



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101273014 B

(45) 授权公告日 2011. 01. 12

(21) 申请号 200680035268. 2

(22) 申请日 2006. 10. 12

(30) 优先权数据

0502254. 6 2005. 10. 13 SE

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 03. 25

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2006/009866 2006. 10. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02007/042295 EN 2007. 04. 19

(73) 专利权人 NSAB 神经研究瑞典公司分公司

地址 丹麦巴勒鲁普

(72) 发明人 C·索内松

(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 顾颂邈

(51) Int. Cl.

C07D 211/24 (2006. 01)

A61K 31/445 (2006. 01)

A61P 25/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2006040156 A1, 2006. 04. 20,

W0 0146146 A1, 2001. 06. 28,

审查员 温国永

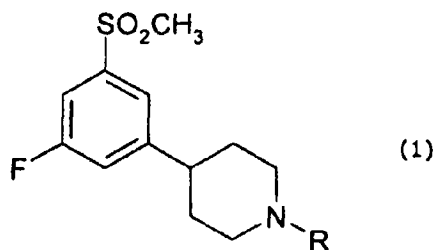
权利要求书 2 页 说明书 18 页

(54) 发明名称

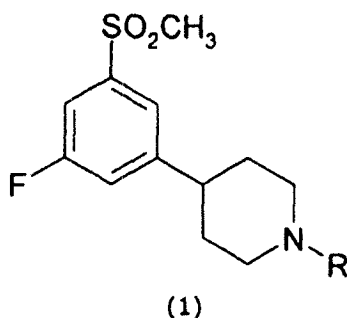
作为多巴胺神经传递调节剂的 3,5- 二取代
的苯基 - 哌啶

(57) 摘要

本发明涉及对中枢神经系统障碍具有
治疗效果的化合物, 特别是式 (1) 的
取代的苯基哌啶, 其中 R 如说明书定义。



1. 式 1 的化合物：



其中 R 代表 C_1 - C_3 烷基；或其药学可接受的盐。

2. 根据权利要求 1 的化合物，其中 R 选自正丙基和乙基。

3. 根据权利要求 1 的化合物，其为：

1-乙基-4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]哌啶，或

4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]-1-丙基哌啶；

或其药学可接受的盐。

4. 根据权利要求 1 的化合物，其为 1-乙基-4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]哌啶，或其药学可接受的盐。

5. 根据权利要求 1 的化合物，其为 1-乙基-4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]哌啶盐酸盐。

6. 药物组合物，包含根据权利要求 1-5 任一项的化合物和一种或多种药学可接受的载体或稀释剂。

7. 权利要求 1-5 任一项的化合物用于制备治疗中枢神经系统的障碍的药物的应用。

8. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为帕金森氏病、帕金森综合征、运动障碍、张力障碍、抽搐、震颤或亨廷顿氏病。

9. 根据权利要求 8 的应用，所述的运动障碍为 L-DOPA 诱导的运动障碍。

10. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为医源性精神病，非医源性精神病或幻觉症。

11. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为精神分裂症，精神分裂症样精神障碍或双相性精神障碍。

12. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为心境障碍或焦虑性障碍、抑郁或强迫观念与行为疾病。

13. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为泛自闭症障碍症候群、ADHD、大脑性瘫痪、图雷特综合征。

14. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为痴呆或与年龄有关的认知缺损。

15. 根据权利要求 7 的应用，所述的中枢神经系统的障碍为睡眠障碍、性功能障碍、进食障碍、肥胖和头痛或特征在于肌紧张增加的病症中的其他疼痛。

16. 根据权利要求 7 的应用，用于改善运动功能、认知功能和相关的情绪紊乱，及外伤、炎症、感染、肿瘤、血管、缺氧性或代谢性原因诱导的脑损伤后或对于外源性化学物质的毒性反应诱导的脑损伤，其中外源性化学物质选自滥用的物质、药物化合物、环境毒素。

17. 根据权利要求 7 的应用,所述的中枢神经系统的障碍为与物质滥用有关的障碍。
18. 根据权利要求 7 的应用,所述的中枢神经系统的障碍为阿尔茨海默氏病或相关的痴呆病。

作为多巴胺神经传递调节剂的 3,5- 二取代的苯基 - 哌啶

发明领域

[0001] 本发明涉及新的多巴胺神经传递的调节剂,更具体地涉及新的二取代的苯基 - 哌啶,及其应用。

[0002] 发明背景

[0003] 多巴胺是脑中的一种神经递质。由于在 1950 年代做出的这个发现,已经广泛地探索了多巴胺在脑中的功能。到目前为止,已经清楚地确定了:多巴胺在脑功能的几个方面是必需的,包括运动、认知、感觉、情绪和自主功能(例如,食欲、体温、睡眠的调节)。因此,调节多巴胺能的功能在治疗广泛范围的影响脑功能的障碍中是有益的。实际上,直接或间接影响中枢多巴胺受体的药物通常可以用于治疗神经病学和精神病学的障碍,例如帕金森氏病和精神分裂症。但是,当前可用的多巴胺药物具有严重的副作用。例如,已知多巴胺拮抗剂可以诱导运动(锥体外系副作用;EPS)和精神方面的副作用(例如,快感缺失、烦躁不安和认知损害),并已知多巴胺激动剂可以诱导运动障碍和精神病(Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed./McGraw-Hill, USA. Chapter 18, p407-416, Chapter 22, p509-512, p515-516)。

[0004] 许多研究者用于改善多巴胺能药物的效力和降低副作用的方法是开发出对特定的多巴胺受体亚型具有选择性或具有区域选择性的新多巴胺受体配体。通过脑的多巴胺系统发挥作用的另一类化合物是多巴胺能稳定剂,其已经显示出可以用于治疗神经病学和精神病学障碍(AEkesbo, PhD Thesis, Uppsala University, Sweden Functional consequences of dopaminergic degeneration, clinical and experimental studies using a novel stabilizer of dopaminergic systems;Ekesbo 等人, (-)-OSU6162 inhibits levodopa-induced dyskinesia in a monkey model of Parkinson's disease. Neuroreport, 8, 2567, 1997; Tedroff 等人, Long-lasting improvement in motor function following (-)-OSU6162 in a patient with Huntington's disease. Neurology, 22; 53 1605-6, 1999; Gefvert O. 等人, (-)-OSU6162 induces a rapid onset of antipsychotic effect after a single dose. A double-blind placebo-controlled pilot study. Scandinavian Society for Psychopharmacology, 41st Annual Meeting, Copenhagen Denmark Nordic Journal of Psychiatry 54/293-94, April 2000; Carlsson 等人, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 41, 237, 2001; Carlsson 等人, Current Medicinal Chemistry, 11, 267, 2004)。

[0005] 另一种多巴胺能化合物,又称多巴胺-5-羟色胺系统稳定剂及 DAD2 受体的部分激动剂是近来开发出的抗精神病化合物阿立哌唑(Burris 等人, Pharm. Exp. Ther, vol. 302, 381, 2002.)。此外,在下列文献中已经描述了称作多巴胺稳定剂的化合物:WO 01/46145, WO 01/46146, Pettersson 等人, The development of ACR16. A new class of dopaminergic stabilizers. Society for Neuroscience 32nd Annual Meeting, Abstract 2002, Vol. 28 part 11028, Orlando USA 2002; 和 Nyberg 等人, Efficacy and tolerability of the new dopamine stabiliser ACR16 a randomised placebo-controlled add-on study in

patients with schizophrenia 12th BIENNIAL WINTER WORKSHOP ON SCHIZOPHRENIA, 7-13 February 2004, Davos, Switzerland.

