

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 31/165

A61P 25/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94195074.3

[45]授权公告日 2002年8月7日

[11]授权公告号 CN 1088585C

[22]申请日 1994.10.26

[21]申请号 94195074.3

[30]优先权

[32]1994.2.8 [33]US [31]08/194,210

[32]1994.8.9 [33]US [31]08/288,668

[86]国际申请 PCT/US94/12293 1994.10.26

[87]国际公布 WO95/21612 英 1995.8.17

[85]进入国家阶段日期 1996.9.27

[73]专利权人 NPS 药物有限公司

地址 美国犹他州

[72]发明人 A·L·米勒 B·C·范韦根伦

E·G·德尔马 M·F·巴兰德林

S·T·莫 L·D·阿特曼

R·M·巴默尔

审查员 张伟

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 吴玉和 杨九昌

权利要求书 12 页 说明书 96 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 在受体操纵性钙通道上的新位点具有活性的可用于治疗神经障碍和其他疾病的化合物

[57]摘要

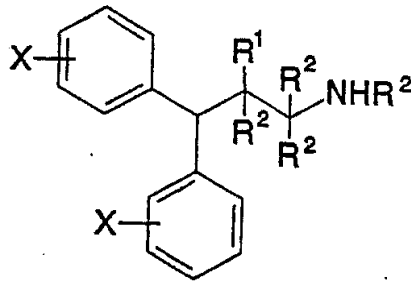
鉴别用作为治疗神经疾病或障碍(如中风、头部创伤、脊髓损伤、癫痫、焦虑)或神经变性疾病(如阿尔茨海默氏疾病、亨廷顿舞蹈病或帕金森氏病)或用作为肌肉松弛剂、镇痛剂或全身麻醉辅助剂化合物的方法。所述化合物对受体操纵性钙通道(它包括但不限于 NMDA 受体-离子载体复合物、钙-可渗透的 AMPA 受体或烟碱样胆碱能受体)是有效的非竞争性拮抗剂。该方法包括鉴别在芳基烷基胺类化合物 1、化合物 2 或化合物 3 与所述受体操纵性钙通道结合的位点上结合的化合物。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

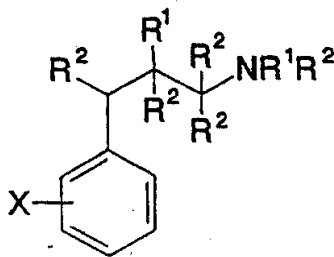
1. 具有以下结构式的化合物或其可做药用的盐，其中在属于该结构式的化合物中，3,3-二苯基丙胺、3-(3-甲苯基)-3-苯基丙胺、N-叔丁基-1-甲基-3,3-二苯基丙胺、N-甲基-3,3-二苯基丙胺、N-异丙基-3,3-二苯基丙胺
5 和 N-(3-甲基-2-丁基)-3,3-二叔基丙胺除外

10



式中各 X 各自独立地是 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃，R¹ 独立地是 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，各 R² 可独立地是 H 或低级烷基；或

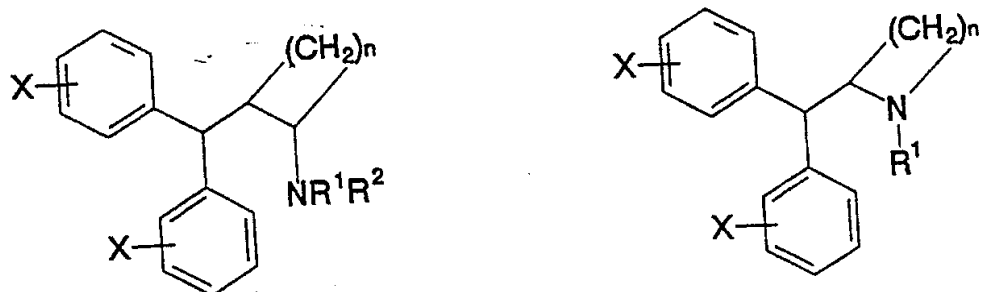
15



20

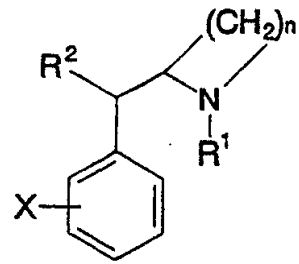
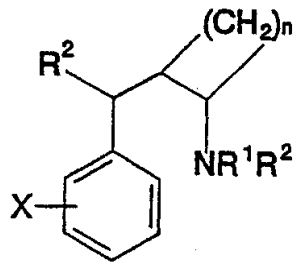
式中 X 独立地是一个或多个 H、Br、Cl、F 低级烷基和/或 OCH₃，各 R¹ 可独立地是 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，各 R² 可独立地是 H 或低级烷基；或

25



式中 n = 1-6，各 X 可独立地是一个或多个 H、Br、Cl、F 低级烷基和
30 /或 OCH₃，R¹ 可以是 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，各 R² 可以是 H 或低级烷基；或

5



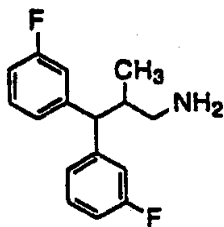
式中 $n=1\sim 6$

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH_3 ，
 R^1 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，

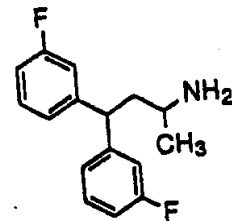
10 各个 R^2 可以独立地为 H 或低级烷基，其中不包括化合物 3,3-双(3-氟苯基)丙胺。

2. 权利要求 1 的化合物，该化合物选自以下的化合物或其可用做药物的盐

15

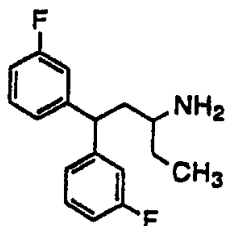


化合物 21

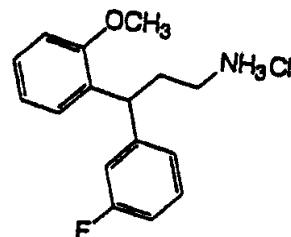


化合物 22

25



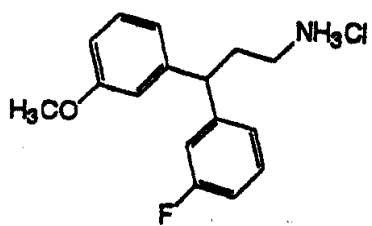
化合物 23



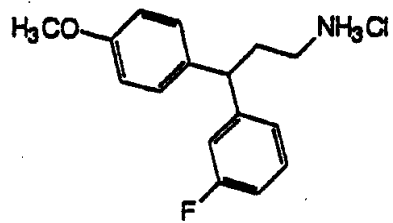
化合物 24

30

5

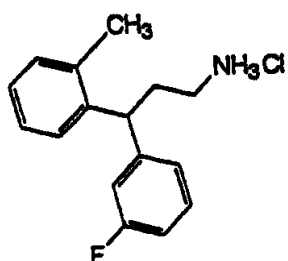


化合物 25

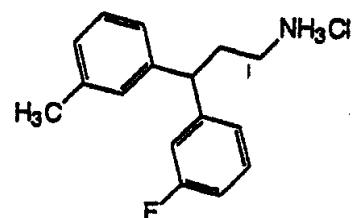


化合物 26

10



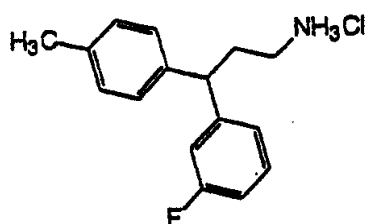
化合物 27



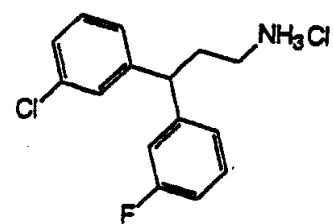
化合物 28

15

20



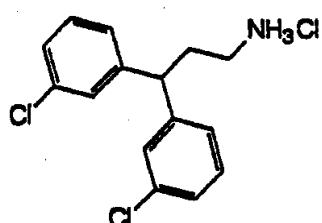
化合物 29



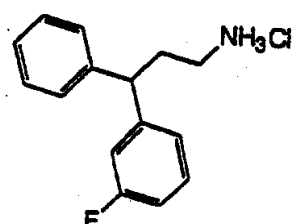
化合物 30

25

30

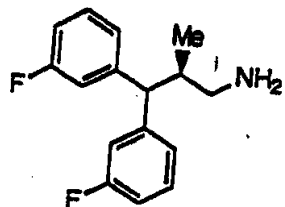


化合物 31

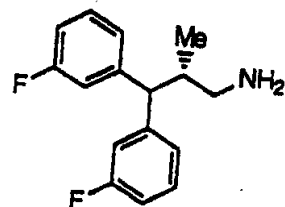


化合物 32

5

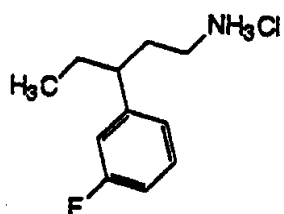


化合物 33

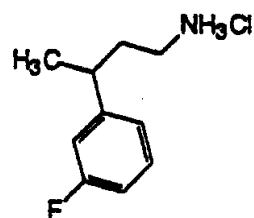


化合物 34

10

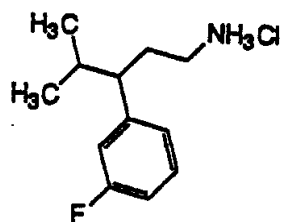


化合物 35

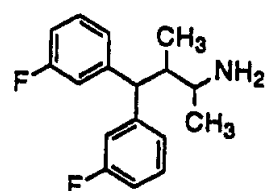


化合物 36

20

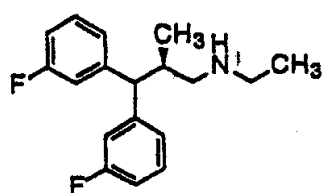


化合物 37

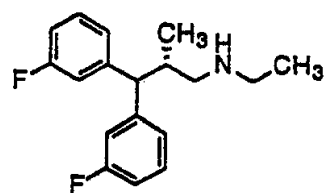


化合物 38

25



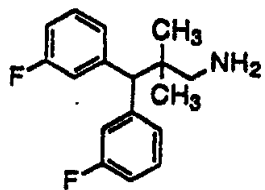
化合物 39



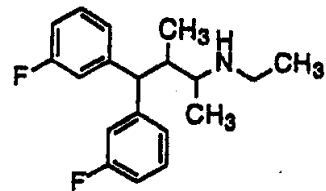
化合物 40

30

5

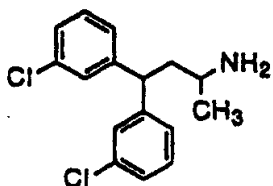


化合物 41

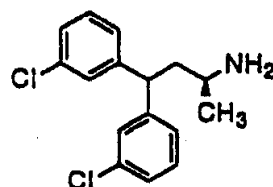


化合物 42

10

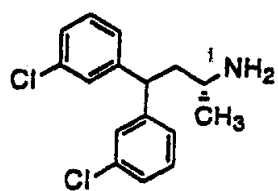


化合物 43

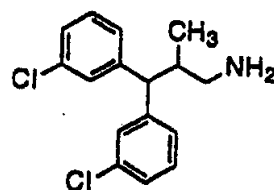


化合物 44

20

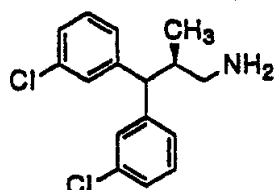


化合物 45

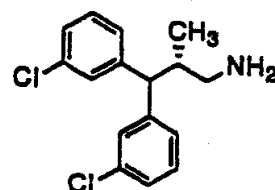


化合物 46

25



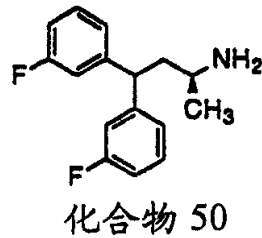
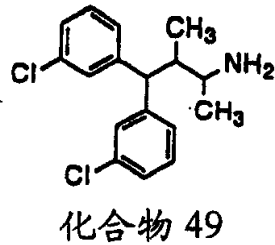
化合物 47



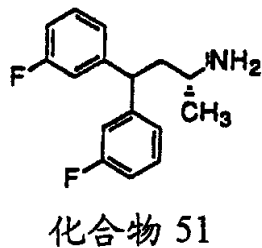
化合物 48

30

5

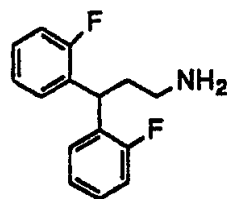


10



15

20



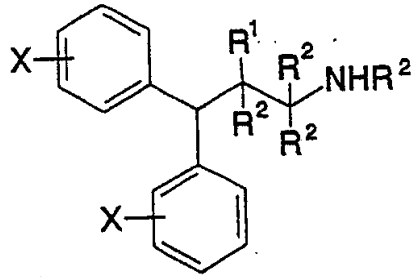
化合物 53

25

3. 一种药物组合物，该组合物包含权利要求 1 或 2 的一种化合物或其可作药用的盐，有选择地与可在药物中应用的载体相结合。

4. 具有如下的化学结构的化合物或其作药用的盐的应用，其中将该化合物用于制备对 N-甲基-D-天冬氨酸受体有活性的药物组合物。其条件是该化合物不是 N-叔丁基-1-甲基-3,3-二苯基丙胺

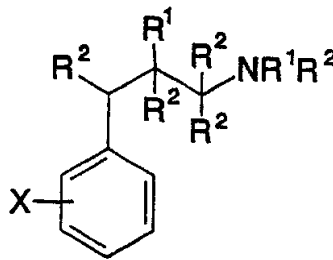
30



5

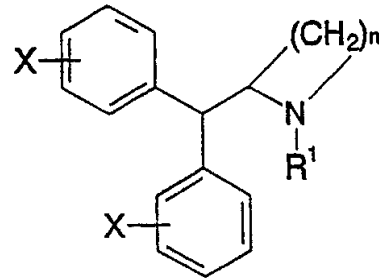
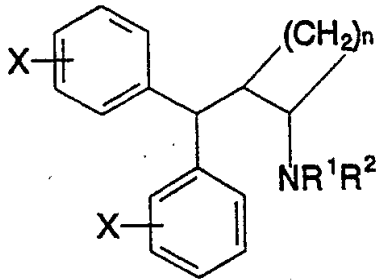
式中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃,
各个 R¹ 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基,
各个 R² 可以独立地为 H 或低级烷基; 或

10



15 式中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃,
各个 R¹ 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基,
各个 R² 可以独立地为 H 或低级烷基; 或

20

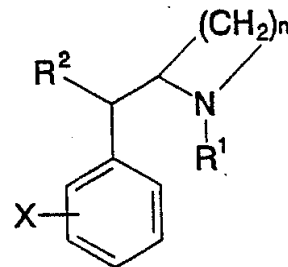
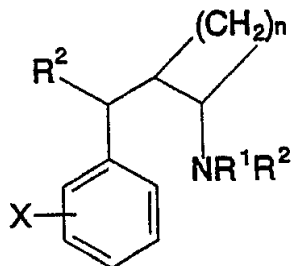


式中 n = 1~6,

25

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃,
R¹ 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基,
R² 可以为 H 或低级烷基; 或

30

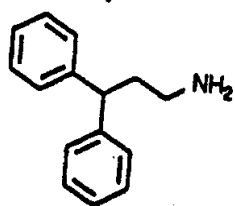


式中 n = 1~6,

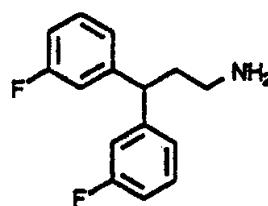
各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃,
 R¹ 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基,
 各个 R² 可以独立地为 H 或低级烷基。

5. 权利要求 4 的化合物的应用其中所应用的化合物是以下的一种化合物或其可作药用的盐:

10

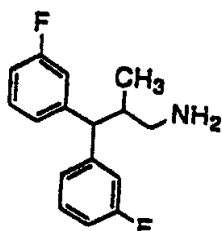


化合物 19

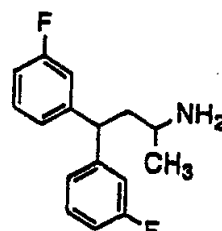


化合物 20

15

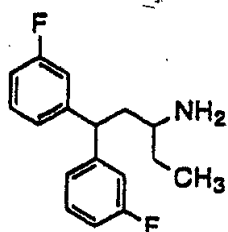


化合物 21

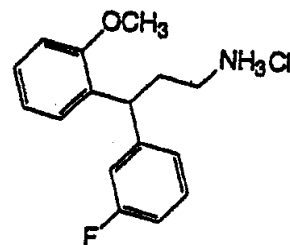


化合物 22

25



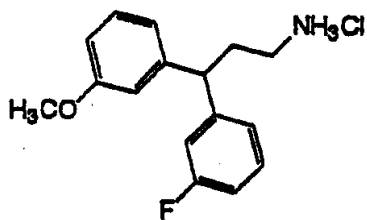
化合物 23



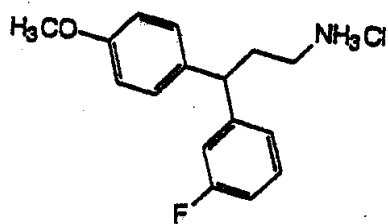
化合物 24

30

5

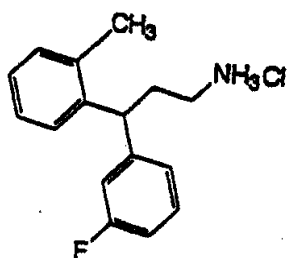


化合物 25

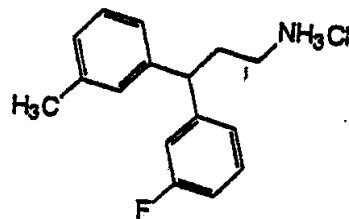


化合物 26

10

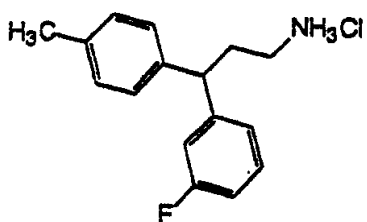


化合物 27

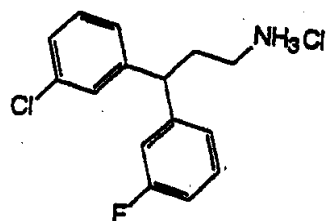


化合物 28

15



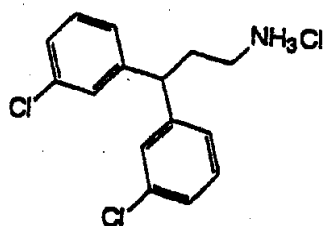
化合物 29



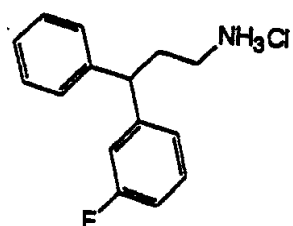
化合物 30

20

25



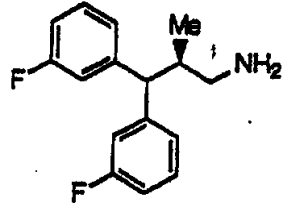
化合物 31



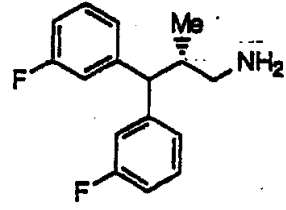
化合物 32

30

5

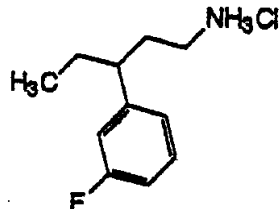


化合物 33

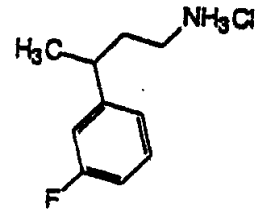


化合物 34

10

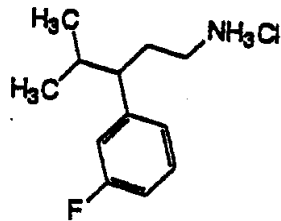


化合物 35

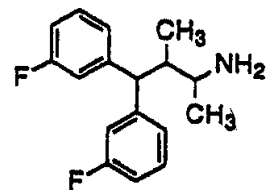


化合物 36

20

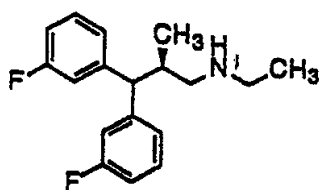


化合物 37

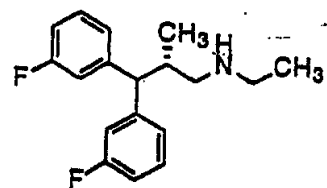


化合物 38

25



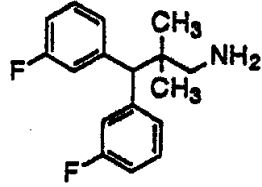
化合物 39



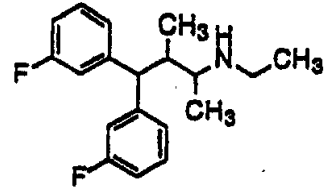
化合物 40

30

5

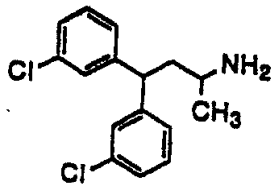


化合物 41

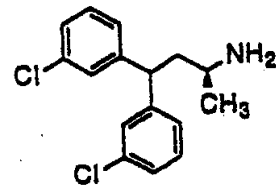


化合物 42

10

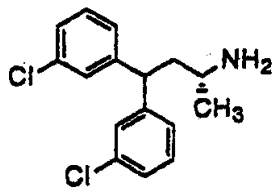


化合物 43

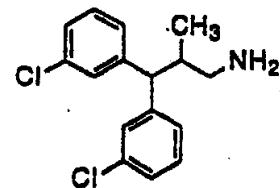


化合物 44

20

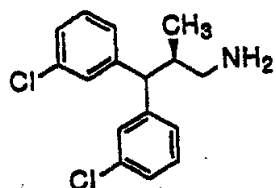


化合物 45

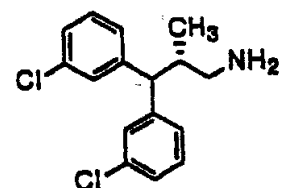


化合物 46

25



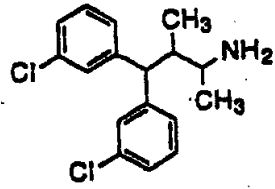
化合物 47



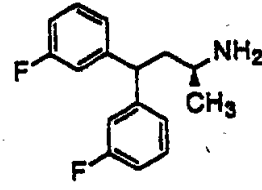
化合物 48

30

5

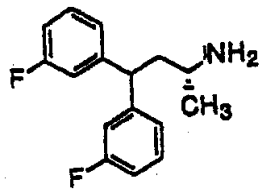


化合物 49

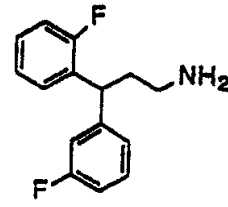


化合物 50

10



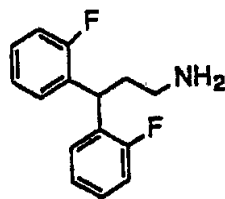
化合物 51



化合物 52

15

20



化合物 53

25

6. 权利要求 4 或 5 的应用, 其中所制备的药物组合物是用于治疗神经障碍或神经疾病。

7. 权利要求 6 的应用, 其中所述的神经障碍或神经疾病是全大脑性短暂缺血或病灶性局部缺血或出血性中风、头创伤、脊髓损伤、缺氧导致神经细胞损坏、癫痫、焦虑或神经变性的疾病。

30

8. 权利要求 7 的应用, 其中所述的神经变性的疾病是阿尔茨海默病、亨廷顿病或帕金森病。

说明书

在受体操纵性钙通道上的新位点具有活性的
可用于治疗神经障碍和其他疾病的化合物

5 发明领域

本发明涉及可用作为神经保护剂、抗惊厥剂、抗焦虑剂、镇痛剂、肌肉松弛剂或全身麻醉剂辅助剂的化合物。本发明还涉及可用于治疗下列疾病的方法：神经障碍和其他疾病，包括（但不限于）整体和病灶局部缺血性和出血性中风、头部创伤、脊髓损伤、缺氧引起的神经细胞损伤如心动停跳或新生期的痛苦、癫痫、焦虑以及神经变性疾病如阿尔茨海默氏疾病、亨廷顿舞蹈病和帕金森氏病。本发明也涉及筛选在受体操纵性钙通道上的新位点有活性的化合物的方法，因此本发明化合物可用作为神经保护剂、抗惊厥剂、抗焦虑剂、镇痛剂、肌肉松弛剂或全身麻醉剂辅助剂、和/或用作治疗上述神经障碍和其他疾病具有潜在的治疗用途。

15 发明背景

下面叙述有关的技术，但并不意味它们中任何一篇是本发明权利要求书的先有技术。

谷氨酸是哺乳动物脑中主要的兴奋性神经递质。谷氨酸与一个或多个谷氨酸受体（在药理上可将它们分为几个亚型）结合或相互作用。在哺乳动物中枢神经系统（CNS）中有三个主要的离子移变性谷氨酸受体亚型，药理学上称为选择性激动剂 N - 甲基 - D - 天冬氨酸（NMDA）、红藻氨酸（KA）和 α - 氨基 - 3 - 羟基 - 5 - 甲基异噁唑 - 4 - 丙酸（AMPA）。NMDA 受体与许多神经病理状态有关，包括中风、头部创伤、脊髓损伤、癫痫、焦虑、神经变性疾病如阿尔茨海默氏疾病（Watkins and Collingridge, The NMDA Receptor, Oxford: IRL Press, 1989）。NMDA 受体在伤害感受和痛觉缺失中的作用也已由 Dickenson 假设（Dickenson, 对伤痛（wind-up）的治愈：可能作为止痛剂的 NMDA 受体拮抗剂, Trends Pharmacol. Sci. 11: 307, 1990）。最近，广泛地研究了 AMPA 受体对于所述神经病理状态

可能的作用 (Fisher and Bogousslavsky, 对急性局部缺血性中风进行有效治疗的进展, J. Amer. Med. Assoc. 270 : 360, 1993; Yamaguchi 等人, AMPA/红藻氨酸拮抗剂的抗惊厥活性: GYKI 52466 和 NBQX 在最大电休克和化学致惊性癫痫发作模型中的比较, Epilepsy Res. 15 : 5 179, 1993) .

当以谷氨酸 (内源性神经递质) 活化时, NMDA 受体使得细胞外钙 (Ca^{2+}) 和钠 (Na^{+}) 可通过结合的离子通道流入. 与红藻氨酸或 AMPA 受体相比, NMDA 受体允许更多的 Ca^{2+} 流入 (见下面叙述), 因此是受体操纵性 Ca^{2+} 通道的一个实例. 通常该通道仅短暂地打开, 使局部的和瞬时的细胞内 Ca^{2+} 浓度 ($[Ca^{2+}]_i$) 增加, 这本身又改变了该细胞的功能活性. 但是, 长时间增加 $[Ca^{2+}]_i$, 导致对 NMDA 受体的慢性刺激, 这对细胞是有毒的, 结果导致细胞死亡. $[Ca^{2+}]_i$ 的慢性升高, 导致 NMDA 受体的刺激, 这据说是引起神经变性以及随后中风的主要原因 (Choi, 谷氨酸神经毒性和神经系统的疾病, Neuron 1 : 623, 15 1988), 据说过分刺激 NMDA 受体也与某些形式癫痫 (Dingledine 等人, 癫痫中的兴奋性氨基酸受体, Trends pharmacol. Sci. 11 : 334, 1990) 焦虑 (Wiley and Balater, 用于抗焦虑作用的 N - 甲基 - D - 天冬氨酸拮抗剂的临床前评价: 综述于: 多种 δ 和 pcp 受体配体: 神经调节和神经保护机制? NPP Books, Ann Arbor, Michigan, pp. 801 ~ 20 815, 1992)、神经变性疾病 (Meldrum and Garthwaite, 兴奋性氨基酸神经毒性和神经变性疾病, Trends Pharmacol. Sci. 11 : 379, 1990) 以及痛觉过敏状态 (Dickenson, 对伤痛的治愈: 可能作为止痛剂的 NMDA 受体拮抗剂, Trends Pharmacol. Sci. 11 : 307, 1990) 的发病机理有关.

25 NMDA 受体 - 离子载体复合物的活性是由选择性拮抗剂作为目标的各种调节位点来调节的. 竞争性拮抗剂如磷酸酯 AP5 是作用在谷氨酸结合位点上, 而非竞争性拮抗剂如苯环己哌啶 (PCP)、MK - 801 或镁 (Mg^{2+}) 是作用在结合的离子通道 (离子载体) 内. 还有一个可以用化合物如 7 - 氯犬尿喹啉酸选择性阻断的甘氨酸结合位点. 有证据

表明, 甘氨酸的作用象一个协同激动剂, 因此为了充分地引发 NMDA 受体介导的反应, 谷氨酸和甘氨酸都是必需的. 调节 NMDA 受体功能的其他可能的位点包括锌 (Zn^{2+}) 结合位点和 σ 配体结合位点. 另外, 内源性多胺如精胺据信与一个特定位点结合, 结果增强了 NMDA 受体的功能 (Ranson and stec, 谷氨酸、甘氨酸和多胺对 $[^3H]$ MK - 801 与 NMDA 受体 - 离子通道复合物结合的协同有效调节, J. Neurochem. 51 : 830, 1988). 多胺对 NMDA 受体功能的增强作用可以经多胺特定受体位点介导; 具有激动剂、拮抗剂和反相激动剂活性的多胺已有叙述 (Reynolds, 魁蛤素是 NMDA 受体上多胺位点的竞争性拮抗剂, Europ. J. pharmacol. 177 : 215, 1990 ; Williams 等人, 在 NMDA 受体的多胺识别位点上具有激动剂、拮抗剂和逆转激动剂作用的多胺的特征, Neuron 5 : 199, 1990). 另外, 放射性配体结合研究已证明, 较高浓度的多胺可抑制 NMDA 受体功能 (Reynolds and Miller, 苄哌酚醇是新型 NMDA 受体拮抗剂: 与多胺的相互作用, Molec. Pharmacol. 36 : 758, 1989 ; Williams 等人, 多胺对 $[^3H]$ MK - 801 与 NMDA 受体结合的影响: 存在多胺识别位点的药理证据, Molec. Pharmacol. 36 : 575, 1989 ; Sacaan and Johnson, 多胺对 $[^3H]$ TCP 与 NMDA 受体 - 离子载体复合物的兴奋和抑制作用的特征, Molec. Pharmacol. 37 : 572, 1990). 多胺对 NMDA 受体的抑制作用或许是非特异的作用 (即不是经多胺受体介导), 因为片钳电 - 生理学研究已证明, 该抑制作用是由先前显示对多胺受体作为激动剂或者作为拮抗剂的化合物产生的 (Donevan 等人, 魁蛤素阻断由于开启通道机制引起的 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体反应: 在培养的海马神经元中整细胞和单一通道记录研究, Molec. Pharmacol. 41 : 727, 1992 ; Rock and Macdonald, 精胺和相关多胺降低 NMDA 受体单一通道传导的电位依赖性. Molec. Pharmacol. 42 : 157, 1992).

近来的研究证明了谷氨酸受体分子的多样性 (由 Nakanishi 综述, 谷氨酸受体的分子多样性及与脑功能的关系, Science 258 : 597, 1992). 至少有 5 个不同的 NMDA 受体亚单位 (NMDAR1 和

NMDAR2A - NMDAR2D) , 现已鉴定由不同基因编码的各个亚单位。并且在 NMDAR1 中, 不同的结合产生了至少 6 个另外的异构形式。似乎 NMDAR1 是必需的亚单位, 并且 NMDAR1 与不同的 NMDAR2 成员的结合形成了完整功能的 NMDA 受体 - 离子载体复合物。因此, 5 NMDA 受体 - 离子载体复合物可以确定为至少包含 NMDAR1 和 NMDAR2 亚单位的杂 - 低聚结构; 该定义不能排除其它到目前为止还尚未发现的亚单位的存在。NMDAR1 表明具有结合谷氨酸、甘氨酸、 Mg^{2+} 、MK - 801 和 Zn^{2+} 的位点。尽管近来报道, 苄哌酚醇在 NMDAR2 B 亚单位上比在 NMDAR2 A 亚单位上更有效, 但对 σ 配体和多胺的结合位点还没有在 NMDA 受体亚单位上确定 (Williams, 苄哌酚醇对 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体亚型的区分: 在重组杂聚受体上的选择性和机制, Mol. Pharmacol. 44 : 851, 1993) 。

AMPA 和红藻氨酸受体的几个不同的亚型也已经被克隆表达, (由 Nakanishi 综述, 谷氨酸受体的分子多样性及与脑功能的关系, Science 15 258 : 597, 1992)。尤其相关的是称为 GluR1、GluR2、GluR3 和 GluR4 的 AMPA 受体 (也称为 GluRA - GLuRD) , 它们中每一个均以 2 种称为来回换位的形式中的一种存在, 它们由 RNA 交替结合产生。当以同聚 (homomeric) 或杂聚 (heteromeric) 受体表达时, GluR1、GluR3 和 GluR4 对 Ca^{2+} 是可渗透的, 因此它们是受体操纵性 Ca^{2+} 通道的实例。20 单独的表达 GluR2 或 GluR2 与其他亚单位组合的表达产生了对 Ca^{2+} 大多不能渗透的受体。由于在原位研究的多数天然 AMPA 受体不是 Ca^{2+} - 可渗透性的 (同上所述) , 因此据信这种受体在原位时至少具有一个 GluR2 亚单位。此外, 根据 GluR2 在其假定的孔形成跨膜区域 II 内含有精氨酸残基这一事实, 因此假设 GluR2 亚单位功能上是不同的; 在该关键的区域内 (称为 Q/R 位点, 其中 Q 和 R 分别以谷酰胺和精氨酸的单个字母符号表示) GluR1、GluR3 和 GluR4 均含有谷酰胺残基。25 AMPA 受体的活性是由选择性拮抗剂作为目标的许多调节位点进行调节的 (Honore 等人, 喹喔啉二酮类化合物: 有效的竞争性非 - NMDA 谷氨酸受体拮抗剂, Science 241 : 701, 1988 ; Donevan and

Rogawski, GYKI 52466, 2, 3 - 苯并二氮杂革, 是 AMPA/红藻氨酸受体的高选择性、非竞争性拮抗剂, Neuron 10:51, 1993)。竞争性拮抗剂如 NBQX 在谷氨酸结合位点起作用, 而化合物如 GYKI 52466 似乎在结合的变构位点显示非竞争性作用。

5 在各种体外神经毒性测定中, 人们认为, 在 NMDA 受体上作为竞争性或非竞争性拮抗剂的化合物对预防神经细胞死亡是有效的 (Meldrum and Garthwaite, 兴奋性氨基酸神经毒性和神经变性疾病, Trends Pharmacol. Sci. 11:379, 1990) 并且在中风的体内模型试验中也是有效的 (Scatton, 在预防和治疗中风的药物方案中 NMDA
10 受体拮抗剂对局部缺血性脑血管疾病的治疗效力, IBC Technical Services Ltd., 1990)。所述化合物也是有效的抗惊厥剂 (Meldrum, 在癫痫中兴奋性氨基酸神经传递以及兴奋性氨基酸的抗惊厥治疗, Meldrum, Moroni, Simon, and Woods (Eds.), New York: Raven Press, p. 655, 1991), 抗焦虑剂 (Wiley and Balster, N - 甲基 - D - 天冬
15 氨酸拮抗剂用于焦虑作用的临床前评估: 综述于: 多种 δ 和 PCP 受体配体: 神经调节和神经保护机制? NPP Books, Ann Arbor, Michigan, pp. 801 - 815, 1992), 以及镇痛剂 (Dickenson, 对伤痛的治愈: 可能作为止痛剂的 NMDA 受体拮抗剂, Trends Pharmacol. Sci. 11:307, 1990), 并且某些 NMDA 受体拮抗剂可以减轻与阿尔茨海默氏疾病有
20 关的痴呆 (Hughes, 治疗痴呆的新方法, Scirpt No. 1666:24, 1991)。

同样, 在认真仔细研究中发现, AMPA 受体拮抗剂是治疗上述神经障碍和其他疾病有效的治疗剂。在局部缺血性中风和癫痫的动物模型中, AMPA 受体拮抗剂分别显示具有神经保护作用 (Fisher and
25 Bogousslavsky, 对急性局部缺血性中风进行有效治疗的进展, J. Amer. Med. Assoc. 270:360, 1993) 和抗惊厥剂作用 (Yamaguchi 等人, AMPA/红藻氨酸拮抗剂的抗惊厥活性: GYKI 52466 和 NBQX 在最大电休克和化学致惊癫痫发作模型中的比较, Epilepsy Res. 15:179, 1993)。

存在于哺乳动物 CNS 中的烟碱样胆碱能受体是另一个受体操纵性 Ca^{2+} 通道的实例 (Deneris et al., 神经元烟碱样乙酰胆碱能受体的药理及功能多样性, Trends Pharmacol. Sci. 12 : 34, 1991) . 已克隆出几个不同的受体亚单位, 例如在爪蟾属卵母细胞中, 这些亚单位能够被表达, 与它们的结合阳离子通道形成功能性受体. 有人假设这种受体 - 离子载体复合物为杂五聚体的结构. 在神经障碍和其他疾病如缺血性中风、癫痫和神经变性疾病的病理状态中, 烟碱样受体操纵性 Ca^{2+} 通道可能的作用基本上尚未被揭示.

