



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102026966 B

(45) 授权公告日 2014. 02. 12

(21) 申请号 200980116831. 2

(22) 申请日 2009. 05. 13

(30) 优先权数据

0853092 2008. 05. 13 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 11. 10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2009/055787 2009. 05. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/138436 FR 2009. 11. 19

(73) 专利权人 领先药物公司

地址 法国巴黎

(72) 发明人 M-C·富尼耶-扎武斯基 H·波拉斯

B·罗克

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

C07C 323/60 (2006. 01)

C07C 323/65 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2007/048787 A, 2007. 05. 03, 全文.

US 4426391, 1984. 01. 17, 全文.

alexander J 等. (acyloxy)alkyl

carbamates as novel bioreversible prodrugs for amines: increased permeation through biological membranes". 《Journal of medicinal chemistry》. 1988, 第 31 卷 (第 2 期), 318-322.

李志裕等. 硫乙内酰脲衍生物的合成与镇痛作用. 《中国药科大学学报》. 1999, 第 30 卷 (第 4 期), 253-255.

周金培等. 硫乙内酰脲衍生物的合成与镇痛作用. 《中国药科大学学报》. 1991, 第 22 卷 (第 6 期), 330-333.

审查员 邹雯

权利要求书2页 说明书19页 附图2页

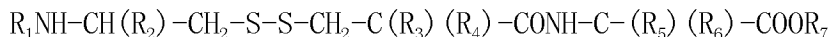
(54) 发明名称

新型氨基酸衍生物、其制备方法和治疗用途

(57) 摘要

本发明涉及新型通式 (I) 化合物 $R_1NH-CH(R_2)-CH_2-S-S-CH_2-C(R_3)(R_4)-CONH-C(R_5)(R_6)-COOR_7$, 其中 R_1 为 (酰氧基) 烷基氨基甲酸酯 $-C(O)-O-C(R_8)(R_9)-OC(O)-R_{10}$; R_2 为 烃链、被杂环取代的亚甲基; R_4 为氢原子且 R_3 为苯基或苄基、杂芳基、被杂环取代的亚甲基或 R_3 和 R_4 一起形成饱和环; R_5 和 R_6 为氢、烃链、苯基或苄基或 R_5 和 R_6 一起形成饱和环; R_7 是氢、苯基或苄基、通式 $CR_{12}(R_{13})C(O)OR_{14}$ 或 $OCR_{12}(R_{13})OC(O)R_{14}$ 或 $OCR_{12}(R_{13})OC(O)OR_{14}$ 的基团。本发明还涉及这些化合物作为药物的用途, 含有所述化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。本发明进一步涉及至少一种大麻类衍生物和 / 或吗啡或其一种衍生物和 / 或 γ -氨基丁酸衍生物用于增强新型通式 (I) 化合物的止痛和抗抑郁作用的联合应用。

1. 一种具有如下通式 (I) 的化合物：



其中 R_1 代表 $-C(O)-O-C(R_8)(R_9)-OC(O)-R_{10}$ 基团，其中

R_8 和 R_9 各自独立地代表氢原子或直链或支链的 C_1-C_6 烷基；

R_{10} 代表直链或支链的 C_1-C_6 烷基；

R_2 代表：

- 具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链饱和烃链，其任选地被如下基团取代：

❖ OH 、 OR_{11} 、 SH 、 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$ ，在每一个这些基团中， R_{11} 代表具有 1 至 4 个碳原子的直链或支链烃链、苯基或苄基，

R_4 代表氢原子和 R_3 代表：

- 苄基，其任选地被如下基团取代：

❖ 1 至 5 个卤原子；

R_5 和 R_6 各自独立地代表：

- 氢原子，

- 具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链饱和烃链，其任选地被 OH 、 OR_{11} 、 SH 或 SR_{11} 、 $COOH$ 或 $COOR_{11}$ 取代，在每一个这些基团中， R_{11} 具有如前相同的含义；

R_7 代表

- 氢原子；

- 苯基或苄基，其任选地被 1 至 5 个卤素取代；

- 基团 $CR_{12}(R_{13})OC(O)OR_{14}$ ；

R_{12} 和 R_{13} 各自独立地代表氢原子或直链或支链的 C_1-C_6 烷基；

R_{14} 代表直链或支链的 C_1-C_6 烷基；

以及所述化合物 (I) 与药学上可接受的无机或有机碱形成的加成盐。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_{10} 代表异丙基。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_2 代表具有 1 至 4 个碳原子的烷基，其被 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$ 取代， R_{11} 代表甲基。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_4 代表氢原子。

5. 根据权利要求 4 所述的化合物，其特征在于基团 R_3 代表苄基。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_5 代表氢原子。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_6 代表氢原子或具有 1 至 6 个碳原子的烷基，其被 $COOH$ 或 $COOR_{11}$ 取代， R_{11} 具有如权利要求 1 相同的含义。

8. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于基团 R_7 代表氢原子或苄基或 $CR_{12}(R_{13})O(CO)OR_{14}$ 基团，其中 R_{12} 代表氢原子且 R_{13} 和 R_{14} 彼此独立地代表 C_1-C_4 烷基。

9. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于其选自如下化合物：

1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苄基-丙基二硫基甲基}-3-甲硫基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯，

1-{1-[2-(苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基)-3-苄基-丙基-二硫基甲基]-3-甲硫基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯，

1-{1-[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苄基-丙基-二硫基甲基]-3-甲硫基-丙基氨

基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基二硫基甲基}-3-甲烷-亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯,

1-{1-[2-苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

1-{1-2[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯。

10. 作为药物的根据权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物。

11. 一种药物组合物,其特征在于其含有至少一种根据权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物和药学上合适的赋形剂。

12. 根据权利要求 11 所述的药物组合物,其特征在于,所述药学上合适的赋形剂是经口、鼻或静脉内途径给药的合适的赋形剂。

13. 根据权利要求 11 所述的药物组合物,其特征在于其进一步含有至少 Δ^9 -四氢大麻酚,和 / 或吗啡,或加巴喷丁或普瑞巴林。

14. 根据权利要求 11 或 13 所述的药物组合物,其用于制备旨在治疗抑郁、多发性硬化、和不同类型的疼痛的药物。

15. 根据权利要求 14 所述的药物组合物,其特征在于,所述疼痛选自急性疼痛、炎性疼痛、伤害性疼痛、神经原性疼痛、神经病理性疼痛、精神性疼痛、异常性疼痛。

16. 一种药物组合物,其含有:

i) 至少一种根据权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物,和

ii) 至少 Δ^9 -四氢大麻酚,和 / 或

iii) 吗啡,和 / 或

iv) 至少一种加巴喷丁或普瑞巴林,作为组合产品同时的、分开的使用或适时延伸。

17. 根据权利要求 16 所述的药物组合物,其用于制备旨在用于治疗抑郁,成瘾和疼痛的药物。

18. 根据权利要求 17 所述的药物组合物,其特征在于,所述疼痛选自炎性疼痛、伤害性疼痛、神经原性疼痛、神经病理性疼痛、精神性疼痛、痛觉过敏和异常性疼痛。

新型氨基酸衍生物、其制备方法和治疗用途

技术领域

[0001] 本发明涉及具有延长作用的新型脑啡肽酶和氨肽酶 N 的混合抑制剂。

背景技术

[0002] 已知脑啡肽 -Tyr-Gly-Gly-Phe-Met 和 Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu- 为 μ 和 δ 阿片样受体的内源性配体,其定位 (Waksman 等人 (1985)Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 1523-1527) 和功能不同: μ 受体实质上涉及疼痛脉冲的递送, δ 受体实质上涉及情绪和适应行为的调节,特别是对应激的调节 (见 Noble et Roques, 2007, Expert Opin. Ther. Targets, 11, 145-159), (Jutkiewicz 等人, 2006, Eur. J. Pharmacol., 531, 151-159)。

[0003] 因为这些肽通过两种酶的快速分解代谢,所以外源性脑啡肽的侧脑室给药诱导短暂止痛反应,所述两种酶为裂解脑啡肽的 Gly³-Phe⁴ 键的脑啡肽酶 (NEP, E. C. 3. 4. 24. 11) 和释放 N- 末端酪氨酸的氨肽酶 N (APN, E. C. 3. 4. 11. 2) (见 Roques 等人, 1993, Pharmacol. Rev. 45, 88-146)。

[0004] 已知这两种酶的混合抑制剂能完全保护内源性脑啡肽免于它们的酶催降解,显示脑啡肽的药理活性,特别是脑啡肽的止痛和抗抑郁活性。如现有技术所述,这两种酶活性的混合抑制剂是具有氧肟酸盐官能团的化合物 (FR 2 518 088 和 FR 2 605 004)、胺磷化合物 (FR 2 755 135 和 FR 2 777 780) 和氨基酸衍生物 (FR 2 651 229 和 W02007/048787)。就具有氧肟酸盐官能团的化合物而言,经侧脑室途径给药后观察到良好的体外和体内活性 (Eur. J. Pharmacol. 102, (1984), 525-528; Eur. J. Pharmacol., 165, (1989), 199-207; Eur. J. Pharmacol., 192, (1991), 253-262); 在关节炎大鼠模型中静脉给药 (iv) 后也能显示出显著的活性 (Brain Research, 497, (1989), 94-101)。就在专利申请 FR2651229 描述中的磷化氢衍生物和氨基酸衍生物而言,当研究的分子溶解于油、乙醇和水混合物时,经静脉途径给药后显示出良好的体内活性 (J. Med. Chem., 43, (2000), 1398-1408; J. Med. Chem., 44, (2001), 3523-3530; J. Pharm. Exp. Ther., 261, (1992), 181-190)。专利申请 W02007/048787 描述的氨基酸衍生物是溶于水介质的混合抑制剂,其以与给予人类相配的剂量,经静脉途径和经口服途径给予试验动物后具有止痛性质。不幸地,这些分子在动物疼痛模型中作用期短 (大约 40 分钟),最大值在大约 10 分钟,15-30 分钟后返回正常水平,如果在人类中也具有相同顺序的作用期,可能代表治疗用途上的重大障碍。

[0005] 应记得作用期是在作用位点,包含在药物中的活性成分产生出其治疗或预防作用的时间。然后其被生物体消除。

[0006] 为了改善这些分子的作用期,对它们的结构进行修饰。

发明内容

[0007] 本发明的一个目的是提供新型水溶性化合物,该化合物能同时抑制导致脑啡肽降解的两种酶活性,并且给药后,尤其是经静脉途径或经口服途径,能表达在中枢和外周试验的药理学性质,对于该化合物,对试验动物的作用期等于或长于 120 分钟。