[0006] 在 WO 01/46145, WO 01/46146 和 Pettersson 等人 2002 中所描述的作为多巴胺稳定剂特征的典型药理效果可以概括为: 1) 增加多巴胺在哺乳动物脑中上升的多巴胺能投射的终端区的翻转; 2) 在未治疗的大鼠中没有或只有较弱的行为效果; 和 3) 在大鼠中抑制精神刺激药或拟精神病化合物诱导的行为效果。在本发明中, 这也称作多巴胺能稳定剂性质。

[0007] 已知, 在治疗神经病学和精神病学障碍(特别是抗精神病药和抗抑郁化合物)中使用的某些药物活性化合物可以对那些心脏钾通道具有不希望的效果, 其中, 心脏钾通道与心脏细胞的电复极化有关, 一般称作 hERG 通道(人 ether-a-go-go 相关基因编码的电压依赖性钾通道)或 I_{Kr} (快速活化延迟的整流钾电流)通道。阻断这些通道的药物可以诱导室性心律不齐(扭转型室性心动过速, TdP), 导致健康对象突然死亡。药物对于心脏复极化具有不希望的效果的证据可以通过心电图的 QT 间隔的延长看出来, 这可以认为是 TdP 危险的代用标志。由于与心律失常有关的不可接受的副作用, 很多药物已经退出市场(J Cardiovasc Electrophysiol. 15, 475, 2004., Eur J. Pharm., 450, 37, 2002, Cardiovascular Research, 58, 32, 2003)。

[0008] 本发明涉及治疗患有 CNS 障碍的哺乳动物的领域, 其中通过多巴胺能功能可以影响其症状, 其中所述治疗包括给所述哺乳动物施用一定量的新型的具有多巴胺能稳定剂性质的化合物。此外, 该化合物在心脏钾通道中显示了较低的亲和力, 减少了严重的心脏副作用的风险。

[0009] 现有技术的描述

[0010] 先前已经报道了属于取代的 4-(苯基)-N-烷基-哌啶类的化合物。在这些化合物中, 一些在 CNS 中是没有活性的, 一些显示了 5-羟色胺能或混合的 5-羟色胺能/多巴胺能的药理学性质, 而一些是对多巴胺受体具有高度亲和力的完全或部分多巴胺受体激动剂或拮抗剂。

[0011] 很多的 4-苯基哌啶衍生物是已知的。EP 0369887 公开了用于治疗焦虑的取代的 4-(间-三氟甲基苯基)-1,2,3,6-四氢吡啶。W000/03713 公开了一种治疗精神分裂症和其他多巴胺系统功能障碍的方法, 包括使用取代的 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶。

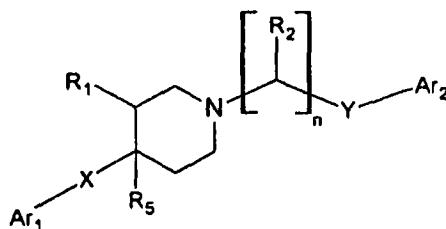
[0012] Glennon 等人(US 6,057,371)要求保护一种治疗与 σ 受体有关 CNS 障碍的方法, 包括施用芳香胺, 其包括芳基哌啶, 其在芳香环上是未取代或单取代的。该化合物对 σ 受体显示了高度的亲和力。W091/095954 所述的术语“高亲和力”是指在 Weber 等人 Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 83:8784-8788 所述的针对 ^3H -DTG 的测定中 IC_{50} 小于 100nM 的化合物。特别地, W0 91/095954 公开了与“某些苯基烷基胺、aminotetraline、哌嗪、哌啶和相关衍生物对 σ 受体具有高结合力并与 PCP 和 DA 受体具有意料不到的低结合力的发现”(参见第 11 页, 第 33-36 行)有关的组合物。

[0013] W0 91/095954 和 W0 93/00313 都要求化合物对 σ 受体具有高亲和力, 但没有公开当缺乏 σ 受体亲和力时该化合物具有药理活性。此外, 对精神分裂症患者中 σ 受体配体的性质进行的临床研究没有发现抗精神病活性的证据, 对于任意的其他 CNS 障碍也没有活性。两种受到最广泛研究的选择性 σ 受体拮抗剂 BW234U(Rimcazole) 和 BMY14802 在精

神分裂症患者的临床研究中都已失败 (Borison 等人, 1991, Psychopharmacol Bull 27(2) : 103-106 ;Gewirtz 等人, 1994, Neuropsychopharmacology 10 :37-40)。

[0014] W097/23216 公开了具有下式的 4- 取代的哌啶类似物 :

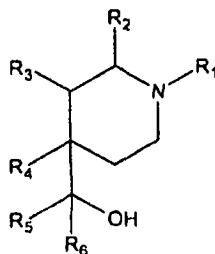
[0015]



[0016] 其中 R5 可以选自 OH, 并且 Ar1 可以是取代的。这些化合物可以通过选择性阻断 NMDA 受体亚型来治疗 CNS 损伤、精神病和神经变性等障碍。

[0017] US 4485109 公开了具有下式的化合物 :

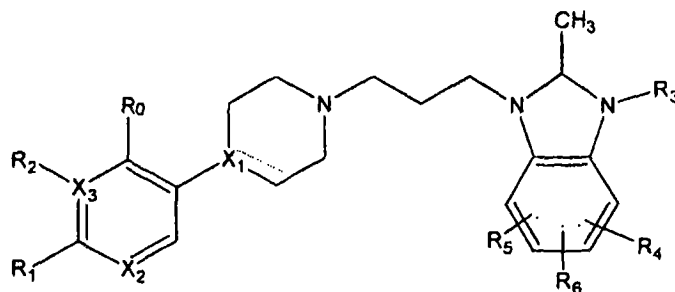
[0018]



[0019] 其可以用作精神治疗剂, 特别是抗抑郁剂。

[0020] EP 1177792 公开了具有下列结构的化合物 :

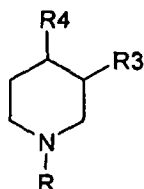
[0021]



[0022] 它具有多巴胺能活性—特别是作为 D4 受体的配体, 并可以用于治疗追求新奇的障碍。

[0023] W098/51668 公开了下式的取代的哌啶衍生物 :

[0024]

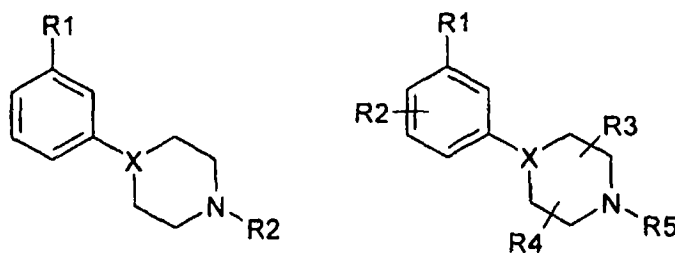


[0025] 其具有单胺类神经递质即多巴胺、5- 羟色胺、去甲肾上腺素再摄取抑制剂的性质。据称, 该化合物可以用于治疗帕金森综合征、抑郁、假性痴呆、肥胖、发作性睡病、药物成瘾和 / 或滥用、注意力缺陷活动过度障碍、老年痴呆或记忆障碍。

[0026] 此外, 已知具有式 II (W0 01/46145) 和 III (W0 01/46146) 的化合物具有多巴胺能

稳定剂的性质。

[0027]



[0028] 式 I

式 2

[0029] 在式 I 中，

[0030] 特别地，X 是 CH，R₁ 选自 OSO₂CF₃、OSO₂CH₃、SOR₃、SO₂R₃、COR₃、CN、NO₂、CONHR₃、CF₃（条件是 X 是 CH 或 C）、F、Cl、Br、I（其中 R₃ 如下所指定）；

[0031] R₂ 选自 C₁-C₄ 烷基、烯丙基、CH₂SCH₃、CH₂CH₂OCH₃、CH₂CH₂CH₂F、CH₂CF₃、3,3,3-三氟丙基、4,4,4-三氟丁基或 -(CH₂)-R₄（其中 R₄ 如下所指定）；

[0032] R₃ 选自 C₁-C₃ 烷基、CF₃ 或 N(R₂)₂；

[0033] R₄ 选自 C₃-C₆ 环烷基、2-四氢呋喃、3-四氢呋喃。

[0034] 在式 II 中：

[0035] 特别地，X 是 CH，R₁ 选自 OSO₂CF₃、OSO₂CH₃、SOR₇、SO₂R₇、COR₇、CN、NO₂、CONHR₃、CF₃、F、Cl、Br、I（其中 R₃ 如下所指定）、3-噻吩、2-噻吩、3-呋喃、2-呋喃；

[0036] R₂ 选自 F、Cl、Br、I、CN、CF₃、CH₃、OCH₃、OH、NH₂

[0037] R₃ 和 R₄ 独立地是 H 或 C₁-C₄ 烷基

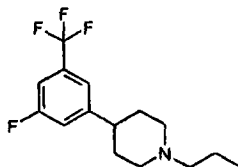
[0038] R₅ 选自 C₁-C₄ 烷基、烯丙基、CH₂SCH₃、CH₂CH₂OCH₃、CH₂CH₂CH₂F、CH₂CF₃、3,3,3-三氟丙基、4,4,4-三氟丁基或 -(CH₂)-R₆；

