201610246

(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 201610246 A
(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：104114104　(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 04 月 30 日
(51)Int. Cl.：*C40B30/02 (2006.01)*　*A61K31/4439 (2006.01)*
A61K31/5513 (2006.01)　*A61K31/445 (2006.01)*
A61K31/438 (2006.01)　*A61K31/381 (2006.01)*
A61P25/00 (2006.01)
(30)優先權：2014/04/30　美國　61/986,480
(71)申請人：國立臺灣大學 (中華民國) NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY (TW)
臺北市大安區羅斯福路 4 段 1 號
國立交通大學 (中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)
新竹市大學路 1001 號
財團法人國家衛生研究院 (中華民國) NATIONAL HEALTH RESEARCH INSTITUTES (TW)
苗栗縣竹南鎮科研路 35 號
(72)發明人：曾宇鳳 TSENG, YUFENG JANE (TW)；劉玉麗 LIU, YU LI (TW)；孫仲銘 SUN, CHUNG MING (TW)；胡海國 HWU, HAI GWO (TW)；劉智民 LIU, CHIH MIN (TW)；賴文崧 LAI WEN SUNG (TW)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無　申請專利範圍項數：13 項　圖式數：5　共 38 頁

(54)名稱

作為D－胺基酸氧化酶抑制劑之已知化合物之用途

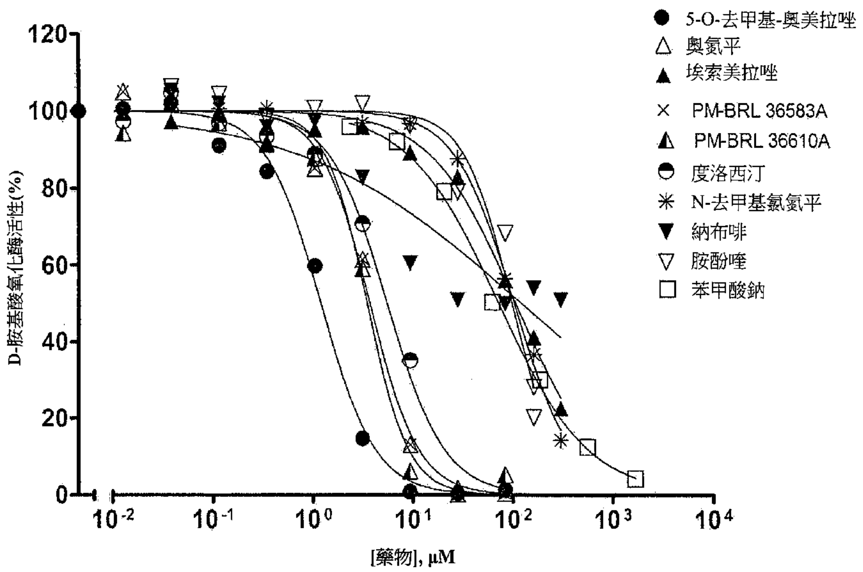
USE OF KNOWN COMPOUNDS AS D-AMINO ACID OXIDASE INHIBITORS

(57)摘要

本發明利用虛擬篩選策略來尋找目前市場上的藥物作為抗精神分裂症療法，即藥物再利用。藥物再利用策略發現既有藥物原本醫學適應症以外之新用途。由於已知藥物通常具有可接受之安全性及藥物動力學特性，故發現該等藥物之新的適應症將使有需要之患者更早的受益於潛在新療法。在此研究中，利用對出售藥物及其代謝物之虛擬篩選實施對用於 DAAO 抑制劑之出售藥物作為新穎精神分裂症療法之再利用。利用活體外 DAAO 酶抑制分析進一步證實經鑑別且可用之藥物及化合物。

The invention utilizes virtual screening strategy to seek for current market drugs as anti-schizophrenia therapy-drug repurposing. Drug repurposing strategy finds new uses other than the original medical indications of existing drugs. Finding new indications for such drugs will benefit patients who are in needs for a potential new therapy sooner since known drugs are usually with acceptable safety and pharmacokinetic profiles. In this study, repurposing marketed drugs for DAAO inhibitor as new schizophrenia therapy was performed with virtual screening on marketed drugs and its metabolites. The identified and available drugs and compounds were further confirmed with in vitro DAAO enzymatic inhibitory assay.

