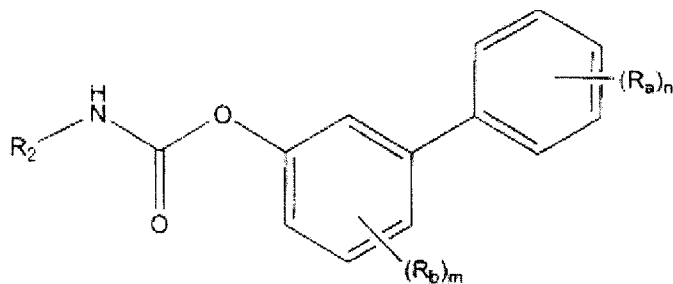


1. 一种具有下式的化合物:



其中, m 为 0, n 为 0-2 的数字;

各 R_i 成员独立选自

H;

卤素;

硝基;

氰基;

羟基;

酮烷基, 其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

磺酰氨基;

烷基, 其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

羟基烷基, 其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

苯氧基;

苯基;

羧酰氨基;

氨基; 或

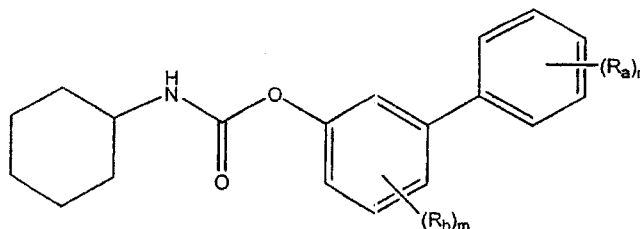
卤代烷基, 其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

R_b 选自烷基、氨基和羧酰氨基, 其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

R_2 是环烷基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R_2 是环戊基、环己基或环庚基。

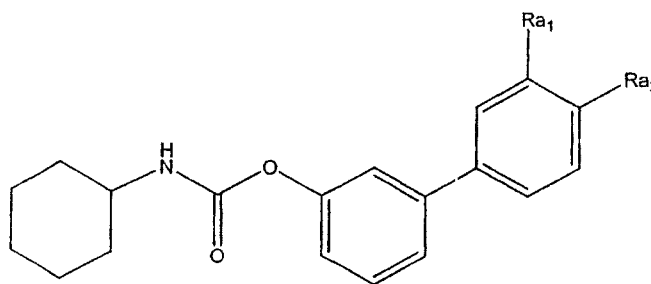
3. 如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，化合物具有以下化学式：



其中 R_a 和 R_b 如权利要求 1 定义。

4. 如权利要求 3 所述的化合物，其中 R_b 选自甲基、氨基或羧酰氨基。

5. 如权利要求 3 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有如下化学式：



其中 R_{a1} 和 R_{a2} 独立地选自

H;

卤素;

烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

羟基烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基;

苯氧基;

苯基;

羧酰氨基;

氨基;

磺酰氨基;

氰基;

羟基;

硝基;

酮烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基；

卤代烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基。

6. 如权利要求 5 所述的化合物，其特征在于， R_{a1} 和 R_{a2} 中至少有一个是 H。

7. 如权利要求 5 所述的化合物，其特征在于， R_{a1} 选自：

卤素；

烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基；

苯氧基；

苯基；

羧酰氨基；

氨基；和

卤代烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基；

R_{a2} 是氢。

8. 如权利要求 5 所述的化合物，其特征在于， R_{a1} 和 R_{a2} 各为 H。

9. 如权利要求 5 所述的化合物，其特征在于，所述化合物选自 3'-氨基羰基联苯-3-基氨基甲酸 N-环己酯及其药学上可接受盐。

10. 如权利要求 6 所述的化合物，其中 R_{a2} 选自：

卤代烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基；

羧酰氨基；

氨基；

烷基，其中所述烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基；或

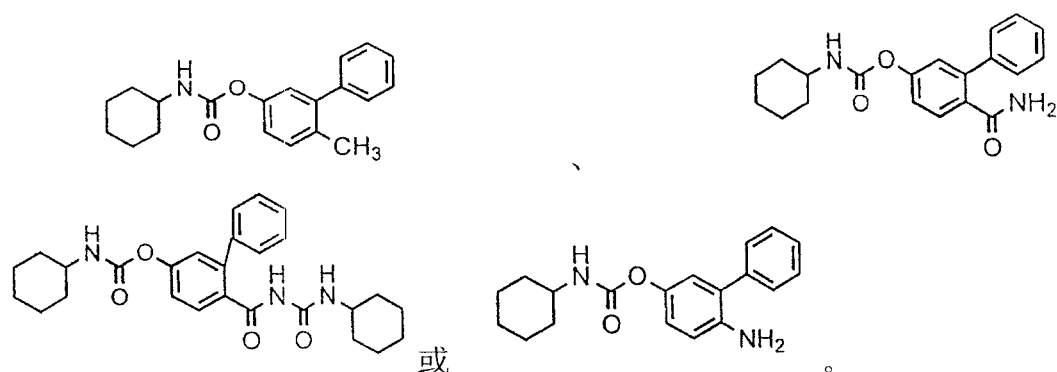
卤素。

11. 如权利要求 5 所述的化合物，其中 R_{a2} 选自三氟甲基、氨基、羧酰氨基、甲基、丙基或氟。

12. 如权利要求 5 所述的化合物，其中 R_{a1} 选自氟、甲基、丙基、磺酰氨基、氰基、硝基、羧酰氨基、氨基、苯氧基、苯基、羟基、羟基甲基、羟基乙

基、 $-C(O)CH_3$ 或三氟甲基， R_{a2} 是氢。

13. 一种化合物，其选自下列化合物：



14. 一种药物组合物，它包含权利要求 1-13 任一项所述的化合物以及药学上可接受的载体。

15. 权利要求 1-13 任一项所述的化合物在制备用于抑制哺乳动物中脂肪酸酰胺水解酶的药物中的应用。

16. 权利要求 1-13 任一项所述的化合物在制备用于治疗哺乳动物中焦虑或抑郁的药物中的应用。

17. 权利要求 1-13 任一项所述的化合物在制备用于治疗哺乳动物疼痛的药物中的应用。

18. 权利要求 1-13 任一项所述的化合物在制备用于治疗哺乳动物食欲减少的药物中的应用。

19. 权利要求 1-13 任一项所述的化合物在制备用于治疗哺乳动物精神分裂症或偏执狂或多巴胺传递疾病或青光眼的药物中的应用。

通过阻断花生四烯酰乙醇酰胺的水解调节焦虑

关于在联邦资助研究或开发下所作的发明权利的声明

本研究部分得到政府的支持，美国国家卫生研究院(National Institutes of Health)授予的资助号为 DA12413、DA12447 和 DA12653，该研究院拥有本发明的某些权利。

相关申请

本申请要求提交于 2002 年 10 月 7 日的美国临时申请号 60/417008。此申请还涉及提交于 2003 年 3 月 27 日的美国临时申请号 10/112509 和提交于 2003 年 8 月 15 日的美国临时申请号 10/642462。上述每项申请以其完整内容纳入本文。

发明背景

焦虑在病理上与恐怖相似，常常伴随着情绪、思维、行为和生理的紊乱。恐怖通常因感觉到环境中存在威胁而引发，而焦虑症通常是环境威胁所激起或与环境威胁高度失衡的恐怖。

焦虑症是最常见的心理障碍之一，且可大大地限制生活质量。在焦虑症中，极度焦虑或病理的焦虑一般是心情或情绪状况的主要扰动。这种病症包括但不限于恐慌症(有或没有广场恐怖史)、有和无发作史的广场恐怖症、广泛性焦虑症、特定恐怖症、社交恐怖症、强迫症、急性应激障碍和创伤后应激障碍。此外，还有带有焦虑特征的适应障碍、由普通医疗条件引起的焦虑症、物质诱发的焦虑症和没有另有说明的其他类型的焦虑症(见 DSM-IV)。

认知-行为疗法对许多焦虑症受试者是有益的(Chambless 等, 1998)。苯并二氮杂类、抗抑郁药、选择性血清素再摄取抑制剂和新型化合物丁螺环酮(Lydiard 等, 1996)已经用于治疗焦虑和焦虑症取得一些成功。心理给药和药物治疗相结合的治疗方法也是有益的(March 等, 1997; 美国精神病学联合会, 1998)。这种心理疗法的一种限制是费用，因而受试者不愿接受这种治疗。许多药物疗法依赖于药物，最特别重要的苯并二氮杂类有一些成瘾性或滥用的可

能。由于抗焦虑药典相对稀少，所以需要其他的治疗剂治疗焦虑和焦虑症。

焦虑是有动物模型可供利用的少数心理障碍之一。通过操作物理或社会心理应激物，研究者可以在试验动物中复制人焦虑的症状。这些动物模型为筛选抗焦虑作用的化合物提供了方法。鉴于增加对焦虑症中许多神经化学改变的认识，可能通过这种筛选方法开发许多新类型的药物。

大麻的心理活性组分 Δ^9 -四氢大麻酚(Δ^9 -THC)对人产生受 CB1 大麻素受体介导的主观情感反应，提示内源性大麻素有助于调节心情和感情。但是， Δ^9 -THC 的可变效应取决于剂量，范围从放松和欣快到考虑和惊恐发作，这使对这些结果的解释变得模糊，限制了直接作用的大麻素激动剂的治疗潜力。

花生四烯酰乙醇酰胺是花生四烯酸与乙醇胺的天然产生的酰胺，它满足内源性大麻素物质的所有关键标准 (Devane, W.A. 等, *Science*, 258, 1946-1949(1992)): 它由受刺激的神经元需要时释放 (Di Marzo, V.等, *Nature*, 372, 686-691(1994); Giuffrida, A.等, *Nat. Neurosci.*, 2,358-363(1999)); 它活化具有高亲和力的大麻素受体 (Devane, W.A. 等, *Science*, 258, 1946-1949(1992)), 并通过两步过程中迅速消除, 所述两步过程包括载体介导的输送和接着细胞内水解 (Di Marzo, V.等, *Nature*, 372, 686-691(1994); Beltramo, M.等, *FEBS Lett.*, 403, 263-267(1997))。花生四烯酰乙醇酰胺水解被酶脂肪酸酰胺水解酶 (FAAH) 催化的, 此酶是一种膜结合上的丝氨酸水解酶 (Cravatt, B.F. 等, *Nature*, 384, 83-87(1996); Patricelli, M.P. 等, *Biochemistry*, 38, 9804-9812(1999))(WO 98/20119)(美国专利 6271015), 它也切割其他生物活性的脂肪乙醇酰胺, 如油酰乙醇胺(顺式-9-十八烯酰胺)(Rodriguez de Fonseca, F.等, *Nature*, 414, 209-212(2001)) 和棕榈酰乙醇胺 (Calignano, A.等, *Nature*, 394, 277-281(1998))。缺少编码 FAAH 基因的突变小鼠不能代谢花生四烯酰乙醇酰胺 (Cravatt, B.F.等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 9371-9376(2001)), 虽然能生育, 而且一般正常, 但在大麻素受体上显示花生四烯酰乙醇酰胺活性增强的迹象, 如疼痛感觉减轻 (Cravatt, B.F.等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 9371-9376(2001))。这表明, 靶向 FAAH 的药物有可能增强花生四烯酰乙醇酰胺的强壮作用, 同时还有可能避免 Δ^9 -THC 和其他直接作用的大麻素激动剂产生的多重效应, 常常是不利的效应 (Hall, W.等, *Lancet*, 352, 1611-1616(1998)); Chaperon F.等, *Crit. Rev. Neurobiol.*, 13, 243-281(1999))。

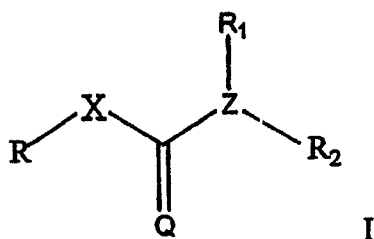
大多数现有的 FAAH 酶的抑制剂缺乏体内研究所需的靶选择性和生物利

用度(Koutek, B.等, J. Biol. Chem., 269, 22937-22940(1994); De Petrocellis, L.等, Biochem. Biophys. Res. Commun., 231, 82-88(1997); Deutsch, D.G.等, Biochem. Biophys. Res. Commun., 231, 217-221(1997); Beltramo, M.等, FEBS Lett., 403:263-267(1997)), 而较新的化合物虽然有前途, 但尚未表征(Boger, D.L.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97, 5044-5049(2000))。因此, FAAH 抑制内源性大麻素体系活性的治疗潜力基本上仍然没有开发。

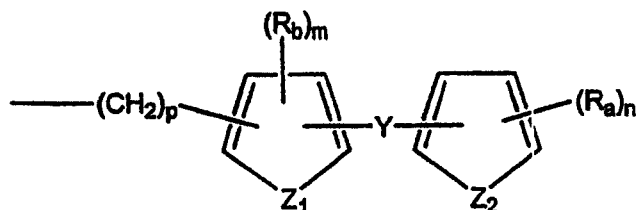
本发明扩展了抑制 FAAH 和治疗焦虑和其他疾病的药典, 提供了一类新的 FAAH 抑制剂和通过施用 FAAH 抑制剂治疗焦虑和焦虑症或疾病的新方法。

发明概述

本发明提供了抑制脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)的新型化合物和通过给受试者施用 FAAH 抑制剂来治疗焦虑或疼痛及其他神经性、睡眠或心理疾病的方法, 以诱导睡眠、治疗青光眼、控制食欲或治疗食欲障碍。本发明一方面公开了 FAAH 抑制剂用于治疗焦虑和抑郁。本发明另一方面提供了具有如下化学式的 FAAH 抑制剂化合物:



其中, X 是 CH₂、NH、O 或 S; Q 是 O 或 S; Z 是 O 或 N, 条件是当 Z 是 O 时, R₁ 和 R₂ 二者之一缺乏; R 是芳基、烷基或亲脂部分, 选自取代或未取代芳基; 取代或未取代联苯基、取代或未取代萘基和取代或未取代苯基; 取代或未取代三联苯基; 取代或未取代环烷基、取代或未取代杂芳基、取代或未取代烷基; 取代或未取代杂烷基, 以及



其中 p 是 0-3 的数字; m 是 0-4 的数字; n 是 0-5 的数字; Z₁ 和 Z₂ 相同或不同, 独立地为二价基团, 选自 -O-、-S-、-N(R₅)-、-C(R₆)=C(R₇)-、C(R₆)=N- 和 -N=C(R₆)-,

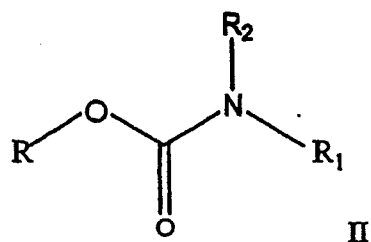
其中 R_5 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、酰基和芳酰基； R_6 和 R_7 为 H，或者 R_6 和 R_7 任选地组合形成饱和或不饱和碳环或杂环，任选地为一个或多个 R_a 和 R_b 基团取代；Y 是键或二价基团，选自 -O-、-S-、-N(R_5)-、 C_1 - C_4 亚烷基、(Z)-或(E)-乙烯和具有 3-6 个碳原子的环烷基； R_a 和 R_b 独立地选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、-SR₅、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和-SO₂NR₃R₄，其中 R_3 和 R_4 选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲氨基，其中 R_3 和 R_4 任选地与 N 原子一起相连以形成 5-7 元环。

此外， R_1 和 R_2 独立地选自 H、取代或未取代烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基、取代或未取代环杂烷基、取代或未取代苯基和取代或未取代芳基或杂芳基，其中任选地，当 X 为 N，且若 R_1 和 R_2 与 N 原子相连，则 R_1 和 R_2 和与它们各自相连的原子任选形成取代或未取代 N 杂环，或取代或未取代杂芳基。

一方面，本发明提供了化合物，其中 R 而不是 -NR₁R₂ 提供了占据 FAAH 中的疏水通道所需的大部分疏水容积，如实施例 18 所述。例如，在特定实施方式中，当 R_1 和/或 R_2 是取代芳基或杂芳基，或包含庞大的芳环时，R 表示质量或分子量大于 -NR₁R₂ 的取代基。其他实施方式包括但不限于这样一些化合物，当 R_1 和 R_2 单独或一起不包含任何芳基、杂芳基或芳环时，R 的质量或分子量大于 -NR₁R₂。在一些实施方式中，FAAH IC₅₀ 少于 1 微摩尔的化合物含有特别小的 -NR₁R₂ 部分。例如，当 R 是上述情况时，这种抑制剂的分子量可以小于 200 或 100 道尔顿，或者容积不大于 C₇ 环烷基或 C₆ 或 C₁₀ 烷基。另一方面，本发明化合物包括与 FAAH 疏水通道相互作用较多的化合物，而不是酶的催化部位以支持它们的结合。这种化合物有离分子的氨基甲酸酯端远亲水部分，且被亲脂部分在此分开，亲脂部分占据了酶的亲水通道。

在一种实施方式中，化学式 I 所示抑制剂的 IC₅₀ 小于 1 μ M。在一种实施方式中，化学式 I 所示抑制剂的 IC₅₀ 小于 0.01 μ M。在另一种实施方式中，化学式 I 所示抑制剂的 IC₅₀ 约为 1-0.01 μ M，或者约为 0.01-0.001 μ M。

在一种实施方式中，FAAH 抑制剂是化学式 II 所示化合物：



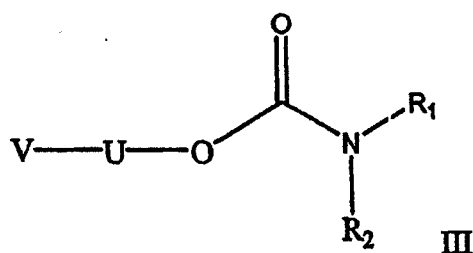
其中 R_1 、 R_2 和 R 如上定义。

在化学式 II 所示化合物的一种实施方式中， R_1 是 H， R_2 是环己基。在另一种实施方式中， R 是取代或未取代联苯基。在又一种实施方式中， R_1 是 H， R_2 是环己基， R 是取代或未取代联苯基或取代或未取代苯基。

在一种实施方式中，化学式 I 或 II 所示抑制剂或化合物的 FAAH IC_{50} 小于 $1 \mu M$ 。在另一种实施方式中，抑制剂的 FAAH IC_{50} 小于 $0.01 \mu M$ 。在另一种实施方式中，抑制剂的 FAAH IC_{50} 约为 $1-0.01 \mu M$ ，或者约为 $0.01-0.001 \mu M$ 。

在另一种实施方式中， X 是 O， Q 是 O； Z 是 N； R_1 是 H， R_2 是 C_1-C_8 烷基。在又一种实施方式中， R 是取代或未取代联苯基、三联苯基或(月弟)基。

另一方面，本发明提供了具有以下通式的 FAAH 抑制剂和化合物：



在化学式 III 中， R_1 和 R_2 独立地选自 H、取代或未取代同烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基、取代或未取代杂环烷基， R_1 和 R_2 任选地与 N 一起形成取代或未取代杂环；U 是疏水间隔基，其中间隔基包含取代或未取代芳基；V 是具有至少一个能形成氢键的官能团的亲水部分。此外，疏水间隔基至少长 9 \AA ；亲水部分与间隔基连接的位置距疏水间隔基与抑制剂剩余部分共价相连的点从 $8-12 \text{ \AA}$ 。

在又一种实施方式中，化学式 III 所示抑制剂或化合物有一个包含第一和第二芳环的疏水间隔基，其中第一和第二芳环与通过一个接头共价连接，接头选自一个键、单个杂原子和取代或未取代 C_1-C_4 亚烷基。

在另一种实施方式中，V 选自酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、 $-\text{CH}_2-\text{NR}_3\text{R}_4$ 、烷氧基、芳氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、 $-\text{NR}_3\text{R}_4$ 、 $-\text{SR}_5$ 、羧酰氨基、 $-\text{CONR}_3\text{R}_4$ 、 $-\text{O}-$ 羧酰氨基、 $-\text{O}-\text{CO}-\text{NR}_3\text{R}_4$ 、磺酰氨基和 $-\text{SO}_2\text{NR}_3\text{R}_4$ ，

其中 R_3 和 R_4 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基甲氨基， R_3 和 R_4 任选地与 N 原子相连起形成 5-7 元环。

在另一种实施方式中，U 和 V 各如上所述，亲水部分与间隔基连接的点距间隔基与抑制剂剩余部分共价相连的点的 9-11 Å。在又一种实施方式中，亲水部分与间隔基连接的位置距间隔基与抑制剂剩余部分共价相连的点约 10 Å。

在另一种实施方式中，U 和 V 合起来质量大于分子剩余部分或 $> -NR_1R_2$ 部分。

在另一种实施方式中，疏水间隔基占据 FAAH 酶的中心疏水通道，如实施例 18 所述，并且其长度足以让恰当定位的 V 基团在指定的通道亲水壁上和远离氨基甲酸酯部分结合位点的亲水位置上参与氢键键合。

在另一种实施方式中，化学式 I 或化学式 II 或化学式 III 所示化合物是 FAAH 抑制剂，与神经毒性酯酶 (NTE) 或乙酰胆碱酯酶 (ACHE) 相比，它对 FAAH 是选择性的。在一种实施方式中，化合物的 FAAH IC_{50} 是 NTE 或 ACHE IC_{50} 的 1/10-1/100。

在一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示抑制剂的 IC_{50} 小于 $1 \mu M$ 。在另一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示抑制剂的 IC_{50} 小于 $0.01 \mu M$ 。在又一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示抑制剂的 IC_{50} 约为 $1-0.01 \mu M$ ，或者约为 $0.01-0.001 \mu M$ 。

在一种实施方式中，相对于电鳗 ACHE、鼠脑单甘油酯脂肪酶或马血浆丁酰胆碱酯酶来说，化学式 I、II 或 III 所示抑制剂是 FAAH 的选择性抑制剂。在另一种实施方式中，选择性抑制剂抑制 FAAH 的 IC_{50} 不超过它抑制电鳗 ACHE、鼠脑单甘油酯脂肪酶或马血浆丁酰胆碱酯酶的 IC_{50} 的 1/5、1/10 或 1/20。

在一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示抑制剂是 FAAH 的选择性抑制剂，它在抑制 FAAH 的 IC_{50} 浓度下基本上不与 CB1 或 CB2 大麻素受体直接相互作用。在另一种实施方式中，抑制 CB1 或 CB2 大麻素受体激动剂结合的结合 IC_{50} 此抑制 FAAH IC_{50} 至少大 10 倍或 20 倍或 100 倍。

在一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示化合物与 FAAH 接触，抑制 FAAH 酶。在另一种实施方式中，酶在体内接触。在又一种实施方式中，酶在体外与化学式 I、II 或 III 所示化合物接触。

一方面，本发明提供了 FAAH 的新型氨基甲酸酯抑制剂和它们用于抑制 FAAH。在一种实施方式中，化学式 I、II 或 III 所示化合物与 FAAH 接触，抑

制酶。在另一种实施方式中，酶在体内接触。在另一种实施方式中，酶在体外与化学式 I、II 或 III 所示化合物接触。

另一方面，本发明提供了治疗焦虑、焦虑症或与焦虑相关的心理障碍的方法，具体是给患有的一种或多种疾病的受试者施用 FAAH 抑制剂。在另一种实施方式中，受试者不需要 FAAH 抑制剂的治疗。在另一种实施方式中，患有其中一种疾病的受试者不需要睡眠诱导剂或疼痛缓解。在另一种实施方式中，与神经毒性酯酶 (NTE) 或乙酰胆碱酯酶 (ACHE) 相比，FAAH 抑制剂对 FAAH 是选择性的。

在一种实施方式中，对受试者使用 FAAH 抑制剂以治疗焦虑或焦虑症。在另一种实施方式中，用化学式 I、II 或 III 所示化合物治疗焦虑或焦虑症。在另一种实施方式中，用来治疗焦虑或焦虑症的化合物是 UCM532 或 UCM597。在另一种实施方式中，受试者不需要用 FAAH 抑制剂治疗。在另一种实施方式中，受试者不需要睡眠诱导剂或疼痛缓解，包括但不限于神经病性疼痛。在另一种实施方式中，FAAH 抑制剂用不是 FAAH 抑制剂的抗焦虑化合物配制，和/或作为组合疗法的一部分与抗焦虑化合物施用。

在一种实施方式中，对受试者使用 FAAH 抑制剂以治疗抑郁或抑郁症。在另一种实施方式中，用化学式 I、II 或 III 所示化合物治疗抑郁或抑郁症。在另一种实施方式中，用来治疗抑郁或抑郁症的化合物是 UCM532 或 UCM597。在另一种实施方式中，受试者不需要用 FAAH 抑制剂治疗。在另一种实施方式中，受试者不需要睡眠诱导剂或疼痛缓解。在另一种实施方式中，FAAH 抑制剂用另一种不是 FAAH 抑制剂的第二种抗抑郁剂配制，或作为组合疗法的一部分抗抑郁剂施用。

另一方面，本发明提供了治疗癫痫的方法，具体是给癫痫受试者施用 FAAH 抑制剂。在一种实施方式中，用化学式 I、II 或 III 所示化合物治疗癫痫。在另一种实施方式中，还用另一种不是 FAAH 抑制剂的抗癫痫化合物治疗受试者。在另一种实施方式中，化学式 I 所示化合物是 UCM532 或 UCM597。在另一种实施方式中，FAAH 抑制剂用不是 FAAH 抑制剂的第二种化合物施用或配制。

本发明一方面提供了减少食欲、身体脂肪或体重的方法，或者治疗或预防肥胖或超重，或者减少摄食，或者通过给哺乳动物施用 FAAH 抑制剂以减少食欲或减少对引起食欲的物质如食品的消耗来治疗哺乳动物的贪食症。在某些实施方式中，所述化合物是化学式 I、II 或 III 所示化合物。

本发明另一方面提供了鉴定抗焦虑药 FAAH 抑制剂的方法，具体是给试验

对象施用抑制剂；让试验对象受到引起焦虑的刺激；测定受刺激试验对象的焦虑程度。在一种实施方式中，本发明提供了确定一种化合物是否为抗焦虑脂肪酸酰胺水解酶抑制剂的方法，具体是在酶测定的条件使让化合物与脂肪酸酰胺水解酶接触，如果它是脂肪酸酰胺水解酶抑制剂就选择化合物；然后通过给试验对象施用抑制剂，确定选择的化合物是否为抗焦虑脂肪酸酰胺水解酶抑制剂；使试验对象受到引起焦虑的刺激；测定受刺激试验对象的焦虑程度。在一种实施方式中，这种抑制剂是化学式 I、II 或 III 所示化合物。