[0039] R₆ 选自 C₁-C₄ 环烷基、2-四氢呋喃、3-四氢呋喃，

[0040] R₇ 选自 C₁-C₃ 烷基、CF₃ 或 N(R₄)₂。

[0041] 但是，W001/46145（式 I）或 W001/46146（式 II）都没有披露本发明所公开的苯环上 3,5 二取代的药理数据。下列结构已知是 W0 01/46146 的合成实施例（实施例 444-[3-氟-5-(三氟甲基)苯基-]1-丙基哌啶）。

[0042]



[0043] W0011/46146

[0044] 的实施例 44

[0045] 此外，W001/46145（式 I）或 W001/46146（式 II）都没有教导如何得到有效的多巴胺能稳定剂。

[0046] 仍然需要新的药物活性化合物，特别是用于治疗中枢神经系统的障碍，其作为多巴胺稳定剂具有增加的效力。也需要任意这样的药物活性化合物具有降低的副作用倾向，特别是在心律失常方面。

[0047] 发明概述

[0048] 本发明的目的是提供新的药物活性化合物,特别是用于治疗中枢神经系统的障碍,其作为多巴胺能稳定剂具有增加的效力(参见表 1,第 1 栏),同时阻断 hERG 通道的倾向较低(参见表 1,第 2 栏)。这些化合物对于减少副作用、特别是心脏的副作用而言具有特别的优势。

[0049] 与可替代取代类型(例如,3,4-二取代,其中 4-位是卤素)或单取代(3-位)相比,本发明中 3,5-二取代令人惊奇地改善了效力和效能。此外,与现有技术的化合物相比,本发明的化合物对 hERG 通道显示了较低的亲和力。

[0050] 已经在大鼠中对根据本发明的物质进行了生物学测试,其中发现它们优先对脑中的多巴胺能系统发挥作用。它们对脑中的生化指数具有作用,具有多巴胺拮抗剂的特征。但是,根据本发明的物质在广泛的剂量范围内对于自主活动不显示抑制作用。此外,根据本发明的物质可以诱导轻微的行为激活,特别是当基础活动能力较低的时候。但是,本发明的物质可以抑制精神刺激药和拟精神病药的抽搐诱导的行为激活。

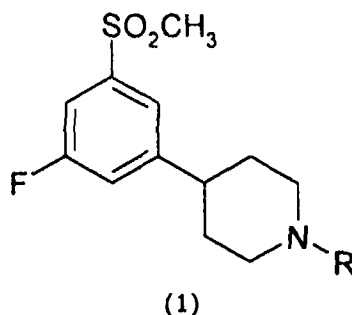
[0051] 如通过在快速 ICE 测定中的 IC_{50} 所测定(详细参加实验部分),根据本发明的物质在抑制 hERG 通道方面显示了较低的效力,表明对于人的 QT 间隔延长和心律失常只有很小的危险。

[0052] 发明详述

[0053] 本发明涉及游离碱形式的新的哌啶或其药学可接受的盐,包含所述化合物的药物组合物和所述化合物在制备作为多巴胺神经递质和治疗物的药物中的应用。

[0054] 更准确地,本发明涉及式 1 的哌啶化合物:

[0055]



[0056] 其中 R 选自 C_1 - C_3 烷基和烯丙基;

[0057] 和其药学可接受的盐。

[0058] 在特别的实施方案中, R 选自正丙基和乙基。

[0059] 本发明一个进一步的方面涉及一种治疗中枢神经系统障碍的方法,包括给患有中枢神经系统障碍的哺乳动物、包括人施用治疗有效量的式 1 的化合物或其药学可接受的盐。此外,本发明涉及一种治疗本文所列的任何障碍的方法,包括给患有所述障碍的哺乳动物、包括人施用治疗有效量的式 1 的化合物或其药学可接受的盐。

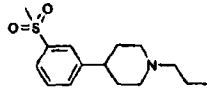
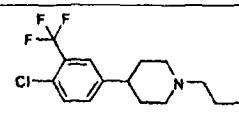
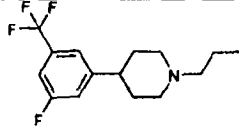
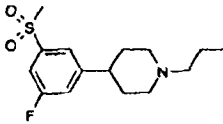
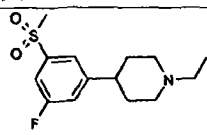
[0060] 该化合物的芳环上包括的两个取代基—一个在 3-位(间 1),另一个在 5-位(间 2),增强了它们调节多巴胺神经传递的效力。与单-取代或 3,4-二取代的化合物相比,这些 3,5-二取代的化合物的效力空前地增强,如表 1 所示。

[0061] 此外,如所测定的这些化合物对 hERG 钾通道的效果(快速 Ice),发现本发明的 3,

5-二取代减少了与心律失常有关的副作用。这些取代的化合物的副作用空前地减少如表 1 所示。

[0062] 表 1: 本发明的化合物对降低苯丙胺诱导的过度活动的效果 (估计的 ED_{50} 值) 和对于 hERG 离子通道的亲和力 (IC_{50} 值)。也包括了现有技术的比较实施例。方法和统计计算参见所附的测试

[0063]

	ED50 amf* $\mu\text{mol/kg}$	快速 ICE (IC_{50} , nM)
比较实施例		
 WO 01/46145 中的实施例 6	52	未测定
 WO 01/46146 中的实施例 9	34	610
 WO 01/46146 中的实施例 44	14	1500
实施例		
 实施例 1	12	9800
 实施例 2	28	21670

[0064] * 本发明的化合物对降低苯丙胺诱导的过度活动的效果。也包括了现有技术的比较实施例。方法和统计计算参见所附的试验。

[0065] 一项重要的观测是, 与单或 3,4 二取代 (例如 W001/46145 的实施例 6 和 W001/46146 的实施例 9) 相比, 在苯环的间 1 和间 2 位 F 和 SO_2CH_3 取代基的存在改善了多巴胺能稳定剂的效能和效力, 但是也降低对 hERG 通道的亲和力。这些结果是不能根据一般规律预测的。

[0066] 本发明的一个目的是提供用于治疗用途的新化合物, 更准确地, 是在哺乳动物脑中、包括人脑中调节多巴胺能系统的化合物。优选这些化合物可以降低就心脏钾通道抑制而言的副作用。

[0067] 本发明的另一个目的是提供在口服后具有治疗效果的化合物。

[0068] 优选的取代结构是

[0069] 1-乙基-4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]哌啶

[0070] 4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]-1-丙基哌啶

[0071] 1-烯丙基-4-[3-氟-5-(甲基磺酰基)苯基]哌啶。

[0072] 根据本发明的化合物和组合物具有多巴胺调节性质,并可以用于治疗很多中枢神经系统障碍,包括精神病学和神经病学疾病。特别地,这些化合物和它们的药物组合物可以用于治疗 CNS 障碍,其中由于直接或间接原因,多巴胺能系统发生功能障碍。

[0073] 根据本发明的化合物和组合物可以用于改善任何形式精神病,包括精神分裂症和精神分裂症样精神障碍,以及药物诱导的精神障碍和双相性精神障碍。它们也可以用于治疗选自医源性和非医源性精神病和幻觉症的病症。

[0074] 也可以用根据本发明的化合物和组合物治疗情绪和焦虑障碍,包括抑郁和强迫观念与行为疾病。

[0075] 具有对多巴胺能系统调节作用的化合物也可以用于改善认知功能,并治疗与年龄、神经变性(例如痴呆和与年龄有关的认知缺损)和发育(例如泛自闭症障碍症候群、ADHD、大脑性瘫痪、图雷特综合征)障碍,以及脑损伤后有关的情绪紊乱。所述脑损伤可以由外伤、炎症、感染、肿瘤、血管、缺氧或代谢原因诱导的,或者是对于外源性化学物质的毒性反应诱导的,其中外源性化学物质选自滥用的物质、药物化合物和环境毒素。这些化合物和它们的药物组合物可以用于治疗选自睡眠障碍、性功能障碍、进食障碍、肥胖和头痛及特征在于肌紧张增加的病症中的其他疼痛。它们也可以用于治疗阿尔茨海默氏病或相关的痴呆病。

