



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110461837 A

(43)申请公布日 2019.11.15

(21)申请号 201780088818.5

(22)申请日 2017.03.24

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.09.23

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2017/003194 2017.03.24

(87)PCT国际申请的公布数据
W02018/174320 KO 2018.09.27

(71)申请人 ST制药株式会社
地址 韩国京畿道

(72)发明人 金奉镇 李一永 金载鹤 申洪锡
孙锺赞 李锺娇 金庆镇 金旭镒
南沅廷

(74)专利代理机构 北京金信知识产权代理有限公司 11225

代理人 严彩霞

(51)Int.Cl.
C07D 471/04(2006.01)
A61K 31/437(2006.01)
A61K 31/4155(2006.01)

权利要求书2页 说明书10页

(54)发明名称

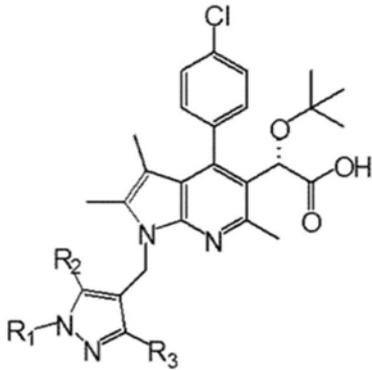
新型吡咯并吡啶衍生物、其制备方法及应用

(57)摘要

本发明涉及化学式I所表示的新型吡咯并吡啶衍生物、其外消旋物、立体异构体、其可药用的盐以及制备它们的方法,下述化学式I所表示的化合物对人类免疫缺陷病毒(HIV)具有高选择性和生理活性且毒性低,因此能够有效作为针对病毒感染、尤其人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的治疗剂。

1. 下述化学式I所表示的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐：

[化学式I]



所述式中，

R₁选自被卤原子取代或非取代的C₁₋₆烷基、被C₁₋₃烷基或卤素取代或非取代的苄基、C₁₋₃烷氧基甲基、C₁₋₃氨基甲酸烷基酯和被C₁₋₃烷基取代或非取代的磺酰基组成的组，R₂和R₃各自独立地为氢、C₁₋₆烷基或卤原子。

2. 根据权利要求1所述的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐，其中，R₁为C₁₋₆烷基。

3. 根据权利要求1所述的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐，其中，R₁为甲基，R₂和R₃各自独立地为氢、甲基或氯。

4. 根据权利要求1所述的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐，其中，所述化学式I所表示的化合物为：

(S)-2-(叔丁氧基)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸，或者

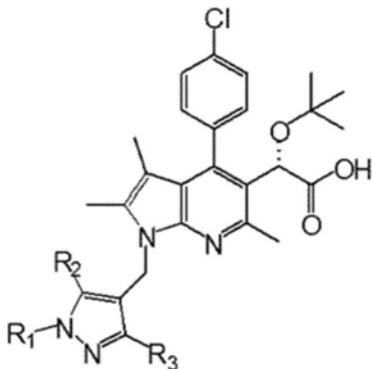
(S)-2-(叔丁氧基)-2-(1-((5-氯-1,3-二甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸。

5. 一种制备下述化学式I所表示的化合物的方法，其包括下述步骤：

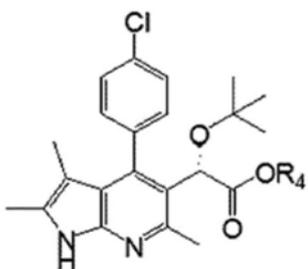
1) 第一步骤，使下述化学式II所表示的化合物与下述化学式III所表示的化合物反应而制备下述化学式IV所表示的化合物；以及

2) 第二步骤，使所述化学式IV所表示的化合物水解，

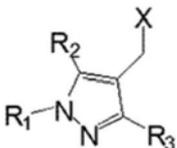
[化学式I]



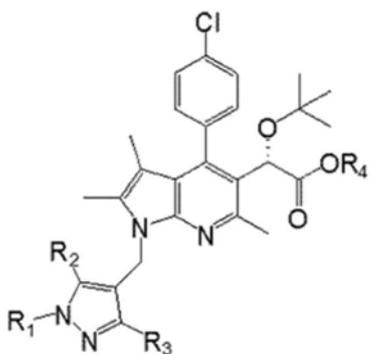
[化学式II]