以前已经证明 (综述见 Jackson and Usherwood, 蜘蛛毒素作为揭示兴奋性氨基酸传递要素的手段, Trends Neurosci. 11 : 278, 1988 ; Jackson and Parks, 蜘蛛毒素: 神经生物学中的最新应用, Annu. Rev. Neurosci. 12 : 405, 1989 ; Saccomano 等人, 多胺蜘蛛毒素: 独特的药理学手段, Annu. Rep. Med. Chem. 24 : 287, 1989 ; Usherwood and Blagbrough, 蜘蛛毒素影响谷氨酸受体: 治疗神经化学中的多胺, Pharmacol. Therap. 52 : 245, 1991, Kawai, 蜘蛛毒液的神经活性毒素, J. Toxicol. Toxin Rev. 10 : 131, 1991) 某些蜘蛛和蚂蜂毒液含有对哺乳动物 CNS 具有抗谷氨酸受体活性的芳基烷基胺毒素 (也称为多胺毒素、芳胺毒素、酰基多胺毒素或多胺酰胺毒素) . 初步报道, 芳基烷基胺毒素在哺乳动物 CNS 中是谷氨酸受体 AMPA/红藻氨酸亚型的选择性拮抗剂 (Kawai 等人, 蜘蛛毒素对哺乳动物大脑中谷氨酸能突触的影响, Biomed. Res. 3 : 353, 1982 ; Saito 等人, 蜘蛛毒素 (JSTX) 阻断海马锥体神经元中的谷氨酸突触, Brain Res. 346 : 397, 1985 ; Saito 等人, 蜘蛛毒素 (JSTX) 对海马 CA1 神经元在体外的影响, Brain Res. 481 : 16, 1989 ; Akaike 等人, 蜘蛛毒素阻断离体海马锥体神经元中的兴奋性氨基酸的反应, Neurosci. Lett. 79 : 326, 1987 ; Ashe 等人, Argiotoxin-636 阻断大鼠海马 CA1 锥体神经元中的兴奋性突触传递, Brain Res. 480 : 234, 1989 ; Jones 等人, Philanthotoxin 阻断使君子氨酸诱导的、AMPA 诱导的和红藻氨酸诱导的 (但不是 NMDA 诱导的) 大鼠脑干神经元的在体兴奋, Br. J. Pharmacol. 101 : 968, 1990) .

后来的研究证明, 虽然某些芳基烷基胺毒素对不同的谷氨酸受体是无效的和非选择性的, 但是另一些芳基烷基胺在哺乳动物 CNS 中拮抗由 NMDA 受体活性介导的反应都是十分有效的和选择性的 (Mueller 等人, 多胺蜘蛛毒素对离体大鼠海马中 NMDA 受体介导的传递的影响, Soc. Neurosci. Abst. 15 : 945, 1989; Mueller 等人, 芳基胺蜘蛛毒素拮抗大鼠海马切片中 NMDA 受体介导的突触传递, Synapse 9 : 244, 1991; Parks 等人, 多胺蜘蛛毒素阻断 NMDA 受体介导的在大脑粒神经元中细胞浆钙离子的增加. Soc. Neurosci. Abst. 15 : 1169, 1989; Parks 等人, 源于漏斗-网 (funnel - web) 蜘蛛 (Agelenopsis aperta) 毒液的芳基胺毒素拮抗哺乳动物大脑中 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体功能, J. Biol. Chem. 266 : 21523, 1991; Priestley 等人, 蜘蛛毒素 argiotoxin - 636 对大鼠大脑皮层神经元上兴奋性氨基酸反应的拮抗作用, Br. J. Pharmacol. 97 : 1315, 1989; Draguhn 等人, Argiotoxin - 636. 抑制在 *Xenopus* oocytes 中表达的 NMDA 活化的离子通道, Neurosci. Lett. 132 : 187, 1991; Kiskin 等人, 源于 *Agelenopsis aperta* 蜘蛛的毒液的高效选择性 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体拮抗剂, Neurosci. Lett. 51 : 11, 1992, Brackley 等人, 含多胺的毒素对天然和克隆的红藻氨酸和 NMDA 受体的选择性拮抗作用, J. Pharmacol. Exp. Therap. 266 : 1573, 1993; Williams, *Agelenopsis aperta* 毒素对 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体的影响: 多胺样的高亲和性的拮抗作用, J. pharmacol. Exp. Therap. 266 : 231, 1993)。烟碱样胆碱能受体由芳基烷基胺毒素 philanthotoxin 的抑制作用也已有报道 (Rozental 等人, Philanthotoxin 对脊椎动物和昆虫的烟碱样乙酰胆碱能受体的变构抑制, J. Pharmacol. Exp. Therap. 249 : 123, 1989)。

25 Parks 等 (源于漏斗-网蜘蛛 (*Agelenopsis aperta*) 毒液的芳基胺毒素拮抗哺乳动物大脑中 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体功能, J. Biol. Chem. 266 : 21523, 1991) 叙述了在哺乳动物大脑中拮抗 NMDA 受体功能的芳基烷基胺蜘蛛毒素 (α - agatoxins)。作者讨论了芳基烷基胺毒素的作用机理, 并指出, NMDA 受体操纵性离子通道是 α - agatoxins 可能的作用位点, 并且也最可能是其他蜘蛛毒液芳基烷基胺的

30

作用位点。他们叙述：

“脊椎动物大脑中内源性多胺可调节 NMDA 受体功能的这一发现给人们提示，芳基胺类毒素可通过在谷氨酸受体上的多胺结合位点产生其拮抗作用。Brackley 等研究了精胺和 philanthotoxin 433 对注射了从大鼠或小鸡大脑中得到的 mRNA 的爪蟾属卵母细胞中应用兴奋性氨基酸所激发反应的作用。作者报道，低于拮抗谷氨酸受体功能的浓度，精胺和 philanthotoxin 均增强兴奋性氨基酸和其他神经递质的作用。根据上述和其他资料，Brackley 等断定，通过与可兴奋细胞的膜非特异地结合，芳基胺毒素可以降低膜流动性并且改变受体功能。关于 NMDA 受体功能的这种引起兴趣想法的确实性没有被 2 个近来有关结合的研究所支持。Reynolds 报道，argiotoxin 636 抑制了 [³H]MK - 801 与大鼠脑膜的结合，在某种意义上讲该脑膜对谷氨酸、甘氨酸或精胺是不感的。该作者结论认为，通过与位于 NMDA - 控制的离子通道内的一个 Mg²⁺ 位点相结合，argiotoxin 636 对 NMDA 受体复合物可发挥新奇的抑制作用。由 Williams 等报道的有关结合研究资料也支持下述结论，即 argiotoxin 636 主要不是作用在 NMDA 受体上多胺调节的位点，而是直接地作用，结果导致离子通道的活性依赖性阻断。现已知道，化合物如苯环己哌啶和氯胺酮能够阻断与节肢动物肌肉谷氨酸受体和哺乳动物 NMDA 受体有关的离子通道。因此，脊椎动物和无脊椎动物的谷氨酸受体共用另外的结合位点作为受体功能的变构调节剂似乎是可能的，或许涉及二价阳离子结合位点。很显然，为了确定芳基胺是否限定上述新的调节位点还需要做相当大量的其他研究工作”。

Usherwood 和 Blagbrough (蜘蛛毒素对谷氨酸受体的影响：在治疗神经化学中的多胺, Pharmacol. Therap. 52 : 245, 1991) 叙述了位于膜电位场(被称为 QUIS - R 通道选择性过滤器)内的芳基烷基胺毒素(多胺酰胺毒素)假定的细胞内结合位点。作者假设，多胺酰胺毒素的结合位点可能存在于靠近由蝗虫肌肉的 QUIS - R 控制的通道内入口处。作者还注意到一个这样的毒素，毒素 argiotoxin 636，它可选择性拮抗培养的大鼠皮质神经元中的 NMDA 受体。

Gullak 等(新的 NMDA 拮抗剂 Arg - 636 的 CNS 结合位点, Soc. Neurosci. Abst. 15 : 1168., 1989)叙述，argiotoxin - 636 (Arg - 636)

是蜘蛛毒液的多胺（芳基烷基胺）毒素的一个成分。据说在非竞争性形式中，该毒素可阻断 NMDA 诱导的 cGMP 升高。作者叙述：

“ $[^{125}\text{I}]$ Arg - 636 与大鼠前脑膜结合，其 K_d 和 B_{max} 值为 $11.25 \mu\text{M}$ 和 28.95 pmol/mg 蛋白（80 % 特异性）。其他已知的多胺和近来从 *Agelenopsis aperta* 中发现的多胺抑制结合的能力，与作为功能性 NMDA 拮抗剂的神经活性平行。试验的其他化合物均不能阻断特异性结合”。

然后，作者叙述，多胺（芳基烷基胺）可以通过与膜离子通道的相互作用拮抗对 NMDA 的反应。

10 Seymour 和 Mena（多胺蜘蛛毒液成分 argiotoxin - 636 的体内 NMDA 拮抗活性，*Soc. Neurosci. Abst.* 15 : 1168, 1989）叙述了据说显示下述结果的研究：在对 DBA/2 小鼠音源性癫痫发作的有效剂量下，argiotoxin - 636 不会明显地影响活动能力，然而经皮下（s.c.）给予最小有效剂量 32mg/kg ，它可明显地拮抗 NMDA 诱导的癫痫发作。

15 Herold 和 Yaksh（对大鼠进行腔内注射两种芳基多胺蜘蛛毒素 AR636 和 AG489 的麻醉和肌肉松弛作用，*Anesthesiology* 77 : 507, 1992）叙述了据说显示以下结果的研究：大鼠经鞘内给药后，芳基烷基胺 argiotoxin - 636（AR 636），但不是 agatoin - 489（AG 489），可产生肌肉松弛和麻醉作用。

20 Williams（*Agelenopsis aperta* 毒素对 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体的影响：多胺样和高亲和性的拮抗作用，*J. Pharmacol. Exp. Therap.* 266 : 231, 1993）报道， α - agatoxins（芳基烷基胺类）Agel - 489 和 Agel - 505 可增强 $[^3\text{H}]$ MK - 801 与膜上 NMDA 受体的结合，这种膜是从大鼠脑通过对刺激性多胺受体的作用而制得的。多胺受体激动剂
25 阻断 Agel - 489 和 Agel - 505 的刺激作用，并且多胺受体拮抗剂抑制 Agel - 505 的刺激作用。较高浓度的 Agel - 489 和 Agel - 505 以及所有试验浓度的 argiotoxin - 636 对 $[^3\text{H}]$ MK - 801 的结合均有抑制作用。于 -70mV ，对电位钳制的爪蟾属卵母细胞，Agel - 505 可抑制其对 NMDA 的反应（其 IC_{50} 为 13nM ）；与影响 $[^3\text{H}]$ MK - 801 结合的浓度

相比, Agel - 505 的该作用在浓度约低 10,000 倍的情况下出现。用 30nM Agel - 505, 仅抑制 11 % 红藻氨酸的反应。由 Agel - 505 对 NMDA 诱导电流的拮抗作用是强电位依赖性的, 这与毒素的开启通道阻断作用是一致的。Williams 叙述:

5 “虽然 α - agatoxins 能够在 NMDA 受体上的阳性变构多胺位点相互作用, 但是由于作为受体高亲和性的, 非竞争性拮抗剂的毒素的单独作用, 因此在功能试验中由该相互作用所产生的刺激性作用可以被掩蔽”。

Brackley 等 (含多胺的毒素对天然和克隆的红藻氨酸和 NMDA 受体的选择性拮抗作用, J. Pharmacol. Exp. Therap. 266 : 1573, 1993) 报道, 在用大鼠脑 RNA 注射的爪蟾属卵母细胞中, 含有多胺的毒素 (芳基烷基胺类) philanthotoxin - 343 (PhTX - 343) 和 argiotoxin - 636 (Arg - 636) 对红藻氨酸和 NMDA 诱导电流产生可逆的、非竞争的部分电位依赖性拮抗作用。与红藻氨酸诱导的反应 ($IC_{50} = 0.07 \mu M$) 相比, Arg - 636 对 NMDA 诱导的反应 ($IC_{50} = 0.04 \mu M$) 已被证明是选择性的, 而与 NMDA 诱导的反应 ($IC_{50} = 2.5 \mu M$) 相比, PhTX - 343 对红藻氨酸诱导的反应 ($IC_{50} = 0.12 \mu M$) 是选择性的。在表达克隆的 GluR1 ($IC_{50} = 3.4 \mu M$) 或 GluR1 + GluR2 亚单位 ($IC_{50} = 300 \mu M$) 的卵母细胞中, 与红藻氨酸的反应相比, Arg - 636 拮抗表达克隆的 NMDAR1 亚单位 ($IC_{50} = 0.09 \mu M$) 的爪蟾属卵母细胞中 NMDA 的反应更有效。另一方面, PhTX - 343 拮抗 NMDAR1 ($IC_{50} = 2.19 \mu M$) 和 GluR1 ($IC_{50} = 2.8 \mu M$) 是同等有效的, 但是对拮抗 GluR1 + GluR2 亚单位却有效性更差 ($IC_{50} = 270 \mu M$) 。

25 Raditsch 等 (argiotoxin - 636 对克隆的 NMDA 受体的亚单位特异性阻断, FEBS Lett. 324 : 63, 1993) 报道, 虽然在设想的孔形成跨膜区域 II (如上叙述的 Q/R 位点) 中, 所有的受体亚单位均含有天冬酰胺残基, 但与表达 NMDAR1 + NMDAR2C 亚单位 ($IC_{50} = 460nM$)

的细胞相比, Arg - 636 更有效地拮抗表达 NMDAR1 + NMDAR2A 亚单位 ($IC_{50} = 9nM$) 或 NMDA R1 + NMDA R2B 亚单位 ($IC_{50} = 2.5nM$) 的爪蟾属卵母细胞中的反应. 作者叙述, 在 NMDA R1 + NMDA R2A 和 NMDA R1 + NMDA R2C 通道之间对 Arg - 636 敏感性的明显区别 “必须用其他的结构测定进行比较”。

Herlitz 等 (Argiotoxin 测定 AMPA 受体通道中的分子差别, Neuron 10:1131, 1993) 报道, Arg - 636 以与通道开启阻断一致的电位和应用依赖性方式拮抗 AMPA 受体的亚型. Arg - 636 有效地拮抗包括 Glu RAi ($K_i = 0.35 \mu M$) Glu RCi ($K_i = 0.23 \mu M$) 或 Glu RDi 亚单位 ($K_i = 0.43 \mu M$) 的 Ca^{2+} 渗透性 AMPA 受体, 但在浓度直到 $10 \mu M$ 对 Ca^{2+} 不可渗透性 GluRBi 亚单位基本上是无效的. 以上研究者报道的其他资料强有力地提示, 假想的孔形成跨膜区域 II 中的 Q/R 位点, 对确定 Arg - 636 效力和 Ca^{2+} 渗透性最重要的。

Blaschke 等 (单一氨基酸检测 α - 氨基 - 3 - 羟基 - 5 - 甲基异噁唑 - 4 - 丙酸/红藻氨酸受体通道的亚单位特异性蜘蛛毒素阻断, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6528, 1993) 报道, 芳基烷基胺 JSTX - 3 有效地拮抗表达 GluR1 ($IC_{50} = 0.04 \mu M$) 或 Glu R3 ($IC_{50} = 0.03 \mu M$) 亚单位的爪蟾属卵母细胞中对红藻氨酸的反应, 但是存在一个 Glu R2 亚单位的被表达的受体基本上不受该毒素的影响. 定位诱变研究有力地指出, Q/R 位点是影响毒素效力主要的位点。

Nakanishi 等 (用 philanthotoxin 类似物进行的递质受体的生物有机研究, Pure Appl. Chem., 出版中) 合成了许多非常有效的光亲和性标记的 philanthotoxin (PhTX) 类似物. 以表达的烟碱样胆碱能受体作为受体操纵性钙通道受体的一个模型系统对这些类似物进行了研究. 研究者提出, 这些 PhTX 类似物用结合到靠近细胞浆表面位点的毒素疏水性头部阻断离子通道, 而多胺尾部从细胞浆侧面延伸到离子通道内。

发明概述

申请人探讨了在蜘蛛和蚂蜂毒液中芳基烷基胺 (有时称为芳基胺毒

素、多胺毒素、酰基多胺毒素或多胺酰胺毒素)的结构差异和生物活性,并且确定存在于所述毒液中的某些芳基烷基胺在哺乳动物 CNS 中起谷氨酸受体操纵性 Ca^{2+} 通道有效的非竞争性拮抗剂的作用。虽然所述芳基烷基胺类化合物在其结构中含有多胺部分,但是在某些类型的受体操纵性 Ca^{2+} 通道的非常有效和特异作用方面,它们不同于其他已知简单的多胺。

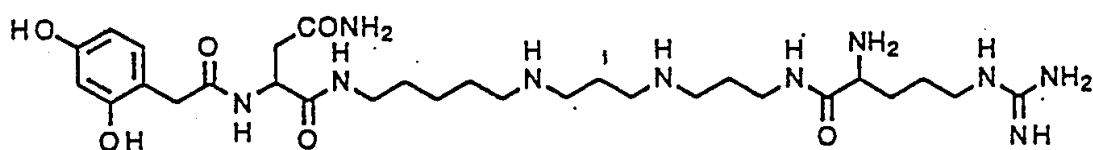
应用天然的芳基烷基胺作为导向化合物结构,合成和试验了许多类似物。应用合成的芳基烷基胺证明了从毒液中分离和纯化的芳基烷基胺的初步结果。所述化合物具有小分子(分子量 <800),并且在中风(stroke)和癫痫的体内试验模型中表明是有效的。NMDA 受体-离子载体复合物用作为受体操纵性 Ca^{2+} 通道的模型。选择的芳基烷基胺以新的机理阻断 NMDA 受体介导的反应。此外,所述化合物独特的行为药理学类型提示,它们不可能引起 PCP 样的拟精神病作用和认识缺陷,而这些是其他 NMDA 受体抑制剂的特点。最后,在 NMDA 受体拮抗剂中所述芳基烷基胺类是独特的,因为它们能够拮抗克隆和表达的 AMPA 受体的某些亚型,即可渗透 Ca^{2+} 的那些。因此,所述芳基烷基胺类是唯一一类已知能拮抗谷氨酸受体介导的细胞溶质 Ca^{2+} 增加的化合物,而且与受体亚型的药理学的限定无关。此外,所述芳基烷基胺可抑制其他的受体操纵性 Ca^{2+} 通道、烟碱样胆碱受体。细胞溶质 Ca^{2+} 的大量和持续的增加与几种神经病学障碍和其他疾病的病因学有关,所述芳基烷基胺是研究新的治疗各种神经病学障碍和其他疾病有价值的小分子导向化合物。

申请人确定,选择性芳基烷基胺在以前未曾鉴别的 NMDA 受体-离子载体复合物的新位点上以高亲和性结合,并且该芳基烷基胺在所述 NMDA 受体-离子载体复合物任一已知的位点(谷氨酸结合位点、甘氨酸结合位点、MK-801 结合位点、 Mg^{2+} 结合位点、 Zn^{2+} 结合位点、多胺结合位点、 σ 结合位点)上不以高亲和性结合。上述结果可以使申请人研究有用化合物鉴别的方法和计划,这可以提供治疗上有用的化合物

和研究其他治疗上有用化合物的导向化合物。这些化合物可以通过化合物在新的芳基烷基胺结合位点上的结合进行筛选鉴别，以及通过测定所述化合物是否具有所要求的生物学、药理学和生理学特性进行鉴别。

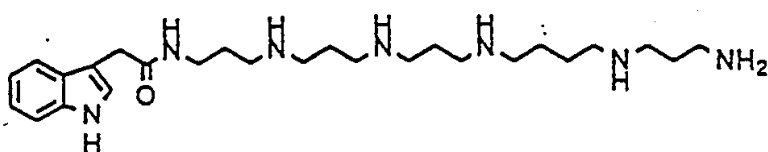
因此，第一方面，本发明提供一种筛选治疗上有用化合物的方法，
5 该化合物作为非竞争性拮抗剂在 1 个或多个受体操纵性 Ca^{2+} 通道上是有活性的。此外，所述化合物还可用作生物杀虫剂或药理学上有用的手段。所述方法包括鉴别化合物的步骤，鉴别该化合物是否结合在芳基烷基胺类化合物（这里称为化合物 1、化合物 2 或化合物 3，并具有以下结构）与受体操纵性 Ca^{2+} 通道结合的位点上。

10



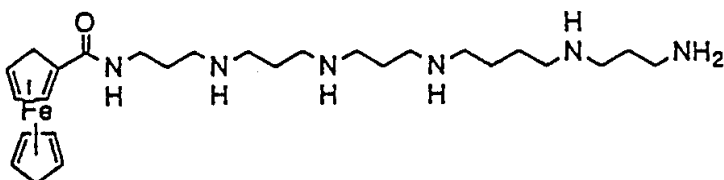
化合物 1

15



化合物 2

20



化合物 3

在优选的实施方案中，本发明提供一种鉴别在受体操纵性钙通道上
25 有活性的 1 个或多个化合物的方法，所述通道是 NMDA 受体 - 离子载体复合物的一部分，钙 - 可渗透的 AMPA 受体 - 离子载体复合物的一部分或烟碱样胆碱能受体 - 离子载体复合物的一部分，并且其中治疗用途是治疗神经障碍或其他疾病，或作为神经保护剂、抗惊厥剂、抗焦虑剂、镇痛剂、肌肉松弛剂或全身麻醉的辅助剂。

“治疗上有用的化合物”意指可有效地用于治疗疾病或病状的化合
30 物。本发明筛选方法揭示的化合物的特征是在治疗中具有可能的治疗用途，因为临床试验还没有确定其实际的治疗用途。

“神经病学障碍或疾病”意指神经系统障碍或疾病，包括（但不限于）整体的或病灶的缺血和出血性中风、头部创伤、脊髓损伤、如在心动停止或新生儿期痛苦中缺氧引起的神经细胞损伤、癫痫、焦虑以及神经变性疾病。“神经病学障碍或疾病”还指其中神经保护剂、抗惊厥剂、抗焦虑剂、镇痛剂、肌肉松弛剂和/或全身麻醉辅助剂可以适用、有用、被推荐或被指定应用的病况或疾病。

“神经变性疾病”意指包括（但不限于）阿尔茨海默氏疾病、亨廷顿氏舞蹈病和帕金森氏疾病。

“神经保护剂”意指能够预防与神经病学障碍或疾病有关的神经元死亡的化合物。

“抗惊厥剂”意指能够减轻由于下述疾病而产生惊厥的化合物，所述疾病有例如单纯的不完全的癫痫发作、复杂的不完全的癫痫发作、癫痫持续状态、损伤引起的癫痫发作如头部损伤（包括头部外科手术）之后发生癫痫发作。

“抗焦虑剂”意指能够解除焦虑所特有的忧虑、不确定和恐惧感觉的化合物。

“镇痛剂”意指能够通过改变感受伤害刺激的知觉解除疼痛而又不产生麻醉或意识丧失的化合物。

“肌肉松弛剂”意指能减轻肌肉紧张的化合物。

“全身麻醉辅助剂”意指与产生丧失意识有关的丧失感觉疼痛能力的麻醉剂一起应用的化合物。

另一方面，本发明提供治疗神经病学疾病或障碍的方法，该方法包括施用药用组合物，该组合物含有在被芳基烷基胺类化合物 1、化合物 2 或化合物 3 中 1 个结合的位点上与受体操纵性钙通道结合的化合物，该化合物在所述受体操纵性钙通道上是有效的和选择性的非竞争拮抗剂，并且它具有 1 项或多项下述的药理学和生理学特性：在受体操纵性钙通道功能的体外生物化学和电生理学试验中是有效的，在体内具有抗惊厥活性，体内具有神经保护活性，体内具有抗焦虑活性和镇痛活性；所述化合物还具有 1 项或多项下述药理学作用：在大鼠海马切片中所述化合物不影响诱导长期增效潜势，并且在治疗剂量下不损害识别，不破坏运动性能，不产生神经元空泡，有最小的心血管活性，不产生镇静作用或过度兴奋性，具有最小的 PCP 样的滥用潜势，以及具有最小的 PCP 样的

拟精神病药活性。“最小的”意指由普通的个体可以容忍的药物的任一副作用，因此该药物可用作为目标疾病的治疗。所述副作用在本领域中是熟知的，当批准作为目标疾病的治疗药物时，FDA 通常认为其副作用最小。

5 治疗首先涉及用标准的临床方法学确定患有神经病学疾病或障碍的患者，然后用本发明组合物给患者进行治疗。

“有效”意指在受体操纵性钙通道（包括 NMDA 受体、Ca²⁺-可渗透的 AMPA 受体和烟碱样胆碱能受体）上 IC₅₀ 小于 10 μM，优选小于 100nM，更好的是小于 1nM 的化合物。

10 “有选择的”意指在以上定义的受体操纵性钙通道上是有效的，但是在其他神经递质受体、神经递质受体操纵性离子通道或电位依赖性离子通道上具有低于其 10 倍，最好 50 倍和更好是 100 倍效果的化合物。

“受体操纵性钙通道功能的生物化学和电生理试验”意指用生物化学或电生理学手段进行检测受体操纵性钙通道功能作用的试验。所述试验的实例包括（但不限于）培养的大鼠小脑颗粒细胞中细胞溶质钙的 fura-2 荧光测定试验（见实施例 1 和实施例 2），细胞外膜片钳（patch clamp）电生理学试验（见实施例 3 和实施例 27），大鼠海马切片突触传导试验（见实施例 5），放射结合试验（见实施例 4、24、25 和 26），以及体外神经保护试验（见实施例 6）。

20 “效果”意指用所选择化合物检测的统计学显著的活性，“显著”是指 P<0.05 时统计学上的显著性。

“神经保护活性”意指治疗神经病学障碍或疾病中的效果，神经病学障碍或疾病包括（但不限于）整体的或病灶的缺血和出血性中风、头部创伤、脊髓损伤、如在心动停止或新生期痛苦中缺氧引起的神经细胞损伤，以及神经变性疾病如阿尔茨海默氏疾病、亨廷顿氏舞蹈病和帕金森氏疾病（见下述实施例 7 和 8）。

25 “抗惊厥活性”意指减轻由于下述疾病而产生惊厥的效果，所述疾病有例如单纯的不完全的癫痫发作、复杂的不完全的癫痫发作、癫痫持续状态、损伤引起的癫痫发作如头部损伤（包括头部外科手术）之后发生的癫痫发作（见下述实施例 9 和 10）。

30 “抗焦虑活性”意指减轻焦虑所特有的忧虑、不确定和恐惧感觉的化合物的作用。

“镇痛活性”意指化合物产生解除在正常情况应会有疼痛感觉的刺激反应所产生的疼痛感觉的作用。所述活性可用于临床急性和慢性疼痛情况，它包括（但不限于）下述疼痛情况：手术前止痛；外周神经疾病如出现糖尿病和多发性硬化；幻肢疼痛；灼性神经痛；神经痛如出现带状疱疹；中枢疼痛如脊髓损伤出现的疼痛；痛觉过敏以及异常性疼痛。

“灼性神经痛”意指与外周神经损伤有关的疼痛疾病。“神经痛”意指1根或多根神经散布的疼痛。“中枢疼痛”意指与中枢神经系统损伤有关的疼痛。“疼痛过敏”意指对一般疼痛的刺激增强的反应。“异常性疼痛”意指对通常不会引起疼痛的刺激所诱发的疼痛（见以下实施例 11 ~ 14）。

“在大鼠海马切片中诱导长期增效潜势”意指传入的 Schaffer 侧突纤维的强直性电刺激引起保持在体外的大鼠海马切片中 Schaffer 强直性的 - CA1 锥体细胞通路上突触传递的强度长期增高的能力（见实施例 19）。

“治疗剂量”意指解除患者疾病或病况的 1 个或多个症状到一定程度的化合物用量。另外，“治疗剂量”还指部分或完全地恢复有关的或引起疾病或病况的生理学或生物化学参数到正常的化合物用量。根据化合物的 EC_{50} （就拮抗剂来说为 IC_{50} ）和患者的年龄、体重及有关的疾病，治疗剂量在 $1 \text{ nmol} \sim 1 \mu \text{ mol}$ 化合物之间。

“损害识别”意指削弱获得记忆的能力，或削弱完成学习任务的能力（见实施例 20）。“损害识别”指妨碍正常合理思维过程和推理的能力。

“扰乱运动功能”意指明显地改变了有运动力人活动的的能力（见实施例 15）或引起明显的运动失调、丧失翻正反射、镇静作用或肌肉松弛作用的能力（见实施例 16）。

“有运动力人的活动”意指完成正常的行走移动的能力。

“丧失翻正反射”意指将动物（通常为鼠）置于仰卧位置之后其自身翻正的能力。

“神经元空泡形成”意指在有色带环绕的皮层或夹肌后皮层神经元产生空泡（见实施例 18）。

“心血管活性”意指使明显改变包括（但不限于）平均动脉血压和心跳速率参数的能力（参见实施例 21 和 22）。

“过度兴奋性”意指提高了对兴奋刺激的敏感性。过度兴奋性通常表现为给药后鼠有运动力的活动明显增加（见实施例 15）。

“镇静作用”意指镇静剂的作用，或减少活动或兴奋。镇静作用通常表现为给药后鼠有运动力的活动明显减少（见实施例 15）。

5 “PCP 样的滥用潜势”意指药物的潜势被有害地应用，如人在消遣中应用 PCP（即安琪儿粉）。据信用测定经过训练的鼠区分 PCP 与盐水的方法可以预测药物产生 PCP 样作用的能力（见实施例 17）。

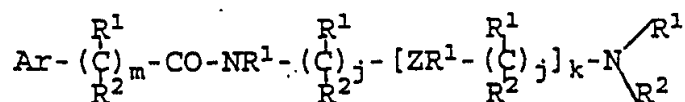
10 “PCP 样的拟精神病的作用”意指药物使人的行为综合症类似于急性精神病（包括视幻觉、妄想狂、激动和意识模糊）的能力。据信在鼠中象 PCP 样拟精神病的作用可以通过药物产生象 PCP 样刻板行为（包括运动失调、头横向摆动、过度兴奋）的能力进行预测，并可通过经训练的鼠区分 PCP 和盐水的方法预测药物产生 PCP 样作用的能力（见实施例 15、16 和 17）。

“运动失调”意指缺乏肌肉协调。

15 “头横向摆动”意指 PCP 使鼠产生的刻板行为，其中头反复缓慢地从一边向另一边摆动。

再一方面，本发明提供可用于治疗患有神经病学疾病或障碍的患者的化合物，其中所述化合物为具有下式的多胺类化合物或其类似物（即为多杂原子的分子），

20



其中 Ar 为合适取代的芳香族环、环系统或其他疏水性实体（entity）；Ar 可以为芳香族（例如碳环芳基如苯基和双环碳环芳香环系统如萘基、1, 2, 3, 4 - 四氢萘基、茛满基和茛基），杂芳香族（如吡啶基、二氢吡啶基、喹啉基和异喹啉基，以及它们各自的 1, 2, 3, 4 - 四氢和 2 - 氧代衍生物），脂环族（环状脂肪族）或杂脂环族环或环系统（单环、双环或三环），它可以为由 1 ~ 5 个独立地选自以下一组取代基任选取代的五 ~ 七元环、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基、由 1 ~ 7 个卤原子取代的有 1 ~ 5 个碳原子的低级卤代烷基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷氧基、卤素、硝基、氨基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷氨基、酰氨基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基酰氨基、氰基、羧基、巯基、2 - 4 个碳原子的低级酰基、