[0076] 根据本发明的化合物和组合物也可以用于通常首先在婴儿期、少年或青春期诊断出来的行为障碍,以及在冲动控制方面的障碍。

[0077] 它们也可以用于治疗物质滥用障碍以及特征在于误食食物的障碍。

[0078] 神经病学的适应症包括使用该化合物和它们的组合物来改善帕金森氏病、运动障碍(包括 L-DOPA 诱导的运动障碍)中的精神和运动功能,及相关的帕金森综合征。它们也可以用于缓解不同原因的抽搐和震颤。此外,它们可以用于缓解特征在于肌紧张增加的病症中的疼痛。

[0079] 它们也可以用于治疗亨廷顿氏病和其他运动障碍,以及药物诱导的运动障碍。也可以用根据本发明的化合物治疗不宁腿和相关障碍以及发作性睡病。

[0080] 本发明也涉及如上所示的其中 R 选自 C₁-C₃ 烷基和烯丙基的式 1 的化合物或其药学可接受的盐在制备治疗中枢神经系统障碍的药学活性制剂中的应用。中枢神经系统障碍可以是一种或多种上述的障碍。在该应用的特别的实施方案中, R 选自正丙基和乙基。

[0081] 根据本发明的化合物已经显示出具有效力改善的多巴胺能稳定剂的性质(表 1)。它们对脑中的生化指数具有作用,具有多巴胺拮抗剂的特征,例如导致多巴胺代谢产物的浓度提高。在大鼠的实施例 1 中以 100 μmol/kg s.c 施用,在纹状体中增加 3,4 二羟基苯乙酸(DOPAC)至对照物的 318%。在实施例 2 中,以 100 μmol/kg s.c 施用增加 DOPAC 至 292%。

[0082] 本发明的化合物在广泛的剂量范围(1-100 μmol/kg s.c)内对于自主活动不显示作用。

[0083] 在一些情况中,特别是当基础活动较低的时候,它们可以诱导轻微的行为激活。该

行为激活是有限的,不会达到直接或间接的多巴胺能激动剂诱导的活动显著增加的程度。另一方面,优选的物质减少了直接或间接的多巴胺能激动剂、即 d- 苯丙胺及同源物诱导的活动增加(表 1)。

[0084] 因此,与式 I 和 II 的化合物相比,本发明的化合物显示了具有改善或可保持效力的多巴胺能稳定剂性质(表 1)。此外,特定的取代方式降低了抑制 HERG 通道的效力。

[0085] 考虑到在很多的 CNS 功能中涉及多巴胺及当前可作用于多巴胺系统的药物的临床缺点,就效能和副作用减少而言,本发明提供的新一类的多巴胺调节剂可以证明比当前已知的多巴胺能化合物在治疗与 CNS 的功能障碍有关的一些障碍中更为优越。

[0086] 如在 15 分钟翻转所测定,还已经显示本发明的化合物对于大鼠肝微粒体显示较高的代谢稳定性(实施例 15%,实施例 20%,),并且如实施例 2 所例举,在大鼠中具有较高的口服生物利用度(约 85%)。

[0087] 因此,这些化合物适合制备口服药物。在现有技术中并没有教导如何获得对行为和脑中的多巴胺系统具有该作用的化合物。

[0088] 药理学

[0089] 有证据表明,在精神病学和神经病学疾病中,CNS 中多巴胺能神经传递被扰乱。在许多情况中,例如精神分裂症、帕金森氏病、亨廷顿氏病、双相性精神障碍和痴呆中,基于对多巴胺受体的拮抗或激动作用的药物疗法是有用的,但并不是最佳的。近些年来,已经做出很多努力来发现多巴胺受体亚型(D1、D2、D3、D4、D5)的新的和选择性的化合物,目的是改善效力并减少副作用。

[0090] 本发明提供了另一种基于与多巴胺系统相互作用的新颖疗法的原理。本发明提供的化合物,其主要特征在于对于脑中的多巴胺能系统具有稳定作用。

[0091] 对本发明中所使用的动物模型的描述

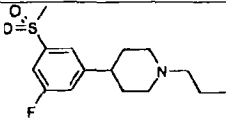
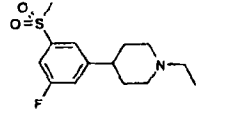
[0092] 与多巴胺 D2 受体的拮抗剂类似,根据本发明的化合物对于脑神经化学具有作用(即,在皮质、纹状体和脑边缘区多巴胺代谢产物 DOPAC 剂量依赖性地增加)。根据本发明的化合物对于自主行动不具有或仅有有限的抑制作用。在某些条件下,它们可以诱导行为激活。行为激活是有限的,不会达到直接或间接的多巴胺激动剂诱导的活动显著增加的程度。但是,优选的物质减少了间接的多巴胺能激动剂、即 d- 苯丙胺诱导的活动增加。在用 d- 苯丙胺治疗后活动增加是高多巴胺能(hyperdopaminergia)的标准模型(表 1)。在该模型中,通过以足以高至使运动活动极大增加的剂量系统施用 d- 苯丙胺来增加多巴胺能神经传递。该化合物拮抗此活动过度的能力反应了其抗多巴胺能性能,这是多巴胺能稳定剂性质的一部分。此外,对 d- 苯丙胺诱导的活动过度的拮抗广泛地被用作抗精神病活性的标准分析(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 68,p793-795)。

[0093] 抗精神病活性的另一个动物模型是基于施用谷氨酸拮抗剂 MK-801。谷氨酸拮抗剂(即,NMDA 拮抗剂)可以诱导人的精神病(参见 Psychopharmacology,4th Generation of progress Chapter 101,p.1205 和 1207)并诱导动物行为畸变。因此,药物影响精神分裂症和精神病状态的能力可以使用基于实验诱导的低谷氨酸状态的行为模型来测定。在该研究中,NMDA 拮抗剂 MK-801(0.7mg/kg i.p.)用于产生低谷氨酸状态,其中大鼠显示了异常的过度活动行为。本发明的化合物剂量依赖性地逆转了 MK-801 诱导的行为畸变(参见表 2)。

[0094] 已知, 脑的多巴胺系统与其他递质系统强烈地相互作用 (参见 Psychopharmacology, 4th Generation of progress, Chapter 101, pages 1208-1209)。这些相互作用可以解释多巴胺能稳定剂对于谷氨酸拮抗剂 MK-801 诱导的行为畸变具有强烈的作用, 尽管这些畸变并不主要是基于或由多巴胺能传递的改变而导致的。

[0095] 表 2. 在 MK-801 预-治疗 (在受试化合物前 90 分钟, 0.7mg/kg i. p.) 的大鼠中, 本发明的化合物对于运动活动的作用。在施用受试化合物后将动物立即置于运动仪上, 并在施用后 30 到 60 分钟之间记录运动活动 (计数/30 分钟 $\pm$ SEM)

[0096]

	对照组	MK-801 0.7mg/kg i. p.	MK+实施例 100 μ mol/kg
 实施例 1	47 $\pm$ 12	58630 $\pm$ 9344	20858 $\pm$ 4638 (p=0.01)
 实施例 2	31 $\pm$ 9.6	58753 $\pm$ 10982	24012 $\pm$ 5511 (p=0.03)

[0097] 多巴胺能稳定剂的治疗应用

[0098] 要求保护的本发明提供化合物, 这些化合物以对于脑中的多巴胺能系统具有稳定作用作为它们的主要特征。这些化合物可以用于治疗 CNS 障碍, 其中, 通过多巴胺能功能可以影响其症状。为了支持该主张, 请参见下列参考:

[0099] * 用于精神分裂症和精神病, 申请人参考了 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 26, p. 295-301);

[0100] * 帕金森氏病 (Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 26, p. 295, Chapter 1479-1482);

[0101] * 焦虑症 (Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 21, p. 227 和 237, Chapter 111, p. 1317-1318 和 1320);

[0102] * 情绪障碍 (Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 80, p. 921-928; 和

[0103] * 物质滥用 (Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 25, p. 283 和 292, Chapter 66, p. 759-760, Chapter 147, p. 1725 (也可参见 Nisell 等人, " Systemic Nicotine-Induced Dopamine Release in the Rat Nucleus Accumbens is Regulated by Nicotinic receptors in the Ventral Tegmental Area; Synapse (1994) 16: 36-44). Chapter 149, p. 1745-1747 和 1751-1752)。人所滥用的药物会优先增加自由活动大鼠的中脑边缘系统中突触的多巴胺浓度, Di Chiara 等人 Proc Natl Acad Sa USA 85, 5274, 1988. Drug addiction as a disorder of associative learning. Role of nucleus accumbens shell/extended amygdala dopamine Ann N.Y. Acad Sa 877, 461, 1999。