[化学式III]



[化学式IV]



所述式中，

R₁、R₂和R₃与上述权利要求1中的定义相同，

R₄为C₁₋₆烷基，

X为卤素、甲磺酰基、甲苯磺酰基或三氟甲磺酰基。

6. 一种抗病毒组合物，其包含权利要求1至4中任一项所述的化学式I所表示的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐。

7. 根据权利要求6所述的抗病毒组合物，其中，所述组合物为用于抗人类免疫缺陷病毒HIV的组合物。

新型吡咯并吡啶衍生物、其制备方法及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种抗病毒化合物、尤其是针对人类免疫缺陷病毒 (HIV) 具有高选择性和生理活性的化合物、其制备方法及其用途。

背景技术

[0002] 艾滋病 (Acquired Immuno Deficiency Syndrome; AIDS) 是由人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus; HIV) 感染而引起的。HIV 有 HIV-1 和 HIV-2 这两种类型, 在全世界蔓延的类型是 HIV-1。为了治疗 AIDS, 根据 HIV 的作用机制, 已经开发出酶抑制剂, 根据其作用位点, 这些酶抑制剂分类为核苷类逆转录酶抑制剂 (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor: NRTI)、蛋白酶抑制剂 (Protease Inhibitor: PI)、融合抑制剂 (Fusion Inhibitor)、整合酶抑制剂 (Integrase Inhibitor)。

[0003] 整合酶抑制剂根据其机制而区分为催化位点 (catalytic site) 抑制剂和非催化位点 (non-catalytic site) 抑制剂, 并且积极地进行着与催化位点整合酶抑制剂有关的研究, 已开发出 3 种药物并在市场上销售。2008 年开发的拉替拉韦 (Raltegravir) 是典型药物。另一方面, 非催化位点整合酶抑制剂的作用机制由 Ziger Debyser 等人介绍 (Frauke Christ, Zeger Debyser et al., Nature Chemical Biology, 2010, Vol. 6, 442), 并且一直积极地进行着针对该作用机制的抑制剂开发。

[0004] 此外, 为了开发用于有效治疗表现出耐药性的病毒的药物的药物, 进行着各种研究, 这种化疗药物与被称为高效抗逆转录病毒治疗剂 (Highly Active Anti Retroviral Therapies, HAART) 的、抑制彼此不同的机制的 2~4 种药物组合给药而显示出延长寿命的显著效果。然而, 尽管有这些努力, 但艾滋病无法完全治愈, 甚至由于药物的毒性问题和针对现有治疗剂的耐药性表现, 不断要求开发新的治疗剂。

[0005] 作为解决这样的问题的努力的环节, 反复进行了用于开发新的艾滋病治疗剂的研究, 结果发现, 具有新骨架的吡咯并吡啶衍生物化合物具有抑制 HIV 增殖的效果, 从而完成了本发明。

发明内容

[0006] 技术课题

[0007] 本发明的一个目的在于, 提供一种新型吡咯并吡啶衍生物及其可药用的盐, 其通过抑制 HIV-1 的整合酶的活性而具有抑制 HIV-1 增殖的效果, 并且在药物特性和基础毒性试验中显示出优异的结果。

[0008] 本发明的另一目的在于, 提供制备所述新型吡咯并吡啶衍生物及其可药用的盐的方法。

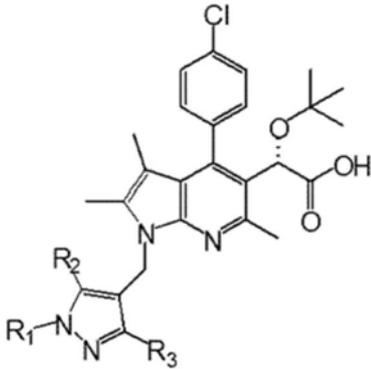
[0009] 本发明的另一目的在于, 提供包含上述化合物作为有效成分的药物组合物。

[0010] 解决课题的方法

[0011] 本发明的第一方面提供化学式 I 所表示的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可

药用的盐:[化学式I]

[0012]



