



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118125936 A

(43) 申请公布日 2024.06.04

(21) 申请号 202311573352.1

A61P 25/00 (2006.01)

(22) 申请日 2023.11.23

A61P 25/24 (2006.01)

(66) 本国优先权数据

A61P 25/22 (2006.01)

202211488061.8 2022.11.25 CN

A61P 25/18 (2006.01)

202211592775.3 2022.12.13 CN

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

(71) 申请人 南京清普生物科技有限公司

A61P 25/28 (2006.01)

地址 210000 江苏省南京市江宁区乾德路2号创新中心1层156(江宁高新园)

A61P 25/14 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

(72) 发明人 王青松 陈玉林

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

(51) Int. Cl.

A61P 3/04 (2006.01)

C07C 233/18 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

C07D 213/75 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

C07D 339/04 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

A61K 31/23 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

A61K 31/215 (2006.01)

C07K 5/062 (2006.01)

A61K 31/221 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

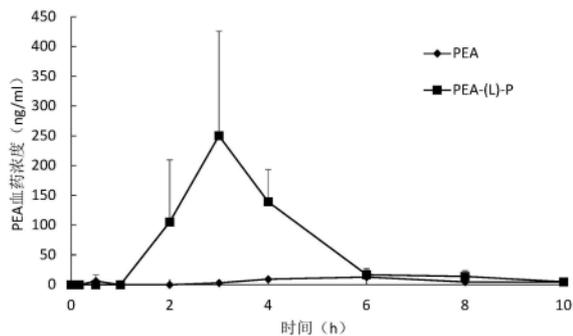
权利要求书5页 说明书24页 附图1页

(54) 发明名称

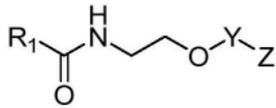
N-酰基乙醇酰胺衍生物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本申请属于前药领域,具体涉及N-酰基乙醇酰胺衍生物及其制备方法和应用,更具体的,本发明公开了一种新的PEA氨基酸衍生物前药,所述前药比格犬口服后可快速转化为PEA,在血浆中只检测到PEA,几乎没有检测到PEA氨基酸衍生物,特别是PEA-(L)-P、PEA-(L)-P-(L)-V,具有预料不到的生物利用度和更快的转化速率,药代动力学特性显著优于其他PEA氨基酸衍生物。



1. 一种式 (I) :

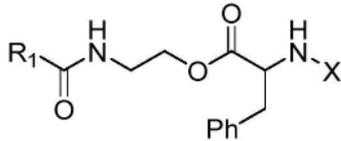


(I)

化合物或其药学上可接受的盐形式;

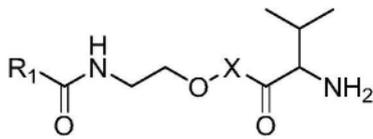
优选的,

一种式 (I<sub>1</sub>) :



(I<sub>1</sub>)

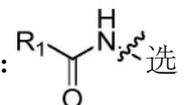
或者式 (I<sub>2</sub>) :



(I<sub>2</sub>)

化合物或其药学上可接受的盐形式。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其特征在于:R<sub>1</sub>选自C<sub>1-40</sub>脂肪族基,优选为C<sub>1-20</sub>脂肪族基,更优选为C<sub>15-20</sub>脂肪族基,优选的,C<sub>15-20</sub>脂肪族基为C<sub>15-20</sub>烷基或含1-5个C=C的C<sub>15-20</sub>烯基。

3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其特征在于:  选自



4. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其特征在于:

在式 (I) 中,当Z为H时,Y选自标准氨基酸、非标准氨基酸,不包括甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺;或者Y、Z选自相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸,Y通过羧基与乙醇胺的羟基连接,Y通过氨基与Z的羧基连接;

在式 (I<sub>1</sub>) 中,X选自H、标准氨基酸、非标准氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸通过羧基与苯丙氨酸的氨基连接;

在式 (I<sub>2</sub>) 中,X选自标准氨基酸、非标准氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸通过羧基与乙醇胺的羟基连接,标准氨基酸、非标准氨基酸通过氨基与缬氨酸的羧基连接;

优选的,标准氨基酸选自芳香族或脂肪族氨基酸,更优选的,标准氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、吡咯赖氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸;

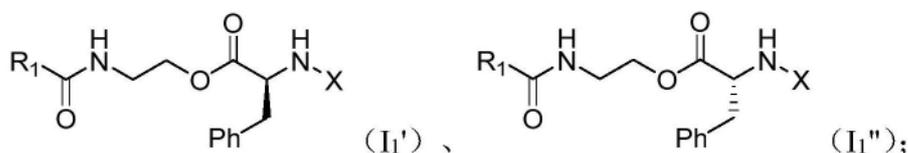
优选的,非标准氨基酸选自鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -氨基酸、 $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸、N-甲基酸、羟基-氨基酸、环状氨基酸;优选的,非标准氨基酸选自鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\beta$ -氨基异丁酸、 $\beta$ -亮氨酸、 $\beta$ -赖氨酸、 $\beta$ -精氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -苯基丙氨酸、异丝氨酸、 $\beta$ -谷氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -多巴(3,4-二羟基-L-苯丙氨酸)、2-氨基异丁酸、异缬氨酸、二-N-乙基甘氨酸、N-甲基-丙氨酸、L-相思豆氨酸、4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-羟基亮氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟基-L-色氨酸、1-氨基环丙基-1-羧酸、氢杂环丁烷-2-羧酸或哌可酸;

优选的,在式(I)中,Y、Z选自相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸,Y通过羧基与乙醇胺的羟基连接,Y通过氨基与Z的羧基连接,Z进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合;

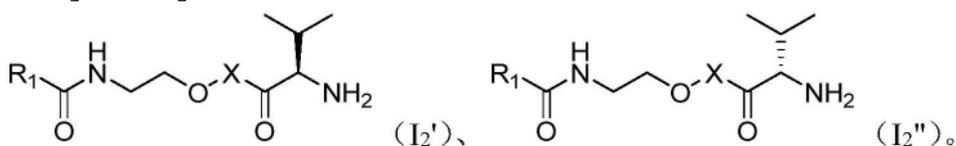
优选的,在式(I<sub>1</sub>)中,标准氨基酸、非标准氨基酸进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合;

优选的,在式(I<sub>2</sub>)中,X选自标准氨基酸、非标准氨基酸,或2-3个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合而成的氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸或缩合氨基酸通过羧基与乙醇胺的羟基连接,通过氨基与缬氨酸的羧基连接。

5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其特征在于,所述化合物具有式(I<sub>1</sub>')或(I<sub>1</sub>')结构:



或(I<sub>2</sub>')或(I<sub>2</sub>'')结构:



6. 根据权利要求4所述的化合物,其特征在于:标准氨基酸、非标准氨基酸选自D-或L-构型。

7. 化合物或其药学上可接受的盐形式:

简称	结构式
PEA-(L)-V-(L)-V	
PEA-G-(L)-V	
PEA-(L)-A-(L)-V	
PEA-(L)-P	
PEA-(L)-P-(L)-V	

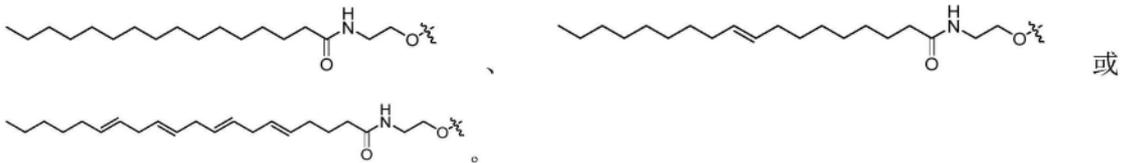
8. 一种式II化合物:

$P_1-P_2$

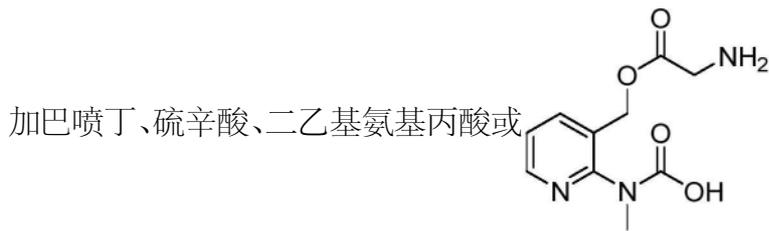
或其药学上可接受的盐形式;

$P_1$ 是N-酰基乙醇酰胺; $P_2$ 是与所述N-酰基乙醇酰胺缀合的部分, $P_1$ 通过羟基与 $P_2$ 的羧基连接。

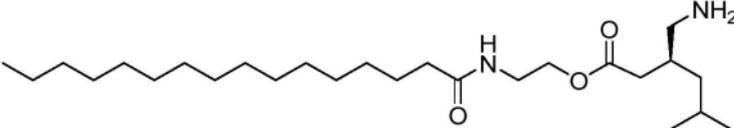
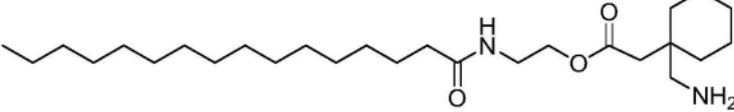
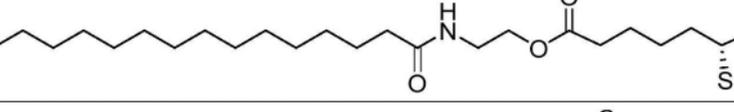
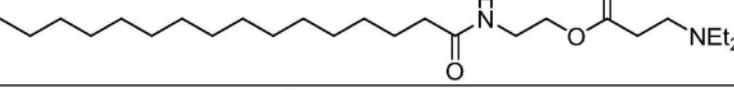
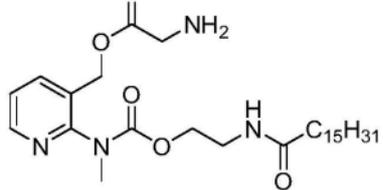
9. 根据权利要求8所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其中, $P_1$ 选自



10. 根据权利要求8所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其中, $P_2$ 选自普瑞巴林、



11. 化合物或其药学上可接受的盐形式:

简称	结构式
PEA-普瑞巴林	
PEA-加巴喷丁	
PEA-硫辛酸酯	
PEA-二乙基氨基丙酸酯	
PEA-Py	

12. 根据权利要求1-11任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其特征在于,药学上可接受的盐形式选自盐酸盐、三氟乙酸盐、硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、酸式亚硫酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、丁二酸盐、半丁二酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、延胡索酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、对羟丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐或杏仁酸盐中的一种或多种。

13. 根据权利要求1-11任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其中一个或多个氢原子被氘原子置换。

14. 一种药物组合物,包含权利要求1-11任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

15. 根据权利要求14所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物是固体制剂、半固体制剂、液体制剂,优选为散剂、颗粒剂、丸剂、微丸、片剂、肠溶片、缓释片、胶囊剂、软胶囊、膜剂、咀嚼胶、滴剂、口服液、糖浆剂、乳剂、自微乳、脂质制剂、混悬剂或合剂。

16. 权利要求1-11任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式和权利要求15所述的药物组合物在制备用于预防或治疗疼痛、慢性下背痛、坐骨神经痛、神经根病、放射痛、神经病理性疼痛、焦虑、抑郁症、精神分裂症、癌症、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、神经系统疾病、帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病、脑缺血、癫痫、食欲不振、牙痛、骨关节炎、胃肠动力降低、癌症、青光眼、异位性皮炎、呼吸道感染、创伤后应激障碍、肥胖、失眠、嗜睡、特发性肥大细胞激活综合征的药物中的应用,特发性肥大细胞激活综合征优选为慢性广泛性肌肉骨