[0104] 如这些参考所示, 在本领域将所主张的病症视作与多巴胺能神经传递有关的疾

病。

[0105] 此外,人们普遍相信,与多巴胺能神经传递相互作用的药物可以用于治疗一些 CNS 障碍,这些障碍一般不认为是由多巴胺能神经传递破坏而直接导致的。例如,由于在运动功能中涉及多巴胺,可以用多巴胺能药剂治疗亨廷顿氏病和其他运动障碍的症状(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress, Chapter 26, p. 295-301)。同样,已知可以用增强多巴胺能传递的药剂治疗认知障碍(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapters 25, p. 292, Chapter 120, p. 1417 和 1420, Chapter 123, p. 1447 和 1452 和 1455-1457)、孤独症(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 142, p. 1653 和 1661)、注意缺陷活动过度障碍(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapter 141, p. 1643 和 1649-1650)、性功能障碍(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapters 65, p. 743-746 和 Chapter 22, p. 245 和 254)以及进食障碍(参见 Psychopharmacology 4th Generation of progress Chapters 137, p. 1600, Chapter 138, p. 1609-1610 和 1612)。因此,上述参考支持了下列的结论:本发明的化合物可以用于治疗这些疾病。

[0106] 人们广泛认为,抑制 HERG 通道可以诱导严重的心脏副作用,包括致命性心律失常(J. Cardiovasc Electrophysiol. 15, 475, 2004., Eur J. Pharm., 450, 37, 2002; Cardiovascular Research, 58, 32, 2003)。因此,当开发新的 CNS 药物时,人们在寻找对 HERG 通道的亲和力最小而导致广泛安全余地的化合物。

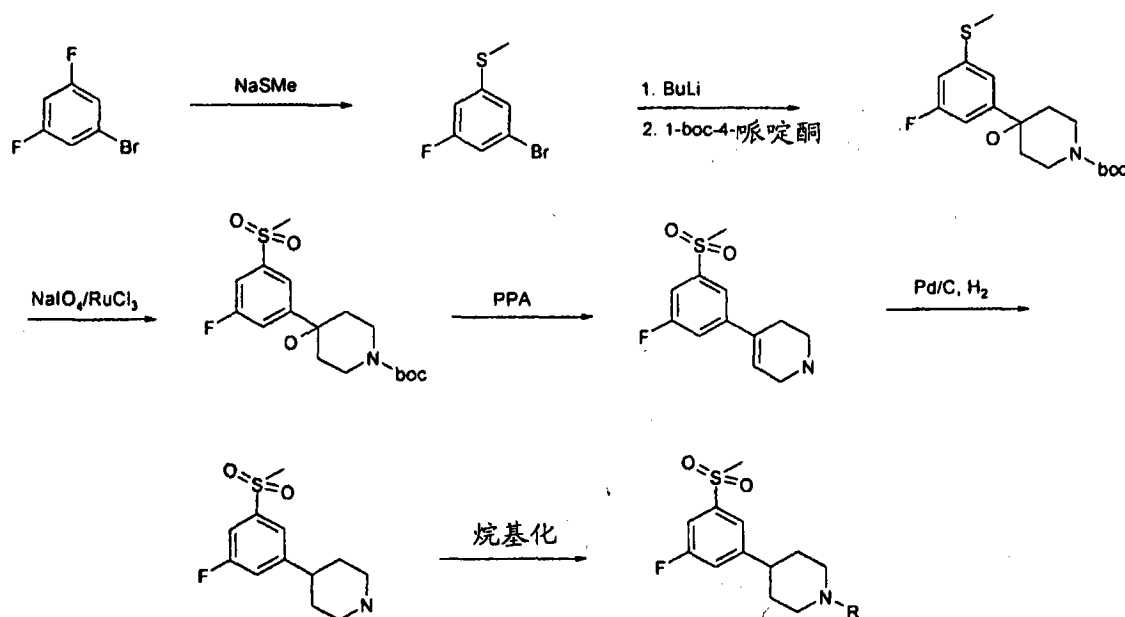
[0107] 制备方法

[0108] 可以如下面的方案 1 所示制备本发明的化合物。但是,本发明并不限于这些方法。也可以如现有技术中结构相关的化合物所述制备该化合物。可以根据标准方法^{1,2}或如工作实施例所述进行反应。在本申请所述的方法中,起始物质是已知的或可以由商购可得的化学品通过常规方法容易地制备而成。

[0109] 本领域技术人员将会理解,为了以可替代和在一些情况中更简便的方式得到本发明的化合物,上述的每个步骤可以以不同的顺序进行,和/或每个反应可以在整个途径的不同阶段进行(即,可以用特定反应由不同的中间体进行化学转化至与此前有关的那些)。

[0110] 方案 1

[0111]



[0112] Ref.

[0113] 1. Comprehensive Organic Transformations :A Guide to Functional Group Preparations

[0114] Richard C. Larock, 22 October, 1999 Wiley-VCH

[0115] ISBN :0471190314

[0116] 2. March 's Advanced Organic Chemistry :Reactions, Mechanisms and Structure, 5th Edition.

[0117] Michael B. Smith, Jerry March, January 15, 2001 Wiley-Interscience

[0118] ISBN :0471585890

[0119] 本文使用的术语 C_1 - C_3 烷基是指任何异构形式的包含 1-3 个碳原子的烷基。不同的碳部分如下定义：烷基是指脂肪烃基，并包括无支链的形式例如甲基、乙基、正丙基。术语“烯丙基”是指基团 $-CH_2-CH=CH_2$ 。

[0120] 本文使用的术语“患者”是指根据本发明需要治疗的个体。

[0121] 本文使用的术语“治疗”是指为治愈或缓解疾病或病症而进行治疗，以及为预防疾病或病症的发生而进行治疗。治疗可以以短期或长期的方式进行。

[0122] 可以用有机和无机酸来形成本发明化合物的无毒性的药学可接受的酸加成盐。本发明化合物适当的酸加成盐包括用药学可接受的盐例如苯磺酸盐、甲磺酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、醋酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酸性柠檬酸、酒石酸盐、二酒石酸盐、脂肪、脂环、芳香或杂环羧酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马盐、葡糖酸盐、羟乙酸盐、蔗糖盐、抗坏血酸盐、醋酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、丙酮酸盐、扑酸盐 [即, 1,1'-亚甲基-二-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]、磷酸盐、酸性磷酸盐、硫酸盐或硫酸氢盐形成的那些。这些盐是通过本领域已知的方法容易制备的。也可以理解的是, 本发明的化合物可以以溶剂化物及非溶剂化物的形式, 例如, 水合物形式存在。

[0123] 包含本发明的化合物的药物组合物也可以包含用于促进药物制剂产生或制剂施用的物质。这些物质是本领域技术人员公知的, 可以例如是药学可接受的佐剂、载体和防腐剂。

[0124] 在临床实践中,根据本发明使用的化合物一般可以药物制剂的形式经口服、直肠、通过鼻或注射施用,所述的药物制剂包含游离碱或药学可接受的无毒性的酸加成盐例如盐酸盐、乳酸盐、醋酸盐、氨基磺酸盐形式的活性成分,与药学可接受的载体结合。载体可以是固体、半固体或液体制品。一般地,活性物质占制剂的 0.1 到 99% 重量,更特别地占注射用制剂的 0.5 到 20% 重量,占适合口服给药制剂的 0.2 到 50% 重量。

[0125] 为了制备包含本发明的化合物的口服剂量单位形式的药物制剂,可以将所选择的化合物与固体赋形剂例如乳糖、蔗糖、甘露醇、淀粉例如马铃薯淀粉,玉米淀粉或支链淀粉、纤维素衍生物,粘合剂例如明胶或聚乙烯吡咯烷酮和润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、聚乙二醇、蜡、石蜡等混合,然后压制成片。如果需要包衣片,可以将如上制备的芯用浓糖溶液包衣,所述的浓糖溶液可以包含例如阿拉伯胶、明胶、滑石、二氧化钛等。可替代地,可以用本领域技术人员已知的聚合物将该片剂包衣,其中将聚合物溶解于易挥发的有机溶剂或有机溶剂的混合物中。可以向这些包衣中加入染料以容易区分包含不同活性物质或不同量活性化合物的片剂。