[0013] 上述式中, R₁选自由被卤原子取代或非取代的C₁₋₆烷基、被C₁₋₃烷基或卤素取代或非取代的苄基、C₁₋₃烷氧基甲基、C₁₋₃氨基甲酸烷基酯和被C₁₋₃烷基取代或非取代的磺酰基组成的组,

[0014] R₂和R₃各自独立地为氢、C₁₋₆烷基或卤原子。

[0015] 在一个实施方式中,本发明提供了R₁为C₁₋₆烷基的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐。

[0016] 在另一实施方式中,本发明提供了R₁为甲基、R₂和R₃各自独立地为氢、甲基或氯的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐。

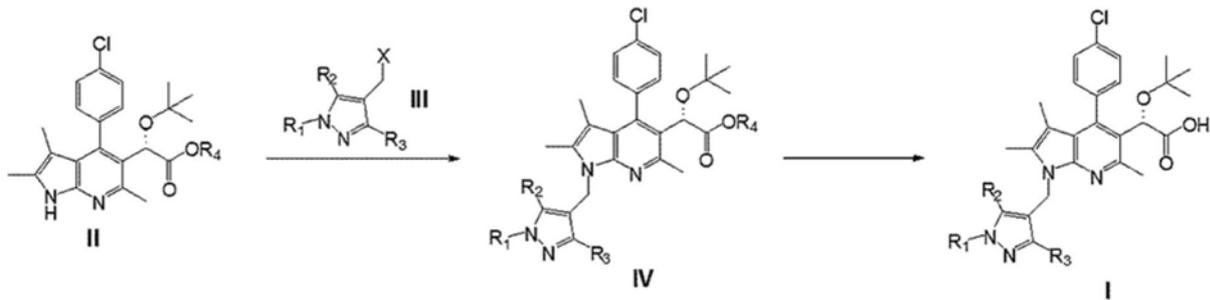
[0017] 在另一实施方式中,本发明提供了R₁为甲基、R₂和R₃均为氢的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐。

[0018] 具体而言,上述卤原子是指氯、溴或氟原子。

[0019] 本发明的第二方面提供了基于下述反应式1的制备化学式I所表示的化合物的方法。

[0020] [反应式1]

[0021]



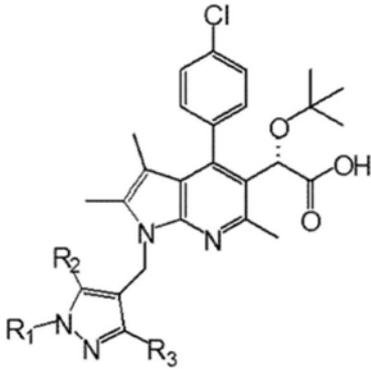
[0022] 具体而言,制备化学式I所表示的化合物的方法包括下述步骤:

[0023] 1) 第一步骤,使下述化学式II所表示的化合物与下述化学式III所表示的化合物反应而制备下述化学式IV所表示的化合物;以及

[0024] 2) 第二步骤,使化学式IV所表示的化合物水解。

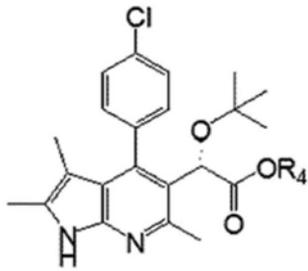
[0025] [化学式I]

[0026]



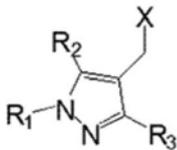
[0027] [化学式II]

[0028]



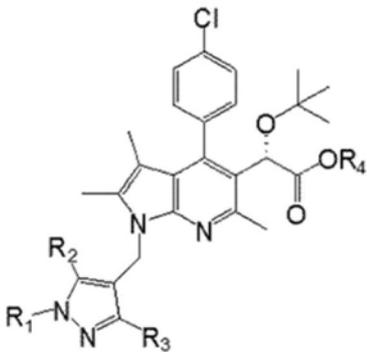
[0029] [化学式III]

[0030]



[0031] [化学式IV]

[0032]



