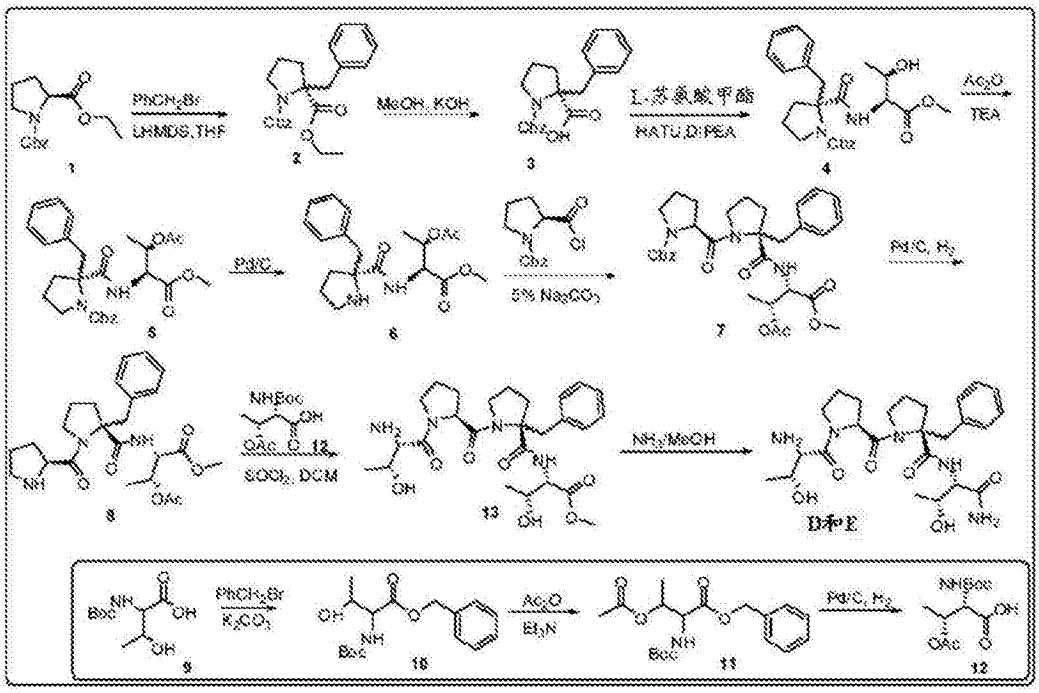
[0174] LCMS m/z:386.4[M^++1]。

[0175] HPLC纯度:98.45%。

[0176] 实施例7-合成N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(化合物D和E):

[0177] 使用以下反应顺序(方案D)来合成N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(化合物D和E):

[0178] 方案D.合成化合物D和E。

[0179] 

[0180] 合成2-苄基吡咯烷-1,2-二-甲酸1-苄酯2-乙酯(2):

[0181] 在-25℃下在惰性气氛下向(S)-吡咯烷-1,2-二甲酸1-苄酯2-乙酯(1)(10g,36.10mmol)于THF(150mL)中的溶液中添加LiHMDS(1M于THF中)(43.3mL,43.3mmol),并且搅拌2小时。在-25℃下将苄基溴(5.17mL,43.26mmol)逐滴添加至反应混合物中。使它升温至室温,并且搅拌2小时。使反应混合物冷却至5℃,用饱和NH_4Cl溶液淬灭,并且水层用EtOAc(2x 200mL)萃取。合并的有机萃取物经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗残余物通过硅胶柱色谱法纯化,用5%EtOAc/己烷洗脱以提供呈液体状的化合物2(13g,75%)。

[0182] ^{1}H-NMR:(200MHz,DMSO-d_6):δ7.47-7.32(m,5H),7.27-7.16(m,3H),7.07-7.04(m,2H),5.29-5.06(m,2H),4.16-3.89(m,2H),3.57-3.33(m,2H),3.02-2.78(m,2H),2.13-1.89(m,2H),1.56-1.51(m,1H),1.21-1.04(m,3H),0.93-0.79(m,1H)。