磺酰氨基 (sulfonamido)、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基磺酰氨基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基亚砷、1 ~ 5 个碳原子的低级羟烷基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基酮或 1 ~ 5 个碳原子的低级硫代烷基 (thioalkyl),

各个 m 为整数 0 ~ 3, 包括 0 和 3 在内,

5 各个 k 为整数 1 ~ 10, 包括 1 和 10 在内,

各个 j 可以相同或不同, 它们可以为整数 1 ~ 12, 包括 1 和 12 在内,

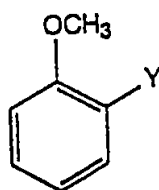
各个 R^1 和 R^2 独立地选自氢、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基、1 ~ 5 个碳原子的烷氨基、1 ~ 5 个碳原子的低级烷基酰氨基、1 ~ 5 个碳原子的一、二或三氟低级烷基、羟基、脞基、胍基或典型的氨基酸支链,

10 或 R^1 和 R^2 与其所连接的碳原子一起形成羰基, 并且

各个 Z 选自氮、氧、硫、酰氨基、磺酰氨基和碳。

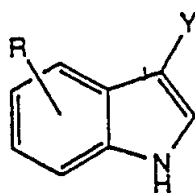
尤其优选的是下述实施方案, 其中末端基团 - NR^1R^2 为 N - 乙基 ($R^1 = H$, $R^2 = CH_2CH_3$), 因为这些化合物与明显地减少不希望有的心血管副作用 (如高血压) 的发生率和严重程度有关。

15 优选的芳香族首基包括 (但不限于) 如下:



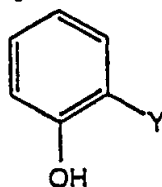
首基 A

20



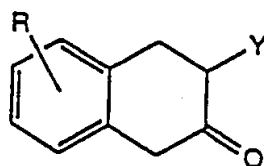
首基 B

25

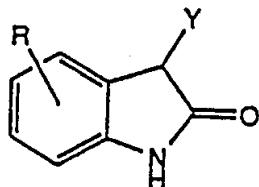


首基 C

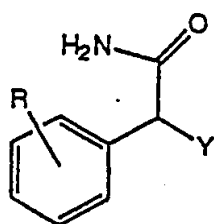
30



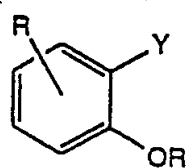
首基 D



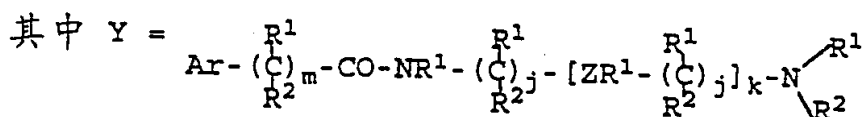
首基 E



首基 F

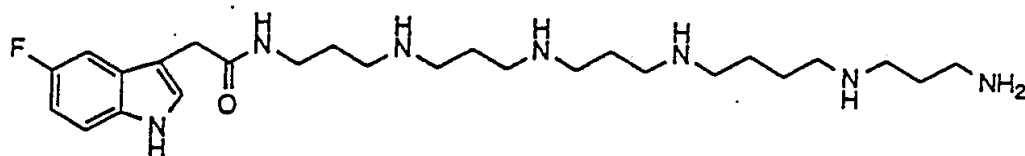


首基 G

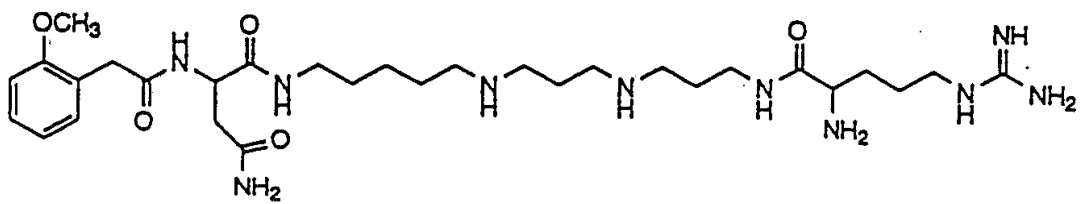


将以上通式所覆盖的化学结构式表示的已知化合物从本发明中排除出去。

在优选的实施方案中，本发明化合物选自化合物 4 ~ 18，它们的结构式如下：

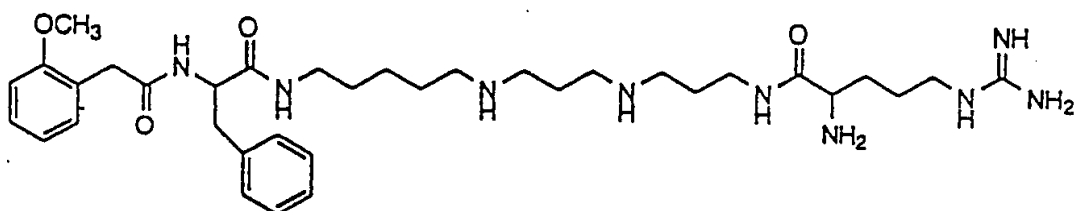


化合物 4



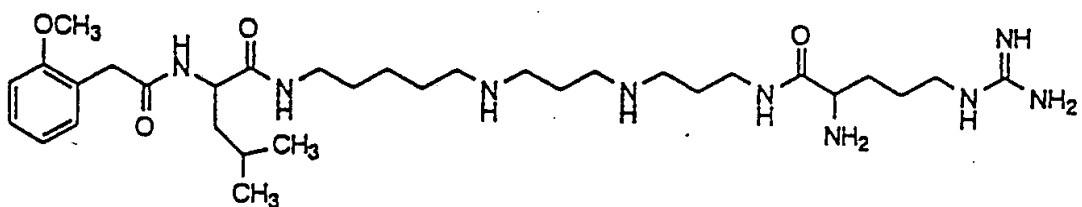
5

化合物 5



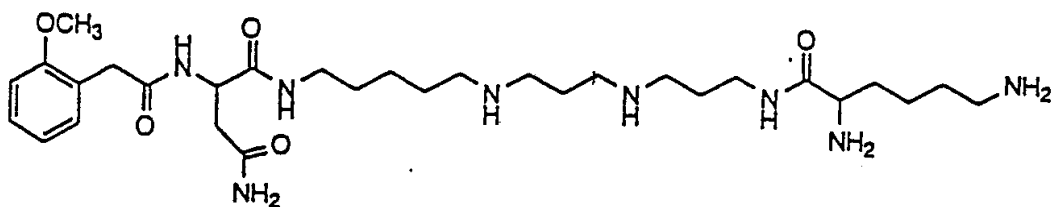
10

化合物 6



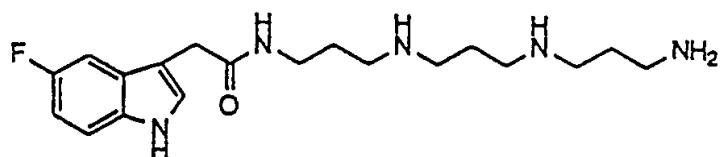
15

化合物 7



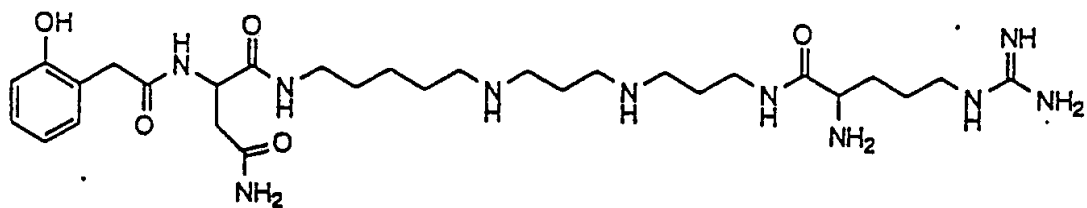
20

化合物 8



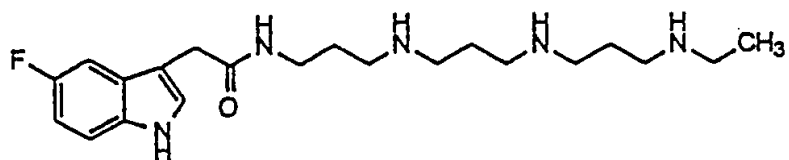
25

化合物 9

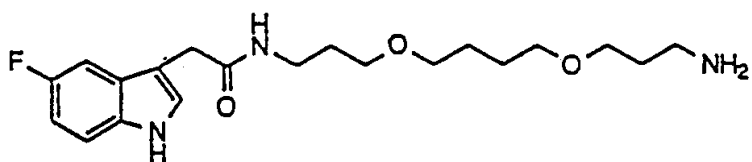


30

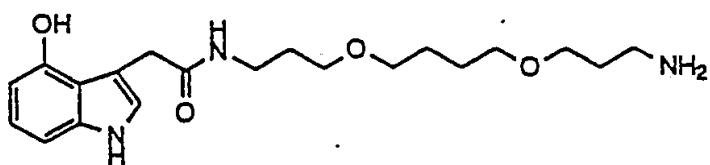
化合物 10



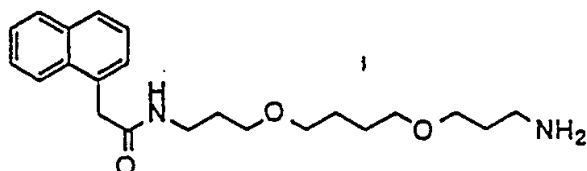
化合物 11



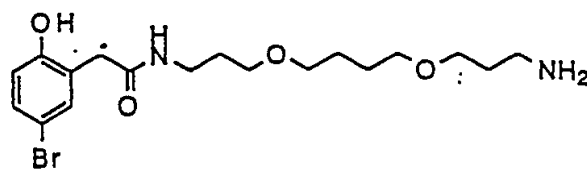
化合物 12



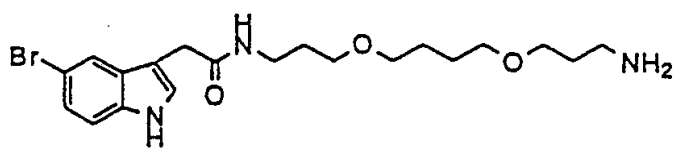
化合物 13



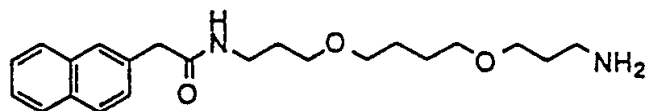
化合物 14



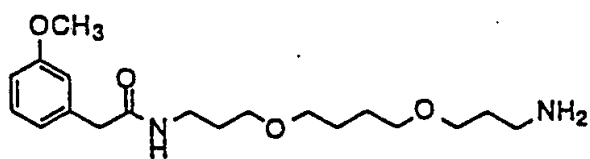
化合物 15



化合物 16



化合物 17



化合物 18

本发明还提供本发明不同化合物(包括化合物 4 ~ 18 或其药学上适用的盐)的组合物。此外,本发明还提供了在药用载体中和药用剂量下的药用组合物或其可药用盐。

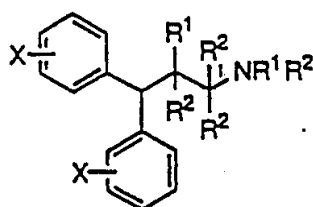
“药用组合物”意指本发明治疗上有效剂量的化合物与药学上适用载体组成的组合物,即可以将本发明化合物加到其中以便使化合物溶解或使化合物便于给药的制剂。药学上适用载体的实例包括水、盐水和生理上缓冲盐水。以合适的剂量提供所述药用组合物。所述组合物通常是由 FDA 或在美国以外国家的相应机构批准用于治疗具体的疾病。

本申请人还测定(见以下实施例 23)简化了的芳基烷基胺类化合物(见以下)是 NMDA 受体-离子载体复合物有效的非竞争性拮抗剂。该简化了的芳基烷基胺类化合物不同于由以上所述化合物 4 ~ 18 列举的芳基烷基胺。例如,与拮抗 NMDA 受体介导的功能的浓度相比,所述化合物在高于约 1 - 50 倍的浓度范围与由^[3H] MK - 801 标记的位点的结合。所述简化的芳基烷基胺类化合物具有下面的一项或多项生物特性:

15 具有显著的神经营护活性;显著的抗惊厥活性;显著的镇痛活性;在有效的神经保护、抗惊厥和镇痛的剂量下在鼠中没有 PCP 样的刻板行为(过度兴奋性和头摆动);在 PCP 辨别试验中,在有效的神经保护、抗惊厥和镇痛的剂量下不会泛化成 PCP;在有效的神经保护、抗惊厥和镇痛剂量下没有神经元空泡形成;对电位敏感的钙通道具有明显小的有效活

20 性;在有效的神经保护、抗惊厥和镇痛剂量下具有最小的降压作用。然而,在大鼠海马切片中所述化合物可以抑制诱导 LTP,并且在神经保护、抗惊厥和镇痛剂量下可以产生运动损伤。

再一方面,本发明提供治疗患有神经疾病或障碍患者的方法,该方法包括给患者施用药用组合物,该组合物包括具有下述结构的化合物,

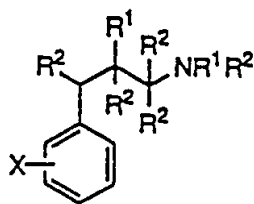


30 其中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃,

各个 R¹ 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基,

各个 R^2 可以独立地为 H 或低级烷基；或

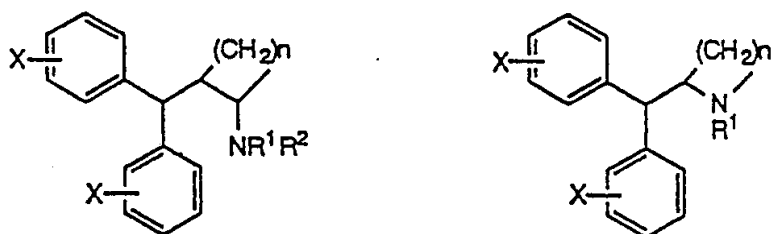
5



其中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH_3 ，

10 各个 R^1 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，各个 R^2 可以独立地为 H 或低级烷基；或

15

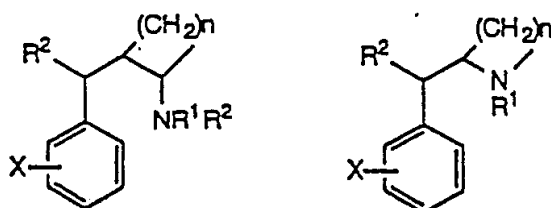


其中 $n = 1 \sim 6$ ，

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH_3 ，

20 R^1 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基， R^2 可以为 H 或低级烷基；或

25



其中 $n = 1 \sim 6$ ，

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH_3 ，

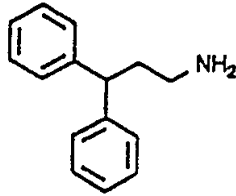
30 R^1 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，各个 R^2 可以独立地为 H 或低级烷基。

将以上通式所覆盖的化学结构表示的已知化合物从本发明中排除出

去。

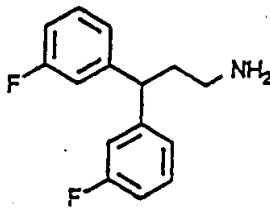
在优选的实施方案中，药用组合物含有化合物 19 - 53 或其药学上适用的盐。

5



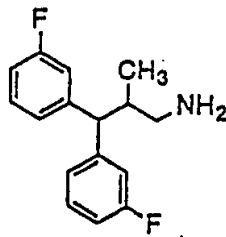
化合物 19

10



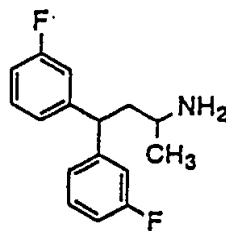
化合物 20

15



化合物 21

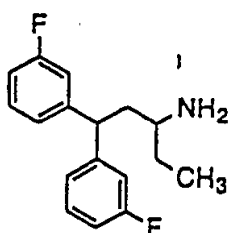
20



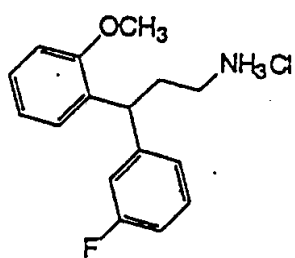
化合物 22

25

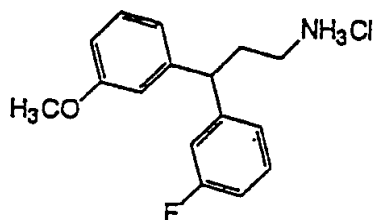
30



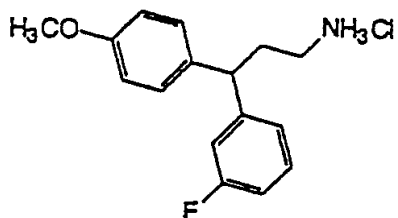
化合物 23



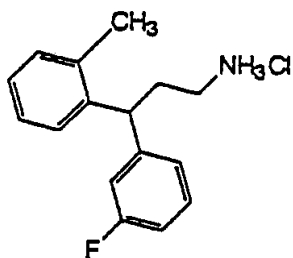
化合物 24



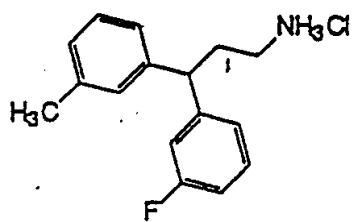
化合物 25



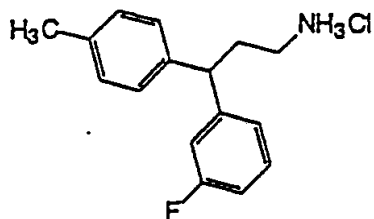
化合物 26



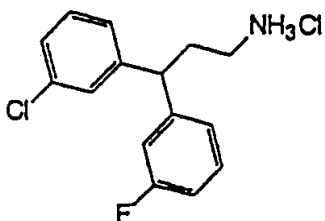
化合物 27



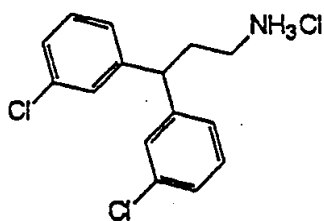
化合物 28



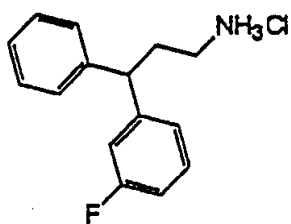
化合物 29



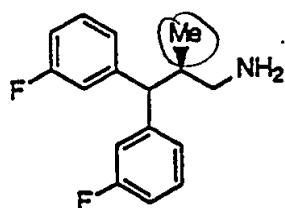
化合物 30



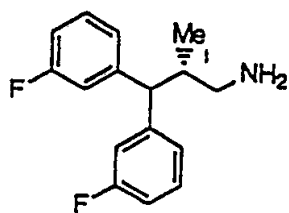
化合物 31



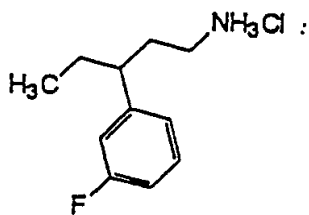
化合物 32



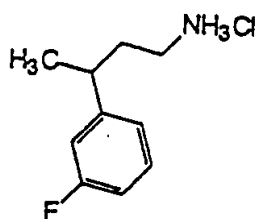
化合物 33



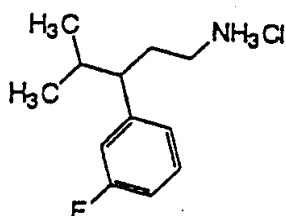
化合物 34



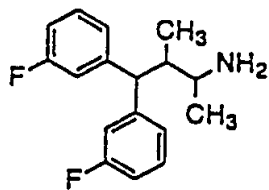
化合物 35



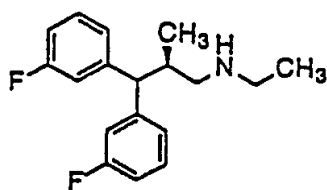
化合物 36



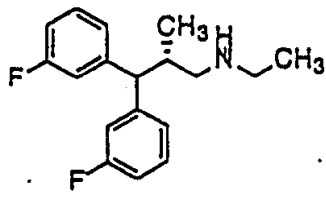
化合物 37



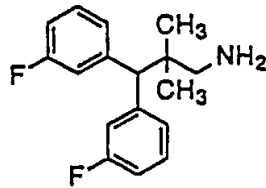
化合物 38



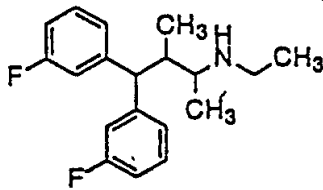
化合物 39



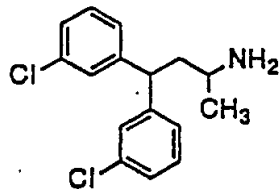
化合物 40



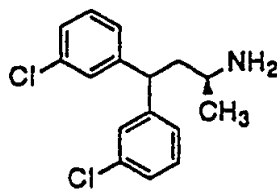
化合物 41



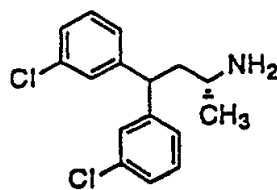
化合物 42



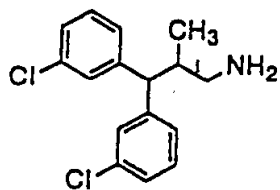
化合物 43



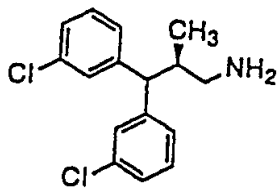
化合物 44



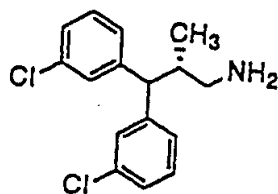
化合物 45



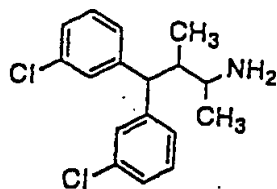
化合物 46



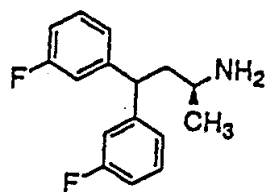
化合物 47



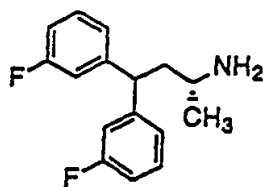
化合物 48



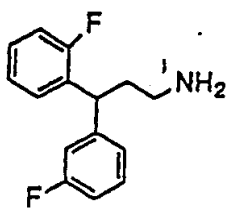
化合物 49



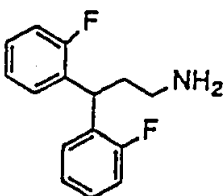
化合物 50



化合物 51



化合物 52



化合物 53

更优选的实施方案包括含有化合物 19 或其药学上适用盐的组合物，以及在药用载体中和药用剂量下的药用组合物或其可药用盐。

可以从下面叙述的优选实施方案以及权利要求书中看出本发明的其他特征和优点。

优选实施方案的叙述

下面详述治疗上有用化合物的鉴定和用作治疗神经障碍和其他疾病的方法和试验方法，试验应用化合物 1、2 或 3 举例，但是在这些测定中也可以应用具有类似生物活性的其他化合物以改进试验（如所公开的）。应用标准的步骤，可以将导向化合物如化合物 1、2 或 3 用作为分子模型，已有的化合物或在天然库中新的化合物可以用下面叙述的方法进行筛选。

一个重要方法是应用标准的放射配体结合技术（放射性标记的芳基烷基胺结合试验）能够迅速地筛选化合物，以便鉴定哪些与化合物 1、2 或 3 一样结合在受体操纵性 Ca^{2+} 通道相同位点上的化合物。此放射配体结合研究中得到的数据还可以进一步证实，所述化合物在受体操纵性 Ca^{2+} 通道的已知位点（如谷氨酸结合位点、甘氨酸结合位点、MK - 801 结合位点、 Zn^{2+} 结合位点、 Mg^{2+} 结合位点， σ 结合位点或在 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的多胺结合位点）上不抑制 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺通过这些位点作用的结合。该筛选试验可以鉴定许多可能有效的化合物以及对其他测定的活性进行筛选。熟悉本技术领域的专业人员明白，可以设计其他快速试验来检测在受体操纵性 Ca^{2+} 通道上与芳基烷基胺位点的结

合，并用于本发明。

另外的测定是应用电生理学（细胞外膜片钳）方法，以便扩展用上
述放射配体结合试验得到的结果。该结果可以确证与芳基烷基胺位点结
5 合的化合物是功能性的、非竞争性的受体操纵性 Ca^{2+} 通道的拮抗剂，并
与芳基烷基胺类本身共同具有下述特性：表现为应用 - 依赖性阻断的开
放 - 通道阻断，以及电位 - 依赖性启动和阻断的反转。得到的结果还可
以确证所述化合物在以前描述的受体操纵性 Ca^{2+} 通道上的位点（如谷氨
10 氨酸结合位点、甘氨酸结合位点、MK - 801 结合位点、 Zn^{2+} 结合位点、
 Mg^{2+} 结合位点， σ 结合位点或在 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的多胺
结合位点）不具有它们基本的活性。

此外，重组 DNA 技术也可以用于上述测定，甚至更快速。例如应用
标准的程序可以鉴定和克隆编码新的芳基烷基胺结合位点（即受体）的
基因。这可以用几个方法中的一个来完成。例如，可以制备芳基烷基胺
亲和柱，并使溶解了的来自含有芳基烷基胺受体的细胞或组织的膜通过
15 该柱。受体分子与柱结合并分离。然后可得到部分氨基酸序列的信息，
它可使编码受体的基因分离。另外，可制备 cDNA 表达文库，测定该文
库的亚组分的赋予细胞上芳基烷基胺受体的能力，正常情况下该细胞不
能表达这样的受体（如 CHO 细胞；小鼠 L 细胞、HEK 293 细胞或爪蟾
属卵母细胞）。以该方式可以鉴定含有编码该受体的克隆的文库组分。
20 对活性文库组分相继的亚分级分离和测定，最终可得到编码芳基烷基胺
受体的单一克隆。同样，可以应用杂交 - 抑制或杂交 - 缺失克隆技术。
用从合适组织或细胞（如人脑组织）中得到的 mRNA 注射爪蟾属卵母细
胞。检测芳基烷基胺受体的表达，例如可被化合物 1、2 或 3 阻断的
NMDA - 或谷氨酸刺激的钙内流。当 cDNA 或 cRNA 在注入爪蟾属卵母
25 细胞之前与选择的 mRNA 杂交时，可测定 cDNA 克隆阻断表达所述受体
的能力。然后用以上所述方法分离与该作用有关的克隆。一旦该受体基
因被分离，那么可用标准的技术鉴别足以结合芳基烷基胺（芳基烷基胺
结合区）的多肽或其部分。此外，应用标准程序，完全的受体或芳基烷
基胺结合区可以用重组技术进行表达。可以将该受体或结合区分离，并
30 且用作生化试剂，而不是应用下面列举的竞争性试验法，这样可以应用
简单的直接结合试验法。即可建立筛选结合在新的芳基烷基胺受体上化
合物的试验方法。以该方法可以同时筛选大量的化合物，例如使其通过

含有新的芳基烷基胺受体或芳基烷基胺结合区的柱子，并可分析结合在柱上的化合物。

5 另一种测定方法是利用组合分子生物学技术（表达克隆的 NMDA、AMPA 或烟碱样胆碱能受体）和细胞外膜片钳电生理学技术。具体地说，在克隆和表达的上述受体 - 离子载体复合物的亚单位上可迅速地筛选芳基烷基胺类似物的效果。在确定芳基烷基胺效果中，定位诱变技术可用于鉴别哪些氨基酸残基可能是重要的。

哺乳动物 CNS 中受体操纵性钙通道的高效选择性拮抗剂的药理试验。

10 一种药物要求的药理性质包括：对受体操纵性 Ca^{2+} 通道，例如存在于 NMDA、AMPA 和烟碱样胆碱能受体 - 离子载体复合物中的那些 Ca^{2+} 通道，具有高度亲和力和选择性（与经由其他神经递质受体、神经递质受体操纵性离子通道或电位依赖的离子通道介导的反应相比较而言）；和对以上受体操纵性 Ca^{2+} 通道具非竞争性拮抗作用。

15 NMDA 受体 - 离子载体复合物被用作受体操纵性 Ca^{2+} 通道的例子。NMDA 受体的活化打开阳离子选择性通道，使胞外 Ca^{2+} 和 Na^+ 进入胞内，导致 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度增高以及细胞膜的去极化。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度测定用作检查芳基烷基胺化合物对 NMDA 受体活性的基本试验。在能测定谷氨酸受体活性的体外试验中，检查纯化的芳基烷基胺化合物，合成的芳基烷基胺以及合成的芳基烷基胺类似物的活性。选择存在于各种蜘蛛毒液中的芳基烷基胺作详细的研究。存在于这些蜘蛛毒液中的各种芳基烷基胺在结构上是有区别的，但它们具有由化合物 1 至 3 所表示的该类化合物的基本结构。其他较简单的合成类似物一般由与烷基（多）胺部分连接的经过适当取代的芳香发色基团组成（见化合物 19 至 53）。

25 建立了一个能提供谷氨酸受体活性的功能性指标和高效率筛选的基本试验。用装载了荧光检测指示剂 Fura - 2 的大鼠小脑颗粒细胞的基本培养物测定由 NMDA 及其协同激动剂甘氨酸所引发的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化。该试验提供了检测 NMDA 受体活性的极其灵敏正确的指标。由 NMDA 引发的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度增高依赖于甘氨酸的存在，并可被作用于谷氨酸、甘氨酸或 MK - 801 结合位点的胞外 Mg^{2+} 或拮抗剂所阻断。由 NMDA/甘氨酸引发的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度增高容易与由其对电压敏感的 Ca^{2+} 通道阻断剂的抑制不应而致去极化所引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度增高相区别。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度测定支持

由电生理和配体结合试验所得结果这样一种重现性表明，这种测定可紧密反映 NMDA 受体 - 离子载体复合物的活化。

实施例 1. 对 NMDA 受体功能的高效非竞争性抑制作用

5 在体外培养的大鼠小脑颗粒细胞中，测定了芳基烷基胺对 NMDA 受体介导的 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度增高的优先抑制作用。在不同浓度的受试化合物存在或缺乏的条件下，加入 NMDA/甘氨酸 ($50 \mu M/1 \mu M$)，使引发 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度增高。用从每个受试化合物 2 - 8 个独立的实验所得数据，求出 IC_{50} ，其标准误差水平小于每个化合物平均值的 10 %。

10 所有受试的芳基烷基胺化合物都能阻断 NMDA/甘氨酸引发的小脑颗粒细胞中 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度的增高。某些结构与化合物 1 和化合物 2 相似的芳基烷基胺的抑制作用几乎与 MK - 801 ($IC_{50} = 34nM$) 一样强，后者是文献中已知优先阻断 NMDA 受体最有效的化合物。化合物 3 的 $IC_{50} = 2nM$ ，即其效价比 MK - 801 高 16 倍。许多受试的芳基烷基胺的效价都高于竞争性抑制剂如 AP5 ($IC_{50} = 15 \mu M$)。芳基烷基胺化合物的这种抑制作用不会被 NMDA 或甘氨酸浓度增高所抵消。也就是说，未观察到对 NMDA 或甘氨酸的 EC_{50} 值的变化。因此，芳基烷基胺化合物对 NMDA 受体 - 离子载体复合物是一种非竞争性拮抗剂，既不作用于谷氨酸结合位点，也不作用于甘氨酸结合位点。

实施例 2. 抗红藻氨酸和 AMPA 受体功能的活性

20 大鼠小脑颗粒细胞中 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度的测定也可用来监测存在于该组织中天然红藻氨酸和 AMPA 受体的激活作用。虽然由这些激动剂引发的 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度增高程度不像由 NMDA/甘氨酸所引发的那样大，但是这样的反应是可靠的，因而可用来正确地评价芳基烷基胺对药理学上所定义的谷氨酸受体亚型的作用的特异性。 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度的比较测定显示，这些芳基烷基胺化合物的受体选择性是十分明显的。某些化合物，如 JSTX - 3 (从 *Nephila clavata* 蜘蛛中提取的 Joro 蜘蛛毒素)，对红藻氨酸 ($100 \mu M$) 或 AMPA ($30 \mu M$) 引发的反应具有更强的拮抗作用。另一方面，发现在由化合物 1 和化合物 2 所限定的二种结构类型范围内的芳基烷基胺化合物能优先抑制 NMDA 所引发的反应 (显示效价约相差 100 倍)。由此可见，象化合物 1 和化合物 2 这样的芳基烷基胺化合物是小脑颗粒细胞中 NMDA 受体介导的反应的高效选择性抑制剂。

实施例 3. 细胞外膜片钳电生理学研究

对从成年大鼠脑分离出的皮质或海马神经元的细胞外膜片钳电生理学研究进一步加深了对化合物 1、化合物 2 和化合物 3 作用机制的了解。这些研究揭示，芳基烷基胺化合物对 NMDA 受体介导的反应具有高效和选择性的抑制作用。因此，像化合物 1 这样的化合物可以在不影响对红藻氨酸反应的毫微摩尔浓度下，阻断对 NMDA 的反应。显示芳基烷基胺化合物在皮质和海马神经元中具有选择性抑制作用的这些结果表明，芳基烷基胺化合物是以哺乳动物 CNS 不同区域中的 NMDA 受体为靶子的。而且还发现，这些化合物的这种抑制作用是应用 (use) 和电位依赖的。这有力地表明，这些化合物阻断开放的通道，并借助这种作用，起非竞争性 NMDA 受体拮抗剂的作用。但是，重要的是，这些芳基烷基胺化合物可能有别于 Mg^{2+} 和 MK - 801 二者，尤其就其作用开始的电位依赖性和效应的可逆性而言。

实施例 4. 放射配体结合试验

放射配体结合研究已经证明，芳基烷基胺化合物如化合物 1 和化合物 2，具有独特的作用部位。虽然它们在某些方面的作用（上面讨论过的非竞争性开放通道阻断）像 MK - 801，但它们在能完全阻断 NMDA 受体介导的反应的浓度下，却不能取代 $[^3H]$ MK - 801 结合。这些试验还证明，芳基烷基胺化合物不能以高亲和力结合到 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的已知的 MK - 801， Mg^{2+} 和多胺的结合位点。芳基烷基胺化合物也不能在阻断 NMDA 受体介导的反应的浓度下，直接结合到谷氨酸、甘氨酸或 δ 结合位点。合成了 $[^3H]$ 化合物 2，其作为一种放射配体，用于配体结合研究，以进一步探讨化合物 2 的作用机制，尤其用于高过筛能力的过筛试验中，以便评价其他同类物的活性，发现新的导向结构。对 $[^3H]$ 化合物 5 的研究，采取了与此相似的方法。显然，像化合物 1 和化合物 2 这样的化合物把 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的一部位作为靶部位，目前还没有其他已知的化合物有这样一个作用部位。芳基烷基胺化合物在分子水平上的这一显著的作用部位可以转换成行为水平上的明显的治疗长处。正如下面所讨论的，这些芳基烷基胺化合物具有完全不同于其他的 NMDA 受体的非竞争性拮抗剂的行为表现。