[0008] 因此,所述新型化合物具有吗啡物质的性质(特别是止痛),对行为的有益作用(降低疼痛的情绪成分和抗抑郁的反应)和外周(止泻、止咳、抗炎)作用,而不具有其主要的缺点(耐受、身体和精神成瘾、呼吸抑制、便秘、恶心等等……)。

[0009] 进一步,对于炎症、神经原性和神经病理性疼痛,外周成分是显著的,并且本发明的化合物减轻、甚至消除伤害性疼痛,尤其是经口服途径施用,没有本发明的化合物,伤害性疼痛将被迫出现在中枢神经系统。以前通过使用拮抗剂——甲缩醛氧(不能进入大脑)证明了这个非常有趣但意想不到的结果(Milne R. J. 等人(1990)Neuroscience Lett. 114, 259-264)。这完全降低由本发明化合物刺激大脑阿片样受体引起的所有作用,不改变所述化合物对这些疼痛,特别是神经原性疼痛、神经病理性疼痛、神经炎性疼痛和伤害性疼痛的止痛作用。

[0010] 本发明的另一个目的是提供具有抗疼痛性质的已知化合物(但在大剂量时具有有害的继发效应)和本发明要求保护的化合物之间的组合物。这些组合物更特别地涉及吗啡和其衍生物, Δ^9 -四氢大麻酚(Δ^9 THC)和其衍生物以及 γ -氨基丁酸衍生物,例如加巴喷丁或普瑞巴林。事实上,能够确定通过一种本发明要求保护的化合物和一种前述止痛剂(吗啡、(Δ^9 THC、加巴喷丁)的亚活性剂量的组合获得的抗疼痛反应的有力增强。

[0011] 更特别地,本发明的目的是具有如下通式(I)的化合物:

[0012] $R_1NH-CH(R_2)-CH_2-S-S-CH_2-C(R_3)(R_4)-CONH-C-(R_5)(R_6)-COOR_7$

[0013] 其中:

[0014] R_1 代表(酰氧基)烷基氨基甲酸酯

[0015] $-C(O)-O-C(R_8)(R_9)-OC(O)-R_{10}$, 其中

[0016] $-R_8$ 和 R_9 各自独立地代表氢原子、烷基、芳基、芳烷基、环烷基、杂环烷基、杂烷基、杂芳基或杂芳基烷基;或

[0017] $-R_8$ 和 R_9 可以一起形成 5 或 6 元环烷基;

[0018] $-R_{10}$ 代表烷基、芳基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、杂烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0019] R_2 代表:

[0020] - 具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链的饱和烃链,其任选地被如下基团取代:

[0021] ❖ OH、 OR_{11} 、SH、 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$, 在这些基团的每一个中, R_{11} 代表具有 1 至 4 个碳原子的直链或支链烃链、苯基或苄基,

[0022] ❖ 苯基或苄基,其任选地被如下基团取代:

[0023] • 1 至 5 个卤原子,尤其是氟,

[0024] • OH、 OR_{11} 、SH、 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$, R_{11} 具有如前相同的含义,

[0025] - 被 5 或 6 元、芳香或饱和的、杂环取代的亚甲基,所述杂原子为氮或硫原子,其任选地被氧化为 N-氧化物或 S-氧化物,

[0026] 当 R_4 代表氢原子时, R_3 代表:

[0027] - 苯基或苄基,其任选地被如下基团取代:

[0028] ❖ 1 至 5 个卤原子;

[0029] ❖ SR_{11} 、 $S(O)R_{11}$ 或 OR_{11} , R_{11} 具有如前相同的含义,

[0030] ❖ 任选地被具有 1 至 6 个碳原子的环状或直链脂肪族基团单-或双-取代的氨基;

- [0031] -5 或 6 元杂芳基,所述杂原子为氧、硫或氮原子;
- [0032] -被 5 或 6 元、芳香或饱和的杂环取代的亚甲基,所述杂原子为氧、氮或硫原子,所述氮和硫原子可以被氧化为 N-氧化物或 S-氧化物;
- [0033] 当 R_4 不为 H 时, R_3 和 R_4 一起形成 5 或 6 元饱和环;
- [0034] R_5 和 R_6 各自独立地代表:
- [0035] -氢原子,
- [0036] -具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链饱和烃链,其任选地被 OH、 OR_{11} 、SH 或 SR_{11} 、COOH 或 $COOR_{11}$ 取代,在这些基团的每一个中, R_{11} 具有如前相同的含义,
- [0037] -苯基或苄基,其任选地被如下基团取代:
- [0038] ❖具有 1 至 4 个碳原子的直链或支链烷基链,
- [0039] ❖1 至 5 个卤素,尤其是氟或溴;
- [0040] ❖OH、 OR_{11} 、SH 或 SR_{11} , R_{11} 具有如前相同的含义,
- [0041] 或者 R_5 和 R_6 一起形成 5 或 6 元饱和环;
- [0042] R_7 代表
- [0043] -氢原子;
- [0044] -苯基或苄基,其任选地被 1 至 5 个卤素,尤其是氟取代;
- [0045] -通式 $CR_{12}(R_{13})C(O)OR_{14}$ 的基团;
- [0046] -基团 $OCR_{12}(R_{13})OC(O)R_{14}$;
- [0047] -基团 $CR_{12}(R_{13})OC(O)OR_{14}$;
- [0048] R_{12} 和 R_{13} 各自独立地代表氢原子、烷基、芳基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、杂烷基、杂芳基或杂芳基烷基;
- [0049] R_{12} 和 R_{13} 可以一起形成 5 或 6 元环烷基;
- [0050] R_{14} 代表烷基、芳基、芳基烷基、环烷基、杂环烷基、杂烷基、杂芳基或杂芳基烷基;
- [0051] 以及所述通式 (I) 化合物与药学上可接受的无机或有机碱形成的加成盐和每一个它们的异构体,特别是它们的光学异构体(对映体和非对映异构体)。
- [0052] 对于分子的“药物”部分,即通式部分 $-NH-C^*(R_2)-CH_2-S-S-CH_2-C^*(R_3)(R_4)-CONH-C^*(R_5)(R_6)-COO-$,根据本发明的化合物可能具有最多 3 个不对称碳(以星号标记),当 $(R_3)(R_4)$ 和 $(R_5)(R_6)$ 形成环而不含任何不对称时,所述化合物减少为单个不对称中心。这些中心是光学纯,具有如天然氨基酸的绝对构型,即 S 构型。“前药”部分可能的不对称中心(即取代基 R_1 和 R_7)不被拆分:因此这些潜在的对称中心可以平等地为 R 或 S 构型。
- [0053] 本发明的目的也为通式 (I) 化合物的加成盐,通过药学上可接受的有机或无机碱获得。
- [0054] 在本发明中,“药学上可接受”是指在制备药物组合物中有用的物质,其通常是安全、无毒的,既不是生物学上的也不是另外不合需要的,其在兽医用途和人类医药用途中为可接受的。
- [0055] 进一步,化合物“药学上可接受的盐”是指具有母体化合物需要的药理活性的盐。这类盐包括当存在于母体化合物中的酸质子或者被金属离子,例如碱金属离子、碱土金属离子替代;或者与有机或无机碱结合时形成的盐。可接受的有机碱包括二乙醇胺、乙醇胺、

N- 甲基葡萄糖胺、三乙醇胺、氨丁三醇等等,或天然碱性氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸)或非天然碱性氨基酸(例如伪赖氨酸)。可接受的无机碱特别地包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、氢氧化锂、碳酸钠和氢氧化钠。有利地,酸质子被 Na^+ 离子替代,尤其是通过使用氢氧化钠。

[0056] 在本发明范围内,表述“烃链”指直链或支链烷烃、烯烃或炔烃。特别地,表述“饱和烃链”指包括 1 至 6 个碳原子 ($\text{C}_1\text{-C}_6$) 或 1 至 4 个碳原子 ($\text{C}_1\text{-C}_4$) 的直链或支链烷基。作为具有 1 至 4 个碳原子的烷基的例子可以包括甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、1- 甲基 - 乙基、1- 甲基 - 丙基、2- 甲基 - 丙基。作为具有 1 至 6 个碳原子的烷基的例子可以进一步包括戊基、己基、1- 甲基 - 丁基、1- 甲基 - 戊基、2- 甲基 - 丁基、2- 甲基 - 戊基、3- 甲基 - 丁基、3- 甲基 - 戊基、4- 甲基 - 戊基或 1- 乙基 - 丙基,或 1- 乙基 - 丁基、2- 乙基 - 丁基。

[0057] 表述“不饱和烃链”指包含 2 至 6 个碳原子,或 2 至 4 个碳原子的直链或支链的烯基(至少一个双键),例如乙炔基、烯丙基等等,或直链或支链的炔基(至少一个三键)。

[0058] 术语“杂烷基”是指本发明中,如前定义的任何烃链,含有一个或几个杂原子,例如硫、氮或氧原子。

[0059] 术语“环烷基”是指在本发明中,饱和或非饱和,非芳香的任何 3 至 7 元,特别是 5 或 6 元烃环,例如环戊基和环己基。

[0060] 术语“杂环烷基”是指在本发明中,饱和或非饱和,非芳香的任何 5 至 7 元,含有一个或多个杂原子(例如硫、氮或氧原子)的烃环。

[0061] 表述“脂肪族的、环状或直链基团”是指如前定义的“烃链”或“环烷基”。

[0062] 术语“芳基”是指在本发明中,具有 5 至 10 个碳原子的一个或多个芳环,其可以互相稠合。特别地,芳基可以是单环或双环基团,例如苯基或萘基。有利地,所述芳基为苯基。

[0063] 术语“杂芳基”是指在本发明中,具有 5 至 10 个环原子的任何芳基,所述环原子为碳原子或一个或多个杂原子,例如硫、氮或氧原子。根据本发明的杂芳基可以通过一个或两个稠合环形成。杂芳基的例子为喹啉基、异喹啉基、咪唑基、吡啶基、吡啶基、三嗪基、噻唑基和苯硫基。

[0064] 本发明范围内的术语“芳烷基”指定为芳基(如前所定义)连接至烷基(如前所定义),例如苄基或苯乙基。

[0065] 本发明范围内的术语“杂芳烷基”指杂芳基(如前所定义)连接至烷基(如前所定义)。

[0066] 术语“杂环”是指如前所定义的“杂环烷基”或“杂芳基”。作为芳香的或饱和的具有 5 或 6 个原子的杂环(具有如氮或硫原子的杂原子)的例子可以包括,但不限于如下基团:噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、异噻唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吡咯烷基、吡咯啉基、咪唑烷基、吡唑啉基、吡唑啉基、哌啶基、哌嗪基、噻二唑基,所述氮和硫原子任选地被氧化为 N- 氧化物或 S- 氧化物。作为芳香的或饱和的具有 5 或 6 个原子的杂环(具有如氧原子的杂原子)的例子可以包括,但不限于如下基团:呋喃基、吡喃基、异噁唑基、吗啉基、呋吡基、噁唑基、噁唑烷基、唑啉基。