[0183] 质量m/z:368.2[M^++1]。

[0184] 合成2-苄基-1-(苄氧基羰基)-吡咯烷-2-甲酸(3):

[0185] 向化合物2(8.0g,21.79mmol)于CH_3OH(20mL)中的搅拌溶液中添加2N KOH水溶液(20mL),并且加热至100℃并搅拌16小时。在减压下蒸发挥发物。所得残余物用冰冷水(50mL)稀释,并且用醚(50mL)洗涤。使用HCl溶液将水层酸化至pH～2,并且用EtOAc(2x 100mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以提供呈灰白色固体状的化合物3(6g,81%)。

[0186] ^{1}H-NMR:(200MHz,DMSO-d_6):δ12.71(br s,1H),7.40-7.30(m,5H),7.25-7.19(m,3H),7.07-7.00(m,2H),5.27-5.02(m,2H),3.59-3.32(m,2H),3.02-2.83(m,2H),2.13-1.91(m,2H),1.58-1.49(m,1H),0.90-0.77(m,1H)。

[0187] 质量m/z:340.1[M^++1]。

[0188] 合成2-苄基-2-((2S,3R)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-甲酸苄酯(4):

[0189] 在5℃下向化合物3(1.0g,2.94mmol)、L-苏氨酸甲酯(471mg,3.53mmol)于DMF

(20mL)中的悬浮液中添加HATU(1.12g,2.94mmol)和DIPEA(1.58mL,8.84mmol)。在室温下搅拌反应混合物16小时。将它用EtOAc(150mL)稀释,并且用水(2x 30mL)洗涤。有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,浓缩并通过硅胶柱色谱法纯化,用50%EtOAc/己烷作为洗脱液以产生化合物4(1.0g,74%)。

[0190] ^{1}H-NMR:(200MHz,DMSO-d_6):δ7.62-7.59(m,1H),7.44-7.31(m,5H),7.21-7.18(m,3H),7.06-6.99(m,2H),5.25-5.24(m,1H),5.12-4.94(m,2H),4.30(s,1H),4.15-4.08(m,1H),3.66-3.64(m,3H),3.63-3.49(m,2H),3.14(s,1H),2.89(s,1H),2.09-2.02(m,2H),1.56-1.51(m,1H),1.09-0.98(m,4H)。

[0191] 质量m/z:455.1[M^++1],477.3[M+Na]。

[0192] 合成2-((2S,3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酰基)-2-苄基吡咯烷-1-甲酸苄酯(5):

[0193] 将化合物4(3g,6.60mmol)溶解于THF(30mL)中,在室温下添加Et_3N(1.11mL,7.92mmol)和Ac_2O(742mg,7.26mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。在减压下蒸发挥发物,并且所得残余物用CH_2Cl_2稀释并用稀HCl洗涤。合并的有机萃取物经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗残余物通过柱色谱法纯化,使用30%EtOAc/己烷作为洗脱液以产生化合物5(2.5g,76%)。

[0194] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ8.15-7.71(m,1H),7.42-7.04(m,10H),5.30-5.19(m,2H),5.11-5.09(m,1H),4.99-4.93(m,1H),4.67-4.62(m,1H),3.66-3.64(m,3H),3.55-3.46(m,2H),3.38-3.35(m,1H),2.88-2.69(m,1H),2.17-2.00(m,2H),1.98-1.92(m,3H),1.56-1.46(m,1H),1.23-1.17(m,3H),1.02-0.86(m,1H)。

[0195] LCMS m/z:497.4[M^++1]。

[0196] 合成(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸甲酯(6):

[0197] 向化合物5(4g,8.06mmol)于乙醇(50mL)中的搅拌溶液中添加10%Pd/C(1.2g),并且在H_2气氛(气球压力)下搅拌反应混合物4小时。将它经硅藻土垫过滤,并且在减压下浓缩滤液以产生化合物6(2.2g,75%)。