本发明另一方面提供了鉴定抗抑郁或抗癫痫的 FAAH 抑制剂的方法，具体是给抑郁或癫痫动物模型中的试验对象分别施用抑制剂；测定试验对象的行为。在一种实施方式中，本发明提供了确定一种化合物是否为抗抑郁或抗癫痫的脂肪酸酰胺水解酶抑制剂的方法，具体是在酶测定条件下使化合物与脂肪酸酰胺水解酶接触，如果它是脂肪酸酰胺水解酶抑制剂就选择化合物；然后分别给抑郁或癫痫动物模型中的试验对象施用抑制剂，确定选择的化合物否为抗抑郁或抗癫痫脂肪酸酰胺水解酶抑制剂。在一种实施方式中，这种抑制剂是化学式 I、II 或 III 所示化合物。

在一种实施方式中，给受试者施用 FAAH 抑制剂，以治疗精神分裂症或偏执狂或相关疾病或多巴胺传递疾病。在另一种实施方式中，用化学式 I、II 或 III 所示化合物治疗这种疾病或症状。在另一种实施方式中，所用化合物是 UCM532 或 UCM597。在一种实施方式中，FAAH 抑制剂用不是 FAAH 抑制剂的第二种抗精神病药配制，或与它一起施用，作为组合疗法的一部分。

本发明另一方面提供了包含化学式 I、II 或 III 所示化合物和药学上可接受赋形剂的药物组合物。另一方面，本发明提供了通过给受试者施用这种组合物来治疗抑郁、焦虑、失眠、疼痛、精神分裂、癫痫、青光眼或食欲障碍。在一种实施方式中，本发明以单位剂量形式提供包含治疗有效量的 FAAH 抑制剂的药物剂量。在某些实施方式中，所述疗效是指用药量足以治疗上述心理症状或疾病之一。在一种实施方式中，疗效是指用药量足以治疗受试者的焦虑或焦虑症。在其他实施方式中，治疗对象是患有急性焦虑、慢性焦虑或焦虑症的人。在其他实施方式中，FAAH 抑制剂的单位剂量是指该量足以治疗患有抑郁或抑郁症的人。

本发明另一方面提供了通过给受试者施用化学式 I、II 或 III 所示化合物来调节受试者中内源性脂肪酰胺水平的方法。在这种实施方式中，所述调节减

轻了所述受试者的焦虑。在另一种实施方式中，所述调节减轻了受试者对疼痛的敏感性。在另一种实施方式中，所述调节不会引起僵住。在另一种实施方式中，所述调节不会引起饮食过度或影响食欲。

本发明另一方面还提供了通过给受试者施用化学式 I、II 或 III 所示化合物来提高受试者中生花生四烯酰乙醇酰胺、内源性油酰乙醇胺和其他内源性脂肪酸酰胺水平的方法。本发明还提供了通过施用化学式 I、II 或 III 所示化合物来提高受试者中施用的或外源性花生四烯酰乙醇酰胺、油酰乙醇胺和脂肪酸酰胺的水平(例如血液、血浆、脑或其他组织浓度)或生物活性(例如治疗活性、FAAH 抑制活性)的方法。

附图简述

图 1. FAAH 抑制剂 UCM532 和 UCM597 阻断完整脑神经元中 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺的降解。a. 在大鼠脑皮层神经元的初级培养物中，UCM597(空方格)和 UCM532(实心圆)对 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺水解的浓度依赖性抑制作用。b. 与 UCM532(FB, 3 μM)或 UCM597(CF, 10nM)不同，UCM532 类似物 7(10 μM)对 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺水解没有效果。c. UCM532(FB, 3 μM)和 UCM597(CF, 10nM)促进神经元中未代谢的 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺的积累，而花生四烯酰乙醇酰胺输送抑制剂 AM404(AM, 10 μM)则减少积累。d. 在 AM404(AM, 10 μM)存在或不存在下，在 15 分钟培养期间，经 UCM597(10nM)处理的神经元释放未代谢的 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺。e. [³H]花生四烯酰乙醇酰胺从经 UCM597(10nM)处理的神经元中释放的时间进程。相对于载体处理过的神经元，一个星号表示 P<0.05；两个星号表示 P<0.01；用 Tukey 的析因(post-hoc)检验进行 ANOVA 分析(n=4-8)。

图 2. UCM532 和 UCM597 对 FAAH 活性的体内抑制作用。a. 大鼠中全身性施用(i.p.)后，UCM532(实心圆)和 UCM597(空方格)对脑 FAAH 活性的剂量依赖性抑制作用，但无活性类似物 7(实心菱形)没有抑制性。b. 注射一次 UCM597(0.3 mg kg⁻¹, i.p.)后，抑制脑 FAAH 活性的时间进程。注射载体(V)或 UCM597(CF, 0.3 mg kg⁻¹, i.p.)2h 后，脑内花生四烯酰乙醇酰胺(c)和 2-AG(d)的水平。一个星号表示 P<0.05；两个星号表示 P<0.01；在 Tukey 的析因(post-hoc)检验之后进行 ANOVA 分析(n=4-8)。e. UCM597 对花生四烯酰乙醇酰胺诱导的低体温的增强。UCM597(0.3 mg kg⁻¹, 空方格)、花生四烯酰乙醇酰胺(5 mg kg⁻¹, 实心圆)、

花生四烯酰乙醇酰胺(15 mg kg⁻¹, 空心圆)、花生四烯酰乙醇酰胺(5 mg kg⁻¹)加 UCM597(0.3 mg kg⁻¹, 使用花生四烯酰乙醇酰胺之前 30min)(实心菱形)。一个星号(P<0.05)或两个星号(P<0.01)表明花生四烯酰乙醇酰胺与花生四烯酰乙醇酰胺/UCM597 之间有显著差异; t 检验采用 Bonferroni 校正(n=6-7)。

图 3. UCM597 的抗感受伤害的作用。a. 在小鼠热板测试中, UCM597(CF, 0.5 mg kg⁻¹, i. p.)对反应潜伏期的影响, 在不存在和存在 CB1 拮抗剂利莫那班(rimonabant)(Ri, 0.2 mg kg⁻¹, i. v.)情况下。b. UCM597(0.5 mg kg⁻¹)对福尔马林引起的早期(空心柱)和晚期(实心柱)疼痛的影响, 不存在和存在利莫那班的情况下。UCM597 和利莫那班分别在测试前 60min 和 40min 注射。一个星号表示 P<0.05; Dunnett 检测后进行 ANOVA 分析(n=12)。

图 4. UCM532 和 UCM597 的抗焦虑样作用。(a)UCM532(FB, 5 和 10mg kg⁻¹, i. p.)或(b)UCM597(CF, 0.05-0.1 mg kg⁻¹, i. p.)对零迷津开放性象限中成年鼠所花时间百分数的影响(开放时间百分数)。c. CB1 拮抗剂利莫那班(2mg kg⁻¹, i. p.)对 UCM532(5 mg kg⁻¹)产生的开放时间百分数变化的影响。d. UCM532(5 和 10 mg kg⁻¹)对成年鼠中移动时间的影响(20min 一段时间)。e. UCM532(5 和 10 mg kg⁻¹)对大鼠崽中隔离诱导的超声发声的影响。一个星号表示 P<0.05; 两个星号表示 P<0.01(n=7-10)。

图 5 列出了花生四烯酰乙醇酰胺(1)和 URB524(2)的化学结构。

图 6 提供了 URB524 及其间位取代衍生物的 FAAH 抑制效能(pIC₅₀)对亲脂性(π)的曲线图。

图 7 是 FAAH 内部催化通道的三维表面图, 着色部分是残余亲脂性。亲水区域染成蓝色, 亲脂区域染成褐色。

图 8 所示为 URB524 的联苯基片段与 MAPF 的花生四烯酰基链的叠, MAPF 与 FAAH 共结晶。

图 9 所示为 URB597 对接入 FAAH 结合部位。氨基甲酰基与酶形成的氢键以黄色表示。

表 1. 所列数值为抑制 50% (IC₅₀, nM)的 FAAH 活性所需浓度, 表示为至少三个独立实验的平均值±SEM。它们由浓度响应曲线, 采用非线性回归分析计算得到, 回归分析用 Prism 2.0 软件包完成。

表 2. 数值表明了每个靶上测试的 FAAH 抑制剂的最大浓度(单位为 μM)和对应的选择性指数(SI)。SI 是所测试的最大抑制剂浓度/FAAH 的 IC₅₀ 的比例(来

自表 1)。

表 3。报道了 18 个化合物的 FAAH 和乙酰基胆碱酯酶 IC_{50} 值，包括卡巴利尔(carbaryl)和毒扁豆碱。

表 4。报道了 50 个以上化学式 I 的化合物的 FAAH IC_{50} 值。

表 5。报道了 20 个以上间位联苯基化合物的 FAAH IC_{50} 值。

表 6。QSAR 分析中包括的间位取代衍生物的 FAAH 抑制作用的 IC_{50} 观察值和计算值。

发明详述

本发明一方面提供了脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)的新型抑制剂，所述酶负责内源性大麻素花生四烯酰乙醇酰胺的细胞内降解。发明者意外发现了体内抑制 FAAH 且 IC_{50} 低的化合物。本发明的示范性化合物可以是 FAAH 的系统、有效、选择性抑制剂。FAAH 抑制剂可用于许多目的，如诱导睡眠，治疗失眠，缓解疼痛。本发明还提供了通过施用 FAAH 抑制剂治疗焦虑的方法。出乎意料的是，像临床使用抗焦虑药物一样，这种抑制剂在大鼠升高的零迷津试验和压制隔离诱导发声中显示苯并二氮杂萆样性质。此外，它们在急性疼痛的模型中减少了防伤害(避免疼痛)的行为。这些效果伴随着脑内花生四烯酰乙醇酰胺水平的增加，但其他内源性大麻素 2-花生四烯酰甘油没有增加，且受 CB1 大麻素受体阻断的阻止或拮抗。结果表明，花生四烯酰乙醇酰胺参与情绪状态的调节，FAAH 的抑制点作为抗焦虑治疗的一种创新的机制途径。

FAAH 抑制剂还可用于治疗其他许多神经性心理障碍和疾病，包括但不限于疼痛、抑郁、注意缺乏多动障碍、喷气飞机时差综合症、失眠、精神分裂症、肌肉痉挛、癫痫和癫痫发作及青光眼。

本发明还提供了通过施用化学式 I 或化学式 II 所示化合物来提高受试者中内源性花生四烯酰乙醇酰胺、内源性油酰乙醇酰胺和其他内源性脂肪酸酰胺水平的方法。本发明还提供了给受试者施用化学式 I 或化学式 II 所示 FAAH 抑制剂(例如预先施用、同时施用或共同施用)来提高受试者中施用的花生四烯酰乙醇酰胺、油酰乙醇酰胺和脂肪酸酰胺的水平和生物活性。因此，化学式 I 和 II 所示 FAAH 抑制剂可用于增强花生四烯酰乙醇酰胺或油酰乙醇酰胺的生物活性。

本发明提供了一类新试剂，它们能通过靶向 FAAH 的细胞内酶活性来防止

花生四烯酰乙醇酰胺或油酰乙醇酰胺失活。

本发明还提供了一类新 FAAH 活性的抑制剂，它们提高了内源性花生四烯酰乙醇酰胺的信号。这些试剂的行为性质——特点是减轻焦虑和中等镇痛——揭示了花生四烯酰乙醇酰胺在调节情绪状态的重要作用，且特别是提供了抗焦虑治疗的新机制途径。

本发明还提供了抑制 FAAH 的方法，具体是使酶体外或体内与本发明的抑制剂或化合物接触(例如化学式 I、Ia-c、I、IIa-b 和 III 所示化合物)。酶优选为哺乳动物(例如、大鼠、人狗、小鼠、猫、驯养的哺乳动物种类)。

定义

这里指出的是，本说明书所用单数形式“一”和“该”包括复数，除非另有说明。

除非另外规定，这里所用的所有技术和科学术语与本领域的普通技术人员通常理解的意义相同。这里引用的每种出版物、专利申请、专利和其他参考文献以其完整性纳入本文作参考，其程度不与本发明内容抵触不一致。

在本说明书和如权利要求中，“食欲障碍”是指与一种物质、特别是滥用一种物质和/或依赖一种物质相关的疾病，饮食行为的疾患，特别是容易引起超重的疾患(不管其来源)，例如：食欲过盛、嗜糖、非胰岛素依赖性糖尿病。因此，开胃物质可以理解为摄入体内的物质，且对消耗此类物质的胃口或欲望可通过任何摄入或自我施用的途径得到满足。开胃物质包括食物，其开胃成分如糖、碳水化合物或脂肪，以及滥用或过度消耗的饮用酒或药物。“胃口”可以指向这种物质，如食物、糖、碳水化合物、脂肪以及滥用或成瘾或过度消耗的乙醇或药物(例如烟草、CNS 抑制剂、CNS 刺激剂)。

胃口是指消耗开胃物质的欲望或消耗开胃物质的行为。开胃物质可以是食物或糖或其他物质。在一种实施方式中，开胃物质是食物。在一些实施方式中，开胃物质是滥用药物，如乙醇、尼古丁、可卡因、阿片样物质、CNS 刺激剂或 CNS 抑制剂。

焦虑是环境威胁引起的恐怖状态，或者与环境威胁的高度不相称。焦虑可以是急性的，较短时间持续数小时至数天；也可以是慢性的，持续许多天至数周甚至更长。

术语“临床焦虑”是指需或需要治疗以便缓解的任何形式的焦虑。这种临

床焦虑可能持续性或者复发和一般严重。

焦虑症包括但不限于《心理障碍的诊断与统计手册》(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)(第四版, 版权: 1994年, 美国精神病学协会)所提供的任何焦虑症, 纳入本文作参考。这种疾病包括但不限于恐慌症、广场恐怖症、广泛性焦虑症、特定恐怖症、社交恐怖症、强迫症、急性应激障碍和创伤后应激障碍; 以及带有焦虑特征的适应障碍、由普通医疗条件引起的焦虑症、物质诱发焦虑症和没有另有说明的其他类型的焦虑症。

抑郁症包括但不限于《心理障碍的诊断与统计手册》(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)(第四版, 版权: 1994年, 美国精神病学协会)所提供的任何抑郁症。这些疾病包括重症抑郁障碍(单相抑郁)、心境恶劣障碍(慢性、中等抑郁)和双相型障碍(躁狂抑郁)。临床抑郁是指需要某种形式的治疗以便缓解的任何形式的抑郁。这种临床抑郁可持续数月, 且每天大部分时间都会持续, 严重损害生活质量。

“重症抑郁发作”定义为至少两周心情压抑或失去兴趣, 可能伴有其他抑郁症状。症状必须持续出现在一天的大部分时间(即至少占受试者醒着的时间的三分之二), 而且至少连续两周中的几乎每一天(即14天中的至少10天)。

“心情压抑”常被受试者描述为感觉沮丧、无望、无助或无价值。通过观察也能看出受试者的沮丧, 例如通过其面部表情、姿态、声音和流泪。在儿童和青少年中, 情绪容易激动。“失去兴趣”常被受试者描述为对嗜好的兴趣不大, 或者对以前认为有乐趣的活动感到没有任何乐趣。

重症抑郁发作可能伴随其他抑郁症状, 包括没有饮食时体重显著减轻, 或者体重增加(例如一个月内体重变化5%以上), 食欲减少或增加; 失眠或睡眠过度; 精神运动激动或迟缓; 疲劳或精力下降; 感觉无价值, 或者感到有过度的或不恰当的罪过; 思考或集中的能力降低; 或犹豫不决; 经常性想到死亡, 复发有计划或无计划的自杀念头, 或者有自杀企图。

术语“组合物”就药物组合物而言, 是指包含活性成分和形成载体的惰性成分的产品, 以及任何直接或间接由任何两种或多种成分组合、复合或聚集的任何产品, 或由一种或多种成分分解的产品, 或由一种或多种成分的反应或相互作用形成的其他类型的产品。因此, 本发明的药物组合物包括通过混合本发明的一种化合物和药学上可接受载体而制成的任何组合物。术语“药物组合物”是指适合用于受试者, 包括动物和人作为药物使用的组合物。药物组合物通常

包含有效量的活性试剂和药学上可接受载体。

术语“调节”是指引起任何变化，包括增加或减少。（例如，脂肪酸氧化调节剂增加或减少脂肪氧化的速率。）

术语“药学上可接受载体”包括任何标准的药物载体、缓冲剂和赋形剂，包括磷酸缓冲的盐水溶液、水和乳液（如油包水或水包油乳液），以及各种类型的湿润剂和/或辅剂。合适的药物载体及其配方见述于《Remington 药物科学》（Mack Publishing Co., Easton, 19 版, 1995）。优选的药物载体取决于想要的施用活性剂的方式。典型的施用方式在下面描述。

术语“有效量”是指对指定疾病或心理状态足以产生所需结果的剂量。所需结果可包括在接收剂量中主观或客观的改善。至于焦虑，所述改善可以是焦虑征兆象或症状的减轻。

术语“治疗”等包括但不限于在接收者状态中产生有益变化的方法和操作。所述变化可以或是主观的或是客观的，可涉及诸如要治疗的疾病的症状或征兆等特征。例如，如果受试者注意到恐怖感、焦虑或忧虑减少，则表明对焦虑或焦虑症的治疗是成功的。例如，如果注意到发作的频率或严重程度下降，则表明癫痫得到了有益治疗。例如，如果压抑感减少，则表明抑郁或抑郁症已达到益利的变化。类似地，如果临床医师观察到客观变化，如震颤或躁动减少，则也表明对焦虑的治疗是有益或成功的。防止接收者状况的恶化也包括在该术语内。治疗的益处包括许多主观或客观因素，表明此处讨论的待治疗疾病的反应。

“药物”、“药理试剂”、“药物试剂”、“活性剂”和“试剂”可以互换使用，它们具有最广泛的释义，可指任何具有疗效的物质，它们传递到活生物体以产生所需的，通常是有益的效果。

“药学上可接受的”或“治疗上可接受的”是指不干扰活性成分的效果或生物活性，且对宿主无毒的物质，所述施用对象可以是人或动物。

“治疗有效量”是指活性成分足以产生所需生物或临床结果的量。该结果可以是疾病的征兆、症状或诱因的缓解，或生物系统的任何其它所需的改变。

“治疗有效量”在这里用来指在一段时间内给治疗对象施用，会引起疾病显著改善的制剂的任何量。所述量可随待治疗疾病、疾病的进展阶段以及所用制剂的类型和浓度而异。给定情况下的合适量对本领域的技术人员是显而易见的，也可以通过常规实验确定。

“预防性治疗”是指对尚未显示神经或心理障碍或仅显示早期或轻度征

兆的对象实施的治疗，其目的是降低疾病产生病理特征或恶化的危险。本发明的化合物可用于预防性治疗，以预防不良的或不想要的焦虑或惊恐发作，或者减轻焦虑发生恶化的程度。

这里所用术语“受治者”包括任何动物，包括但不限于要予以治疗的哺乳动物(例如大鼠、小鼠、猫、狗)，也包括人。

精神分裂症和相关疾病包括但不限于以下几种类型：紧张型、错乱型、偏执狂型、后遗症型、未分化型，以及《心理障碍的诊断与统计手册》(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)(第四版，修订版权：2000年，美国精神病学协会)所提供的精神分裂症样疾病，本文纳入作为参考。

“FAAH”指哺乳动物的脂肪酸酰胺水解酶，包括但不限于人、大鼠、小鼠形式的酶。美国专利 6271015 公开了分离和纯化形式的 FAAH。在一组实施方式中，主题化合物的 FAAH IC₅₀ 根据它们在有关生理条件下大鼠酶的抑制作用而确定。脂肪酰胺水解酶 (FAAH) (Deutsch, D.G. 等, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acid*, 66, 201-210(2002)) 是负责脂质乙醇酰胺降解的酶 (Fower, C.J. 等, *Biochem. Pharmacol.* 62, 517-526(2001); Patricelli, M.P. 等, *Vitam. Horm.*, 62, 663-674(2001)), 例如花生四烯酰乙醇酰胺 (AEA, 1, 图 1), (Devane, W.A. 等, *Science*, 258, 1946-1949(1992))、油酰乙醇酰胺 (Rodriguez de Fonseca, F. 等, *Nature (London)*, 414, 209-212(2001); Fu, J. 等, *Nature (London)*, 425, 90-93(2003)) 和棕榈酰乙醇酰胺 (Calignano, A. 等, *Nature (London)*, 394, 277-281(1998); Lambert, D.M. 等, *Curr. Med. Chem.*, 9, 663-674(2002))。在 AEA 情况下，所述生化过程同时选择性输送细胞内 (Di Marzo, V., *Nature (London)*, 372, 686-691(1994); Beltrama, M., 等, *Science*, 277, 1094-1097(1997); Piomelli, D. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2002))，引起这些自活性物质的细胞作用停止。由于脂肪酸乙醇酰胺具有各种重要的生理作用，有几类能够阻断 FAAH 或 FAAHS 但不与其他内大麻素代谢酶结合的小分子化合物，例如甘油单酯脂酶 (MGL) (Dinh, T.P. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 10819-10824(2002)) 或大麻素受体有利于作为药物开发项目的药理学工具和原型 (Piomelli, D. 等, *Trends Pharmacol. Sci.*, 21, 218-224(2000); Bisogno, T. 等, *Curr. Pharm. Des.*, 8, 533-547(2002); Yarnell, A., *Chem. Eng. News* 80(49), 32(2002); Smith, A., *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2, 92(2003); Wendeler, M. 等, *Angew. Chem.*

Int. Ed., 42, 2938-2941(2003))。

本发明一般的化合物

本发明化合物可包含一个或多个不对称中心，因此可以是外消旋体和外消旋混合物、单一对映体、非对映体混合物和单个非对映体。本发明包含所发明化合物的所有异构体形式。

本发明化合物包括成对的对映体的非对映体。例如，非对映体可通过从合适的溶剂中分步结晶得到，所述溶剂如甲醇、乙酸乙酯或它们的混合物。这样得到的成对的对映体可通过常规方法分离成单个立体异构体，例如用光活性酸作为分离剂。

另外，本发明的这种化合物的任何对映体可通过立体专一性合成得到，该合成方法采用已知构型的光学纯原料。

本发明化合物中可以有一个或多个原子以非自然比的原子同位素形式存在。例如，化合物可用同位素进行放射性标记，如氘或碳-14。本发明所有同位素变化的化合物(不管是否有放反射性)都在本发明范围之内。

本发明化合物可以其药学上可接受酸加成盐的形式分离，如由无机酸和有机酸形成的盐。这种酸可包括盐酸、硝酸、硫酸、磷酸、甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、马来酸、琥珀酸、丙二酸等。此外，包含酸性官能的某些化合物可以呈其无机盐的形式，其中平衡离子可选自钠、钾、锂、钙、镁等，以及有机碱。术语“药学上可接受盐”是指由药学上可接受无毒碱或酸制备的盐，包括无机碱或酸和有机碱或酸。

本发明还包括本发明化合物的前体药物，施用时，在变成活性药理物质之前通过代谢过程发生化学转变。一般地，这种前体药物是本发明化合物的衍生物，它们在体内容易转变成本发明的功能化合物。例如，选择和制备合适的前体药物衍生物的常规过程描述于《前体药物的设计》(Design of Prodrugs)，H. Bundgaard 编，Elsevier, 1985。本发明还包括本发明化合物的活性代谢物。

这里描述的一些化合物包含烯双键，除非另有说明，它们包括 E 和 Z 几何异构体。

这里描述的一些化合物可在不同的氢连接点存在，称作互变异构体。这样的例子可以是酮及其烯醇形式，称作酮-烯醇互变异构体。单个互变异构体及其混合物包括在本发明的公式之内。

这里所用术语“杂原子”指包括氧(O)、氮(N)和硫(S)。

取代基可以常规化学公式指定,从左到右写,它们同样包括化学上相同、结构从右到左写的取代基,例如 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 也可列举 $-\text{OCH}_2-$ 。

术语“烷基”本身或作为另一个取代基的一部分,除非另有说明,是指直链或支链,或者环烷基团,或者它们的组合。它们可以是完全饱和、单或多不饱和的基团,且可包括二价和多价基团,具有指定数目的碳原子(即 C_1-C_{10} 指 1-10 个碳)。饱和烃基的例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、环己基、环己基甲基、环丙基甲基、同系物和异构体,例如正戊烷、正己烷、正庚烷、正辛烷等的同系物和异构体。不饱和烷基包含一个或多个双键或三键。不饱和烷基的例子包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-丁二烯基、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-和 3-丙炔基、3-丁炔基和高级同系物和异构体。除非另有说明,术语“烷基”还包括下面将要详加定义的烷基的衍生物,如“杂烷基”。限于烃基的烷基称作“同烷基”。

术语“亚烷基”本身或作为另一个取代基的一部分,是指衍生自烷烃的二价基团,其非限制性例子是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$;它还包括下面描述的“杂亚烷基”。一般地,烷基(或亚烷基)有 1-24 个碳原子,本发明优选含 10 个及 10 个以下碳原子的基团。“低级烷基”或“低级亚烷基”是短链烷基或亚烷基,通常是有 8 个或 8 个以下的碳原子。

术语“烷氧基”、“烷基氨基”和“烷基硫基”(或硫代烷氧基)用于其常规含义,指分别通过氧原子、氨基或硫原子连接到分子剩余部分的烷基。

除非另有说明,术语“杂烷基”本身或与另一个术语组合使用,是指稳定的直链或支链,或者环烷基,或者它们的组合,由指定数目的碳原子和至少一个选自 O、N 和 S 的杂原子组成,其中氮原子和硫原子可任选地氧化,氮杂原子可任选地季铵化。杂原子 O、N 和 S 可置于杂烷基的任意内部位置,也可以置于烷基与分子余下部分相连的位置。其例子包括但不限于 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 。两个杂原子可以是连续的,如 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 。类似地,术语“杂亚烷基”本身或是作为另一个取代基的一部分,指衍生自杂烷基的二价基团,其非限制性例子有 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 和

-CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-。对于杂亚烷基，杂原子也可以占据一个或两个链端(例如亚烷氧基、亚烷二氧基、亚烷基氨基、亚烷基二氨基等)。此外，对于亚烷基和杂亚烷基连接基团，连接基团的方位不受化学式中所写连接基团的方向限制。例如，化学式-C(O)₂R'-表示-C(O)₂R'-和-R'C(O)₂-。

术语“环烷基”和“杂环烷基”它们本身或与其他术语组合，除非另有说明，都分别是“烷基”和“杂烷基”的环状形式。此外，对于杂环烷基，杂原子可占据杂环与分子剩余部分相连接的位置。环烷基的例子包括但不限于环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环烷基的例子包括但不限于1-(1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基等。

术语“卤”或“卤素”它们本身或作为另一取代基的一部分，除非另有说明，均指氟、氯、溴或碘原子。此外，诸如“卤代烷基”的术语包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如，术语“卤代(C₁-C₄)烷基”指包括但不限于三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯代丁基、3-溴代丙基等。

除非另有说明，术语“芳基”指多不饱和的芳香性烃取代基，可以是单环或熔融在一起或共价连接多个环(优选1-3个环)。术语“杂芳基”指包含1-4个杂原子(选自N、O或S)的芳基(或环)，其中氮原子和硫原子任选地氧化，氮原子任选地季铵化。杂芳基可通过杂原子与分子的剩余部分连接。芳基和杂芳基的非限制性例子包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯基-4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吡啶基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和6-喹啉基。上述各芳环和杂芳环体系的取代基选自下面描述的可接受取代基。

为简洁起见，术语“芳基”包括上面所定义的芳环和杂芳环。因此，术语“芳基烷基”包括芳基连接到烷基上的基团(例如苄基、苯乙基、吡啶甲基等)，烷基包括碳原子(例如亚甲基)为氧原子等所取代的烷基(例如苯氧基甲基、2-吡啶氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基等)。

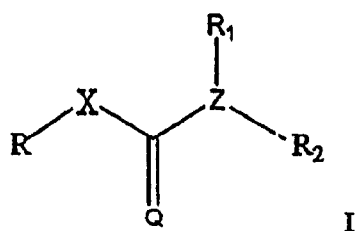
以上每个术语(例如“烷基”、“杂烷基”、“芳基”和“杂芳基”)包括所指基团的取代和未取代形式。各类基团的优先取代基在下面提供。

烷基和杂烷基(包括常称作亚烷基、链烯基、杂亚烷基、杂链烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、环链烯基和杂环链烯基)的取代基可以选自但不限于： $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、卤素、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$ 的一种或多种基团数目在 $0-(2m'+1)$ 范围,其中 m' 是这种基团中碳原子总数。 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 各自独立地指氢、取代或非取代杂烷基、取代或非取代芳基(例如为 1-3 个卤素取代的芳基)、取代或非取代烷基、烷氧基或硫代烷氧基或芳基烷基。当本发明化合物包含不止一个 R 基团时,例如,每个 R 基独立地选为各 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' ,只要存在一个以上的这些基团。当 R' 和 R'' 连接到同一个氮原子时,它们可与氮原子组合形成 5-、6-或 7-元环。例如, $-NR'R''$ 包括但不限于 1-吡咯烷基和 4-吗啉基。本领域的技术人员通过上面对取代基的讨论不难理解术语“烷基”包括碳原子连接到氢基团以外的基团,如卤代烷基(例如 $-CF_3$ 和 $-CH_2CF_3$)和酰基(例如 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 等)。

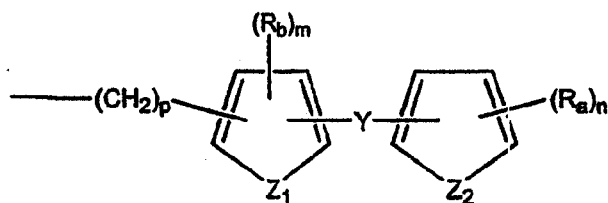
类似于描述烷基时提到的取代基,芳基和杂芳基的取代基多种多样,例如,可选自:卤素、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、卤素、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、氟代(C_1-C_4)烷氧基和氟代(C_1-C_4)烷基,数目范围从 0 到芳环体系上开放化合价的总数;其中 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 优选独立地选自氢、(C_1-C_8)烷基和杂烷基,未取代芳基和杂芳基、(未取代芳基)-(C_1-C_4)烷基和(未取代芳基)氧基-(C_1-C_4)烷基。当本发明化合物包含不止一个 R 基时,例如,每个 R 基独立地选自各 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' ,只要存在一个以上的这些基团。

本发明新型脂肪酸酰胺水解酶抑制性化合物

本发明提供了具有以下化学式的脂肪酸酰胺水解酶:



其中 X 是 CH₂、NH、O 或 S；Q 是 O 或 S；Z 是 O 或 N，条件是若 Z 是 O，R₁ 或 R₂ 之一缺乏；R 是芳族或烷基或亲脂部分，选自取代或未取代芳基；取代或未取代联苯基、取代或未取代萘基和取代或未取代苯基；取代或未取代三联苯基；取代或未取代环烷基、取代或未取代杂芳基、取代或未取代烷基、取代或未取代杂烷基，以及

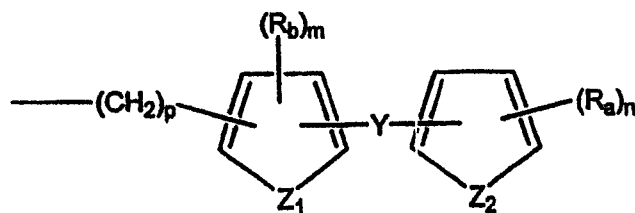


其中 p 为 0-3 的数字；m 为 0-4 的数字；n 为 0-5 的数字，Z₁ 和 Z₂ 可相同或不同，独立地选自 -O-、-S-、-N(R₅)-、-C(R₆)=C(R₇)-、-CR₆-、-C(R₆)=N- 和 -N=C(R₆)- 的二价基团，其中 R₅ 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、链炔基、环烷基、芳基、酰基和芳酰基；R₆ 和 R₇ 独立地为 H，或者 R₆ 和 R₇ 任选地组合形成饱和或不饱和碳环或杂环，任选地为一个或多个 R_a 和 R_b 基团所取代；Y 是接头，包括但不限于键、-O-、-S-、-N(R₅)-、C₁-C₄ 亚烷基、(Z)-或(E)-亚乙基和具有 3-6 个碳原子的环烷基；R_a 和 R_b 独立地选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、-SR₅、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和 -SO₂NR₃R₄；R₃ 和 R₄ 选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲基氨基，R₃ 和 R₄ 任选地与和它们相连的 N 原子一起形成 5-7 元环。当 Z₁ 为 -C(R₆)=C(R₇)- 或 -N=C(R₆)- 且 p 为 0 时，包含 Z₂ 的芳环优选与 Y 处于间位或对位。更优选处于间位。

此外，R₁ 和 R₂ 独立地选自 H、取代或未取代烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基、取代或未取代环杂烷基、取代或未取代苯基和取代或未取代芳基或杂芳基。任选地，当 X 是 N 时，如果 R₁ 和 R₂ 与 N 原子连接在一起，则它们与和它们各自相连的原子形成取代或未取代 N 杂环或取代或未取代杂芳

基。在一些实施方式中， R_1 和 R_2 是 H，或者选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基，其中任选地，这些烃基中的一个或多个碳为选自 O、N- R_5 和 S- R_5 、芳基、酰基和芳酰基的杂原子取代，其中任选地，当 X 是 N 时，如果 R_1 和 R_2 与 N 原子连接在一起，则它们与和它们各自相连的原子形成取代或未取代 N 杂环或取代或未取代杂芳基。

在一些实施方式中，在具有上述化学式的化合物中，x 是 O 或 S；Q 是 O 或 S；R 选自取代或未取代芳基；取代或未取代联苯基、取代或未取代萘基和取代或未取代苯基、取代或未取代三联苯基、取代或未取代杂芳基，以及



其中 p 为 0-3 的数字；m 为 0-4 的数字；n 为 0-5 的数字，Z₁ 和 Z₂ 是相同或不同，独立地选自 -O-、-S-、-N(R₅)-、-C(R₆)=C(R₇)- 和 -N=C(R₆)- 的二价基团，其中 R₅ 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、酰基和芳酰基；R₆ 和 R₇ 独立地选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、酰基、芳酰基，其中 R₆ 和 R₇ 任选地组合形成饱和或不饱和碳环或杂环，任选地为一个或多个 R_a 和 R_b 基团所取代；Y 是连接成员。Y 可以是键或选自、-O-、-S-、-N(R₅)-、-S(R₅)-、C₁-C₄ 亚烷基、(Z)-或(E)-亚乙基和具有 3-6 个碳原子的环烷基；R_a 和 R_b 独立地选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、-SR₅、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和 -SO₂NR₃R₄；其中 R₃ 和 R₄ 选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲基氨基，R₃ 和 R₄ 任选地与和它们相连的 N 原子一起形成 5-7 元环；R₁ 和 R₂ 独立地选自 H、取代或未取代烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基、取代或未取代环杂烷基。任选地，R₁ 和 R₂ 可与它们相连的 N 原子连接在一起，形成取代或未取代环。

在另一种实施方式中，在化学式 I 所示化合物中，X 是 O，Q 是 O。在这种化合物的另一种实施方式中，Z 是 N。在另一种实施方式中，p 是 0，m 是 1，n 是 0、1、2 或 3。在另一种实施方式中，m 是 0，n 是 1、2 或 3。

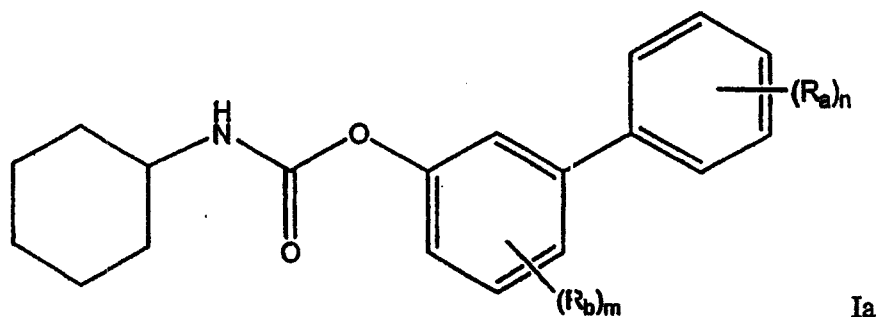
在化学式 I 所示化合物的另一种实施方式中, R 选自取代或未取代联苯基、取代或未取代萘基、取代或未取代三联苯基和取代或未取代顺式芪基(stilbyl) ((Z)-C₆H₅-CH=CHC₆H₅-)。在这种 R 化合物的另一种实施方式中, X 也是 O, Q 是 O, Z 是 N。

在一种示范性实施方式中, R 是取代或未取代联苯基。在这种联苯基化合物的另一种实施方式中, X 也是 O, Q 是 O, Z 是 N。在另一种实施方式中, R₁ 和 R₂ 中至少有一个是 H。

在另一种实施方式中, 在化学式 I 所示化合物中, R₁ 是 C₁-C₈ 同烷基、C₁-C₈ 杂烷基或 C₁-C₈ 环烷基。在另一种实施方式中, C₁-C₈ 烷基是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、环戊基、环己基、环庚基、环戊烯基、环己烯基或环庚烯基。特别优选 R₁ 基为环己基。在这种化合物的另一种实施方式中, X 是 O; Q 是 O, Z 是 N。在另一个示范性实施方式中, R 是取代或未取代联苯基、三联苯基或芪基, 其中芳环中的 3 个原子为杂原子所取代, 杂原子选自 NR₅、O 或 S, 其中 R₅ 如上所定义。

在另一种实施方式中, 化学式 I 所示化合物中的 R₁ 基团是哌啶基、呋喃基、糠基、咪唑基(furanyl)和吗啉基, 可以是取代或未取代的。在这种化合物的另一种实施方式中, x 优选 0; Q 为 O, Z 为 N。在另一种实施方式中, R 基团是取代或未取代联苯基、三联苯基或芪基, 其中芳环中的 3 个原子为杂原子所取代, 杂原子选自 NR₅、O 或 S, 其中 R₅ 选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、酰基和芳酰基。

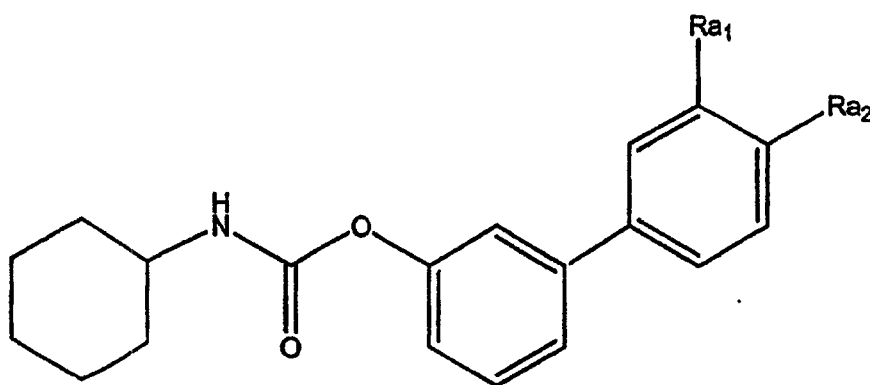
在一组实施方式中, 化学式 I 所示化合物具有如下化学式:



在以上化学式中, m 是 0-4 的数字, n 是 0-5 的数字。在一些实施方式中, m 是 0 或 1, n 是 2 或 3。在以上化学式中, 每个 R_a 和 R_b 独立地选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、卤、卤代烷基、氰基、

羟基、硝基、氨基、 $-NR_3R_4$ 、羧酰氨基、 $-ONR_3R_4$ 、 $-O$ -羧酰氨基、 $-O-CO-NR_3R_4$ 、磺酰氨基和 $-SO_2NR_3R_4$ 。 R_3 和 R_4 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲基氨基，或者 R_3 和 R_4 与和它们相连的 N 原子一起形成 5-7 元环。在其他一些实施方式中，每个 R_a 和 R_b 独立地选自 H、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、 $-CH_2-NR_3R_4$ 、烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、 $-NR_3R_4$ 、羧酰氨基、 $-ONR_3R_4$ 、 $-O$ -羧酰氨基、 $-O-CO-NR_3R_4$ 、磺酰氨基和 $-SO_2NR_3R_4$ 。

另一种实施方式由以下化学式所示化合物表示：



Ib.

在以上化学式中， R_{a1} 和 R_{a2} 独立地选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、芳基、取代芳基、芳基烷基、取代芳基烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、 $-CH_2-NR_3R_4$ 、烷氧基、芳氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、 $-NR_3R_4$ 、羧酰氨基、 $-CONR_3R_4$ 、 $-O$ -羧酰氨基、 $-O-CO-NR_3R_4$ 、磺酰氨基和 $-SO_2NR_3R_4$ 。 R_3 和 R_4 选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲基氨基。此外， R_3 和 R_4 可与它们相连的 N 原子一起形成 5-7 元环。在特定的一组实施方式中，每个 R_{a1} 和 R_{a2} 独立地选自 H、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、 $-CH_2-NR_3R_4$ 、烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、 $-NR_3R_4$ 、羧酰氨基、 $-ONR_3R_4$ 、 $-O$ -羧酰氨基、 $-O-CO-NR_3R_4$ 、磺酰氨基和 $-SO_2NR_3R_4$ 。在另一组这样的化合物的实施方式中， R_{a1} 和 R_{a2} 中至少有一个是 H。在另一组这样的化合物的实施方式中， R_{a1} 选自 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)CH_3$ 或 $-(CH_2)_2OH$ ， R_{a2} 是 H。在另一组实施方式中， R_{a1} 和 R_{a2} 均为 H。在另一种这样的化合物的实施方式中， R_1 是 C_1-C_8 烷基， R_2 是 H。

在其他实施方式中，化学式 I 所示化合物中， R_1 是 C_1-C_8 烷基，X 是 O，Q 是 S，Z 是 N。在这样的一些实施方式中，R 是取代或未取代苯基、联苯基、三联苯基或芪基。

在其他实施方式中，化学式 I 所示化合物中，X 是 O，Q 是 O，Z 是 N，R 是取代或未取代联芳基或杂联芳基。在其他一些实施方式中，杂联芳基环上可以有 3 个原子，选自 O、N 或 S。在其他实施方式中，杂联芳基是联吡啶或苯基吡啶。

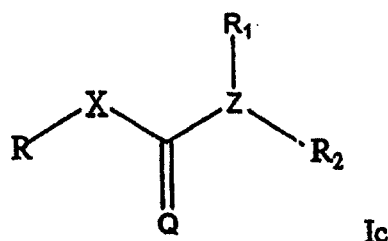
在另一种实施方式中，化学式 I 所示化合物是 n-丁基 4-苄氧基苯基氨基甲酸酯或正-环己基 3'-羧酰氨基-联苯基-3-基氨基甲酸酯。

化学式 I 所示化合物的其他实施方式抑制人脂肪酸酰胺水解酶的 IC_{50} 小于 1 微摩尔。在这种实施方式中，例如，化合物抑制人脂肪酸酰胺水解酶的 IC_{50} 为 100-10 纳摩尔，或者 10-1 纳摩尔，或者小于 10 纳摩尔。

在其他实施方式中，化学式 I 所示化合物中，R-X 基团的分子量大于 $-NR_1R_2$ 基团的分子量。在其他实施方式中，R-X 基团的体积大于 $-NR_1R_2$ 基的体积。在这种化合物的其他实施方式中，X 是 O；Q 是 O，Z 是 N。在其他实施方式中，R 是取代或未取代芳基，包括但不限于联苯基、三联苯基和顺式茛菪基化合物。

在化学式 I 所示化合物的另一种实施方式中，X 是 O；Q 是 O，Z 是 N，R 是取代或未取代联芳基和取代或未取代杂联芳基。在另一种实施方式中， R_1 和 R_2 独立地选自 H、取代或未取代同烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基、取代或未取代环杂烷基；任选地， R_1 和 R_2 可与 N 一起形成取代或未取代杂环； R_{a1} 和 R_{a2} 独立地选自 H、烷基、链烯基、炔基、环烷基、酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、 $-CH_2-NR_3R_4$ 、烷氧基、芳氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、 $-NR_3R_4$ 、羧酰氨基、 $-CONR_3R_4$ 、 $-O$ -羧酰氨基、 $-O-CO-NR_3R_4$ 、磺酰氨基和 $-SO_2NR_3R_4$ ； R_3 和 R_4 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基-甲基氨基，或者 R_3 和 R_4 可与它们相连的 N 一起形成 5-7 元环。在另一个这样的实施方式中， R_1 是 C_1-C_8 同烷基、 C_1-C_8 杂烷基或 C_1-C_8 环烷基。在另一种实施方式中， R_2 是 H。在另一种实施方式中， R_1 是环己基， R_2 是 H。

本发明还提供了具有如下化学式的脂肪酸酰胺水解酶抑制剂：



基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代苯基、取代或未取代芳基、取代或未取代杂芳基；任选地，如果 R_1 和 R_2 与它们连接的原子一起形成取代或未取代 N-杂环，或者取代或未取代杂芳基。在一些实施方式中，化学式 I 或 II 所示化合物中的 R 基团具有比化合物的 $-NR_1R_2$ 部分大的分子量或质量。

在另一种实施方式中，化学式 II 所示 FAAH 抑制化合物的 IC_{50} 小于 $10 \mu M$ 或 $1 \mu M$ 。在另一种实施方式中，化学式 II 所示化合物是 IC_{50} 小于 $0.01 \mu M$ 的 FAAH 抑制剂。在另一种实施方式中，化学式 II 所示化合物是 IC_{50} 约为 $1-0.01 \mu M$ 或约 $0.01-0.001 \mu M$ 的 FAAH 抑制剂。

在一种实施方式中，R 在化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 和 III 所示化合物中是萘基。

在另一种实施方式中，在化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 所示化合物中 R_1 是 H， R_2 是环己基。在另一种实施方式中，在化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 所示化合物中 R_1 是 H， R_2 是烷基。

在另一种实施方式中，在化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 所示化合物中 R_1 是 H， R_2 是烷基。

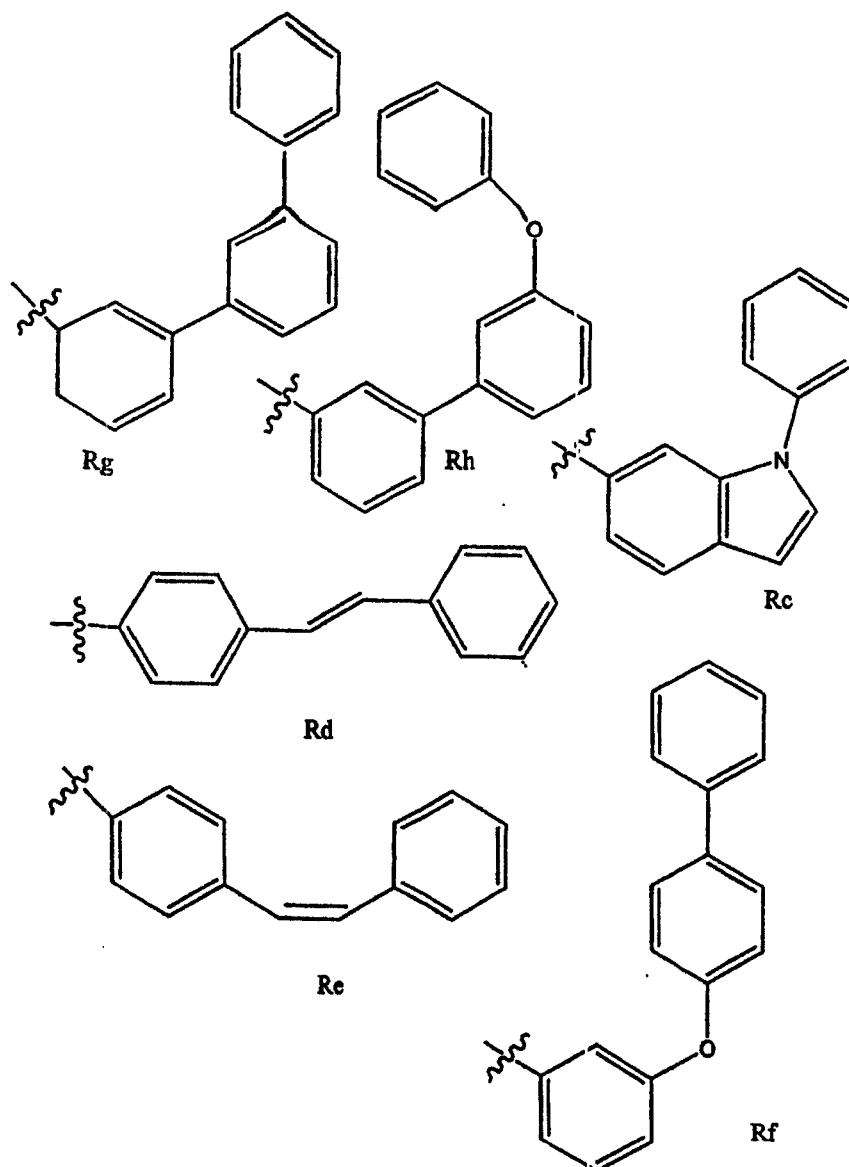
在另一种实施方式中，在化学式 Ic 或 II 所示化合物中 R_1 是 H， R_2 是环己基，R 是取代或未取代芳基。在另一种实施方式中，在化学式 Ic 或 II 所示化合物中，R 是取代或未取代联苯基。在另一种实施方式中，联苯基为卤素(例如 F)或烷基(例如甲基)或氨基或酰胺基或三氟甲基取代。

化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 所示化合物的例子包括但不限于表 3 所列如下化合物：N-环己基氨基甲酸酯 2-萘酯；N-丁基氨基甲酸酯 4-(苄氧基)苯基酯；N-丁基氨基甲酸酯 6-溴-2-萘基酯；N-环己基氨基甲酸酯 4-联苯基酯；N-环己基氨基甲酸己酯；N-环己基氨基甲酸酯对甲苯基酯；4-(4'-甲氧基苯氧基羰基)苯基碳酸酯 O-丁酯；N-丁基氨基甲酸酯 4-氟代苯基酯

在另一种实施方式中，化学式 I 所示化合物是 UCM532 或 UCM597。

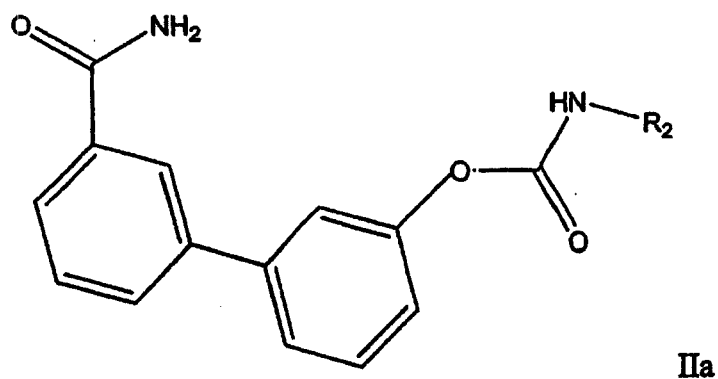
在另一种实施方式中，本发明的 FAAH 抑制剂是化学式 II 所示化合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 C_1-C_{10} 烷基；R 是取代芳基。在另一种实施方式中， R_2 是叔丁基、仲丁基或正丁基。在上述化学式 II 所示化合物的另一种实施方式中， R_2 是环己基。

在另一种实施方式中，本发明的 FAAH 抑制剂是化学式 I、II 或 IIa 所示化合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 C_1-C_{10} 烷基；R 是以下之一：



在其他实施方式中，其中 R 是 Rf、Rg、Rc、Rd、Re 或 Rh 之一，R₂ 是叔丁基、仲丁基、正丁基或环己基。在其他实施方式中，其中 R 是 Rf、Rg、Rc、Rd、Re 或 Rh 之一，每个苯环可进一步独立并任选地为 1、2、3 或 4 个除唯一 H 原子以外的取代基所取代，如上面定义的芳基或杂芳基。