指定代表圖：



120
100
80
60
40
20
0
D-胺基酸氧化酶活性(%)
10 -2
10 -1
10 0
10 1
10 2
10 3
10 4
[藥物], μM
5-O-去甲基-奥美拉唑
奥氮平
埃索美拉唑
PM-BRL 36583A
PM-BRL 36610A
度洛西汀
N-去甲基氯氮平
納布啡
胺酚喹
苯甲酸鈉

圖 2

201610246

201610246

發明摘要

※ 申請案號：104114104

※ 申請日：104 4 30

※IPC 分類：C40B 30/02 (2006.01)

A61K 31/4439, 31/5513, 31/445 (2006.01)

31/438, 31/381 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

【發明名稱】

作為D-胺基酸氧化酶抑制劑之已知化合物之用途

USE OF KNOWN COMPOUNDS AS D-AMINO ACID OXIDASE INHIBITORS

【中文】

本發明利用虛擬篩選策略來尋找目前市場上的藥物作為抗精神分裂症療法，即藥物再利用。藥物再利用策略發現既有藥物原本醫學適應症以外之新用途。由於已知藥物通常具有可接受之安全性及藥物動力學特性，故發現該等藥物之新的適應症將使有需要之患者更早的受益於潛在新療法。在此研究中，利用對出售藥物及其代謝物之虛擬篩選實施對用於DAAO抑制劑之出售藥物作為新穎精神分裂症療法之再利用。利用活體外DAAO酶抑制分析進一步證實經鑑別且可用之藥物及化合物。

【英文】

The invention utilizes virtual screening strategy to seek for current market drugs as anti-schizophrenia therapy—drug repurposing. Drug repurposing strategy finds new uses other than the original medical indications of existing drugs. Finding new indications for such drugs will benefit patients who are in needs for a potential new therapy sooner since known drugs are usually with acceptable safety and pharmacokinetic profiles. In this study, repurposing marketed drugs for DAAO inhibitor as new schizophrenia therapy was performed with virtual screening on marketed drugs and its metabolites. The identified and available drugs and compounds were further confirmed with in vitro DAAO enzymatic inhibitory assay.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（2）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

作為D-胺基酸氧化酶抑制劑之已知化合物之用途

USE OF KNOWN COMPOUNDS AS D-AMINO ACID OXIDASE INHIBITORS

【技術領域】

本發明係關於D-胺基酸氧化酶(DAAO)抑制劑。具體而言，本發明係關於選擇已知化合物作為DAAO抑制劑。

【先前技術】

已報導麩胺酸鹽傳遞對N-甲基-D-天冬胺酸(NMDA)受體之異常調控機制為精神分裂症之神經病理學之一。該受體係由NMDA受體1 (NR1)及NR2之兩個結構亞單位構成之異四聚體。該兩個亞單位之細胞外結構域負責調節及配體結合功能，其中NR1結合共激動劑甘胺酸，且NR2結合神經傳遞質麩胺酸鹽。膜通道結構域負責鈣離子之進入。該受體需要結合NR2亞單位之麩胺酸鹽以活化受體，且對於離子通道之高效開放其需要結合甘胺酸之共激動劑。調節NMDA受體之甘胺酸結合位點可改良精神分裂症中之認知功能及陰性症狀。發現D-胺基酸氧化酶(DAAO)參與NMDA受體之活化過程。DAAO之受質、尤其D-絲胺酸可作為共激動劑結合至NMDA受體之甘胺酸位點。此又可在開放NMDA受體之鈣通道中調控該受體。已發現D-絲胺酸可抑制大鼠海馬神經元中α-胺基-3-羥基-5-甲基-4-異噁唑丙酸(AMPA)受體介導之電流(*Gong, X. Q.* 等人, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 2007, 85 (5), 546-55*)。因此，假設DAAO與精神分裂症之發病機制相關。由於NMDA受體亦參與情感病症(*Raster, M. P.*等人, 5

Pharmacological reports : PR 2012, 64 (3), 706-13)，故抑制DAAO可提升NMDA之功能並改良精神分裂症之症狀及抑鬱情感病症*(Hashimoto, K.等人, European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience 2013)*。