[0033] 上述式中，

[0034] R₁选自自由被卤原子取代或非取代的C₁₋₆烷基、被C₁₋₃烷基或卤素取代或非取代的苄基、C₁₋₃烷氧基甲基、C₁₋₃氨基甲酸烷基酯和被C₁₋₃烷基取代或非取代的磺酰基组成的组，

[0035] R₂和R₃各自独立地为氢、C₁₋₆烷基或卤原子，

[0036] R₄为C₁₋₆烷基，

[0037] X为卤素、甲磺酰基、甲苯磺酰基或三氟甲磺酰基。

[0038] 具体而言，上述R₄可以为甲基或乙基，X可以为氯或对甲苯磺酰基。

[0039] 上述制备化学式I的方法的第一步骤中，化学式II所表示的化合物与化学式III所表示的化合物的摩尔比优选为1:2至1:5，但并不限于此。

[0040] 上述第一步骤中,使用二氯甲烷、二甲基甲酰胺、四氢呋喃或它们的任意组合作为反应溶剂来实施,但并不限于此。

[0041] 上述第一步骤可以实施2小时至18小时,但并不限于此。

[0042] 上述第一步骤可以在碳酸铯的存在下实施,作为溶剂,优选使用二甲基甲酰胺。

[0043] 上述第一步骤中所使用的碳酸铯的摩尔比相对于化学式II优选使用2至5当量。

[0044] 此时,反应温度优选在40℃至100℃下实施,反应时间优选实施4小时至18小时,但并不限于此。

[0045] 例如,制备本发明的化学式I所表示的化合物时作为起始物质使用的化学式II所表示的化合物可以根据国际专利(WO 2013/073875A1)的制备例中公开的方法来制备。

[0046] 上述第二步骤即水解步骤中,可以使用氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钡、氢氧化钾,但并不限于此,优选可以使用氢氧化钾或氢氧化锂。

[0047] 上述水解步骤中所使用的氢氧化钾或氢氧化锂的摩尔比具体而言相对于化学式IV可以使用3至8当量,但并不限于此。

[0048] 上述水解步骤具体而言在常温下,更具体而言在35℃至50℃下实施。

[0049] 作为上述水解步骤中的溶剂,可以使用水、甲醇、四氢呋喃或它们的任意组合来实施,但并不限于此。

[0050] 在一个实施方式中,在例如4N-氢氧化钠/甲醇或四氢呋喃/甲醇/水的混合溶剂下使用氢氧化锂进行水解。

[0051] 上述水解步骤具体而言实施6小时至18小时,但并不限于此。

[0052] 本发明的第三方面提供包含化学式I所表示的化合物、其外消旋物、立体异构体或其可药用的盐的抗病毒组合物。

[0053] 具体而言,上述组合物为用于抗人类免疫缺陷病毒(HIV)的组合物。

[0054] 本发明的化学式I所表示的化合物具体实例可以为(S)-2-(叔丁氧基)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸,或者

[0055] (S)-2-(叔丁氧基)-2-(1-((5-氯-1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)甲基)-4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸。

[0056] 如此制备的本发明的化学式I的化合物可以形成盐,尤其可药用的盐。可药用的合适的盐并没有特别限制,只要是本技术领域通常使用的盐,如酸加成盐(参见文献[J.Pharm.Sci.,1977,66,1])

[0057] 用于可药用的酸加成盐的酸的优选实例包括,例如盐酸、氢溴酸、磷酸、正磷酸或硫酸之类的无机酸;或例如甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、乙酸、丙酸、乳酸、柠檬酸、富马酸、苹果酸、琥珀酸、水杨酸、马来酸、甘油磷酸或乙酰水杨酸之类的有机酸。

[0058] 此外,可以使用碱通过常规方法获得可药用的金属盐。例如,可以使上述化学式I的化合物溶解于过量的碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物溶液中,将不溶解化合物盐过滤后,使滤液蒸发、干燥,从而获得所述化合物的可药用的金属盐。