实施例 5. 突触传导研究

以上的发现证明，某些芳基烷基胺化合物，尤其是结构与化合物 1

和化合物 2 有关的那些，通过一种新的作用机制和作用部位发挥作用，从而有效地、选择性地抑制来源于几个不同脑部位神经元上的由 NMDA 受体介导的反应。为了进一步评价芳基烷基胺化合物的这种选择性抑制作用，还评价了其对 NMDA 或 AMPA 受体介导的突触传导的影响。

5 在包含海马在内的大鼠脑切片上，测量在 Schaffer 侧副纤维和 CA1 锥状体细胞突触由谷氨酸介导的传导。该试验从电生理学上测量由谷氨酸在前突触的释放所引起的后突触去极化，于是能容易地区别由 NMDA 或 AMPA 受体介导的突触传递。还发现像化合物 1、化合物 2 和化合物 3 这样的芳基烷基胺化合物对 NMDA 受体介导的反应产生优先抑制作用，只有在相当高的浓度下才抑制由 AMPA 受体介导的反应。例如，
10 化合物 1 对 NMDA 受体介导的反应的 IC_{50} 值为 $20 \mu M$ ，而对 AMPA 受体介导的反应的 IC_{50} 值为 $647 \mu M$ 。这些结果表明，芳基烷基胺化合物能选择性地抑制由 NMDA 受体介导的突触传递。其他天然存在于 Agelenopsis aperta（一种蜘蛛）毒液中的芳基烷基胺化合物对大鼠海
15 马中 NMDA 受体介导的反应同样产生高效的和选择性的抑制作用。

所以总的说来，这些不同研究的结果是互相补充的，这些结果综合起来可以确认，这是对哺乳动物 CNS 中 NMDA 受体具有高效的和选择性抑制作用的结构一类新化合物。此外，这些化合物是以 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的某一独特部位为靶子的。选择化合物 1、化合物
20 2 和化合物 3 在模拟重要的治疗目的而设计的各种体内体外试验中作进一步的研究。

神经保护剂活性

神经保护剂药物所要求的药理性质包括以下 3 点：（1）. 药物可经口服或注射途径给予（即其在胃、肠或血管系统无明显的破坏分解，
25 从而以有效的治疗剂量到达被治疗的组织）。这样的药物容易在啮齿动物上进行试验，以测定其生物利用度。（2）. 当在缺血性损伤（中风窒息）或创伤性损伤（头部外伤、脊髓损伤）后给予时，该药能显示出神经保护剂活性（即有效性）。（3）. 药物应没有或仅有极小的副反应，如识别障碍、运动行为障碍、镇静或兴奋过度、神经元空泡形成、
30 心血管活性、PCP 样滥用潜势（abuse potential），或 PCP 样拟精神病活性。

虽然谷氨酸是一种生理性突触递质，但慢性接触谷氨酸可致神经元

细胞死亡。由谷氨酸引起的大多数神经元变性，似乎是由 NMDA 受体介导的，并直接起因于细胞浆 Ca^{2+} 水平的缓慢升高。目前有大量的实验支持这样一个观点：NMDA 和 AMPA 受体在中风和其他缺血性或低氧性事件后介导神经元变性过程中起主要作用（Choi，谷氨酸神经毒性和神经系统疾病，Neuron 1:623,1988）。这一论据主要基于在离体或在体中风模型上有效阻断神经元细胞死亡的 NMDA 或 AMPA 受体的这种竞争性或非竞争性拮抗剂的能力。所以，在为检查神经元保护剂活性而设计的标准试验中，检测了化合物 1、化合物 2 和化合物 4 的这种活性。

10 实施例 6. 皮质神经元保护作用

为了在体外试验中评价芳基烷基胺化合物的神经元保护剂作用，让在培养基中生长的皮质神经元与 NMDA 接触 5 分钟，24 小时后，用测定乳酸脱氢酶（LDH）释放的方法监测细胞死亡，LDH 是一种从死亡的细胞释放出来的胞浆酶（Choi 等人，皮质细胞培养中的谷氨酸神经毒性 J. Neurosci 7:357,1987）。与 NMDA 的接触可杀死约 80% 的皮质神经元。化合物 1 或化合物 2 与 NMDA 一起加入到神经元培养物中，可阻止细胞死亡，其 IC_{50} 值分别为 $70 \mu M$ 和 $30 \mu M$ 。芳基烷基胺化合物的有效浓度高于其他非竞争性 NMDA 受体拮抗剂，但与竞争性拮抗剂的有效浓度接近。NMDA 受体拮抗剂的有效浓度可有变化，取决于特定的实验条件和所研究的细胞的类型（皮质、海马、纹状体）。这种神经元保护剂作用可能是由于这些化合物阻断由 NMDA 受体触发的胞外 Ca^{2+} 的流入这样一种能力所致。

为了确定这种潜在的治疗作用，在体内发作模型上，采用了更严密的试验。在这些模型中，通过夹住主要的动脉，暂时中断向脑的供血。在这一类在体模型中，有二种模型被用来确定化合物 1、化合物 2 和化合物 4 防止神经元细胞损失的能力。

25 实施例 7. 双侧颈动脉闭塞

第一个试验是在沙土鼠进行的双侧颈主动脉闭塞性前脑局部缺血模型（Karpiak 等人，局部缺血性中风中进行药物研究的动物模型，Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 29:403,1989；Ginsberg and Busto，鼠脑局部缺血模型，Stroke 20:1627,1989）。夹住颈动脉，使向脑的血液流动中断 7 分钟。恢复血液流动后 30 分钟，腹腔注射（ip）单

一剂量的受试化合物。在这些实验期间，动物体温保持在 37 °C，以防止低温反应。业已证明，许多 NMDA 受体拮抗剂能引起低温反应，这种影响可能是这些化合物的保护性作用的主要原因。4 天后用银染色脑切片，并用形态学分析法量化细胞死亡。化合物 2 (20 mg/kg) 在所有被检查的脑部位 (海马的 CA1 部位、纹状体、新大脑皮质)，对神经元细胞死亡有显著的保护作用 ($P < 0.05$)。低至 1 mg/kg 的剂量对纹状体仍有完全的保护作用 ($> 98\%$)。这种保护作用的程度与用相似剂量的非竞争性 NMDA 拮抗剂 MK - 801 所得到的结果相差不大。

在接着进行的实验中，化合物 1 (10 mg/kg) 可使局部缺血后 7 天所测得的沙土鼠海马 CA1 部位神经元的死亡数减少 23 %，而化合物 4 (10 mg/kg) 则能提供 90 % 的保护作用。

实施例 8. 大脑中动脉闭塞

在大鼠上所进行的大脑中动脉中风模型 (Karpiak 等人, 局部缺血性中风中进行药物研究的动物模型, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29: 403, 1989; Ginsberg and Busto, 鼠脑局部缺血模型, *Stroke* 20: 1627, 1989) 不同于沙土鼠模型, 因为它产生更局限的脑梗塞, 因而接近不同种类的中风 (病灶性血栓形成性中风)。在利用该中风模型所做的第一个研究中, 用外科结扎法将一根大脑动脉永久闭合。动脉闭合后 30 分钟, 单次腹腔注射 (ip) 给予受试化合物。在这些实验的过程中, 使动物体温保持在 37 °C, 以预防低温反应。24 小时后, 用组织学方法评价神经元细胞的损失情况。用从 10 张切片观察到的组织学苍白的面积, 并将每一连续部分之间的距离进行积分, 计算出梗塞体积。发现像 MK - 801 最大有效剂量 (10 mg/kg) (约 15 % 保护作用) 一样, 化合物 1 单一剂量 (30 mg/kg) 对神经元细胞损失同样有明显的保护作用 ($P < 0.05$)。用化合物 2 (20 mg/kg) 所做的初步研究显示相似的趋势。

在大鼠病灶性大脑局部缺血的第二项研究中, 将一小段缝线穿过颈动脉, 到达大脑中动脉范围, 使大脑中动脉永久闭合使体温保持在 37 °C。在局部缺血开始后, 立即经腹腔注射化合物 4 (10 mg/kg), 24 小时后记录到的脑梗塞体积显示出统计学上的显著减少 (20 %)。

在第 3 项大鼠病灶性大脑局部缺血模型中, 用孟加拉玫红染料, 采用光血栓形成法产生局部缺血梗塞。缺血形成后 30 分钟, 经腹腔给予

化合物 4 (10 mg/kg) , 可使梗塞体积减少 20 % , 与用非竞争性抑制 NMDA 受体拮抗剂 MK - 801 所观察到的结果相似。

在第四项大鼠病灶性大脑局部缺血模型中, 将一小段缝线穿过颈动脉, 到达大脑中动脉, 使大脑中动脉造成暂时堵塞。在 2 小时的局部缺血期后, 抽掉缝线。体温保持在 37 °C。缺血开始后立即以 10 mg/kg 剂量经腹腔给予化合物 4, 72 小时后记录到的脑梗塞体积显示统计学上显著减少 (37 %) 。

这些在体试验结果中, 几种导向化合物显示出几个重要特点: 第一个, 也是最重要的一个特点是, 化合物 1、化合物 2 和化合物 4 具有神经保护剂作用, 在几种不同的在体中风模型上都证明了这一点。沙土鼠试验是一种全大脑短暂缺血或氧过少 (如心脏抑制或产后低氧) 模型。几种大鼠试验则是永久的和短暂的病灶性局部缺血模型。在永久性病灶性中风模型上化合物 1 和化合物 4 具神经保护作用这样一个发现是令人惊奇的, 因为这种药物到达梗塞部位的可达性限于范围通常不大的半影区。然而, 化合物 1 和化合物 4 却能显著地 ($P < 0.05$) 限制损害的程度。第二点, 这些化合物在局部缺血后给药是有效的。这一点是重要的, 因为据信在梗塞后存在一个“机会的窗口”, 在此期间药物能有效地防止坏死性损害。在人类这一时间有多长, 尚未精确地加以限定, 而且这一时间长短可能差别很大, 取决于梗塞的类型。但是, 最重要的观察是, 一旦神经元变性过程已经开始, 这些化合物能阻止神经元细胞死亡的速度。最后一点, 化合物 1、化合物 2 和化合物 4 在非经胃肠道途径给予后是有效的, 证明它们能透过血脑屏障。

抗惊厥活性

抗惊厥药物所要求的性质包括: 这种药物可经口服或注射途径给予, 这种药物对几种不同类型的癫痫发作 (Seizure) 显示有效的抗惊厥活性, 包括但不限于: 单纯的不完全的癫痫发作; 复杂的不完全的癫痫发作; 癫痫持续状态; 创伤引起的癫痫发作, 如头部损伤包括头部外科后出现的癫痫发作; 药物应没有, 或仅有极小的副反应, 如识别障碍, 运动行为障碍, 镇静或兴奋过度, 神经元空泡形成, 心血管活性, PCP 样滥用潜势或 PCP 样拟精神病活性。

谷氨酸是脑中主要的兴奋递质, 因此它在癫痫发作活动方面可能起主要作用, 并对癫痫的发病机理产生影响。支持谷氨酸受体在癫痫发作

中起主要作用的这一论据在很大程度上是从若干药理学研究中得出的，这些研究证明，谷氨酸受体激动剂能引发癫痫，而 NMDA 和 AMPA 受体拮抗剂当体内给药时，是有效的抗惊厥剂。与临床上不同类型癫痫相关的，涉及不同类型癫痫发作和行为影响的在体模型有许多种。在不同模型上测试这些影响是谨慎的，因为假定同一机制作为各种类型的癫痫发作活动的基础可能过于简单化。

5 实施例 9. 惊厥阻断活性

在开始的研究中，检查芳基烷基胺化合物阻断由红藻氨酸印防己毒素或毕扣扣灵引起的癫痫发作的能力。这些致惊厥剂各自通过不同的机制发挥作用，由红藻氨酸引发的癫痫发作定性地不同于由印防己毒素或毕扣扣灵引发的癫痫发作。在这些实验中，含有几种芳基烷基胺毒素的 *Agelenopsis aperta* 蜘蛛毒液的一种组分在给印防己毒素或毕扣扣灵前 10 5 分钟，或给红藻氨酸后 5 分钟，静脉注射 (iv) 给予动物。这些芳基烷基胺化合物可减轻所有这三种致惊厥剂引起的癫痫发作。印防己毒素或毕扣扣灵的作用如此严重，以致所有 19 只对照动物在 25 分钟内都死亡。相反，预先用芳基烷基胺化合物处理过的 9 只动物无死亡。事实上，用芳基烷基胺化合物处理过的动物中只有约半数出现惊厥，且这些症状在 1 小时内减轻。这些结果表明，芳基烷基胺化合物具有明显的抗惊厥作用，而且促进了用纯化的芳基烷基胺化合物及其同类物作进一步的研究。

20 实施例 10. 癫痫发作刺激

在这第二组研究中，最初采用了三种不同的诱导癫痫发作的试验范例，在两种这样的试验范例中，像化合物 1 这样的芳基烷基胺化合物证明是有效的抗惊厥剂。头二种模型采用了 DBA/2 小鼠，这种动物有易患音源性癫痫发作的倾向。用声音 (以 109dBs 的铃音) 或腹腔注射 (ip) 给予 NMDA (56 mg/kg) 的方法诱导癫痫发作。在给惊厥刺激物前 15 - 30 分钟，给予受试化合物。记录给音源性刺激物后 1 分钟内，或给 NMDA 后 15 分钟内的阵挛性癫痫发作次数。化合物 1、化合物 2 以及几种其他的芳基烷基胺化合物，如化合物 3 和化合物 4 均可抑制由二种刺激物中无论那一种引起的癫痫发作。例如，化合物 2 对音源性刺激物的 ED_{50} 为 0.13 mg/kg (s.c)，对 NMDA 刺激物的 ED_{50} 为 0.083mg/kg (s.c)。同样，化合物 4 在音源性癫痫发作模型上的 EC_{50}

(0.08 mg/kg) 接近于 MK - 801 (0.02 mg/kg) 。相反, 化合物 1 和化合物 2 在直至 50 mg/kg s.c 的剂量下, 对减轻腹腔注射 NMDA 引起的 CF - 1 小鼠的癫痫发作均无作用。

5 在独立的第 2 系列实验中, 在另一个遗传易感的小鼠反射性癫痫模型 (Frings 小鼠) 上, 发现化合物 1 和化合物 4 腹腔注射后可阻止由声音诱导的癫痫发作, 其 IC_{50} 值分别为 14.3 mg/kg 和约 15 mg/kg。这些化合物在 Frings 小鼠上作脑室内注射 (icv) 后, 抗音源性癫痫发作的作用大大增强, 其 IC_{50} 值为 0.63 μ g (化合物 1) 和 4.77 μ g (化合物 4) 还发现化合物 1 在 CF1 小鼠上在 4 μ g (icv) 剂量下, 对抗由最大电休
10 克引起的癫痫发作是有效的。

在进一步的研究中, 用遗传易感的小鼠反射性癫痫模型 (Frings 小鼠), 化合物 9、化合物 12 和化合物 14 经 icv 注射给予, 可阻止声音诱导的癫痫发作, 其 IC_{50} 值分别为 4.77、12.2 和 13.9 μ g。

15 这些集中的发现证明, 像化合物 1、化合物 2 和化合物 4 这样的芳基烷基胺化合物在阻止癫痫性 (音源性) 和非癫痫性 (化学惊厥剂) 癫痫发作方面, 都是有效的。这种经过归纳的活性模式表明, 芳基烷基胺化合物在控制癫痫发作活动方面是有用的。此外, 化合物 1、化合物 2, 尤其化合物 4 在体内癫痫发作活动模型上的这种效力显示, 这些化合物以低剂量经非胃肠道途径给予时, 会有与治疗相关的作用, 当其直接注
20 入脑室内时, 作用尤其强。

镇痛活性

一个镇痛药所要求的性质包括: 该药可经口服或注射途径给予; 该药显示镇痛活性; 该药没有或仅有最小的副反应, 如识别障碍, 运动行为障碍、镇静或兴奋过度、神经元空泡形成、心血管活性、PCP 样滥用
25 潜势、或 PCP 样拟精神病活性。

谷氨酸和 NMDA 受体介导的反应在某些类型的疼痛感觉中可能起作用 (Dickenson, 对 伤痛的治愈: 可能作为止痛剂的 NMDA 受体拮抗剂, Trends Pharmacol. Sci. 11 : 302, 1990)。所以, 检查了化合物 1、化合物 2、化合物 3 和化合物 4 可能的镇痛作用。

30 实施例 11. 翻滚反应试验

在第一系列实验中, 给予动物一种令人讨厌的刺激物 (2 - 苯基 - 1,4 苯醌, PBQ), 后者可引起一种滚动反应 (腹部强直)。典型的方

法是，记录 5 分钟观察期内出现的滚动次数。经典的镇痛药，如吗啡，在减少 PBQ 引起的滚动次数方面是有效的（在 4 mg/kg 腹腔注射剂量下，100 % 阻断滚动反应）。非类固醇抗炎药在此模型上同样有效。化合物 1（2 mg/kg）、化合物 2（2 mg/kg）和化合物 3（1 mg/kg）在 PBQ 前 30 分钟 s.c 或 ip 给予时，可抑制 >95 % 的滚动反应。这些结果证明，化合物 1、化合物 2 和化合物 3 可减轻内脏疼痛。

在相似的研究系列中，发现化合物 1 和化合物 4 ip 给予小鼠可抑制醋酸引起的滚动，其 IC_{50} 值分别为 10 mg/kg 和 1 mg/kg。

实施例 12. 热板试验

在补充试验中测试了化合物 1 的镇痛活性，在此镇痛活性模型上，在将动物置于热板（50 °C）上之前 30 分钟，将受试物质以 s.c. 途径给予小鼠。开始出现舐足或跳离平板的时间作为镇痛活性的指标，有效的镇痛剂可延长出现舐足或跳跃的潜伏时间。吗啡（5.6 mg/kg）可使跳跃的潜伏时间延长 765 %。在此模型上化合物 1 同样有效，在 4 和 32 mg/kg 剂量下，可分别使舐足的潜伏时间延长 136 %，跳跃的潜伏时间延长 360 %。

值得注意的是，化合物 1 在热板试验中的镇痛作用并不伴随在网格翻转试验（详见下面）中的表演能力下降。这说明足跳离热板的潜伏时间的延长并不单纯反映运动能力减弱。同时，这些资料表明，化合物 1 具有显著的镇痛活性。

在较后进行的一批实验中，证明化合物 1 和化合物 4 在大鼠上由室内（i.th.）途径给予时，具有明显的镇痛活性。在这些试验中，52 °C 热平板用作感受伤害的刺激物。化合物 1（0.3 - 3 nmol）和化合物 4（0.3 - 3 nmol）产生剂量和时间依赖的抗感受伤害的作用；就其能力和效能而言，这些芳基烷基胺化合物类似于吗啡（0.3 - 3 nmol）。另一方面，NMDA 受体拮抗剂 MK - 801 在此试验中是无作用的（3 - 30 nmol）。

实施例 13. 甩尾试验

在该标准试验中，热感受伤害的刺激物是 52 °C 温水，以开始甩尾或缩尾的潜伏时间作为终点。化合物 1（0.3 - 3 nmol）和化合物 4（0.3 - 3 nmol）i.th. 途径给予后产生一种剂量和时间依赖的镇痛效应。就其能力和效能而言，这些芳基烷基胺化合物类似于吗啡（0.3 - 3 nmol）。

另一方面, NMDA 受体拮抗剂 MK - 801, 在此试验中是无效的 (3 - 30nmol) .

实施例 14. 甲醛试验

先使雄性 Sprague - Dawley 大鼠适应观察室环境至少 1 小时, 然后将稀甲醛溶液 (5 %) 注入左后脚掌, 注射体积为 50 μ l . 甲醛注入脚掌背表面皮下后, 立即监视动物的行为反应, 方法是计数动物显示出的退缩的次数. 注射甲醛后监视行为至少 50 分钟, 并按早期反应 (注射甲醛后 0 - 10 分钟) 和晚期反应 (注射甲醛后 20 - 50 分钟) 加以记录. 在注射甲醛前 10 分钟 (治疗前) 或后 10 分钟 (治疗后), 将受试化合物注入室内 (i.th.), 注射体积为 5 μ l .

足掌内给予甲醛产生一种典型的双相退缩行为反应, 通常表述为早期和晚期反应. 作为对甲醛的一种治疗前措施, 鞘内给予化合物 1 (0.3 - 10 nmol) 或化合物 4 (0.3 - 10 nmol) 可有效地抑制早期和晚期退缩行为. 用这两种芳基烷基胺化合物作治疗前的这种作用类似于用吗啡 (1 - 10 nmol) 或 MK - 801 (1 - 30 nmol) 作治疗前所观察到的结果.

在给甲醛后给予化合物 1 (0.3 - 10 nmol. i.th.), 产生晚期退缩行为的某种抑制, 虽然只有在 10 nmol 剂量下才达到显著性水平. 在给甲醛后给予化合物 4 (0.3 - 10 nmol i.th.) 产生晚期退缩行为的明显抑制, 在 3 和 10 nmol 剂量下, 达到显著性水平. 芳基烷基胺化合物的这种镇痛活性表现, 类似于给甲醛后再给予吗啡 (1 - 30 nmol) 所观察到的; 但是, 在给甲醛后再给予 MK - 801, 对晚期退缩反应无影响.

综合起来看, 用热板试验, 甩尾试验和甲醛试验所得到的结果都证明, 像化合物 1 和化合物 4 这样的芳基烷基胺化合物在几种啮齿动物急性疼痛模型上都具有明显的镇痛活性. 甲醛试验还附带地证明, 芳基烷基胺化合物在动物慢性疼痛模型上也是有效的. 重要的是, 这些芳基烷基胺化合物在给甲醛刺激物后给予, 仍具有明显的镇痛活性. 这种活性特性可以把这些芳基烷基胺化合物与标准的像 MK - 801 这样的 NMDA 拮抗剂清楚地区别开来.

芳基烷基胺化合物的副作用

已知 NMDA 受体在各种各样的脑功能中起重要的作用, 因此, 发现这种受体的拮抗剂独特地与某些令人讨厌的副作用相联系这一点并

不令人惊奇。事实上，正是这种性质提供一种主要的副反应来开发以 NMDA 受体为靶子的疗法。其主要副反应，它反映竞争性和非竞争性拮抗剂二者的特性，包括 PCP 样拟精神病活性，运动行为障碍，镇静或兴奋过度，识别能力障碍，神经元空泡形成或心血管影响（Willettts 等人，NMDA 受体拮抗剂的行为药理，Trends pharmacol Sci. 11:423, 1990；Olney 等人，在大脑皮质神经元中由苯环己哌啶和相关药物引起的病理变化，Science 244:1360, 1989）。与 NMDA 受体介导的反应的抑制有关的这种拟精神病影响，在作用于 MK - 801 结合位点的对苯环己哌啶（phenocycliding）（PCP）或“angel dust”的反应中得到集中的体现。识别能力障碍与正常时 NMDA 受体在学习和记忆方面所起的重要作用有关。

有关 AMPA 受体拮抗剂的副反应表现，知道相对少些。不过，越来越清楚的是，这样的化合物也能引起运动障碍，共济失调和明显的镇静。

在指示运动障碍，镇静和拟精神病活性的动物模型上以及学习和记忆的体外和体内模型上，检查了芳基烷基胺化合物的这种活性。

(a)、PCP 样拟精神病活性

在啮齿动物上，NMDA 受体的竞争性和非竞争性拮抗剂都能产生一种以活动过强，头摇晃和共济失调为特征的 PCP 样刻板行为（Willettts 等人，NMDA 受体拮抗剂的行为药理，Trends pharmacol Sci. 11:423, 1990；Snell and Johnson, 兴奋性氨基酸与健康 and 疾病, John wiley & sons, p, 261, 1988）。我们研究了芳基烷基胺化合物是否会引起这样的行为。此外我研究了在经过训练能辨别 PCP 和生理盐水的大鼠（Willettts 等人，NMDA 受体拮抗剂的行为药理，Trends pharmacol Sci. 11:423, 1990）上，这些芳基烷基胺化合物是否可能代替 PCP，以及这些芳基烷基胺化合物是否会引起 PCP 样神经元空泡形成（Olney 等人，在大脑皮质神经元中由苯环己哌啶和相关药物引起的病理变化，Science 244:1360, 1989）。

实施例 15. 运动活性

第一个试验简单地监测外周给予(s.c 或 i.p)受试化合物后头一小时内的运动活性。在将小鼠放入活动室内前 15 分钟，小鼠接受一个剂量

的化合物 1。通过计数 60 分钟周期内光电管栅极中断的次数，将运动活性加以定量。在这一试验中，MK - 801 (0.25 mg/kg, p.o) 引起运动活性 2 - 3 倍的增加，但是化合物 1 即使在 32 mg/kg (s.c) 剂量下试验，也不引起过敏，事实上，倾向于抑制运动活性。采用纯化过的芳基烷基胺化合物在小鼠上得到的这一结果补充先期在大鼠上得到的结果，在大鼠模型上，从 *Agelenopsis aperta* 蜘蛛分离的含总芳基烷基胺化合物的级分，当静脉注射给予时，不能引起 PCP 样行为症状，但似乎产生轻度的镇静作用。

实施例 16. 运动障碍

10 在用于检查一般运动不良的第一个试验中，化合物 1 在网格倒转试验中作了检查。在该试验中，将动物置于自一旋转的金属杆上悬挂下来的，用金属线穿起来的可翻转的网格上。然后根据动物爬到顶部或抓住网格不放的能力，给动物打分。有严重运动障碍的动物会从网格上掉下来。这一试验提供了一个由共济失调、右侧反射丧失、镇静、或肌肉松弛而产生的“行为破坏”的指标。在这些试验中，以 32 mg/kg 剂量 (s.c) 给予化合物 1 并不能减轻 DBA/2 小鼠在网格翻转时恢复平稳的能力 ($P > 0.05$) 化合物 2 以 20 mg/kg 剂量 (s.c) 给予后对 DBA/2 小鼠的运动表现同样没有影响 ($P > 0.05$)。这些剂量比在 DBA/2 小鼠上阻止声音诱导的癫痫发作所需要的高得多。

20 急性运动障碍的第二个试验是旋转棒试验。在该试验中，将注射了受试化合物的 Frings 和 CF1 小鼠置于一以 6rpm 速度旋转的装有隆起物的棒上。测定小鼠长时间保持平衡的能力。在 3 次试验的每一次试验中，在旋转棒上不能维持 1 分钟平衡的那些小鼠被认为有运动障碍。化合物 1 在 Frings 小鼠上可产生急性运动障碍，其 TD_{50} (50 % 试验动物产生运动障碍的剂量) 值为 16.8 mg/kg i.p. 这一剂量类似于在 Frings 小鼠上阻止声音诱导的癫痫发作所需要的剂量 (见前面的实施例 10)。但是，当化合物 1 经 icv 途径给予时，该化合物在 Frings 小鼠上的有效和中毒剂量之间的界限是十分清楚的。在这种情况下，直到化合物 1 的剂量超过 1.56 μ g icv (比 ED_{50} 值 0.63 μ g 大 2 倍多)，其表观运动毒性才是明显的。最后，注意到化合物 1 经 i.c.v 途径给予 4 μ g 后 CF1 小鼠的运动障碍。

30 化合物 4、化合物 9、化合物 12 和化合物 14 经 i.c.v. 注射途径给予 Frings 小鼠，并测定急性运动障碍。化合物 4、9、12 和 14 的 TD_{50} 值

分别为 8 - 16 μg , 14.8 μg 、 30.2 μg 和 30.8 μg 。这些 TD_{50} 值比表示抗惊厥作用的效价 IC_{50} 值（见前面的实施例 10）高 2 - 3 倍；注意到有效剂量与中毒剂量之间的明显的间隔。

实施例 17. PCP 识别试验

5 在该试验中，已经过训练会用杆操纵按钮以获取固体饲料的大鼠，必须选择其笼中二根杆中哪一根是正确的。他们具有的可使其选择正确的那根杆的唯一刺激就是其发觉是否接受了 PCP 或赋形剂注射的能力。在约二个月的训练后，这些大鼠变得善于识别 PCP 和赋形剂注射，然后就可
10 可用其他药物作试验，以测定这些药物是否被识别为 PCP。当在该方法中试验时，已知能产生 PCP 样毒性的其他药物可替代 PCP。这些药物包括各种 PCP 同类物，如氯胺酮和非竞争性 NMDA 受体拮抗剂 MK - 801。

化合物 1（1 - 30 mg/kg. i.p）不能替代 PCP，因此完全没有 PCP 样识别刺激影响。在 30mg/kg. i.p 剂量下，7 只受试动物只有一只对两根
15 杆都有反应。显然，化合物 1 的行为上有影响的剂量范围得到了评价。因为一般认为，受试化合物在大鼠上产生 PCP 样影响的能力对于在人身产生拟精神病和滥用倾向，具有预测意义，这些结果强有力地表明，像化合物 1 这样的芳基烷基胺化合物在人身上将没有这种令人讨厌的副作用。

20 实施例 18. 神经元空泡形成

像 PCP 和 MK - 801 这样的化合物给予大鼠可产生一种叫作神经元空泡形成的神经元毒性影响。给予单一剂量的这种化合物后，在特定的
25 中枢神经元，尤其在 Cingulate 皮质和 Retrosplenial 皮质中的那些神经元中发现有空泡形成。在用化合物 1 以 100mg/kg（ip）单一的高剂量处理过的大鼠上不存在这样的空泡形成。

综合起来看，在运动活性、运动障碍、PCP 识别和神经元空泡形成等试验上所得的这些结果强有力地表明，芳基烷基胺化合物在人体将没有 PCP 样副作用。

(b) 识别障碍

30 假定 NMDA 受体在记忆和学习方面作用的主要理由之一是从大鼠海马长期增强潜势（LTP）的细胞学研究中得出的。LTP 是一种由短促然而强烈的突触刺激所产生的突触反应幅度的长期持久的增加。自从这一

现象发现以来，它已成为一个研究脊椎动物大脑学习的优秀细胞模型（Teyler and Discena, Long-term potentiation. Annu. Rev. Neurosci 10: 131, 1987）。由在 CA1 锥体细胞上的 Schaffer 侧突形成的突触传递是由 NMDA 和 AMPA 受体介导的。在给予一个短促的可致强直的刺激后，密度信号的幅度（突触传递的一种测量）大大增高并持续达数小时之久。业已证明，所有已知的竞争性和非竞争性 NMDA 受体拮抗剂都可阻断大鼠海马中的 LTP，而非 NMDA 受体拮抗剂都没有这种作用（Collingridge and Davis, In: The NMDA Receptor, IRL Press, p 123, 1989）这一事实支持 NMDA 受体在记忆和学习方面的作用。

10 实施例 19. LTP 试验

检查了经选择的芳基烷基胺化合物和文献的标准品在大鼠海马切片上对 LTP 的作用。正如所料，所有普通的竞争性（AP5 和 AP7）和非竞争性（MK-801 和 苜哌酚醇）NMDA 受体拮抗剂都能抑制 LTP 在海马中的诱导。在发出由 3 组 - 每组 100Hz，1 秒，间隔时间为 500 毫秒 - 组成的致强直的刺激前，用受试化合物将大鼠海马切片作过冷化处理 30 - 60 分钟。其反应幅度的监测在强直性痉挛后延长 15 分钟。致强直刺激引起突触反应的幅度平均增大 95%。LTP 的诱导明显地被竞争性（AP5, AP7）或非竞争性（MK-801, 苜哌酚醇）NMDA 受体拮抗剂阻断（ $P < 0.05$ ）。十分令人惊奇的是，没有一个受试的芳基烷基胺化合物（化合物 1, 化合物 2, 化合物 3 和其他受试化合物）能阻断 LTP 的诱导（ $P > 0.05$ ），即使当其在能引起对照反应某种程度抑制的高浓度（100 - 300 μM ）条件下使用时。

这些结果还突出了芳基烷基胺化合物的另一个独特而重要的特点。芳基烷基胺化合物是第一类而且是目前仅有的一类被证明具有选择性的和有强效的，不能阻断 LTP 诱导的 NMDA 受体拮抗剂活性的化合物。这可能反映出芳基烷基胺化合物新颖的作用机制和作用部位，而且提示，以 NMDA 受体上的一个奇异部位为靶子的药物会同样对 LTP 没有作用。因为 LTP 是了解哺乳动物 CNS 中学习和记忆能力的主要的细胞模型，这些结果还揭示，这样的药物对识别行为不会有有害的影响。

30 实施例 20. 学习试验

用化合物 3，一种效价较高的合成芳基烷基胺同类物，在体内学习试验中所作的初步实验证明，这些药物对认识行为没有影响。在这一试

5 验中，训练大鼠在 T 形迷宫中交替变换转向，以得到食物奖励。试验开始前 15 分钟，i.p 给予受试化合物。MK - 801 也包括在内，以资比较。对照动物约 80 % 次数作出正确的选择。随着 MK - 801 剂量的增高，正确选择的次数呈进行性减少，而且这种行为能力的降低伴随以过度活动。相反，化合物 3 不会损害动物作正确选择的能力 ($P>0.05$)。在最高的受试剂量下，化合物 3 引起运动活性的某种程度降低，与用 MK - 801 所观察的影响正好相反。

10 虽然 MK - 801 使学习行为降低与运动活性的增加相平行，但是在啮齿类和灵长类动物上用不同试验所作的其他研究都证明，其对学习和运动的影响之间存在明显的分离。因此，竞争性和非竞争性 NMDA 受体拮抗剂在不引起运动行为明显改变的剂量下，都能损害学习功能。这证明普通的 NMDA 受体拮抗剂损害学习不依赖于其他的副反应。T 形迷宫试验的结果证明，化合物 3 和其他氨基烷基胺化合物即使在引起运动活性某种程度降低的剂量下，也不会损害学习。

15 从这些学习试验中还显露出另外一种观察结果。动物对第二天试验的最初反应是随机的，因此不依赖于前一天试验的最后的反应。这样，对照动物约 50 % 的次数能正确地作出最初的选择。MK - 801 对这种最初的选择没有影响。但是，前一天给予化合物 3 的动物能相当正确地更经常地作出这种最初的选择。所以不同于对照动物，用化合物 3 处理的动物表现得似乎它们记住了前一天的最后选择。