[0067] 本文使用的术语“卤素”指氯、溴、碘和氟原子。

[0068] 基团 R_1 有利地代表(酰氧基)烷基氨基甲酸酯

[0069] $-(CO)-O-C(R_8)(R_9)-OC(O)-R_{10}$, 其中

[0070] $-R_8$ 和 R_9 各自独立地代表氢原子或烷基; 且

[0071] $-R_{10}$ 代表烷基, 特别是异丙基。

[0072] 基团 R_2 有利地代表具有 1 至 4 个碳原子的烷基, 其任选地被 OR_{11} 、 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$ 取代, 在每一个这些基团中, R_{11} 具有如前相同的含义。 R_2 更有利地代表具有 1 至 4 个碳原子的烷基, 其被 SR_{11} 或 $S(O)R_{11}$ 取代, R_{11} 具有如前相同的含义, 特别是 R_{11} 代表具有 1 至 4 个碳原子的直链或支链饱和烃链, 更有利地是甲基。

[0073] 根据本发明的一个有利选择, 基团 R_4 代表氢原子。在该选择的范围, 基团 R_3 有利地代表:

[0074] $-$ 苄基或苯基,

[0075] $-$ 被具有 5 或 6 个原子的芳香或饱和的杂环取代的亚甲基, 所述杂原子为氮或硫原子, 其任选地被氧化为 N -氧化物或 S -氧化物。

[0076] 特别地, 基团 R_4 代表氢原子且基团 R_3 代表苄基或被具有 5 或 6 个原子的芳香或饱和的杂环取代的亚甲基, 所述杂原子为氮或硫原子, 其任选地被氧化为 N -氧化物或 S -氧化物, 甚至更有利地代表苄基。

[0077] 根据本发明的另一个有利选择, 基团 R_4 和 R_3 与其连接的碳一起形成 5 或 6 元环烷基, 特别是环戊烷或环己烷。

[0078] 基团 R_5 有利地代表氢原子。

[0079] 基团 R_6 有利地代表氢原子或具有 1 至 6 个碳原子, 甚至更有利地具有 1 至 4 个碳原子的烷基, 其任选地被 OH 、 OR_{11} 、 SH 、或 SR_{11} 、 $COOH$ 或 $COOR_{11}$ 取代, 在每一个这些基团中, R_{11} 具有如前相同的含义。基团 R_6 甚至更有利地代表氢原子或具有 1 至 6 个碳原子, 甚至更有利地具有 1 至 4 个碳原子的烷基, 其被 OH 、 SH 、 $COOH$ 或 $COOR_{11}$ 取代, R_{11} 具有如前相同的含义。

[0080] 基团 R_7 有利地代表:

[0081] $-$ 氢原子;

[0082] $-$ 苯基或苄基;

[0083] $-$ 具有 1 至 4 个碳原子的烷基;

[0084] $-$ 基团 $CR_{12}(R_{13})O(CO)OR_{14}$, 其中 R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 具有如前相同的含义, 特别是 R_{12} 代表氢原子且 R_{13} 和 R_{14} 各自独立地代表任选地被甲氧基或 C_5 - C_6 环烷基取代的 C_1 - C_4 烷基。

[0085] 特别地, 基团 R_7 代表氢原子或苄基。

[0086] 本发明特别涉及以下化合物:

[0087] 1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基二硫基甲基}-3-甲基-硫基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯,

[0088] 1-{1-[2-(苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲硫基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯,

[0089] 1-{1-[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫基-甲基]-3-甲硫基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯,

[0090] 1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基二硫基甲基}-3-甲烷-亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯,

[0091] 1-{1-[2-苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基-二硫基甲基}-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

[0092] 1-{1-2[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

[0093] 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲基-亚磺酰基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸,

[0094] 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲基-硫基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸,

[0095] 苄基 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲烷亚磺酰基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸酯,

[0096] 苄基 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲硫基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸。

[0097] 根据本发明的一个有利选择,如下化合物是优选:

[0098] 1-{1-[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫基-甲基]-3-甲硫基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

[0099] 1-{1-[2-苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基-二硫基甲基}-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

[0100] 1-{1-2[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯,

[0101] 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲烷-亚磺酰基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸,

[0102] 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲基-硫基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸,

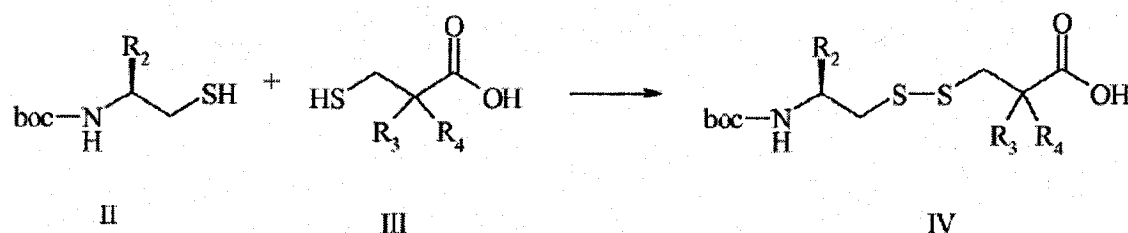
[0103] 苄基 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲烷亚磺酰基-丁基二硫基甲基]-环戊烷-羰基}-氨基)-琥珀酸酯,

[0104] 苄基 2-({1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基氨基)-4-甲硫基-丁基二硫基甲基]-环戊烷羰基}-氨基)-琥珀酸酯。

[0105] 通式(I)化合物通过如下方法得到:

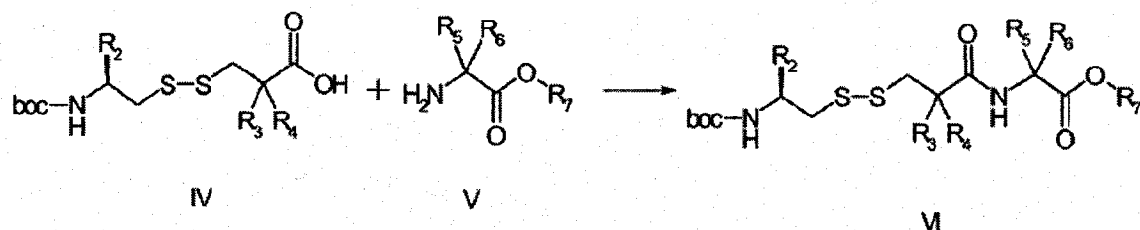
[0106] -胺官能团经叔丁氧羰基(Boc)保护的 β -氨基硫醇(II)与巯基烷酸(III)通过甲氧基羰基磺酰氯进行缩合。

[0107]



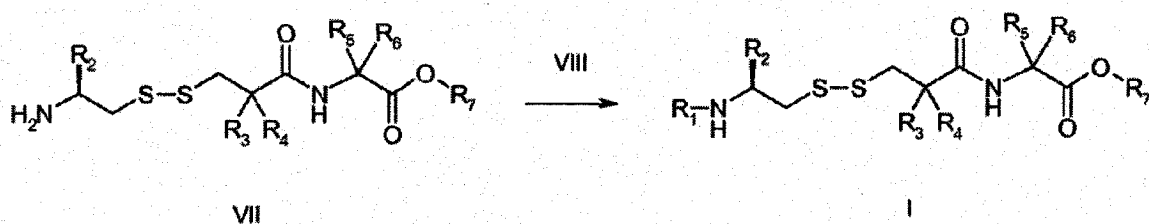
[0108] 由此得到的二硫化物 IV 在标准肽偶联条件下,优选通过 TBTU(O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸酯)的作用在 DIEA(N,N-二异丙基乙基胺)存在下,与氨基酯 V 偶联,从而得到化合物 VI。

[0109]



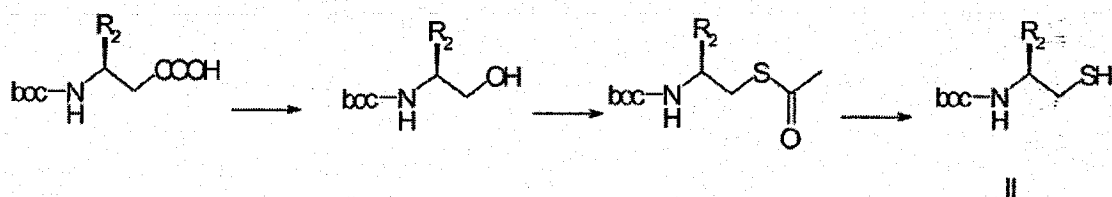
[0110] 在甲酸的作用下进行化合物 VI 的 Boc 基团的脱保护,由此形成的化合物 VII 与氨基甲酸酯的活化酯 VIII ($R_1\text{-O-(p. NO}_2\text{)Ph}$ 或 $R_1\text{-O-琥珀酰亚胺}$) 反应,从而得到通式 (I) 化合物。

[0111]



[0112] 从相应的商品 Boc- α -氨基-酸 (S 绝对构型), 根据本领域技术人员公知的方法经构型保持在三步中得到 Boc- β -氨基硫醇 (II) (J. Med. Chem., 35, 1992, 1259)。

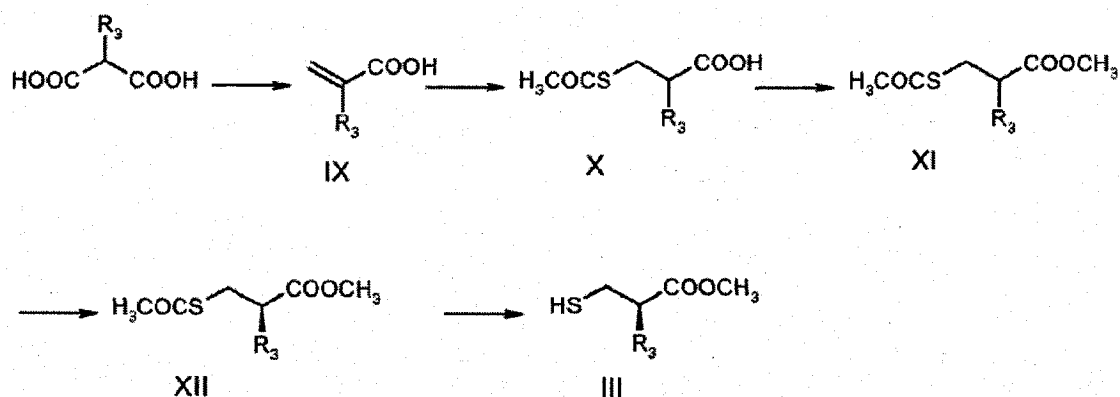
[0113]