精神分裂症係毀滅性的精神病症，其折磨約1%之世界人口。與此病症相關之直接及間接損失使得該病症之費用極大*(Abbott A. Nature, 2010; 468: 158-9)*。臨床上，精神分裂症之特徵主要在於陽性症狀(包括妄想及幻覺)、陰性症狀(例如情感遲鈍、興致缺乏及社會隔離)及認知缺陷(例如執行功能損害、注意力損害及工作記憶損害)。關於源於抗精神病藥物治療之精神分裂症病理生理學之初始且最常見的假設係多巴胺(dopamine)假設，尤其對於陽性症狀之治療而言*(Howes, O.D; Kapur, S, Bulletin, 2009, 35(3), 549-62; Madras, B.K, Journal of the History of the Neurosciences, 2013, 22(1), 62-78)*。與陽性症狀相反，陰性症狀及認知缺陷直至最近才獲得相當大的關注。不幸地，可用的抗精神病藥物對於改良陰性症狀亦及認知缺陷相對無效。在首次發現抗精神病藥物達半個多世紀之後，該領域發現其本身不僅需要替代醫藥且亦需要替代靶標，尤其對於陰性及認知症狀而言*(Abbott A. Nature, 2010; 468: 158-9)*。

作為基於神經傳遞質之理論之起始點，N-甲基-D-天冬胺酸鹽受體(NMDAR)介導之信號傳導路徑之功能不足與相關的學習、社交損害、長期增強及各種類型之學習及記憶累積相關*(Riedel G, Platt B, Micheau Behavioural Brain Res. 2003;140:1-47)*。藉由以下觀察證實精神分裂症中NMDAR系統之涉及：NMDAR拮抗劑(亦即，苯環己派啶(phencyclidine，PCP)及氯胺酮(ketamine))誘導之類似於精神分裂症之陰性症狀及認知功能障礙表明NMDAR可能尤其與精神分裂症之持久性差預後結果形式相關*(Moghaddam B, Javitt D.*

Neuropsychopharmacology, 2012; 37: 4-15)。但仍不清楚麩胺酸能功能障礙對精神分裂症之病因學之效應，積聚研究亦表明麩胺酸能神經傳遞之失調可參與精神分裂症之病理生理學*(Goff DC, Coyle JT.Am J Psychiatry, 2001; 158: 1367-77; Moghaddam B. Neuron, 2003; 40: 881-4; Lin CH, Lane HY, Tsai GE.Pharmacol Biochem Behav, 2012; 100: 665-77)*。在NMDAR模型之最簡單版本中，治療之主要目標應為恢復NMDAR本身或除NMDAR外之其他靶標處之功能*(Moghaddam B, Javitt D. Neuropsychopharmacology, 2012; 37: 4-15)*。因此，精神分裂症患者中麩胺酸能傳遞之功能不足係治療之潛在靶標，且已認為增強NMDAR功能之藥物為潛在療法*(Lin CH, Lane HY, Tsai GE. Pharmacol Biochem Behav, 2012; 100: 665-77)*。NMDAR係異聚複合物，其含有NR1、NR2及NR3亞單位。NMDAR亦含有麩胺酸鹽識別位點(於NR2亞單位中)及甘胺酸調節位點(於NR1亞單位中)。麩胺酸鹽及甘胺酸皆係NMDAR之激動劑*(Clements JD, Westbrook GL. Activation kinetics reveal the number of glutamate and glycine binding sites on the N-methyl-d-aspartate receptor. Neuron, 1991; 7: 605-613)*。由於對NMDAR之麩胺酸鹽結合位點之直接刺激可產生興奮毒性神經元死亡，故藉由靶向NMDAR之甘胺酸位點或D-絲胺酸位點來增強NMDAR功能可能較有益。一個有前景之靶標係D-胺基酸氧化酶(DAO, DAAO)，該酶係代謝D-絲胺酸(內源性NMDAR之共激動劑)之黃素酶。因此，其可調節NMDAR功能且可有助於精神分裂症中廣泛假設之NMDAR信號傳導涉及。同樣，來自三種證據之積聚資料支持此可能性(*L Verrall, PWJ Burnet, JF Betts及PJ Harrison, Mol Psychiatry. 2010年2月; 15(2): 122-137*)。(1) 在若干而非所有研究中，DAO顯示與病症具有遺傳相關性；(2) 在精神分裂症中，DAO之表現及活性有所增加；及(3) 在齧齒動物中，DAO之失活引起行為及