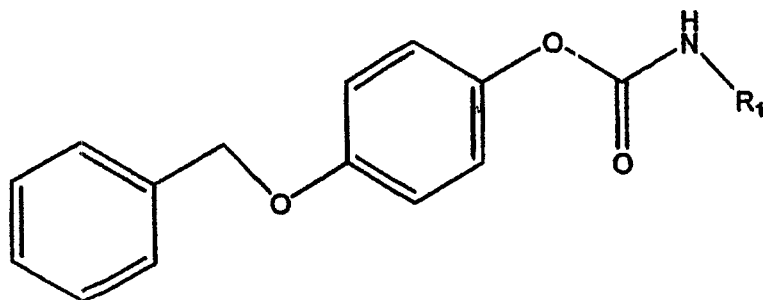
在另一种实施方式中，所示化合物具有化学式 IIa:



其中 R_2 是 C_1 - C_{10} 烷基。在另一种实施方式中, R_2 是环己基或叔丁基、仲丁基或正丁基。在上述化学式 IIa 所示化合物的另一种实施方式中, R_2 是环己基。

在其他实施方式中, 本发明的化合物是化学式 IIa 所示化合物, 每个苯环可进一步独立并任选地为 1、2、3 或 4 个除唯一 H 原子以外的取代基所取代, 如上面定义的芳基或杂芳基。

在另一种实施方式中, 所示化合物具有化学式 IIb:



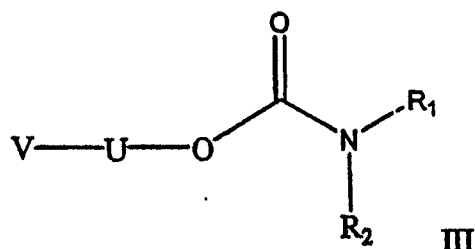
IIb

其中 R_1 是烷基。在另一种实施方式中, R_1 是低级 C_1 - C_6 烷基。在另一种实施方式中, R_1 是叔丁基、仲丁基、正丁基、己基或环己基。在其他实施方式中, 本发明的化合物是化学式 IIb 所示化合物, 每个苯环可进一步独立并任选地为 1、2、3 或 4 个除唯一 H 原子以外的取代基所取代, 如上面定义的芳基或杂芳基。

在一些实施方式中, 本发明的化合物是表 I-表 VI 中 FAAH IC_{50} 小于 1 微摩尔的任何化合物。

在这些实施方式中, 所述化合物(例如化学式 I、Ia-c、II 或 IIa-b 和 III 所示化合物)包括它们的药学上可接受盐和生物活性的异构体及构象体。

另一方面, 本发明提供了 FAAH 抑制剂和化合物或以下通式:



在化学式 III 中, R_1 和 R_2 独立地选自 H、取代或未取代同烷基、取代或未取代杂烷基、取代或未取代环烷基基、取代或未取代杂环烷基; R_1 和 R_2 任选地与和它们相连的 N 原子一起形成取代或未取代 N 杂环; U 是疏水间隔基, 其中间隔基包含取代或未取代芳基; V 是亲水部分, 是有至少一个可形成氢键的官能团。此外, 疏水间隔基至少长 9Å; 亲水部分与间隔基连接的点距疏水间隔基与

抑制剂剩余部分共价相连的点约 8-12 Å。

在另一种实施方式中,化学式 III 所示抑制剂或化合物有一个疏水间隔基,它包含第一和第二芳环,其中第一和第二芳环通过接头共价连接,所述接头选自化学键、单个杂原子和取代或未取代 C₁-C₄ 亚烷基。

在另一种实施方式中, V 选自酮烷基、羟基烷基、氨基烷基、-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和-SO₂NR₃R₄, 其中 R₃ 和 R₄ 选自 H、烷基、杂烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基甲氨基, R₃ 和 R₄ 可与它们连接的 N 原子组合成 5-7 元环。

在另一种实施方式中, U 和 V 如上所述,亲水部分与间隔基连接的点距疏水间隔基与抑制剂剩余部分共价相连的点约 9-11 Å。在另一种实施方式中,亲水基团与间隔基连接的点距疏水间隔基与抑制剂剩余部分共价相连的点约 10 Å。

在另一种实施方式中, U 和 V 一起的分子量或体积比分子剩余部分或比 -NR₁R₂ 部分大。

在一些实施方式中,在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R₁ 和 R₂ 独立地选自 H, 或者选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃类, 其中任选地, 这些烃基中的一个或多个碳为选自 O、N-R₅ 和 S-R₅ 的杂原子取代, 任选地, 当 X 是 N 时, 如果与它们连接的 N 原子一起, 则 R₁ 和 R₂ 形成取代或未取代 N 杂环或取代或未取代杂芳基。在这些实施方式中, R₅ 是 H 或选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基, 其中这些烃基中任选一个或多个碳原子为选自 H 和 SH 的杂原子所取代。

在一些实施方式中,在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R₁ 和 R₂ 独立地选自 H, 或者选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基(这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为选自 O、N-R₅ 和 S-R₅ 的杂原子取代)任选地, 当 X 是 N 时, 如果与它们连接的 N 原子一起, 则 R₁ 和 R₂ 形成取代或未取代 N 杂环或取代或未取代杂芳基。在这些实施方式中, R₅ 选自 H 或选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基, 其中这些烃基中任选一个或多个碳原子为选自 O、NH 和 SH 的杂原子所取代。在另一种实施方式中, p 是 0-3 的数字; m 是 0-4 的数字; n 是 0-5 的数字; Z₁ 和 Z₂ 相同或不同, 各独立地为二价基团, 选自 -O-、-S-、-N(R₅)-、-C(R₆)=C(R₇)-、-CR₆、-N=C(R₆)和-(R₆)=N-, 其中 R₆ 和 R₇ 独立地

选自 H 或烃基, 其中烃基是烷基、链烯基、炔基、环烷基, 这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为 O、N-R₅、S-R₅、芳基、酰基和芳酰基的杂原子取代。在几组优选实施方式中, 烃基各自独立地为 C₁-C₁₀ 烃基, 它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代, 其中 R₅ 也是 C₁-C₁₀ 烃基。在一组更优选的实施方式中, R₆ 和 R₇ 各独立地为 C₁-C₆ 烃基, 它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代, 其中 R₅ 是 C₁-C₆ 烃基。

在一些优选实施方式中, 在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R₁ 选自哌啶基、呋喃基、糠基、吗啉基、顺式-2-、3-、4-哌啶基, 2-和 3-吗啉基, 2-和 3-呋喃基、糠基, 2-和 3-吡咯基, 2-或 3-噻吩基。

在一些优选实施方式中, 在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R₁ 是 C₁-C₈ 烃基, 选自烷基和环烷基, 这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代。在另一实施方式中, R₂ 是 H。在另一优选实施方式中, R 是取代或未取代联苯基。

在一些优选实施方式中, 在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R_a 和 R_b 独立地选自 H, 或烷基、链烯基、炔基、环烷基组成的烃基(其中这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代), 芳基; 取代芳基; 芳烷基; 取代芳烷基; 酮烷基; 羟基烷基; 氨基烷基; -CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、-SR₅、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和 -SO₂NR₃R₄, 其中 R₃ 和 R₄ 选自 H、或选自烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟基烷基和亚氨基甲氨基的烃基, R₃ 和 R₄ 任选地与它们同时连接的 N 组合形成 5-7 元环。在这些实施方式中, R₅ 是 H 或选自烷基、烯基、链炔基、环烷基的烃基, 其中这些烃基中任选一个或多个碳原子为杂原子 H 和 SH 所取代。在几组优选实施方式中, 烃基各自独立地为 C₁-C₁₀ 烃基, 它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代, 其中 R₅ 也是 C₁-C₁₀ 烃基。在一组更优选的实施方式中, R₆ 和 R₇ 各独立为 C₁-C₆ 烃基, 它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代, 其中 R₅ 烃基是 C₁-C₆。

在一些实施方式中, 在化学式 I、Ia-c、II、IIa-b 或 III 所示化合物中, R₁ 和 R₂ 独立地选自 H, 或者选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基(这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为选自 O、N-R₅ 和 S-R₅ 的杂原子取代), 任选地, 当 X 是 N 时, 如果与它们连接的 N 原子一起, 则 R₁ 和 R₂ 形成取代或未取代 N 杂环或取代或未取代杂芳基。在这些实施方式中, R₅ 选自 H 或选自烷基、链烯

基、炔基、环烷基的烃基，其中这些烃基中任选一个或多个碳原子为选自 O、NH 和 SH 的杂原子所取代。在另一种实施方式中，p 是 0-3 的数字；m 是 0-4 的数字；n 是 0-5 的数字；Z₁ 和 Z₂ 相同或不同，独立地为二价基团，选自 -O-、-S-、-N(R₅)-、-C(R₆)=C(R₇)-、-C(R₆)、-C(R₆)=N-和 -N=C(R₆)-，R₆ 和 R₇ 独立地选自 H 或烃基，其中烃基是烷基、链烯基、炔基、环烷基，这些烃基中的一个或多个碳原子任选地选自 O、N-R₅、S-R₅、芳基、酰基和芳酰基的杂原子取代。在几组优选实施方式中，烃基各自独立地为 C₁-C₁₀ 烃基，它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代，其中 R₅ 也是 C₁-C₁₀ 烃基。在一组更优选的实施方式中，R₆ 和 R₇ 各独立为 C₁-C₆ 烃基，它们任选地为选自 O、N-R₅ 和 S-R₅ 的杂原子所取代，其中 R₅ 是 C₁-C₆ 烃基。在其他实施方式中，R_a 和 R_b 独立地选自 H，烷基、链烯基、炔基、环烷基等烃基(其中这些烃基中的一个或多个碳原子任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代)，芳基；取代芳基；芳烷基；取代芳烷基；酮烷基；羟烷基；氨基烷基；-CH₂-NR₃R₄、烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基、卤、卤代烷基、氰基、羟基、硝基、氨基、-NR₃R₄、-SR₅、羧酰氨基、-CONR₃R₄、-O-羧酰氨基、-O-CO-NR₃R₄、磺酰氨基和 -SO₂NR₃R₄，其中 R₃ 和 R₄ 选自 H、或选自烷基、链烯基、炔基、环烷基、羟烷基和亚氨基甲氨基的烃基，R₃ 和 R₄ 任选与它们连接的 N 组合形成 5-7 元环。在这些实施方式中，R₅ 是 H 或选自烷基、链烯基、炔基、环烷基的烃基，其中这些烃基中任选一个或多个碳原子为选自 O、H 和 SH 的杂原子所取代。在几组优选实施方式中，烃基各自独立地为 C₁-C₁₀ 烃基，它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代，其中 R₅ 也是 C₁-C₁₀ 烃基。在一组更优选的实施方式中，R₆ 和 R₇ 独立地为 C₁-C₆ 烃基，它们任选地为 O、N-R₅ 和 S-R₅ 所取代，其中 R₅ 烃基是 C₁-C₆ 烃基。

化学式 I 或化学式 II 所示抑制剂的合成

本发明的化合物可用市售原料直接合成。氨基甲酸酯是本领域熟知的。以下程序是合成路线实例，它们只是说明，不限制本发明。本领域的普通技术人员将考虑到其他变化、改进和可供选择的方法。

在一个实例中，在回流甲苯中，以催化量的三乙胺分别处理异氰酸正丁酯和 4-氟代苯基异氰酸酯，可得到正丁基氨基甲酸 4-苄氧基苯基酯(UCM532)(4)和 4-氟代苯基氨基甲酸 4-苄氧基苯基酯(8)。所得产物的产率良好。

类似地，将异氰酸环己酯分别与 3-苯基苯酚、5-苯基-1-戊醇和 3'-羟基联

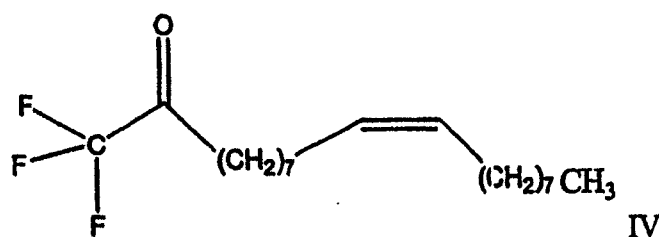
苯基-3-羧酸酰胺反应，合成环己基氨基甲酸 3-联苯基酯(5)、环己基氨基甲酸 5-苯基戊酯(7)和环己基氨基甲酸 3'-氨基甲酰-3-联苯酯(UCM597)(6)。同样，所得产物的产率良好。

后一种反应物的制备如下：由 3-溴苯氟与高硼酸钠反应得到的 3-溴苯甲酸酰胺与甲氧基苯基硼酸偶合，得到 3'-甲氧基联苯基-3-羧酸酰胺，然后用 BBr₃ 水解，产生所需的 3'-羟基联苯基-3-羧酸酰胺。详细的合成过程和理化数据在其他地方报道。

适合制备目标化合物的其他方法见 Tarzia 等，*J. Med. Chem.* 46:2352-2360(2003)和 Kathuria 等，*Nature Medicine* 9(1): 76(2003)，纳入本文作为参考。

用于治疗焦虑的其他 FAAH 抑制剂

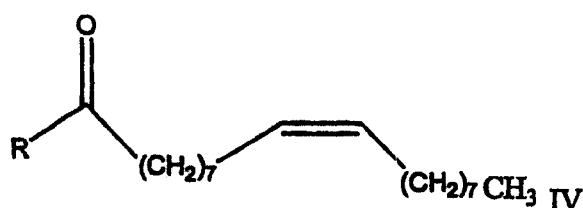
三氟酮抑制剂，如化学式 IV 所示化合物，也考虑用于抑制 FAAH，以提高内源性花生四烯酰乙醇酰胺的水平或者治疗受试者的疾病。



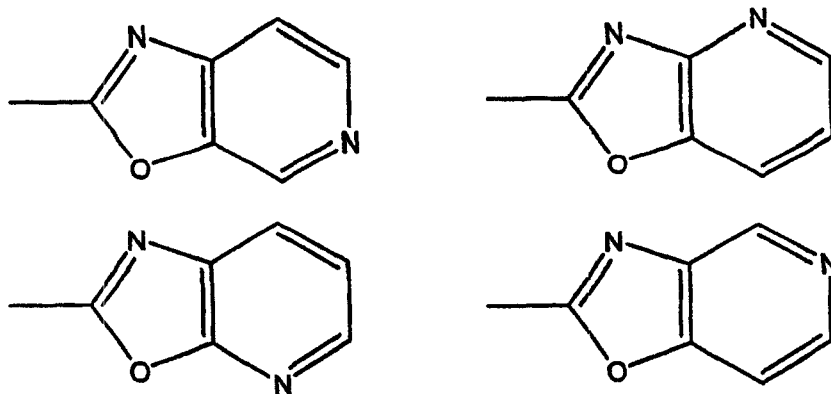
这样的化合物见述于美国专利申请 6096784，纳入本文作为参考。

用于本发明的其他化合物包括辛基磺酰基和辛基磷酰基化合物。见 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)179: 57-63(2002)。还可参见 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)173: 48-55(2001)。

用于本发明的其他化合物包括 α -酮-噁唑吡啶，它是可逆的，且极有效的 FAAH 抑制剂。见 Boger 等，*PNAS USA* 97: 5044-49(2000)。示范性化合物包括以下化学式所示化合物：



其中 R 是 α -酮-噁唑吡啶基部分，如



Boger 等介绍了本发明的其它示范性化合物，包括脂肪酸酰胺的取代 α -酮-杂环同系物。特别是，其中 R 是 α -酮-噁唑吡啶基部分，脂肪酸部分是油酸或花生四烯酸的同系物。

按照本发明作用的其他 FAAH 抑制剂包括脂肪酸磺酰氟，如不可逆地结合 FAAH 的化合物 AM374。见 Deutsch 等，*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 231: 217-221(1997)。

筛选 FAAH 抑制活性的化合物的方法

筛选体外 FAAH 抑制活性的化合物的方法是本领域普通技术人员所熟知的。这些方法见述于 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)179: 57-63(2002)。Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)173: 48-55(2001)；Boger 等，*PNAS USA* 97: 5044-49(2000)。

筛选体内 FAAH 抑制活性的化合物和提高内源性大麻素水平或活性的方法是本领域的普通技术人员所熟知的。这些方法包括测定组织中的脂肪酸乙醇酰胺，在 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)179: 57-63(2002)、Quistand 等《毒物学与应用药理学》(*Toxicology and Applied Pharmacology*)173: 48-55(2001)和 Boger 等，*PNAS USA* 97: 5044-49(2000)中介绍。见美国专利 6096784。还可见 PCT 出版物 WO 98/24396。见 Cravatte 等，*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 9371-9376(2001)。

分析 ACHE 和 NTE 抑制活性的方法

本领域的普通技术人员知道如何筛选对 ACHE 或 NTE 有抑制效果的物质。例

如，见 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(Toxicology and Applied Pharmacology)179: 57-63(2002); Quistand 等《毒物学与应用药理学》(Toxicology and Applied Pharmacology)173: 48-55(2001)。

大麻素 CB1 受体活性

许多方法都可用来筛选大麻素 CB1 受体结合活性，以鉴定本发明的化合物。许多这样的方法在美国专利 5747524 和美国专利 6017919 中有介绍。

CB1 受体结合测定是本领域的普通技术人员所熟知的。例如，见发表于 2001 年 12 月 20 日的美国专利申请 US2001/0053788，美国专利申请 5747724，美国专利 5596106，还可见 Felder, C. C. 等, Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 7656-7600(1993)，各纳入本文作参考。一种试剂对大麻素 CB1 受体的亲和性可用中国仓鼠卵巢细胞(CHO)的膜制品测定，在这种细胞中人大麻 CB1 受体连同作为放射性配体的 [³H]CP-55940 一起稳定地转染。培育新制备的含 [³H]配体的细胞膜制品后，在加和不加本发明化合物情况下，用纤维滤纸过滤可进行结合和自由配体的分离。通过液体闪烁计数测定滤纸上的放射活性。

用于本发明的备选化合物的大麻素 CB1 活性也可通过功能研究测定，该研究采用稳定地表达人大麻素 CB1 受体的 CHO 细胞。腺苷酰基环化酶可用毛喉素刺激，并通过确定聚集的环 AMP 的量来测定。CB1 受体激动剂(例如 CP-55940 或 (R)-WIN-55212-2)对 CB1 受体的伴随活化削弱了毛喉素以浓度依赖性方式诱导 cAMP 的聚集。这种 CB1 受体介导的反应可受到 CB1 受体拮抗剂的拮抗。见发表于 2001 年 12 月 20 日的美国专利申请 US2001/0053788。

作为富含大麻素 CB1 受体和 CB2 受体的样品，可以分别采用大鼠小脑膜片段和脾细胞(SD 雄鼠，7-9 周龄)。一个样品(小脑膜片段：50 μg/ml 或脾细胞：1(x10⁷ 细胞/ml))、标记配体([³H]Win55212-2, 2nM)和未标记 Win55212-2 或试验化合物可放在圆底 24 孔平板中，对小脑膜片段在 30℃培养 90 分钟，对脾细胞在 4℃培养 360 分钟。作为测定缓冲液，小脑膜片段可用 50mM 含 0.2%BSA 的 Tris 溶液，脾细胞可用 50mM 含 0.2%BSA 的 Tris-HBSS。培养之后，用过滤器(Packard, Unifilter 24GF/B)过滤样品并干燥。可以加入闪烁溶液(Packard, Microsint-20)，并测定样品的放射性(Packard, Top count A9912V)。确定非专一性结合时，可加入过量 Win55212-2(1 μM)，从单独加入标记配体得到的总结合中减去非专一性结合，即可计算专一性结合。试验化合物可溶解在 DMSO

中,至最终 DMSO 的浓度为 0.1%。 IC_{50} 可通过专一性结合试验化合物的比例确定, 试验化合物的 K_i 值可由 IC_{50} 和 $[^3H]Win55212-2$ 的 K_d 值计算得到。见美国专利 6017919。

在一种实施方式中,大麻素受体结合的 IC_{50} 可根据 Devane 等, *Science* 258:1946-1949(1992)和 Devane 等, *J. Med. Chem.* 35:2065(1992)的方法确定。此方法确定了化合物竞争性地抑制放射性标记探针(例如 $^3H-HU-2430$)的结合的能力。

在其他实施方式中,针对 CB1 受体的本发明化合物的 IC_{50} 可根据上面任何一种配体结合测定方法确定。在另一种实施方式中, IC_{50} 可根据在生理 pH 或相关生理条件下研究结合的任何测定方法测定。在另一种实施方式中, IC_{50} 可根据在生理 pH 和离子强度下研究结合的任何测定方法测定。

大麻素 CB2 受体的结合测定

研究 CB2 受体结合的方法是本领域的普通技术人员所熟知的。例如,与人大麻素 CB2 受体的结合可用 Showalter 等在 *J. Pharmacol Exp Ther.* 278(3), 989-99(1996)中提出的方法评估,只需稍作修改,如按照发表于 2002 年 2 月 28 日的美国专利申请 20020026050 所述修改。各纳入本文作为参考。

在其他实施方式中,针对 CB2 受体的本发明化合物的 IC_{50} 可根据上面任何一种 CB2 受体配体结合测定方法测定。在另一种实施方式中, IC_{50} 可根据在生理 pH 或相关生理条件下研究结合的任何测定方法测定。在另一种实施方式中, IC_{50} 可根据在生理 pH 和离子强度下研究结合的任何测定方法测定。

组合化学库

最近,人们普遍关注用组合化学库辅助产生新的化合物前导物。组合化学库是各种化合物的集合,这些化合物借助化学合成或生物合成技术,将许多化学“组件块”如试剂组合而产生。例如,线性组合化学库如多肽库的建立是利用一组称作氨基酸的化学“组件块”,在指定化合物长度(即多肽化合物中指定氨基酸数目)下以每一种可能的途径进行组合。通过化学组件块的组合混合,可以合成上百万的化合物。例如,一位评论家观察到,系统的组合混合 100 个可交换化学“组件块”在理论上可合成 1 亿四聚倾倒地物或者 100 亿五聚倾倒地物 (Gallop 等, *J. Med. Chem.* 37(9), 1233(1994))。

组合化学库的制备和筛选是本领域的技术人员所熟知的。这种组合化学库包括但不限于多样聚体(diversomer), 如乙内酰脲、苯并二氮杂萘和二肽(Hobbs 等, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90, 6909(1993))、小化合物库的有机类似物合成(Chen 等, J. Amer. Chem. Soc. 116:2661(1994))、低寡氨基甲酸酯(Cho 等, Science 261, 1303(1993))和/或磷肽基酸酯(Campbell 等, J. Org. Chem. 59:658(1994)), 以及小分子有机物库(例如, 参见苯并二氮杂萘(Baum C&EN, Jan 18, 33(1993)))、噻唑烷酮和间噻唑酮(美国专利 5549974)、吡咯烷(美国专利 5525735 和 5519134)、苯并二氮杂萘(美国专利 5288514)等。

制备组合库的设备市场上有售(例如, 357MPS, 390MPS, Advanced Chem. Tech., Louisville KY, Symphony, Rainin, Woburn, MA, 433A Applied Biosystems, Foster City, CA, 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA)。

也已经开发了许多著名的机器人系统用于液相化学。这些系统包括自动工作站, 如 Takeda Chemical Industries, LTD(Osaka, Japan)开发的自动合成设备, 以及采用机器人臂的许多机器人系统(Zymate II, Zymark Corporation, Hopkinton, Mass; Orca, HewlettPackard, Palo Alto, CA), 这种系统模仿化学工作者进行的手工合成操作。上述任何设备都适用于本发明。相关领域的技术人员不难认识这些设备的性质并对其进行适当改进, 以便可如本文所述进行操作。此外, 许多组合库本身就可以从市场上买到(如 ComGenex, Princeton, N. J., Asinex, Moscow, RU, Tripos, Inc., St. Louis, MO, ChemStar, Ltd., Moscow, RU, 3D Pharmaceuticals, Exton, PA, Martek Biosciences, Columbia, MD 等)。

化学式 I 或 II 所示化合物的化学库的高通量 FAAH 抑制测定

对本发明所述化合物的测定适用于高通量筛选。因此, 优选的分析可检测抑制剂与 FAAH 的结合, 或者油酰乙醇酰胺或花生四烯酰乙醇酰胺等底物水解所产生的反应产物(例如脂肪酸酰胺或乙醇胺)的释放。可对底物作标记, 以利于检测释放的反应产物。对特定反应产物的存在与否或定量进行高通量测定是本领域技术人员所熟知的。因此, 例如, 美国专利 5559410 公开了高通量筛选蛋白质的方法, 美国专利 5576220 和 5541061 公开了高通量筛选配体/抗体结合的方法。

此外, 高通量筛选系统可以市购(例如 Zymark Corp., Hopkinton, MA; Air

Technical Industries, Mentor, OH; Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA; Precision Systems, Inc., Natick, MA 等)。这些系统的整个过程通常都是自动化的, 包括所有样品和试剂移液、液体分配、定时培养和最后适合测定的检测器中微型板的读数。这些可构型系统提供高通量, 启动快, 以及高度灵活性和定制化。这些系统的生产商为各种高通量提供了详细的方案。因此, 例如, Zymark Corp. 提供的技术报告描述了用于检测基因转录、配体结合等的调节的筛选系统。

抗焦虑药活性的筛选

本领域的普通技术人员都知道, 有许多动物模型可供评估化合物的抗焦虑效果。两种在药理学上证明有效的焦虑动物模型是升高的零迷宫试验和分离-诱导超声发射试验。零迷宫由一个升高的环形平台组成, 该平台有两个敞开和两个闭合的扇形体, 其根据动物探索其环境的本能与对敞开空间的恐怖之间的冲突, 因为在敞开空间可受到猎杀者袭击(Bickerdike, M. J. 等, *Eur. J. Pharmacol.*, 271, 403-411(1994); Shepherd, J. K. 等, *Psychopharmacology*, 116, 56-64(1994))。临床用抗焦虑药物, 如苯并二氮杂䓬增加了在敞开区间花费的时间比例和进入敞开区间的次数。

对抗焦虑化合物的第二种试验是超声发声散发模型, 它测定将鼠崽从其巢穴搬出后, 因紧张而导致发声的次数(Insel, T. R. 等, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 24, 1263-1267(1986); Miczek, K. A. 等, *Psychopharmacology*, 121, 38-56(1995); Winslow, J. T. 等, *Biol. Psychiatry*, 15, 745-757(1991))。