骼可塑性疼痛。

## N-酰基乙醇酰胺衍生物及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本申请属于前药领域,具体涉及N-酰基乙醇酰胺衍生物及其制备方法和应用。

### 背景技术

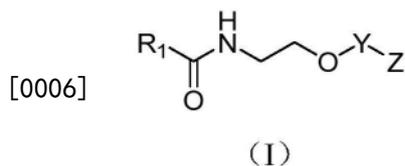
[0002] 棕榈酰乙醇酰胺 (Palmitoylethanolamide, PEA) 是一种内源性物质,属于N-酰基乙醇胺家族,在多种疾病状态下发挥保护作用,包括抗炎、镇痛、免疫调节和神经保护等作用。在疾病状态下,内源性PEA的合成减少,代谢增加,导致体内PEA的减少,无法维持其在健康生理状态下的抗炎和镇痛等活性所需的水平,这使得外源性给药成为补充内源性PEA水平和恢复身体稳态的可行治疗策略。已证明补充外源性PEA具有很高的安全性和耐受性,并且PEA降低疼痛强度的能力具有明确的剂量反应。然而,PEA溶解性差,分配系数( $\log P$ ) $>5$ ,口服生物利用度极差,限制了其在医药领域的应用发展。目前,含PEA的产品只能作为保健品或医疗用途食品使用,剂量较大,通常为1200mg/天,代表产品为Normast<sup>®</sup>。

[0003] 前药是药物分子的生物可逆衍生物,其经历体内酶促和/或化学转化后释放活性母体药物,然后发挥所需的药理作用。前药技术常用于改善药物的不良药代动力学 (Pharmacokinetics, PK) 特性。US9512091B2公开了PEA的噁唑啉前药用于抑制体内酶的活性并快速转化为PEA,但未公开PK数据,口服生物利用度未知。European Journal of Pharmaceutical Sciences 62(2014)33-39.公开了PEA的半乳糖前药用于增加PEA通过血脑屏障,体外细胞水平的研究显示出很好的效果,但没有体内结果。PLoS ONE 10(6): e0128699.公开了PEA的酰氧基甲基碳酸酯、氨基酸酯和氨基甲酸酯前药被合成用于提升PEA的生物利用度,大鼠体内结果显示候选前药的吸收增加,但没有释放足够量的PEA,导致其PEA血药浓度低于直接给予PEA组。EP2742957B公开了PEA的PEG前药用于延长局部抗炎作用,但没有口服的PK结果,口服生物利用度未知。CN110023308A公开了PEA的甘油酯前药,大鼠PK结果显示PEA的口服生物利用度显著提升,但是PEA甘油酯前药为粘稠半固体,很难制备固体制剂。

[0004] PLoS ONE 10(6):e0128699公开了PEA氨基酸衍生物(D-Val-PEA和L-Val-PEA)大鼠灌胃后的血药浓度数据,在血浆中同时检测到PEA氨基酸衍生物和PEA,没有提升PEA生物利用度。本发明旨在通过前药技术显著改善PEA的口服吸收和全身暴露,补充内源性PEA,确保达到足够的PEA水平,以最大限度地提高治疗效果。

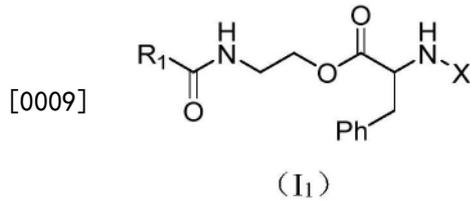
### 发明内容

[0005] 为实现发明目的,本发明公开了一种式(I):

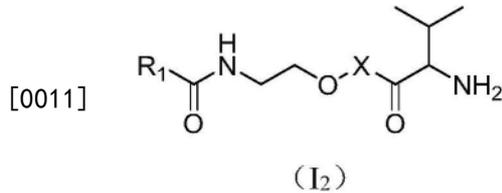


[0007] 化合物或其药学上可接受的盐形式。

[0008] 优选的,本发明公开了一种式(I<sub>1</sub>):

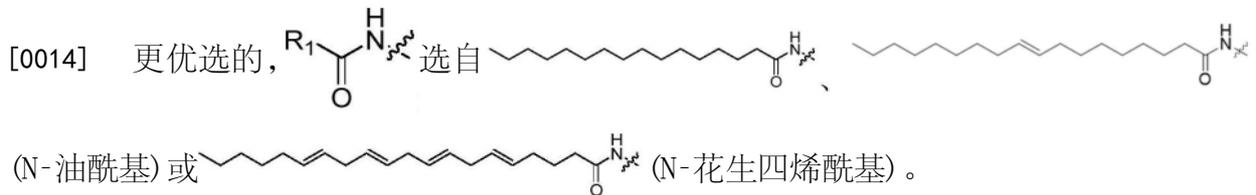


[0010] 或者式(I<sub>2</sub>):



[0012] 化合物或其药学上可接受的盐形式。

[0013] 优选的, R<sub>1</sub>选自C<sub>1-40</sub>脂肪族基, 优选为C<sub>1-20</sub>脂肪族基, 更优选为C<sub>15-20</sub>脂肪族基, 优选的, C<sub>15-20</sub>脂肪族基为C<sub>15-20</sub>烷基或含1-5个C=C的C<sub>15-20</sub>烯基。



[0015] 优选的, 在式(I)中, 当Z为H时, Y选自标准氨基酸、非标准氨基酸, 不包括甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺; 或者Y、Z选自相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸, Y通过羧基与乙醇胺的羟基连接, Y通过氨基与Z的羧基连接;

[0016] 优选的, 在式(I)中, 当Z为H时, Y选自标准氨基酸、非标准氨基酸, Y可选不包括甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺, 或者不包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、吡咯赖氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\beta$ -氨基异丁酸、 $\beta$ -亮氨酸、 $\beta$ -赖氨酸、 $\beta$ -精氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -苯基丙氨酸、异丝氨酸、 $\beta$ -谷氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -多巴(3,4-二羟基-L-苯丙氨酸)、2-氨基异丁酸、异缬氨酸、二-N-乙基甘氨酸、N-甲基-丙氨酸、L-相思豆氨酸、4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-羟基亮氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟基-L-色氨酸、1-氨基环丙基-1-羧酸、氮杂环丁烷-2-羧酸或哌可酸中的一项或多项;

[0017] 优选的, 在式(I)中, Y、Z选自相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸, Y通过羧基与乙醇胺的羟基连接, Y通过氨基与Z的羧基连接; Y选自标准氨基酸、非标准氨基酸, 优选的, Y选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、吡咯赖氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶

氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\beta$ -氨基异丁酸、 $\beta$ -亮氨酸、 $\beta$ -赖氨酸、 $\beta$ -精氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -苯基丙氨酸、异丝氨酸、 $\beta$ -谷氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -多巴(3,4-二羟基-L-苯丙氨酸)、2-氨基异丁酸、异缬氨酸、二-N-乙基甘氨酸、N-甲基-丙氨酸、L-相思豆氨酸、4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-羟基亮氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟基-L-色氨酸、1-氨基环丙基-1-羧酸、氢杂环丁烷-2-羧酸或哌可酸。

[0018] 优选的,在式(I<sub>1</sub>)中,X选自H、标准氨基酸、非标准氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸通过羧基与苯丙氨酸的氨基连接;

[0019] 优选的,在式(I<sub>2</sub>)中,X选自标准氨基酸、非标准氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸通过羧基与乙醇胺的羟基连接,标准氨基酸、非标准氨基酸通过氨基与缬氨酸的羧基连接;

[0020] 优选的,标准氨基酸选自芳香族或脂肪族氨基酸,更优选的,标准氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、吡咯赖氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸;

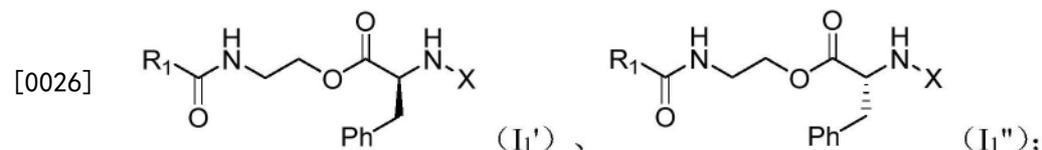
[0021] 优选的,非标准氨基酸选自鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -氨基酸、 $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸、N-甲基酸、羟基-氨基酸、环状氨基酸;优选的,非标准氨基酸选自鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\beta$ -氨基异丁酸、 $\beta$ -亮氨酸、 $\beta$ -赖氨酸、 $\beta$ -精氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -苯基丙氨酸、异丝氨酸、 $\beta$ -谷氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -多巴(3,4-二羟基-L-苯丙氨酸)、2-氨基异丁酸、异缬氨酸、二-N-乙基甘氨酸、N-甲基-丙氨酸、L-相思豆氨酸、4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-羟基亮氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟基-L-色氨酸、1-氨基环丙基-1-羧酸、氢杂环丁烷-2-羧酸或哌可酸;

[0022] 优选的,在式(I)中,Y、Z选自相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸,Y通过羧基与乙醇胺的羟基连接,Y通过氨基与Z的羧基连接,Z进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合;

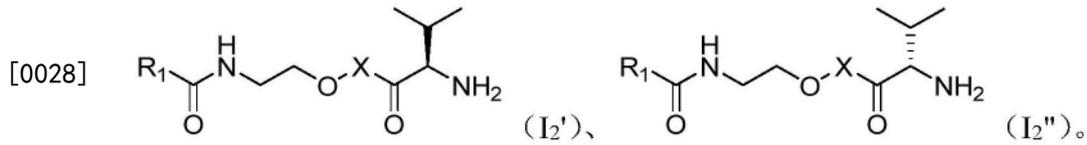
[0023] 优选的,在式(I<sub>1</sub>)中,标准氨基酸、非标准氨基酸进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合;

[0024] 优选的,在式(I<sub>2</sub>)中,X选自标准氨基酸、非标准氨基酸,或2-3个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合而成的氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸或缩合氨基酸通过羧基与乙醇胺的羟基连接,通过氨基与缬氨酸的羧基连接。

[0025] 进一步的,所述化合物具有式(I<sub>1</sub>')或(I<sub>1</sub>')结构:

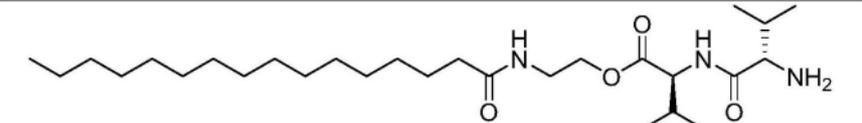
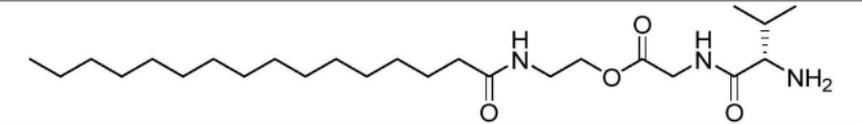
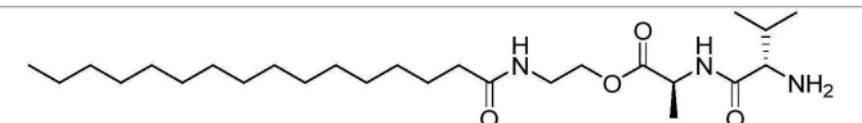
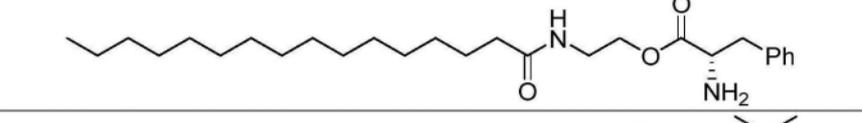
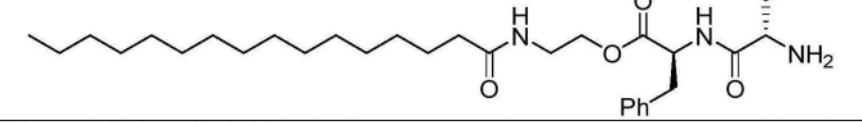


[0027] 或(I<sub>2</sub>')或(I<sub>2</sub>')结构:



[0029] 优选的,标准氨基酸、非标准氨基酸选自D-或L-构型。

[0030] 更具体的,本发明公开了化合物或其药学上可接受的盐形式:

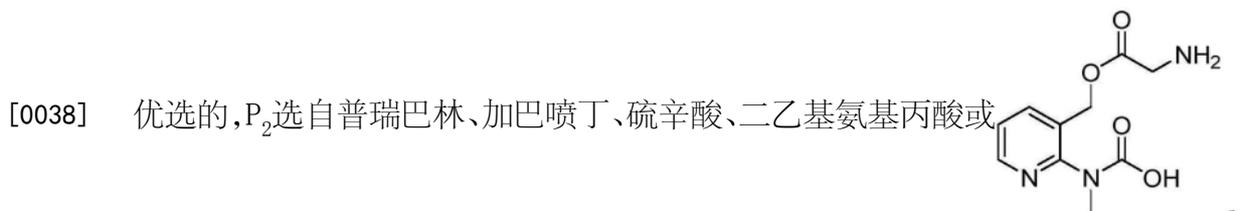
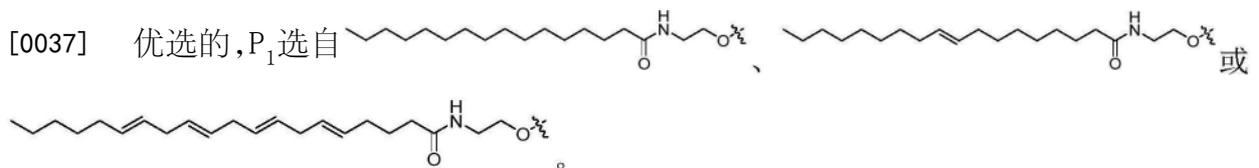
简称	结构式
[0031] PEA-(L)-V-(L)-V	
PEA-G-(L)-V	
PEA-(L)-A-(L)-V	
[0032] PEA-(L)-P	
PEA-(L)-P-(L)-V	

[0033] 另一方面,本发明涉及一种式II化合物:

[0034] P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub>

[0035] 或其药学上可接受的盐形式;

[0036] P<sub>1</sub>是N-酰基乙醇酰胺;P<sub>2</sub>是与所述N-酰基乙醇酰胺缀合的部分,P<sub>1</sub>通过羟基与P<sub>2</sub>的羧基连接。



[0039] 更具体的,化合物或其药学上可接受的盐形式:

简称	结构式
PEA-普瑞巴林	
PEA-加巴喷丁	
PEA-硫辛酸酯	
PEA-二乙基氨基丙酸酯	
PEA-Py	

[0042] 优选的,药学上可接受的盐形式选自盐酸盐、三氟乙酸盐、硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、酸式亚硫酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、丁二酸盐、半丁二酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、延胡索酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、对羟丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐或杏仁酸盐的一种或多种。

[0043] 优选的,上述任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式,其中一个或多个氢原子被氘原子置换。

[0044] 进一步的,本发明还涉及一种药物组合物,包含上述任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0045] 优选的,所述组合物是固体制剂、半固体制剂、液体制剂,优选为散剂、颗粒剂、丸剂、微丸、片剂、肠溶片、缓释片、胶囊剂、软胶囊、膜剂、咀嚼胶、滴剂、口服液、糖浆剂、乳剂、自微乳、脂质制剂、混悬剂或合剂。

[0046] 进一步的,本发明还涉及上述任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐形式和上述药物组合物在制备用于预防或治疗疼痛、慢性下背痛、坐骨神经痛、神经根病、放射痛、神经病理性疼痛、焦虑、抑郁症、精神分裂症、癌症、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、神经系统疾病、帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病、脑缺血、癫痫、食欲不振、牙痛、骨关节炎、胃肠动力降低、癌症、青光眼、异位性皮炎、呼吸道感染、创伤后应激障碍、肥胖、失眠、嗜睡、特发性肥大细胞激活综合征的药物中的应用,特发性肥大细胞激活综合征优选为慢性广泛性肌肉

骨骼可塑性疼痛。

[0047] 术语解释:

[0048] 除非另有说明,本申请说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义,包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例中具体化合物的定义等,可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构,应当属于本申请说明书记载的范围内。

[0049] 术语“脂肪族基”意指完全饱和的或含有一个或多个不饱和单元的直链(即,无支链)或支链被取代或未被取代的烃链,或完全饱和的或含有一个或多个不饱和单元的单环烃、双环烃或多环烃,其与分子其余部分具有单一连接点。在一些实施例中,脂肪族基含有1-40个脂肪族碳原子。在另一些实施例中,脂肪族基含有1-20个脂肪族碳原子。在一些实施例中,脂肪族基含有15-20个脂肪族碳原子。合适的脂肪族基包括但不限于直链或支链被取代或未被取代的烷基、烯基。

[0050] 烯基:如本文中所述的术语“烯基”是指如本文中所定义,具有一个或多个双键的烷基。

[0051] 优选的, $C_{15-20}$ 脂肪族基为 $C_{15-20}$ 烷基或含1-5个C=C的 $C_{15-20}$ 烯基。

[0052] 标准氨基酸:

[0053] 标准氨基酸或蛋白质生成性氨基酸包括但不限于目前已知的22种氨基酸,其构成蛋白质的单节单元且编码在标准遗传密码中。标准氨基酸包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、吡咯赖氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。

[0054] 非标准氨基酸选自鸟氨酸、高精氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、高丝氨酸、茶氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、肌氨酸、卡氨酸、2-氨基己二酸、泛酸、牛磺酸、亚牛磺酸、羊毛硫氨酸、硫代半胱氨酸、胱硫醚、高半胱氨酸、 $\beta$ -氨基酸例如 $\beta$ -丙氨酸、 $\beta$ -氨基异丁酸、 $\beta$ -亮氨酸、 $\beta$ -赖氨酸、 $\beta$ -精氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -苯基丙氨酸、异丝氨酸、 $\beta$ -谷氨酸、 $\beta$ -酪氨酸、 $\beta$ -多巴(3,4-二羟基-L-苯丙氨酸)、 $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸例如2-氨基异丁酸、异缬氨酸、二-N-乙基甘氨酸、N-甲基酸例如N-甲基-丙氨酸、L-相思豆氨酸、羟基-氨基酸例如4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、3-羟基亮氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟基-L-色氨酸、环状氨基酸例如1-氨基环丙基-1-羧酸、氮杂环丁烷-2-羧酸和哌可酸。

[0055] 在式(I)中,Z选自标准氨基酸、非标准氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合。也即Z可进一步通过氨基与1个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸的羧基连接,更进一步的,可再通过新的氨基酸的氨基与新的相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸的羧酸连接。

[0056] 在式(I<sub>1</sub>)中,标准氨基酸、非标准氨基酸进一步通过氨基与1个或者2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合。也即,与苯丙氨酸的氨基连接的标准氨基酸、非标准氨基酸,可进一步通过氨基与其他的相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸的羧酸连接,更进一步的,可再通过新的氨基酸的氨基与新的相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸的羧酸连接。

[0057] 在式(I<sub>2</sub>)中,X选自标准氨基酸、非标准氨基酸,或2-3个相同或不同的标准氨基

酸、非标准氨基酸缩合氨基酸。也即X可选为1个标准氨基酸、非标准氨基酸,也可以为2个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合氨基酸,或者为3个相同或不同的标准氨基酸、非标准氨基酸缩合氨基酸,标准氨基酸、非标准氨基酸或缩合后的氨基酸通过羧基与乙醇胺的羟基连接,通过氨基与缬氨酸的羧基连接。

[0058] 术语“ $C_0$ ”表示外推至 $t=0$ 的最大血浆浓度。

[0059] 术语“ $T_{max}$ ”表示给药后达到药峰浓度所需的时间。

[0060] 术语“ $AUC_{last}$ ”表示血药浓度曲线对时间轴所包围的面积。

[0061] 与现有技术相比,本发明前药具有如下预料不到的技术效果:

[0062] (1) 本发明的PEA前药可显著提升PEA的口服生物利用度,优于现有技术;

[0063] (2) 比格犬口服本发明某些实施例PEA前药后在血浆中只检测到PEA而检测不到前药,说明本发明的PEA前药体内转化速率快;

[0064] (3) 本发明的PEA前药为白色固体粉末,具有适于固体制剂生产的粉体学性质。

## 附图说明

[0065] 下面结合附图对本发明进一步说明。

[0066] 图1为实施例14中雄性比格犬口服PEA、PEA-(L)-P后血浆中PEA的平均药物浓度-时间曲线图。

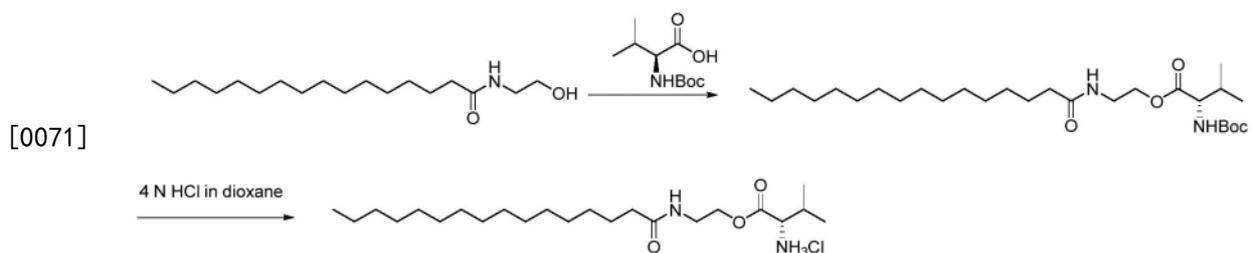
## 具体实施方式

[0067] 下文将结合具体实施例对本发明的技术方案做更进一步的详细说明。应当理解,下列实施例仅为示例性地说明和解释本发明,而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

[0068] 除非另有说明,以下实施例中使用的原料和试剂均为市售商品,或者可以通过已知方法制备。

[0069] 实施例1:PEA-(L)-V盐酸盐的合成

[0070] 合成路线:



[0072] PEA-(L)-V盐酸盐

[0073] PEA-(L)-V盐酸盐合成步骤如下:

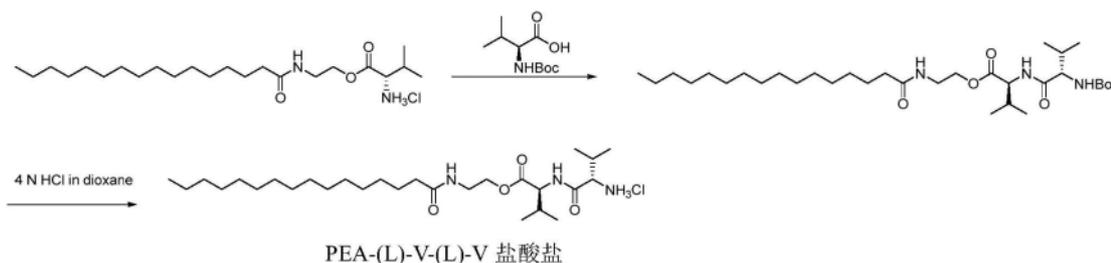
[0074] 取N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(900mg, 3.0mmol, 1.0eq), (叔丁氧羰基)-L-缬氨酸(716mg, 3.3mmol, 1.1eq), HOBt(608mg, 4.5mmol, 1.5eq)和DMAP(73.2mg, 0.6mmol, 0.2eq)溶于15mL二氯甲烷中,搅拌下加入EDCI(864mg, 4.5mmol, 1.5eq),升温至50°C,反应过夜,TLC点板监测。反应完全后,加入适量饱和碳酸氢钠溶液,DCM萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(550mg,收率为37%,白

色固体,  $R_f=0.2$  (PE:EA=2:1)。

[0075] 取2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(550mg, 1.1mmol, 1.0eq)溶于5mL甲醇中,冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N盐酸的1,4-二氧六环溶液5mL,常温反应1h,TLC板监测。反应完全后,浓缩反应液,柱层析分离得目标化合物PEA-(L)-V盐酸盐(445mg,收率93%,白色固体,  $R_f=0.3$  (DCM:MeOH=20:1))。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$ 4.32 (t,  $J=5.3\text{Hz}$ , 2H), 3.95 (brs, 1H), 3.60-3.46 (m, 2H), 2.35 (brs, 1H), 2.23 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 1.65-1.62 (m, 2H), 1.34-1.31 (m, 24H), 1.10 (d,  $J=6.5\text{Hz}$ , 6H), 0.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 3H) ppm. HRMS (ESI)  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{23}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_3]^+$  399.3581, found 399.3580.