生物化學效應，表明潛在治療益處。由於認為NMDAR功能障礙參與精神分裂症之陽性、陰性及認知症狀，故人們對研發對於治療精神分裂症之陰性及認知症狀有效且具選擇性的DAO抑制劑極為感興趣 *(Sean MSmith, Jason M Uslaner及Peter HHutson, Open Med Chem J. 2010; 4: 3-9)*。

已報導NMDA受體增強劑具有以下適應症：(i) 治療精神分裂症及情感性精神分裂症之所有症狀範圍，包括陰性、認知、抑鬱、陽性及一般精神病理學症狀範圍 *(Tsai, G.E.及P.Y. Lin, Curr Pharm Des, 2010. 16(5):第522-37頁；及Singh, S.P.及V. Singh, CNS Drugs, 2011. 25(10): 第859-85頁);* (ii) 治療抑鬱(Huang, C.C., 等人, Biol Psychiatry, 2013. 74(10): 第734-41頁); (iii) 治療帕金森氏病(Parkinson's disease) (Gelfin, E.,等人, Int J Neuropsychopharmacol, 2012. 15(4): 第543-9頁；(iv) 治療妥瑞氏症候群(Tourette Syndrome) (Singer, H.S., C. Morris及M. Grados, Med Hypotheses, 2010. 74(5): 第862-7頁)；(v) 治療輕度認知損害(MCI)及阿茲海默病(Alzheimer disease，AD) (Lin, C.H.,等人, Biol Psychiatry, 2014. 75(9): 第678-85頁)；(vi) 治療創傷後壓力病症(PTSD) (Heresco-Levy, U.等人, Int J Neuropsychopharmacol, 2009. 12(9): 第1275-82頁；Difede, J.等人, Neuropsychopharmacology, 2014. 39(5): 第1052-8頁)；(vii) 治療強迫行為病症(OCD) (Wu, P.L.等人, J Clin Psychopharmacol, 2011. 31(3): 第369-74頁；及Wilhelm, S.等人, Am J Psychiatry, 2008. 165(3): 第335-41頁；quiz 409)；(viii) 痛覺缺失(Gong, N.等人, Neuropharmacology, 2012. 63(3): 第460-8頁)。

D-絲胺酸係NMDA受體之變構甘胺酸結合位點處之完全激動劑，且據報導可改良精神分裂症 *(Ferraris, D. V. 等人, Current pharmaceutical design 2011, 17 (2), 103-11)*及抑鬱*(Hashimoto, K.等人,*

*European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience 2013)*中之陰性、認知症狀及標準D2拮抗劑未能充分解決之症狀。抑制DAAO可直接增加大腦D-絲胺酸含量，因此可潛在地用於精神分裂症療法*(Miyamoto, S.等人, Molecular psychiatry 2012, 17 (12), 1206-27；Sacchi, S.等人, Current pharmaceutical design 2012；Ono, K.等人, Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996) 2009, 116 (10), 1335-47)*及甚至進一步情感病症。

已知的DAAO抑制劑包括苯甲酸、吡咯-2-甲酸及吲哚-2-甲酸。文獻中已闡述用於治療神經變性疾病及神經毒性損傷之吲哚衍生物且具體而言某些吲哚-2-甲酸酯。EP 396124揭示用於治療或管控由CNS病症或創傷事件引起之神經毒性損傷或者治療或管控神經變性疾病之吲哚-2-甲酸酯及衍生物。美國專利第5,373,018號、第5,374,649號、第5,686,461號、第5,962,496號及第6,100,289號揭示使用吲哚衍生物治療神經毒性損傷及神經變性疾病。WO 03/039540揭示DAAO抑制劑(包括吲哚-2-甲酸)及增強學習、記憶及認知之方法，以及治療神經變性病症之方法。專利申請案第WO/2005/089753號揭示苯并異噁唑類似物及治療精神病症(例如精神分裂症)之方法。最近，已報導諸如AS057278 (5-甲基吡唑-3-甲酸) *(Adage, T.等人, Eur Neuropsychopharmacol 2008, 18 (3), 200-14)*、CBIO (6-氯苯并[d]異噁唑-3-醇) (*Ferraris, D.等人, J Med Chem 2008, 51 (12), 3357-9)*及來自Merck之4H-噻吩并[3,2-b]吡咯-5-甲酸*(Smith, S. M.等人, J Pharmacol Exp Ther 2009, 328 (3), 921-30)*等化合物具有DAAO抑制效應。