[0114] 根据 R_3 和 R_4 基团的性质用两种不同方法合成巯基-烷酸 (III)。

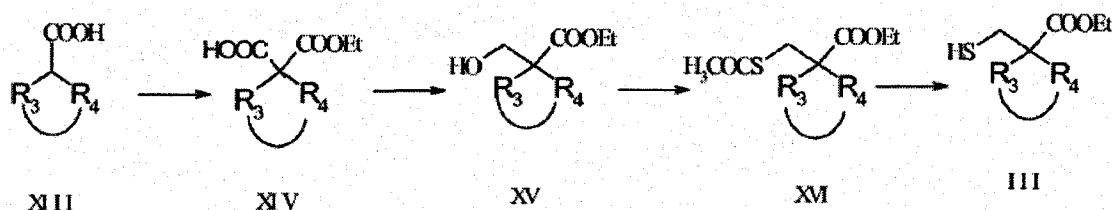
[0115] 如果 $R_4 = \text{H}$, 根据本领域技术人员公知的方法 (Ber. 57, (1924), 1116), 从相应的丙二酸得到化合物 (III), 该丙二酸被转换成丙烯酸盐 (IX)。将硫代乙酸加成至丙烯酸盐 (IX) 得到外消旋衍生物 (X), 举例所述外消旋衍生物 (X) 与甲醇 MeOH 在 EDCI (1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺) 和 DMAP (4-二甲基氨基吡啶) 存在下, 或与甲醇在亚硫酸氯存在下进行酯化。通过 α -糜蛋白酶的拆分, 可能分离到 S 构型的硫代乙酸酯 (XII) (Bioorg. Med. Chem. Lett., 3, 1993, 2681)。硫酯的碱水解得到化合物 (III)。

[0116]



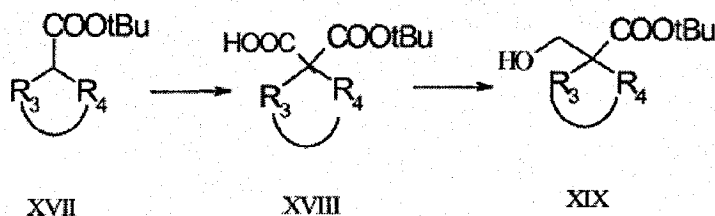
[0117] - 如果 $\text{R}_4 \neq \text{H}$, 从相应的羧酸 (XIII) 得到化合物 (III)。用氯甲酸乙酯在 LDA (二异丙基酰胺锂) 的 THF (四氢呋喃) 溶液存在下处理该羧酸, 得到化合物 (XIV)。将 (XIV) 的羧酸官能团转化成混合酸酐并被 NaBH_4 还原成醇 (XV)。将该醇活化成甲磺酸盐, 然后用硫代乙酸钾取代得到 (XVI), (XVI) 经碱水解得到 (III)。

[0118]



[0119] 可以建议化合物 III 的另一个合成路线从酸 XIII 得到。将 XIII 转化成叔丁酯 XVII, 用 LDA 的 THF 溶液处理, 接着用 CO_2 碳酸化得到 衍生物 XVIII。然后将 XVIII 的酸官能团还原成醇, 从而得到化合物 XIX。反应顺序与在前的合成路线提出的顺序相同。

[0120]



[0121] 本发明的另一个目的是如前所定义的化合物或通过如前所定义的方法得到的化合物作为药物的用途。本发明的目标也是药物组合物, 其含有作为活性成分的至少一种通式 (I) 化合物或其一种盐或与一种或多种惰性支撑物结合的其盐的水合物或其它药学上可接受的载体。

[0122] 这些化合物具有吗啡物质的性质, 特别是止痛, 并且特别是在其外周成分中 (炎性、神经原性和神经病理性成分), 对行为的有益作用, 特别是在抑郁和 / 或焦虑的情况下, 其不具有后者的主要的缺点 (耐受、成瘾、呼吸抑制、便秘、等等)。因此, 相反于与 δ 受体相互作用的外源性阿片激动剂, 根据本发明的混合抑制剂具有抗抑郁作用, 而不引起触发癫痫样痉挛或抽搐的任何风险, 并且作用迅速 (Baamonde A. 等人, 1992, Jutkiewicz E. M. 等人, 2005)。这些化合物在伤害感受器作用于外周 (Stein C. 等人 (1993) Lancet 342321-324 (2003) Nature Med., 9, 119-124)。有利地, 口服给药的根据本发明的化合物在

有效浓度不透入中枢神经系统；通过预先给予拮抗剂——甲基纳洛酮——不能穿过血脑屏障阻碍根据本发明的化合物的止痛作用的观察证实了这点。

[0123] 因此，根据本发明的化合物的主要应用是止痛、抗抑郁和治疗成瘾的领域。这些化合物可以特别用作针对神经炎性、神经原性、神经病理性和伤害性疼痛的潜在止痛剂，和抗抑郁剂。进一步，根据本发明的通式 (I) 化合物经口服给予后在动物模型针对如下疾病具有相当令人感兴趣的作用，其预示在人类中的活性：

[0124] - 各种神经病理性和疼痛，糖尿病性神经病，由抗癌剂、抗病毒剂 (HIV-1) 的预先给予，由带状疱疹触发的神经病，等等……；

[0125] - 痛觉过敏和异常性疼痛；神经病理性和神经炎性异常性疼痛和痛觉过敏，由给予福尔马林、角叉胶、弗氏佐剂引起的疼痛，由坐骨神经局部或单侧压迫产生的痛觉过敏和异常性疼痛，由给予骨髓肿瘤细胞产生的痛觉过敏和异常性疼痛，等等……

[0126] 止痛药指减轻或抑制疼痛，而不引起感觉或意识丧失的药物。

[0127] 总之，本发明的目的不仅在于治疗过度疼痛刺激引起的疼痛对应的症状，而且在于治疗神经病理性或神经原性疼痛对应的症状，神经病理性或神经原性疼痛例如以信号形式不再具有生理作用，但其事实上已变为病态的和慢性的。

[0128] 在潜在地对通式 (I) 化合物的作用敏感神经病理性和神经原性慢性疼痛中，所述神经病理性和神经原性慢性疼痛的例子包括，但不限于由外伤源（例如臂神经丛）、新陈代谢源（例如糖尿病、酒精性神经病）、传染源（例如带状疱疹、疱疹）、毒性源（例如砷、铅）、侵袭源（癌症疼痛）或先天源、神经根（例如腰背或颈）源、神经痛（三叉神经）的神经损伤导致的外周或中枢神经病的疼痛；幻肢疼痛；非炎性关节疼痛（例如关节病）；纤维肌痛；脊柱疼痛；手术后疼痛；药用疼痛（例如来自抗肿瘤剂、抗病毒剂）。

[0129] 根据本发明的化合物也可以用于治疗多发性硬化（中枢神经系统的炎性疾病）。

[0130] 非常令人感兴趣，根据本发明的化合物具有长的作用期，特别是等于或大于 120 分钟，更有利地是等于或大于 150 分钟，甚至更有利地是等于或等于 180 分钟。

[0131] 根据本发明的药物组合物举例可以是经口、鼻（用气雾剂给予）、舌下（经舌扩散给予）、直肠、肠胃外、静脉内和皮途径给予的组合物。可以口服给予的组合物的例子可以包括片剂、明胶胶囊、颗粒、微球、粉末和口服溶液或悬浮液。

[0132] 此外非常令人感兴趣，已证明根据本发明的化合物特别适于口服给药。

[0133] 因此该给药途径允许根据本发明的组合物的作用，而不透入中枢神经系统。这特别令人感兴趣，因为抑制了所有在大脑和 / 或脊髓中阿片受体的活化导致的不希望的作用。当组合物含有补充化合物时，可以同样的应用，所述补充化合物可以具有对中枢神经系统的不希望的作用，例如天然大麻类或合成衍生物。这还允许增加组合物成分的大脑的生物利用度。

[0134] 根据本发明有利的选择，通式 (I) 化合物与大麻类组合使用。

[0135] 在本发明中，表述“大麻类”指 Δ^9 THC，CB1 受体的合成的激动剂或花生四烯乙醇胺降解的抑制剂。引入根据本发明的组合物的大麻类优选为 Δ^9 THC。

[0136] 本发明的目的也是根据本发明的新型化合物与吗啡或其一种衍生物的组合。

[0137] 更特别地，本发明的目的也是根据本发明的新型化合物与 γ -氨基丁酸的衍生物，例如加巴喷丁或普瑞巴林的组合。

[0138] 本发明的目的也是药物组合物,其含有至少一种如前所定义的通式 (I) 化合物,至少:

[0139] - 一种大麻类衍生物,特别是 Δ^9 THC 或其代谢的保护子(见 Piomelli 等人,TIPS, 2000),和/或

[0140] - 吗啡或其一种衍生物,和/或

[0141] - γ -氨基丁酸的衍生物,例如加巴喷丁或普瑞巴林

[0142] 和药学上合适的赋形剂,特别是用于经口、鼻、静脉内或皮途径给药的合适的赋形剂。

[0143] 本发明还涉及在药物组合物中至少一种大麻类衍生物,特别是 Δ^9 THC,和/或吗啡或其一种衍生物,和/或 γ -氨基丁酸的衍生物,例如加巴喷丁或普瑞巴林的用途,从而增强如前所定义的通式 (I) 化合物的止痛和/或抗抑郁作用。

[0144] 本发明还涉及至少一种如前所定义的通式 (I) 化合物和至少一种大麻类衍生物,特别是 Δ^9 THC,和/或吗啡或其一种衍生物,和/或 γ -氨基丁酸的衍生物,例如加巴喷丁或普瑞巴林的组合物在制备旨在治疗抑郁和疼痛的药物中的用途,所述疼痛特别是急性疼痛、炎性疼痛、神经源性疼痛、神经病理性疼痛、精神性疼痛、异常性疼痛。

[0145] 本发明的另一个目的是药物组合物,其含有:

[0146] i) 至少一种如前所定义的通式 (I) 化合物

[0147] ii) 至少一种大麻类衍生物,和/或

[0148] iii) 吗啡或其一种衍生物,和/或

[0149] iv) 至少一种 γ -氨基丁酸的衍生物,例如加巴喷丁或普瑞巴林,

[0150] 作为组合产品用于同时的、分开的使用或适时延伸。

[0151] 本发明化合物的有效剂量依据多个参数变化,例如选择的给药途径、重量、年龄、性别、要被治疗的病理的进行阶段和要被治疗个体的敏感性。因此,最佳剂量不得不由本领域专家依据相关估计的参数决定。

[0152] 本发明的目的也是治疗任何前面提及疾病的方法,其包括给予需要该治疗的患者至少一种根据本发明的化合物,或含有至少一种这些化合物的组合物。在该方法中,可以单独或组合,尤其是与至少一种前述的化合物组合,使用根据本发明的化合物。