20 在第二系列实验中，评价了化合物 4 在 Morris 水迷宫作业试验中对学习的影响。在这一试验中，将一隐藏的平台置于一园形钢桶中的某一固定位置上，并浸入水平面下 2cm。每只大鼠每天作 3 次实验，每次实验间隔 10 分钟，连续 5 天。在下列条件下开始实验：将大鼠置于水中，鼻朝桶壁，并在预先确定好的 3 个位置中的一个位置上。起始位置的次序每天改变。以游到平台所需时间的减少作为判断学习能力的指标。如果在实验开始后 60 秒内未能找到平台所处的正确位置，则用手引导大鼠游向平台。动物在平台上停留 10 秒钟后将其从桶中取出。在第 5 天最后一次训练性试验结束后 10 分钟，动物接受一次试探性试验。为了这一次实验操作，移走平台，让动物游泳 60 秒钟，以评价对平台位置的空间倾向性。把从这一试验中得到的二项测量指标记录下来：首次穿过平台曾经所处区域的潜伏时间以及穿过的总次数。给每只大鼠注射化合物 4，

共 5 次。在第一系列实验中，以 10 mg/kg 剂量，i.p 给予化合物 4，每天一次，连续 5 天。这种处理方式使学习能力受到损害；但是，在反复给予化合物 4 的情况下，这些动物遭受明显的体重减轻和异常的行为征候（“寒战”，运动障碍，游泳困难）。在进一步的研究中，6 只动物在训练的头 4 天，接受 1 mg/kg i.p，而另 2 只动物在此期间接受 5 mg/kg i.p。在训练的最后一天，二组动物都接受 10 mg/kg。无论接受 1 mg/kg 的动物还是接受 5 mg/kg 的动物，在学习找出隐藏的平台的位置方面，都没有显示任何有害影响，最后的 10 mg/kg 剂量对动物执行已经学习过的任务的能力也没有产生任何有害影响。

10 这些学习试验的结果是令人鼓舞的。这些结果表明，芳基烷基胺化合物不产生作为其他 NMDA 受体拮抗剂特征的学习和记忆损害。事实上，有一种意见认为，芳基烷基胺化合物甚至可能是智能改善药（记忆增强剂）。

(c) 心血管影响

15 用某些芳基烷基胺化合物所作的体内研究显示了这些化合物引起的血压过低这样一种影响，尤其是高剂量下。以这些结果为基础，就芳基烷基胺化合物对心血管功能的影响，进行了系统研究。

实施例 21. Ca^{2+} 通道抑制作用

20 我们已经发现，一些芳基烷基胺化合物是电压敏感的 Ca^{2+} 通道 - 尤其是对二氢嘧啶类引起的抑制敏感的那些（L 型通道）- 的效力十分强的抑制剂。对血管平滑肌的这种影响可料到会扩张血管，引起血压下降，因而产生血压过低。

25 在小脑颗粒细胞和大鼠主动脉平滑肌细胞系 A_{7r5} 细胞上，检查了芳基烷基胺化合物抑制二氢嘧啶敏感的 Ca^{2+} 通道的能力。在小脑颗粒细胞上，化合物 2 在比阻断对 NMDA 的反应（ IC_{50} 值为 161nM）所需要的浓度大 100 倍的浓度下，可抑制去极化引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增高（ IC_{50} 值为 24 μM ）。总的说来，我们已经观察到，与拮抗 NMDA 受体的效价没有相关关系的，拮抗电压敏感的 Ca^{2+} 通道的效价范围很大。这一事实有力地提示，以芳基烷基胺化合物分子的化学修饰为基础的，进一步的结构 - 活性研究将导致 NMDA 拮抗剂效价很高而拮抗电压敏感的 Ca^{2+} 通道的效价低的化合物的开发。事实上，化合物 1（在小脑颗粒细胞中拮抗 NMDA 受体介导的反应的 IC_{50} 值为 102nM）是小脑颗粒细胞中的一种相

当弱的电压敏感的 Ca^{2+} 通道抑制剂 ($\text{IC}_{50} = 257 \mu\text{M}$), 而且在 A_{7r5} 细胞上, 对电压敏感的 Ca^{2+} 内流实际上没有影响 ($\text{IC}_{50} = 808 \mu\text{M}$)。

但是, 芳基烷基胺化合物并不是不可区分的电压敏感的 Ca^{2+} 通道阻断剂。例如, 它们不影响小脑 Purkinje 细胞中的电压敏感的 Ca^{2+} 通道 (P 型通道) 或认为涉及神经介质释放的那些通道 (N - 通道)。确能阻断电压敏感的 Ca^{2+} 通道的那些芳基烷基胺化合物看来是以特异的 L 型 Ca^{2+} 通道为靶子的。而且如上所提到的, 在这种影响方面存在高度的结构特异性。例如, 一种芳基烷基胺化合物通过 L 型通道阻断 Ca^{2+} 内流的效价比另一种芳基烷基胺化合物高 57 倍, 而这二种化合物结构上的唯一差别是一个羟基的存在或缺少。

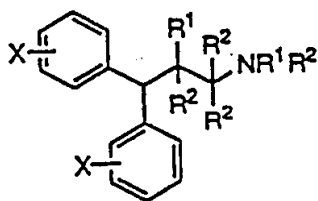
实施例 22. 体内心血管研究

芳基烷基胺化合物 1 和化合物 2 在体内中风模型上有效的剂量 (10 - 30mg/kg s.c) 下, 使麻醉鼠的平均动脉血压 (MABP) 产生中度下降 (20 - 40mmHg)。已非常详细地评价了化合物 4 所致血压过低这一影响。化合物 4 以 10mg/kg 剂量 i.p 给予后, 引起平均动脉压的显著降低 (40mmHg), 这种降低持续约 90 - 120 分钟。正是在这同一组大鼠上, 化合物 4 在缝线性大脑中动脉闭塞模型 (见前面的实施例 8) 上, 显示明显的神经保护作用。在一项大鼠研究中得到的相似的结果, 在该研究中, 化合物 4 在孟加拉玫红光血栓形成的病灶性局部缺血性中风模型 (见前面的实施例 8) 上, 证明具有神经保护活性。用切除脊髓后的大鼠标本做的进一步研究有力地证明, 化合物 4 的血压过低活性是一种周围介导的作用。在用阿托品预先处理过的大鼠上, 化合物 4 所产生的血压过低和心博徐缓得以保持, 表明这种作用不是由胆碱能机制所介导的。同样, 在做过化学性交感神经阻断术的大鼠 (预先用神经节阻断剂处理) 上, 化合物 4 引起血压过低和心博徐缓, 表明这些作用不是经由交感神经系统介导的。

以这些发现为基础, 正如所期望的, 通过以下二条途径化学上的努力会使心血管副作用减到最小: (1)、增强芳基烷基胺化合物的吸收入脑能力, 以便需要较低的剂量就可产生神经保护作用; (2)、使芳基烷基胺化合物对受体操纵的 Ca^{2+} 通道的选择性 (效价比) 高于电压敏感的 Ca^{2+} 通道。

简化了的 合成的芳基烷基胺类化合物的化学和生物活性

简化了的芳基烷基胺类化合物包括以下结构式

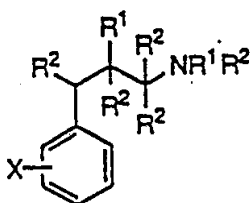


5

其中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃。

各个 R¹ 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O - 烷基或 O - 酰基，各个 R² 可以独立地为 H 或低级烷基；或

10

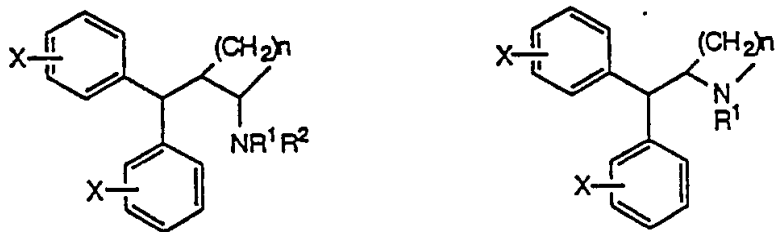


15

其中各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃。

各个 R¹ 可以独立地为 H、低级烷基、OH、O - 烷基或 O - 酰基，各个 R² 可以独立地为 H 或低级烷基；或

20

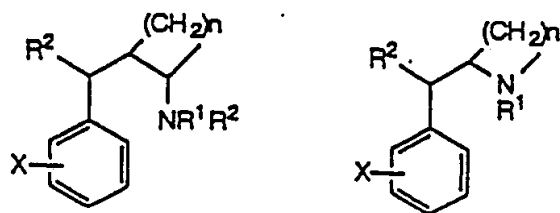


25 其中 n = 1 ~ 6,

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH₃。

R¹ 可以为 H、低级烷基、OH、O - 烷基或 O - 酰基，R² 可以为 H 或低级烷基；或

30



5 其中 $n = 1 \sim 6$,

各个 X 可以独立地为 1 个或多个 H、Br、Cl、F、低级烷基和/或 OCH_3 。

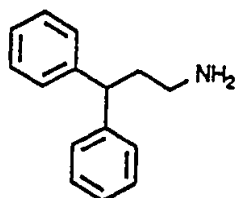
R^1 可以为 H、低级烷基、OH、O-烷基或 O-酰基，

各个 R^2 可以独立地为 H 或低级烷基。

10 所述化合物可有效地用于本发明以代替以上较复杂的化合物 1、2 和 3。

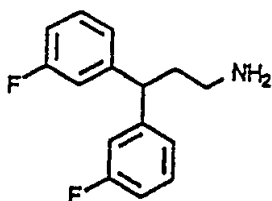
所述简化了的芳基烷基胺类实例包括 (但不限于) 化合物 19 ~ 53, 它们的化学结构如下:

15



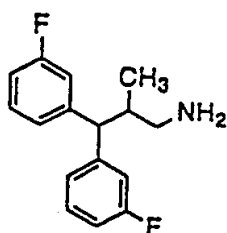
化合物 19

20



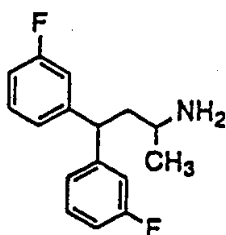
化合物 20

25

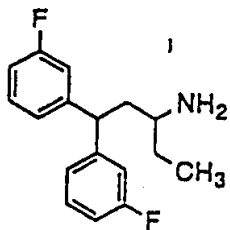


化合物 21

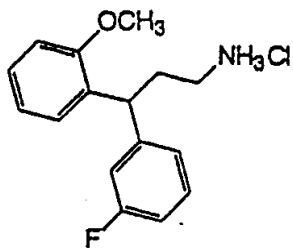
30



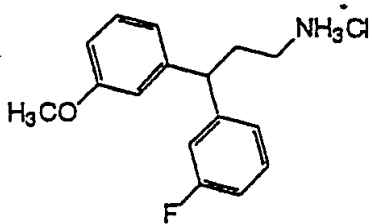
化合物 22



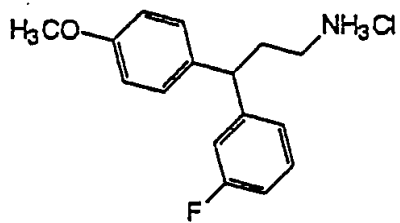
化合物 23



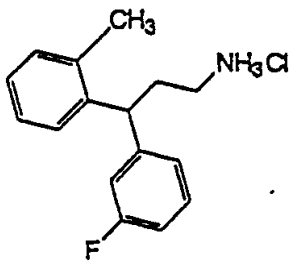
化合物 24



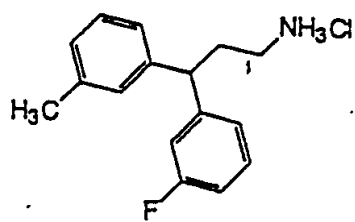
化合物 25



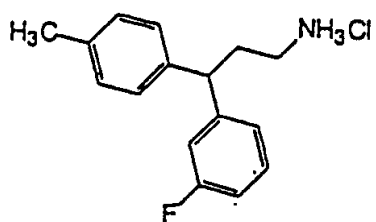
化合物 26



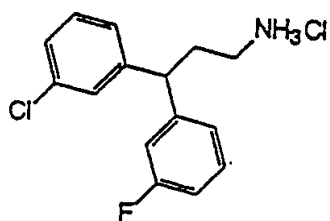
化合物 27



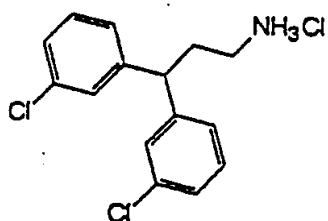
化合物 28



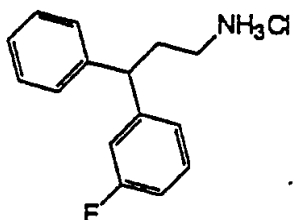
化合物 29



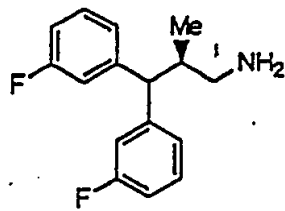
化合物 30



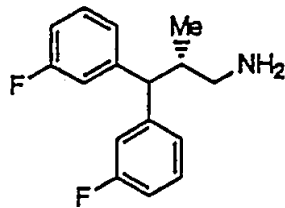
化合物 31



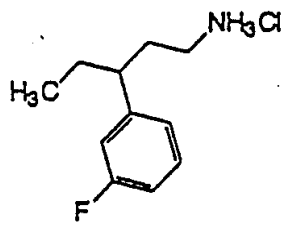
化合物 32



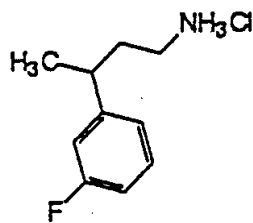
化合物 33



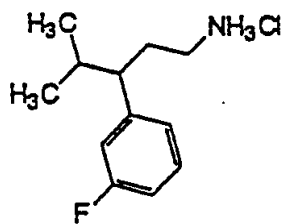
化合物 34



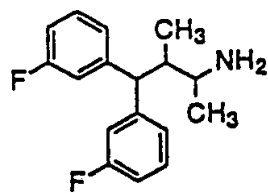
化合物 35



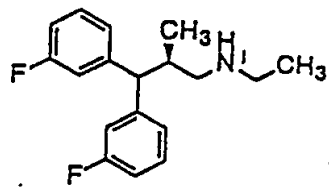
化合物 36



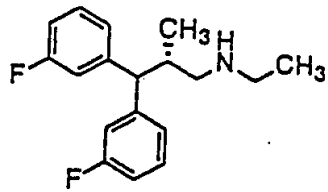
化合物 37



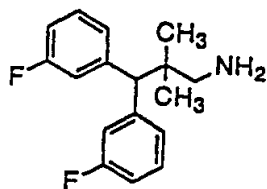
化合物 38



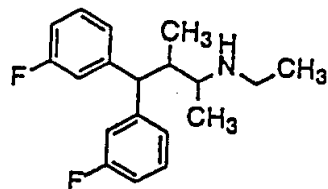
化合物 39



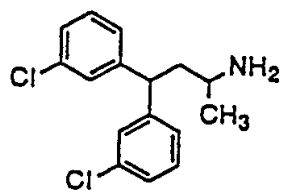
化合物 40



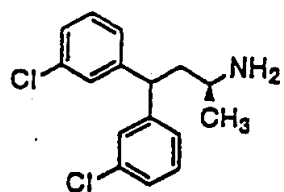
化合物 41



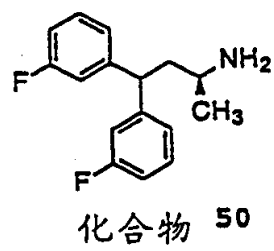
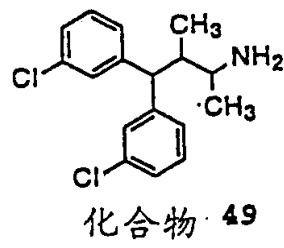
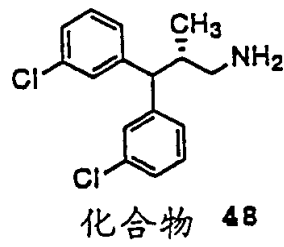
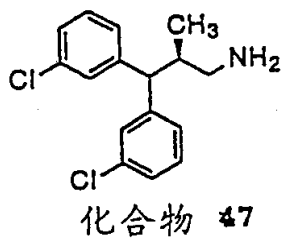
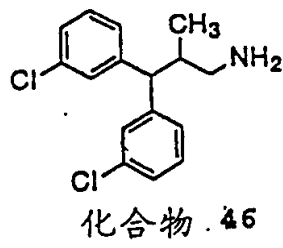
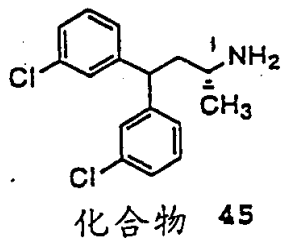
化合物 42

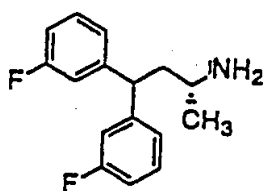


化合物 43

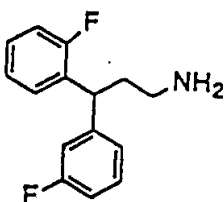


化合物 44

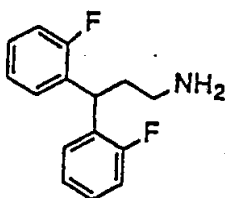




化合物 51



化合物 52



化合物 53

实施例 23. 化合物 19 和类似化合物的生物学活性

化合物 19 - 53 对培养基中生长的大鼠小脑颗粒细胞中 NMDA 诱导的 $[Ca^{2+}]_i$ 增加, 具有很强的拮抗作用 (表 1)。化合物 19 对 NMDA 诱导的反应的抑制作用是非竞争性的。化合物 19 - 37 抑制从大鼠海马和皮质组织制备的膜中 $[^3H]MK - 801$ 结合 (表 1)。

化合物 19 具有以下另外的生物学活性: i.p 给予后对小鼠由最大电休克引起的癫痫发作有明显的抗惊厥作用 (与对照相比, $P < 0.05$) ($ED_{50} = 26.4 \text{ mg/kg}$, $TD_{50} (\text{rotorod}) = 43.8 \text{ mg/kg}$); 口服 (p.o) 给予后对小鼠由最大电休克引起的癫痫发作有明显的抗惊厥作用 ($ED_{50} = 35 \text{ mg/kg}$), 但是在 30 mg/kg 剂量下, 出现运动障碍, 在 16 mg/kg (i.p) 剂量下, 在热板试验和 PBQ 诱导的扭体试验中, 有明显的镇痛作用; 在大鼠模型上, 在 30 mg/kg (i.p) 剂量下, 无 PCP 样刻板行为 (兴奋过度和头晃动); 在若干剂量直至出现行为激活的剂量 (30 mg/kg , i.p) 下, 在 PCP 辨别试验中对 PCP 无泛化 (no generalization)。化合物 19 在拮抗大鼠小脑颗粒细胞中由若干去极化浓度的 KCl 引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 增加方面, 效力明显较弱, 同时, 在直至 100 mg/kg 的若干剂量下, s.c 给予大鼠后对血压无影响。但是化合物 19 在 $100 \mu\text{M}$ 浓度下作试验时,

在大鼠海马切片上确实能阻断 LTP 的诱导。

5 化合物 20 具有以下另外的生物学特性：i.p 给予后对小鼠由最大电休克引起的癫痫发作有明显的抗惊厥作用 ($ED_{50} = 20.1 \text{ mg/kg}$, TD_{50} (rotorod) = 20.6 mg/kg)；口服 (p.o) 给予直到 30 mg/kg 的若干剂
10 量后，对小鼠由最大电休克引起的癫痫发作无明显的抗惊厥作用，但是在 30 mg/kg 剂量下有运动障碍；在遗传易感的小鼠反射性癫痫模型 (Frings 小鼠) 上，i.p ($ED_{50} = 2.1 \text{ mg/kg}$, $TD_{50} = 19.9 \text{ mg/kg}$) 或口服 ($ED_{50} = 9.7 \text{ mg/kg}$, $TD_{50} = 21.8 \text{ mg/kg}$) 给予后对声音诱导的癫痫发作有明显的抗惊厥作用；在大鼠暂时性病灶性缺血模型上有明显的
15 神经元保护剂作用 (以 1 mg/kg 剂量二次 i.p 给予后 (第一次在大脑中动脉闭合后立即给予, 6 小时后给第二次) 梗塞面积减少 51%)；以 1 mg/kg 剂量二次 i.p 给予 (第一次在大脑中动脉闭合后 2 小时即重新灌注的时候给予, 6 小时后给第二次) 后梗塞面积减少 43%)；在若干剂量直至出现行为激活的剂量 (10 mg/kg , i.p) 下, 在 PCP 辨别
20 试验中, 对 PCP 无泛化；在 10 和 30 mg/kg 剂量下, i.p 给予后无神经元空泡形成；此外在直至 $15 \mu \text{ mole/kg}$ i.v. 或 10 mg/kg i.p. 的若干剂量下, 无明显的心血管活性。

25 化合物 21 具有如下另外的生物学活性：在遗传易感的小鼠反射性癫痫模型 (Frings 小鼠) 上, i.p 给药 ($ED_{50} = 3.41 \text{ mg/kg}$, 和 TD_{50} (震颤) = 15.3 mg/kg) 后, 对声音诱导的癫痫发作具有显著的抗惊厥活性。

30 化合物 22 具有如下另外的生物学活性：在遗传易感的小鼠反射性癫痫模型 (Frings 小鼠) 上, i.p ($ED_{50} = 4.90 \text{ mg/kg}$, TD_{50} (震颤) = 26.8 mg/kg) 和口服 ($ED_{50} = 5.1 \text{ mg/kg}$, $LD_{50} = 18.3 \text{ mg/kg}$) 给予后, 对声音诱导的癫痫发作具有显著的抗惊厥活性；在低于 $15 \mu \text{ moles/kg}$ (4.47 mg/kg) i.v. 剂量下, 无显著的心血管活性。

35 总之, 用这些简化的合成的芳基烷基胺所得的结果表明, 这种简化了的分子像化合物 1、2 和 3 那样, 不能与受体操纵的 Ca^{2+} 通道上的芳基烷基胺结合位点特异地相互作用。化合物 19 - 53 在比能拮抗 NMDA 受体 - 离子载体复合物功能所需剂量高约 1 - 50 倍的剂量范围下, 特
40 异地结合到用 [^3H] MK - 801 标记的部位, 但是, 化合物 19 - 53 在治

疗剂量下不能产生 PCP 样刻板行为，在药物辨别试验中不能替代 PCP，或不能引起神经元空泡形成这一事实表明，这样的化合物或作为导向化合物或作为神经紊乱和神经病的候选药物，可能是有用的。据报道，以低亲和力（相对于 MK - 801 而言）结合到用 [³H] MK - 801 标记的部位上的化合物可能具有治疗价值并具有比由高亲和力拮抗剂如 MK - 801 本身所具有的，更有好处的副反应表现（Rogawski, 兴奋性氨基酸拮抗剂的治疗效力：通道阻断剂和 2, 3 - 苯并二氮杂革类化合物, Trends Pharmacol. Sci. 14: 325, 1993）。化合物 19 - 53 对由 [³H] MK - 801 标记的部位的这种低亲和力（相对于 MK - 801 而言）使化合物 19 - 53 归入这种一般类型的低亲和力非竞争性拮抗剂中。

受体操纵的钙通道上一种新的调节部位的鉴定

正如上面所详细描述的那样，由于具有治疗上有用性质的芳基烷基胺已经鉴定，现在就能鉴定作用于受体操纵性 Ca²⁺ 通道 - 如存在于 NMDA、AMPA 和烟碱样胆碱能受体 - 离子载体复合物中的那些 Ca²⁺ 通道 - 上的标准芳基烷基胺结合位点的那些化合物。

现就几种适宜的试验实例如下：

实施例 24. 大鼠皮质或小脑中放射配体结合试验

下面的试验作为一种高效率试验，可用于筛选产品库（例如，天然产品库和主要制药公司的化合物清单），以便确定在这一独特的芳基烷基胺结合位点具有活性的新的一类化合物。然后可以利用这些新类型化合物，作为以受体操纵性 Ca²⁺ 通道上芳基烷基胺结合位点为目标的药物开发计划的导向化学结构。由这一试验鉴定的化合物为治疗神经性紊乱和神经性疾病提供了一种新的治疗方法。这样的化合物的例子包括上面一般的化学式中提供的那些。为了鉴定具有所要求性质的那些化合物，可以做若干常规实验。

根据 Williams 等的方法（多胺对 [³H] MK - 801 与 NMDA 受体结合的效果：存在多胺识别位点的药理证据, Molec. Pharmacol. 36: 575, 1989）作如下修改，制备大鼠脑膜样品：将重量为 100 - 200 克的雄性 Sprague - Dawley 大鼠（Harlan Laboratories）断头处死。从 20 只大鼠取出的皮质或小脑加以清洗并分割成碎片。用一多稳元件匀浆器以最低的转速设置和内置 300ml 含 5mM K - EDTA 的 0.32M 蔗糖溶液（pH 7.0），在 4℃ 条件下将得到的脑组织制成匀浆。匀浆以 1000xg

离心 10 分钟，取出上清液并以 30,000xg 离心 30 分钟。所得沉淀物混悬于 250ml 5mM K - EDTA (pH 7.0) 中并置冰上搅拌 15 分钟，然后以 30,000xg 离心 30 分钟。沉淀物混悬于 300ml 5mM K - EDTA (pH 7.0) 中，在 32 °C 温育 30 分钟。然后以 100,000xg 速度将此混悬液离心 30 分钟。用如下操作洗涤膜：将膜混悬于 500ml 5mM K - EDTA (pH 7.0) ，在 32 °C 温育 30 分钟，然后以 100,000xg 离心 30 分钟。该洗涤操作，包括 30 分钟温育重复一次。最后的沉淀物混悬于 60ml 5mM K - EDTA (pH 7.0) 中，均分成若干部分贮于 - 80 °C。为致力于使膜制品中存在的谷氨酸盐和甘氨酸（在 NMDA 受体 - 离子载体复合物中的共激动剂）浓度减到最少，设计了本试验中所采用的这种广泛的洗涤操作。

为了用 [³H] 芳基烷基胺做结合试验，将若干部分 SPM (突触浆膜) 融化，每一部分混悬于 30ml 30mM EPPS/1mM K - EDTA (pH 7.0) 中，以 100,000xg 离心 30 分钟。将 SPM 重新混悬于缓冲液 A (30mM EPPS/1mM K - EDTA, pH 7.0) ，将 [³H] 芳基烷基胺加到此反应混合液中。结合试验在聚丙烯试管中进行。最后的温育体积为 500 μ l。在 100 μ M 非放射性的芳基烷基胺的存在下，测定非特异结合。双份样品在 0 °C 温育 1 小时。加入 3ml 冰冷缓冲液 A，继之以在预先用 0.33 % 聚乙烯亚胺 (PEI) 浸泡过的玻璃纤维滤纸 (Schleicher & Schuell No. 30) 上过滤，籍此中止试验。用另一 3 × 3ml 缓冲液 A 洗涤滤纸。以 ³H 的计数效率 35 - 40 % ，用闪烁计数法测定放射性。

为了证实上面的试验，还做了下面几个实验：

(a)、用以下操作测定 [³H] 芳基烷基胺与滤纸非特异性结合的量：500 μ l 含不同浓度 [³H] 芳基烷基胺的缓冲液 A 通过预先浸泡过的玻璃纤维滤纸，用另一 4 × 3ml 缓冲液洗涤滤纸，以 ³H 的计数效率 35 - 40 % ，用闪烁计数法测定结合到滤纸上的放射性。在预先没有用 0.33 % PEI 浸泡过的滤纸上，发现 87 % 的这种 ³H - 配体被结合到滤纸上。用 0.33 % PEI 预先浸泡可使这种非特异性结合减少到加入的配体总量的 0.5 - 1.0 % 。

(b)、采用把 SPMs 重新混悬于缓冲液 A 的方法绘制饱和曲线。该试验缓冲液 (500 μ l) 含有 60 μg 蛋白。所用的 [³H] 芳基烷基胺的

浓度范围为 $1.0\text{nM} - 400\ \mu\text{M}$ ，以半对数单位表示。根据这些数据绘制饱和曲线。然后用 Scatchard 分析 (Scatchard, 蛋白质对小分子和离子的吸引, Ann N. Y. Acad. Sci. 51 : 660, 1949) 求出表观 K_D 值和 B_{max} 值。用绘制 Hill 图的方法 (Hill, 利用兴奋方式理论进行电流作用下的肌肉和神经中离子浓度变化的新的数学处理, J. Physiol. 40 : 190, 1910) 求出 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺结合的协同效应。

(c)、采用把 SPMs 重新混悬于缓冲液 A 的方法确定结合对蛋白 (受体) 浓度的依赖性。该试验缓冲液 ($500\ \mu\text{l}$) 含有相当于其 K_D 值的一个浓度的 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺和浓度渐增的蛋白。 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺的特异性结合与存在的蛋白 (受体) 量之间应该呈线性关系。

(d) 采用把 SPMs 重新混悬于缓冲液 A 的方法确定配体 - 受体结合的时间过程。该试验缓冲液 ($500\ \mu\text{l}$) 含有相当于其 K_D 值的一个浓度的 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺以及 $100\ \mu\text{g}$ 蛋白。将双份样品在 $0\ ^\circ\text{C}$ 温育不同时间；求出达到平衡的时间点，且该时间点常规地用于所有后面的试验中。

(e) 结合位点的药理学可用竞争性实验加以分析。在这样的实验中， $[\text{H}]$ 芳基烷基胺的浓度和蛋白量都保持恒定不变，而受试 (竞争的) 药物的浓度是可变的。这一试验可供计算该竞争的药物的 IC_{50} 和表观 K_D 值之用。 (Cheng and Prusoff, 抑制常数 (k_i) 和引起酶促反应百分之五十抑制 (IC_{50}) 的抑制剂浓度之间的关系, J. Biochem pharmacol 22 : 3099, 1973)。该竞争性药物的结合的协同效应，用 Hill 图分析加以确定。

$[\text{H}]$ 芳基烷基胺的特异性结合表示结合到在受体操纵性 Ca^{2+} 通道 - 如存在于 NMDA、AMPA 和烟碱样胆碱能受体 - 离子载体复合物中的那些 Ca^{2+} 通道 - 上的一个新的部位。就这一点而论，其他芳基烷基胺化合物应以竞争的方式，竞争 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺的这一结合位点，而且在这一试验中它们的效力理应与其在受体操纵的 Ca^{2+} 通道拮抗作用 (例如，在大鼠小脑颗粒细胞培养物中 NMDA 受体诱导的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加的抑制) 的功能性试验中的抑制效力有相关。相反，在受体操纵性 Ca^{2+} 通道上的其他已知部位具有活性的化合物 (如 MK - 801, Mg^{2+} , 多胺) 理应不能以竞争方式替代 $[\text{H}]$ 芳基烷基胺结合。反而， $[\text{H}]$ 芳基烷基胺

结合的复杂的变构调节作用，非竞争性相互作用的指示，应该出现。在初步的实验中，MK - 801 在高至 $100 \mu\text{M}$ 的浓度下，不能代替 ^3H 芳基烷基胺结合。

(f)、估计其解离动力学的研究按如下操作进行：在使 ^3H 芳基烷基胺结合达到平衡（见上面(d)），并往反应混合物中加入大大过量的非放射性竞争药后，测定 ^3H 芳基烷基胺的结合。接着以不同时间间隔分析该 ^3H 芳基烷基胺的结合。用这一试验可以求出该 ^3H 芳基烷基胺结合的结合率和解离率（Titeler, 多种多胺受体：多胺药理中的受体结合研究, Marcel Dekker, Inc., New York, 1983）。为了了解这一参数的温度依赖性，附加的实验涉及改变反应温度（ $0^\circ\text{C} - 37^\circ\text{C}$ ）。

实施例 25. 小脑颗粒细胞中的放射配体结合试验

将自 8 日龄大鼠取得的小脑颗粒细胞的基本培养物铺在包被有多聚-L-赖氨酸的 Aclar 塑料方格上。把此塑料方格放入 24 孔培养板中，每孔加入约 7.5×10^5 颗粒细胞。在加入阿糖胞苷（终浓度为 $10 \mu\text{M}$ ）前，先将培养物在 Eagle's 培养基（HyClone Laboratories 产品，内含 25mM KCl, 10% 胎牛血清（HyClone Laboratories）， 2mM 谷氨酰胺, $100\mu\text{g/ml}$ 庆大霉素, 50U/ml 青霉素以及 $50\mu\text{g/ml}$ 链霉素）中，在 37°C 和在含 5% CO_2 的潮湿空气环境中，培养 24 小时。直到铺板后 6 - 8 天这些细胞用于受体结合研究，才更换培养基。

为了用 ^3H 芳基烷基胺做结合试验，24 孔板的每一孔内的反应混合物由 $200 \mu\text{l}$ 缓冲液 A（ 20mM K - HEPES, 1mM K - EDTA, pH 7.0）组成。把 ^3H 芳基烷基胺加到此反应混合物中。在 $100 \mu\text{M}$ 非放射性芳基烷基胺的存在下，测定非特异结合。一式三份样品在 0°C 温育 1 小时。手工刮去 Aclar 塑料方格板上的细胞，并将这些细胞移入聚丙烯试管中，借此使反应中止。把以这种方法从完整细胞制备的膜混悬于 10ml 的冰冷缓冲液 A 中，然后在预先用 0.33% PEI 浸泡过的玻璃纤维漏斗（Schleicher & Schuell No. 30）上过滤。用另一 $3 \times 3\text{ml}$ 缓冲液 A 洗涤滤纸。在 ^3H 的计数效率为 $35 - 40\%$ 的条件下，用闪烁计数法测定滤纸上的放射性。

除了用细胞代替膜以供这种初始结合用以外，表示该试验特征和证实本试验的专门实验基本上按上面的条件进行。按照 Scatchard 分析（蛋白质对小分子和离子的吸引, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51 : 660, 1949）所

描述的，该结合试验提供该竞争性药物 IC_{50} 值和表观 K_D 值的求法。该竞争性药物结合的协同效应由 Hill 图分析（利用兴奋方式理论进行电流作用下的肌肉和神经中离子浓度变化的新的数学处理，J. Physiol. 40 : 190, 1910）确定。 [3H] 芳基烷基胺的这种特异的结合表示结合到受体操纵性 Ca^{2+} 通道上的一个新的部位。