[0059] 化学式I的化合物的不可药用的盐或溶剂化物可以在制备化学式I的化合物、其可药用的盐或溶剂化物时用作中间体。

[0060] 本发明的上述化学式I的化合物不仅包含其可药用的盐,而且包含可由其制备的

溶剂化物和水合物。上述化学式I的化合物和中间体的立体异构体可以使用常规方法来制备。

[0061] 此外,根据本发明的化学式I的化合物可以制成晶型或非晶型,在化学式I的化合物被制成晶型的情况下,可以被任意地水合或溶剂化。

[0062] 此外,本发明中,提供包含上述化学式I的化合物、或其可药用的盐、水合物、溶剂化物作为有效成分的抗病毒组合物。此时,上述抗病毒组合物尤其为用于抗人类免疫缺陷病毒(HIV)的组合物。

[0063] 本发明的实验例中确认到,上述化学式I的化合物为细胞毒性低并且HIV抑制效果优异、生理活性高、基础毒性试验结果显示出安全、具有适合于药物特性的溶解度的优异的物质。

[0064] 本发明的药物组合物可以制成口服或注射给药形式。作为口服给药剂型,例如有片剂、胶囊剂等,这些剂型除了活性成分以外还含有稀释剂(例如,乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸)、润滑剂(例如,二氧化硅、滑石、硬脂酸及其镁钙盐或聚乙二醇)。片剂还可以含有如硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、黄芩胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠或聚乙烯吡咯烷酮之类的结合剂,根据情况,可以含有如淀粉、琼脂、褐藻酸或其钠盐之类的崩解剂或沸腾混合物和/或吸收剂、着色剂、芳香剂和甜味剂。作为注射用剂型,优选为等渗水溶液或悬浮液。

[0065] 上述组合物可以被灭菌和/或包含如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化促进剂、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂等助剂和其他治疗有用的物质。

[0066] 上述剂型可以通过常规的混合、颗粒化或包衣方法来制备,可以含有活性成分约0.1至75重量%,优选可以含有1~50重量%的范围。针对约50至70kg的哺乳动物的单位剂型含有约10~200mg的活性成分。

[0067] 本发明的化合物的优选给药量根据患者的状态和体重、疾病的严重程度、药物的形式、给药途径和时间的不同而不同,本领域技术人员可以适当地进行选择。关于给药,可以1天1次或分次通过口服或非口服途径进行给药。

[0068] 本发明的药物组合物可以对以大鼠、小鼠、家畜和人类等为代表的哺乳动物通过各种途径进行给药。可以预想给药的所有方式,例如,可以通过口服,直肠、静脉、肌肉、皮下、子宫内硬膜或脑室内(intracerebroventricular)注射进行给药。

[0069] 发明效果

[0070] 本发明的化学式I的化合物、其外消旋物、立体异构体、其可药用的盐、水合物、溶剂化物对于病毒、尤其人类免疫缺陷病毒(HIV)显示出高选择性和生理活性且毒性低,因此能够有效用于治疗针对病毒、尤其人类免疫缺陷病毒(HIV)的感染。

具体实施方式

[0071] 以下,通过下述制备例和实施例,更详细地说明本发明。但是下述制备例和实施例仅用于例示本发明,并不意味着本发明的范围仅由这些制备例和实施例来进行限制。

[0072] 制备例1:4-(氯甲基)-1-甲基-1H-吡唑盐酸盐的制备

[0073] 在按照公知的方法(Frey,R.R.;at al,J.Med.Chem.,2008,51,3777-3787)制备的(1-甲基-1H-吡唑-4-基)甲醇(380mg,3.39mmol)中加入二氯甲烷(1.8mL)和三乙胺(2滴)并

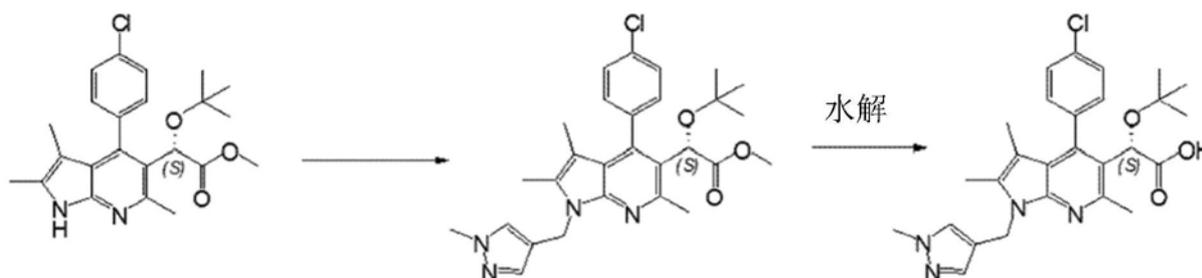
冷却至0℃。向其中缓慢加入将氯化亚砷(0.62mL)溶解于甲苯(1.8mL)而成的溶液,并在30℃下搅拌2小时。对于反应液,在减压下去除溶剂和过量的氯化亚砷,从而得到目标化合物。该物质不进行纯化而用于下一个反应。