[0126] 为了制备软明胶胶囊,可以将活性物质与例如植物油或聚乙二醇混合。硬明胶胶囊可以包含使用上述的片剂赋形剂例如乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、淀粉(例如马铃薯淀粉,玉米淀粉或支链淀粉)、纤维素衍生物或明胶的活性物质的颗粒。同时,可以将液体或半固体的药物填充到硬明胶颗粒中。适合口服的片剂和胶囊剂的例子在下面给出:

[0127]	片剂 I	mg/ 片剂
[0128]	化合物	100
[0129]	乳糖 Ph. Eur	182.75
[0130]	交联羧甲基纤维素钠	12.0
[0131]	玉米淀粉糊 (5% w/v 糊)	2.25
[0132]	硬脂酸镁	3.0
[0133]	片剂 II	mg/ 片剂
[0134]	化合物	50
[0135]	乳糖 Ph. Eur	223.75
[0136]	交联羧甲基纤维素钠	6.0
[0137]	玉米淀粉	15.0
[0138]	聚乙烯吡咯烷酮 (5% w/v 糊)	2.25
[0139]	硬脂酸镁	3.0
[0140]	片剂 III	mg/ 片剂
[0141]	化合物	1.0
[0142]	乳糖 Ph. Eur	93.25
[0143]	交联羧甲基纤维素钠	4.0
[0144]	玉米淀粉糊 (5% w/v 糊)	0.75
[0145]	硬脂酸镁	1.0
[0146]	胶囊	mg/ 胶囊
[0147]	化合物	10
[0148]	乳糖 Ph. Eur	488.5

[0149] 镁 1.5

[0150] 直肠施用的剂量单位可以是溶液或混悬液,或可以制成栓剂的形式,所述栓剂包含与中性脂肪基质混合的活性物质,或者是明胶直肠胶囊的形式,该胶囊包含与植物油或石蜡油混合的活性物质。口服的液体制剂可以是糖浆或混悬液的形式,例如包含约 0.2% 到约 20% 重量的上述活性物质的溶液,余量是糖和乙醇、水、甘油和丙二醇的混合物。任选地,该液体制剂可以包含着色剂、调味剂、糖精和羧甲基纤维素作为增稠剂或本领域技术人员已知的其他赋形剂。

[0151] 通过注射胃肠外使用的溶液可以制备成活性物质的水溶性药学可接受的盐的水性溶液,优选浓度是 0.5% 到约 10% 重量。这些溶液也可以包含稳定剂和 / 或缓冲剂,可以常规地是以各种剂量单位的安瓿提供。该应用和施用于临床要治疗的患者对于本领域普通技术人员是显而易见的。

[0152] 对于鼻内施用或通过吸入施用,本发明的化合物可以以溶液、干粉或混悬液的形式递送。可以通过患者挤压或泵出泵式喷雾容器或者通过从加压容器或喷雾器气雾喷雾进行施用,包括使用适当的抛射剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适当的气体。本发明的化合物也可以通过干粉吸入剂施用,其可以是与载体物质(例如糖类)组合的精细分离的粉末或是微球。吸入剂、泵喷雾剂或气雾剂可以是单或多剂量。可以通过递送计量量的活性化合物的阀门来控制剂量。

[0153] 本发明的化合物也可以以控释制剂施用。该化合物以所需的速率释放,以在所需的期间维持恒定的药理活性。这些剂型在预定的期间将药物提供给身体,并因此在比常规的非控释制剂更长的期间里维持药物浓度在治疗范围内。也可以将这些化合物配制成控释制剂,其中活性化合物的释放是靶向的。例如,化合物的释放可以通过制剂的 pH 敏感性限定在消化系统的特定区域内。这些制剂是本领域技术人员公知的。

[0154] 根据待治疗的障碍和患者及施用途径,该组合物可以以不同的剂量施用。该剂量也取决于效力与吸收能力之间的关系及施用的频率和途径。这些剂量可以每日施用 1 次、2 次或 3 次或更多。本发明的化合物可以以每日 0.01mg 到 500mg/kg 体重的剂量范围施用于患者,尽管根据要治疗的患者的体重、性别和情况,待治疗的疾病情况和所选择的特定施用途径,剂量必然会发生改变。但是,在治疗人的疾病中使用单或多剂量的 0.1mg 到 10mg/kg 体重 / 日范围的剂量水平是最为理想的。可替代地,该剂量水平使得可以得到该化合物 0.1nM 到 10 μ M 的血清浓度。

[0155] 本文给出的任何化学式或名称意指包括任何比例的所有立体和光学异构体和外消旋体及其混合物。可以通过本领域技术人员公知的标准方法得到不同的异构体,例如通过色谱法或分步结晶。例如,可以通过立体选择合成将顺式 / 反式混合物分离成单个的立体异构体。可以通过例如分步结晶、拆分或 HPLC 分离它们的混合物来分离对映体或非对映体。另外,可以通过用手性试剂衍生化来提供分离。可以由立体化学纯的起始物质在不会导致立体化学完整性丧失的条件下来制备立体异构体。所有的立体异构体都包括在本发明的范围内。

[0156] 可以通过标准方法以任一的纯度水平分离本发明的化合物,可以通过本领域技术人员已知的常规方法,例如蒸馏、重结晶和色谱法实现纯化。

[0157] 下面的实施例用于进一步说明本发明,但决非意在限制本发明的范围。

[0158] 实施例 1

[0159] 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基]-1- 丙基哌啶

[0160] 向 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基] 哌啶 (0.5g, 1.94mmol) 的乙腈 (5ml) 溶液中加入碳酸钾 (0.53g, 3.83mmol) 和 1- 碘丙烷 (0.189ml, 1.94mmol), 用微波辐射在 150℃ 下加热该混合物 20 分钟。将该混合物冷却至环境温度并加入水 (50ml)。用乙酸乙酯 (3×50ml) 萃取含水残留物, 并干燥合并的有机相, 浓缩, 并通过快速柱色谱法 (乙酸乙酯 / 甲醇, 1 : 1) 纯化, 得到标题化合物 (0.27g, 46%)。将胺转化为盐酸盐, 并在乙醇 / 二乙醚中重结晶 :M. p. 187-189℃。MSm/z (相对强度, 70eV) 299 (M+, 3), 271 (15), 270 (bp), 147 (5) 133 (5)。

[0161] 实施例 2 :

[0162] 1- 乙基 -4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基] 哌啶

[0163] 根据实施例 1 制备 :4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基] 哌啶 (0.4g, 1.55mmol), 乙腈 (5ml), 碳酸钾 (0.42g, 3.0mmol), 1- 碘乙烷 (0.147ml, 1.55mmol)。收率 :0.28g (63%)。将胺转化为盐酸盐, 并在乙醇 / 二乙醚中重结晶 :M. p. 176-178℃。MSm/z (相对强度, 70eV) 285 (M+, 15), 284 (16), 271 (16), 270 (bp), 84 (15)。

[0164] 在下面的制备中描述的是上述实施例中使用的中间体的合成

[0165] 制备 1 :1- 溴 -3- 氟 -5-(甲硫基) 苯

[0166] 向 1- 溴 -3,5- 二氟苯 (5.0g, 25.9mmol) 的二甲基甲酰胺 (40ml) 溶液中加入 sodium thiomethylate (1.81g, 25.9mmol), 将该混合物加热至 150℃ 10 分钟。将反应混合物恢复至环境温度, 用饱和氯化铵水溶液 (100ml) 终止反应, 用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取。干燥合并的有机相, 并真空浓缩以得到纯的标题化合物 (3.84g)。MS m/z (相对强度, 70eV) 222 (M+, 100), 220 (M+, 100), 189 (49), 187 (50), 126 (75)。

[0167] 制备 2 :

[0168] 4-[3- 氟 -5-(甲硫基) 苯基]-4- 羟基哌啶 -1- 甲酸叔丁酯

[0169] 在氮气和 -78℃ 下, 向 1- 溴 -3- 氟 -5-(甲硫基) 苯 (3.7g, 16.7mmol) 的干燥二乙醚 (100ml) 溶液中滴加正丁基锂 (2.5M, 在己烷中, 6.7ml, 16.7mmol)。将该混合物在 -78℃ 下搅拌 30 分钟, 然后恢复到 -20℃ 2 分钟, 再冷却至 -78℃。在 -78℃ 下向所得到的混合物中滴加 4-Boc-1- 哌啶酮 (3.3g, 16.7mmol) 的干燥二乙醚 (50ml) 溶液。将该混合物在 -78℃ 下搅拌 10 分钟, 然后恢复到环境温度。用饱和氯化铵水溶液 (100ml) 终止反应混合物, 并用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取。干燥合并的有机相, 浓缩, 并通过快速柱色谱法 (异辛烷 / 乙酸乙酯 2 : 1) 纯化, 得到标题化合物 (3.76g)。MS m/z (相对强度, 70eV) 341 (M+, 7), 285 (11), 241 (11), 196 (4), 57 (bp)。