5 实施例 26. 重组受体结合试验

下面是为本发明的有效化合物设计的一种快速筛选试验的一个实例。在这一试验中，采用标准的操作，获得一个来源于适宜的有机体如人的 cDNA 或基因克隆编码的芳基烷基胺结合位点（受体）。该克隆的不同片段在适当的表达载体中得到表达，以产生从这种受体可得到的最小的多肽，这种多肽保留与化合物 1、化合物 2 和化合物 3 结合的能力。这样，可以鉴别归入这种新的芳基烷基胺受体的，针对这些化合物的多肽。利用可表达这种芳基烷基胺受体并能稳定转染的哺乳动物细胞系（例如 HEK 293 细胞），可使这样的实验变得更为容易。

15 另一方面，此处芳基烷基胺受体以修饰与所选化合物连接或邻接的该受体的氨基酸残基并因而使之可被检测这样一种方式，与化学修饰过的化合物 1、化合物 2 和化合物 3 起化学反应。接着便可按上面所述方法，采用标准的表达载体，将含有确认与化合物 1、化合物 2 或化合物 3 相互作用的那些氨基酸而又能足以满足与上述分子结合的芳基烷基胺受体的片段重组表达。

20 用标准的化学操作，可以把具有所要求的结合性质的重组多肽连接到固相支持物上，然后可以把这种固相或亲和载体与化合物 1、化合物 2 或化合物 3 连接，以证明这些化合物能结合到这种柱上，并确定化合物从固相支持物上除去的条件。然后可以用大量化合物重复这一操作，以便确定能连接到亲和载体并能以与化合物 1、化合物 2 或化合物 3 相似的方式使其释放的那些化合物。但是，为了得到在不同于芳基烷基胺结合所采用的条件（例如，超过尤其在病理状态下遇到的模拟生理条件的那些条件）下容易结合的化合物，也可采用改变的结合和释放条件。这样就能把确实结合的那些化合物从存在于液体介质或提取物中的一大批化合物中筛选出来。

30 能与上面所述的芳基烷基胺结合的多肽结合的化合物一旦得到确认，就能用上面所述的各种试验容易地测试那些化合物，以便判断或者

他们，或者其简单的衍生物，对上述的神经紊乱和神经性疾病的治疗处理是有效的化合物。

5 在一个补充的方法中，天然的芳基烷基胺受体可结合到柱或其他固相支持物上。这样就能鉴定那些不能被可结合受体上其他部位的试剂竞争掉的化合物。这样的化合物确定受体上新的结合位点。这样，被其他已知化合物竞争掉的化合物可结合到已知的部位，或结合到与已知结合位点部分重叠的新的部位。不管怎样，这样的化合物结构上可能不同于已知的化合物，因此可以肯定（这是）化学上新的一类作为治疗药可能有效的激动剂或拮抗剂。总之，一种竞争性试验可用于本发明的有效化合物。

10 实施例 27. 细胞外膜片钳电生理试验

下面这个试验是为上面提到的放射配体结合试验中被确认为以高效和竞争的形式，在受体操纵的 Ca^{2+} 通道如例存在于 NMDA -、AMPA - 或烟碱样胆碱能受体 - 离子载体复合物中的那些 Ca^{2+} 通道上新的芳基烷基胺结合位点起相互作用的，精选出来的化合物而进行。该细胞外膜片钳试验提供另外的关于前述的精选化合物作用部位和作用机制的相关资料。尤其是，用 NMDA 受体 - 离子载体复合物作为受体操纵性 Ca^{2+} 通道的例子，确定在芳基烷基胺结合位点相互作用的化合物的药理学和生理学性质如下：在阻断 NMDA 受体介导的离子流方面的效力和效能；关于谷氨酸和甘氨酸阻断的非竞争性质；作用的应用依赖性和作用的电位依赖性，两者都关于阻断的开始和逆转，阻断和未阻断（逆转）的动力学，以及，阻断的开放通道机制。这样的资料证明，在芳基烷基胺结合位点相互作用的化合物仍保留芳基烷基胺独特的生物学特征，而且在 NMDA 受体 - 离子载体复合物上的若干已知的结合位点（谷氨酸结合位点，甘氨酸结合位点，MK - 801 结合位点， Mg^{2+} 结合位点， Zn^{2+} 结合位点，Sigma 结合位点，多胺结合位点）上，不具有其原有的活性。

哺乳动物神经元（海马、皮质、小脑颗粒细胞）细胞外膜片钳的结果记录，用标准操作（Doneven 等人，魁蛤素阻断开启通道机制引起的 N - 甲基 - D - 天冬氨酸受体反应：在培养的海马神经元中进行的

整细胞和单一通道记录研究, Molec. Pharmacol. 41 : 727, 1992 ;
Rock and Macdonald, 精胺和相关多胺降低 NMDA 受体单一通道传
导的电位依赖性, Molec. Pharmacol. 42 : 157, 1992) 进行。

5 另一方面, 细胞外膜片钳实验可在 *Xenopus* 卵母细胞上, 或在可表
达特异性受体操纵性 Ca^{2+} 通道的亚单位的稳定转染的哺乳动物细胞系
(例如 HEK 293 细胞) 上进行。例如, 用这种方法, 可以测定在不同
谷氨酸受体亚型(例如 NMDAR1、NMDAR2A 至 NMDAR2D, GluR1
至 GluR4) 的效力和效应。用定位诱变的方法可以得到关于在这些谷氨
酸受体亚型上芳基烷基胺的作用部位的进一步资料。

10 实施例 28. 芳基烷基胺的合成

用标准方法 (Jasys 等人, argiotoxins 636, 659 和 673 的全合成,
Tetrahedron Lett. 29 : 6223, 1988 ; Nason 等人, 神经毒性的 *Nephila*
Spider 毒液的合成 : NSTX - 3 和 JSTX - 3. Tetrahedron Lett. 30 :
2337, 1989) 合成芳基烷基胺, 例如化合物 1、化合物 2 和化合物 3。

15 下面提供合成芳基烷基胺类似物的具体实例。

按以下方法合成化合物 4 :

20 以 40ml/小时的速率使 1,4 - 二氨基丁烷 (203.4g, 2.312mol) 的
甲醇 (50ml) 溶液与丙烯腈 (AN, 135g, 2.543mol) 反应。反应
液于室温 (20 - 25 °C) 搅拌 16 小时。GC - MS 分析表明有 64 % 的
产物 A ; GC - MS ($R_t = 4.26$ 分钟) m/z (相对强度) 141 (M^+ ,
4), 124 (8), 101 (42), 83 (100), 70 (65), 56 (63),
42 (81) 和 36 % 的二加成产物 B ; GC - MS ($R_t = 7.50$ 分钟) m/z
(相对强度) 194 (M^+ , 13), 154 (23), 123 (45), 96 (15),
83 (100), 70 (24), 56 (29), 42 (40)。经 Kugelrohr 蒸
25 馏得到 120g (37 %) 产物 A, 为澄清油状物。

30 3 - 溴 - 1 - 丙基胺氢溴酸盐 (102.4g, 468mmol) 和二碳酸二
叔丁基酯 (100.1g, 462mmol) 的 DMF (600ml) 溶液与三乙胺
(70ml, 500mmol) 反应, 反应物于室温搅拌 1 小时。将反应物转移
到内含 500ml H_2O 和 500ml 乙醚的分液漏斗中。混合物经平衡并除去水
层。乙醚层用 1 % HCl (3 ×) 洗涤, 经 K_2CO_3 干燥并浓缩, 得到 105g
(95 %) 产物 C。

A (80g, 567mmol) 和 KF - 硅藻土 (137g, 按硅藻土计为 50 % 重量) 的乙腈 (1L) 溶液与溴化物 C (105g, 444mmol) 于乙腈 (100ml) 中反应 1 小时。然后反应液于 50 °C 搅拌 24 小时。GC - MS 分析表明溴化物 C 已耗尽。将反应物冷却、过滤和浓缩至油状物。
5 该物质溶解于乙醚 (500ml) 中并用水 (500ml) 平衡。移出乙醚层, 水相用乙醚 (4 × 500ml) 洗涤并用乙醚 - 二氯甲烷 (1:1, 500ml) 洗涤一次。该步骤从产物 D 中分离出未反应的腈 A (含水部分)。将有机洗涤液合并, 并浓缩, 得到 120g 油状物。将该物质的己烷 - 二氯甲烷 (1:1) 溶液加到硅胶柱 (1500cm³ 干燥的硅胶) 中, 用己烷 - 二氯甲烷 (1:1) - 二氯甲烷 - 甲醇 - 二氯甲烷 (1:9) - 甲醇 - 二氯甲烷 - 异丙基胺 (10:90:1) 进行复合梯度洗脱 (300ml/分钟)。将同类部分 (TLC 分析) 合并, 并浓缩, 得到 93g (70 %, 按溴化物 C 计算) 产物 D。经 ¹³C - NMR (CDCl₃) 分析得到 δ 155.8, 118.5, 77.7, 49.3, 48.6, 47.3, 44.7, 38.7, 29.6, 28.1, 27.4, 27.3,
10 18.3, 该数据与文献数据一致。

以得到剧烈回流的速率使 D (93g, 312mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液与二碳酸二叔丁基酯 (80g, 367mmol) 反应。反应于室温搅拌 16 小时, 并吸附到 300cm³ 硅胶上。将该物质真空浓缩至干, 并加到硅胶柱顶部 (内径 10cm, 含 1000cm³ 干燥的硅胶)。该柱用己烷 - 乙酸乙酯 - 己烷 (3:2) 进行梯度洗涤。将同类部分合并, 并浓缩, 得到 89g (49 %) 产物 E。
20

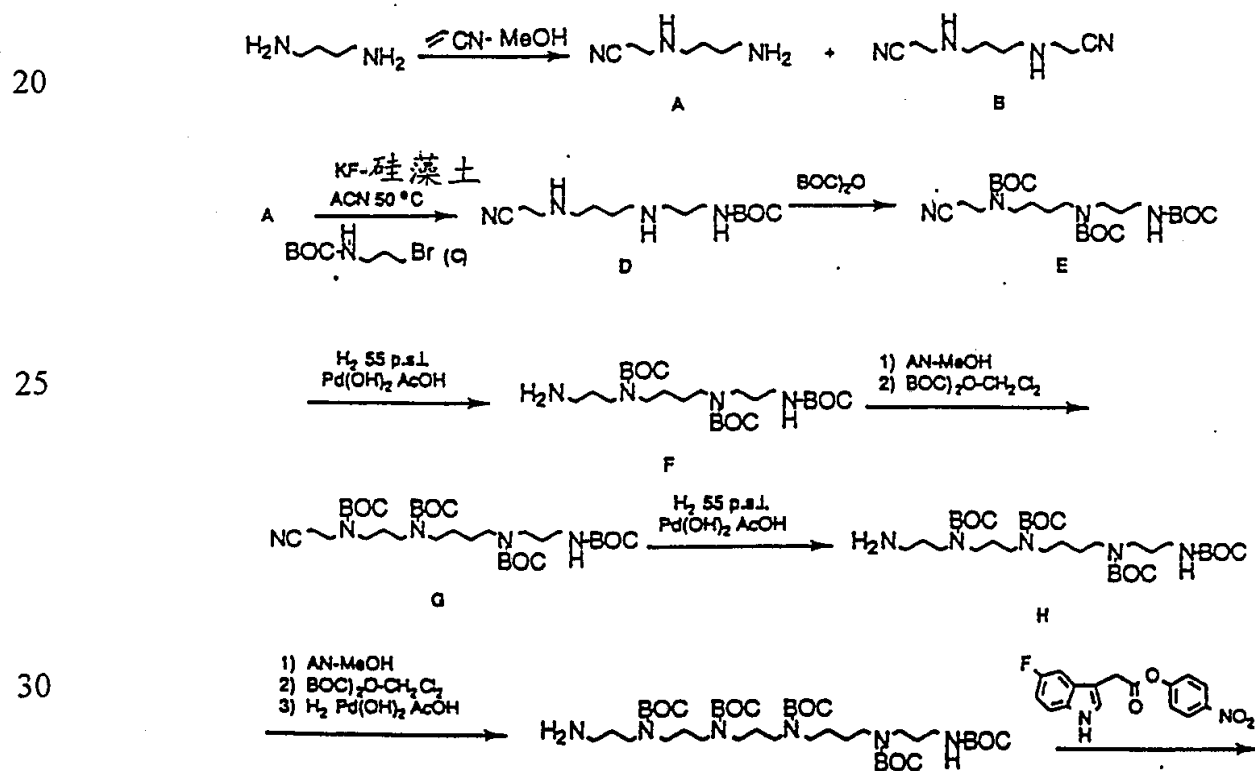
E (89g, 179mmol) 和氢氧化钯 (Pd (OH)₂, 20g) 的乙酸 (300ml) 溶液在 55p.s.i 氢气压力和室温下氢化 2 小时。将反应物过滤并浓缩至粘稠油状物。该物质溶解在二氯甲烷中, 并加入 1N NaOH 直至平衡相的 pH 为碱性 (pH 14)。移出二氯甲烷, 水层用二氯甲烷另外再洗涤 3 次。将有机洗涤液合并, 干燥并浓缩至油状物。经色谱 (硅胶), 用二氯甲烷 - 甲醇 - 二氯甲烷 - 异丙基胺 (10:90:1) 进行梯度洗脱, 得到 55g (61 %) 产物 F。
25

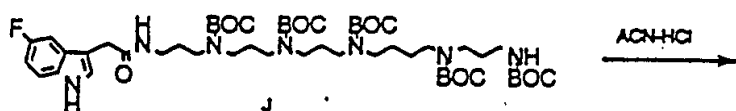
按上述方法重复以使链延长。F (55g, 110mmol) 的甲醇溶液与丙烯腈 (6.1g, 116mmol) 反应, 并于室温搅拌, 直到用 TLC 分析表
30

明反应已完成。将反应液浓缩，溶解在二氯甲烷中，并与二碳酸二叔丁基酯 (26.4g, 121mmol) 反应。反应液于室温搅拌，直到反应完成，该产物经色谱 (硅胶) 纯化，用己烷~乙酸乙酯~己烷 (3:2) 进行梯度洗脱。得到 32g (49%) 纯 G 和 23g 半纯化物质 (主要含有 G)。G (32g, 49mmol) 和氢氧化钯 (Pd(OH)₂, 32g) 的乙酸 (300ml) 溶液在 55p.s.i 氢气压力和室温下氢化 2 小时。关于得到 F 的反应，该反应按相同方法进行。得到 24g (33%，按 F 计算) 产物 H。按上述方法重复以使链延长，得到 21g (70%) 多胺 I。

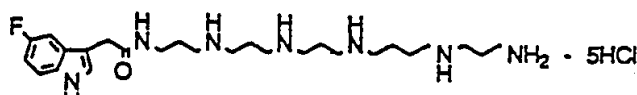
5-氟吲哚-3-乙酸 (2g, 10.4mmol) 和对硝基苯酚 (1.6g, 11.6mmol) 的二氯甲烷 (250ml) 溶液与 DCC (2.4g, 11.6mmol) 反应，反应于室温搅拌 24 小时。该反应混合物直接过滤到搅拌的多胺 I (21g, 25mmol) 于二氯甲烷的溶液中。反应液于室温搅拌 4 小时，并经色谱 (硅胶)，用二氯甲烷~甲醇~二氯甲烷~异丙基胺 (50:950:1) 进行梯度洗脱，得到 8.7g (85%，按起始的吲哚计算) 产物 J。

15 J (8.7g, 8.8mmol) 的乙腈 (1.8L) 溶液与浓 HCl (200ml) 反应，反应物在氩气下于室温搅拌 4 小时。将反应物过滤，并收集沉淀，得到 5.53g (93%) 化合物 4。经 RP-HPLC 分析表明该物质的纯度为 98.7%。UVmax (0.1% TFA) 284nm (ε 6140)。





5



化合物 4

按以下方法合成化合物 5。用类似的方法制备化合物 6、7、8 和 10，但以下叙述除外。

在 30 分钟内，向二氨基戊烷（49g，0.48mol）和三乙胺（48g，0.43mol）于 200ml 二噁烷的溶液中加入二碳酸二叔丁基酯（53.4g，0.24mol 于 200ml 二氯甲烷中）溶液。反应液再搅拌 2 小时，随后真空除去溶剂。得到的固体溶于乙醚中，用氢氧化钠洗涤 3 次，每次 50mM，用盐水洗涤 1 次，经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的油状物溶于 20% 乙酸乙酯/己烷中，并加到 9cm × 20cm 硅胶柱中。该柱用 20% ~ 35% 乙酸乙酯/己烷洗脱，随后用 5% 乙醇/氯仿洗脱，最后用 5% 乙醇/5% 异丙基胺/氯仿洗脱。将含产物（用 GC - MS 鉴定）的部分（用最后的溶剂洗脱）合并，并真空浓缩，得到 20.1g 化合物 A。

将苯甲醛（11g，0.104mol）和化合物 A（20.1g，0.099mol）混合在一起并使其涡旋。20 分钟后加入 20ml 无水乙醇，并再搅拌 10 分钟，随后真空除去乙醇和水。油状物溶于 50ml 无水乙醇中，并向其中加入硼氢化钠（3.74g，0.099mol）。反应物于室温搅拌过夜。真空除去溶剂，残余物溶于乙醚和 50mM 氢氧化钠中。分离水层，乙醚层用氢氧化钠洗涤 2 次，每次 50mM，用盐水洗涤 1 次，经硫酸钠干燥，并真空浓缩，得到 28.8g（99%）化合物 B。

化合物 B（28.8g，0.0985mol）溶于 400ml 乙腈中，随后加入氟化钾/硅藻土（22.9g，0.197mol）和 N - （3 - 溴丙基）邻苯二甲酰亚胺（39.61g，0.147mol）。反应物在氩气下加热回流 10.5 小时。冷却后，将反应物过滤，固体用乙腈洗涤。合并的乙腈溶液经真空浓缩，得到粘稠的黄色油状物。油状物溶于 1l 乙醇中，并向其中加入 9.3ml 胍。溶液在氩气下加热回流 2.25 小时。真空除去溶剂，残余物溶于乙醚和 50mM

氢氧化钠中。分离乙醚层，经硫酸钠干燥，并真空浓缩，得到 33.4g 粗品化合物 C。粗品用 9cm × 30cm 硅胶柱色谱，用二氯甲烷/甲醇/异丙基胺（94:5:1）洗脱，得到 26.9g 化合物 C。

5 将苯甲醛（8.54g，0.081mol）和化合物 C（26.9g，0.0767mol）混合在一起并使其涡旋。30 分钟后加入 20ml 无水乙醇，并再搅拌 45 分钟，随后真空除去乙醇和水。油状物溶于 80ml 无水乙醇中，并向其中加入硼氢化钠（2.9g，0.0767mol）。反应物于室温搅拌过夜。真空除去溶剂，残余物溶于乙醚和 50mM 氢氧化钠中。分离水层，乙醚层用氢氧化钠洗涤 2 次，每次 50mM，用盐水洗涤 1 次，经碳酸钾干燥，并真空
10 浓缩，得到 32.6g（96%）化合物 D。

化合物 D（32.6g，0.0742mol）溶于 300ml 乙腈中，随后加入氟化钾/硅藻土（17.24g，0.148mol）和 N-（3-溴丙基）邻苯二甲酰亚胺（29.83g，0.111mol）。反应在氩气下加热回流 15.25 小时。冷却后，将反应物过滤，固体用乙腈洗涤。合并的乙腈溶液经真空浓缩。油
15 状物溶于 750ml 乙醇中，并向其中加入 7ml 胍。溶液在氩气下加热回流 2 小时。真空除去溶剂，残余物溶于乙醚和 50mM 氢氧化钠中。分离乙醚层，经硫酸钠干燥，并真空浓缩。粗品用 9cm × 30cm 硅胶柱色谱，用二氯甲烷/甲醇/异丙基胺（94:5:1）洗脱，得到 31.9g 化合物 E。

化合物 E（18.22g，36.7mmol）和三-CBZ-精氨酸 N-羧基琥珀酰亚胺酯（25g，37.1mmol）溶于 100ml 二氯甲烷中，并于室温搅拌
20 2 天。反应混合物用氯仿稀释，并用 50mM 氢氧化钠萃取。有机层经硫酸钠干燥，并真空除去溶剂，得到 40.4g 化合物 F。该物质未经进一步纯化即可用于下一步。

化合物 F 溶于 400ml 50% 三氟乙酸/二氯甲烷中并搅拌 2 小时。真空
25 除去溶剂，残余物溶于氯仿/100mM 氢氧化钠中。分离氯仿层，经硫酸钠干燥，并真空浓缩。粗品化合物 G 未经纯化即可用于下一步。

从步骤 G 得到的全部化合物 G（约 36mmol）溶于 175ml 二氯甲烷和 Boc-天冬酰胺对硝基苯基酯（12.72g，36mmol）中。反应于室温
30 搅拌 2 天，用氯仿稀释，并用氢氧化钠萃取 5 次，每次 50mM，用盐水萃取 1 次，经硫酸钠干燥并真空浓缩。粗品油状物用 9cm × 30cm 硅胶柱色谱，用二氯甲烷/甲醇/异丙基胺（94:5:1）洗脱，得到 29.3g 化合物 H。

化合物 H (7.29g, 6.3mmol) 溶于 50ml 50 % 三氟乙酸/二氯甲烷中, 并在氩气下搅拌 1 小时。真空除去溶剂, 残余物溶于氯仿和 50mM 氢氧化钠中。分离两层, 水层再一次用氯仿萃取。合并的氯仿萃取液用盐水洗涤, 经碳酸钾干燥, 并真空浓缩。残余的固体溶于少量氯仿中, 并用乙醚沉淀。滤出固体, 用乙醚洗涤, 并真空干燥, 得到 5.61g 化合物 I。

化合物 I (214mg, 0.2mmol) 溶于 2ml 氯仿中, 向该溶液中加入 2 - 甲氧基 - 苯基乙酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯 (58mg, 0.22mmol), 溶液于室温搅拌过夜。反应混合物用氯仿稀释, 并用稀氢氧化钠洗涤。分离氯仿层, 经硫酸钠干燥, 并真空浓缩, 得到化合物 J, 化合物 J 可直接用于下一步。

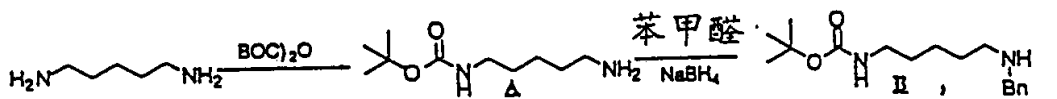
从步骤 J 得到的全部化合物 J 溶于 5ml 乙酸中。加入氢氧化钡 - 炭 (100mg), 该反应在氩气 (来自装满氩气的气球) 下进行, 并搅拌过夜。反应物通过 0.2 微米注射滤器过滤, 以除去催化剂, 将得到的溶液冷冻干燥。残余物溶于 0.1 % 三氟乙酸中并置于 C - 18 柱 (10mm × 250mm Vydac C - 18) 上色谱, 用乙腈洗脱。含产物的部分经冷冻干燥得到 90mg 化合物 5, 为 TFA 盐。

按照合成化合物 5 类似的方法合成化合物 6, 但是在步骤 H 中, 使化合物 G 与 Boc - 苯基丙氨酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯反应以代替化合物 G 与 Boc - 天冬酰胺对硝基苯基酯反应。

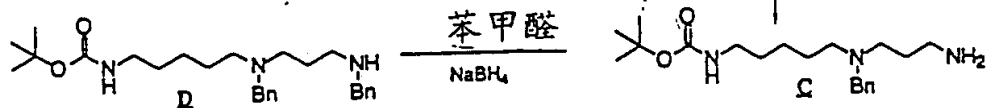
按照合成化合物 5 类似的方法合成化合物 7, 但是在步骤 H 中, 使化合物 G 与 Boc - 亮氨酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯反应以代替化合物 G 与 Boc - 天冬酰胺对硝基苯基酯反应。

按照合成化合物 5 类似的方法合成化合物 8, 但是在步骤 F 中, 使化合物 E 与 CBZ - 赖氨酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯反应以代替化合物 E 与三 - CBZ - 精氨酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯反应。

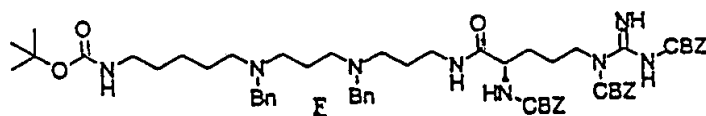
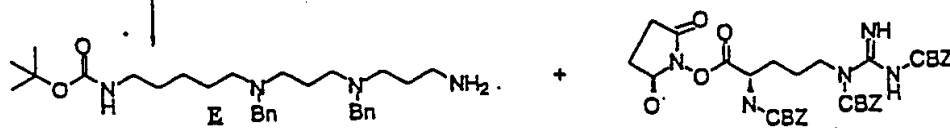
按照合成化合物 5 类似的方法合成化合物 10, 但是在步骤 J 中, 使化合物 I 与 2 - 苄氧基苯基乙酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯偶合以代替化合物 I 与 2 - 甲氧基苯基乙酸 N - 羧基琥珀酰亚胺酯反应。



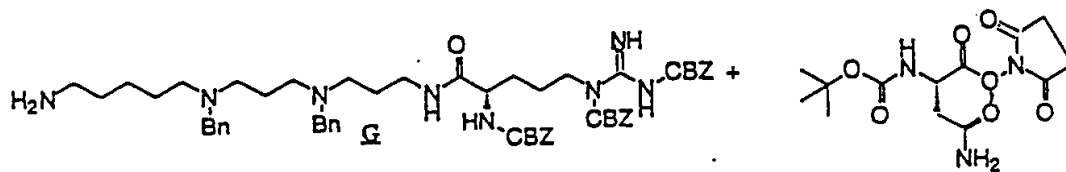
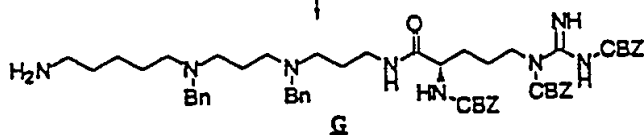
1. 溴丙基邻苯二甲酰亚胺
2. 肼



1. 溴丙基邻苯二甲酰亚胺
2. 肼



三氟乙酸



5

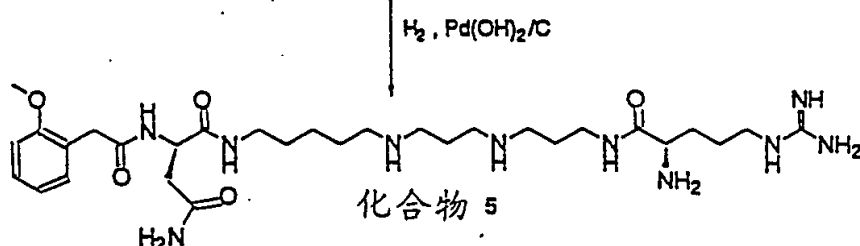
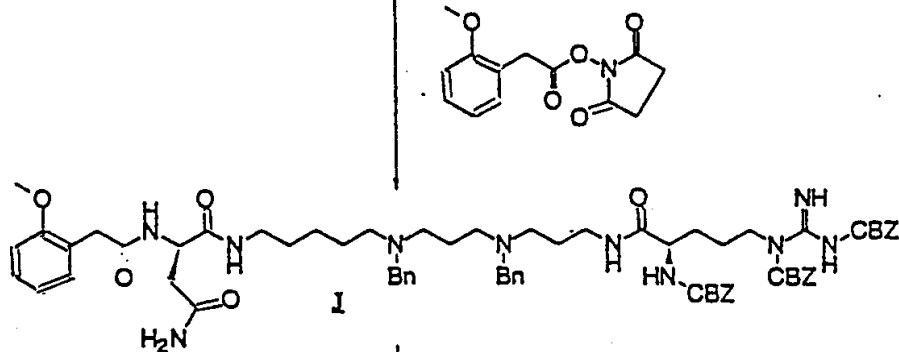
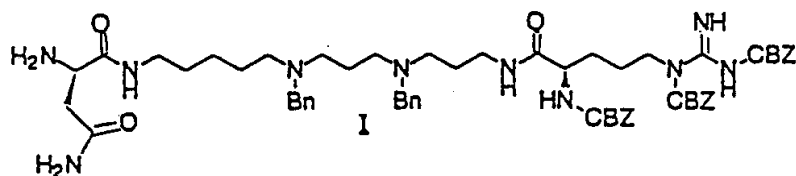
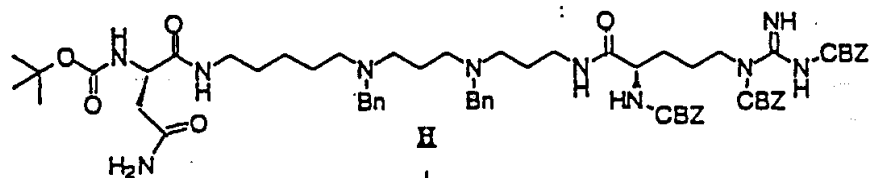
10

15

20

25

30



按以下方法合成化合物 9:

25 在 10 分钟内向 1,3 - 二氨基丙烷 (100g , 1.35mol) 的甲醇 (100ml) 溶液中滴加丙烯腈 (79g , 1.48mol) 。反应于室温搅拌 4 小时, 并浓缩至油状物。该物质在减压下蒸馏, 得 66g (39%) N - 氰乙基 - 1,3 - 二氨基丙烷 (A), 沸程 95 ~ 115 °C。

30 向 A (66g , 520mmol) 的二氯甲烷 (1L) 溶液中加入二碳酸二叔丁基酯 (250g , 1.14mol) 。反应于室温搅拌 16 小时。该过程后反应物用 1.0N NaOH (1 ×) 洗涤, 用无水碳酸钾干燥, 并浓缩至油状物。经色谱 (硅胶), 用己烷 ~ 乙酸乙酯 - 己烷 (1:1) 进行梯度洗脱, 得 73g , (43%) 产物 B。

B (73g , 222mmol) 和氢氧化钯 (Pd (OH)₂ , 10g , 20% Pd) 的乙酸 (750ml) 溶液在 55p.s.i 氢气压力和室温下氢化 4 小时。将

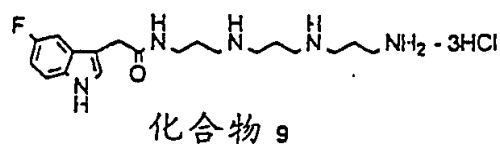
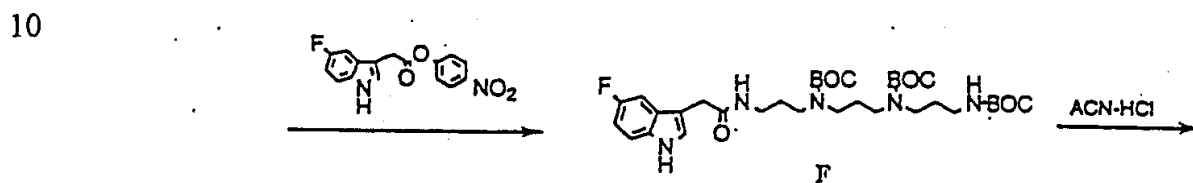
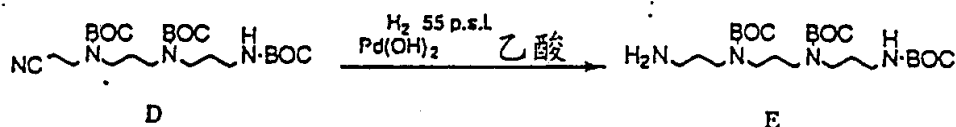
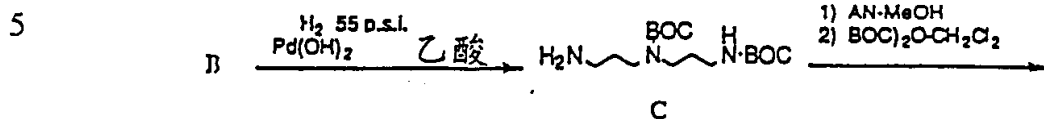
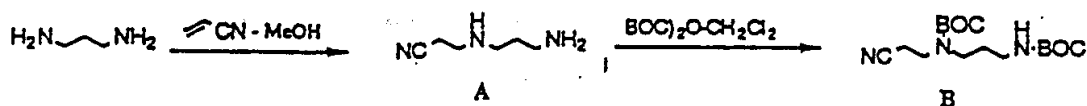
反应混合物过滤，催化剂用乙酸（3 × 100ml）洗涤。滤液和乙酸洗涤液合并，并浓缩至粘稠油状物。该物质在二氯甲烷（1L）和 1N NaOH（1L）之间平衡。分出有机层，经无水 K₂CO₃ 干燥并浓缩，得到 73.5g（100%）产物 C。

5 在 10 分钟内向 C（69.6g，210mmol）的甲醇（300ml）溶液中滴加丙烯腈（11.2g，211mmol），反应于室温搅 16 小时。该过程后将反应物浓缩至油状物。向该物质的二氯甲烷（300ml）溶液中加入二碳酸二叔丁基酯（46.1g，211mmol），反应于室温搅拌 16 小时。该过程后将反应混合物浓缩至油状物。经色谱（硅胶），用己烷~乙酸乙酯-己烷（1:1）进行梯度洗脱，得到 79.5g（77%）产物 D。

10 D（79.5g，162mmol）和氢氧化钯（Pd（OH）₂，4g，20% Pd）的乙酸（800ml）溶液在 55p.s.i 氢气压力和室温下氢化 4 小时。该过程后将反应混合物过滤，催化剂用乙酸（3 × 100ml）洗涤。滤液和乙酸洗涤液合并，并浓缩至粘稠油状物。该物质在二氯甲烷（1L）和 15 1N NaOH（1L）之间平衡。分出有机层，经无水碳酸钾干燥并浓缩，得到 79g（100%）产物 E。

E（1.4g，2.87mmol）、5-氟-吡啶-3-乙酸（507mg，2.62mmol）和 1-三羟基苯并三唑（858mg，6.35mmol）于 DMF（5ml）中混合，并与 DCC（594mg，2.88mmol）于氯仿（5ml）中反应。反
20 应混合物于室温搅拌 4 小时，之后将其过滤和浓缩。经色谱（硅胶），用二氯甲烷~甲醇~二氯甲烷（1:9）进行梯度洗脱，得到 1.1g（58%）产物 F。