在试图估计新型化合物对人的抗焦虑活性中, 已经开发出大量动物模型。许多范例是评价动物在所谓的“冲突”状态下的行为, 即同时在两种相反刺激状态影响下的行为反应, 如接近还是避开倾向。最有名的模型也许是条件性惩罚冲突范例, 它是将动物训练成愿意表现出某些反应(例如压杠杆), 以获取奖赏(例如为饥饿的动物准备食物)。一旦动物显示速度恒定的压杠杆反应, 则在短时间内(通过视觉或听觉信号发出信号)对压杆行为同时用食物给予奖励和轻微的电足冲击予以惩罚。在这些冲突的时间内, 动物的反应速度明显降低, 这也可以从各种明显的情绪征兆反映出来。苯并二氮杂䓬受体激动剂, 例如抗焦虑药安定的特征效果是在不会中断不受罚反应的剂量下, 不再抑制受罚行为(结果在受罚情况下的反应速度提高)。此外, 同样的活性药物在实际上没有惩

罚的情况下也产生抗焦虑样效果，即由于惩罚的条件性畏惧而降低压杆速度。冲突任务不需要条件性的行为反应：天真的动物饥渴时会得到饮水的机会，但喝水时通过接触带电壶嘴而受到惩罚。这种因惩罚而受到压抑的饮水行为被苯并二氮杂萘受体激动剂(例如安定)剂量依赖地解除抑制。探索活动同样会因可能发生的惩罚而减少，但用已知抗焦虑药处理会解除。无惩罚的冲突模型基于天然相反刺激状态的存在，一方面是趋向于探索，另一方面是对新环境的恐怖(例如暗室-亮室任务、升高的加迷宫、食用不熟悉的食物或在不熟悉的环境中食用常规食物、不熟悉的动物之间的社会交往)。虽然很容易将这些实验情形中苯并二氮杂萘受体激动剂对行为的去抑制效果归因于类似于抗焦虑样作用，其效果也可解释为厌恶因素的影响总体下降，甚至可解释为抵制天生反应或条件反应的能力受损。苯并二氮杂萘受体激动剂的抗挫折效果可以从以下情况提示，在奖励减少或没有奖励的情况下，偶然反应的奖励保持了反应的增加。通过在动物中长期植入的电极中脑的水管周灰质区施加电刺激是难受的，会引起许多情绪反应；苯并二氮杂萘受体激动剂提高了对难受阈值。急性焦虑状态的特征在于行为和心理症状(心血管、内分泌)可被已知对人生焦虑的化学品诱发，例如致惊厥药(如戊四唑)，以亚惊厥剂量服用的苯并二氮杂萘受体激动剂的反激动剂，甚至长期用高剂量镇静药治疗后突然断药。苯并二氮杂萘受体激动剂减少了离开妈妈后的鼠崽因超声困扰而叫喊声。

筛选抗抑郁药活性

抑郁动物模型也是本领域的普通技术人员所熟知的。例如，本发明化合物治疗抑郁的效果可在长期中等应激导致快感缺乏的大鼠模型中测试。此模型基于以下观察：长期中等应激导致对奖励，如食用蔗糖的敏感度逐渐下降，其下降被用抗抑郁药的慢性治疗剂量依赖地逆转。此方法在以前已有描述，关于试验的更多信息见 Willner, Paul, *Psychopharmacology*, 1997, 134, 319-329。

抗抑郁药活性的另一项试验是强迫游泳试验(Nature, 266, 730-732, 1997)。在此试验中，优选通过腹膜内途径或口服途径在试验前30或60分钟给动物施用药剂。将动物放在装满水的晶化盘中，记录它们保持不活动的时间。不活动的时间与用蒸馏水处理的对照组比较。25mg/kg 丙咪嗪可用作正对照。抗抑郁化合物减少了这样浸泡的小鼠不活动的时间。

抗抑郁药活性的另一项试验是对小鼠进行的尾悬吊试验

(Psychopharmacology, 85, 367-370, 1985)。在此试验中, 优选通过腹膜内途径或口服途径在试验前 30 或 60 分钟给动物施用所研究的化合物。然后将动物的尾巴悬吊起来, 用计算机系统自动记录它们不活动的时间。不活动的时间与用蒸馏水处理的对照组比较。25mg/kg 丙咪嗪可用作正对照。抗抑郁化合物减少了老鼠不活动的时间。

筛选抗抑郁药的另一项试验是 DRL-72 试验。此试验根据 Andrews 等“丙咪嗪和默达杂平对大鼠中操作性表演的影响”(“Effects of imipramine and mirtazapine on operant performance in rats”)-Drug Development Research 32, 58-66(1994)]的方案进行, 表明有抗抑郁样活性。同样见美国专利 6403573。

用于筛选的其他动物模型是本领域的普通技术人员所熟知的。例如, 可参见美国专利 5952315。

筛选抗惊厥药和抗癫痫药活性的方法

本领域的普通技术人员可用动物模型研究试验化合物的抗惊厥活性。例如, 可参见美国专利 6309406 和美国专利 6326156, 它们公开了进行这种试验的方法。此外, 所述化合物可在患有癫痫或其他痉挛疾病的人身上施用, 并且可临床评估它对痉挛发作的频率或严重程度的影响。

筛选促进睡眠或催眠性质的方法

已报道对 FAAH 的抑制会诱导试验动物的睡眠(美国专利 6096784)。对诱导睡眠的化合物的研究方法是本领域的普通技术人员所熟知的。特别是, 测试试验 FAAH 抑制化合物诱导睡眠或治疗失眠的方法同样公开于美国专利 6096784 和美国专利 6271015。最显然, 可给试验动物(例如大鼠或小鼠)或人施用这些化合物, 并监控随后的时间(开始、持续时间)睡眠花费的时间(例如眼睛闭上、运动静止)。还可参见 WO 98/24396。

筛选引起僵住或影响运动活性的化合物的方法

筛选可引起僵住的 FAAH 抑制剂的方法同样是本领域的普通技术人员所熟知的。见 Quistand 等《毒物学与应用药理学》(Toxicology and Applied Pharmacology)173: 48-55(2001)。见 Cravatt 等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 9371-9376(2001)。

筛选具有抗感受伤害活性的化合物的方法

筛选具有抗感受伤害效果的 FAAH 抑制剂的方法是本领域的普通技术人员所熟知的。例如，可给老鼠热板试验和小鼠福尔马林试验中的受试动物施用试验化合物，测定它们对热或化学组织损害的感受伤害反应。还可参见美国专利 6326156，它介绍了筛选抗感受伤害活性的方法。参见 Cravatt 等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 9371-9376(2001)。

评定 FAAH 抑制剂对食欲的影响的方法

可给动物施用本发明化合物，以确定它们是否影响摄食和体重、身体脂肪、食欲、寻找食物的行为或者调节脂肪酸的氧化。进行这些试验的方法是本领域的普通技术人员所熟知的。例如，见授权予相同受让人的美国专利申请 60/336298，纳入本文作为参考。

例如，动物可以是肥胖或正常的豚鼠、大鼠、小鼠或兔子。合适的大鼠包括 Zucker 大鼠。合适的小鼠包括正常的小鼠、ALS/LtJ、C3.SW-H-^{2b}/SnJ、(NON/LtJ x NZO/H1J)F1、NZO/H1J、ALR/LtJ、NON/LtJ、KK.Cg-AALR/LtJ、NON/LtJ、KK.Cg-A^y/J、B6.HRS(BKS)-Cpe^{fat}/+、B6.129P2-Gcktm/E^{fr}、B6.V-Lep^{ob}、BKS.Cg-m+/+Leprdb 和具有饮食引起肥胖的 C57BL/6J。

适量备选化合物可用本领域已知的任何方法施用，例如口服或直肠给药，胃肠外给药，例如腹膜内、静脉内、皮下、鼻内或肌肉内。优选通过腹膜内或口腔施用。备选化合物的合适有效量可根据经验确定，如本领域已知的那样。

评定饮食行为的其他方法是本领域的普通技术人员所熟知的。例如，Maruani 等(美国专利 6344474)介绍了两种测定方法。对饮食行为的影响进行评定的一种方法是给大鼠施用 FAAH 抑制剂，评定其对摄食蔗糖溶液的影响。此方法见述于 W.C. Lynch 等, Physiol. Behav., 1993, 54, 877-880。将重 190-210g 的雄性 Sprague-Dawley 大鼠置于正常光照周期下(上午至下午 7 点)，随意喂食水和食物。连续 6 天，在上午 11 点和下午 3 点之间，撤走食物和水瓶，给大鼠喂食 5%蔗糖溶液。排除饮用不足 3g 蔗糖溶液的大鼠。在第 7 天按照如下程序进行试验：9am：撤走食物，10am：给受试动物施用抑制剂或载体；11am = T0：放入装有称过重量的蔗糖溶液的瓶子，T0+1 小时，T0+2 小时，T0+3 小时，T0+4 小时：称量瓶子的重量，测定蔗糖的消耗量。接着比较实验组和对照组对

蔗糖溶液的摄入情况。

在另一个实验中，评定了 FAAH 抑制剂对小鼠消耗酒精溶液的效果。例如，在雄性 C57BL6 小鼠隔离的第一天就将它们放在周期颠倒(夜晚从 10am 到 10pm)的笼子中，并放入 2 瓶水。1 周后，将 1 瓶水换成 1 瓶 10% 酒精溶液，持续试验 6 小时。每天在放入酒精瓶之前 30 分钟，给小鼠施用 FAAH 抑制剂。6 小时后测定酒精和水的消耗量。试验重复 4 天。

比较实验和对照或载体的结果。

筛选抗精神病或抗精神分裂症或多巴胺调节活性的方法

虽然不想受限于理论，但认为过量的多巴胺传递入 CNS 可引起精神分裂症和其他心理障碍。大约三分之一的精神分裂症受试者出现多巴胺递质和/或受体明显增加。其他没有明显表现出这种异常现象的受试者仍显示多巴胺受体发生药理阻断的症状改善。这些多巴胺受体拮抗剂最终由于去极化阻断和多巴胺受体拮抗作用而导致多巴胺浓度的整体下降。因此，神经回路的功能失调似乎与精神分裂的症状有关，因为多巴胺对许多神经回路有直接和/或间接活化作用。如上所述，在大脑皮下层区域阻断多巴胺受体显著地减少精神分裂症状。在这些区域综合减少多巴胺的产生提供了对患这种疾病的患者类似的缓解。已经发现大麻素可以调节 CNS 中的多巴胺活性。

筛选对 CNS 中多巴胺能传送和系统有影响的化合物的方法是本领域的普通技术人员所熟知的。对用于上述任何神经性疾病的备选试剂进行临床试验的方法也是本领域的普通技术人员所熟知的。

青光眼

在治疗青光眼时测定眼的眼内压力的方法在医疗领域中是常规的，用人或动物对象可方便、安全地进行。FAAH 抑制剂对受试者眼睛压力的影响很容易确定，具体是在眼内直接施用化合物，然后在接下来的数小时或 1 天内监控眼睛压力。可用另一只眼睛作对照。或者，FAAH 抑制剂可全身施用，用另一个经载体处理的受试者作为对照。

使用方法、药物组合物及其施用

使用方法

焦虑及与焦虑相关的疾病

在一些实施方式中，FAAH 抑制剂化合物，包括化学式 I 和 II 所示化合物以及它们的药物组合物和施用方法可用于治疗焦虑和焦虑症。例如，所述化合物和组合物可用于治疗焦虑、临床焦虑、恐慌症、广场恐怖症、广泛性焦虑症、特定恐怖症、社交恐怖症、强迫症、急性应激障碍和创伤后应激障碍；带有焦虑特征的适应障碍、由普通医疗条件引起的焦虑症、物质诱发的焦虑症没有另有说明的其他类型的焦虑症。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。所述化合物可用于其他健康个体，他们并不需要任何药物介入，例如治疗失眠或疼痛缓解等。

在一些实施方式中，也可施用本发明的化合物、方法和组合物治疗哺乳动物的焦虑，包括猫、狗和人。在一些实施方式中，所述化合物可用于其他健康个体，他们不需要药物介入焦虑或焦虑症以外的其他疾病。在一些实施方式中，受试者不另外需要 FAAH 抑制剂。

本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻焦虑或焦虑症的严重程度或频率。

具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

抑郁和抑郁症

在一些实施方式中，化学式 I 和 II 所示 FAAH 抑制化合物、它们的药物组合物和施用方法可用于治疗抑郁和抑郁症。例如，所述化合物和组合物可用于治疗重症抑郁障碍(单相抑郁)、心境恶劣障碍(慢性、中等抑郁)和双相型障碍(躁狂抑郁)。抑郁可以是临床或亚临床抑郁。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。所述化合物可用于其他健康个体，他们不另外需要任何药物介入，例如失眠或疼痛缓解等疾病。

在一些实施方式中，也可施用本发明的化合物、方法和组合物治疗哺乳动物的焦虑，包括猫、狗和人。在一些实施方式中，所述化合物可用于其他健康个体，他们不需要用药物介入抑郁或抑郁症以外的其他疾病。在一些实施方式中，受试者不另外需要 FAAH 抑制剂。

本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻抑郁或抑郁症的严重程度或频率。

具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

癫痫发作

在一些实施方式中，FAAH 抑制剂化合物、它们的药物组合物和施用方法可用于治疗癫痫症和痉挛症或癫痫发作。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。所述化合物可用于其他健康个体，他们并不需要任何药物介入，例疗失眠或疼痛缓解等疾病。

在一些实施方式中，也可施用本发明的化合物、方法和组合物治疗哺乳动物的焦虑，包括猫、狗和人。在一些实施方式中，所述化合物可用于其他健康个体，他们不需要用药物介入癫痫发作以外的其他疾病。在一些实施方式中，受试者不另外需要 FAAH 抑制剂。

本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻痉挛症或癫痫发作的严重程度或频率。

具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

用 FAAH 抑制剂控制食欲和治疗食欲障碍

在一些实施方式中，本发明提供了药物组合物和用 FAAH 抑制化合物减少食欲、减少身体脂肪和治疗或预防哺乳动物肥胖或超重，预防或治疗与这些健康状况相关的疾病的方法。本发明一方面提供了减少食欲、身体脂肪或体重，或者治疗或预防哺乳动物肥胖或超重，或减少食物摄入，或治疗食欲障碍的方法，具体是给哺乳动物施用 FAAH 抑制剂，包括化学式 I 和化学式 II 所示抑制剂。在另一种实施方式中，所述抑制剂在组合疗法中与油酰乙醇酰胺(OEA)或另一种脂肪酸烷醇酰胺化合物，或者油酰乙醇酰胺(OEA)或脂肪酸烷醇酰胺化合物的同系物或类似物一起施用，它可减少食欲或食物消耗，在 FAAH 作用下发生水解。

在一些实施方式中，可通过给受试者施用足量 FAAH 抑制剂来减少身体脂肪、体重，或防止身体脂肪或体重增加，或减少食欲。本发明另一方面提供了包含作为第一化合物的 FAAH 抑制剂和作为第二化合物的油酰乙醇酰胺或脂肪酸烷醇酰胺化合物的药物组合物，可用来减少食欲或具有减少食欲的效果。在其他方面，本发明涉及这些药物组合物和用来减少或控制食欲，或治疗食欲障碍的方法。

在一些方面，本发明提供了治疗食欲障碍的方法，包括施用作为第一化合

物的 FAAH 抑制剂和作为第二化合物的脂肪酸烷醇酰胺化合物、同系物或 OEA 类似物，它不是大麻素 CB1 受体的显著拮抗剂，其用量不会使它明显活化或抑制 CB1 受体。本发明另一方面提供了包含作为第一化合物的 FAAH 抑制剂和作为第二化合物的油酰乙醇酰胺(OEA)或脂肪酸烷醇酰胺化合物，或油酰乙醇酰胺或脂肪酸烷醇酰胺化合物的同系物或类似物，它不是大麻素 CB1 受体的显著拮抗剂，它减少食欲或具有减少食欲的效果，第二化合物结合到 CB1 大麻素受体基本上不调节食欲。在其他方面，本发明涉及这些药物组合物和用它们减少或控制食欲，或治疗食欲障碍的方法。

具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

精神分裂症和与多巴胺相关的疾病

在一些实施方式中，化学式 I 或 II 所示 FAAH 抑制剂化合物、它们的药物组合物和施用方法可用于治疗精神分裂症和与多巴胺相关的疾病。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。所述化合物可用于其他健康个体，他们并不需要任何药物介入，例如失眠或痛觉过敏等疾病。在一些实施方式中，所述化合物可用于其他健康个体，他们不需要用药物介入癫痫发作以外的其他疾病。在一些实施方式中，受试者不另外需要 FAAH 抑制剂。

本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻精神分裂症和与多巴胺相关的疾病的严重程度或频率。它们可用来减少妄想狂样思想作用和平淡性情感。

具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

用来诱导睡眠

在一些实施方式中，化学式 I 或 II 所示化合物可用来诱导或促进哺乳动物受试者的睡眠。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻失眠的严重程度或频率。

本发明另一方面涉及通过 FAAH 抑制油酰胺水解的方法。该方法利用了 FAAH 与抑制剂接触或组合的作用。抑制剂具有化学式 I 或化学式 II 所述结构。

本发明另一方面涉及在油酰胺敏感的动物内诱导睡眠的方法。更具体地，本发明这一方面涉及给对油酰胺敏感的动物施用有效剂量的油酰胺水解酶的激动剂。具有这些用途的优选抑制剂是 UCM532 和 UCM597。

疼痛控制

在一些实施方式中，化学式 I 或 II 所示化合物可用来缓解受试者的疼痛。所述治疗可以是预防性的或治疗性的。所述治疗可施用于人。本发明的化合物和组合物可单独施用，以减轻疼痛的严重程度或频率。所述治疗方法可用于与另一种疼痛缓解剂或消炎剂组合治疗。

青光眼

在一些实施方式中，可施用 FAAH 抑制剂治疗或预防青光眼或减少眼内压力。在一些实施方式中，化合物可在全身施用。在其他实施方式中，FAAH 抑制剂可直接涂在眼睛表面(例如通过滴眼液)，

药物组合物

本发明另一方面提供了药物组合物，它包含本发明化合物和药学上可接受载体。

本发明的药用组合物包含作为活性成分的本发明化合物或其药学上可接受盐，还可包含药学上可接受载体和任选其他治疗成分。在一些实施方式中，所述组合物包含化学式 I 或化学式 II 所示化合物。

所述组合物包括适合口服或直肠、局部、胃肠外(包括皮下、肌肉内和静脉内)、眼睛(眼药)、肺部(鼻或口腔吸入)或鼻给药的组合物，虽然在任何给定情况下，多数合适的途径部分取决于待治疗疾病的性质和严重性，并取决于活性成分的性质。给药的一种示范性途径是口服途径。所述组合物可方便地以单元剂量形式提供，可用制药领域熟知的任何方法制备。

在实际应用中，本发明化合物可作为活性成分，通过传统药物混和技术与药物载体直接混合。载体可具有各种各样的形式，取决于施用所需的制剂形式，例如口服或胃肠外施用(包括静脉)。在制备口服剂型的组合物时，可以采用任何常规药用介质，如水、二醇、油、醇、芳香剂、防腐剂、着色剂等，以制备口服液体制剂，如悬浮液、酞剂和溶液；或者载体，如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘结剂、崩解剂等，以如口服固体制剂，如粉末、软硬胶囊和片剂，固体口服制剂优于液体制剂。

由于容易施用，片剂和胶囊剂代表了最有利的口服剂单位形式，这时显然要用固体药用载体。如果需要，片剂可用标准水性或非水性技术上包衣。这种组合物和制剂可包含至少 0.1% 的活性化合物。这些组合物中的活性化合物的百

分数当然可以变化，在单位重量中可方便地配到约 2-60wt%。这种治疗有用组合物中的活性化合物的量要能够获得具有治疗效果的剂量。活性化合物也可鼻内施用，例如液滴或喷雾。

片剂、丸剂、胶囊剂等也可包含粘结剂，如黄耆胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂，如磷酸氢二钙；崩解剂，如玉米淀粉、土豆淀粉、褐藻酸；润滑剂，如硬脂酸镁；甜味剂，如蔗糖、乳糖或糖精。当剂量单位是胶囊时，除上述类型的材料外，它可包含液态载体，如脂肪油。

其他各种材料可以包衣形式存在，或者改进剂量单位的物理形式。例如，片剂可以虫漆、糖包衣或两者。除活性成分外，糖浆或酞剂可包含蔗糖作甜味剂、对甲基苯甲酸甲酯或对甲基苯甲酸丙酯作防腐剂、染料和芳香剂如樱桃或橘子。为防止在穿过胃肠道的上部时分解，组合物可以是肠溶剂剂。

对于制剂和各种施用途径，用药的方法和制剂介绍于《雷明登药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), 17版(Gennaro 等编, Mack Publishing Co., 1985)。《雷明登药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), Gennaro AR 编, 20 版, 2000: Williams & Wilkins PA, USA。

施用

本发明化合物也可在胃肠外施用。这些活性化合物的溶液或悬浮液可在水中与表面活性剂如羟丙基纤维素适当混和。分散液也可在甘油、液态聚乙二醇及其在油中的混合物中制备。在通常的储存和使用条件下，这些制剂包含防腐剂，以防止微生物发生。

适合注射用的药物形式包括无菌水溶液或分散液和无菌粉末，用于临时制备无菌注射溶液或分散液。在所用情况下，药物形式必须是无菌的，必须具有动到易注射性的程度。它在生产和存储条件下必须稳定，必须防止细菌和真菌等微生物的污染。载体可以是溶剂或分散介质，例如包含水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液态聚乙二醇)、它们合适的混合物以及植物油。

本发明化合物可在宽的剂量范围内有效。例如，治疗成人时，可需要的剂量约为 10-100mg, 约为 100-500mg 或约 1-100mg。每天可以使用约 0.05-100mg, 更优选为约 0.1-100mg。最优选剂量是每天约 0.1-70mg。为受试者选择方案时，常常需要开始用约 2-70mg/天的剂量，当状况得到控制时，剂量可降低至约 0.1-10mg/天。例如，在治疗成人时，可以使用的剂量是约 0.05-100mg/天，优

选为约 0.1-100mg/天。确切剂量取决于施用方式、所需治疗、药剂形式、治疗对象和治疗对象的体重，以及负责主治医师或兽医的偏好和经验。

一般地，本发明化合物可以单位剂量形式给药，每单位剂量优选包含约 0.1-100mg 活性成分和适量药学上可接受载体。通常，适合口腔、鼻、肺或经皮给药的剂量形式包含约 0.001-100mg，优选为约 0.01-50mg 化合物与药学上可接受载体或稀释剂混和。为利于储存和使用，这些制剂优选包含防腐剂，以防止微生物生长。

适量备选化合物的施用可通过本领域熟知的任何方式进行，例如口服或直肠，胃肠外，腹膜内、静脉内、皮下、鼻内或肌肉内给药。在一些实施方式中，宜采用经皮给药。备选化合物合适的量或剂量可根据经验确定，如本领域所已知的。合适量或疗效量是指一定时间足以导致体脂肪减少或体重减少的量。备选化合物施用的频次可根据导致体脂肪减少或体重减少的需要而定，例如每 1 小时、6 小时、8 小时、12 小时、18 小时、1 天或 1 周施用。

适合口服施用的制剂可包含：(a)液体溶液，如悬浮在稀释剂，如水、盐水或 PEG400 中的有效量的包装核酸；(b)胶囊、袋剂或片剂，各含预定量的液体、固体、颗粒或凝胶的活性成分；(c)合适液体中的悬浮剂；(d)合适的乳液。片剂形式可包括乳糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、磷酸钙、玉米淀粉、马铃薯淀粉、微晶纤维素、明胶、胶状二氧化硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸和其他赋形剂、着色剂、填充剂、粘结剂、稀释剂、缓冲剂、湿润剂、防腐剂、芳香剂、染料、崩解剂和药学上可配伍的载体中的一种或多种。糖锭形式可包含香料中的活性成分如蔗糖，以及锭剂可包含惰性基底中的活性成分，如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯树胶乳液、凝胶等，除活性成分外，还可包含本领域已知的载体。

注射溶液和悬浮液可由前述无菌粉末、颗粒和片剂制备。适合胃肠外施用，如关节内(在关节中)、静脉内、肌肉内、皮内、腹膜内和皮下施用的制剂包含水性和非水性等渗无菌注射液以及水性和非水性无菌悬浮液，其中注射液包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂以及使制剂与受体的血液等渗的溶质，悬浮液包含悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。

对于经皮给药，其方法见述于《雷明登药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences,) Gennaro AR 编，20 版，2000: Williams & Wilkins PA, USA。真皮或皮肤贴剂是对本发明化合物进行经皮给药的优选方式。贴剂优选提供吸收增强剂，如 DMSO，以提高对化合物的吸收。其他经皮给药方法见述

于美国专利 5962012 和 6261595。各纳入本文作为参考。

优选的贴剂包括可控制药物传递到皮肤速度的贴剂。贴剂可提供各种给药体系，分别包括储存体系或整体体系。例如，储存式设计可有四层：直接接触皮肤的粘合层、控制药物分子扩散的控制膜、药物分子的储存度和防水背衬。这种设计适合在指定时间内均匀输送药物，传递速度小于不同类型的皮肤的饱和限度。

例如，整体设计通常只有三层：粘合层、包含化合物的聚合物基质和防水背衬。这种设计使药物以饱和量与皮肤接触。因此，药物的传递受皮肤控制。当贴剂中的药量下降到低于饱和水平时，传递速度下降。

本发明的化合物可与本发明的其他化合物，或与也可用来治疗、预防或抑制神经性疾病或心理疾病的其他药物联合使用。在一种实施方式中，第二种药物不是 FAAH 抑制剂，它作为脂肪酸酰胺抑制剂指向同一疾病。所述其他药物可以常用的途径和量施用，且可与本发明化合物同时或顺序施用。当本发明的化合物与一种或多种其他药物同时施用时，优选采用包含所述其他药物和所述化合物的单位剂量形式的药物组合物。当与一种或多种其他活性成分联合施用时，本发明的化合物和其他活性成分的剂量可以低于它们各自单独施用时的剂量。因此，本发明的药物组合物除包含上述化合物外，还包含一种或多种其他活性成分。例如，化学式 I 或化学式 II 所示 FAAH 抑制剂可与不是 FAAH 抑制剂的抗焦虑药一起配制。例如，化学式 I 或化学式 II 所示 FAAH 抑制剂可与抗抑郁药一起配制。