[0198] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ8.22-8.17(m,1H),7.24-7.16(m,5H),5.17(t,J=11.5Hz,1H),4.48-4.42(m,1H),3.60-3.54(s,3H),3.20(t,J=13.5Hz,1H),3.06-2.97(m,1H),2.82-2.68(m,3H),2.08-2.02(m,1H),1.89(s,3H),1.72-1.51(m,3H),1.10(2d,3H)。

[0199] LCMS m/z:363[M^++1],385[M+Na]。

[0200] 合成(S)-2-(2-((2S,3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酰基)-2-苄基吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-甲酸苄酯(7):

[0201] 向化合物6(1g,2.76mmol)和Na_2CO_3(732mg,6.90mmol)于CH_2Cl_2:H_2O(20mL,1:1)中的搅拌溶液中添加酰氯[在0℃下向(S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-甲酸(825mg,3.31mmol)于CH_2Cl_2(20mL)中的溶液中逐滴添加$SOCl_2$(0.60mL),并且回流2小时。在减压下移除挥发物以产生(S)-2-(氯羰基)吡咯烷-1-甲酸苄酯]于CH_2Cl_2中的溶液,并且在室温下搅拌反应混合物2小时。在减压下蒸发挥发物。残余物用CH_2Cl_2(100mL)稀释,过滤,并且在真空下浓缩滤液。粗残余物通过柱色谱法纯化,使用60%EtOAc/己烷作为洗脱液以提供化合物7(750mg,45%)。

[0202] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6)(旋转异构体):δ7.36-7.23(m,8H),7.15-7.12(m,3H),5.21-5.15(m,2H),5.04-4.92(m,1H),4.57-4.50(m,2H),3.88(d,J=14.5Hz,1H),3.65(s,3H),3.54-3.46(m,3H),3.21-3.13(m,1H),3.02-2.90(m,2H),2.19-2.02(m,4H),1.97(s,3H),1.89(s,1H),1.77-1.65(m,1H),1.17(s,2H),1.06(s,2H)。

[0203] 质量m/z:594.1[M^++1]。

[0204] 合成(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(8):

[0205] 在惰性气氛下向化合物7(200mg,0.336mmol)于EtOAc(15mL)中的溶液中添加10%Pd/C(40mg),并且在H_2气氛(气球压力)下搅拌12小时。反应混合物经硅藻土垫过滤并在减压下浓缩。所得残余物与醚(10mL)一起研磨以提供呈固体状的化合物8(125mg,81%)。

[0206] ^{1}H-NMR:(500MHz,$CDCl_3$)(旋转异构体):δ7.88-7.87(d,1H,J=8.5),7.30-7.26(m,2H),7.24-7.21(m,1H),7.13-7.12(d,2H,J=7),5.44-5.43(m,1H),4.76-4.74(m,1H),3.94-3.92(m,1H),3.84-3.81(m,1H),3.75(s,3H),3.50(m,1H),3.26-3.12(m,3H),2.90-2.88(m,1H),2.23-2.15(m,4H),2.04(s,3H),1.87-1.77(m,5H),1.27-1.24(m,3H)。

[0207] 质量m/z:460(M+1)。

[0208] 合成2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯(10):

[0209] 向2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸(3.0g,13.69mmol)于DMF(50mL)中的溶液中添加K_2CO_3(3.73g,27.39mmol),并且在室温下搅拌15分钟。添加(溴甲基)苯(2.81g,16.43mmol),并且在室温下搅拌6小时。反应混合物用水(50mL)稀释,并且用EtOAc(2x 50mL)萃取。合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗物质通过硅胶柱色谱法纯化,使用20%EtOAc/己烷作为洗脱液以提供2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯10(2.8g,66%)。

[0210] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.37-7.30(m,5H),6.60(d,J=8.5Hz,1H),5.18-5.08(m,2H),4.76(d,J=7Hz,1H),4.08-4.00(m,2H),1.38(s,9H),1.09(d,J=6.0Hz,3H)。

[0211] 质量m/z:310.0[M^++1],210[M^+-脱Boc]。

[0212] 合成3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)-丁酸苄酯(11):