25 在 1 分钟内向酰胺 F（1.1g，1.66mmol）的乙腈（36ml）溶液中滴加浓 HCl（4ml）。反应于室温搅拌 4 小时。将乙腈真空蒸发，粗产物溶于水直至总体积为 10ml。该物质以 10 等分试样（各 1ml）通过 Vyada RP（C₁₈，20 × 2.5cm 内径）色谱，用 0.1% HCl~乙腈（乙腈浓度变化为 0.6%/分），以 10ml/分速率进行梯度洗脱，于 280nm 处测量光密度，得到 483mg（80%）化合物 9。FABMS 分析表明（M⁺H）m/Z = 364。



按以下方法合成化合物 11:

将乙胺盐酸盐 (100g, 1.23mol) 的甲醇 (500ml) 溶液冷却至 0 °C, 并与三乙胺 (130g, 1.29mol) 反应, 随后与丙烯腈 (65.2g, 1.23mol) 反应。然后反应于室温并搅拌 16 小时。向其中加入二碳酸二叔丁基酯 (268g, 1.23mol) 的二氯甲烷 (300ml) 溶液。反应于室温搅拌 4 小时, 浓缩并溶于乙醚中。该液体依次用 10% HCl (3 ×), 0.1N NaOH (3 ×) 和盐水 (1 ×) 洗涤。乙醚部分经 K₂CO₃ 干燥并浓缩, 得到 220g (91%) 产物 A, 为油状物。GC-MS (R_t = 3.964 分钟) m/z (相对强度) 198 (M⁺, 2), 143 (7), 125 (27), 97 (31), 57 (100)。

A (50g, 253mmol) 和氢氧化钯 (Pd(OH)₂, 5g) 于乙酸 (300ml) 中的溶液在 70p.s.i 氢气压力和室温下氢化 16 小时。将反应物过滤, 催化剂用乙酸 (3 ×) 洗涤。滤液和乙酸洗涤液合并, 并浓缩至粘稠油状物。该物质溶于二氯甲烷 (500ml) 中, 加入 1N NaOH 直至平衡相的 pH 为碱性 (pH 14)。移出有机层, 经 K₂CO₃ 干燥并浓缩, 得到 39.06g (76%) 产物 B, 为油状物。

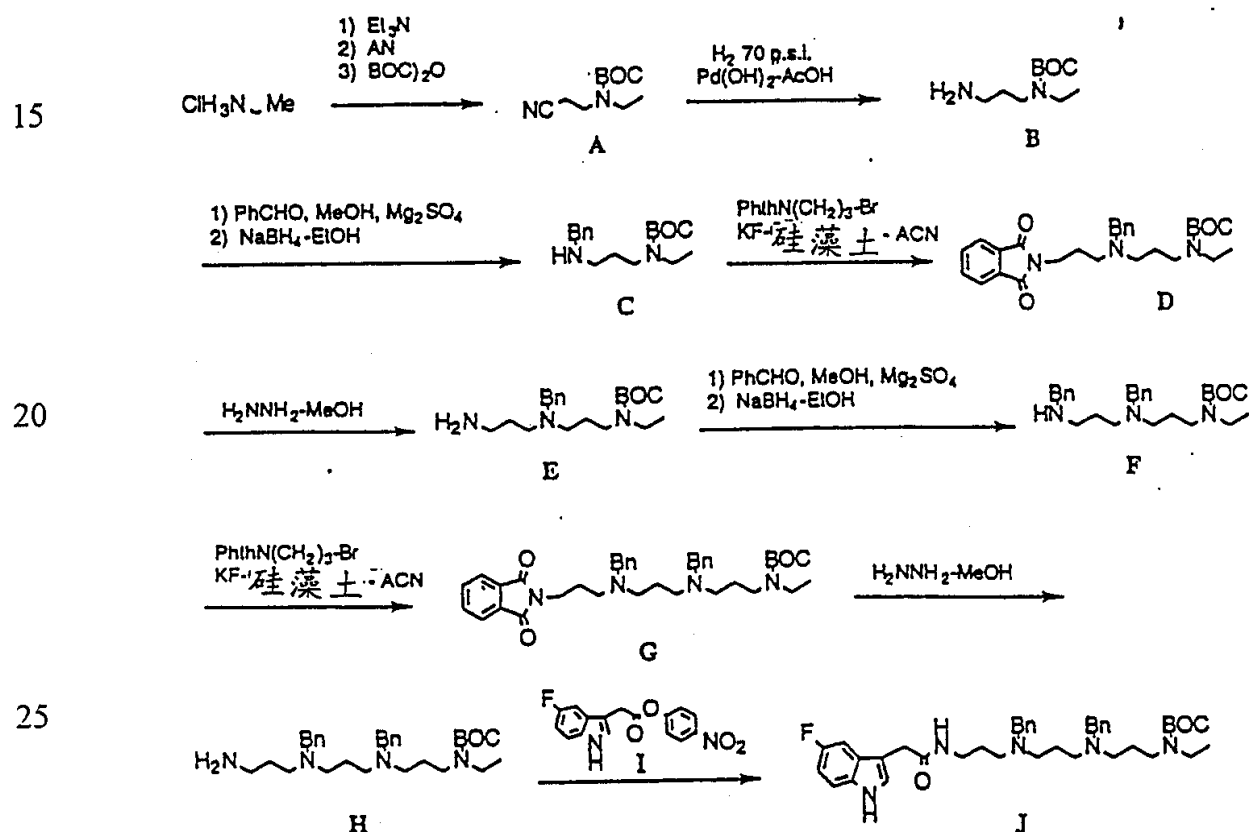
B (39.06g, 193.4 mmol)的甲醇 (50ml)溶液与苯甲醛 (20.5g, 193.4mmol) 和无水 $MgSO_4$ 反应。反应液于室温搅拌 8 小时, 将其直接倒入硼氢化钠 (7.3g, 193mmol) 的乙醇 (300ml) 溶液中。反应于室温搅拌 4 小时, 加入稀 HCl 并真空浓缩。酸性溶液用 1N NaOH 碱化, 将产物萃取入乙醚。乙醚层经干燥并浓缩, 得到 19.5g (35. %) 产物 C, 为油状物。

C (19.5g, 66.8mmol) 的乙腈 (100ml) 溶液与 N - (3 - 溴丙基) 邻苯二甲酰亚胺 (19.7g, 73mmol)、KF - 硅藻土 (8.5g, 50 % KF) 反应, 并回流 16 小时。然后将反应物过滤并浓缩, 得到中间体 D。该物质的甲醇 (500ml) 溶液与胍 (15ml) 反应并回流 4 小时。该过程后将反应物浓缩至白色固体, 并溶于乙醚 1N NaOH 中。移去水层, 留下的醚层用 1N NaOH (3 ×), 盐水洗涤, 并浓缩至油状物。经色谱(硅胶), 用氯仿 - 氯仿 - 甲醇 (9:1) 进行梯度洗脱, 得到 6.47g (28 %) 产物 E, 为澄清油状物。

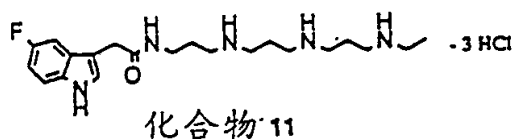
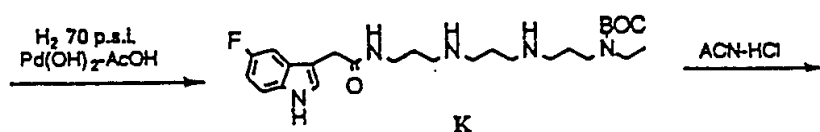
E (6.47g, 18.5mmol) 的甲醇 (50ml) 溶液与苯甲醛 (2.06g, 19.5 mmol) 和无水 $MgSO_4$ 反应, 并于室温搅拌 8 小时。之后将反应物直接倒入硼氢化钠 (1g, 26mmol) 的乙醇 (300ml) 溶液中, 并于室温搅拌 4 小时。加入稀 HCl 终止反应并浓缩。该物质混悬于乙醚中, 并加入 1N NaOH 直至 pH 14。分出乙醚层, 经 K_2CO_3 干燥并浓缩, 得到中间体 F (6.23g), 为油状物。该物质的乙腈 (50ml) 溶液与 N - (3 - 溴丙基) 邻苯二甲酰亚胺 (5.4g, 20mmol)、KF - 硅藻土 (2.3g) 反应, 并回流 16 小时。将反应物过滤并浓缩。含中间体 G 的该物质于甲醇 (300ml) 中与胍 (10ml) 反应并回流 4 小时。该过程后将反应物浓缩至白色固体, 并溶于乙醚-1N NaOH 中。移去水层, 留下的醚层用 1N NaOH (3 ×), 盐水洗涤, 并浓缩至油状物。经硅胶色谱, 用氯仿 - 氯仿 - 甲醇 (9:1) 进行梯度洗脱, 得到 4.5g (49 %) 产物 H, 为澄清油状物。

5 - 氟 - 3 - 吡啶乙酸 (2g, 10.4mmol) 和对硝基苯酚 (1.6g, 11.6mmol) 于氯仿 - DMF (100:1, 200ml) 中的溶液与 DCC (2.18g, 10.6mmol) 反应, 反应于室温搅拌 16 小时, 将含活性酯 I 的反应混合物直接过滤到搅拌的 H (4.5g, 9mmol) 溶液中。该反应于室温搅拌 4 小时, 并倒入 300ml 乙醚中。乙醚层用 1N NaOH (6 ×)、盐水洗涤、

干燥并浓缩，得到油状固体。该物质经小量硅胶填料色谱，用氯仿-甲醇洗脱，得到中间体 J。该物质和催化量的氢氧化钯 ($\text{Pd}(\text{OH})_2$) 于乙酸 (200ml) 中的溶液在 60p.s.i 氢气压力和室温下氢化 2 小时。将反应物过滤，催化剂用乙酸 (3 ×) 洗涤。滤液和洗涤液合并，浓缩，得到 K，为粘稠的油状物。该物质的乙腈 (20ml) 溶液与浓 HCl (2ml) 反应，反应物在氮气和室温下搅拌 2 小时。将反应物过滤，沉淀 (粗品化合物 11) 溶于 5ml H_2O 。浓缩的产物用 UV 法于 233nm 处测定。RP HPLC 分析表明产物纯度为 91%。该物质的一部分 (以 100 μl 的等分试样) 通过 Vydac RP (C_{18} , 25 × 2cm) 色谱，用 0.1% HCl - 乙腈 (乙腈浓度变化为 1%/分)，以 10ml/分速率进行梯度洗脱，于 280nm 处测量光密度，得到纯的化合物 11。UV 最大 (0.1% TFA) 284nm (ϵ_{6140})。



30



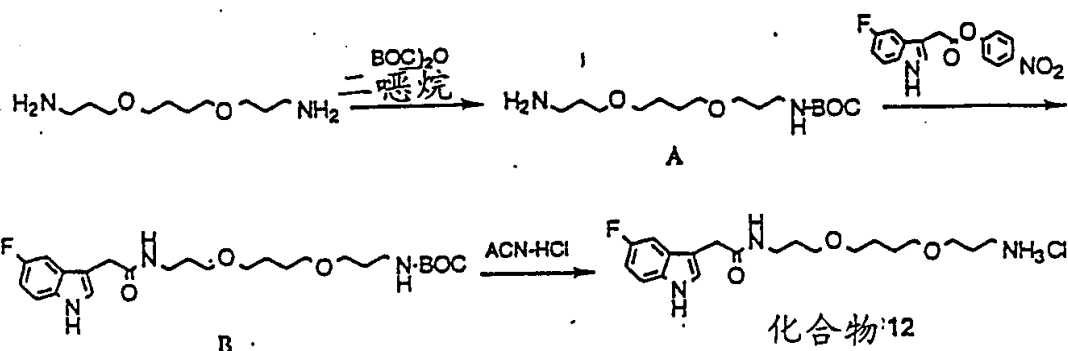
按以下方法合成化合物 12:

10 在 60 分钟内, 向 4, 9 - 二氧杂 - 1, 12 - 十二烷二胺 (50g , 245mmol) 的二噁烷 (500ml) 溶液中滴加二碳酸二叔丁基酯 (5.88g , 27mmol) 的二噁烷 (300ml) 溶液。反应于室温搅拌 24 小时, 并浓缩至白色固体。该物质在水 - 己烷之间进行分配。有机和含水部分的 GC - MS 分析表明, 己烷部分有二 - 加成产物和化合物 A, 含水部分起始的二胺。分离水层并用乙醚洗涤。GC - MS 分析表明, 乙醚层中有产物 A, 水层中有起始的二胺。分离乙醚层, 经硫酸钠干燥并浓缩, 得到 10.2g (14 %) 产物 A, 为澄清油状物。GC - EIMS ($R_t = 8.86$ 分钟) m/z (相对强度) 205 (M^+ 1, 5), 148 (59), 130 (16), 114 (17), 100 (16), 74 (61), 58 (100)。

20 5 - 氟 - 吲哚 - 3 - 乙酸 (2g, 10.4mmol) 和对硝基苯酚 (1.73g, 12.4mmol) 于氯仿 - DMF (75 : 1, 125ml) 中的溶液与 DCC (2.25g, 10.9mmol) 反应, 反应于室温搅拌 24 小时, 然后将其直接过滤 (除去 DCU) 到搅拌的 A (5.2g, 17.1mmol) 于氯仿 (100ml) 的溶液中。之后加入三乙胺 (2g, 20mmol), 反应于室温搅拌 4 小时。将该溶液加到乙醚 (600ml) 中。并用 1N NaOH ($6 \times 100\text{ml}$)、10 % HCl ($1 \times 100\text{ml}$) 和盐水洗涤。有机层经干燥 (硫酸钠) 和浓缩, 得到澄清的油状物。经硅胶色谱; 用氯仿 - 甲醇 (50 : 1) 洗脱, 得到 4.93g (99 % , 按吲哚计算) 产物 B, 为澄清油状物。

30 化合物 B (4.93g, 10.3mmol) 的乙腈 (50ml) 溶液与浓 HCl (5ml) 反应, 溶液于室温搅拌 4 小时。真空蒸发溶剂, 冷冻干燥脱水, 得到化合物 12 (5.26g, 99 %), 为粘稠的油状物。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 游离碱) δ 9.92 (1H, br s), 7.30 (1H, dd, $J=9$ Hz, $J=4$ Hz), 7.20 (1H, dd, $J=9$ Hz, $J=2$ Hz), 7.19 (1H, s), 6.94 (1H, dt, $J=9$ Hz, $J=2$), 6.30 (1H, br t), 3.67 (2H, s), 3.56 (2H, t, $J=6$ Hz), 3.40 (2H, t, $J=6$ Hz), 3.32 (4H, br t, $J=6$ Hz), 3.10 (2H, t, $J=7$ Hz), 2.88 (2H, t, $J=7$ Hz), 1.79 (2H, p, $J=6$ Hz), 1.72 (2H, br m), 1.64 (2H, p, $J=6$ Hz), 1.44 (2H, m), 1.36 (2H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 游离碱) δ 171.2, 125.7, 112.1, 112.0, 110.8, 110.4, 104.4, 103.8, 103.5, 71.0, 70.9, 70.0, 69.4, 39.9, 38.5, 33.4, 32.9, 28.8, 26.5, 26.4.



按上述的一般方法合成化合物 13 - 18

实施例 29. 简化了的芳基烷基胺的合成

按以下方法合成化合物 20:

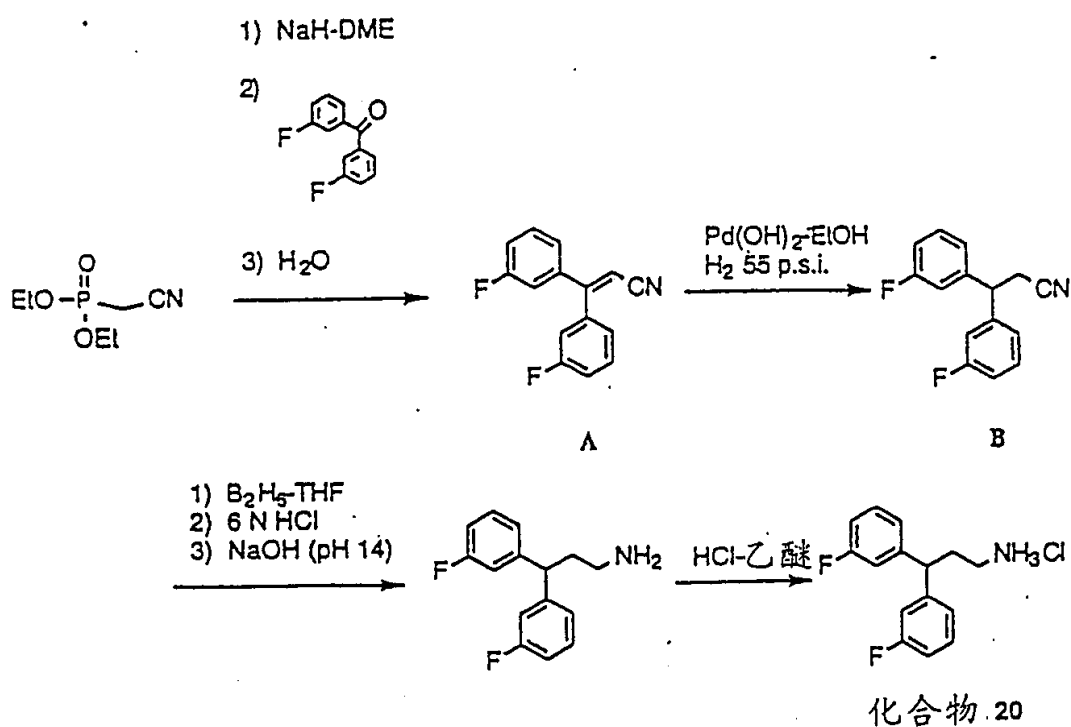
20 氯化钠 (1.21g, 50mmol) 的二甲氧基乙烷溶液与氟基甲基磷酸二乙酯 (8.86g, 50mmol) 反应, 反应于室温搅拌 4 小时。向其中加入 3, 3'-二氟二苯甲酮 (10g, 46mmol) 的 DMF 溶液。反应于室温搅拌 24 小时, 加入 H_2O , 并在乙醚和水之间进行分配。乙醚部分经 Na_2SO_4 干燥并浓缩。该物质的 GC - MS 分析表明 90% 为产物 A, 10% 为起始的二苯甲酮。

25 该物质的乙醇溶液与催化量的 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 在 55p.s.i 氢气压力和室温下氢化 4 小时。将反应物过滤, 催化剂用乙醇 (3x) 洗涤。滤液和乙醇洗涤液合并, 并浓缩。该物质的 GC - MS 分析表明 90% 为产物 A, 10% 为起始的二苯甲酮。

30 该物质的 THF 溶液与 70ml 1M B_2H_6 (70mmol) 于 THF 中反应, 并回流 1 小时。冷却后反应物与 6N HCl (50ml) 反应, 并回流另外的 1 小时。冷却后反应物用 10N NaOH 碱化至 pH 14, 并用乙醚平衡。移出乙醚层并用 10% HCl (3x) 洗涤。将酸性洗涤液合并, 用 10N

NaOH 碱化至 pH 14，并用二氯甲烷 (3 ×) 萃取。将有机洗涤液合并，经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩，得到一油状物。该物质的 GC - MS 分析表明 100 % 化合物 20。GC - EIMS (R_t = 7.11 分钟) m/Z (相对强度) 247 (M⁺, 31), 230 (100), 215 (30), 201 (52), 183 (63), 134 (23), 121 (16), 101 (21), 95 (15), 77 (15)。将该物质的乙醚溶液过滤，并与 35ml 1M HCl 于乙醚中反应。收集沉淀、干燥并用水 - 乙醇重结晶，得到 1.045g 化合物 20，为盐酸盐。

¹H-NMR (CDCl₃) δ 8.28 (3H, br s), 7.28-7.17 (2 H, m), 7.02-6.86 (6 H, m), 4.11 (1H, t, J=8 Hz), 2.89 (2H, br t, J=8 Hz), 2.48 (2H, br t, J=7 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ 164.6, 161.3, 144.8, 144.7, 130.4, 130.3, 123.3, 123.2, 114.7, 114.5, 114.1, 113.8, 47.4, 38.4, 32.7.



按以下方法合成化合物 21、化合物 33 和化合物 34

向装有搅拌棒、分液漏斗和氩气源的 100ml 园底烧瓶中加入化合物 1 (2.43g, 10mmol) 和 30ml THF。溶液冷却至 -78 °C，并滴加 11ml 1M (THF) 双(三甲基甲硅烷基)氨基化锂 (11mmol)。反应于 -78 °C 搅拌 30 分钟，并滴加过量的碘甲烷 (50mmol, 3.1ml)。反应于 -58 °C 搅拌 30 分钟。反应液等分试样的 GC - EI - MS 分析表明了

起始腓 1 的消耗量。

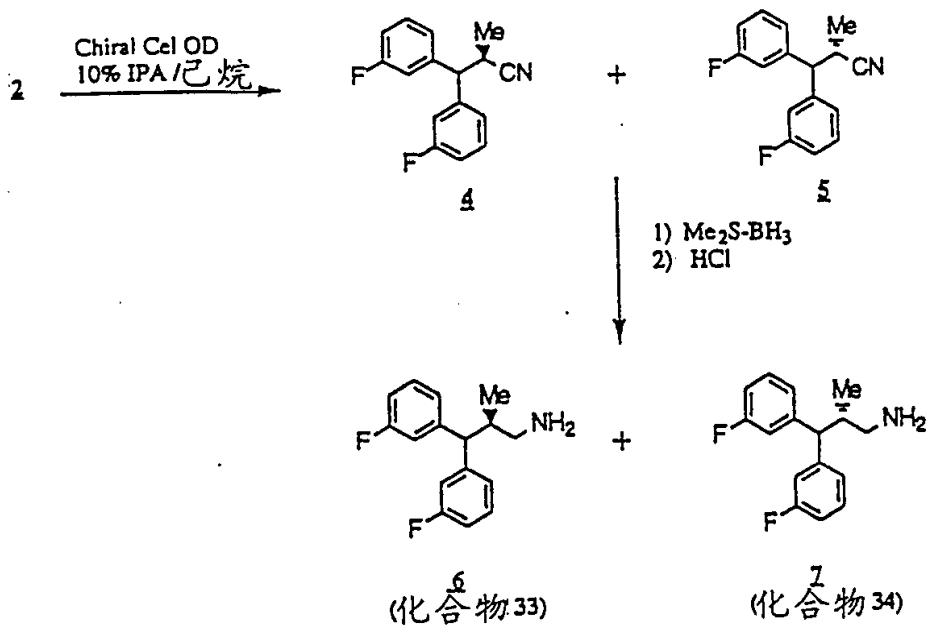
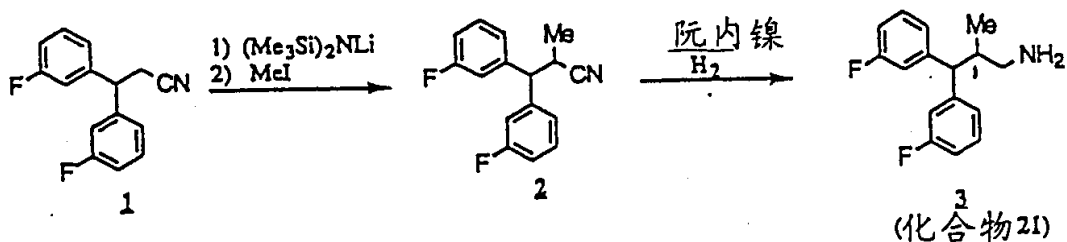
加水终止反应，用乙醚稀释并转移到分液漏斗中。乙醚层依次用 10 % HCl (3 ×)，盐水 (1 ×) 洗涤，经无水 MgSO₄ 干燥并浓缩至棕色油状物。将该物质减压蒸馏 (Kugelrohr, 100 °C)，得到 1.5g 澄清油状物。该物质 GC - EI - MS 分析表明含所需的产物 2

(R_t=7.35 min) m/z (rel. int.) 257 (M⁺, 3), 203 (100), 183 (59), 170 (5), 133 (4), 109 (3); ¹H-NMR (CDCl₃) 7.4-6.9 (8H, m), 4.01 (1H, d, J=10 Hz), 3.38 (1H, dq, J=7, 10 Hz), 1.32 (3H, d, J=7 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃) 19.4, 30.5, 54.2, 114.5, 114.6, 114.7, 114.9, 115.0, 115.3, 123.3, 123.4, 123.6, 123.7, 130.5, 130.6, 131.7.

在 60p.s.i 氢气压力下，用阮内镍将化合物 2 于 95:5 EtOH: 氢氧化钠水溶液 (2 相当量) 中催化还原，合成产物 3。GC-EI-MS (R_t=7.25 min) m/z (rel. int.) 261 (M⁺, 20), 244 (35), 229 (16), 215 (17), 201 (80), 183 (100), 133 (42), 115 (27), 109 (47), 95 (20); ¹H-NMR (CDCl₃) 7.3-6.8 (8H, m), 3.62 (1H, d, J=10 Hz), 2.70 (1H, m), 2.40 (2H, m), 1.73 (2H, m), 0.91 (3H, d, J=7 Hz)。注意在该反应顺序中产物 3 相应于化合物 21。

从产物 2 的 10 % IPA - 己烷溶液 (100mg/ml) 中取 500 μl 等分试样，通过 Chiral Cel OD (2.0 × 25cm) 进行色谱，用 10 % IPA - 己烷以 10ml/分的速度洗脱，于 254nm 处测量光密度。得到 2 个光学纯的对映体 4 和 5 (用手性 HPLC 分析确定; 注意，这 2 个化合物的立体化学未确定)。这 2 个化合物的 GC - EI - MS 和 ¹H - NMR 谱与产物 2 (上述数据) 是一致的。

按以下方法，用二甲硫醚 - 甲硼烷复合物将对映体 4 和 5 的每一个分别还原。化合物 (4 或 5) 的 THF 溶液加热回流，并与过量 (2 相当量) 的 1M (于 THF 中) 二甲硫 - 甲硼烷复合物反应，反应回流 30 分钟。之后，反应物冷却至 0 °C 并与 6N HCl 反应。将反应回流 30 分钟。随后反应物转移到分液漏斗中，用 10N NaOH 碱化至 pH>12，并将产物 (6 或 7) 萃取到乙醚中。乙醚层用盐水洗涤，经无水 MgSO₄ 干燥并浓缩至油状物。产物经 Prep - TLC 纯化，用 5 % 甲醇 - 氯仿洗脱。发现每个对映体 (6 和 7) 的 GC - EI - MS 和 ¹H - NMR 谱与产物 3 (上述数据) 是一致的。注意在本反应路线中产物 6 和 7 相应于化合物 33 和 34。



按以下所述方法合成化合物 22。用类似方法合成化合物 23。

20 将三乙基膦酰乙酸酯 (17.2g , 76.8mmol) 缓慢地加到氢氧化钠 (3.07g , 76.8mmol) 于 350ml N,N -二甲基甲酰胺的混悬液中。15 分钟后向溶液中加入 3,3'-二氟二苯甲酮 (15.2g , 69.8mmol), 并搅拌另外的 18 小时。向反应混合物中加水, 并在水和乙醚之间进行分配。合并的有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥。真空蒸发溶剂, 得到 19.7g 3,3-双(3-氟苯基)丙烯酸乙基酯, 为黄色油状物。

25 向 3,3-双(3-氟苯基)丙烯酸乙基酯 (19.7g , 68.4mmol) 于 200ml 乙醇的溶液中加入氢氧化钯 ($\text{Pd}(\text{OH})_2$) - 炭 (3.5g)。混合物在 60p.s.i 氢气压力下振摇 3 小时, 然后过滤并真空蒸发, 得到 19.5g 产物 A, 为无色油状物。

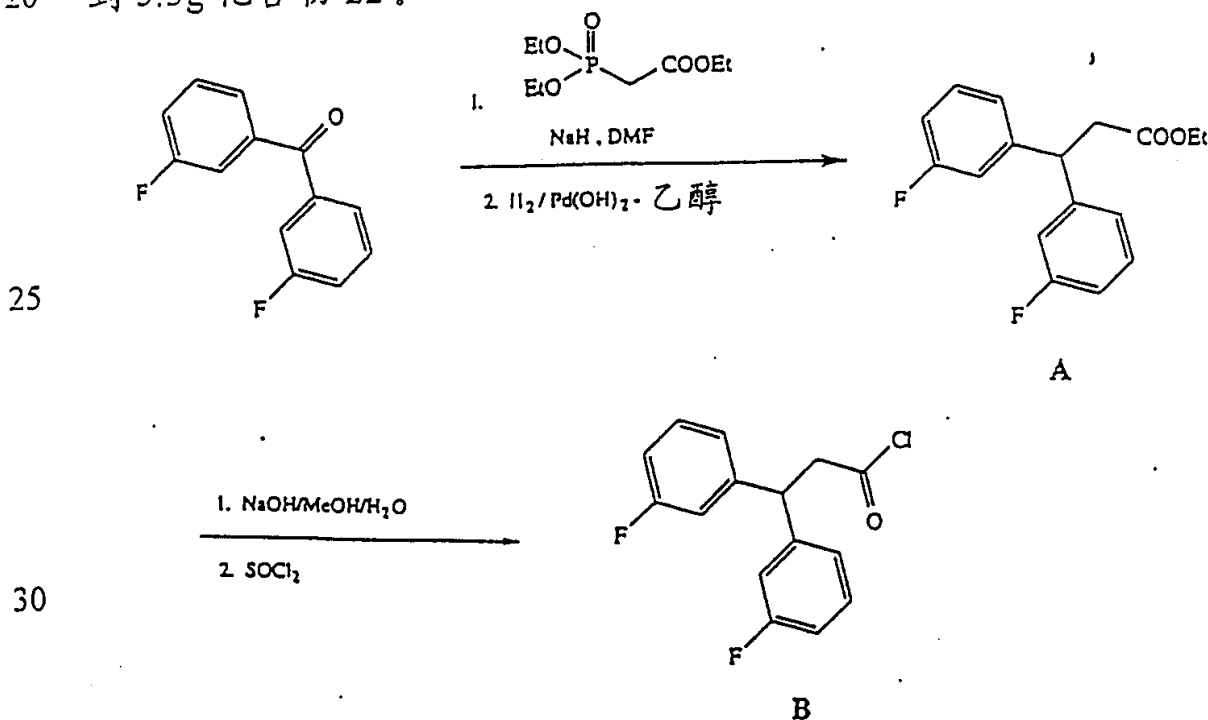
30 将乙基酯 A (19.2g) 与 50ml 10N 氢氧化钠经搅拌 6 天进行水解。然后反应混合物用 50ml 水稀释, 并用浓 HCl 酸化至 pH 0。含水混合物用乙醚萃取 3 次, 乙醚萃取液经硫酸镁干燥并蒸发, 得到 3,3-双(3-氟苯基)丙酸, 为白色粉末。

3,3 - 双 (3 - 氟苯基) 丙酸 (13g , 49.6mmol) 溶于 50ml (685mmol) 亚硫酸氯中, 并于室温搅拌过夜。过量的亚硫酸氯在旋转蒸发器上真空蒸除, 得到 13.7g 产物 B, 为黄色油状物。

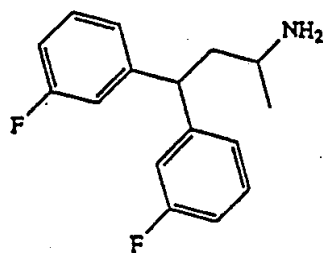
向酰基氯 B (13.7g , 49mmol) 溶于 100ml 无水 THF 的溶液中加入乙酰丙酮铁 (III) (0.52g , 1.47mmol)。然后在 1 小时内通过注入泵加入氯化甲基镁 (16.3ml , 49mmol)。反应搅拌另外的 1 小时, 然后倾倒入乙醚/5 % HCl 中。分离乙醚层并用 5 % HCl 和饱和 NaCl 洗涤, 经硫酸钠干燥。真空蒸发溶剂, 得到 4,4 - 双 (3 - 氟苯基) - 2 - 丁酮, 为黄色油状物。粗品油状物经硅胶纯化, 用庚烷/乙酸乙酯为洗脱剂。

向 4,4 - 双 (3 - 氟苯基) - 2 - 丁酮 (5.7g , 21.9mmol) 的 25ml 乙醇溶液中加入吡啶 (1.91g , 24.1mmol) 和甲氧基胺盐酸盐 (2.01g , 24.1mmol)。反应于室温搅拌过夜, 然后倾倒入乙醚/5 % HCl 中。分离乙醚层。用 5 % HCl 和饱和 NaCl 洗涤, 经硫酸钠干燥。真空蒸发溶剂, 得到 6.26g , 4,4 - 双 (3 - 氟苯基) - 2 - 丁酮的 O - 甲基肟。

向硼氢化钠 (4.1g , 108.3mmol) 的 15ml THF 溶液中缓慢地加入四氯化锆 (6.31g , 27.1mmol)。将该混合物搅拌 15 分钟, 然后在 5 分钟内加入肟 (6.26g , 21.7mmol) 的 6ml THF 溶液。于室温搅拌 3 小时后, 向反应物中缓慢地加入 50mM 氢氧化钠, 随后加入乙醚。水层用乙醚萃取 4 次, 合并的乙醚萃取液经硫酸钠干燥。真空蒸发溶剂, 得到 5.3g 化合物 22。



5

1. $\text{Fe}(\text{Acac})_3, \text{MeMgBr}$ 2. $\text{H}_2\text{N}-\text{OMe}$, 吡啶3. $\text{NaBH}_4 / \text{ZnCl}_2, \text{THF}$ 

化合物 22

按以下所述方法合成化合物 24。用类似方法制备化合物 25 - 29。

10 向镁屑 (0.95g, 39.2mmol) 于 150ml 无水乙醚的混悬液中通过注射管滴加 1 - 溴 - 3 - 氟苯 (6.83g, 39.2mmol)。1.5 小时后, 于 0 °C 将溶液经套管转移到含邻茴香醛 (5.0g, 36.7mmol) 和 100ml 无水乙醚的烧瓶中, 并搅拌 2 小时。向反应混合物中加水, 并在水和乙醚之间进行分配。合并的有机层用盐水洗涤并经无水硫酸镁干燥, 得到 7.90g

15 (产率 93%) 产物 A。

向醇 A (7.90g, 34.0mmol) 的 100ml 二氯甲烷溶液中加入二铬酸吡啶鎓 (16.0g, 42.5mmol), 反应液搅拌 12 小时。向反应混合物中加入 300ml 乙醚, 将黑色溶液经 30cm 硅胶填料过滤, 并用另外的 500ml 乙醚洗涤。真空蒸发溶剂后, 固体用丙酮重结晶, 得到 7.45g (产率 95%