[0076] 实施例2:PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐的合成

[0077] 合成路线:



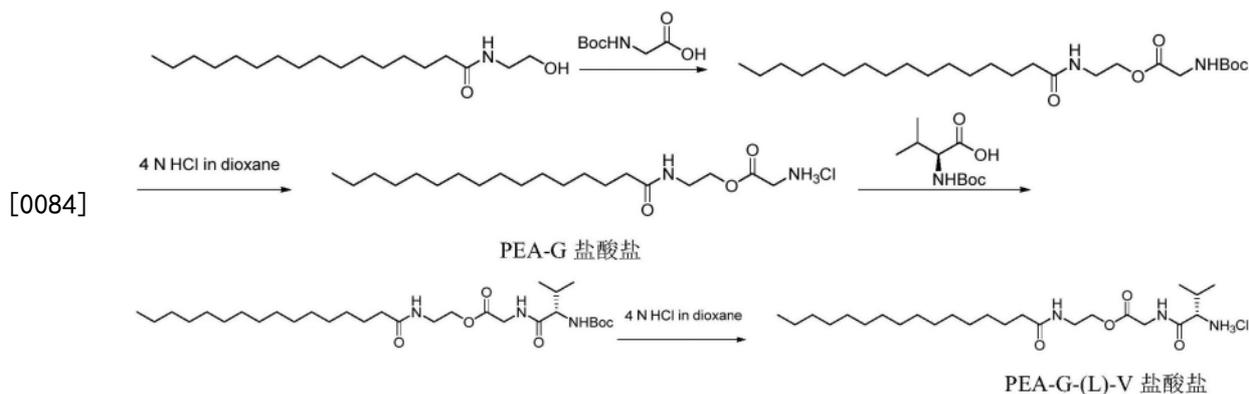
[0079] PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐合成步骤如下:

[0080] 取PEA-(L)-V盐酸盐(360mg, 0.77mmol, 1.0eq), (叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(185mg, 0.85mmol, 1.1eq), HOBt(157mg, 1.16mmol, 1.5eq)和DMAP(18.5mg, 0.15mmol, 0.2eq)溶于5mL二氯甲烷中,搅拌下加入EDCI(223mg, 1.16mmol, 1.5eq),升温至 $50^\circ\text{C}$ ,分批加入三乙胺( $78\text{mg} \times 3$ , 2.3mmol, 3.0eq),反应过夜,TLC点板监测。反应完全后,加入适量饱和碳酸氢钠水溶液,二氯甲烷萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰-L-缬氨酸酯(358mg,收率为60%,  $R_f=0.5$  (PE:EA=1:1))。

[0081] 取2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰-L-缬氨酸酯(300mg, 0.5mmol, 1.0eq)溶于5mL甲醇中,冰浴搅拌下逐滴缓慢加入盐酸的二氧六环溶液3mL,常温反应1h,TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩,柱层析分离得目标化合物PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐(140mg,收率52%,白色固体,  $R_f=0.3$  (DCM:MeOH=20:1))。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ 4.37 (d,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 4.28-4.15 (m, 2H), 3.49 (t,  $J=5.4\text{Hz}$ , 2H), 3.27 (d,  $J=5.5\text{Hz}$ , 1H), 2.27-2.16 (m, 3H), 2.08-1.97 (m, 1H), 1.67-1.58 (m, 2H), 1.33-1.31 (s, 24H), 1.03-0.90 (m, 15H) ppm. HRMS (ESI)  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_4]^+$  498.4265, found 498.4279.

[0082] 实施例3:化合物PEA-G-(L)-V盐酸盐的合成

[0083] 合成路线:



[0085] PEA-G-(L)-V盐酸盐合成步骤如下:

[0086] 取N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(6.0g, 20.0mmol, 1.0eq), (叔丁氧羰基)甘氨酸(3.9g, 22.0mmol, 1.1eq), HOBt(4.1g, 30.0mmol, 1.5eq)和DMAP(1.2g, 11.0mmol, 0.5eq)溶于50mL  $\text{CHCl}_3$ 中, 搅拌下加入EDCI(5.8g, 30.0mmol, 1.5eq), 升温至 $65^\circ\text{C}$ , 反应过夜, TLC点板监测。反应完全后, 加入适量饱和碳酸氢钠溶液, DCM萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯(7.9g, 收率为86%, 白色固体,  $R_f=0.7$  (DCM:MeOH=10:1))。

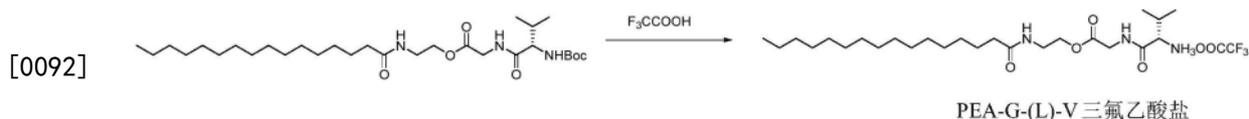
[0087] 取2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯(7.9g, 17.0mmol, 1.0eq)溶于30mL DCM中, 冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N HCl in dioxane 13mL, 常温反应2h, TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩, DCM:MeOH=100:1打浆得PEA-G盐酸盐(5.5g, 收率83%, 白色固体,  $R_f=0.4$  (DCM:MeOH=10:1))。

[0088] 取PEA-G盐酸盐(5.5g, 14.0mmol, 1.0eq), 溶于30mL  $\text{CHCl}_3$ 中, 搅拌下逐滴加入三乙胺(4.2g, 42.0mmol, 3.0eq), 搅拌10min后, 加入(叔丁氧羰基)-L-缬氨酸(3.6g, 16.8mmol, 1.2eq), HOBt(2.8g, 21.0mmol, 1.5eq)和DMAP(854mg, 7.0mmol, 0.5eq), 搅拌下加入EDCI(4.0g, 2.0mmol, 1.5eq), 升温至 $65^\circ\text{C}$ , 反应过夜, TLC点板监测。反应完全后, 加入适量饱和碳酸氢钠溶液, DCM萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰甘氨酸酯(5.4g, 收率为70%,  $R_f=0.7$  (DCM:MeOH=10:1))。

[0089] 取2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰甘氨酸酯(5.4g, 9.7mmol, 1.0eq)溶于30mL DCM中, 冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N HCl的二氧六环溶液7mL, 常温反应2h, TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩, 柱层析分离得1.6g目标产物PEA-G-(L)-V盐酸盐(收率34%, 白色固体,  $R_f=0.4$  (DCM:EtOH=10:1))。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.87 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 8.09 (d,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 4.05 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 2H), 4.04-3.81 (m, 2H), 3.48 (d,  $J=5.3\text{Hz}$ , 1H), 3.28 (q,  $J=5.8\text{Hz}$ , 2H), 3.21-3.69 (brs, 3H), 2.07 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H), 1.24 (s, 24H), 0.94 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 6H), 0.88-0.84 (m, 3H) ppm. HRMS (ESI)  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{25}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_4]^+$  456.3801, found 456.3789.

[0090] 实施例4: 化合物PEA-G-(L)-V三氟乙酸盐的制备

[0091] 合成路线:

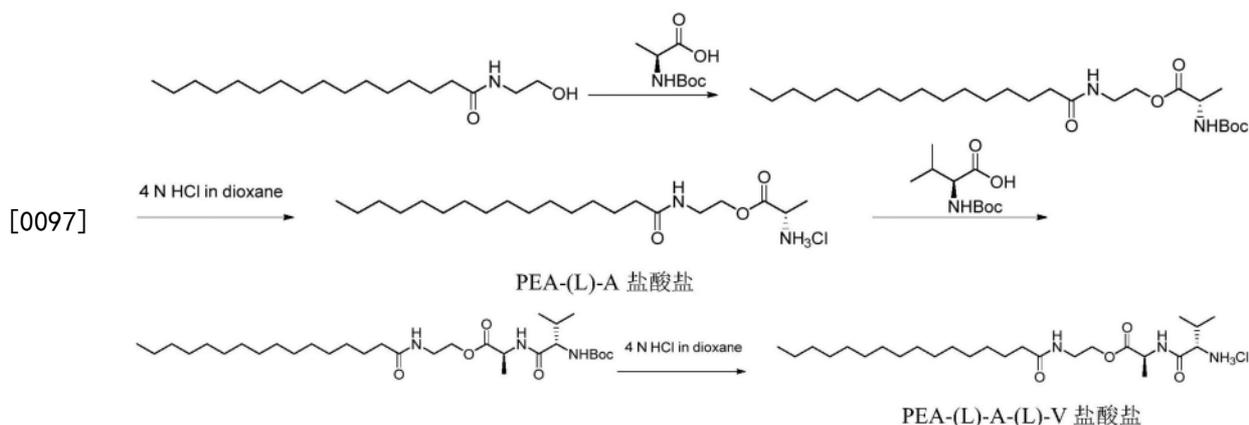


[0093] PEA-G-(L)-V三氟乙酸盐合成步骤如下:

[0094] 氩气保护下,取化合物2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧羰基)-L-缬氨酸乙基酯(3.0g,5.4mmol,1.0eq)溶于20mL无水DCM中,冷却至0°C后逐滴缓慢加入三氟乙酸(18.5g,162.0mmol,30.0eq),常温反应2h,TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩,柱层析分离得目标产物PEA-G-(L)-V三氟乙酸盐(1.5g,收率48%,白色固体, $R_f=0.3$ (DCM:MeOH=10:1))。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,Methanol-d<sub>4</sub>) $\delta$ 4.19(t,J=5.4Hz,2H),4.04-3.90(m,2H),3.43(t,J=5.4Hz,2H),3.16(d,J=5.5Hz,1H),2.18(t,J=7.5Hz,2H),2.04-1.93(m,1H),1.64-1.55(m,2H),1.28(s,24H),1.00-0.87(m,9H)ppm。<sup>19</sup>F NMR(282MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -68.8ppm。MS m/z Calcd for [C<sub>25</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Na]<sup>+</sup>478.68,found 478.46。

[0095] 实施例5:PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐的合成

[0096] 合成路线:



[0098] PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐合成步骤如下:

[0099] 取N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(7.5g,25.0mmol,1.0eq),(叔丁氧羰基)-L-丙氨酸(5.67g,30.0mmol,1.2eq),HOBt(5.1g,37.5mmol,1.5eq)和DMAP(1.5g,12.5mmol,0.5eq)溶于50mL CHCl<sub>3</sub>中,搅拌下加入EDCI(7.2g,37.5mmol,1.5eq),升温至65°C,反应过夜,TLC点板监测。反应完全后,加入适量饱和碳酸氢钠溶液,DCM萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧羰基)-L-丙氨酸(9.4g,收率为80%,白色固体, $R_f=0.7$ (DCM:MeOH=10:1))。

[0100] 取化合物2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧羰基)-L-丙氨酸(9.4g,20mmol,1.0eq)溶于30mL DCM中,冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N HCl in dioxane 15mL,常温反应2h,TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩,DCM:MeOH=100:1打浆得PEA-(L)-A盐酸盐(6.0g,收率74%,白色固体, $R_f=0.4$ (DCM:MeOH=10:1))。