附图说明

[0153] 在所有附图中,以下列方式表示数据分析 (p, Student's test):

[0154] *p < 0.1 与对照比较

[0155] **p < 0.01 与对照比较

[0156] ***p < 0.001 与对照比较

[0157] 图 1:口服给予载体 (□) 或根据本发明的化合物 (■) 后,爪子舔舐 (舔,干燥) 的次数相对于时间 (分钟)。

[0158] 横坐标:时间 (分钟);纵坐标:干舔舐的次数。

[0159] 1A:实施例 6 的化合物 1B:实施例 8 的化合物;1C:实施例 10 的化合物;1D:实施例 12 的化合物;1E:实施例 14 的化合物;1F:实施例 16 的化合物。

[0160] 图 2:口服给予载体 (□) 或根据本发明的化合物或参考化合物 (■) 后,爪子舔

舐（舔，干燥）的次数相对于时间（分钟）。

[0161] 横坐标：时间（分钟）；纵坐标：干舐舐的次数。

[0162] 2A：实施例 6 的化合物；2B：专利申请 W02007/048787 的化合物 15。

[0163] 图 3：神经病理性疼痛模型：坐骨神经的部分结扎（小鼠）。口服给予载体（□）或实施例 10 的化合物（■）产生的反应：爪子的移动（秒）相对于时间（分钟）。

[0164] 化合物 10：50mg/kg

[0165] 载体：EtOH/0.5%甲基纤维素（1.5/98.5）

[0166] 在手术后 14 天进行试验；同侧爪子。

[0167] 横坐标：分钟（时间），纵坐标：爪子的退缩（秒）。

[0168] 足底测试：热痛觉过敏的评价

[0169] 对侧爪子的平均数：化合物 10 在 90 分钟 = 8.3 秒。

[0170] 图 4：Von Frey 试验：口服给予载体（□）或实施例 10 的化合物（■）后，Von Frey 压力（g）相对于时间（分钟）。

[0171] 化合物 10：50mg/kg

[0172] 载体：EtOH/0.5%甲基纤维素（1.5/98.5）

[0173] 横坐标：分钟（时间），纵坐标：Von Frey 压力（g）。

[0174] 在手术后 14 天进行试验。

具体实施方式

[0175] 本发明将进一步被后面的实施例解释，但不以任何方式限制。在表 I 中给出制备化合物的清单，包括在实施例 6、8、10、12、14、16、19 和 22 中描述的所有化合物。

[0176] ❖ R₁ 代表

[0177] -C(O)-O-CH(CH₃)-OC(O)-iPr 基团。

[0178] ❖ R₆ 代表氢原子。

[0179] 表 1：实施例的基团

[0180]

实施例	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₇
6	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃	苄基	H	H	-CH(CH ₃)-OC(O)-O-C ₂ H ₅
8	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃	苄基	H	H	苄基
10	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃	苄基	H	H	H
12	-CH ₂ -CH ₂ -SO-CH ₃	苄基	H	H	-CH(CH ₃)-OC(O)-O-C ₂ H ₅
14	-CH ₂ -CH ₂ -SO-CH ₃	苄基	H	H	苄基
16	-CH ₂ -CH ₂ -SO-CH ₃	苄基	H	H	H
19	-CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₃	-(CH ₂) ₄ -		-CH ₂ -CO OH	H
22	-CH ₂ -CH ₂ -SO-CH ₃	-(CH ₂) ₄ -		-CH ₂ -CO OH	H

[0181] 实施例 1:叔丁基 (1- 巯基甲基 -3- 甲硫基 - 丙基) - 氨基甲酸酯的合成

[0182] 根据 J. Med. Chem., 35, 1992, 2473 中描述的方法制备该化合物。白色固体;熔点 37°C ;Rf(环己烷 (CHex)/ 乙酸乙酯 (AcOEt)) 1/1 = 0.73)。

[0183] HPLC(Kromasil C18, CH₃CN(0.1% TFA) 50% /H₂O(0.1% TFA) 50%) Rt = 15.7 分钟。

[0184] NMR(CDCl₃) δ (ppm) 1.30 (1H, t), 1.52 (9H, s), 1.80-1.90 (2H, m), 2.10 (3H, s), 2.55 (2H, t), 2.80 (2H, t), 3.88 (1H, m), 4.80 (1H, d)。

[0185] 实施例 2: (2S)-2- 苄基 -3- 巯基 - 丙酸的合成

[0186] 步骤 1: 根据 Bioorg. Med. Chem. Lett., 3, (1993), 2681 中描述的方法, 用 α -糜蛋白酶处理甲基 3- 乙酰基巯基 -2- 苄基 - 丙酸酯 (通过相应酸的酯化得到)。产率 71%; 对映体过量 ee 88% $\alpha_D^{20^\circ}$ -42.7°

[0187] 步骤 2: (2S)-2- 苄基 -3- 巯基 - 丙酸

[0188] 在 0°C 将步骤 1 的化合物溶解于脱气甲醇中。在惰性气氛下, 加入 3 当量 NaOH (苏打) 1N 并且在室温搅拌混合物 30 分钟。用 HCl 6N 酸化混合物并且减压下蒸发 MeOH。用 EtOAc 萃取水相。将有机层用饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥并且蒸发干燥。得到黄色油。定量的产率。

[0189] HPLC(Kromasil C18 (CH₃CN(0.1% TFA) 60% /H₂O(0.1% TFA) 40%) Rt = 4.96 分钟。

[0190] NMR(CDCl₃) δ (ppm) 1.5 (1H, t), 2.7-3.2 (5H, m), 7.25 (5H, m), 12 (1H, s)。

[0191] 实施例 3: 2-(2- 叔丁氧基羰基氨基 -4- 甲硫基 - 丁基二巯基甲基) -3- 苄基 - 丙酸的合成

[0192] 在 0°C 氮气下冷却 23mL MeOH 和 23mL THF 的混合物并且加入氯羰基亚磺酰氯 (1.3mL, 1.1 当量)。在 0°C 搅拌混合物 15 分钟从而得到甲氧基羰基亚磺酰氯。同时加入实施例 1 化合物 (1.06 当量) 的 16mL THF 溶液。将混合物移入室温并且搅拌 30 分钟。在 Et₃N (1 当量) 存在下, 将该溶液滴加入实施例 2 化合物 (1 当量) 的 100mL 脱气 CHCl₃ 溶液中。在室温搅拌化合物 1 小时, 然后将溶剂蒸发干燥。将残余物用 CH₂Cl₂ 吸收并且将有机相用 10% 柠檬酸溶液、饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥。过滤和蒸发干燥后, 得到淡黄色油, 其用于随后的反应, 产率 98%。

[0193] HPLC(Kromasil C18 (CH₃CN(0.1% TFA) 70% /H₂O(0.1% TFA) 30%) Rt = 7.71 分钟。

[0194] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm): 1.35 (9H, s), 1.7 (2H, m), 2.0 (3H, s), 2.4 (2H, t), 2.7-3.0 (5H, m), 3.70 (1H, s), 6.80 (1H, d), 7.20 (5H, m)。

[0195] 实施例 4: 1- 乙氧基羰氧基 - 乙基氨基 - 乙酸酯三氟乙酸盐的合成

[0196] 将 Boc-Gly (4.88g) 和 Et₃N (三乙胺) (4.65mL, 1.2 当量) 溶解于 25mL 乙酸乙酯中。加入乙基 -1- 氯乙基碳酸盐 (根据 Barcelo 等人, Synthesis, 1986, 627 制备) (4.68g, 1.1 当量) 和 NaI (1.64g, 0.4 当量) 并且将混合物回流 16 小时。过滤沉淀物并且将 15mL 乙酸乙酯和 20mL 水加入滤液中。分离有机相并且用乙酸乙酯萃取水相三次。将收集的有机相用 10% 柠檬酸溶液、10% NaHCO₃ 溶液、饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤和蒸发干燥。得到 7.8g 橙色油。产率 95%。Rf(环己烷 /AcOEt : 8/2) 0.40。

[0197] 将步骤 1 油状的产品置于 24mL CH_2Cl_2 和 21.3mL TFA 的溶液中。在室温搅拌 1 小时后,将反应混合物蒸发干燥。用乙醚/己烷混合物吸收得到的黄色的油。将形成的沉淀物用乙醚/己烷混合物洗涤三次,然后干燥。白色固体 7.2g(产率 85%)。

[0198] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm): 1.2(3H, q), 1.5(3H, d), 3.90(2H, dd), 4.10(2H, q), 6.75(1H, q), 8.37(3H, s)。

[0199] **实施例 5**: 1-乙氧基羰氧基-乙基[2-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基甲基)-3-苯基-丙酰基氨基]-乙酸酯

[0200] 将实施例 3 的化合物(2g)、实施例 4 的化合物(1.47g, 1.1 当量)、TBTU(1.62g, 2 当量)和 DIEA(2.57ml) 溶液于 20mL DMF 中。在室温搅拌混合物 15 分钟,然后减压蒸发 DMF。用乙酸乙酯吸收残余物,并且用 10%柠檬酸溶液、10% NaHCO_3 溶液和饱和 NaCl 溶液洗涤有机相。将该溶液用 Na_2SO_4 干燥,过滤并且蒸发干燥。用硅胶柱纯化粗产品(环己烷/AcOEt:6/4)。白色固体 2.06g(产率 75%)。

[0201] HPLC Kromasil C18(CH_3CN (0.1% TFA)70%/ H_2O (0.1% TFA)30%) R_t = 11.2 分钟。质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 631$ 。

[0202] **实施例 6**: 1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基-羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苯基-丙基二硫基-甲基}-3-甲基硫基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯

[0203] 将实施例 5 的化合物(1.7g) 溶解于 17mL 甲酸中,并且在室温搅拌混合物 2 小时。真空中蒸发甲酸,将残余物用环己烷吸收三次并且蒸发干燥。黄色油 1.5g(产率 97%)。

[0204] 将得到的甲酸盐溶解于 20mL CH_2Cl_2 和 2.4mL DIEA(5 当量)中。加入 1.15g(1.5 当量)1-(2,5-二氧代-环戊氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯并且在室温搅拌混合物 1 小时。蒸发溶剂并且用乙酸乙酯吸收残余物。将有机相用水、10%柠檬酸溶液、饱和 NaCl 溶液洗涤,用 Na_2SO_4 干燥,然后过滤并且蒸发干燥。

[0205] 经半制备型 HPLC 用 Kromasil C18 柱纯化(CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA):70/30)。白色固体 0.96g(产率 50%)。

[0206] HPLC(Kromasil C18(CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA):70/30) R_t = 10.98 分钟。质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 577$ 。