[0074] 制备例2:4-(溴甲基)-5-氯-1,3-二甲基-1H-吡啶的制备

[0075] 将按照已知的方法(Attardo,G.;Triphy,S.,PCT Int.Appl.2010,WO 2010-132999 A1)制备的(5-氯-1,3-二甲基甲基)-1H-吡啶-4-基)甲醇(937mg,5.8mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)并冷却至0℃。向其中缓慢加入将三溴化磷(0.54mL,5.8mmol)稀释于二氯甲烷(5mL)而成的溶液,然后在常温搅拌1.5小时。对于反应液,在减压下去除溶剂,从而得到目标化合物。该物质不进行纯化而用于下一个反应。

[0076] 实施例1:(S)-2-(叔丁氧基)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸

[0077]



[0078] 步骤1:使甲基(S)-2-(叔丁氧基)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸酯(700mg,1.69mmol)溶解于二甲基甲酰胺(14mL),加入碳酸铯(2.75g,8.45mmol)和三乙胺10滴,将温度调节至40℃,然后用1小时分开加入制备例1中获得的化合物(560mg,3.39mmol)。在相同温度下搅拌18小时而结束反应。在将反应液用冰水冷却后,加入水(50mL)并搅拌10分钟。将生成的固体过滤,用水洗涤。对于得到的固体不进行干燥而通过硅胶柱层析分离(洗脱液:乙酸乙酯/正己烷=1/2和1/1)来进行纯化,从而获得目标化合物(430mg,50%)。

[0079] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ,500MHz) δ 1.01 (s,9H),1.49 (s,3H),2.30 (s,3H),2.75 (s,3H),3.69 (s,3H),3.83 (s,3H),5.11 (s,1H),5.32 (s,2H),7.30 (m,2H),7.44-7.47 (m,4H):MS(EI,m/e)=509 (M^+)。

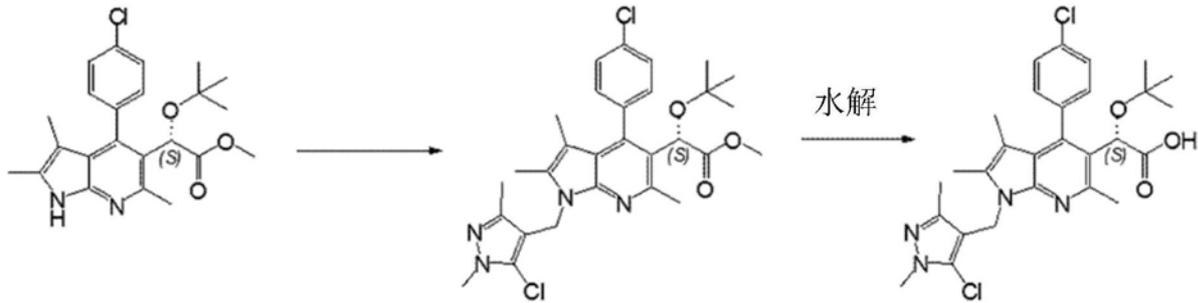
[0080] 步骤2:使步骤1中得到的化合物(369mg,0.724mmol)溶解于四氢呋喃(5.5mL),并加入4N-氢氧化钠/甲醇溶液(0.98mL),然后在35℃下搅拌18小时。在将反应液冷却至10℃以后,加入4N-盐酸进行中和。对于反应液,在减压下去除溶剂,将剩余物通过硅胶柱层析分离(洗脱液:二氯甲烷/甲醇=95/5和90/10)进行提纯,从而得到白色固体的标题化合物(260mg,73%)。