[0213] 向2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯(2.8g,9.06mmol)于THF(80mL)中的搅拌溶液中添加Ac_2O(1.1g,10.87mmol)、Et_3N(1.51mL,10.87mmol)和DMAP(280mg),并且在室温下搅拌15分钟。在减压下移除挥发物。所得残余物用EtOAc(150mL)稀释,并且用冷的0.5N HCl溶液(2x 20mL)洗涤。有机层用盐水洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩以提供3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)-丁酸酯11(2.8g,88%)。

[0214] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ7.35-7.34(m,5H),7.27-7.25(d,J=8.5Hz,1H),5.18-5.06(m,3H),4.34-4.32(m,1H),1.90(s,3H),1.39(s,9H),1.16(d,J=3Hz,3H)。

[0215] 质量m/z:252[M^++1-脱Boc]。

[0216] 合成(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)-丁酸(12):

[0217] 将3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯11(1.4g,3.98mmol)溶解于EtOAc(40mL)中,添加10%Pd/C(600mg),并且在氢气氛下搅拌反应混合物16小时。反应混合物经硅藻土过滤,在真空中蒸发溶剂,并且粗残余物与己烷一起研磨以产生(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸12(0.7g,70%)。

[0218] ^{1}H-NMR:(500MHz,DMSO-d_6):δ12.78(br s,1H),6.94(d,J=9.5Hz,1H),5.16-5.14(m,1H),4.17-4.15(m,1H),1.95(s,3H),1.39(s,9H),1.10(d,J=6.0Hz,3H)。

[0219] 质量m/z:260.0[M-1]。

[0220] 合成(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基-氨基)-丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸甲酯(13):

[0221] 在-15℃下在惰性气氛下向化合物(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)-丁酸12(199mg,0.76mmol)于CH_2Cl_2(6mL)中的溶液中添加IBCF(125mg,0.91mmol)和NMM(154mg,1.52mmol),并且搅拌1小时。将(2S,3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸甲酯8(350mg,0.76mmol)于DMF(2mL)中的溶液添加至反应混合物中,并且在-15℃下搅拌1小时。使所得反应混合物升温至室温,并且搅拌19小时。反应混合物用EtOAc萃取,并且分离的有机层依次用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗物质通过制备性HPLC纯化以提供化合物13(100mg,20%)。

[0222] ^{1}H-NMR:(500MHz,CD_3OD)(旋转异构体):δ7.30-7.24(m,3H),7.15-7.13(m,2H),4.62-4.55(m,2H),4.29-3.97(m,1H),3.98-3.79(m,4H),3.75(s,3H),3.62-3.22(m,2H),3.23(d,J=13.5Hz,1H),3.00-2.95(q,1H),2.37-2.31(m,1H),2.23-2.10(m,2H),2.02-1.88(m,3H),1.46-1.28(m,2H),0.97(d,J=7.0Hz,6H)。

[0223] 合成N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(D和E):

[0224] 在室温下在密封管中搅拌化合物13(100mg,0.153mmol)于甲醇-NH_3(10mL)中的溶液72小时。在减压下浓缩反应混合物。所得粗残余物用醚(2x 2mL)洗涤以提供化合物D和E的非对映异构混合物(85mg)。85mg的这个混合物进一步通过手性制备性HPLC纯化以产生15mg化合物D和E各自。

[0225] ^{1}H-NMR:(500MHz,CD_3OD)(旋转异构体):δ7.33-7.26(m,3H),7.16(s,2H),4.55-4.54(m,1H),4.39(s,1H),4.14(s,1H),4.01-3.98(m,1H),3.91-3.71(m,3H),3.59(s,2H),3.25-3.16(m,1H),3.04-3.00(m,1H),2.33-2.10(m,3H),2.01-1.91(m,2H),1.86-1.80(m,1H),1.46-1.44(m,1H),1.34-1.29(m,1H),1.25-1.19(m,3H),0.99-0.97(d,J=14.0Hz,3H)。