[0170] 制备 3 :

[0171] 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基]-4- 羟基哌啶 -1- 甲酸叔丁酯

[0172] 向 4-[3- 氟 -5-(甲硫基) 苯基]-4- 羟基哌啶 -1- 甲酸叔丁酯 (3.66g, 10.6mmol) 的四氯化碳 (13ml), 乙腈 (13ml) 和水 (26ml) 溶液中加入高碘酸钠 (6.8g, 31.8mmol) 和三氯化钨 (3mg, 0.05mol%), 将混合物在环境温度下搅拌 20 分钟。加入水, 用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取产物。干燥合并的有机相, 真空浓缩, 得到纯的标题化合物 (3.3g)。MS m/z (相对强度, 70eV) 373 (M+, 0), 273 (25), 255 (74), 133 (28), 56 (bp)。

[0173] 制备 4:

[0174] 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基]-1,2,3,6- 四氢吡啶

[0175] 将 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基]-4- 羟基吡啶 -1- 甲酸叔丁酯 (3.3g, 8.8mmol) 和聚磷酸 (20ml) 的混合物在 120℃ 下加热 3 小时。将混合物倾倒入冰中,并用 5M 氢氧化钠碱化。用乙酸乙酯 (3×100ml) 萃取该混合物,干燥合并的有机相 (MgSO₄),蒸发,通过快速柱色谱法 (甲醇 / 乙酸乙酯 1 : 1) 纯化,得到标题化合物 (2.02g)。MS m/z (相对强度,70eV) 255 (M⁺, bp), 254 (50), 251 (87), 172 (87), 146 (53)。

[0176] 制备 5:

[0177] 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基] 吡啶

[0178] 将 4-[3- 氟 -5-(甲基磺酰基) 苯基]-1,2,3,6- 四氢吡啶 (2.02g, 7.9mmol), 披钼碳 (0.56g) 和甲酸 (1.9ml) 混合物的异丙醇 (60ml) 溶液在氢气和 50psi 下氢化 24 小时。通过 C 盐垫过滤反应混合物,浓缩滤液并蒸发至干,得到 1.66g 粗产物。MS m/z (相对强度,70eV) 257 (M⁺, bp), 256 (80), 133 (21), 69 (25) 56 (99)。

[0179] 下面的试验用于评价根据本发明的化合物。

[0180] 体内试验 :行为

[0181] 用 8 个 Digiscan 活动监测器 (RXYZM(16)TA0, OmnitechElectronics, Columbus, OH, USA) 测定行为活动,该监测器与 Omnitech Digiscan 分析器和装配有数字界面板的 Apple Macintosh 计算机 (NB DIO-24, National Instruments, USA) 相连。每个活动监测器由装配有光束传感器的方形金属框架 (W×L 40×40cm) 组成。在测量行为活动时,将大鼠置于透明的丙烯酸笼 (W×L×H, 40×40×30cm) 中,接着将其置于活动监测器中。每个活动监测器装配有三排红外线光束传感器,每排由 16 个传感器组成。两排沿笼地面的前方和侧面放置,呈 90° 角,第三排置于地面上方 10cm 以测定垂直活动。光束传感器之间的间隔是 2.5cm。将每个活动监测器都固定到相同的声音和光线衰减箱中,所述的箱包含弱的室内光线和风扇。

[0182] 目标定向程序 (LabVIEW[®], National instruments, Austin, TX, USA) 写入计算机软件。

[0183] 以 25Hz 的取样频率记录并用定制的书写的 LABView[™] 应用程序收集来自每个活动监测器的行为数据,代表每个时间动物的位置 (重力的水平中心和垂直活动)。储存每个记录期间的数据,并分析所行走的距离。每个行为记录期间持续 60 分钟,从注射受试化合物后约 4 分钟后开始。将类似的行为记录方法用于没有用药和药物预防治疗的大鼠。在活动监测器记录期间前 10 分钟,给予用 d- 苯丙胺预防治疗的大鼠剂量为 1.5mg/kg i. p.。在活动监测器记录期间前 90 分钟,给予用 MK-801 预防治疗的大鼠剂量为 0.7mg/kg i. p.。在任意的长度单位中,结果以计数 /60 分钟或计数 /30 分钟提供。用 student' s t 检验相对于对照组进行统计比较。在 MK-801 或苯丙胺预防治疗的动物中,分别相对比 MK801 或 d- 苯丙胺对照组进行统计比较。

[0184] 通过曲线拟合计算苯丙胺诱导的过度活动下降的 ED₅₀ 值。对于大多数化合物,该评价是基于在单个实验中给予剂量范围为 0, 11, 33 和 100 μmol/kg s. c. 的 16 只苯丙胺预防治疗的动物,在不同的试验中具有互补的剂量。计算是基于在所测量的一小时中后 45 分钟期间的距离。将该距离进行标准化至苯丙胺对照组,并通过最小二乘法相拟合至函数“结束

值 - (结束值 - 对照) / (1 + (剂量 / ED₅₀)^{斜率})”。用下列限制拟合下 4 个参数 : 对照组的 ED₅₀ > 0, 0.5 < 斜率 < 3, 结束值 > 0%。为了评价参数的置信水平, 用每个测量值的随机平均分布平方加权 (0 到 1) 将该拟合重复 100 次。所提供的 ED₅₀ 值范围覆盖了这些值的 95%。

[0185] 体内试验 : 神经化学

[0186] 在行为活动期后, 将大鼠斩首, 快速取出它们的脑并放置于冰冷冷却的培养皿中。切开每只大鼠的边缘前脑、纹状体、额皮质和剩余的半球部分并冷冻。随后分析每个脑部分的单胺和它们代谢产物的含量。

[0187] 通过 HPLC 分离和电化学检测定量脑组织匀浆中单胺递质物质 (NA (去甲肾上腺素)、DA (多巴胺)、5-HT (5-羟色胺)) 及它们的胺 (NM (甲诺酮 (normethanephine))、3-MT (3-甲氧酪胺) 和酸 (DOPAC (3,4-二羟基苯乙酸)、5-HIAA (5-羟基吲哚乙酸)、HVA (高香草酸)) 代谢产物。

[0188] 分析方法是基于胺和酸的两种色谱分离。这两种色谱系统具有共同的自动注射器, 该注射器具有 10-孔阀门和在这两个系统上同时注射的两个样品环管。这两个系统都装配有反相柱 (Luna C18(2), dp 3 μm, 50*2mm i.d., Phenomenex), 并且电化学检测是在玻璃状碳电极的两个电位之间完成的。经 T-型连接, 柱流出液流入到检测池或成为废物。这是通过两个电磁阀完成的, 该电磁阀阻断了废物或检测器的出口。通过不使色谱的前端到达检测器, 获得了更好的检测条件。酸系统的水流动相 (0.4ml/分钟) 包含柠檬酸 14mM, 柠檬酸钠 10mM, MeOH 15% (v/v) 和 EDTA 0.1mM。相对于 Ag/AgCl 参考的检测电位是 0.45 和 0.60V。胺系统的含水离子配对流动相 (0.5ml/分钟) 包含柠檬酸 5mM, 柠檬酸钠 10mM, MeOH 9% (v/v), MeCN 10.5% (v/v), 癸烷磺酸 0.45mM 和 EDTA 0.1mM。相对于 Ag/AgCl 参考的检测电位是 0.45 和 0.65V。

[0189] 体内试验 : 口服生物利用度

[0190] 在植入动脉和静脉导管 24 小时后进行试验。将受试化合物以 12.5 μmol/kg 口服或用静脉导管以 5 μmol/kg 静脉内施用, 每组 n = 3。然后在施用受试化合物后 8 小时内, 在 0, 3, 9, 27, 60, 120, 180, 240, 300 和 360 分钟取动脉血样。根据每只大鼠口服给药后获得的 AUC (曲线下面积) 与静脉内施用后获得的 AUC 的比计算口服生物利用度。根据下列方法计算参数 AUC : AUC : 通过 log/线性梯形法计算, 血浆浓度与从时间 0 到所测定的最终浓度 (C_{last}) 的时间曲线下的面积。