業內需要研發具有DAAO抑制效應之候選藥物以治療各種神經及身體病症。

【圖式簡單說明】

圖1顯示5-O-去甲基-奧美拉唑(5-O-Desmethyl-Omeprazole)之結構。

分析。(a)與3-羥基喹啉-2(1H)-酮結合模式之比較。(b)結合有DAAO-FAD複合物之5-O-去甲基-奧美拉唑(c) 5-O-去甲基-奧美拉唑之2D結構(d) 用於結合5-O-去甲基-奧美拉唑之殘基。綠色卡通圖(carton)顯示DAAO結構。粉色、藍色及黃色棒分別展示FAD、3-羥基喹啉-2(1H)-酮及5-O-去甲基-奧美拉唑。紫色線係與5-O-去甲基-奧美拉唑相互作用之殘基。黃色虛線係氫鍵結相互作用。

圖2顯示所選藥物之IC_{50}。

圖3顯示注射RS-D7可增加小鼠之傷害感受功能(A及B)及感覺運動門控功能(C)。

圖 4 顯示注射 RS-D7 可減輕注射有甲基安非他命(methamphetamine) (3 mg/kg)之ICR小鼠之感覺運動門控缺陷。

圖5顯示在(A)蔗糖偏好性測試、(B及C)熱板測試及(D)前脈衝抑制中在小鼠中注射RS-D7可減輕MK-801 (0.2 mg/kg)誘導之行為缺陷。

【實施方式】

本發明係基於發現已知藥物及化合物作為潛在DAAO抑制劑(即藥物再利用)之主意，利用藥物數據庫實施基於結構之虛擬篩選。本發明利用虛擬篩選策略來尋求目前市場之藥物作為抗精神分裂症療法，即藥物再利用。藥物再利用策略發現既有藥物原本醫學適應症以外的新用途。由於已知藥物通常具有可接受之安全性及藥物動力學特性，故發現該等藥物之新的適應症將使有需要之患者更早的受益於潛在新療法。在吾人之工作中，應用再利用策略以發現DAAO抑制劑作為新的精神分裂症療法，此係針對出售藥物及其代謝物利用虛擬篩選來實施。利用活體外DAAO酶抑制分析進一步證實經鑑別且可用之藥物及化合物。

除非另有說明，否則此申請案中所使用之所有科學及技術術語

皆具有業內通常使用之含義。如此申請案中所使用，以下詞語或片語具有所指定之含義。

術語「一(a及an)」係指一個或一個以上(亦即，至少一個)的該冠詞之文法受詞。

除非明確指示僅指替代或除非替代互相排斥，否則術語「或」係指「及/或」。

術語「個體」包括活的有機體，例如人類、猴、母牛、綿羊、馬、豬、牛、山羊、狗、貓、小鼠、大鼠、培養細胞及其基因轉殖物種。在較佳實施例中，個體係人。

術語「投與」包括容許本發明活性成分實施其預期功能之投與途徑。

術語「治療(treat或treatment)」係指降低疾病或病況之效應之方法。治療亦可指降低疾病或病況本身之根本病因而非僅症狀之方法。治療可為自原來含量之任何降低且可為(但不限於)疾病、病況或疾病或病況之症狀之完全消除。

術語「預防(prevent、prevention或preventing)」意指與靶標疾病相關之症狀之抑制或防止。

片語「治療有效量」係指以適用於任一醫學治療之合理益處/風險比有效產生期望治療效應之化合物、材料或包含本發明化合物之組合物之量。

術語「神經病症」係指哺乳動物之中樞或周邊神經系統之任一不希望有的病況。術語「神經病症」包括神經變性疾病(例如，阿茲海默病、帕金森氏病及肌肉萎縮性脊髓側索硬化)、神經精神病學疾病(例如精神分裂症及焦慮，例如一般性焦慮病症)。例示性神經病症包括MLS (小腦性運動失調)、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、唐氏症候群(Down syndrome)、多發性梗塞失智、癲癇狀態、挫傷性損

傷(例如脊髓損傷及頭部損傷)、病毒感染誘導之神經變性(例如AIDS、腦病變)、癲癇、良性健忘、閉合性顱腦損傷、睡眠病症、抑鬱(例如，雙極性病症)、失智、運動病症、精神病、酒精中毒、創傷後壓力病症及諸如此類。「神經病症」亦包括與該病症相關之任一不希望有的病況。例如，治療神經變性病症之方法包括治療與神經變性病症相關之記憶及/或認知喪失喪失之方法。該方法亦可包括治療或預防特徵在於神經變性病症之神經元功能喪失。