[0226] 质量m/z:503[M^+];HPLC纯度:98.1%。

[0227] 等效方案

[0228] 本领域技术人员将仅使用常规实验就会认识到或能够确定本文所述的本发明的特定实施方案的许多等效方案。所述等效方案意图由以下权利要求涵盖。

[0229] 以引用的方式并入

[0230] 本文引用的所有专利、公开专利申请、网站和其他参考文献的整个内容据此以引用的方式整体明确并入本文。

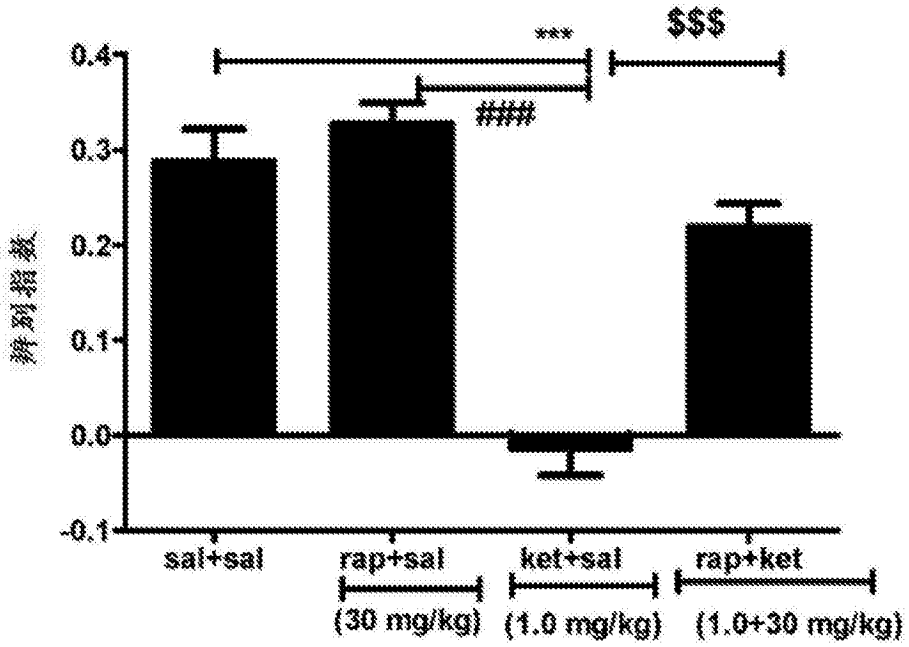


图1. 在雄性C57BL/6J小鼠中，在NOR任务中，盐水（sal；0.9%；静脉内）、急性雷帕霉素（rap；1.0 mg/kg；静脉内）、急性氯胺酮（ket；30 mg/kg；腹膜内）；rap+ket（1.0 mg/kg+30 mg/kg）的作用。数据表示为平均值±S.E.M.（每组N=7－10）。DI，***P<0.001；相较于sal，DI显著降低；###P<0.001；相较于Rap+Sal，DI显著降低；$$$P<0.001；相较于ket+sal，DI显著增加。