[0191] 通过液相色谱 - 质谱法 (LC-MS) 测定受试化合物的水平。(Hewlett-Packard 1100MSD 系列)。该组件包括四元的泵系统、真空除气器、恒温自动采样器、恒温柱室、二极管阵列检测器和 API-ES 喷雾室。用 HP ChemStation rev. A.06.03. 系统进行数据处理。设备设定 : MSD 模式 : 选择的离子检测 (SIM) ; MSD 极性 : 阳性 ; 气温 : 350℃ ; 干燥气 : 13,01/分钟 ; 喷雾气 : 50psig ; 毛细管电压 : 5000V 片段器电压 : 70V ; 分析柱 : 在 20℃ 下 Zorbax eclipseXDB-C8 (4.6*150mm, 5 μm)。流动相是乙酸 (0.03%) (溶剂 A) 和乙腈 (溶剂 B)。流动相的流速是 0.8ml/分钟。从 12% 的溶剂 B 开始等度洗脱 4.5 分钟, 然后在 4.5 分钟内线性增加至 60%。

[0192] 萃取方法 : 用水将血浆样品 (0.25-0.5ml) 稀释成 1ml, 加入 60pmol (100 μl) 内标物 (-)-OSU6241。通过加入 25 μl 饱和碳酸钠水溶液调节 pH 至 11。在混合后, 用 4ml 二氯甲烷通过振荡 20 分钟来萃取样品。离心分离后将有机层转移到较小的管中, 在氮气流下蒸

发至干。然后将残留物溶解于 120 μ l 流动相（乙酸（0.03%）：乙腈，95：5）中，以进行 LC-MS 分析（注入 10 μ l）。监测每个实施例的选择性离子（ MH^+ ）和（-）-OSU6241（（3-[3-（乙基磺酰基）苯基]-1-丙基哌啶）的 MH^+ 296。

[0193] 通过加入适当量的受试化合物使血浆样品空白，来制作 1-500pmol 的标准曲线。

[0194] 体外试验：在大鼠肝微体中的代谢稳定性

[0195] 如 Forlin(1980) Effects of Clophen A50, Effects of Clophen A50, 3-methylcholanthrene, pregnenolone-16 α -carbonitrile and Phenobarbital on the hepatic microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase system in rainbow trout, salmoganrdneri, of different age and sex. Tox Appl Pharm. 54(3) 420-430 所述分离大鼠肝微体，只进行微小的改变，例如在匀化前加入含 0.15M KCl, pH7.4（缓冲液 1）的 0.1M Na/K PO_4 的 3mL/g 肝，将匀浆离心 20 分钟而不是 15 分钟，以 100,000g 而非 105,000g 超声离心上清液，将超声分离的沉淀物再悬浮于缓冲液 1 中的 20% v/v 87% 甘油的 1mL/g 肝中。

[0196] 将在水中稀释的 1 μ l 的 0.2 或 1mM 的受试物质和 10 μ l 20mg/mL 大鼠肝微体与 149 μ l 37°C 的缓冲液 1 混合，加入 40 μ l 4.1mg/mL NADPH 来开始反应。在热块（LAB-LINE, MULTI-BLOK 加热器或 Lab4you, 700rpm TS-100 Thermo 振荡器）中在 37°C 下培养 0 或 15 分钟后，加入 100 μ l 纯乙腈使反应停止。然后通过 4°C 下以 10,000g 离心分离 10 分钟（Heraeus, Biofuge fresco）后舍弃沉淀物来除去蛋白质沉淀。用具有 Zorbax SB-C18 柱（2.1*150mm, 5 μ m）的 HPLC-MS（Hewlett-Packard 1100MSD 系列），使用 0.03% 甲酸和乙腈作为流动相（梯度），或 Zorbax Eclipse XDB-C18（3*75mm, 3.5 μ m），使用 0.03% 乙酸和乙腈作为流动相（梯度）分析受试化合物。在 15 分钟后计算 15 分钟翻转作为消除的受试化合物的部分，表示为 0 分钟水平的百分比，即 $100 * [0 \text{ 分钟时受试化合物浓度} - 15 \text{ 分钟时受试化合物浓度}] / 0 \text{ 分钟时受试化合物浓度}$ 。

[0197] 如所述 Forlin(1980) 所述进行肝微体的制备。用肝微体孵育的方案也在 Crespi & Stresser(2000) 和 Renwick 等人 (2001) 中提供。

[0198] Crespi CL 和 DM Stresser(2000). Fluorometric screening for metabolism based drug-drug interactions. J. Pharm. Tox. Meth. 44. 325-331

[0199] Forlin L. (1980) Effects of Clophen A50, 3-methylcholanthrene, pregnenolone-16 α -carbonitrile and Phenobarbital on the hepatic microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase system in rainbow trout, salmo gairdner, of different age and sex. Tox Appl Pharm. 54(3) 420-430

[0200] Renwick, AB 等人 (2001). Metabolism of 2,5-bis(trifluoromethyl)-7-benzoxo-4-trifluoromethylcoumarin by human hepatic CYP isoforms: evidence for selectivity towards CYP3A4 Xenobiotica 31(4):187-204。

[0201] hERG 亲和力

[0202] 通过 Quintiles Limited, Research Avenue South, Henot-Watt University Research Park, Riccarton Edinburgh, Scotland 进行借助快速 ICE™ 的 hERG 亲和力评估。ICE™（快速离子通道电生理学）是使用 PatchXpress 7000A 系统的（Axon Instruments）自动膜片钳分析。快速 ICE™ 可以评价受试物质对 hERG 尾电流的作用，该尾电流是由用

HERG cDNA 稳定转染的 HEK293 细胞记录的。抑制 HERG 电流的化合物已经显示出可以延长心脏的动作电位,因此延长了人的 QT 间隔期。

[0203] HERG. T. HEK (HERG cDNA 稳定转染的 HEK293 细胞) 是从威斯康辛大学获得的,将这些细胞分 5 组低温保存,同时保持在培养中。继续保存这些细胞,并用补充有 10% 胎牛血清,1% 非必需氨基酸,1% 丙酮酸钠和 0.4mg/ml 遗传霉素的极限必需培养基传代。为了在快速 ICETM 研究中使用,将 4ml 的细胞以 2.5×10^5 /ml 的密度置于 falcon 管中。在 37°C 下将 falcon 管贮存于湿润的、充气的 (5% CO₂) 的培养器中,在贮存 2.5 小时内使用细胞。仅在试验前,将这些细胞以 1000rpm 离心 1 分钟,倾出上清液,将细胞再悬浮于 1.5ml 埃彭道夫管的 150 μ l 的浴溶液中。

[0204] 在进行研究前,用适当的细胞外 (浴) 和细胞内 (吸量管) 溶液预处理 PatchXpress 系统。将 16 孔的 sealchip (Sealchip 16, Aviva Bio-sciences Corp) 载入系统中,在浴溶液混悬液中制备细胞前进行预处理。将细胞埃彭道夫置于指定的位置,研磨并将细胞分散在 sealchip 的每个孔 (记录室) 中。PatchXpress 系统遵循常规全细胞膜片箝的一般原理:在片电极和单个细胞之间形成了高阻力的封闭,跨过电极触点 (tip) 的膜破裂并确定全细胞膜片箝的构型。如果判断细胞的质量较差,可以在该点停止实验,如果必要,在另一个 sealchip 上重复该过程。

[0205] 一旦获得稳定的片,以电位箝模式开始记录,在 -80mV 开始箝住细胞。标准的电压特征如下:从 -80mV 到 -50mV 为 200ms, +20mV 为 4.8 秒,到 -50mV 为 5 秒,然后保持电位为 -80mV。从 -80mV 到受试化合物 (+20mV) 的步骤产生了向外的电流 (即,电流流出细胞外),并且从受试化合物 (+20mV) 到 -50mV 的步骤产生了尾电流 (尾电流代表电流随着时间减弱 (deactivation))。提取尾电流值。每个值代表由 4 个连续电压脉冲记录的平均电流。对于每个细胞,通过与载体预处理比较计算残余电流 (%对照) 来确定受试物质的作用。

[0206] 由浓度 - 应答关系估计 IC₅₀ 值 (μ M) 或效力的其他标志。