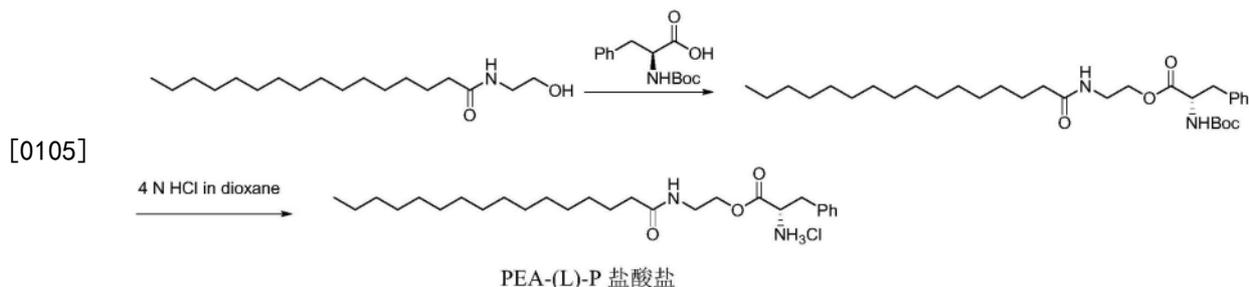
[0101] 取PEA-(L)-A盐酸盐(6.0g,15.0mmol,1.0eq),溶于30mL CHCl<sub>3</sub>中,搅拌下逐滴加入三乙胺(4.5g,45.0mmol,3.0eq),搅拌10min后,加入(叔丁氧羰基)-L-缬氨酸(3.9g,18mmol,1.2eq),HOBt(3.0g,22.0mmol,1.5eq)和DMAP(915mg,7.5mmol,0.5eq),搅拌下加入EDCI(4.2g,22.0mmol,1.5eq),升温至65°C,反应过夜,TLC点板监测。反应完全后,加入适量饱和碳酸氢钠溶液,DCM萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析

分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酸酯(6.2g,收率为72%, $R_f=0.7$ (DCM:MeOH=10:1))。

[0102] 取化合物2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酸酯(4.0g, 7.0mmol, 1.0eq)溶于20mL DCM中,冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N HCl in dioxane 4mL,常温反应2h,TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩,柱层析分离得目标产物PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐(1.7g,收率48%,白色固体, $R_f=0.3$ (DCM:MeOH=10:1))。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.95(d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 1H), 8.16(s, 3H), 7.98(t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 4.36(p,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 4.04(td,  $J=5.7, 3.2\text{Hz}$ , 2H), 3.62(d,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 3.27(q,  $J=5.9\text{Hz}$ , 2H), 2.14-2.03(m, 3H), 1.51-1.42(m, 2H), 1.33(d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 3H), 1.23(app.s, 24H), 0.96(d,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H), 0.89-0.80(m, 3H) ppm. MS  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{26}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}]^+$  492.71, found 492.45.

[0103] 实施例6:PEA-(L)-P盐酸盐的合成

[0104] 合成路线:



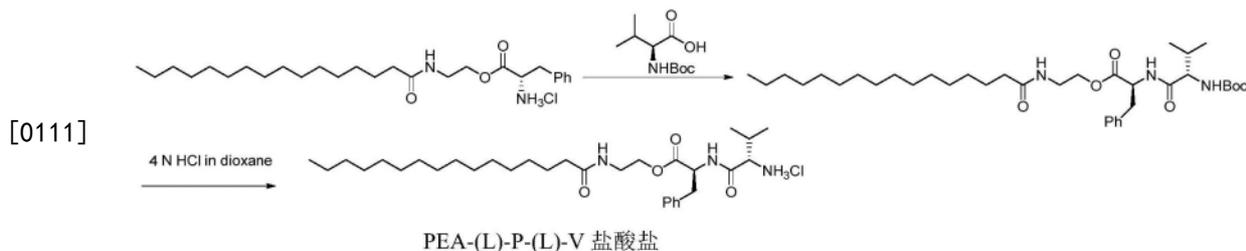
[0106] PEA-(L)-P盐酸盐合成步骤如下:

[0107] 取N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(6.0g, 20.0mmol, 1.0eq), (叔丁氧羰基)-L-苯丙氨酸(4.0g, 24.0mmol, 1.2eq), HOBt(4.1g, 30.0mmol, 1.5eq)和DMAP(1.2g, 10.0mmol, 0.5eq)溶于50mL  $\text{CHCl}_3$ 中,搅拌下加入EDCI(5.8g, 30.0mmol, 1.5eq),升温至 $65^\circ\text{C}$ ,反应过夜,TLC点板监测。反应完全后,加入适量饱和碳酸氢钠溶液,DCM萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析分离得2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-苯丙氨酸酯(6.5g,收率为73%,白色固体, $R_f=0.7$ (DCM:MeOH=10:1))。

[0108] 取2-棕榈酰胺乙基(叔丁氧基羰基)-L-苯丙氨酸酯(6.5g, 14.6mmol, 1.0eq)溶于30mL DCM中,冰浴搅拌下逐滴缓慢加入4N HCl in dioxane 8mL,常温反应2h,TLC点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩,DCM:MeOH=100:1打浆得PEA-(L)-P盐酸盐(6.0g,收率85%,白色固体, $R_f=0.4$ (DCM:MeOH=10:1))。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ 7.40-7.27(m, 5H), 4.35(dd,  $J=7.6, 6.0\text{Hz}$ , 1H), 4.31-4.18(m, 2H), 3.53-3.37(m, 2H), 3.35-3.28(m, 1H), 3.20(dd,  $J=14.4, 7.6\text{Hz}$ , 1H), 2.20(t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 1.64-1.54(m, 2H), 1.27(app.s, 24H), 0.89(t,  $J=6.87\text{Hz}$ , 3H) ppm. MS  $m/z$  Calcd for  $[2\text{M}+1]$  894.36, found 894.41.

[0109] 实施例7:PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐的制备

[0110] 合成路线:



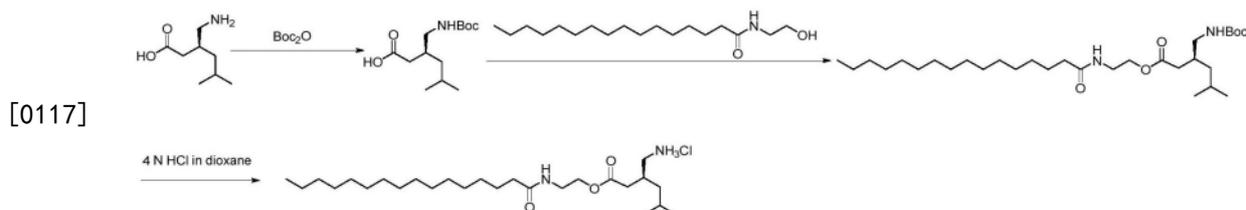
[0112] PEA-(L)-P-(L)-V 盐酸盐合成步骤如下:

[0113] 取 PEA-(L)-P 盐酸盐 (6.0g, 12.5mmol, 1.0eq), 溶于 30mL  $\text{CHCl}_3$  中, 搅拌下逐滴加入三乙胺 (3.8g, 37.5mmol, 3.0eq), 搅拌 10min 后, 加入 (叔丁氧羰基)-L-缬氨酸 (3.3g, 15mmol, 1.2eq), HOBt (2.5g, 18.8mmol, 1.5eq) 和 DMAP (763mg, 6.3mmol, 0.5eq), 搅拌下加入 EDCI (3.6g, 18.8mmol, 1.5eq), 升温至  $65^\circ\text{C}$ , 反应过夜, TLC 点板监测。反应完全后, 加入适量饱和碳酸氢钠溶液, DCM 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得 2-棕榈酰胺乙基 (叔丁氧羰基)-L-缬氨酰-L-苯丙氨酸酯 (5.6g, 收率为 70%,  $R_f = 0.7$  (DCM:MeOH=10:1))。

[0114] 取 2-棕榈酰胺乙基 (叔丁氧羰基)-L-缬氨酰-L-苯丙氨酸酯 (4.0g, 6.2mmol, 1.0eq) 溶于 20mL DCM 中, 冰浴搅拌下逐滴缓慢加入 4N HCl in dioxane 3mL, 常温反应 2h, TLC 点板监测。反应完全后直接将反应液浓缩, 三氯甲烷重结晶, 然后柱层析分离得目标产物 PEA-(L)-P-(L)-V 盐酸盐 (2.8g, 收率 77%, 白色固体,  $R_f = 0.3$  (DCM:MeOH=10:1))。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  7.33-7.22 (m, 5H), 4.74 (dd,  $J = 9.0, 5.4\text{Hz}$ , 1H), 4.14 (hept,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 2H), 3.67 (d,  $J = 5.2\text{Hz}$ , 1H), 3.40 (t,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 2H), 3.24 (dd,  $J = 14.2, 5.5\text{Hz}$ , 1H), 3.03 (dd,  $J = 14.1, 9.0\text{Hz}$ , 1H), 2.25-2.15 (m, 3H), 1.62-1.56 (m, 2H), 1.27 (app. s, 26H), 1.06 (d,  $J = 6.9\text{Hz}$ , 3H), 1.01 (d,  $J = 6.9\text{Hz}$ , 3H), 0.92-0.87 (m, 3H) ppm. HRMS (ESI)  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_4]^+$  546.4271, found 546.4264.

[0115] 实施例 8: PEA-普瑞巴林盐酸盐的合成

[0116] 合成路线:



[0118] PEA-普瑞巴林盐酸盐合成步骤如下:

[0119] 将普瑞巴林 (795mg, 5mmol, 1eq.), NaOH (600mg, 15mmol, 3eq) 溶解于 20mL 水中, 室温下滴加  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.96g, 9mmol, 1.8eq.) 的 1,4-二氧六环溶液 (20mL), 室温搅拌 1 小时。减压浓缩除去 1,4-二氧六环, 乙醚 (30mL x 3) 萃取除去过量  $\text{Boc}_2\text{O}$ , 水相用柠檬酸饱和溶液调节 pH 至 2。二氯甲烷 (30mL x 3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得 N-Boc 保护的普瑞巴林, 不经纯化进行下一步 (1.1g 白色固体, 收率 85%)。

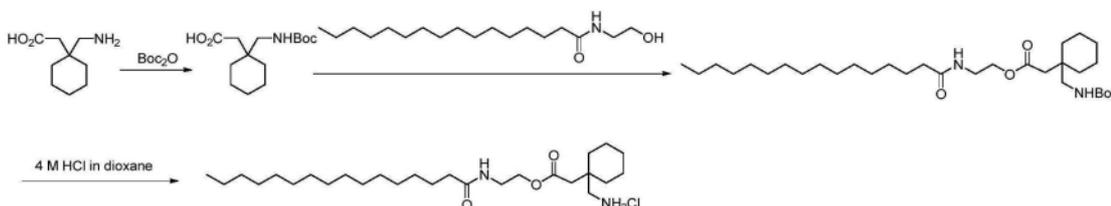
[0120] 将 N-Boc 保护的普瑞巴林 (142mg, 0.55mmol, 1.1eq.), N-(2-羟乙基) 棕榈酰胺 (150mg, 0.5mmol, 1.0eq.), EDCI (144mg, 0.75mmol, 1.5eq.), HOBt (101mg, 0.75mmol, 1.5eq.), DMAP (12.2mg, 0.1mmol, 0.2eq.) 悬浮于 5mL 二氯甲烷中, 室温下搅拌 2 天。加入饱和

碳酸氢钠5mL淬灭反应,氯仿(10mL x 3)萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,硅胶柱层析得N-Boc保护的普瑞巴林和N-(2-羟乙基)棕榈酰胺酯化物(230mg白色固体,收率85%)。

[0121] 将N-Boc保护的普瑞巴林和N-(2-羟乙基)棕榈酰胺酯化物(108mg, 0.2mmol, 1.0eq.)溶解于2mL二氯甲烷中,冰水浴下滴加4N的氯化氢的1,4-二氧六环溶液(0.5mL, 2mmol, 10.0eq.)。待原料转化完全,浓缩除去有机溶剂,硅胶柱层析得白色固体,再经重结晶得到目标化合物PEA-普瑞巴林盐酸盐(53mg白色固体,收率56%)。<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.33 (brs, 2H), 6.83 (brs, 1H), 4.26-4.14 (m, 2H), 3.54-3.52 (m, 2H), 3.18-3.13 (m, 1H), 3.06-2.99 (m, 1H), 2.67-2.51 (m, 2H), 2.40 (app. s, 1H), 2.24 (t, J=7.6Hz, 2H), 1.70-1.59 (m, 3H), 1.30-1.27 (m, 26H), 0.95-0.88 (m, 9H) ppm. HRMS (ESI) m/z Calcd for [C<sub>26</sub>H<sub>53</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 441.4051, found 441.4080.