[0081] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ,500MHz) δ 1.00 (s,9H),1.52 (s,3H),2.31 (s,3H),2.72 (s,3H),3.80 (s,3H),5.14 (s,1H),5.37 (bs,2H),7.34-7.53 (m,6H):

[0082] MS(EI,m/e)=495 (M^+)。

[0083] 实施例2:(S)-2-(叔丁氧基)-2-(1-((5-氯-1,3-二甲基-1H-吡啶-4-基)甲基)-4-(4-氯苯基)-2,3,6-三甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸

[0084]



[0085] 使(S)-2-(叔丁氧基)-2-(4-(4-氯苯基))-2,3,6-三甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)乙酸甲酯(200mg,0.48mmol)和在制备例3中得到的化合物(432mg,1.44mmol)以与实施例1相同的方式进行反应,从而得到标题化合物(30mg,44%)。

[0086] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz) δ 1.00 (s, 9H), 1.49 (s, 3H), 1.90 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.68 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 5.20 (s, 1H), 2.28 (dd, $J=40.7, 15.8\text{Hz}$, 2H), 7.24 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 7.47-7.39 (m, 2H), 7.63 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H) :

[0087] MS (EI, m/e) = 544 (M^+)。

[0088] 实验例1:本发明化合物的HIV-1(野生型/突变型(Wild/Mutant type))抑制效果调查以及细胞毒性试验

[0089] 为了获知本发明的化合物的HIV-1(野生型/突变型)抑制效果,按照公知的方法(H.Tanaka et al., J.Med.Chem., 1991, 34, 349)如下所示实施体外HIV-1(野生型/突变型)抑制效果试验。作为宿主细胞,使用MT-4细胞,来调查本发明的化合物抑制病毒感染的MT-4细胞的细胞毒性的程度。

[0090] 首先,在培养基中,使MT-4细胞以 1×10^4 细胞/孔的浓度进行分散,然后以达到500TCI₅₀(细胞的50%被感染的浓度)/孔的方式接种HIV-1。接种后立即将细胞分散液每100 μL 转移至装有本发明的化合物的试样的平底微量滴定板,并在17 $^{\circ}\text{C}$ 下培养4至5天,然后利用MTT方法,判断病毒抑制效果。此外,利用MTT方法,来测定通过实验感染病毒的细胞的生存率,从而判断细胞毒性。作为比较化合物,使用叠氮胸苷(AZT)、拉替拉韦(Raltegravir)、度鲁特韦(Dolutegravir)和埃替格韦(Elvitegravir)。将其结果示于下述表1、表2中。

[0091] [表1]

实施例编号	MT-4细胞中的野生型HIV-1(IIIB)
	EC ₅₀ (nM)*
1	3.23
2	25.7
拉替拉韦	5.85
AZT	2.24

[0093] *EC₅₀:将HIV的感染抑制在50%的浓度

[0094] [表2]

[0095]

	NL4-3 wt	4736_2*	4736_4*	8070_1*	8070_2*	1556_1*
	IC ₅₀ (nM)					
实施例1	3.6	1.1	3.4	0.9	3.4	3.4
AZT	38.4	29.7	34.6	34.7	57.6	33.1
拉替拉韦	4.6	351	351	4,322	3,844	3,757
度鲁特韦	3.2	3.5	3	8.5	4.4	3.2
埃替格韦	< 0.10	410	320	>10,000	N/A	276

[0096] *HIV-1克隆:拉替拉韦抗药性突变体

[0097] (4736_2/4736_4/8070_1/8070_2/1556_1)

[0098] **IC₅₀:半抑制浓度

[0099] 实验例2:本发明化合物的药代动力学试验 (Pharmacokinetics test)

[0100] 对于本发明的实施例1的化合物,实施了确认体内 (in vivo) 吸收、分布、代谢和排泄等体内动态变化的实验。向大鼠的颈静脉和大腿静脉插入管,在静脉给药的情况下,通过大腿静脉给药,在口服给药的情况下,通过口腔给药,然后从颈静脉定时采血。

[0101] 关于给药浓度,静脉给药时设为1mg/kg,口服给药时设为2mg/kg。对于血液,通过进行离心分离来分离血浆,并且使用滴定有机溶剂,来对血浆和尿试样进行前处理,然后利用LC-MS/MS来分析浓度。利用WinNonlin (Pharsight, USA), 根据口服和静脉给药后分析的药物在血液中的浓度-时间数据,来计算出非房室药代动力学参数 (noncompartmental pharmacokinetic parameter)。