在本发明通过口服、舌下、皮下、肌肉内、静脉内、经皮、局部或直肠给药的药物组合物中，活性成分本身或与另一种活性成分一起，以与传统药用载体混和的单位形式施用给动物和人。合适的施用单位形式包括口服形式，如片剂、明胶胶囊、粉末、颗粒和溶液或悬浮液，还包括舌下和含服形式，气溶胶、植入物、皮下、肌肉内、静脉内、鼻内或眼内给药的形式，以及直肠给药形式。

在其他实施方式中，本发明的药物组合物，活性成分通常以剂量单位配制。剂量单位包含 0.5-100mg，宜为 1-500mg，优选为 2-200mg FAAH 抑制剂/剂量单位/天施用。

当用于治疗青光眼时，优选直接施用于眼睛。眼用载体制剂见述于《雷明登药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), Gennaro AR 编, 20 版, 2000: Williams & Wilkins PA, USA。

以下实施例是提供说明目的，不对本发明的范围构成限制。本领域技术人员能想到的示范性实施方式和/或方法的任何变化均在本发明的范围之内。

实施例

实施例 1 受试者

我们采用雄、雌 Wistar 大鼠(200-350g)和雄瑞士小鼠(20g)。所有程序均满足美国国家卫生研究院和意大利卫生部关于实验室动物的饲养和使用的规则(D.L. 116/92)。我们制备了取自 18 天龄的 Wistar 大鼠胚胎的皮层神经元的原代培养液，并按所述方法进行保养(Stella, N.等, *Eur. J. Pharmacol.*, 425, 189-196(2001)); 我们从美国典型培养物保藏所 (Manassas, VA)购买了人星形细胞瘤细胞。

实施例 2 化学品

花生四烯酰乙醇酰胺和相关脂质在实验室合成(Giuffrida, A.等, *Anal. Biochem.*, 280, 87-93(2000))。SR141716A(利莫那班)由 RBI(Natick, MA)提供，作为美国国家卫生研究院化学合成规划的一部分；AM404 购自 Tocris (Avonmouth, UK)，其他药物购自 Sigma (St. Louis, MO)。制备抑制剂所需的所有化学品均购自 Aldrich。

实施例 3 抑制剂的合成

正丁基氨基甲酸 4-苯氧基苯基酯(UCM532)(4)和 4-氟苯基氨基甲酸 4-苯氧基苯基酯(8)是在回流甲苯中，以催化剂量的三乙胺分别处理 4-苯氧基苯酚、异氰酸正丁酯和异氰酸 4-氟苯基酯得到的。类似地，通过异氰酸环己酯分别与 3-苯基苯酚、5-苯基-1-戊醇和 3'-羟基联苯基-3-羧酸酰胺反应合成了环己基氨基甲酸 3-联苯基酯(5)、环己基氨基甲酸 5-苯基戊酯(7)和环己基氨基甲酸 3'-氨基甲酰-3-联苯酯(UCM597)(6)。后一种反应物制备如下：由 3-溴苯氰与高硼酸钠反应得到的 3-溴苯甲酸酰胺与甲氧基苯基硼酸偶合，得到 3'-甲氧基联苯基-3-羧酸酰胺，然后用 BBr_3 水解，产生所需的 3'-羟基联苯基-3-羧酸酰胺。

3-溴苯甲酸酰胺：向 3-溴苯氰(0.91g, 5mmol)在二噁烷(19ml)的溶液中加入 $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.12g, 13.78mmol)和 H_2O (19ml)。在 80°C 搅拌混合物 16 小时，冷却，加入 H_2O ，用 CH_2Cl_2 萃取。混合的有机层用 Na_2SO_4 干燥并蒸发。用柱

色谱(己烷/EtOAc 2:8)纯化残余物, 重结晶得到所需产物, 为无色片剂。产率 80 % (EtOH)。Mp: 156-7 °C (lit. 156 °C)(Pearson, D.E. 等, J. Org. Chem., 28:3147-3149, (1963))。MS(EI): m/z 199(M⁺); 183(100%)。

3'-甲氧基联苯基-3-羧酸酰胺: 向 3-溴苯甲酸酰胺(0.76g; 3.8mmol)和甲苯(25ml)的混合物中, 在搅拌下加入 Pd(PPh₃)₄(0.180g; 0.16mmol)、Na₂CO₃(2.543g, 24mmol)在 H₂O(10ml)中的溶液和 3-甲氧基苯基硼酸(1.132g; 7.45mmol)在 EtOH(10ml)中溶液。在剧烈搅拌下回流混合物 1 小时, 冷却, 用 AcOEt 萃取水相。混合的有机层用 Na₂SO₄ 干燥并浓缩。用柱色谱(己烷/EtOAc 1:1 然后 4:6)纯化残余物, 重结晶得到所需产物(0.64g), 为白色固体。产率: 74%。Mp:138-40 °C (EtOH)。MS(EI): m/z 227(M⁺, 100%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 3.88(s, 3H); 5.71(br s, 1H); 6.11(br s, 1H); 6.94(m, 1H); 7.18(m, 2H); 7.39(t, 1H); 7.53(t, 1H); 7.77(m, 2H); 8.05(t, 1H) ppm。IR(Nujol): 3327, 3148, 1676, 1640, 1613, 1584cm⁻¹。

3'-羟基联苯基-3-羧酸酰胺: 在 N₂ 气氛下搅拌 3'-甲氧基联苯基-3-羧酸酰胺(0.57g; 2.5mmol)在干燥 CH₂Cl₂(28ml)中的溶液, 冷却至 0°C, 然后加入 BBr₃ 在 CH₂Cl₂(6.4ml)中的 1M 溶液。室温下搅拌混合物 1 小时, 用 2N Na₂CO₃ 淬灭, 用 AcOEt 萃取。混合的有机层用盐水洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥并浓缩。用柱色谱(己烷/EtOAc 2:8)纯化残余物得到所需产物, 为无定形固体。产率 91%。Mp: 148-51 °C (用 i-Pr₂O 消化后)。MS(EI): m/z 213(M⁺, 100%)。¹H NMR (CDCl₃/d₆-DMSO): δ6.06(br s, 1H); 6.59(m, 1H); 6.85(m, 2H); 7.01(t, 1H); 7.23(t, 1H); 7.35(br s, 1H); 7.45(m, 1H); 7.60(m, 1H); 7.88(s, 1H); 8.80(s, 1H); 8.80(s, 1H) ppm。IR(Nujol): 3314, 3141, 1669, 1630, 1607, 1577cm⁻¹。

环己基氨基甲酸 3'-氨基甲酰联苯-3-基酯。向 3'-羟基联苯基-3-羧酸酰胺(0.43g, 2mmol)在甲苯(12ml)的溶液中, 在搅拌下加入 Et₃N (0.012g, 0.016ml, 0.12mmol)和异氰酸环己酯(0.28g, 0.28ml, 2.2mmol)。回流 20 小时后, 冷却混合物并浓缩。用柱色谱(环己烷/EtOAc 4:6)纯化残余物, 重结晶得到 5a, 为白色固体。也回收了未反应的 4a 量(0.07g, 17%)。产率: 33%。Mp:178°C (EtOH)(密封毛细管)。MS(EI): m/z 213(100%)。¹H NMR (CDCl₃): δ1.17-1.43(m, 6H); 1.76(m, 2H); 2.04(m, 2H); 3.57(m, 1H); 4.97(br d, 1H); 5.63(br s, 1H); 6.14(br s, 1H);

7.16(m, 1H); 7.39-7.56(m, 4H); 7.77(m, 2H); 8.03(s, 1H)ppm。IR(CHCl₃): 3301, 3142, 1693, 1666, 1627, 1604, 1573cm⁻¹。对 C₂₀H₂₂N₂O₃(338.41)进行分析计算: C, 70.99; H, 8.28; N, 8.28。发现: C, 70.83; H, 6.65; N, 8.17。

实施例 4 分子建模

用 Sybyl 6.8 软件(Tripes), 利用 MMFF94s 力场进行分子建模计算, 包括构象分析、能量最小化和化合物的叠加。

实施例 5 生化分析

我们从鼠脑匀浆制备了细胞片段, 分别用花生四烯酰乙醇酰胺[乙醇胺-³H](American Radiolabeled Chemicals, ARC(St. Louis MO), 60Ci/mmol)和 2-单-油酰-甘油-[甘油-1,2,3-³H](ARC, St. Louis MO, 20Ci/mmol)作为底物, 分析了膜的 FAAH 活性和胞液 MGL 活性(Dinh, T. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.(2001))。我们对人星形细胞瘤细胞进行了 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺输送测定(Piomelli, D. 等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 96, 5801-5807(1999)); 用 [³H]WIN-55212-2(NEN-Dupont, Boston, MA, 40-60Ci/mmol)作为配体, 分别分析了大鼠小脑膜中 CB1 和 CB2 的结合测定和 CB2-过度表达的中国仓鼠卵巢细胞(Receptor Biology-Parkin Elmer, Wellesley, MA)(Devane, W.A.等, Science, 258, 1946-1949(1992)); 用纯化酶(电鳗乙酰胆碱酯酶型 V-S 和马血清胆碱酯酶; 均购自 Sigma, St. Louis, MO)和商业工具箱(Sigma, St. Louis, MO), 按照厂商说明书进行了胆碱酯酶的测定。为测定大鼠皮层神经元中花生四烯酰乙醇酰胺的输送和水解, 我们在 37°C 下以适当浓度的 FAAH 抑制剂预先培养细胞 10 分钟, 然后与 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺接触 4 分钟。在一些实验中, 我们用含有 0.1% 牛血清蛋白的冷 Tris-Krebs 缓冲液(V 型, 无脂肪酸, Sigma, St. Louis, MO)使反应停止, 通过胰蛋白酶-EDTA 处理取出细胞, 用氯仿/甲醇(1/1, vol/vol)萃取细胞脂质。我们测定了萃取物的有机相中未代谢的 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺和水相中代谢的 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺(形式为 [³H]乙醇胺)。在其他实验中, 让神经元与 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺接触 4 分钟后, 我们更换了培养基冲洗细胞, 并如上所述测定了释放到培养基中的 [³H]花生四烯酰乙醇酰胺。

实施例 6 高效液相色谱/质谱(HPLC/MS)

我们用甲醇-氯仿混合物从组织中萃取脂质，用硅胶柱色谱对它们进行分级分离(Giuffrida, A.等, *Anal. Biochem.*, 280, 87-93(2000))。花生四烯酰乙醇酰胺和其他脂肪酸衍生物用 HPLC/MS 通过同位素稀释法定量(Giuffrida, A.等, *Anal. Biochem.*, 280, 87-93(2000))。

实施例 7 体温和僵住

我们将所有化合物溶解在盐水/Tween 80/聚乙二醇(90/5/5)中，在试验之前通过 i.p.注射立即施用。我们用与数字温度计(BAT-12 型, Physitemp Instruments INC, Clifton, NJ)相连的直肠探针(T 型, 铜-康铜热电偶-Physitemp Instruments INC, Clifton, NJ)测定了体温；用 Tseng 和 Craft 所描述的程序检测僵住(Tseng, A.H.等, *Eur. J. Pharmacol.*, 430, 41-47(2001))。

实施例 8 食物摄入

我们将 UCM597 溶解在 DMSO/盐水(7/3)中，试验前 45 分钟用 i.p.注射法施用。我们用自动系统(Scipro Inc., New York)记录自由喂饲大鼠的食物摄入。在试验之前，使老鼠适应试验笼 3 天。每个试验在黑暗降临时开始，持续 24 小时。

实施例 9 抗伤害感受

我们将 FAAH 抑制剂溶解在聚乙二醇/水(1/1)中，将利莫那班溶解在盐水中。在老鼠中进行福尔马林和热板测定，如前文所述(Beltramo, M.等, *FEBS Lett.*, 403, 263-267(1997))。

实施例 10 焦虑和运动活性

我们将 FAAH 和利莫那班溶解在二甲基亚砷(DMSO)/盐水(分别为 7/3 和 9/1)中。我们在试验之前 30 分钟，施用 FAAH 抑制剂 i.p.注射，在施用 UCM532 之前 30 分钟施用利莫那班。升高的零迷宫包含一个黑色的珀斯佩有机玻璃环形平台(直径为 105cm, 宽 10cm), 高出地面 65cm, 等分为 4 个扇形体(Bickerdike, M.J. 等, *Eur. J. Pharmacol.*, 271, 403-411(1994)); Shepherd, J.K. 等, *Psychopharmacology*, 116, 56-64(1994))。在平台内外边缘用黑墙(27cm 高)将两个相对扇形体封闭起来，另两个扇形体仅用低的边沿围起(1cm)。用均匀、暗淡

的红光(40-60 勒克斯)照射上述设备。我们将大鼠放在一个封闭扇形体中,录下它们的活动 5 分钟,两次录像之间彻底清扫迷宫。当大鼠的四个爪子在敞开扇形体内时,就认为它们处在敞开扇形体中。结果表示为在敞开扇形体/总时间中的百分比时间(敞开的的时间百分数)。结果用 Tukey 检验的单向 ANOVA 分析。我们记录了每只大鼠在 Opto-Varimex 笼(Columbus Instruments, Columbus, OH)中的运动活性,该笼子与计算机在线相连,放在隔音室里,用 20W 白炽灯照明。用 Auto-Track 软件(Columbus Instruments, Columbus, OH)分析步行活动中化费的时间量,如别的地方所述(Ali, M.M.等, Neurosci. Lett., 284,57-60(2000); Wedzony, K.等, Neuropsychopharmacology, 23, 547-559(2000))。持续时间对 10 天令成年大鼠是 20 分钟,对 10 天令鼠崽是 60 秒。我们用 Tukey 检验的整体单向 ANOVA 法分析了组别间个体比较的数据。我们记录了 10 天令鼠崽在隔音室中的超声发声情况,按照 Cuomo 等所述程序进行(Cuomo, V.等, Neuropharmacology, 26, 701-705(1987))。试验在 900-1400 小时之间进行,持续 15 秒。药物在收集到基线值后施用(15 秒),施药 30 分钟后再次对鼠崽进行试验。数据表达为基线的变化百分数,并用 Tukey 检验的整体单向 ANOVA 法分析组别间个体比较的数据。

实施例 11 前导物鉴定和优化

虽然具有不一般的催化机制(Patricelli, M.P.等, Biochemistry, 38, 9804-9812(1999)), FAAH 受到各种丝氨酸水解酶抑制剂的阻断,包括具有活化羰基的化合物(Boger, D.L.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97, 5044-5049(2000))。因此,我们研究了氨基甲酸酯,如抗胆碱酯酶试剂胺甲萘(表 1, 化合物 1)在大鼠脑膜内是否可抑制 FAAH 的活性。虽然 1 没有效果,但其位置异构体 2 对 FAAH 有弱抑制作用(半最大抑制浓度, $IC_{50} = 18.6 \pm 0.7 \mu M$; 平均值 \pm SEM, $n = 3$), 通过用环己基替代 N 甲基取代基, 则抑制效果会增强(3, $IC_{50} = 324 \pm 31 nM$)。芳基酯 4 上的苄氧基苯基可看作是 2 的萘基部分延伸的生物同位体, 它抑制 FAAH 的效价等于 3($IC_{50} = 396 \pm 63 nM$)。对 4 进行构象分析表明一系列构象异构体的差异主要在 O-CH₂ 键周围的扭转角不同, 在反式或歪扭构象中有取代基(数据未示)。由于后者的构象更接近萘衍生物 3 的形状, 我们假设它们可能引起 4 与 FAAH 活性部位的相互作用。对该假设的验证导致了联苯衍生物 5 的设计($IC_{50} = 63 \pm 9 nM$), 它通过对远端苯基的系统改进进一步优

化, 从而得到潜在的抑制剂 6($IC_{50}=4.6\pm 1.6\text{ nM}$)(表 1)。

动力学分析和透析实验表明, 化合物 4 和 6 可通过与酶发生不可逆相互作用而抑制 FAAH(数据未示), 可能由于氨基甲酸基团上活性丝氨酸残基的亲核攻击。这种机制将本化合物与 Boger 等(Boger, D.L.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97, 5044-5049(2000))所述 α -酮杂环衍生物区别开, 它们作为竞性的 FAAH 抑制剂。其他区别在于, α -酮杂环系列的效力强烈地依赖于柔性酰基链的疏水性, 而氨基甲酸系列的效力受到刚性芳族部分的形状的调节。因此, 当我们将 5 的联苯基换成代表 α -酮杂环系列中最有效的酰基链的 5-苯基戊基时, 抑制活性丧失(表 1, 化合物 7)。

化合物 4(UCM532)和 6(UCM597)通过原代培养中的完整皮层神经元阻断外源性 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺的 FAAH 催化的水解, 其 IC_{50} 值与在膜制剂中得到的平行(UCM532, $214\pm 79\text{ nM}$; UCM597, $0.50\pm 0.05\text{ nM}$; $n=8$)(Fig.1a)。相反, 在膜中不抑制 FAAH 的 UCM532 类似物的化合物 7(表 1)没有这种效果(图 1b)。此外, UCM532 和 UCM597 选择地削弱 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺的分解, 但不会减少其载体介导的吸收, 使未代谢 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺在神经元中聚集, 并最终从这里排出。因此, 用 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺培养 4 分钟后, 未代谢 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺的细胞内的含量, 在经抑制剂处理的神经元中明显高于在对照神经元中(Fig.1c)。如所预期的那样, 花生四烯酰乙醇酰胺转运阻断剂 N-(4-羟基苯基)花生四烯酸酰胺(AM404)具有相反的效应, 显著减少 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺的内化(Beltramo, M.等, FEBS Lett., 403, 263-267(1997))(图 1c)。当经 UCM597 处理的神经元与 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺接触 4 分钟, 然后在无 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺的溶液中培养 15 分钟, 聚集的 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺有 $42.6\pm 8.7\%$ 释放回到培养基中($n=3$)(图 1d)。此过程与时间成线性关系(图 1e)且不受 AM404 抑制(图 1d), 表明它是通过被动扩散出现的, 而不是逆向传输。在对照神经元中没有观察到这种依赖于时间的释放, 对照神经元的培养基只含有从预培养阶段带来的残余水平的 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺。总之, 这些研究鉴定了一类新型氨基甲酸抑制剂, 用于抑制 FAAH 的活性, 它们可能在完整脑神经元中阻断花生四烯酰乙醇酰胺的分解。

实施例 12 靶选择性

UCM532 和 UCM597 抑制 FAAH, 但不影响其他三种丝氨酸水解酶的活性:

电鳗乙酰基胆碱酯酶、马血浆丁酰基胆碱酯酶和大鼠脑单甘油酯酯酶(MGL)(表 2)。缺乏 MGL 抑制作用尤其值得一提, 因为此酶在 2-花生四烯酰甘油(2-AG)的生物失活中有作用(Dinh, T, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2002)), 后者是脑中存在的另一种内源性大麻素(Mechoulam, R.等, Biochem. Pharmacol., 50, 83-90(1995); Sugiura, T.等, Biochem. Biophys. Res. Commun., 215, 89-97(1995); Stella, N.等, Nature, 388, 773-778(1997))。此外, UCM532 和 UCM597 对花生四烯酰乙醇酰胺在人星形细胞瘤细胞中的运输或对高亲和性配体与 CB1 和 CB2 受体的结合没有影响(表 2)。另外, UCM532(10 μ M)不与下列物质发生明显相互作用: 一组 21 个受体、离子通道和神经递质转运蛋白, 它们包括腺苷 A₁、A_{2A} 和 A_{2B}; 肾上腺素 α_{1A} 、 α_{2A} 、 β_1 和 β_2 ; 多巴胺 D₁ 和 D₂; 谷氨酸 N-甲基-(D)-天冬氨酸; γ -氨基-丁酸(GABA)_A 激动剂位点; 组胺 H₁; 鸦片剂 μ ; 毒蕈碱 M₂; 脑尼古丁受体(数据未示)。对 FAAH 的这种高度选择性促使我们检测 UCM532 和 UCM597 在活动物中的效果。

实施例 13 活体内 FAAH 的抑制性作用

腹腔内(i. p.)注射 UCM532 或 UCM597(而不是无活性的类似物 7)对脑 FAAH 活性产生显著的、剂量依赖的抑制作用(图 2a)。在 6 个实验中, 半最大抑制达到 $0.60 \pm 0.09 \text{ mg kg}^{-1}$ UCM532 和 $0.150 \pm 0.007 \text{ mg kg}^{-1}$ UCM597。注射最大剂量的 UCM597(0.3 mg kg^{-1} , i. p.)后, FAAH 抑制作用快速开始(<15 分钟), 持续作用(>6 小时)(图 2b), 并伴随着花生四烯酰乙醇酰胺(图 2c)和其他脂肪酸乙醇酰胺在脑中的含量显著升高, 它们是 FAAH 的底物(注射 2 小时后在组织中以 pmol g^{-1} 存在; 油酰乙醇酰胺: 载体, 137.0 ± 14.3 ; UCM597 0.3 mg kg^{-1} , 725.3 ± 28.6 ; 棕榈酰乙醇酰胺: 载体, 259.1 ± 15.0 ; UCM597 1324 ± 395 ; $n=8-15$)。FAAH 活性和脂肪酸乙醇酰胺水平的平行变化也在各种外周围组织中测定(数据未示)。与在我们的体外实验中看到缺乏 MGL 抑制作用相一致(表 2), UCM597 没有改变 2-AG 在脑中的含量(图 2d)。

如前面在突变 FAAH^{-/-}小鼠中所观察到的(Cravatt, B.F.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 9371-9376(2001)), FAAH 抑制作用与对施用外源性花生四烯酰乙醇酰胺的敏感性增加相关。因此, UCM597(0.3 mg kg^{-1} , i. p.)强化并延长了花生四烯酰乙醇酰胺阈下剂量(5 mg kg^{-1} , i. p.)引起的体温下降, 而单独注射时, 则没有效果(图 2e)($F_{\text{治疗}}=38.36$, $df=1/143$, $P<0.0001$; $F_{\text{时间}}=3.79$, $df=12/143$,

$P < 0.0001$; $F_{\text{时间} \times \text{治疗}} = 2.64$, $df = 12/143$, $P < 0.005$; UCM597-花生四烯酰乙醇酰胺加 UCM597 的双向 ANOVA)。

实施例 14 FAAH 抑制剂的抗感受伤害效果

虽然 UCM532 和 UCM597 增加脑花生四烯酰乙醇酰胺的水平,但它们与外源性花生四烯酰乙醇酰胺所产生的药理反应谱并不明显相似。UCM532(10 mg kg^{-1} , i. p.)或 UCM597(0.3 mg kg^{-1} , i. p.)的系统剂量能最大地阻断 FAAH 的活性,不会产生僵位(僵硬的不活动性)、低温或饮食过度(摄食量增加),它们是 CB1 受体活化的三个典型征兆(Chaperon F.等, Crit. Rev. Neurobiol., 13, 243-281(1999))(数据未示)。然而,这些化合物在两个急性疼痛模型中产生中等抗感受伤害效果。在测定动物对有害热刺激的反应的小鼠热板试验中,UCM597 在 0.5 mg kg^{-1} 剂量下明显延长了反应潜伏期(图 3a),但在较低的剂量下不能(0.1 mg kg^{-1} , 数据未示)。此外,在测定动物对化学组织损害的防伤害反应的小鼠福尔马林试验中,UCM597(0.5 mg kg^{-1})削弱了早期疼痛行为,但后期变化小或没有变化(图 3b)。两种效应都能被 CB1 拮抗剂 SR1417161A(利莫那班)(0.2 mg kg^{-1} , 静脉内, i.v.)所取消(图 3a 和 b)。UCM532 也有模拟效应,尽管效果不大(数据未示)。我们的结果确证了在突变 $\text{FAAH}^{-/-}$ 鼠中得到的结果(Cravatt, B.F.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 9371-9376(2001)),表明急速中断 FAAH 活性导致中等程度的 CB1 介导的抗疼感受伤害,但没有低温或僵住。

实施例 15 FAAH 抑制剂的抗焦虑效果

为鉴别花生四烯酰乙醇酰胺可能被 FAAH 抑制作用所增强的其他内在作用,我们转而研究对情绪反应的调节,有三个理由。首先, CB1 受体在大脑区域以高水平表达,如扁桃体,和焦虑和恐布有牵连(Herkenham, M.等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 1932-1936(1990); Glass, M.等, Neuroscience, 77, 299-318(1997); Katona, I.等, J. Neurosci., 21, 9506-9518(2001))。其次,快速服用大麻素药物使啮齿动物产生显著的情绪反应(Chaperon F.等, Crit. Rev. Neurobiol., 13, 243-281(1999))和人(Hall, W.等, Lancet, 352, 1611-1616(1998); Robson, P. Br. J. Psychiatry, 178, 107-115(2001))。第三, CB1 拮抗剂利莫那班引起大鼠的焦虑样行为,表明存在受内源性大麻素介导的内在抗焦虑特性(Rodriguez de Fonseca, F.等, Science, 276, 2050-2054(1997); C. Arevalo, R.等,

Pharmacol. Biochem. Behav., 70, 123-131(2001))。

我们采用两种在药理上证明有效的动物焦虑模型，升高的零迷宫试验，和隔离-诱导的超声发声试验。零迷宫由一个升高的环形平台组成，该平台有两个敞开和两个闭合的扇形体，是基于动物探索其环境的本能与其对敞开空间的恐布之间的冲突，因为在敞开空间可受到猎杀者攻击(Bickerdike, M. J. 等, Eur. J. Pharmacol., 271, 403-411(1994); Shepherd, J. K. 等, Psychopharmacology, 116, 56-64(1994))。临床用抗焦虑药物，如苯并二氮杂䓬增加了在敞开区室花费的时间和进入敞开区室的次数。类似地，UCM532(5 和 10 mg kg⁻¹, i. p.)和 UCM597(0.05-0.1mg kg⁻¹, i. p.)在与抑制体内 FAAH 活性相对应的剂量下引起抗焦虑样反应(图 4a 和 b)(F = 38.58, df=2/7, P<0.001; F = 7.7, df=2/27, P<0.01)。为保持包含内源性花生四烯酰乙醇酰胺，UCM532 的抗焦虑样效果受到抗焦虑产生剂量的 CB1 拮抗剂利莫那班(2mg kg⁻¹, i. p.)的削弱(图 4C)(F=14.87, df=3/31, P<0.001)。此外，所述效果明显与运动行为的总体变化无关。实际上，虽然 UCM532 在成年大鼠体内引起步行的适度下降(也受利莫那班拮抗，数据未示)，但其产生作用的剂量高于引起抗焦虑减轻所需的剂量(≥10 mg kg⁻¹, i. p.)(图 4d)(F=3.57, df=2/22, P<0.05)。我们在超声发声散发模型中对 UCM532 的测试证实了这种不相联。这个模型测定的是将鼠崽从其巢穴搬出后，紧张诱发的发声的次数(Insel, T.R. 等, Pharmacol. Biochem. Behav., 24, 1263-1267(1986); Miczek, K.A. 等, Psychopharmacology, 121, 38-56(1995); Winslow, J.T. 等, Biol. Psychiatry, 15, 745-757(1991))。用抗焦虑药可以看出，在对鼠崽的运动没有影响(数据未示)(F = 3.23, df=2/18, n. s.)的剂量下(5 mg kg⁻¹)，UCM532 极大地减少了超声叫唤(图 4e)(F = 12.27, df=2/18, P<0.001)。