[0207] NMR(CDCl_3) δ (ppm): 1.10(6H, d), 1.25(3H, t), 1.5(2x3H, d), 1.65-1.85(2H, m), 2.47(4H, m), 2.5(1H, m), 2.5-3.00(5H, m), 3.90-4.00(3H, m), 4.15(2H, q), 4.9(1H, d), 6.4(1H, t), 6.75(2x1H, q), 7.20(10H, m)。

[0208] **实施例 7**: 苄基[2-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基甲基)-3-苯基-丙酰基-氨基]-乙酸酯

[0209] 将实施例 3 的化合物(4g) 和作为 APTS 盐的甘氨酸苄基酯(4.55g, 1.5 当量)置于 DMF 溶液(20mL)中。加入 TBTU(3.43g, 1.2 当量)和 DIEA(5mL)。在室温搅拌混合物 15 分钟。然后根据实施例 5 描述的方法处理反应混合物。得到白色固体,5.3g(产率 99%) 质谱 $(\text{M}+\text{H}) = 593$ 。

[0210] HPLC(Kromasil C18, CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA):70/30) R_t = 12.9 分钟 NMR(CDCl_3) δ (ppm) 1.4(9H, s), 1.7-1.9(2H, m), 2.10(3H, s), 2.5(2H, m), 2.8-3.10(7H, m), 3.80-4.10(3H, m), 4.70(1H, d), 5.15(2H, s), 6.60(1H, t), 7.20-7.40(10H, m)。

[0211] **实施例 8**: 1-{1-[2-(苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫基甲

基]-3-甲硫基-丙基-氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯

[0212] 将实施例 7 的化合物 (724mg) 溶解于 5mL TFA 和 5mL CH_2Cl_2 中。在 0℃ 搅拌混合物 3 小时。减压蒸发混合物并且将残余物用水吸收和冷冻干燥。白色固体 720mg (产率 97%) 质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ 607$ 。

[0213] HPLC(Kromasil C18, (CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA) :50/50) $R_t = 6.2$ 分钟

[0214] 将得到的三氟乙酸盐 (720mg) 溶解于 10mL CH_2Cl_2 中。加入 DIEA (1mL, 5 当量), 接着加入 500mg (1.5 当量) 1-(2,5-二氧化-环戊氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯并且在室温搅拌混合物 1 小时。蒸发溶剂并且用乙酸乙酯吸收残余物。将有机相用水、饱和 NaCl 溶液洗涤并且用 Na_2SO_4 干燥。过滤和蒸发干燥后, 得到油状的化合物, 该化合物经半制备型 HPLC 用 Kromasil C18 柱纯化, CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA) 70/30。白色固体 390mg (产率 48.5%)。质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 651$ 。

[0215] HPLC Kromasil C18(CH_3CN (0.1% TFA) 70% / H_2O (0.1% TFA) 30%) $R_t = 12.5$ 分钟。

[0216] NMR(CDCl_3) δ (ppm) : 1.1 (6H, d), 1.5 (3H, d), 1.7-1.9 (2H, m), 2 (3H, s), 2.5 (3H, m), 2.7-3.0 (7H, m), 3.7-4.2 (3H, m), 4.95 (1H, d), 5.15 (2H, s), 6.4 (1H, t), 6.7 (1H, q), 7.2 (10H, m)。

[0217] **实施例 9**: 叔丁基 [2-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲硫基-丁基二硫基甲基)-3-苯基-丙酰基-氨基]-乙酸酯

[0218] 在 TBTU (857mg, 1.2 当量) 和 DIEA (1.24mL) 存在下, 将实施例 3 的化合物 (1g) 和甘氨酸叔丁基酯 (563mg, 1.5 当量) 置于 5mL DMF 溶液中。在室温搅拌混合物 15 分钟然后如实施例 5 中所述处理反应混合物。得到白色固体 918mg (产率 74%)。

[0219] HPLC Kromasil C 18(CH_3CN (0.1% TFA) 70% / H_2O (0.1% TFA) 30%) $R_t = 13.3$ 分钟。质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 559$ 。

[0220] **实施例 10**: 1-[1-[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基-二硫基甲基]-3-甲硫基-丙基氨基甲酰基-氧基]-乙基异丁酸酯

[0221] 将实施例 9 的化合物 (914mg) 溶解于 5mL CH_2Cl_2 和 5mL TFA 中并且在室温搅拌混合物 3 小时。蒸发干燥后, 将残余物用水吸收和冷冻干燥。白色固体 844mg (定量的产率)。将三氟乙酸盐 (844mg) 溶解于 10mL CH_2Cl_2 中。加入 1.34mL (5 当量) DIEA 和 670mg (1.5 当量) 1-(2,5-二氧化-环戊氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯并且在室温搅拌混合物 1 小时。然后如实施例 6 中所述处理反应介质。经半制备型 HPLC 用 Kromasil C18 柱纯化粗产品 (CH_3CN (0.1% TFA)/ H_2O (0.1% TFA) :55/45。白色固体 400mg (产率 44%)。

[0222] HPLC Kromasil C18(CH_3CN (0.1% TFA) 60% / H_2O (0.1% TFA) 40%) $R_t = 7.80$ 分钟质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 561$ 。

[0223] NMR(CDCl_3) δ (ppm) : 1.0 (6H, dd), 1.4 (3H, dd), 1.6-1.75 (2H, m), 2.0 (3H, s), 2.5 (3H, m), 2.8-3.1 (7H, m), 3.8-4.1 (3H, m), 5.0 (1H, d), 6.7 (1H, q), 7.2 (5H, m)。

[0224] 化合物 10 的钠盐通过如下方法得到: 将酸溶解于乙腈, 然后加入 1 当量 NaHCO_3 的水溶液。冷冻干燥由此得到的溶液。白色固体 (产率 96%)。

[0225] **实施例 11**: 1-乙氧基羰氧基-乙基 [2-(2-叔丁氧基羰基-氨基-4-甲烷亚磺酰基-丁基二硫基-甲基)-3-苯基-丙酰基氨基]-乙酸酯

[0226] 将实施例 5 的化合物 (2g) 溶解于 40mL 乙醇中。在 0℃ 加入 32mL 0.2M NaIO_4 溶液 (2 当量) 并且在 0℃ 搅拌混合物 3 小时。过滤沉淀物并且将滤液蒸发干燥。用乙酸乙酯吸收残余物并且将有机相用水、饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥。过滤和蒸发后, 用层析法纯化粗产品。

[0227] 白色固体 1.5g (产率 70%)。

[0228] HPLC (Kromasil C18 (CH_3CN (0.1% TFA) 60% / H_2O (0.1% TFA) 40%)) $R_t = 8.3$ 分钟 质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ 635$ 。

[0229] 实施例 12: 1-(1-{2-[(1-乙氧基羰氧基-乙氧基-羰基甲基)-氨基甲酰基]-3-苄基-丙基二硫基-甲基}-3-甲烷亚磺酰基-丙基氨基甲酰氧基)-乙基异丁酸酯

[0230] 将实施例 11 的化合物 (1.5g) 溶解于 20mL 甲酸中并且在室温搅拌混合物 1 小时。真空下蒸发甲酸并且用水吸收和冷冻干燥残余物。

[0231] 白色固体 1.38g。

[0232] 将得到的甲酸盐 (1.38g) 溶解于 CH_2Cl_2 中, 加入氨基甲酸酯 (1.5 当量) (1-(2,5-二氧化-环戊氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯) 和 DIEA (3 当量)。在室温搅拌混合物 1 小时, 然后减压蒸发溶剂。用乙酸乙酯吸收残余物。将有机层用 10% 柠檬酸溶液、饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且蒸发干燥。经 HPLC 用 Kromasil 柱纯化粗产品 (半制备型 CH_3CN (0.1% TFA) / H_2O (0.1% TFA) : 50/50)。

[0233] 产率 54%。

[0234] HPLC Kromasil C18 (CH_3CN (0.1% TFA) 50% / H_2O (0.1% TFA) 50%) $R_t = 14.55$ 分钟。质谱 $(\text{M}+\text{H})^+ = 693$ 。

[0235] NMR (DMSO-d_6) δ (ppm): 1.0 (6H, dd), 1.15 (3H, t), 1.4 (2x3H, d), 1.65-1.90 (2H, m), 2.4-3.0 (13H, m), 3.75 (1H), 3.9 (2H, d), 4.0 (2H, q), 5.1 (2H, s), 6.65 (2H, m), 7.1-7.3 (5H, m), 7.5 (1H, d), 8.5 (1H, t)。

[0236] 实施例 13: 苄基 [2-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲烷亚磺酰基-丁基二硫基-甲基)-3-苄基-丙酰基-氨基]-乙酸酯

[0237] 在实施例 11 的条件下处理实施例 7 的化合物 (5.3g) 从而得到 5.19g 预期的化合物。产率 95%。

[0238] HPLC Kromasil C18 (CH_3CN (0.1% TFA) 60% / H_2O (0.1% TFA) 40%) $R_t = 7.3$ 分钟

[0239] 实施例 14: 1-{1-[2-苄氧基羰基甲基-氨基甲酰基]-3-苄基-丙基二硫基甲基}-3-甲烷亚磺酰基-丙基-氨基甲酰氧基}-乙基异丁酸酯

[0240] 用 50mL 甲酸处理实施例 13 的化合物 (3.1g) 并且该反应如实施例 12 中所述处理。白色固体 2.85g (产率 99%)。

[0241] 将得到的甲酸盐 (1.41g) 溶解于 20mL 二氧六环和 20mL 水的混合物中。加入 1.1g (8 当量) NaHCO_3 和 1.13g (1.5 当量) 1-(4-硝基-苄氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯并且在室温搅拌混合物 72 小时。将二氧六环蒸发干燥并且用乙酸乙酯萃取水相。将有机相用饱和 NaCl 溶液洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥。过滤和蒸发干燥后经半制备型 HPLC 用 Kromasil C18 柱纯化产品 (CH_3CN (0.1% TFA) / H_2O (0.1% TFA) : 55/45)。白色固体 1.0g (产率 59%)。

[0242] HPLC Kromasil C18 (CH_3CN (0.1% TFA) 60% / H_2O (0.1% TFA) 40%) $R_t = 8.21$ 分

钟。质谱 $(M+H)^+ = 667$ 。

[0243] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm) :1.0 (6H, dd), 1.4 (3H, d), 1.65–1.90 (2H, m), 2.4–3.0 (13H, m), 3.75 (1H), 3.9 (2H, d), 5.1 (2H, s), 6.65 (1H, m), 7.1–7.3 (10H, m), 7.5 (1H, d), 8.5 (1H, t)。

[0244] **实施例 15** :叔丁基 [2-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲烷亚磺酰基甲基)-3-苯基-丙酰基氨基]-乙酸酯