20 %) 产物 B。

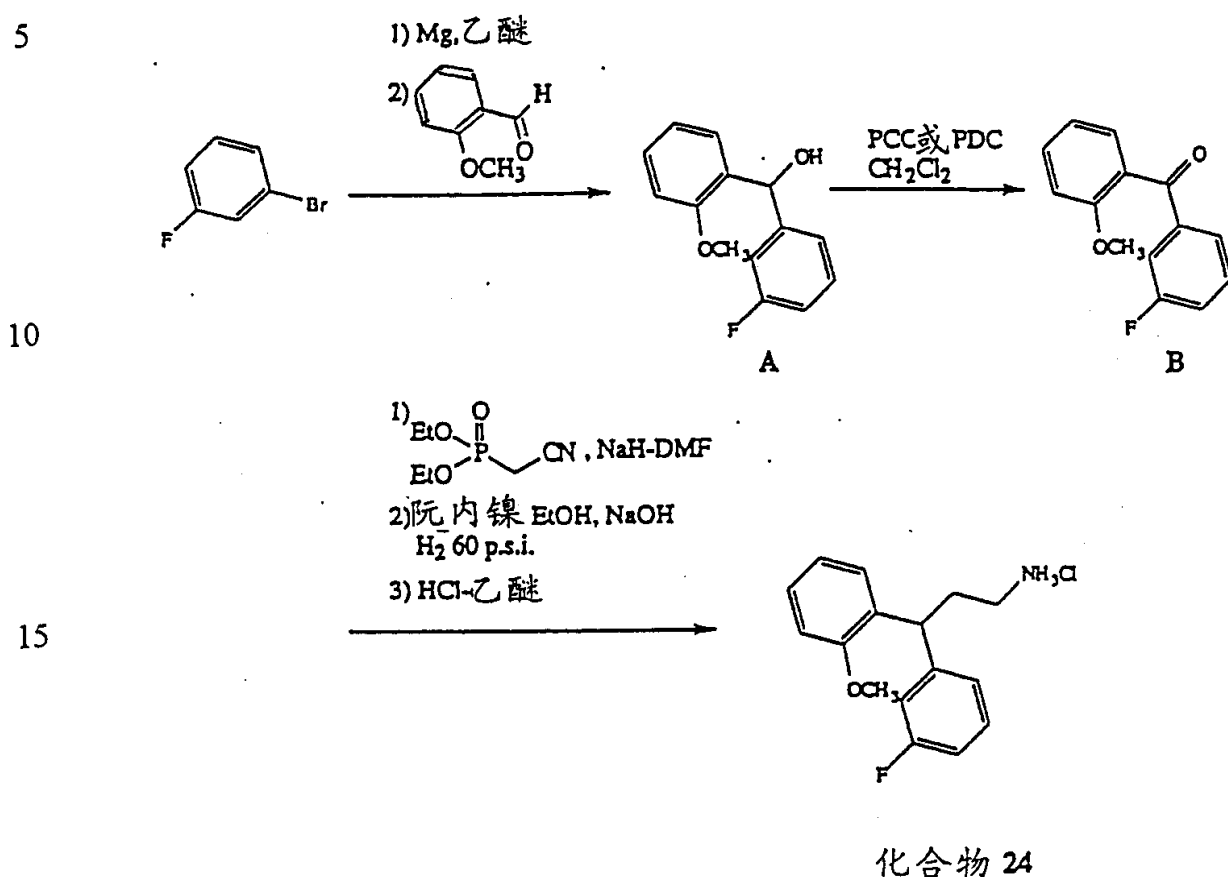
向氢化钠 (1.58g, 39.5mmol) 于 100ml N,N -二甲基甲酰胺的混悬液中缓慢地加入氟基甲基膦酸二乙酯 (7.0g, 39.5mmol)。30 分钟后向溶液中加入酮 B 并搅拌另外的 2 小时。向反应混合物中加入水, 并在水和乙醚之间分配。合并的有机层用盐水洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。真空蒸发溶剂, 得到淡黄色油状物。

25

在玻璃氢化瓶中, 将油状物溶于 100ml 乙醇和 20ml 10N NaOH 中。催化量的阮内镍悬浮于水中 (约 15mol%) 并加到上述溶液中。反应混合物在帕尔氢化器内于 60p.s.i 氢气压力下振摇 12 小时。滤除过量的阮内镍以后, 溶液用氯仿萃取。合并的有机层用盐水洗涤并经无水硫酸

30 镁干燥。过滤后, 油状物于氯仿和甲醇中通过硅胶柱。真空蒸发溶剂, 得到淡黄色油状物。GC - EIMS ($R_t = 8.10$ 分钟) m/z (相对强度) 259 (100), 242 (44), 213 (48), 183 (42), 136 (50),

109 (94) , 91 (60) , 77 (25) 。然后油状物用氯化氢的乙醚溶液酸化。蒸发乙醚, 得到淡黄色固体, 在热乙腈中重结晶, 得到 3.45g (产率 42.1 %) 化合物 24, 为白色针状物。



20

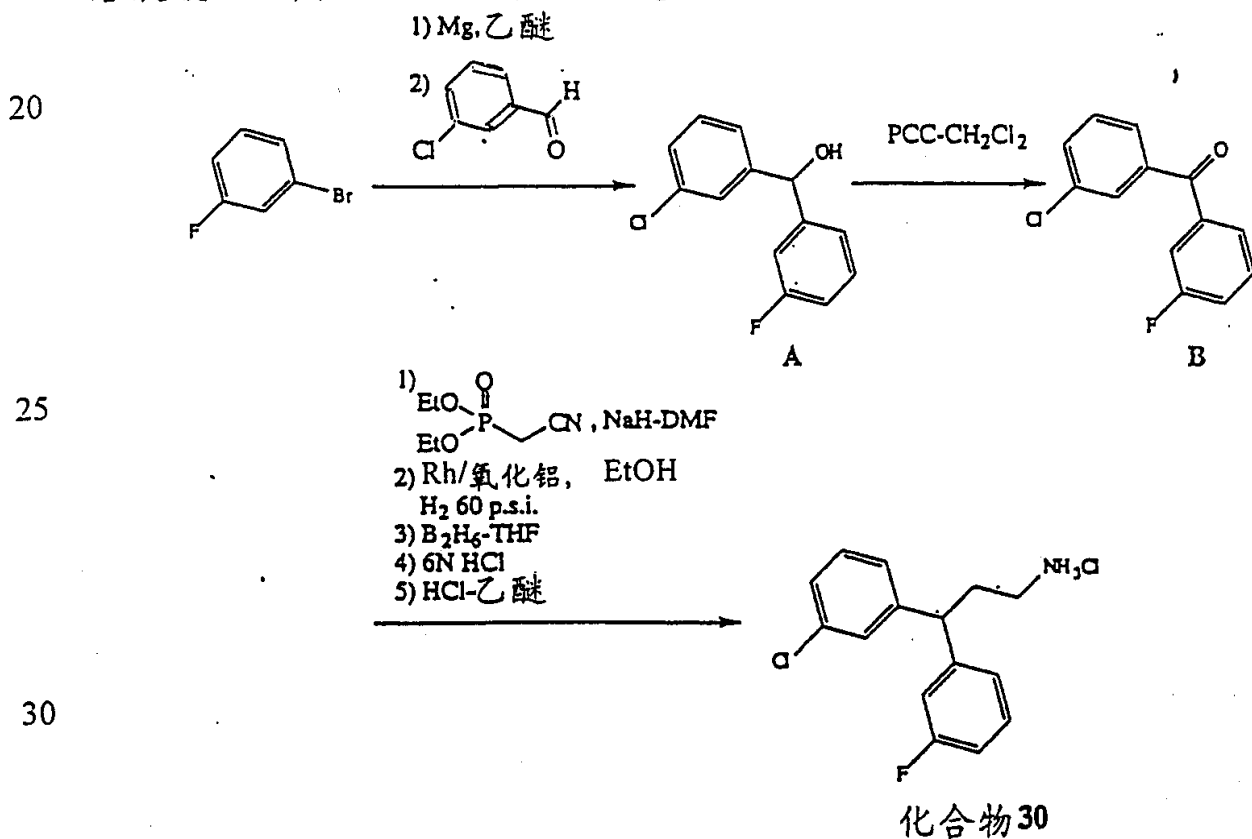
按下述方法合成化合物 30, 用类似方法制备化合物 31。

25 向镁屑 (0.95g, 39.1mmol) 于 150ml 无水乙醚的混悬液中通过注射管滴加 1 - 溴 - 3 - 氟苯 (6.85g, 39.1mmol) 。 1.5 小时后, 于 0 °C 将溶液经套管转移到含 3 - 氟苯甲醛 (5.0g, 35.6mmol) 和 100ml 无水乙醚的烧瓶中, 并搅拌 2 小时。向反应混合物中加水, 并在水和乙醚之间进行分配。合并的有机层用盐水洗涤并无水硫酸镁干燥, 得到 8.40g (产率 > 99 %) 产物 A。

30 向醇 A (8.40g, 35.5mmol) 的 100ml 二氯甲烷溶液中加入氯铬酸吡啶盐 (15.0g, 39.8mmol) , 并搅拌 18 小时。向反应混合物中加入 300ml 乙醚, 将黑色溶液经 30cm 硅胶填料过滤, 并用另外的 500ml 乙醚洗涤。蒸发溶剂后, 固体用丙酮重结晶, 得到 6.31g (产率 76 %) 产物 B。

向氢氧化钠 (1.2g, 29.6mmol) 于 100ml N, N - 二甲基甲酰胺的混悬液中缓慢地加入氰基甲基膦酸二乙酯 (5.2g, 29.6mmol)。30 分钟后向溶液中加入酮 B 并搅拌另外的 6 小时。向反应混合物中加入水, 并在水和乙醚之间分配。合并的有机层用盐水洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。真空蒸发溶剂, 得到黄色油状物。

在玻璃氯化瓶中, 将油状物溶于 100ml 乙醇和 20ml 10N NaOH 中。催化量的铑混悬于氧化铝 (约 35mol %) 中并加到上述溶液中。反应混合物在帕尔氢化器内于 60p.s.i 氢气压力下振摇 24 小时。滤除过量的铑以后, 溶液用氯仿萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。过滤后, 真空蒸发溶剂, 油状物溶于 100ml 四氢呋喃中。加入乙硼烷 (23.4ml, 1.0M), 溶液回流 1.5 小时。真空蒸发溶剂, 小心地加入 50ml 6N HCl。将溶液回流 1 小时。冷却后, 混合物用 10N NaOH 碱化至 pH 14, 并在二氯甲烷和水之间分配。合并的有机层经无水硫酸镁干燥并过滤。蒸发溶剂后, 黄色油状物于氯仿和甲醇中通过硅胶柱。真空蒸发溶剂, 得到黄色油状物。GC - EIMS ($R_t = 8.15$ 分钟) m/z (相对强度) 263 (17), 246 (21), 211 (84), 196 (33), 183 (100), 165 (19), 133 (19)。然后油状物用氯化氢的乙醚溶液酸化。蒸发乙醚, 得到 0.96g 化合物 30, 为白色固体。



按下述方法合成化合物 35。用类似方法制备化合物 36 - 37。

于 0 °C，向 3 - 氟苯甲醛 (3.0g, 24.2mmol) 的 150ml 乙醚溶液中经注射管加入 3.0M 氯化乙基镁 (12.7ml, 25.4mmol) 的四氢呋喃溶液。4 小时后向反应混合物中加水，并在水和乙醚之间分配。合并的有机层用盐水洗涤并经无水硫酸镁干燥，得到 4.25g 产物 A。

向 A 的 100ml 二氯甲烷溶液中加入氯铬酸吡啶鎓 (6.53g, 30.3mmol)，并搅拌 18 小时。向反应混合物中加入 300ml 乙醚，将黑色溶液经 30cm 硅胶填料过滤，并用另外的 500ml 乙醚洗涤。蒸发溶剂后，固体用丙酮重结晶，得到 3.05g 产物 B。真空蒸发溶剂，得到淡黄色油状物。

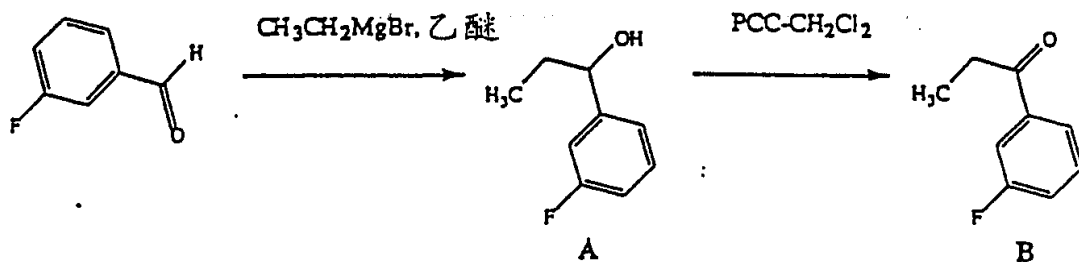
向氢氧化钠 (1.1g, 26.4mmol) 于 100ml N, N - 二甲基甲酰胺的混悬液中缓慢地加入氨基甲基膦酸二乙酯 (4.7g, 26.4mmol)。30 分钟后向溶液中加入酮 B 并搅拌另外的 6 小时。向反应混合物中加入水，并在水和乙醚之间分配。合并的有机层用盐水洗涤，并经无水硫酸镁干燥。真空蒸发溶剂，得到黄色油状物。

在玻璃氢化瓶中，将油状物溶于 100ml 乙醇和 20ml 10N NaOH 中。催化量的阮内镍混悬于水 (约 15mol %) 中并加到上述溶液中。反应混合物在帕尔氢化器内于 60p.s.i 氢气压力下振摇 24 小时。滤除过量的阮内镍后，溶液用氯仿萃取。合并的有机层用盐水洗涤，并经无水硫酸镁干燥。过滤后，油状物于氯仿和甲醇中通过硅胶柱。真空蒸发溶剂，得到淡黄色油状物。GC - EIMS ($R_t = 3.45$ 分钟) m/z (相对强度) 167 (4), 150 (63), 135 (58), 109 (100), 96 (53), 75 (48)。然后油状物用氯化氢的乙醚溶液酸化。蒸发乙醚，得到淡黄色固体，该固体用热的乙腈重结晶，得到 2.2g 化合物 35。

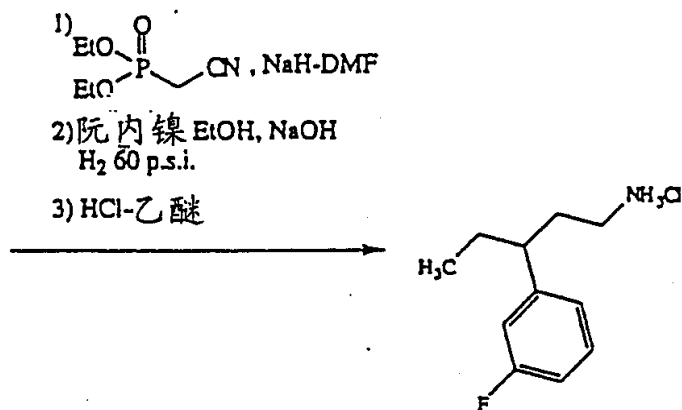
25

30

5



10



化合物 35

15 按下述方法合成化合物 38。

于 -70°C ，向 3,3-双(3-氟苯基)丙腈 (1.5g, 6.17mmol) 的 250ml THF 溶液中通过注射管加入丁基锂 (4.25ml 己烷溶液, 6.8mmol)，5 分钟内加完。该溶液搅拌 5 分钟，然后在 1 分钟内加入甲基碘 (1.75g, 12.3mmol)。将反应混合物温热至室温。用乙醚稀释，并用 5% HCl 和水洗涤。乙醚层经硫酸钠干燥并蒸发，得到 1.5g 甲基化的腈，为黄色油状物。

20

于 0°C ，向 3,3-双(3-氟苯基)-2-甲基丙腈 (1.46g, 5.7mmol) 的 50ml 二氯甲烷溶液中通过注射管加入氢化二异丁基铝 (1.02ml, 5.7mmol)，10 分钟内加完。反应液于 0°C 搅拌 30 分钟，随后于室温搅拌另外的 2 小时。向反应液中加入 200ml 10% HCl，并于 40°C 搅拌 30 分钟，随后用二氯甲烷萃取产物。有机层经硫酸钠干燥并蒸发，得到 1.36g 产物 A。

25

于 0°C ，向醛 A (1.36g, 5.23mmol) 的 40ml 乙醚溶液中加入溴化甲基镁 (5.23ml 乙醚溶液, 5.23mmol)。反应于室温搅拌 3 小时，然后加入稀 HCl 终止反应。分离乙醚层，经硫酸钠干燥并蒸发，得到 1.48g 4,4-双(3-氟苯基)-3-甲基丁-2-醇。

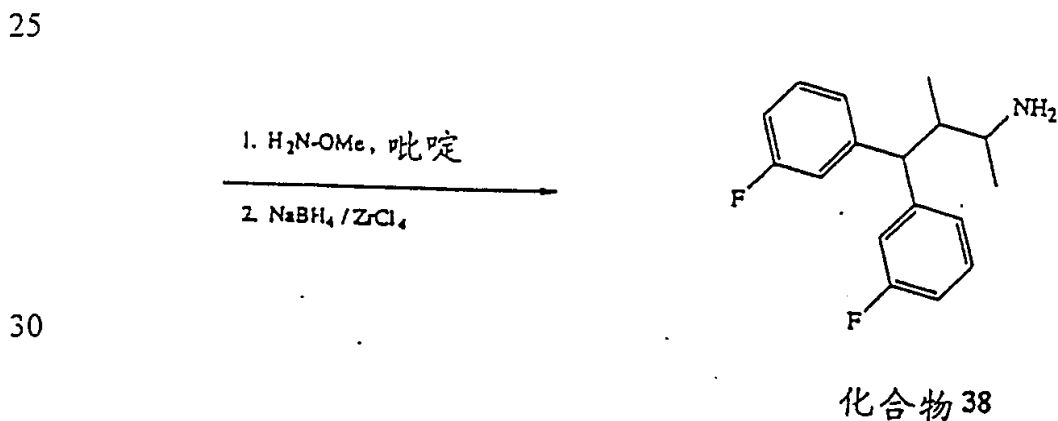
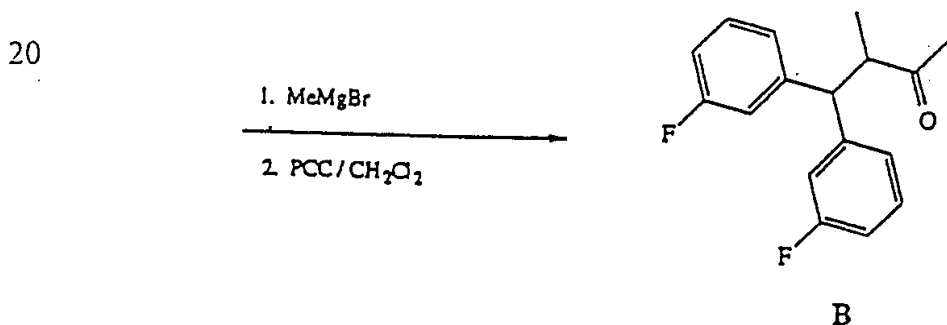
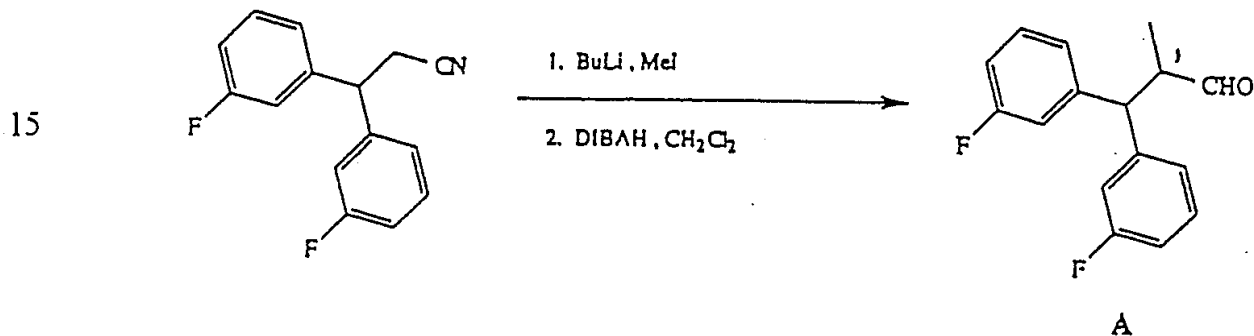
30

向醇 (1.4g, 5.07mmol) 的 300ml 二氯甲烷溶液中加入氯铬酸吡

吡啶 (1.2g, 5.58mmol), 将混合物搅拌过夜。然后反应液用 100ml 乙醚稀释, 并经硅胶填料过滤。蒸发溶剂, 得到 1.39g 产物 B。

向甲氧基胺盐酸盐 (0.45g, 5.38mmol) 和吡啶 (0.44ml, 5.38mmol) 的 30ml 乙醇溶液中加入酮 B (1.3g, 4.9mmol), 并搅拌过夜。然后蒸发乙醇, 残余物溶于乙醇和 10 % HCl。分离乙醚层, 用 10 % HCl 洗涤 1 次, 经硫酸钠干燥并蒸发, 得到 1.4g O - 甲基脒。

向硼氢化钠 (0.87g, 23.1mmol) 于 5ml THF 的混悬液中加入四氯化锆 (1.35g, 5.8mmol), 溶液搅拌 15 分钟, 随后加入另外的 5ml THF。再加入 O - 甲基脒 (1.4g, 4.6mmol) 的 5ml THF 溶液, 混合物搅拌过夜。真空蒸除 THF, 残余物用 10 % 氢氧化钠处理。鼓泡停止后加入乙醚, 并分离两层。水层用乙醚萃取 4 次, 合并的乙醚萃取液经硫酸钠干燥。蒸发乙醚, 得到 1.25g 化合物 38。



30

按上述一般方法合成化合物 32 和化合物 39 ~ 53

实施例 30. 合成的芳基烷基胺的生物性质

以实施例 28 和实施例 29 所述方法合成的化合物按本实施例详述的方法试验了各种生物学特性。

5

表 1

化合物	IC ₅₀ (μ M) vs. NMDA ^a	IC ₅₀ (μ M) vs. [³ H] MK - 801 ^c
化合物 1	0.102 (7)	126 (4)
化合物 2	0.192 (4)	未试验
化合物 3	0.003 (7)	未试验
化合物 4	0.184 (5)	89 (1)
化合物 5	0.102 (1) 0.070 (3) ^b	15.2 (2)
化合物 6	0.129 (1)	>100 (1) (0 % at 100 μ M) ^d
化合物 7	0.163 (2)	129 (1)
化合物 8	0.099 (2)	219 (1)
化合物 9	1.2 (5)	>100 (2) (10 % at 100 μ M) ^d
化合物 10	0.082 (2)	~ 80 (1) (57 % at 80 μ M) ^d
化合物 11	4.0 (2)	未试验
化合物 12	6.0 (11)	98 (1)
化合物 13	未试验	未试验
化合物 14	8.8 (2)	~ 100 μ M
化合物 15	4.9 (3)	~ 100 μ M
化合物 16	5.1 (1)	28.8 (1)
化合物 17	9.6 (1)	36.3 (1)
化合物 18	5.1 (3)	34 (1)
化合物 19	0.407 (7)	2.4 (3)
化合物 20	0.058 (6)	0.426 (3)

化合物	IC ₅₀ (μ M) vs. NMDA ^a	IC ₅₀ (μ M) vs. [³ H] MK - 801 ^c
化合物 21	0.029 (2) 0.038 (5) ^e 0.468 (3) ^e	0.602 (1) 0.380 (1) ^e 4.1 (1) ^e
化合物 22	0.136 (4)	1.2 (1)
化合物 23	0.267 (3)	5.4 (1)
化合物 24	0.190 (1)	0.724 (1)
化合物 25	0.245 (1)	1.4 (1)
化合物 26	42 (1)	34 (1)
化合物 27	0.071 (1)	0.275 (1)
化合物 28	0.380 (1)	2.7 (1)
化合物 29	1.9 (2)	6.2 (1)
化合物 30	0.208 (2)	1.6 (1)
化合物 31	0.039 (4)	1.7 (1)
化合物 32	未试验	未试验
化合物 33	未试验	未试验
化合物 34	未试验	未试验
化合物 35	6.2 (1)	25.1 (1)
化合物 36	未试验	未试验
化合物 37	0.944 (2)	3.8 (1)
化合物 38	0.468 (1)	2.8 (1)
化合物 39	未试验	未试验
化合物 40	未试验	未试验
化合物 41	0.724 (1)	12.6 (1)
化合物 42	未试验	未试验
化合物 43	未试验	未试验
化合物 44	未试验	未试验
化合物 45	未试验	未试验
化合物 46	未试验	未试验
化合物 47	未试验	未试验

化合物	IC ₅₀ (μ M) vs. NMDA ^a	IC ₅₀ (μ M) vs. [³ H] MK - 801 ^c
化合物 48	未试验	未试验
化合物 49	未试验	未试验
化合物 50	未试验	未试验
化合物 51	未试验	未试验
化合物 52	未试验	未试验
化合物 53	未试验	未试验

a: 在培养的大鼠脑颗粒细胞 (RCGC) 中, 对 NMDA/甘氨酸诱导的细胞内钙增加的抑制作用 (见实施例 1)。 (# 括弧内数字表示试验的数目)

b: TFA 盐

5 c: 在洗过的大鼠皮质/海马膜标本中对 [³H] MK - 801 结合的抑制作用 (见实施例 4)。

d: IC₅₀ 研究不完全。在所述浓度下的 % 抑制率。

e: 化合物 21 的非对映体 (化合物 33 和 34), 它们的立体化学目前尚未被确定。

10 将 RCGC 测定中的 IC₅₀ 值与 [³H] MK - 801 结合测定中的 IC₅₀ 值相比较, 结果表明, 本发明的芳基烷基胺类化合物抑制 NMDA 受体活性是通过不同于与 MK - 801 结合位点结合的机理完成的; 与在 [³H] MK - 801 标记的位点上竞争的浓度相比, 抑制 NMDA 受体功能的化合物浓度要小几个数量级。但是用列举的简化的芳基烷基胺类化合物 19 - 53,

15 就不是该情况。在大鼠脑颗粒细胞测定中, 与拮抗 NMDA 受体 - 介导的功能所需的浓度相比, 所述化合物与 [³H] MK - 801 标记位点相结合的浓度范围大约要高 1 ~ 50 倍。

表 2

化合物	NMDA 受体介导的突触传递的抑制 ^a	LTP 试验 ^b	平均动脉血压的下降 ^c
化合物 1	10 - 30 μ M	在 300 μ M 未阻断	65mmHg, 给药剂量为 1.5 μ mol/kg, i.v., 维持了 60 分钟时间
化合物 2	10 - 30 μ M	在 100 μ M 未阻断	40mmHg, 给药剂量为 1.5 μ mol/kg, i.v., 维持了 120 分钟时间
化合物 3	10 - 30 μ M	未试验	20mmHg, 给药剂量为 1mg/kg, s.c., 维持>60 分钟时间
化合物 4	10 - 100 μ M	在 100 μ M 未阻断	40mmHg, 给药剂量为 1.5 μ mol/kg, i.v., 维持了 120 分钟时间
化合物 9	10 - 100 μ M	在 300 μ M 未阻断	75mmHg, 给药剂量为 4.5 μ mol/kg, i.v., 维持了 90 分钟时间
化合物 11	未试验	未试验	20mmHg, 给药剂量为 1mg/kg, i.v. 维持了30 分钟时间
化合物 12	未试验	未试验	在直到 37.3 μ mol/kg i.v.的剂量下没有作用

化合物	NMDA 受体介导的突触传递的抑制 ^a	LTP 试验 ^b	平均动脉血压的下降 ^c
化合物 14	未试验	未试验	在直到 15 μ mol/kg i.v. 的剂量下没有作用
化合物 19	100 - 300 μ M	在 100 μ M 阻断	未试验
化合物 20	30 - 300 μ M	在 100 μ M 阻断	在剂量直到 15 μ mol/kg i.v. 时没有作用
化合物 22	未试验	未试验	在剂量直到 15 μ mol/kg i.v. 时没有作用

a: 抑制 NMDA 受体介导的突触传递的浓度 (见实施例 5)。

b: 不阻断 LTP 诱导的浓度 (见实施例 19)。

c: 给大鼠施用化合物引起全身性血压的下降。

本发明的芳基烷基胺类化合物的优点可以由以下事实表明: 抑制 NMDA 受体介导的突触传递的浓度不会抑制 LTP。而且, 虽然化合物 (如化合物 9 和 11) 在对大鼠全身途径给药后也产生降压反应, 但是由这些化合物产生的降压作用持续时间较短 (约 30 分钟)。此外, 在剂量分别达到 37.3 μ mol/kg (静脉) 和 15 μ mol/kg (静脉) 时, 化合物 12 和 14 均没有任何心血管作用。

10 制剂和给药

如本申请所述, 本发明有用的化合物及其药学上适用的盐可用于治疗神经障碍或其他疾病。虽然所述化合物通常可用于治疗患者, 但是它们也可用于治疗其他脊椎动物如其他灵长目动物、饲养场动物 (如猪、牛和家禽)、运动动物和宠物 (如马、狗和猫) 的类似或相同疾病。

15 在治疗和/或诊断应用中, 可以将本发明化合物配制成各种给药形式, 包括全身和局部或定位给药的形式。在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton PA 中通常可以找到有关的技术和制剂。

20 正确的制剂, 给药途径和剂量可以由各个医生根据患者的情况进行选择。(例如参见 Fingl et al., The Pharmacological Basis of

Therapeutics, 1975, Ch. 1, P. 1) .

5 应该注意，由于毒性或器官机能不良的原因，主治医生应知道如何和何时终止、中断或调整给药。相反地，如果临床反应不合适，主治医生还应知道调整治疗剂量到较高的水平（预防毒性）。在控制研究中的致瘤疾病中，给药剂量的大小将随受治疗疾病的严重程度以及给药途径而改变。例如，疾病的严重程度可以部分地根据一般的预后性症状评价方法进行评定。此外，剂量和给药次数也将根据各个患者的年龄、体重以及反应改变。与以上讨论相类似的方案可以用于脊椎动物。

10 根据受治疗的具体病况，可以将所述化合物进行配制并全身或局部地给药。配制和给药的方法可以在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton PA 中找到。合适的给药途径包括口服、直肠给药、经皮给药、阴道给药、经粘膜给药或经肠给药；非经胃肠道给药，包括肌肉注射、皮下注射、髓内注射以及鞘内注射、直接心室内注射、静脉注射、腹腔内注射、鼻内注射或眼内注射，在此
15 仅例举其中的一些。

对于注射给药，可以将本发明的化合物配制在水溶液，优选生理上合适的缓冲液如 Hank 氏溶液、Ringer 氏溶液或生理盐水缓冲液中。对于所述的粘膜内给药，在制剂中可以应用适合透过屏障的渗透剂。所述渗透剂在本领域中是已知的。

20 为了实施将本发明公开的化合物配制成适合全身给药的剂型而应用药学上适用的载体是属本发明的范围。适当选择载体和合适的制备方法，尤其是可以将本发明组合物配制成可以非经胃肠道给药，如经静脉给药的溶液剂。应用本领域熟知的药学上适用的载体，可以容易地将本发明化合物配制成适合口服给药的剂型。所述载体能使本发明化合物配
25 制成片剂、小丸剂、胶囊剂、液体制剂、凝胶剂、糖浆剂、膏剂、混悬液剂等给需要治疗的患者口服的剂型。

应用本领域专业人员通常熟知的技术，可以将本发明化合物经细胞内给药。例如将所述药物封闭在脂质体内，然后按以上所述给药。脂质体是具有水内层的球形脂质双层。当脂质体形成时，存在于水溶液中的
30 所有分子均结合到水内层中。脂质体内容物均被保护免受外部微环境的影响，并且由于脂质体与细胞膜一起融合，因此可有效地输送到细胞浆内。此外，由于其具有疏水性，因此可以使小的有机分子直接地经细胞

内给药。

适合于本发明的药用组合物其中含有有效剂量的活性成分，以便获得其指定目的组合物。尤其是根据本申请提供的详述，有效剂量的确定是熟悉本领域专业人员能力范围之内可以解决的。

5 除了有效成分之外，所述药用组合物还可以含有药学上适用的载体，该载体包括赋形剂和辅助剂，它们有利于将有效成分配制成药学上可以应用的制剂。配制的口服制剂可以为片剂、锭剂、胶囊剂或溶液剂。

本发明的药用组合物可以按照本身已知的方法，例如应用常用的混合、溶解、制颗粒、包糖衣、研碎、乳化、密封、裹住或冷冻干燥进行
10 配制。

非经胃肠道给药的药用制剂包括有效成分以水可溶形式的水溶液。此外，有效成分的混悬液剂可以制备成合适的油注射混悬液。合适的亲脂溶剂或载体包括脂肪油类（如芝麻油）或合成的脂肪酸酯（如油酸乙酯或甘油三酯）或脂质体。水注射混悬液剂可以含有增加混悬液粘滞度的物质如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。混悬液剂还可以任选地含有合适的稳定剂或可以增加化合物溶解度的试剂，以便制备高浓度的溶液。
15

经口应用的药用制剂可以按下法制得：使活性成分与固体赋形剂混合，任选地研磨得到的混合物，在加入合适的辅助剂（如果需要）之后，
20 将该混合物加工成颗粒，得到片剂或锭剂片芯。合适的赋形剂有填料如糖（包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇）；纤维素制品如玉米淀粉、小麦淀粉、稻米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、西黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮。如果需要，可以加入崩解剂如交联的聚乙烯吡咯烷酮或藻酸或其盐（如藻酸钠）。

25 锭剂片芯可以进行合适的包衣。为此，可以应用浓的糖溶液，它们可以任选地含有阿拉伯树脂、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡皮泊尔胶、聚乙二醇和/或二氧化钛、胶膜溶液以及合适的有机溶剂或溶剂混合液。染料或色素可以加到片剂或锭剂包衣中，以便进行鉴别或表示不同有效化合物剂量的特征。

30 可以口服应用的药用制剂包括由明胶和增塑剂（如甘油或山梨醇）制得的推入配合的胶囊剂和由明胶制得的软的、封口的胶囊剂。所述推入配合的胶囊剂可以含有有效成分，使其与填料（如乳糖）、粘合剂（如

淀粉)和/或润滑剂(如滑石或硬脂酸镁)以及任选的稳定剂混合。在软胶囊中,可以将有效成分溶解或悬浮在合适的液体如脂肪油、液体石蜡或液态聚乙二醇中。此外,可以加入稳定剂。

其他的实施方案是在下述权利要求中。

5