实施例 16 总体药理活性

化学式 I 和 II 所示脂肪酸酰胺水解酶抑制剂代表了可防止花生四烯酰乙醇酰胺失活的一类新试剂，通过靶向 FAAH 的细胞内酶活性。UCM597 是这类试剂中最有效的一员，它在脑膜中抑制 FAAH 活性的 IC₅₀ 值为 4nM，在完整神经元中为 0.5nM，在老鼠全身施用后的 ID₅₀ 值为 0.15 mg kg⁻¹。此化合物对 FAAH 的选择性比其他大麻素相关靶高得多，包括大麻素受体(选择性指数：>25000)和 MGL，MGL 是使内源性大麻素酯 2-AG 失活的酶(选择性指数：>7500)。这

种显著的靶识别与体内缺乏明显的大麻模拟效应相匹配。因此，在几乎消除 FAAH 的活性并显著提高脑花生四烯酰乙醇酰胺水平的剂量下，UCM597 及其类似物 UCM532 不会引起僵住、降低体温或刺激饮食，这是啮齿类动物中大麻素中毒的三个关键症状 (Chaperon F. 等, *Crit. Rev. Neurobiol.*, 13, 243-281(1999))。

然而，所述化合物引起了显著的抗焦虑样反应，与它们使 FAAH 失活的能力相平行，且为 CB1 受体拮抗剂利莫那班所削弱。

虽然不局限于理论，但是 UCM597 和 UCM532 是通过增强花生四烯酰乙醇酰胺对一个亚组的 CB1 受体的紧张作用来有选择地调节焦虑样行为的，通常可用来控制情绪。可能发生此种作用的前脑部位包括基底外侧的扁桃体、前扣带皮层和额叶前皮层，它们是“情绪回路”的重要组成部分 (Cahill, L. 等, *Trends Neurosci.*, 21, 294-299(1998))，包含高密度 CB1 受体 (Herkenham, M. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87, 1932-1936(1990); Glass, M. 等, *Neuroscience*, 77, 299-318(1997))。有趣的是，这些结构中的 CB1 受体独占地位于 GABA 能中间神经元亚群的轴突端部，它们也表达缩胆囊肽 (CCK) (Katona, I. 等, *J. Neurosci.*, 21, 9506-9518(2001); McDonald, A.J. 等, *Neuroscience*, 107, 641-652(2001))。

除了它们的抗焦虑样作用外，UCM597 和 UCM532 具有中等但明显的抗感受伤害效果，也对 CB1 受体阻断敏感。这些发现显著地类似于突变 FAAH^{-/-}小鼠实验中报道的结果 (Cravatt, B.F. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 9371-9376(2001))，强调了花生四烯酰乙醇酰胺在疼痛的内在调节中显露的作用 (Iversen, L. 等, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2:50-55(2002))。由于情绪状态可强烈地影响疼痛的感觉，抗焦虑减轻有可能是 FAAH 抑制剂的抗感受伤害效果的原因。但是，要区分这两种组分的作用还需要进一步实验。

UCM597 和 UCM532 增加了脑花生四烯酰乙醇酰胺的水平，而没有改变第二种内源性大麻素 2-AG 的水平。因此，这些化合物的药理作用有可能主要由于花生四烯酰乙醇酰胺的聚集，这些化合物对 CB1 拮抗剂利莫那班敏感。但是，FAAH 抑制剂也大大提高了两种花生四烯酰乙醇酰胺类似物，即棕榈酰乙醇酰胺和油酰乙醇酰胺的水平。最近发现的生物效应与 CB1 受体无关 (Calignano, A. 等, *Nature*, 394:277-281(1998); Rodriguez de Fonseca, F. 等, *Nature*, 414: 209-212(2001))。

实施例 17

此实施例提供化学式 I 或 II 所示 50 种化合物抑制 FAAH 的 IC_{50} 值。测试这些化合物的结果列于表 4。

实施例 18

此实施例提供对 O-芳基 N-烷基氨基甲酸芳基酯的更详尽的 3D-QSAR 分析，然后将其与 FAAH 的三维结构进行关联。

最近，人氨基甲酸酯可作为 FAAH 的活性定位向抑制剂这一假设开始，开发了一系列 O-芳基 N-烷基氨基甲酸芳基酯，它们不可逆地抑制 FAAH 的活性，且具有良好的体内和体外效力，结果对大鼠具有抗焦虑效果。此工作的方法及其结果发表于(Kathuria, S.等, *Nat. Med.* 9,76-81(2003); Tarzia, G.等, *J. Med. Chem.*, 46, 2352-2360(2003))纳入本文作为参考。值得注意的是，大多数化合物阻断 FAAH(但其他几种丝氨酸水解酶例外，例如乙酰基胆碱酯酶和 MGL)，且不与大麻素受体结合。初步 SAR 研究以确定亲脂 O-芳基部分对形状的要求为目的，显示结构的特征在于非线性形状导致效力改进。此工作的方法和结果描述于 Tarzia 等, *J. Med. Chem.*, 46, 2352-2360(2003)，纳入本文作为参考。更准确地说，大多数有效抑制剂的曲线分子类似与不同蛋白质络合的脂肪酸的折叠构象和花生四烯酰乙醇酰胺的所谓 U 形构象(Reggio, P.H.等, *Chem. Phys. Lipids* 108, 15-35(2000)，最近有人提出 CB1 受体结合部位可能是这种构象(Barnett-Norris, J.等, *J. Med. Chem.*, 451, 3649-3659(2002))。此外，最近发表了 FAAH 的复合物与抑制剂花生四烯酰氟代磷酸甲酯(MAPF)的晶体结构(Bracey, M.H., *Science*, 298, 1793-1796(2002))揭示了花生四烯酰链的折叠构象。

对 O-芳基 N-烷基氨基甲酸芳基酯的 3D-QSAR 分析表明，与 O-苯基环的间位相应的区域的空间占有率与抑制剂效力正相关，从而说明它与酶的结合部位有益相互作用。发现此系列中最有效的化合物是 URB524(2, 图 5)，其 IC_{50} 值为 63nM。为研究氨基甲酸 FAAH 抑制剂的 QSAR 并优化其活性，测定了以此化合物为起点的化合物，以便系统研究苯基取代效应。由于在前面的系列中只在氨基甲酸酯的 O-位引入亲脂基团，该系列只提供了结合部位内发生的空间相互作用的信息。为进一步表征可能的相互作用的性质，在 URB524 远端苯环的间位和对位引入了一组平衡的取代基，具有亲脂性和电性的变化。因为此部

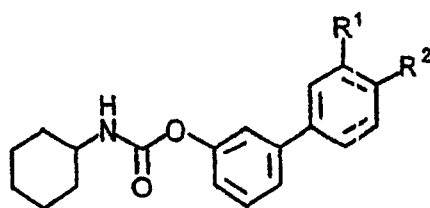
分已表明是所述 3D-QSAR 模型的关键。

研究取代基效应的实验设计分两步进行。首先，用一组尺寸适中的小取代基测试间位和对位对亲脂性和电性的敏感性；甲基、三氟甲基、氨基和氨基甲酰基这四个取代基代表 π 和 $\sigma(\sigma_m$ 或 $\sigma_p)$ 描述符正负水平的四种组合(van de Waterbeemd, H.等, J. Comput.-Aided Des. 3, 111-132(1989)); 此外, 在此第一实验组中加入小取代基(氟)和大取代基(环己基氨基甲酰氧基)。鉴定了苯环的更响应的位置, 作为优化的第二步, 扩充了取代基系列, 试图在描述取代基的亲脂性、电性和空间性的变数中保持显著和独立的变化, 这是用多次回归分析法(MRA)研究 QSAR 的前提(Box, G.E.P.等, 《实验统计学》(Statistics for Experiments), Wiley: New York 306-373(1978); van de Waterbeemd, H.等, 《分子设计中的化学计量法》(Chemometric Methods in Molecular Design), VCH Publishers Inc.: New York 49-62(1995))。

采用 $[^3\text{H}]$ 花生四烯酰乙醇酰胺为底物, 用化合物 3a-z 在大鼠脑膜中抑制 FAAH 活性的半最大浓度(IC_{50})列于表 5。

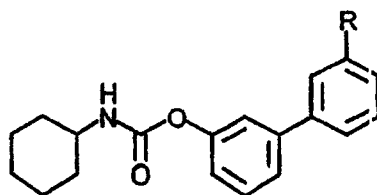
末端苯环(3a-1)上的第一有限组的取代基表明, 间位更有潜力优化效力。事实上, 尽管 3'-甲基(3h)和 3'-氨基(3j)衍生物得到的化合物与母体化合物对 FAAH 的抑制效力一样, 但 3'-氨基甲酰(3i)衍生物的抑制效力要高一个数量级; 另一方面, 所有对位取代的化合物的效力不及母体化合物, 只有 4'-氟代衍生物(3e)具有可比较的 IC_{50} 值。

因此, 扩充间位上的取代基组, 以研究取代基性质与抑制效力之间的统计关系。因此选择 12 个附加的取代基(3m-z, 表 5), 以扩大代表亲脂性、空间性和电性的空间; 其中有一些是根据它们与氨基甲酰基的相似性(即 3r 中的氨基甲酰基)或部分相似性(即 3s、3z 或 3v 中分别表示的乙酰基、氨基甲基或羟甲基)。表 6 中包括 H 在内的 19 个取代基在亲脂性(几乎 4π 单位)和空间体积上具有大变化, 这两种性质与电子效应均不相关(r 中 σ_m 分别为 -0.19 和 -0.16); 它们在亲脂(π)和空间(MR)之间仍有一些相关性($r=0.63$), 因为知道难以获得大的亲脂性取代基。

表 5 试验化合物对 FAAH 活性的抑制效价(IC₅₀)

化合物	R ¹	R ²	IC ₅₀ (nM)±S.E.M.
URB 524	H	H	63±9
3a	H	CF ₃	1587±148
3b	H	CH ₃	155.4±21
3c	H	C(O)NH ₂	5909±951
3d	H	NH ₂	360±59
3e	H	F	64.95±14.00
3f	H	C(O)NHC(O)NH _c -C ₆ H ₁₁	3017±688
3g	CF ₃	H	145.7±16.0
3h	CH ₃	H	61.75±19.00
3i	C(O)NH ₂	H	4.6±1.6
3j	NH ₂	H	64.6±9.0
3k	F	H	96.6±4.0
3l	OC(O)NH _c -C ₆ H ₁₁	H	361±137
3m	C ₆ H ₅ O	H	420±86
3n	C ₆ H ₅	H	565±42
3o	CH ₂ C ₆ H ₅	H	1857±57
3p	n-C ₃ H ₇	H	110±16
3q	NO ₂	H	49.6±2.0
3r	SO ₂ NH ₂	H	26.5±4.5
3s	C(O)CH ₃	H	9.1±0.5
3t	CN	H	33.9±7.0
3u	OH	H	8.65±0.10
3v	CH ₂ OH	H	8.67±0.90
3w	(CH ₂) ₂ OH	H	18.7±4.5
3z	CH ₂ NH ₂	H	21177±7277

表 6 QSAR 分析中间位取代衍生物的 FAAH 抑制作用的
pIC₅₀ 的观察值和计算值



化合物	R	pIC ₅₀	
		观察值	计算值
URB 524	H	7.20	7.28
3g	CF ₃	6.84	6.83
3h	CH ₃	7.21	6.99
3i	C(O)NH ₂	8.34	7.99
3j	NH ₂	7.19	7.86
3k	F	7.02	7.19
3l	OC(O)NH _c -C ₆ H ₁₁	6.44	6.74
3m	C ₆ H ₅ O	6.38	6.24
3n	C ₆ H ₅	6.25	6.30
3o	CH ₂ C ₆ H ₅	5.73	6.28
3p	n-C ₃ H ₇	6.96	6.50
3q	NO ₂	7.30	7.40
3r	SO ₂ NH ₂	7.58	8.15
3s	C(O)CH ₃	8.04	7.53
3t	CN	7.47	7.54
3u	OH	8.06	7.59
3v	CH ₂ OH	8.06	7.76
3w	(CH ₂) ₂ OH	7.73	7.64

对选自 8 个常见理化描述符(p, σ_m , F, R, MR, L, B₁, B₅)中最大的三个活性变数和 π^2 的平方组成的数据组进行多次回归分析(MRA), 没有得到明显的模型。但是, 效力变数 pIC₅₀ 对亲脂性的简单曲线(图 6)表明可以看出清晰的关系, 但甲

基氨基衍生物 3z 在曲线外；这可归因于其碱性，使得它成为唯一在中性 pH 下具有大量质子化阳离子物种的化合物。从回归组中删除 3z，亲脂性与效力之间的负相关性可用方程 1 所示线性模型描述；根据方程 1 计算的 pIC_{50} 值列于表 6。

$$pIC_{50} = -0.49(\pm 0.07) \pi + 7.26(\pm 0.09) \quad (1)$$

$$n=18(\text{URB524, 3g-w}) \quad r^2=0.74 \quad s=0.37 \quad F=46.0 \quad q^2=0.66 \quad \text{SDEP}=0.40$$

这种负相关是间位的特征，因为有限组的对位取代基在同一尺度上显示抛物线关系，可用回归方程 2 描述。

$$pIC_{50} = -0.52(\pm 0.12) \pi - 1.20(\pm 0.14) \pi^2 + 7.33(\pm 0.14) \quad (2)$$

$$n=7(\text{URB524, 3g-f}) \quad r^2=0.95 \quad s=0.22 \quad F=37.8 \quad q^2=0.80 \quad \text{SDEP}=0.33$$

虽然这组对位取代的化合物太少，无法考虑更复杂的模型，但 18 个间位取代衍生物的一组化合物适合详细进行 QSAR 研究；此外，与亲脂性的负相关性看上去令人困惑，因为我们以前的结果支持一种假设，即联苯基部分在亲脂性 FAAH 结合部位上模拟花生四烯酰基链。

但是，没有一个包括 5 个以上变数的 MRA 模型的统计质量好于或类似于方程 1；只有引入氢键指示参数(HB)，对可形成氢键的取代基设为 1，在其他情况下设为 0，才有可能得到具有相似描述性(r^2)和预测性(q^2)的替代模型(方程 3)，表明效力的增加与取代基的空间体积(MR)负相关，但极性取代基的平均 pIC_{50} 比非极性取代基多 0.8 个单位。

$$pIC_{50} = -0.046(\pm 0.009)MR + 0.80(\pm 0.18)HB + 7.29(\pm 0.17) \quad (3)$$

$$n=18(\text{URB524, 3g-w}) \quad r^2=0.76 \quad s=0.37 \quad F=23.2 \quad q^2=0.68 \quad \text{SDEP}=0.39$$

虽然此模型在统计上不比方程 1 好，但它可以为取代基亲水性在假定的亲脂结合袋内的正效应提供可能的解释，此性质归因于间位取代基与酶的一些极性原子之间形成氢键，而对位取代基则无法形成。

结合于共价花生四烯酰基-磷酸酯抑制剂²²的 FAAH 的晶体结构最近已经有人报道。虽然不局限于理论，将我们的抑制剂放置在酶活性部位内，和分子动态模拟，可以解释 U 和 V 基团或 R 基团的作用，说明为主题化合物对酶具有惊人的抑制能力。据认为，前述花生四烯酰基抑制剂的结合部位是跨过整个酶的通道的一部分，如图 7 所示；催化的 Ser241 位于此通道的中间，它一面伸向膜(图 7 底部，左面)，一面伸向胞液。此通道具有复杂的拓扑结构，有一个与催化部位相应的亲水表面，在两个方向中为亲脂表面所包围。指向膜的表面形成一个分配此抑制剂的端原子的亲脂性凸起和具有亲水“脊”的窄沟道，其

中膜为磷酸酯抑制剂的花生四烯酰基链所占据，亲水“脊”可为 OEA 的亲水头用来接近催化部位，同时沿着膜移动。我们的分子对接显示，删除磷酸酯抑制剂之后，URB524 的联苯基部分可以占据花生四烯酰基链的空间，远端苯环的间位恰好指向亲水脊(见图 7)。联苯基部分与花生四烯酰基链以最小能量的构象重叠，以 MAPF/FAAH 复合物中发现的构象重叠，有力证明了头两个双键的空间相似性，从而支持我们的假设(见图 8)。有趣的是，所有极性间位取代基都能够与亲水脊的一些极性残基形成氢键。方程 1 和 3 所描写的启发性模型表明，间位取代的联苯基氨基甲酸酯的抑制效力与亲脂性负相关，其原因是，虽然联苯基支架可能位于通常为脂肪酸链的第一原子所占据的空间的亲脂区域，但远端苯环的间位上的取代基相互作用形成具有酶内窄沟道的亲水壁的氢键。这些结果说明，通过氢键与亲水脊的部分相互作用可能是影响 FAAH 抑制剂活性的重要原因。与我们的模型对此的预测一致，将最有效的化合物在联苯基氨基甲酸酯系列 3i(URB597)中的对接，产生一种溶液，表明 URB597 的氨基甲酰基团可能与酶形成两个氢键：一个与 Thr488 的羟基，作为 HB-受体；第二个与 Leu192 的主链羰基，作为 HB-供体(图 9)。总之，我们的结果表明，主要与亲水通道而不是催化部位相互作用的化合物可能是 FAAH 的高效力抑制剂。

在本说明书的任何部分中引用的每种出版物、专利申请、专利和其他文献均纳入本文作为参考，只要不与本说明书内容冲突。

虽然前面通过说明和实施例对本发明进行了一些详细的描述，其目的是为了清楚地理解本发明，但本领域的普通技术人员不难明白，根据发明的描述，可以对其作出某些改变和改进，只要不背离附加的如权利要求的精神或范围。