图1

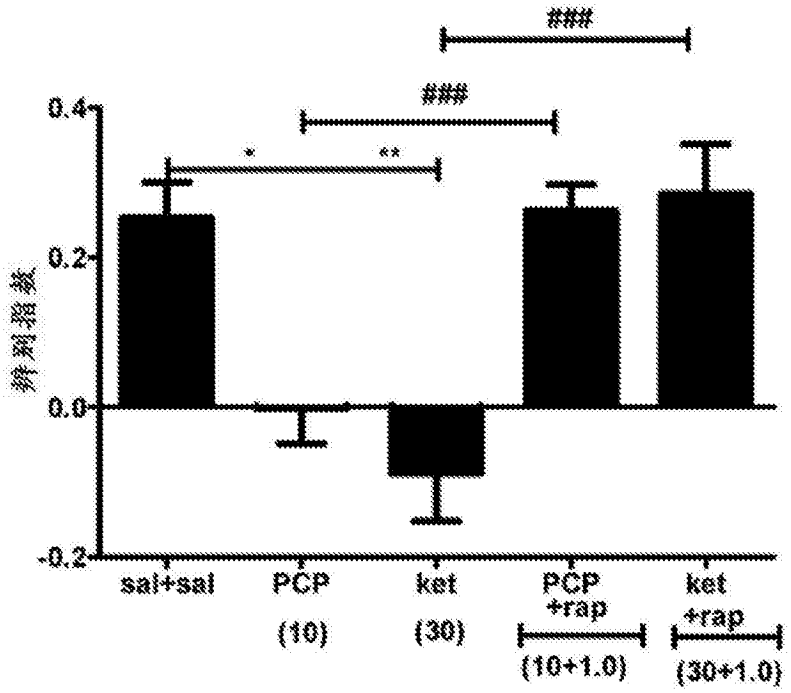


图2. 在雄性C57BL/6J小鼠中，在NOR任务中，亚慢性sal（0.9%）、亚慢性PCP和亚慢性ket（10和30 mg/kg；腹膜内；每日两次；7天；7天洗脱）；亚慢性PCP+rap（1.0 mg/kg）和亚慢性ket+rap（1.0 mg/kg）的作用。数据表示为平均值±S.E.M.（每组N=7－10）。DI，*P<0.05；**P<0.01；相较于sal处理，DI显著降低。###P<0.001；相较于亚慢性PCP+sal或亚慢性ket+sal，被给予rap（1.0 mg/kg）的亚慢性PCP处理小鼠和亚慢性ket处理小鼠的DI显著增加。

图2

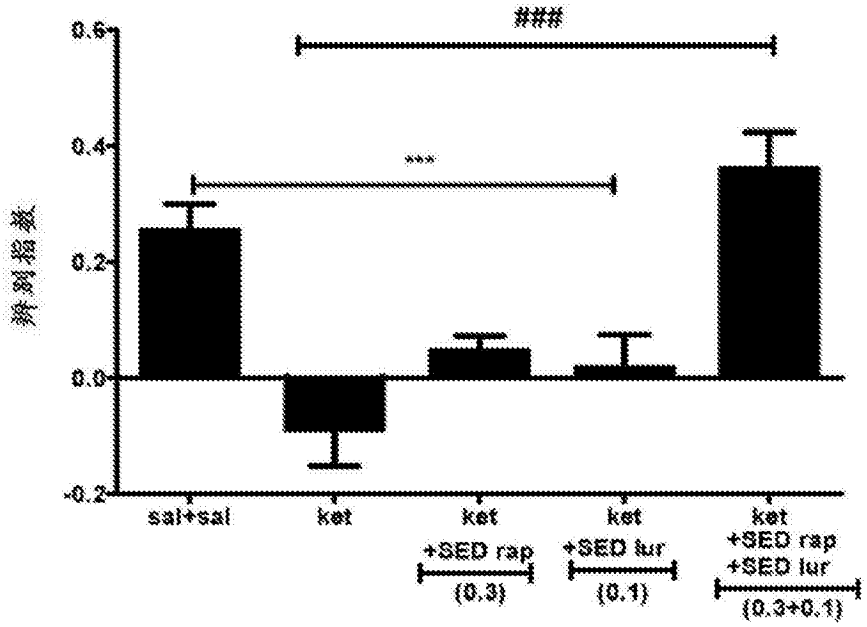


图3. 在雄性C57BL/6J小鼠中，在NOR任务中，亚慢性sal（0.9%）、亚慢性ket（30 mg/kg）、亚慢性ket+rap（0.3 mg/kg；亚有效剂量）、亚慢性ket+鲁拉西酮（0.1 mg/kg；lur；SED），亚慢性ket+亚有效剂量的rap+亚有效剂量的lur的作用。数据表示为平均值±S.E.M.（每组N=8－10）。DI，***P<0.001；相较于sal处理小鼠，DI显著降低。###P<0.001：相较于亚慢性ket+sal；亚慢性ket+亚有效剂量的rap；亚慢性ket+亚有效剂量的lur，DI显著增加。

图3