[0102] [表3]

[0103]

雄性大鼠中的药代动力学参数			
化合物编号	参数	IV, 1 mg/kg	PO, 2 mg/kg
实施例1的化合物	T _{max} (hr)	-	3.2
	C _{max} (nM)	-	914
	T _{1/2} (hr)	8.63	8.66
	AUC _t (hr*nM)	6,081	8,734
	AUC _∞ (hr*nM)	6,508	10,423
	CL (L/kg/hr)	0.323	-
	V _{ss} (L/kg)	1.77	-
	F (%)		71.8

[0104] 实验例3:本发明化合物的体外代谢稳定性试验 (in vitro metabolic stability)

test)

[0105] 实施了对于本发明的实施例1的化合物的体外代谢稳定性试验。关于体外代谢稳定性,在肝微粒体(liver microsomal)中测定半衰期,利用包含各种代谢酶的种特异性(大鼠、狗、猴、人)肝微粒体,使药物化合物与NADPH进行反应后,通过LC-MS/MS以分钟为单位进行定量,来测定药物的半衰期,从而测试了药物的稳定性。可知,实施例1的化合物是半衰期为2或3小时以上的稳定的化合物。

[0106] [表4]

[0107]

肝微粒体稳定性 ($T_{1/2}$, Min)				
化合物编号	大鼠肝 ($T_{1/2}$, Min)	狗肝 ($T_{1/2}$, Min)	猴肝 ($T_{1/2}$, Min)	人肝 ($T_{1/2}$, Min)
实施例1的化合物	>145	>145	133.3	135.9
对照 (睾 酮 , Testosterone)	0.7	23.6	13.0	19.7

[0108] 实验例4:本发明化合物的CYP450抑制试验

[0109] 实施了对于本发明的实施例化合物的CYP450抑制试验。将人肝微粒体(0.25mg/ml)和0.1M磷酸缓冲溶液(pH 7.4)、5种药物代谢酶底物(CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6、CYP3A4、CYP19)药物鸡尾酒(drug cocktails)(鸡尾酒A:非那西汀50 μ M,S-美芬妥英100 μ M,右美沙芬5nM,咪唑安定2.5 μ M;鸡尾酒B:甲苯磺丁脲100 μ M)和实施例1的化合物各自以0、10 μ M浓度进行添加,并在37 $^{\circ}$ C下培养15分钟。之后,为了结束反应,添加包含内部标准物质(氯磺丙脲,chlorpropamide)的乙腈溶液,进行5分钟离心分离(14,000rpm,4 $^{\circ}$ C),然后将上清液注入LC/MS/MS系统,同时分析底物药物的代谢物,从而评价基于测试物质的药物代谢酶抑制活性。据评价,实施例1的化合物对于这5种CYP酶不显示抑制活性。

[0110] [表5]

[0111]

在10 μ M 时的CYP抑制率(控制活性%)					
化合物编号	1A2	2C9	2D6	3A4	2C19
实施例1的化合物	113.6	68.5	101.6	92.1	101.6

[0112] 实验例5:本发明化合物的hERG K^+ 通道活性试验

[0113] 实施了能够预测本发明的化合物的心脏毒性的hERG K^+ 通道活性试验。使用全自动平面膜片钳(Automated planar patch clamp)[PatchXpress 7000A],利用HERG-HEK293来测定化合物的hERG活性。该方法作为最具有代表性的离子通道研究方法,利用电压钳(voltage clamp),直接测定通过通道的离子的流动。对于本实施例1的化合物的hERG K^+ 通道的 IC_{50} 值显示66.7 μ M, IC_{50} 值显示10 μ M以下是判断可能显示心脏毒性的基准,实施例1的化合物显示出其以上,因此可确认其为安全的化合物。

[0114] [表6]

[0115]

hERG K ⁺ 通道活性试验(膜片钳记录法(Patch Clamp Recording Method))	
化合物	IC ₅₀ (μ M)
实施例1的化合物	66.7
对照(阿司咪唑(Astemizole))	0.079