[0122] 实施例9:PEA-加巴喷丁盐酸盐的合成

[0123] 合成路线:



[0124]

[0125] PEA-加巴喷丁盐酸盐合成步骤如下:

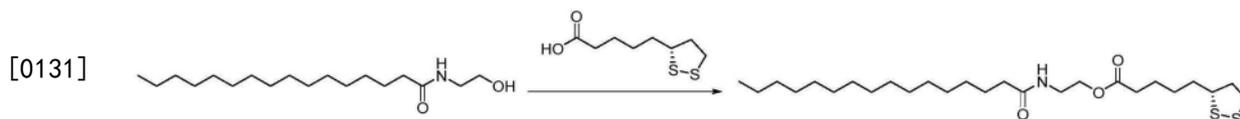
[0126] 将加巴喷丁(1.71g, 10mmol, 1eq.), NaOH(1.2g, 30mmol, 3eq.)溶解于30mL水中,室温下滴加 $\text{Boc}_2\text{O}$ (4.36g, 20mmol, 2.0eq.)的四氢呋喃溶液(30mL),室温搅拌1小时。减压浓缩除去四氢呋喃,乙醚(30mL x 3)萃取除去过量 $\text{Boc}_2\text{O}$ ,水相用柠檬酸饱和溶液调节pH至2。二氯甲烷(30mL x 3)萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得N-Boc保护的加巴喷丁,不经纯化进行下一步(2.25g白色固体,收率85%)。

[0127] 将N-Boc保护的加巴喷丁(325mg, 1.2mmol, 1.2eq.), N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(299mg, 1.0mmol, 1.0eq.), EDCI(288mg, 1.5mmol, 1.5eq.), HOBt(203mg, 1.5mmol, 1.5eq.), DMAP(24.4mg, 0.1mmol, 0.2eq.)悬浮于10mL二氯甲烷中,室温下搅拌2天。加入饱和碳酸氢钠5mL淬灭反应,氯仿(30mL x 3)萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,硅胶柱层析得N-Boc保护的加巴喷丁和N-(2-羟乙基)棕榈酰胺酯化物(397mg白色固体,收率72%)。

[0128] 将N-Boc保护的加巴喷丁和N-(2-羟乙基)棕榈酰胺酯化物(276mg, 0.5mmol, 1.0eq.)溶解5mL二氯甲烷中,冰水浴下滴加4N的氯化氢的1,4-二氧六环溶液(1.2mL, 4.8mmol, 9.6eq.)。待原料转化完全,浓缩除去有机溶剂,硅胶柱层析得白色固体,再经重结晶得到目标化合物PEA-加巴喷丁盐酸盐(159mg白色固体,收率65%)。<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.37 (s, 3H), 6.93 (s, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.20 (s, 2H), 2.70 (s, 2H), 2.30 (s, 2H), 1.69-1.33 (m, 36H), 0.95 (t, J=6.5Hz, 3H) ppm. HRMS (ESI) m/z Calcd for [C<sub>27</sub>H<sub>53</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 453.4051, found 453.4051.

[0129] 实施例10:PEA-硫辛酸酯的合成

[0130] 合成路线:

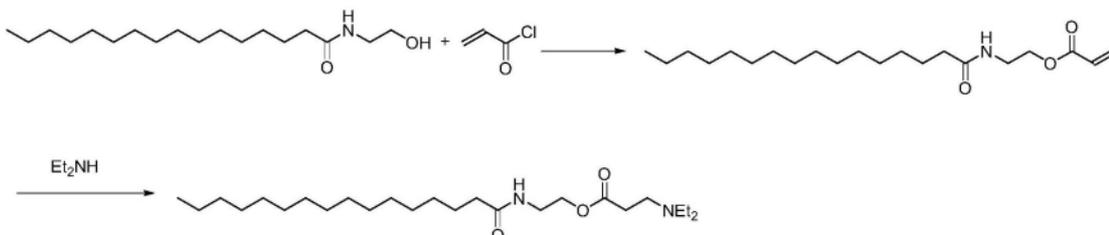


[0132] PEA-硫辛酸酯合成步骤如下:

[0133] 将R-硫辛酸(453mg, 2.2mmol, 1.1eq.), N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(598mg, 2.0mmol, 1.0eq.)及DMAP(24.4mg, 0.2mmol, 0.1eq.)溶解于10mL二氯甲烷中, 室温下滴加DCC(825mg, 4mmol, 2.0eq.)的二氯甲烷溶液(5mL), 室温搅拌过夜。抽滤除去不溶物, 滤饼用二氯甲烷洗涤, 有机相依次以饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩得粗产物, 经硅胶柱层析(PE:EA=5:1~1:1)得目标化合物PEA-硫辛酸酯(420mg黄色固体, 收率43%)。<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ5.91(t, J=5.8Hz, 1H), 4.13(t, J=5.3Hz, 2H), 3.59-3.45(m, 3H), 3.19-3.04(m, 2H), 2.49-2.39(m, 1H), 2.31(t, J=7.3Hz, 2H), 2.15(t, J=7.6Hz, 2H), 1.93-1.82(m, 1H), 1.71-1.52(m, 6H), 1.50-1.37(m, 2H), 1.22(s, 24H), 0.84(t, J=6.6Hz, 3H) ppm. HRMS(ESI)m/z Calcd for [C<sub>26</sub>H<sub>50</sub>NO<sub>3</sub>S<sub>2</sub>]<sup>+</sup>488.3227, found 488.3232.

[0134] 实施例11: PEA-二乙基氨基丙酸酯的合成

[0135] 合成路线:



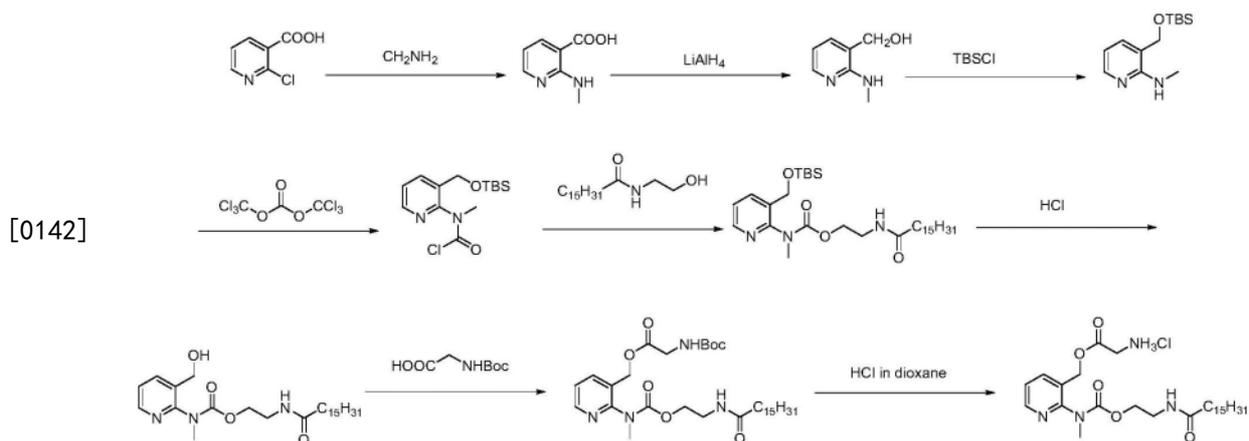
[0137] PEA-二乙基氨基丙酸酯合成步骤如下:

[0138] 将N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(6g, 20mmol, 1.0eq.)溶于40mL二氯甲烷中, 冰浴下加入三乙胺(30mmol, 1.5eq.), 逐滴滴加丙烯酰氯(22mmol, 1.1eq.)。TLC板监测, 待反应完全(约2h), 冰浴下加入1N盐酸20mL淬灭反应, 二氯甲烷萃取, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥。过滤, 浓缩后经硅胶柱层析分离得到丙烯酸2-棕榈酰胺乙酯(5.3g, 收率为88%, 白色固体, R<sub>f</sub>=0.5(DCM:MeOH=20:1))。

[0139] 将丙烯酸2-棕榈酰胺乙酯(3.53g, 10mmol, 1.0eq.)溶解于20mL氯仿中, 加入二乙胺(11mmol, 1.1eq.)以及20微升醋酸, 升温至40°C搅拌过夜。TLC板监测, 待反应完全, 浓缩后经氧化铝柱层析分离得到2.1g目标产物PEA-二乙基氨基丙酸酯(收率为49%, 米黄色固体, R<sub>f</sub>=0.5(DCM:MeOH=10:1))。<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.01(brs, 1H), 4.19(t, J=5.2Hz, 2H), 3.51(q, J=5.4Hz, 2H), 2.78(t, J=7.0Hz, 2H), 2.57-2.45(m, 6H), 2.17-2.12(m, 2H), 1.61(p, J=7.2Hz, 2H), 1.24(s, 24H), 1.02(t, J=7.2Hz, 6H), 0.87(t, J=6.6Hz, 3H) ppm. HRMS(ESI)m/z Calcd for [C<sub>25</sub>H<sub>51</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>427.3900, found 427.3903.

[0140] 实施例12: PEA-Py的合成

[0141] 合成路线:



[0143] PEA-Py的合成步骤如下:

[0144] 取2-氯烟酸10g,加入40%甲胺水溶液20g,升温至 $80^\circ\text{C}$ ,持续搅拌两天。待反应结束,加入10%氢氧化钠水溶液调节pH到10,浓缩除去未反应的甲胺。然后10%盐酸调节pH至5-6,得粗产物2-(甲氨基)烟酸,不经处理直接进行下一步。

[0145] 氩气保护条件下将 $\text{LiAlH}_4$  (1.9g, 50mmol, 2.5eq) 溶于40mL THF中,冰浴搅拌下,缓慢分批加入2-(甲氨基)烟酸(3.04g, 20mmol, 1.0eq),加完后将反应升温至 $50^\circ\text{C}$ ,TLC板监测。待反应完全,冰浴下加入 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 淬灭反应,搅拌30min,硅藻土抽滤,滤饼用氯仿洗涤。滤液浓缩后经硅胶柱层析分离得到(2-(甲氨基)吡啶-3-基)甲醇(916mg,收率为42%,白色固体, $R_f=0.5$ (DCM:MeOH=20:1))。

[0146] 将(2-(甲氨基)吡啶-3-基)甲醇(695mg, 5mmol, 1.0eq)溶于15mL DCM中,依次加入咪唑(680mg, 10mmol, 2.0eq)和TBSCl(904mg, 6mmol, 1.2eq),室温搅拌4h,TLC板监测。反应完全后加水淬灭,DCM萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥。过滤,浓缩得粗产物3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)-N-甲基吡啶-2-胺(褐色液体, $R_f=0.6$ (DCM:MeOH=10:1)),不经处理直接进行下一步。

[0147] 将三光气(742mg, 2.5mmol, 1.0eq)溶于20mL DCM中,冰浴下缓慢滴加吡啶(395mg, 5mmol, 1.0eq),搅拌5min后逐滴加入上一步粗产物3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)-N-甲基吡啶-2-胺,搅拌5min,升至室温继续搅拌4h,TLC板监测。反应完全后,饱和硫酸铜溶液淬灭反应,DCM萃取,合并有机相,干燥,柱层析分离得616.7mg目标产物(3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)吡啶-2-基(甲基)氨基氯(两步总收率为40%,黄色透明液体, $R_f=0.8$ (PE:EA=2:1))。

[0148] 将N-(2-羟乙基)棕榈酰胺(508mg, 1.7mmol, 1.0eq),DIPEA(439mg, 3.4mmol, 2.0eq),DMAP(21mg, 0.17mmol, 0.1eq)溶于10mL DCM中,搅拌下加入(3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)吡啶-2-基(甲基)氨基氯(617mg, 1.9mmol, 1.1eq)。 $50^\circ\text{C}$ 下冷凝回流,反应72h,TLC板监测。反应完全后加适量饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应,DCM萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥。过滤,浓缩,硅胶柱层析得产物2-棕榈酰胺乙基(3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)吡啶-2-基(甲基)氨基甲酸酯(678mg,收率为70%, $R_f=0.3$ (PE:EA=1:1))。