[0245] 在实施例 11 的条件下处理实施例 9 的化合物 (745mg) 从而得到 781mg (定量的产率) 预期的产品。

[0246] HPLC Kromasil C18(CH₃CN(0.1% TFA) 70% /H₂O(0.1% TFA) 30%) $R_t = 4.65$ 分钟。

[0247] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm) :1.4 (18H, s), 1.7–1.9 (2H, m), 2.5–3 (12H, m), 3.7 (2H, d+1H, m), 6.9 (1H, d), 7.2 (5H, m), 8.4 (1H, t)。

[0248] **实施例 16** :1-{1-2[2-(羧甲基-氨基甲酰基)-3-苯基-丙基二硫基-甲基]-3-甲烷亚磺酰基-丙基-氨基甲酰基-氧基}-乙基异丁酸酯

[0249] 用 5mL TFA 的 5mLCH₂Cl₂ 溶液处理实施例 15 的化合物 (760mg) 并且在室温搅拌反应 3 小时。然后减压蒸发溶剂,将残余物用水吸收并且冷冻干燥。得到白色产品 (686mg; 产率 99%)。

[0250] 将得到的化合物 (686mg) 溶解于 10mL 水和 10mL 二氧六环中。加入 572mg (8 当量) NaHCO₃ 和 587mg (1.5 当量) (1-(4-硝基-苯氧基羰氧基)-乙基异丁酸酯。在室温搅拌混合物 12 小时。减压蒸发二氧六环并且用乙酸乙酯萃取水相。将有机相用饱和 NaCl 溶液洗涤,用 Na₂SO₄ 干燥,过滤并且蒸发干燥。经半制备型 HPLC 用 Kromasil C18 柱纯化粗产品 (CH₃CN(0.1% TFA) /H₂O(0.1% TFA) :35/65。白色固体 212mg。产率 28.1%)。

[0251] HPLC Kromasil C18(CH₃CN(0.1% TFA) 40% /H₂O(0.1% TFA) 60%) $R_t = 11.98$ 分钟。质谱 $(M+H)^+ 577$ 。

[0252] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm) :1.0 (2x3H, d), 1.4 (3H, d), 1.7–1.9 (2H, m), 2.5–3.0 (13H, m), 3.7 (2H, d = 1H, m), 6.65 (1H, m), 7.2 (5H, m), 7.5 (1H, d), 8.4 (1H, t)。

[0253] **实施例 17** :叔丁基环戊烷-1,1-二羧酸酯

[0254] 在氮气下,将叔丁基环戊烷-二羧酸酯 (根据 J. Med. Chem., 1994, 37, 2461–2476 制备) (10g) 溶解于 50mL THF。在 -30℃,在氮气下,加入由 10.71mL 二异丙基胺和 47.75mL 丁基锂制得 LDA (1.3 当量) 1.6M 的己烷溶液。在 -30℃ 搅拌 30 分钟后,在相同温度鼓入 CO₂ 持续 15 分钟。将混合物升温至 -5℃ 并且加入 100mL 水。蒸发 THF,将水相用乙酸乙酯萃取两次,然后酸化至 pH 1。用乙酸乙酯萃取三次后,将有机相用饱和 NaCl 溶液洗涤,用 Na₂SO₄ 干燥,过滤并且蒸发干燥。白色固体 10g (产率 80%)。

[0255] **实施例 18** :叔丁基 1-巯基甲基-环戊烷-羧酸酯

[0256] 将前面的化合物 (7.9g) 溶解于 70mL THF 中。在 -10℃,加入 5.13mL (1 当量) 三乙胺和 4.78mL (1 当量) 氯甲酸异丁酯。反应 2 分钟后,过滤形成的沉淀物,然后滴加入 4.88g NaBH₄ (3.5 当量) 和 22mL MeOH。将溶液升温至 0℃ 并且用 HCl 1N 酸化。用 CH₂Cl₂ 萃取,洗涤和干燥后,将有机相蒸发干燥。淡黄色油 (6.52g, 产率 88%)。

[0257] 将得到的醇 (5g) 溶解于乙醚 (65mL) 中。加入 2.12mL (1.1 当量) 甲磺酰氯和 4mL

三乙胺。在室温搅拌 3 小时后,将乙醚相洗涤,干燥并且蒸发干燥。淡黄色油 (6.4g,产率 92%)。

[0258] 将甲磺酸盐 (6.4g) 溶解于二甲基甲酰胺 (100mL) 中。加入 3.18gK₂CO₃ 和 3.61mL 硫代乙酸并且在 100℃ 搅拌混合物 5 小时。将 DMF 蒸发干燥并且用乙酸乙酯和 HCl 1N 吸收残余物。将有机相洗涤,干燥并且蒸发干燥。

[0259] 在室温用 50/50CH₂Cl₂/TFA 混合物处理得到的棕色油。将混合物蒸发干燥,用环己烷吸收三次并且蒸发干燥。铁锈色固体产品 (定量的产率)。将形成的乙酰基硫代酸溶解于 50mL MeOH 并且加入 50mLNaOH 1N。在室温将混合物搅拌 3 小时,然后用 HCl 1N 酸化。蒸发甲醇,用 EtOAc 吸收残余物并且将有机相洗涤和干燥:淡黄色油,定量的产率。

[0260] NMR(CDCl₃) δ (ppm) :1.6-1.8(6H, m+SH), 2.15(2H, m), 3.2(2H, s)。

[0261] 实施例 19:1-(2-叔丁氧基羰基氨基-4-甲基-硫基-丁基二硫基-甲基)-环戊烷-羧酸

[0262] 依据实施例 3 的方法并且用实施例 18 的化合物代替实施例 1 的化合物,得到预期的产品。白色固体,3.8g(产率 75%)。HPLC(Kromasil C18, CH₃CN(0.1% TFA)/H₂O(0.1% TFA):50/50)Rt 31.6 分钟。质谱 (M+H)⁺ = 410。

[0263] 实施例 20:二-叔丁基 2-[[1-(2-叔丁氧基羰基-氨基-4-甲硫基-丁基二硫基甲基)-环戊烷-羰基]-氨基]-琥珀酸酯

[0264] 依据实施例 5 的方法并且用叔丁基天冬氨酸酯代替实施例 4 的化合物,得到预期的产品,产率 80%。白色固体。质谱 (M+H)⁺ = 637.3。

[0265] HPLC(Kromasil C18, CH₃CN(0.1% TFA)/H₂O(0.1% TFA):80/20)Rt31.6 分钟。

[0266] NMR(CDCl₃) δ (ppm) :1.4(27H), 1.7-1.9(8H m), 2.1(5H m), 2.5(2H m) 2.8-3.1(6H m), 4.1(1H m), 4.6(1H m), 4.7(1H d), 6.6(1H d)。

[0267] 实施例 21:二-叔丁基 2-[[1-(2-叔丁氧基羰基-氨基-4-甲硫基-丁基二硫基-甲基)-环戊烷-羰基]-氨基]-琥珀酸酯

[0268] 依据实施例 11 的方法,由实施例 20 的化合物得到预期的产品,产率 81%。

[0269] 质谱 (M+H)⁺653.3。

[0270] 实施例 22:2-((1-[2-(1-异丁酰氧基-乙氧基羰基-氨基)-4-甲硫基-丁基二硫基甲基]-环戊烷-羰基)-氨基)-琥珀酸

[0271] 依据实施例 12 的方法,由实施例 21 的化合物得到预期的终产品,产率 63%。

[0272] HPLC(Kromasil C18 CH₃CN(0.1% TFA)/H₂O(0.1% TFA):70/30)Rt 4.3 分钟质谱 (M+H)⁺ = 599.2。

[0273] NMR(DMSO-d₆) δ (ppm) :1.0(6H d), 1.4(3H d), 1.7-1.9(8H m), 2.1(2H m), 2.5-3.0(12H m), 3.7(1H m), 4.6(1H m), 6.65(1H m), 7.5(1H d), 8.4(1H d)。

[0274] 实施例 23:药理学结果

[0275] 在最有预测性的动物模型中研究本发明分子的止痛作用,用于反映人类的情况。优选的试验为旨在大鼠和小鼠中的神经炎性 (NI) 和神经病理性 (NP) 疼痛的试验。

[0276] 已证实本发明分子在下列试验中显示活性。

[0277] 在大鼠中:i) 由足底注射角叉胶或弗氏佐剂引起的神经病理性疼痛 (Desmeules A. 等人 Pain(1993),53,277-285);ii) 由预先给予链脲霉素诱导的糖尿病性神经病 (NP)

(Condore-Civiale 等人, Br. J. Pharmacol. (2001), 67, 1301-1308) ;iii) 由预先给予抗癌剂, 长春新碱 (vincristin) 触发的神经病 (Authier 等人, Neurotoxicology (2003), 4, 797-805)。

[0278] 在小鼠中: i) 在胫骨骨髓, 骨肉瘤模型中由预先给予肿瘤细胞诱导的神经病理性和神经炎性异常性疼痛和痛觉过敏 (Menendez L. 等人, Brain Res. (2003), 969, 102-109) ; ii) 在爪子给予福尔马林引起的疼痛和在第一阶段研究止痛反应 (NT) ;iii) 由坐骨神经局部的和单侧压迫产生的痛觉过敏和异常性疼痛 (Seltzer' s 模型) (Bennett G. J. 和 Xie Y. K., Pain (1998) 33, 87-107)。

[0279] 这些试验中使用的技术详细描述和分类在期刊中例如: M. J. Millan. The induction of pain: an integrative review, in Progress in Neurobiology (1999), 52, 1-164。

[0280] 作为示例, 下面将显示几项研究。

[0281] A/ 福尔马林试验 (阶段 I)

[0282] 在两个阶段 90 分钟和 150 分钟后研究分子从而观察它们的作用期。

[0283] 试验的描述

[0284] 动物 (雄性 OF1 小鼠) 来自 Charles River 培育者 (法国) 并且在实验开始时重量为 25-35g。在给予产品时要考虑每个小鼠的重量。

[0285] 该试验基于 S. HUNSKAAR 等人所述的方法, Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics, J. Neurosci. Methods (1995), 14, 69-75。

[0286] 将小鼠 ($n = 8$) 单独地置于透明的围场 (50x25cm) 中并且在该环境中习惯 20 分钟。这段时间后, 将 20 μ L 福尔马林 (5% HCHO) 的盐水溶液 (H_2O , 0.9% NaCl) 皮下注射入动物右爪的足底面。使用与微量注射器连接的 26 注射器。然后将每一个小鼠立即放置回试验围场, 测定疼痛 (伤害性) 反应 5 分钟 (早期阶段)。仅计算爪子的舔舐。

[0287] 对强制进食后的动物注射福尔马林后在不同时间 (通常 20 分钟, 90 分钟和 150 分钟) 测试止痛活性, 使用:

[0288] - 单独的载体 (乙醇, 0.5% 的甲基纤维素水溶液)

[0289] - 载体和本发明的化合物 (50mg/kg)。

[0290] 通过与接受单独载体的动物的舔舐次数相比, 降低受伤害爪子的舔舐次数测定产品的止痛作用。

[0291] 实施例 6、8、10、12、14 和 16 的六个化合物的结果显示在图 1 中。

[0292] 这六个化合物显示出有效的止痛作用 (40-60%), 其特征为与载体 (对照) 相比非常显著的舔舐次数的降低, 并且在测试期间作用几乎保持不变。止痛作用被预先给予拮抗剂, 甲基纳洛酮阻碍, 甲基纳洛酮在使用的剂量 (2mg/kg) 不能穿过血脑屏障 (Milne R. J. 等人, Neurosci. Lett. (1990), 114, 25-32), 这证明这些分子的活性在外周 (伤害性感受器) 是突出的, 它们增加脑啡肽在受伤害位置的释放。

[0293] B/ 实施例 6 的化合物和参考分子 (国际专利申请 W02007/048787 的化合物 15) 止痛作用的对比研究

[0294] 本发明的特征在于具有止痛性质的分子的开发至少等同于国际专利申请 W02007/048787 中描述的化合物的开发, 但是这些分子很大程度上延伸了作用期。事实上这

显示在福尔马林试验中（如前已描述其方法），因为参考分子：化合物 15 = $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{-CH}_2\text{-S-S-CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{-CONH-CH}_2\text{-CONH-CO-CH}(\text{CH}_3)\text{-O-CO-OCH}_2\text{CH}_3$ (W02007/048787) 在 120 分钟不再具有任何活性，而相反实施例 6 的化合物在 90 和 150 分钟之间达到止痛活性的最大值（图 2）。

[0295] C/ 在小鼠中口服给药后实施例 10 的化合物的抗异常性和抗痛觉过敏性作用

[0296] 该试验详细描述在 A.B.Malmberg 和 A.I.Basbaum, Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioural and neuroanatomical correlates. Pain, (1998) 76, 215-222 中。

[0297] 在 18-20g, n = 39 的雄性 OF1 小鼠 (Charles River) 上, 通过在同侧的坐骨神经的部分结扎进行试验。在该操作后在一定时期 (3-26 天) 测试动物。

[0298] 根据 K.Hargreaves 等人, A new sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia, Pain, (1988), 32, 77-88 描述的方法, 通过使用作为热源的“足底测试 (Plantar test)”装置 (Bioseb, 法国) 进行痛觉过敏的测定。伤害性刺激的强度被校准为 8-10 秒, 设有在 20 秒的自动停止阈值 (截止时间)。测定同侧爪子 (受伤害神经) 和对侧爪子 (完整神经) 的由热诱导爪子退缩的平均数。该测定在每一个爪子进行 3 次。按照 S. R. Chaplan 等人, Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw, J. Neurosci. Meth. (1994), 53, 55-63 的描述测定机械异常性疼痛。如前测试同侧 (伤害) 和对侧 (对照) 爪子。通过 Von Frey 的方法使用增加尺寸并增加压力的丝, 测定机械抗异常性作用。

[0299] 抗痛觉过敏性作用: 图 3

[0300] 图 3 的结果显示当口服给予时, 实施例 10 的化合物在 45 至 150 分钟的时间产生由坐骨神经部分结扎诱导的热痛觉过敏的非常显著降低 (65-100%), 100% 的最大作用在 80 分钟 (8.2 ± 0.9 秒对比于 8.3 秒)。该作用应可能在 180 分钟还是显著的。

[0301] 抗异常性作用: 图 4

[0302] 通过 Von Frey 试验测定实施例 10 的化合物对机械异常性疼痛的作用。结果显示了显著的长持续时间的抗异常性作用, 最大值在 60 分钟, 对应于 75% 的最大反应 (无治疗对照)。

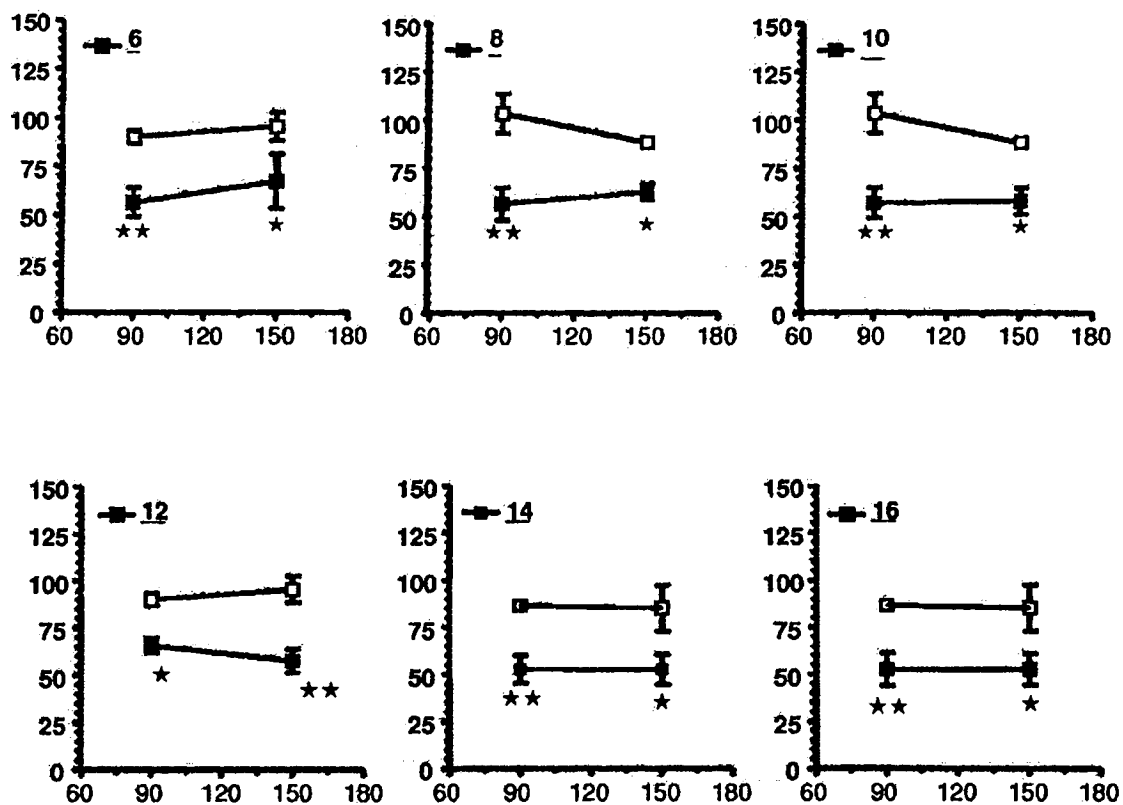


图 1

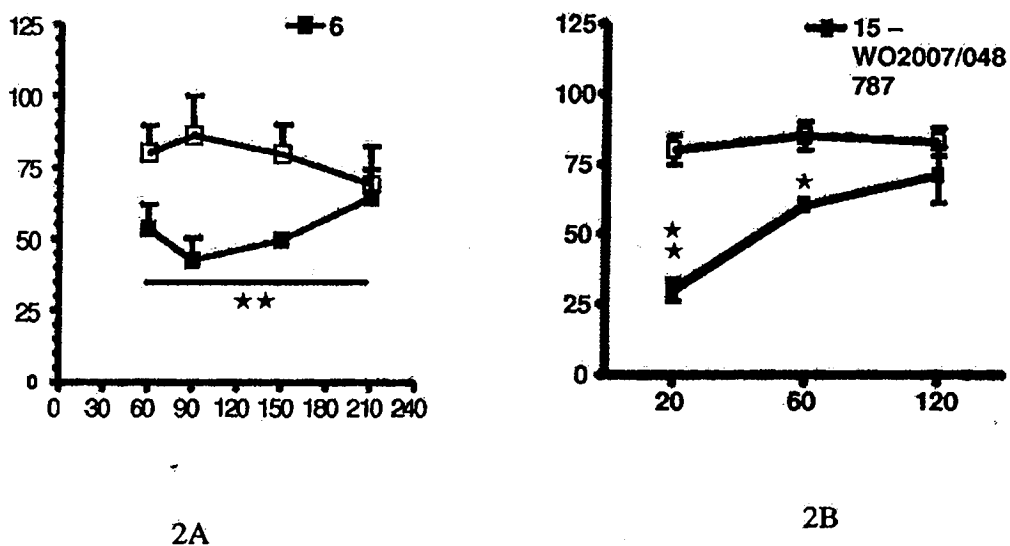


图 2

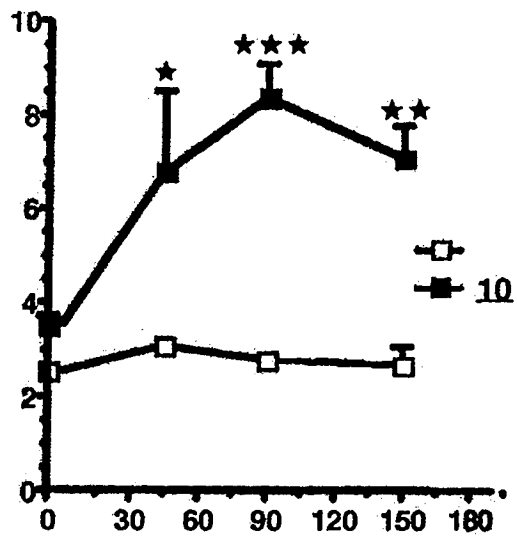


图 3

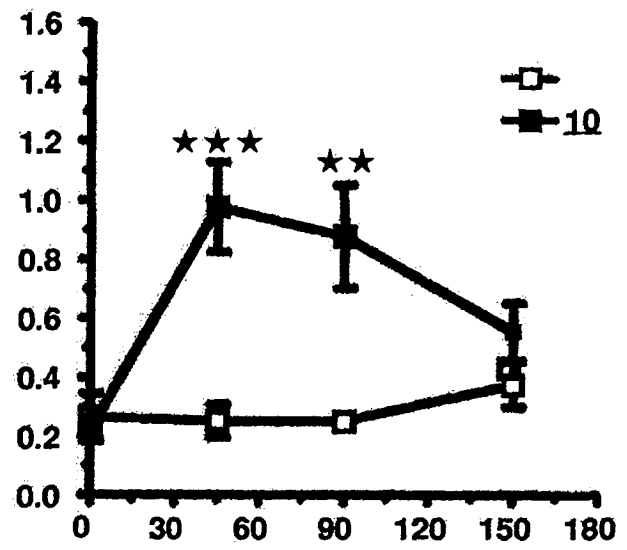


图 4