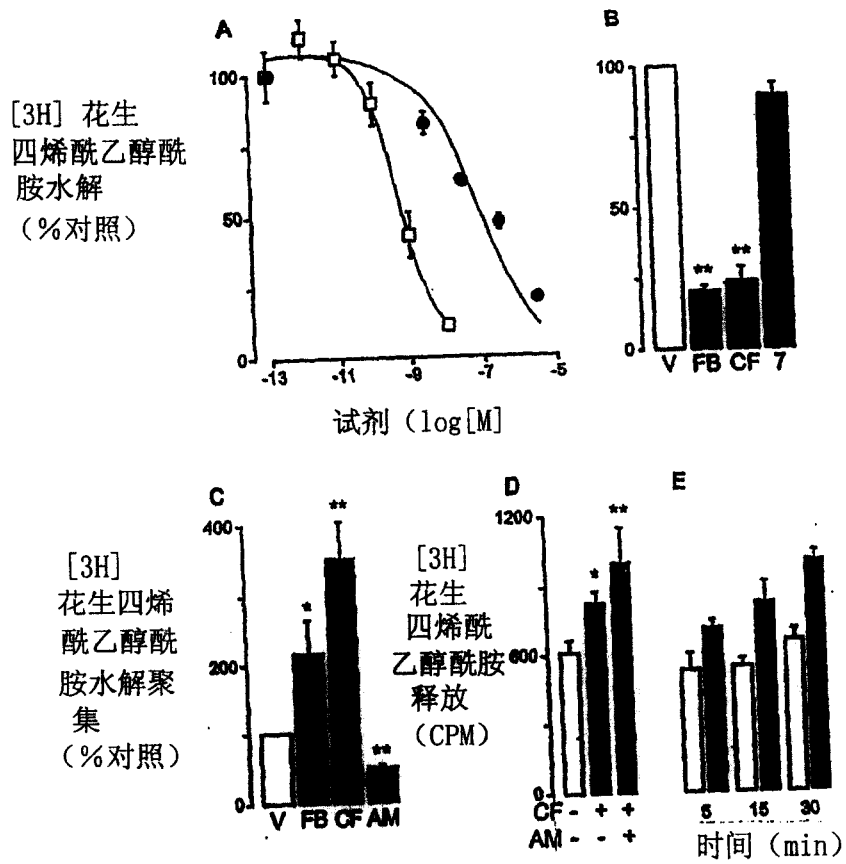


图 1

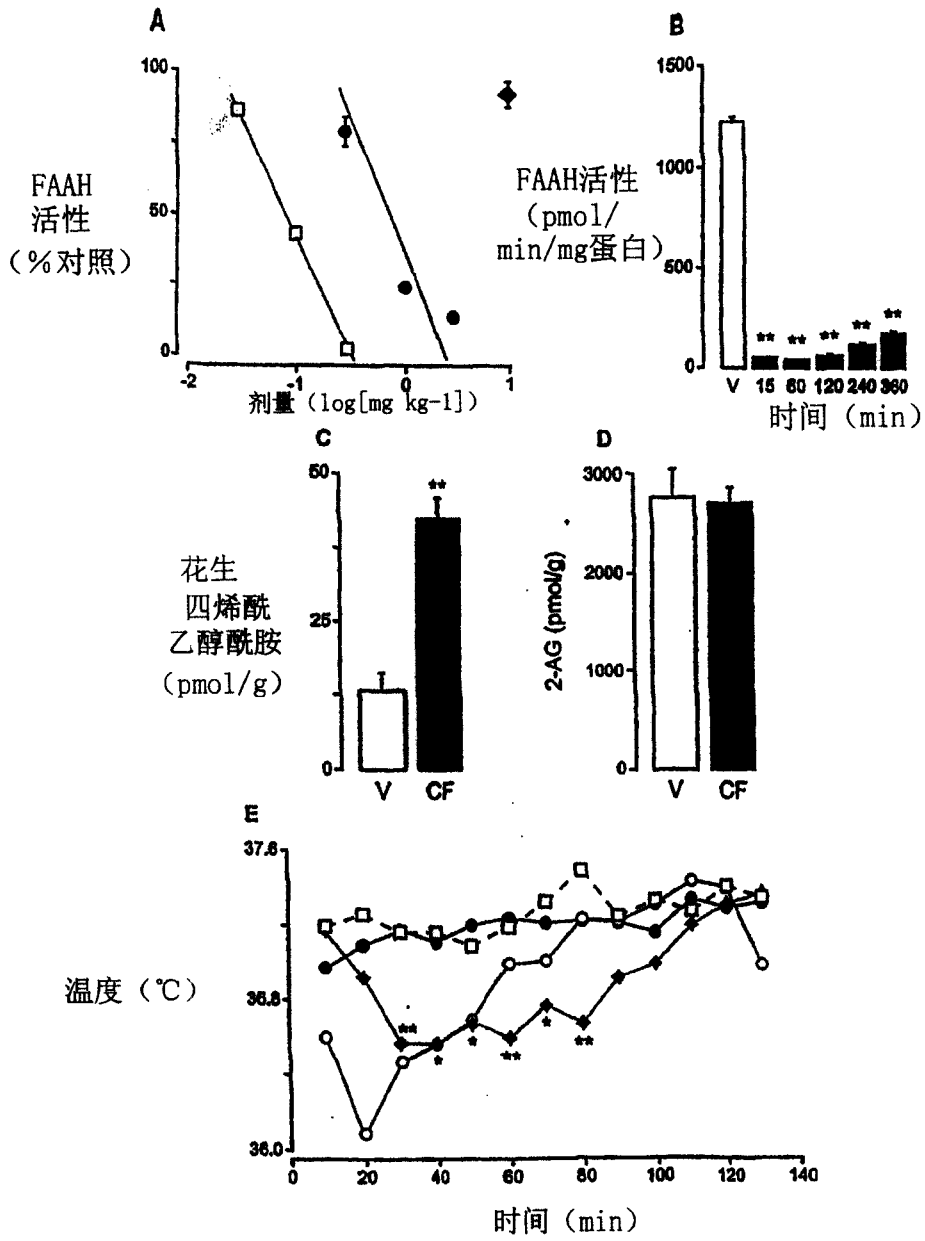


图 2

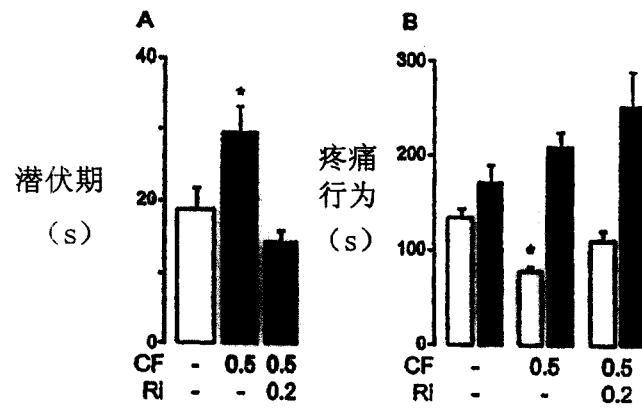


图 3

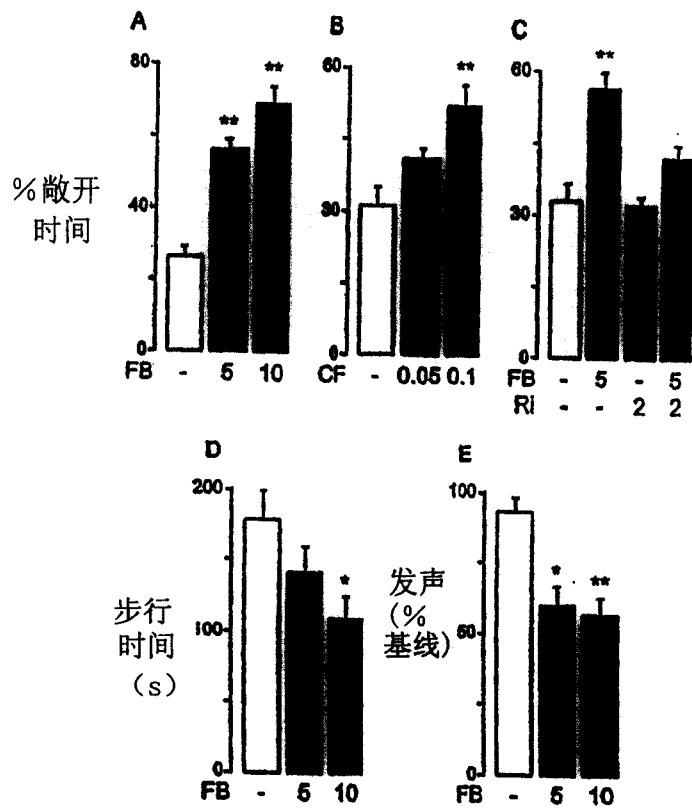


图 4

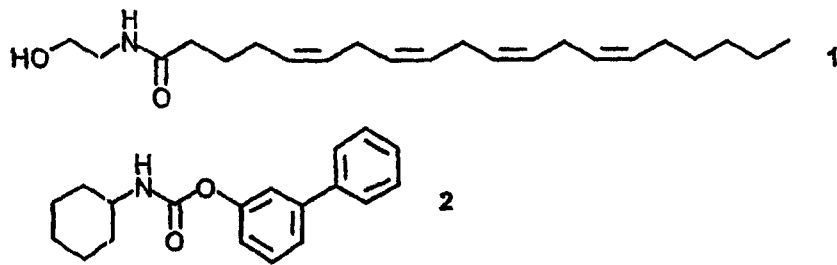


图 5

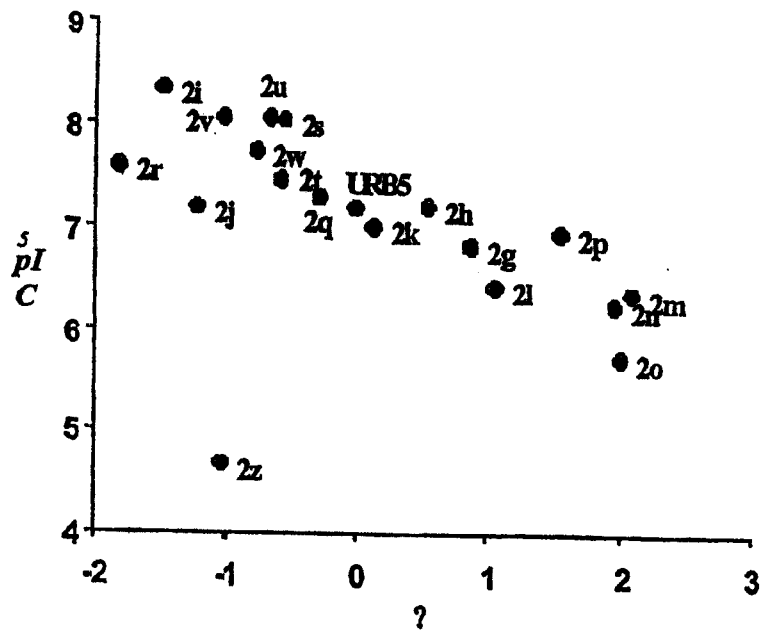


图 6

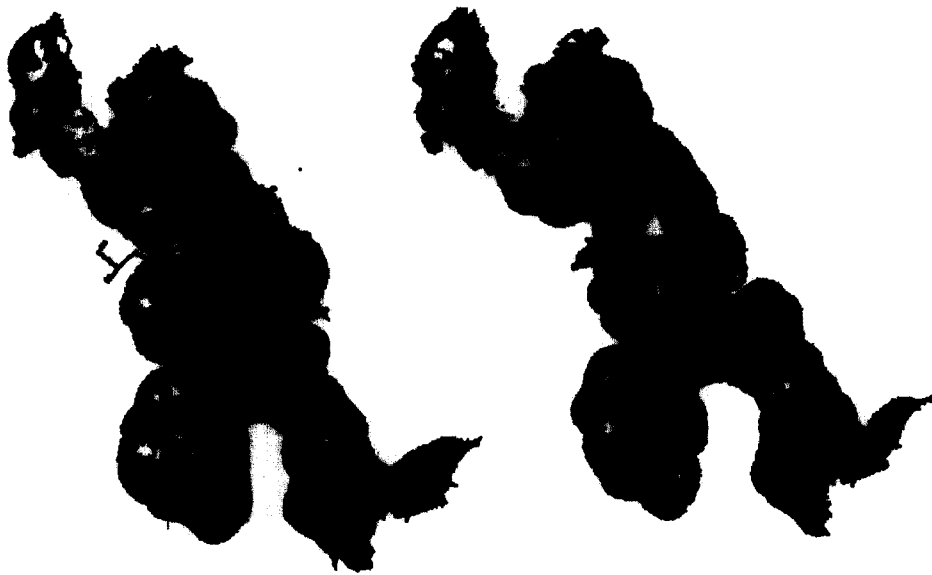


图 7

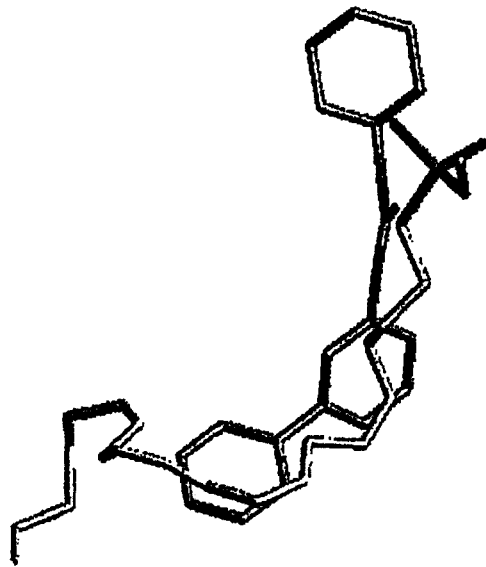


图 8

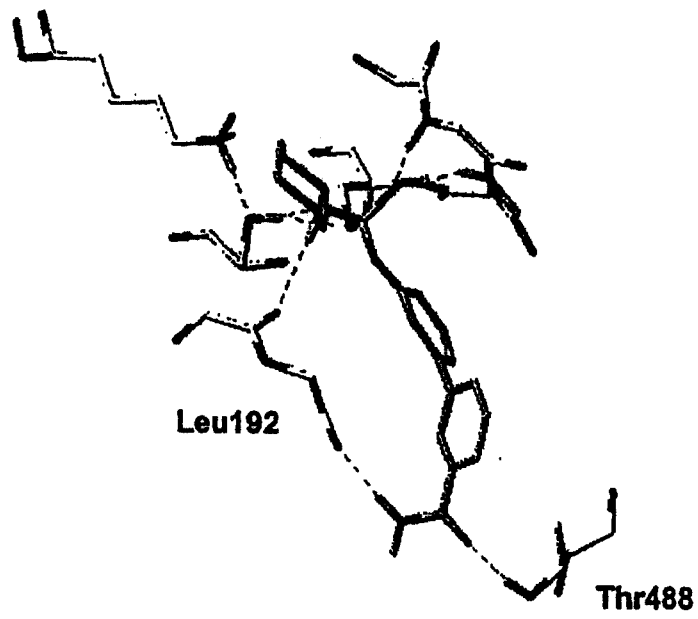
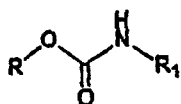


图 9

为FAAH活性选定的氨基甲酸酯抑制剂的结构



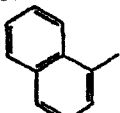
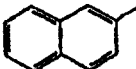
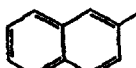
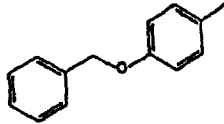
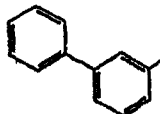
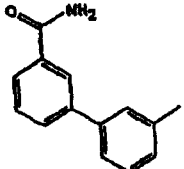
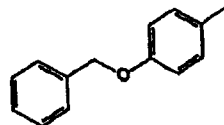
	R	R ₁	IC ₅₀ (nM)	S.E.M.
1		CH ₃	>100,000	
2		CH ₃	18,600	708
3		<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	324	31
4		<i>n</i> -C ₄ H ₉	396	63
5		<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	63	9
6		<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	4.6	1.6
7		<i>p</i> -C ₆ H ₁₀ F	>100,000	

表 1

表 2

体内选择的FAAH抑制剂的分析

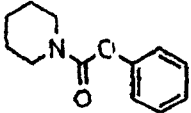
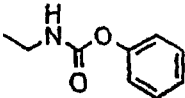
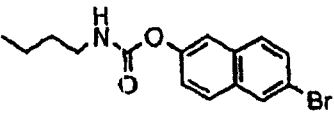
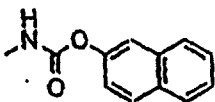
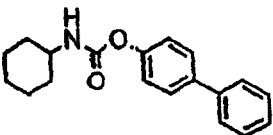
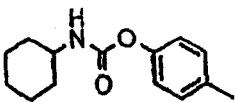
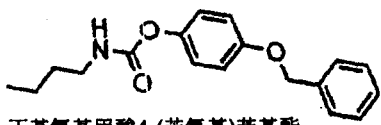
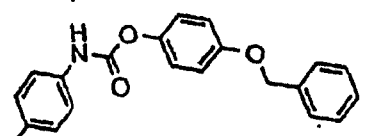
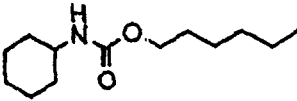
化合物	AChE	SI	BCh	SI	MGL	SI	AT	SI	CB1	SI	CB2	SI
Fenoxbutamate	> 100	≥ 333	> 100	≥ 333	> 30	≥ 100	> 300	≥ 1000	> 300	≥ 1000	> 300	≥ 1000
carbifenamate	> 100	≥ 25000	≥ 100	≥ 25000	> 30	≥ 7500	> 30	≥ 7500	> 100	≥ 25000	> 100	≥ 25000

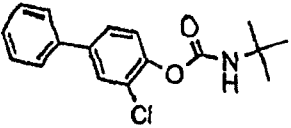
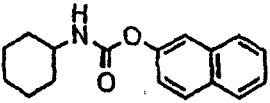
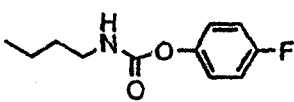
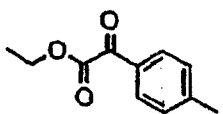
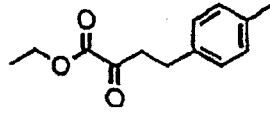
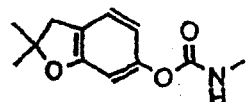
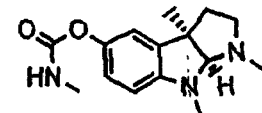
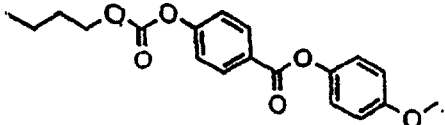
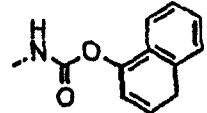
表3 各种化合物抑制 FAAH 和胆碱酯酶的选择性

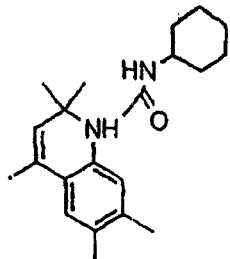
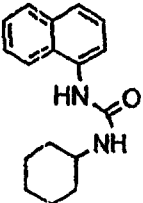
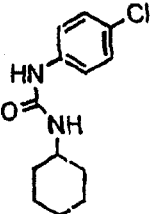
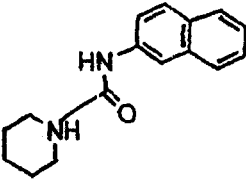
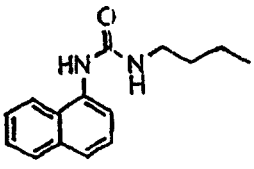
化合物	化合物名称	酰胺水解酶 IC ₅₀ (μM)	胆碱酯酶 IC ₅₀ (μM)
PL#1	N-哌啶羧酸 1-苯基酯	>30	>30
PL#2	N-乙基氨基甲酸 4-甲苯基酯	>30	>30
PL#3	N-丁基氨基甲酸 6-溴-2-萘基酯	0.76	>30
PL#4	N-甲基氨基甲酸 2-萘基酯	18.7	>30
PL#5	N-环己基氨基甲酸 4-联苯基酯	2.3	>30
PL#6	N-环己基氨基甲酸酯 p-甲苯基	5.4	>30
PL#7	N-丁基氨基甲酸 4-(苯氧基)苯基酯	0.4	>30
PL#8	N-(4-氟苯基)氨基甲酸 4-(苯氧基)苯基酯	>30	>30
PL#9	N-环己基氨基甲酸己酯	3.7	>30
PL#10	N-叔丁基氨基甲酸 3-氯-4-联苯基酯	>30	>30
PL#11	N-环己基氨基甲酸 2-萘基酯	0.33	>30
PL#12	N-丁基氨基甲酸 4-氟苯基酯	11.5	>30
PL#13	苄基甲酸乙酯	>30	>30
PL#14	2-氧-4-苯基丁酸乙酯	25.6	>30
PL#15	2,3-二氢-2,2-二甲基-7-苯并咪唑醇 N-甲基氨基甲酸酯	>30	0.56
PL#16	毒扁豆碱硫酸酯	>30	0.58
PL#17	4-(4'-甲氧基苯氧基)-苯基羧酸 O-丁酯	9.1	>30
PL#18	胺甲萘	>30	3.1

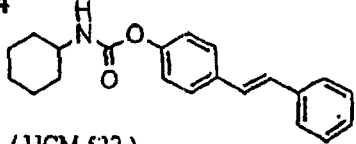
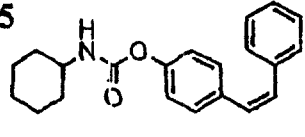
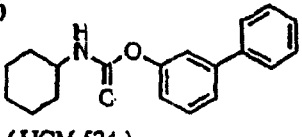
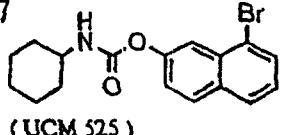
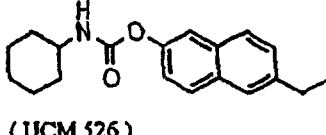
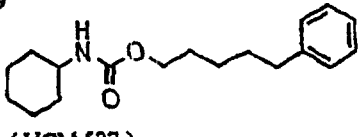
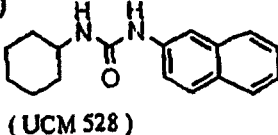
WC9043203 v1

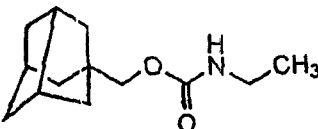
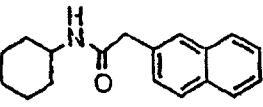
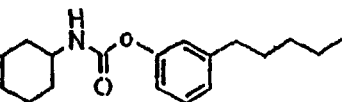
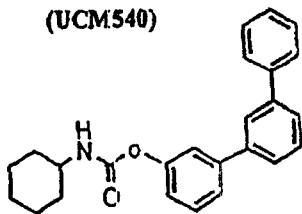
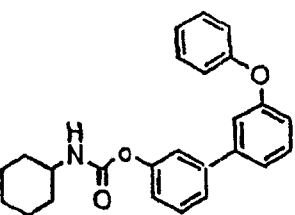
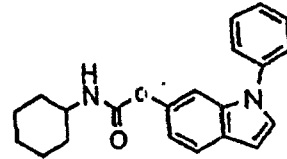
表 4

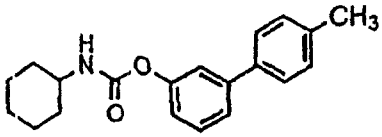
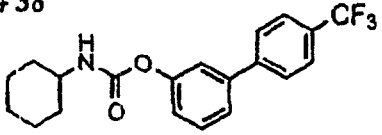
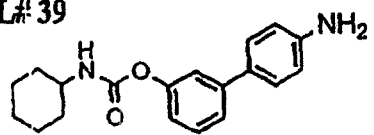
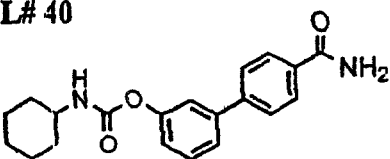
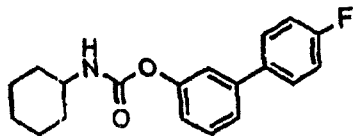
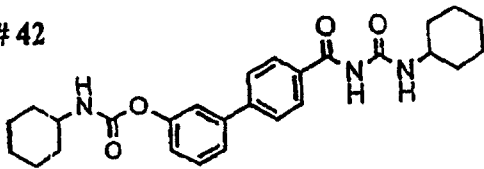
PL#	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL#1  N-哌啶羧酸1-苄基酯	>30		
PL#2  N-乙基氨基甲酸4-甲基酯	>30		
PL#3  N-丁基氨基甲酸6-溴-2-萘基酯	0.76		
PL#4  N-甲基氨基甲酸2-萘基酯	18.6		
PL#5  N-环己基氨基甲酸4-联苯基酯	2.3		
PL#6  N-环己基氨基甲酸p-甲苯酯	5.4		
PL#7  N-丁基氨基甲酸4-(苯氧基)苯基酯 (UCM 532)	0.3		
PL#8  N-(4-氟苯基)氨基甲酸4-(苯氧基)苯基酯 (UCM 531)	>30		
PL#9  N-环己基氨基甲酸己酯	3.7		

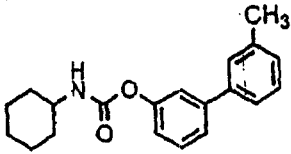
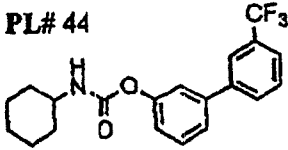
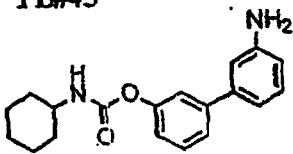
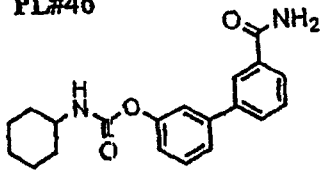
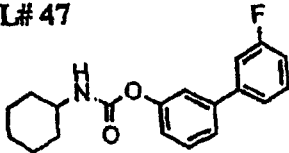
	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL#10  N-叔丁基氨基甲酸3-氯-4-联苯基酯	>30		
PL#11  N-环己基氨基甲酸2-萘基酯	0.33		
PL#12  N-丁基氨基甲酸4-氟苯基酯	11.5		
PL#13  苯基甲酸乙酯	>30		
PL#14  2-氧-4-苯基丁酸乙酯	25.6		
PL#15  2,3-二氢-2,2-二甲基-7-苯并呋喃醇N-甲基氨基甲酸酯	>30		
PL#16  毒扁豆碱硫酸酯	>30		
PL#17  4-(4'-甲氧基苯氧基羰基)-苯基羧酸O-丁酯	9.1		
PL#18  胺甲萘	>30		

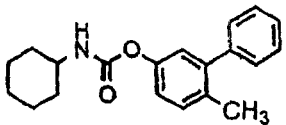
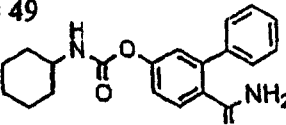
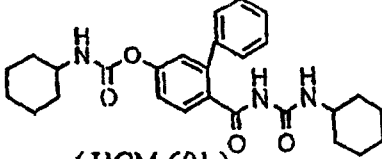
	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL#19  CNC-523605		>30	
PL#20  CNC-540335		>30	
PL#21  CNC-541078		>30	
PL#22  CNC-608455		>30	
PL#23  CNC-1072849		>30	

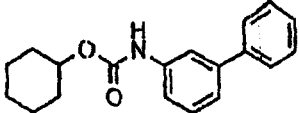
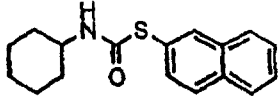
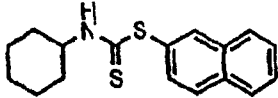
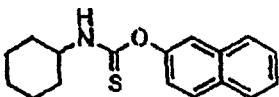
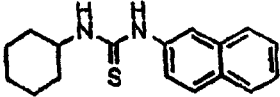
	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL#24  (UCM 522)	3.3		
PL#25  (UCM 523)	0.24		
PL#26  (UCM 524)	0.06		
PL#27  (UCM 525)	0.17		
PL#28  (UCM 526)	3.0		
PL#29  (UCM 527)	>30		
PL#30  (UCM 528)	>30		

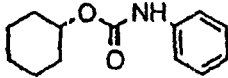
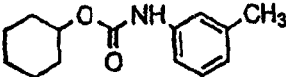
PL化合物	酰胺水解酶的抑制作用	胆碱水解酶的抑制作用	CB1和CB2受体结合 EC ₅₀ (μM)
	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	
#31.  CNC-256597	>30		
#32  (UCM533)	>30		
#33  (UCM540)	0.22		
#34  (UCM566)	0.56		
#35  (UCM564)	2.6		
#36  (UCM561)	1.4		

	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL# 37		0.23	
	(UCM 588)		
PL# 38		1.6	
	(UCM 589)		
PL# 39		0.51	
	(UCM 590)		
PL# 40		>10	
	(UCM 591)		
PL#41		0.09	
	(UCM 592)		
PL# 42		~30	
	(UCM 593)		

酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
<p>PL# 43</p>  <p>(UCM 594)</p>	0.1	
<p>PL# 44</p>  <p>(UCM 595)</p>	0.13	
<p>PL#45</p>  <p>(UCM 596)</p>	0.06	
<p>PL#46</p>  <p>(UCM 597)</p>	0.004	
<p>PL# 47</p>  <p>(UCM 598)</p>	0.092	

	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL# 48			
		0.2	
(UCM 599)			
PL# 49			
		0.2	
(UCM 600)			
PL# 50			
		3.1	
(UCM 601)			

PL#	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL# 51	 (UCM 602)	>30	
PL# 52	 (UCM 603)	15	
PL# 53	 (UCM 604)	>30	
PL# 54	 (UCM 605)	>30	
PL# 55	 (UCM 606)	>30	

	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
PL#56  (UCM 614)		3.1	
PL#57  (UCM 615)		0.8	

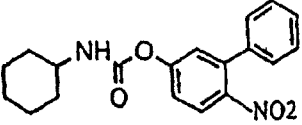
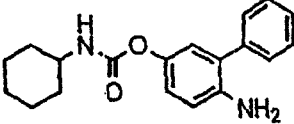
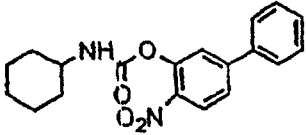
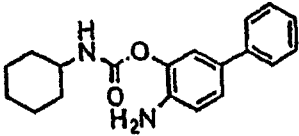
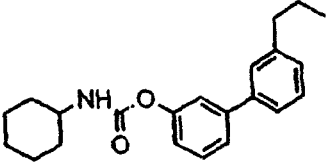
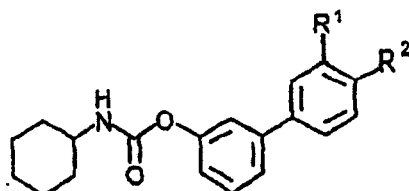
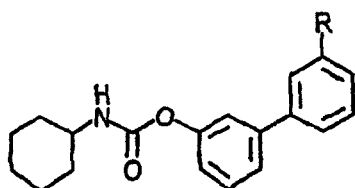
	酰胺水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	胆碱水解酶的抑制作用 IC_{50} (μM)	CB1和CB2受体结合 EC_{50} (μM)
<p>PL# 58</p>  <p>(UCM 617)</p>		>30	
<p>PL# 59</p>  <p>(UCM 618)</p>		0.05	
<p>PL# 60</p>  <p>(UCM 619)</p>		>30	
<p>PL# 61</p>  <p>(UCM 620)</p>		>30 ?	
<p>PL# 62</p>  <p>(UCM 621)</p>		0.08	

表 5 测试的化合物对FAAH活性的抑制效价 (IC₅₀)

化合物	R ¹	R ²	IC ₅₀ (nM) ± S.E.M.
	H	H	63±9
3a	H	CF ₃	1,587±148
3b	H	CH ₃	155.4±21
3c	H	C(O)NH ₂	5,909±951
3d	H	NH ₂	360±59
3e	H	F	64.95±14.00
3f	H	C(O)NHC(O)NHc-C ₆ H ₁₁	3,017±688
3g	CF ₃	H	145.7±16.0
3h	CH ₃	H	61.75±19.00
3i	C(O)NH ₂	H	4.6±1.6
3j	NH ₂	H	64.6±9.0
3k	F	H	96.6±4.0
3l	OC(O)NHc-C ₆ H ₁₁	H	361±137
3m	C ₆ H ₅ O	H	420±86
3n	C ₆ H ₅	H	565±42
3o	CH ₂ C ₆ H ₅	H	1,857±57
3p	n-C ₃ H ₇	H	110±16
3q	NO ₂	H	49.6±2.0
3r	SO ₂ NH ₂	H	26.5±4.5
3s	C(O)CH ₃	H	9.1±0.5
3t	CN	H	33.9±7.0
3u	OH	H	8.65±0.10
3v	CH ₂ OH	H	8.67±0.90
3w	(CH ₂) ₂ OH	H	18.7±4.5
3z	CH ₂ NH ₂	H	21,177±7,277

表 6

在QSAR分析中包括的间位取代的衍生物的观察和计算的PIC50值



Cpds	R	pIC ₅₀	
		观察的	计算的
URB524	H	7.20	7.28
3g	CF ₃	6.84	6.83
3h	CH ₃	7.21	6.99
3i	C(O)NH ₂	8.34	7.99
3j	NH ₂	7.19	7.86
3k	F	7.02	7.19
3l	OC(O)NHc-C ₆ H ₁₁	6.44	6.74
3m	C ₆ H ₅ O	6.38	6.24
3n	C ₆ H ₅	6.25	6.30
3o	CH ₂ C ₆ H ₅	5.73	6.28
3p	n-C ₃ H ₇	6.96	6.50
3q	NO ₂	7.30	7.40
3r	SO ₂ NH ₂	7.58	8.15
3s	C(O)CH ₃	8.04	7.53
3t	CN	7.47	7.54
3u	OH	8.06	7.59
3v	CH ₂ OH	8.06	7.76
3w	(CH ₂) ₂ OH	7.73	7.64