[0149] 将2-棕榈酰胺乙基(3-((叔丁基二甲基甲硅基)氧基)甲基)吡啶-2-基(甲基)氨基甲酸酯(115.3mg, 0.2mmol, 1.0eq)溶于2mL THF中,缓慢滴加3mL 1N盐酸,常温搅拌

30min, TLC板监测。反应完全后加适量饱和碳酸氢钠溶液淬灭, DCM萃取, 合并有机相, 干燥, 浓缩得粗产物2-棕榈酰胺乙基(3-(羟甲基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸酯( $R_f=0.5$  (DCM: MeOH=20:1)), 不经处理直接进行下一步。

[0150] 取上一步粗产物2-棕榈酰胺乙基(3-(羟甲基)吡啶-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(713mg, 1.4mmol, 1.0eq), N-Boc甘氨酸(245mg, 1.4mmol, 1.0eq), HOBt(284mg, 2.1mmol, 1.5eq)以及DMAP(34mg, 0.28mmol, 0.2eq)溶于20mL DCM中, 搅拌条件下加入EDCI(403mg, 2.1mmol, 1.5eq), 室温反应过夜, TLC板监测, 反应完全后加适量饱和碳酸氢钠溶液, DCM萃取, 合并有机相, 干燥, 柱层析分离得产物(2-(甲基((2-棕榈酰氨基乙氧基)羰基)氨基)吡啶-3-基)甲基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯(500mg, 收率为55%, 淡黄色固体,  $R_f=0.5$  (DCM: MeOH=20:1))。

[0151] 将(2-(甲基((2-棕榈酰氨基乙氧基)羰基)氨基)吡啶-3-基)甲基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯(100mg, 0.15mmol, 1.0eq) 3mL DCM中, 冰浴搅拌下逐滴加入盐酸的二氧六环溶液4mL, 反应1h, TLC板监测, 反应完全后直接浓缩, 加适量乙醚充分搅拌后抽滤得粗产物(白色固体)。粗产物经PTLC进一步纯化得目标产物PEA-Py(60mg, 收率为77%, 白色固体,  $R_f=0.4$  (DCM: MeOH=10:1))。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ 8.66(dd,  $J=5.3, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 8.44(d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.78(dd,  $J=7.8, 5.2\text{Hz}$ , 1H), 5.35(s, 2H), 4.22(brs, 2H), 3.97(s, 2H), 3.36-3.29(m, 6H), 2.17(s, 2H), 1.57(s, 2H), 1.28(app. s, 24H), 0.97-0.77(m, 3H) ppm. HRMS (ESI)  $m/z$  Calcd for  $[\text{C}_{28}\text{H}_{49}\text{N}_4\text{O}_5]^+$  521.3697, found 521.3697.

[0152] 实施例13: 雄性比格犬静脉注射PEA后的药代动力学测试

[0153] 本实验目的旨在研究雄性比格犬单次静脉注射PEA溶液后, PEA在比格犬体内药物代谢动力学(PK)特性。

[0154] 给药制剂的制备: 称量PEA粉末加入含10% HS15、10% NMP、10% PEG400和70%水的溶媒中, 超声溶解, 0.22 $\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 分装进西林瓶中, 121 $^\circ\text{C}$ 高压蒸汽灭菌15min, 取样测定含量为0.47mg/ml。

[0155] 动物给药与采血: 3只雄性比格犬, 整个试验期间自由饮水, 给药前禁食12小时以上, 给药后4小时喂食。静脉注射PEA溶液。给药前0h, 给药后5min、10min、30min、1h、2h、4h和6h各采集血样至 $\text{K}_2\text{EDTA}$ 抗凝管中, 于冰上暂存至离心。采血后30min内需离心出血浆(2~8 $^\circ\text{C}$ 条件下, 以8000rpm离心5min), 离心后将血浆转移至离心管中,  $\leq -65^\circ\text{C}$ 保存, LC-MS/MS检测血浆中PEA浓度, 并计算其药代动力学参数。

[0156] 采用软件WinNonlinTM (Version 8.3, Certara, USA)的非房室模型计算药代动力学参数。PEA浓度计算时需减去0h血浆中浓度。比格犬静脉注射PEA溶液的剂量和PK数据见表1。

[0157] 表1比格犬静脉注射PEA溶液的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	9.6	9.5	9.6	9.6	0.1
给药量 (mg)	4.7	4.7	4.7	4.7	0.0
给药剂量 (mg/kg)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0
<b>PEA 的药代动力学参数</b>					
$T_{max}$ (min)	5.0	5.0	5.0	5.0	0.0
$C_0$ (ng/ml)	408.5	854.8	377.2	546.8	267.2
$AUC_{last}$ (ng·h/mL)	92.3	103.5	204.8	133.5	62.0

[0159] 表1结果显示:比格犬以0.5mg/kg静脉注射PEA溶液后, $T_{max}$ 为5min, $C_0$ 为546.8ng/ml, $AUC_{last}$ 为133.5ng·h/mL。静脉给药的数据将用于PEA的口服生物利用度的计算。

[0160] 实施例14:雄性比格犬口服PEA及其衍生物后的药代动力学测试

[0161] 本实验目的旨在研究雄性比格犬单次口服给予PEA、I16 (CN110023308A化合物I16) 或PEA衍生物后,检测物在比格犬体内PK特性。

[0162] 给药制剂的制备:用0号明胶胶囊灌装药物粉末。

[0163] 动物给药与采血:每组3只比格犬,实验前一天,比格犬至少禁食12h,可自由饮水。实验当天,比格犬首先灌喂流食特殊配餐约150mL (配料见表2),进食30min后分别口服给予预先灌装好的胶囊,并给予20mL水以确保胶囊进入胃部。完成给药后可自由饮水,4小时后正常给食。给药前0h,给药后10min、30min、1h、2h、3h、4h、6h和8h各采集血样至K<sub>2</sub>EDTA抗凝管中,于冰上暂存至离心。采血后30min内需离心出血浆(2~8°C条件下,以8000rpm离心5min),离心后定量取400μL血浆加入到预先加有4μL甲酸的离心管中,≤-65°C保存,LC-MS/MS检测血浆中待测物浓度,并计算其药代动力学参数。

[0164] 表2特殊配餐表

类型	培根	普通犬粮	全脂牛奶
数量	2条(~60g)	25g	150mL

[0166] 采用软件WinNonlin™(Version8.3,Certara,USA)的非房室模型计算各组的药代动力学参数。PEA浓度计算时需减去0h血浆中浓度。

[0167] 生物利用度计算公式:生物利用度(%) =  $(AUC_T \cdot D_{iv}) / (AUC_{iv} \cdot D_T) \times 100\%$ ,式中AUC代表 $AUC_{last}$ ,下标T和iv分别代表试验制剂和静脉注射制剂,D代表给药剂量。公式中的 $AUC_{iv}$ 使用实施例14中PEA静脉注射(给药剂量0.5mg/kg)的 $AUC_{last}$ 数据平均值133.5ng·h/mL。

[0168] (1)PEA的药代动力学测试

[0169] PEA作为对照组,测定比格犬口服PEA后的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表3。

[0170] 表3比格犬口服PEA的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	12	9.9	12.6	11.5	1.4
给药量 (mg)	300	300	300	300	0
给药剂量 (mg/kg)	25.0	30.3	23.8	26.4	3.5
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	6	4	0.5	3.5	2.8
C <sub>max</sub> (ng/ml)	26.4	9.0	17.9	17.8	8.7
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	80.0	58.9	52.6	63.8	14.4
生物利用度(%)	1.2	0.7	0.8	0.9	0.2

[0172] 表3结果显示:比格犬口服PEA后,PEA的生物利用度为0.9%。结果表明PEA口服生物利用度较低,与文献报道一致。

[0173] (2) I16(CN110023308A化合物I16)的药代动力学测试

[0174] I16是专利CN110023308A公开的PEA前药,现有技术中该前药给药后PEA的口服生物利用度最高。此处I16作为对照组,测定比格犬口服I16后血浆中I16和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表4。

[0175] 表4比格犬口服I16的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	12.1	10.1	8.8	10.3	1.7
给药量 <sup>1</sup> (mg)	300.0	300.0	300.0	300.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	24.8	29.7	34.1	29.5	4.7
<b>血浆中 I16 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	ND	ND	ND	ND	ND
C <sub>max</sub> (ng/ml)	ND	ND	ND	ND	ND
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	ND	ND	ND	ND	ND
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	2	6	2	3.3	2.3
C <sub>max</sub> (ng/ml)	148.8	55.84	90.63	98.4	47.0
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	237.4	271.3	219.2	242.6	26.4
生物利用度(%)	3.6	3.4	2.4	3.1	0.6

[0177] <sup>1</sup>给药量按PEA计。ND:血浆中未检出,无法计算药代动力学参数。

[0178] 比格犬口服I16后,在血浆中只能检测到PEA,未检测到I16,故无法计算I16的药代动力学参数。PEA的药代动力学参数见表4,结果显示比格犬口服I16后,PEA的生物利用度为3.1%,与(1)中PEA相比生物利用度显著提升。

[0179] (3) PEA-(L)-V盐酸盐的药代动力学测试

[0180] PLoS ONE 10 (6) :e0128699公开了PEA的L-缬氨酸衍生物,此处作为对照组,命名为PEA-(L)-V盐酸盐,测定比格犬口服PEA-(L)-V盐酸盐后血浆中PEA-(L)-V和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表5。

[0181] 表5比格犬口服PEA-(L)-V盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	11.2	9.8	11.6	10.9	0.9
给药量 <sup>1</sup> (mg)	400.0	400.0	400.0	400.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	35.7	40.8	34.5	37.0	3.4
<b>血浆中 PEA-(L)-V 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	4.0	4.0	3.0	3.7	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	898.0	41.6	855.0	598.2	482.5
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	1520.0	151.0	1280.0	983.7	731.0
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	4.0	4.0	3.0	3.7	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	42.3	3.9	28.7	25.0	19.5
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	70.0	14.2	50.0	44.7	28.3
生物利用度(%)	0.7	0.1	0.5	0.5	0.3

[0184] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0185] 比格犬口服PEA-(L)-V盐酸盐后,在血浆中同时检测到PEA-(L)-V和PEA。表5结果显示比格犬口服PEA-(L)-V盐酸盐后,PEA的生物利用度为0.5%,与(1)中PEA相比未提高生物利用度。

[0186] (4)PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐的药代动力学测试

[0187] 测定比格犬口服PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐后血浆中PEA-(L)-V-(L)-V和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表6。

[0188] 表6比格犬口服PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	10.8	11.0	11.4	11.1	0.3
给药量 <sup>1</sup> (mg)	400.0	400.0	400.0	400.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	37.0	36.4	35.1	36.2	1.0
<b>血浆中 PEA-(L)-V-(L)-V 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	3.0	3.0	4.0	3.3	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	1560.0	656.0	404.0	873.3	607.9
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	3740.0	1110.0	875.0	1908.3	1590.6
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	3.0	3.0	4.0	3.3	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	72.0	54.2	36.3	54.2	17.9
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	191.0	89.4	74.1	118.2	63.5
生物利用度%	1.9	0.9	0.8	1.2	0.6

[0190] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0191] 比格犬口服PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐后,血浆中同时检测到PEA-(L)-V-(L)-V和PEA。表6结果显示比格犬口服PEA-(L)-V-(L)-V盐酸盐后,PEA的生物利用度为1.2%,与(1)中PEA相比生物利用度略有提升。

[0192] (5)PEA-G-(L)-V盐酸盐的药代动力学测试

[0193] 测定比格犬口服PEA-G-(L)-V盐酸盐后血浆中PEA-G-(L)-V和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表7。

[0194] 表7比格犬口服PEA-G-(L)-V盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	10.3	10.3	9.5	10.0	0.5
给药量 <sup>1</sup> (mg)	300.0	300.0	300.0	300.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	29.1	29.1	31.6	29.9	1.4
<b>血浆中 PEA-G-(L)-V 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	1	3	3	2.3	1.2
C <sub>max</sub> (ng/ml)	55.27	143.1	77.98	92.1	45.6
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	161.1	307.4	125.1	197.9	96.6
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	2	4	3	3.0	1.0
C <sub>max</sub> (ng/ml)	34.92	51.11	47.48	44.5	8.5
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	95.63	137	104.7	112.4	21.7
生物利用度(%)	1.2	1.8	1.2	1.4	0.3

[0196] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0197] 比格犬口服PEA-G-(L)-V盐酸盐后,血浆中同时检测到PEA-G-(L)-V和PEA。表7结果显示比格犬口服PEA-G-(L)-V盐酸盐后,PEA的生物利用度为1.4%,与(1)中PEA相比生物利用度略有提升。

[0198] (6)PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐的药代动力学测试

[0199] 测定比格犬口服PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐后血浆中PEA-(L)-A-(L)-V和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表8。

[0200] 表8比格犬口服PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	12	9.3	9.2	10.2	1.6
给药量 <sup>1</sup> (mg)	300.0	300.0	300.0	300.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	25.0	32.3	32.6	30.0	4.3
<b>血浆中 PEA-(L)-A-(L)-V 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	4	3	3	3.3	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	1.041	70.35	108.7	60.0	54.6

	<b>AUC<sub>last</sub> (ng·h/mL)</b>	0.5205	114.5	215.6	110.2	107.6
	<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
[0202]	<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	8	3	0.5	3.8	3.8
	<b>C<sub>max</sub> (ng/ml)</b>	35.75	162.3	64.93	87.7	66.3
	<b>AUC<sub>last</sub> (ng·h/mL)</b>	62.37	236.1	144.4	147.6	86.9
	<b>生物利用度(%)</b>	0.9	2.7	1.6	1.8	0.9

[0203] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0204] 表8结果显示比格犬口服PEA-(L)-A-(L)-V盐酸盐后,PEA的生物利用度为1.7%,与(1)中PEA相比生物利用度提升约1倍。

[0205] (7)PEA-(L)-P盐酸盐的药代动力学测试

[0206] 测定比格犬口服PEA-(L)-P盐酸盐后血浆中PEA-(L)-P和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表9。

[0207] 表9比格犬口服PEA-(L)-P盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD	
体重 (kg)	12.0	9.9	12.6	11.5	1.4	
给药量 <sup>1</sup> (mg)	300.0	300.0	300.0	300.0	0.0	
给药剂量 (mg/kg)	25.0	30.3	23.8	26.4	3.5	
<b>血浆中 PEA-(L)-P 的药代动力学参数</b>						
[0208]	<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	ND	ND	ND	ND	ND
	<b>C<sub>max</sub> (ng/ml)</b>	ND	ND	ND	ND	ND
	<b>AUC<sub>last</sub> (ng·h/mL)</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>						
	<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	3	3	3	3	0
	<b>C<sub>max</sub> (ng/ml)</b>	121.2	450.9	178.2	250.1	176.2
	<b>AUC<sub>last</sub> (ng·h/mL)</b>	391.7	1075.0	565.5	677.4	355.1
	<b>生物利用度(%)</b>	5.9	13.3	8.9	9.4	3.7

[0209] <sup>1</sup>给药量按PEA计。ND:血浆中未检出,无法计算药动学参数。

[0210] 比格犬口服PEA-(L)-P盐酸盐后,血浆中未检测到PEA-(L)-P,只检测到PEA,说明前药PEA-(L)-P在体内转化速率快。

[0211] 表9结果显示比格犬口服PEA-(L)-P盐酸盐后,PEA的生物利用度为9.4%,与(1)中PEA相比生物利用度提升约9.4倍。

[0212] (8)PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐的药代动力学测试

[0213] 测定比格犬口服PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐后血浆中PEA-(L)-P-(L)-V和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表10。

[0214] 表10比格犬口服PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	13	13.2	12	12.7	0.6
给药量 <sup>1</sup> (mg)	300.0	300.0	300.0	300.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	23.1	22.7	25.0	23.6	1.2
<b>血浆中 PEA-(L)-P-(L)-V 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	ND	ND	ND	ND	ND
C <sub>max</sub> (ng/ml)	ND	ND	ND	ND	ND
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	ND	ND	ND	ND	ND
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	4	6	6	5.3	1.2
C <sub>max</sub> (ng/ml)	80.5	31.5	24.3	45.4	30.6
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	233.8	171.5	144.6	183.3	45.8
生物利用度(%)	3.8	2.8	2.2	2.9	0.8

[0216] <sup>1</sup>给药量按PEA计。ND: 血浆中未检出,无法计算药动学参数。

[0217] 比格犬口服PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐后,血浆中未检测到PEA-(L)-P-(L)-V,只检测到PEA,说明前药PEA-(L)-P-(L)-V在体内转化速率快。

[0218] 表10结果显示比格犬口服PEA-(L)-P-(L)-V盐酸盐后,PEA的生物利用度为2.9%,与(1)中PEA相比生物利用度提升约2.2倍。

[0219] (9)PEA-二乙基氨基丙酸酯的药代动力学测试

[0220] 测定比格犬口服PEA-二乙基氨基丙酸酯后血浆中PEA-二乙基氨基丙酸酯和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表11。

[0221] 表11比格犬口服PEA-二乙基氨基丙酸酯的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	9.6	10.7	9.4	9.9	0.7
给药量 <sup>1</sup> (mg)	400.0	400.0	400.0	400.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	41.7	37.4	42.6	40.5	2.8
<b>血浆中 PEA-二乙基氨基丙酸酯的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	3	2	3	2.7	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	56.0	52.4	43.1	50.5	6.7
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	116.0	100.3	81.2	99.2	17.4
<b>血浆 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	3	2	3	2.7	0.6
C <sub>max</sub> (ng/ml)	64.0	38.5	82.8	61.8	22.2
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	165.9	97.7	216.2	159.9	59.5
生物利用度(%)	1.5	1.0	1.9	1.5	0.5

[0224] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0225] 比格犬口服PEA-二乙基氨基丙酸酯后,血浆中同时检测到PEA-二乙基氨基丙酸酯和PEA。

[0226] 表11结果显示比格犬口服PEA-二乙基氨基丙酸酯后,PEA的生物利用度为1.5%,

与(1)中PEA相比生物利用度略有提升。

[0227] (10)PEA-Py的药代动力学测试

[0228] 测定比格犬口服PEA-Py后血浆中PEA-Py和PEA的血药浓度并计算药代动力学参数,给药剂量和PK数据见表12。

[0229] 表12比格犬口服PEA-Py的给药剂量和PK数据

比格犬编号	1	2	3	平均值	SD
体重 (kg)	12.2	9.5	10.1	10.6	1.4
给药量 <sup>1</sup> (mg)	400.0	400.0	400.0	400.0	0.0
给药剂量 (mg/kg)	32.8	42.1	39.6	38.2	4.8
<b>血浆中 PEA-Py 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	3	4	6	4.3	1.5
C <sub>max</sub> (ng/ml)	11.7	41.3	43.8	32.3	17.9
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	43.1	82.5	136.5	87.4	46.9
<b>血浆中 PEA 的药代动力学参数</b>					
T <sub>max</sub> (h)	4	4	2	3.3	1.2
C <sub>max</sub> (ng/ml)	5.5	15.0	14.0	11.5	5.2
AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	16.9	35.6	43.6	32.0	13.7
生物利用度(%)	0.2	0.3	0.4	0.3	0.1

[0231] <sup>1</sup>给药量按PEA计。

[0232] 比格犬口服PEA-Py后,血浆中同时检测到PEA-Py和PEA。

[0233] 表12结果显示比格犬口服PEA-Py后,PEA的生物利用度为0.3%,未提升PEA的生物利用度。

[0234] (11)将上述PK实施例汇总,进行对比,结果见表13。

[0235] 表13汇总比格犬口服PEA和PEA衍生物后的PK数据

化合物	血浆中是否能检测到前药	PEA 生物利用度 (%)
PEA	NA	0.9
I16	否	3.1
PEA-(L)-V	是	0.5
PEA-(L)-V-(L)-V	是	1.2
PEA-G-(L)-V	是	1.4
PEA-(L)-A-(L)-V	是	1.8
PEA-(L)-P	否	9.4
PEA-(L)-P-(L)-V	否	2.9
PEA-二乙基氨基丙酸酯	是	1.5
PEA-Py	是	0.3

[0238] NA:不适用。

[0239] 化合物PEA-(L)-V在文献PLoS ONE 10(6):e0128699.中已经公开,但该前药未能提升PEA的生物利用度。表13结果显示本发明衍生物可显著提升PEA生物利用度,最高可达10倍,效果显著优于PEA(原料药)和I16(已公开的最优的PEA前药),具有意想不到的效果。

血浆中是否能检测到前药间接反应了前药在体内的转化速率,从表13可知,化合物I16、PEA-(L)-P和PEA-(L)-P-(L)-V在血浆中未检测到,提示其体内转化速率快。

[0240] 本发明的目标是获得理想的PEA衍生物,该衍生物可以在体内迅速转化为PEA,并且能够增加PEA的口服生物利用度。本领域技术人员通常认为空间位阻越小,酯键越易水解。表13中PEA衍生物PEA-G-(L)-V中酯键的空间位阻最小,但体内转化并不快。令人预料不到的是,PEA-(L)-P和PEA-(L)-P-(L)-V组血浆中未检测到衍生物,前药转化速率快,且显著提升了PEA生物利用度,表现出理想的前药PK特征。

[0241] 以上,对本发明示例性的实施方式进行了说明。但是,本发明的保护范围不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

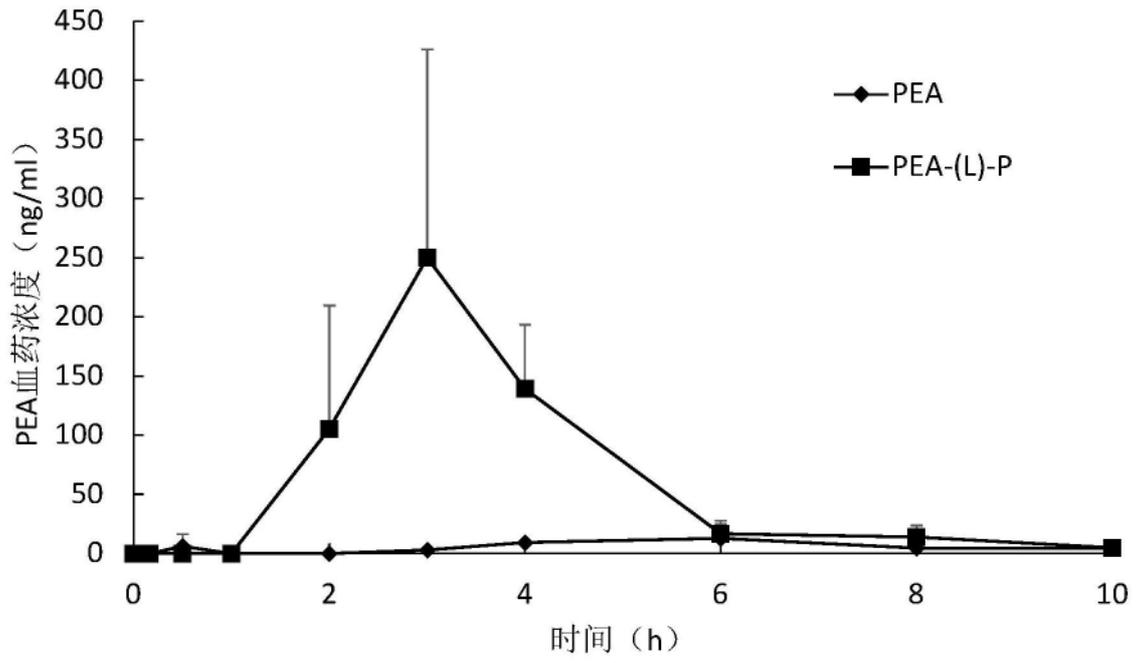


图1