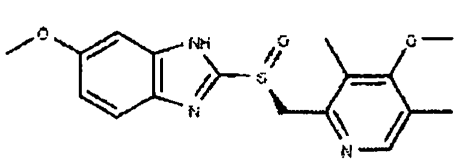
在一個態樣中，本發明提供治療及/或預防個體之與DAAO抑制相關之疾病之方法，其包含向個體投與有效量之化合物選自由以下組成之群：埃索美拉唑(esomeprazole)、奧氮平(olanzapine)、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹(amodiaquin)、度洛西汀(duloxetine)、納布啡(nalbuphine)及N-去甲基氯氮平(N-desmethylclozapine)或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。

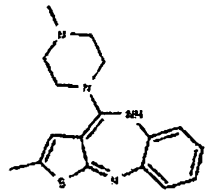
在其他態樣中，本發明提供抑制個體中麩胺酸鹽傳遞對N-甲基-D-天冬胺酸(NMDA)受體之異常調控機制之方法，其包含向個體投與有效量之選自由以下組成之群之化合物：埃索美拉唑、奧氮平、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹、度洛西汀、納布啡及N-去甲基氯氮平或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。因此，本發明提供選自由以下組成之群之化合物之用途：埃索美拉唑、奧氮平、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯

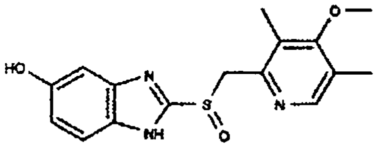
基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹、度洛西汀、納布啡及N-去甲基氯氮平或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物，其用於製造用以抑制個體中麩胺酸鹽傳遞對N-甲基-D-天冬胺酸(NMDA)受體之異常調控機制之醫藥。

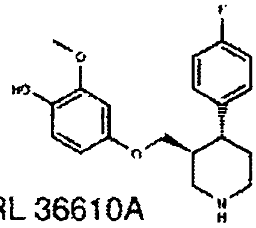
在其他態樣中，本發明提供抑制個體中N-甲基-D-天冬胺酸鹽受體(NMDAR)介導之信號傳導路徑之功能不足之方法，其包含向個體投與有效量之選自由以下組成之群之化合物：埃索美拉唑、奧氮平、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹、度洛西汀、納布啡及N-去甲基氯氮平或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。因此，本發明提供選自由以下組成之群之化合物之用途：埃索美拉唑、奧氮平、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹、度洛西汀、納布啡及N-去甲基氯氮平或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物，其用於製造用以抑制個體中N-甲基-D-天冬胺酸鹽受體(NMDAR)介導之信號傳導路徑之功能不足之醫藥。

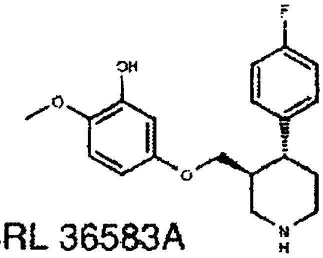
下文列示上文所提及化合物之結構：

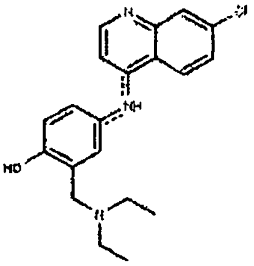

埃索美拉唑

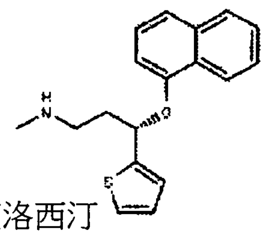

奧氮平

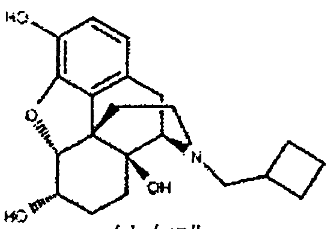

5-O-去甲基-奧美拉唑

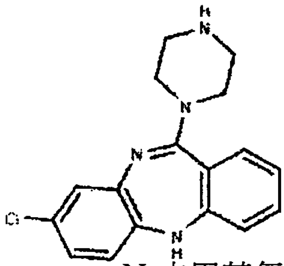

BRL 36610A


BRL 36583A


胺酚喹


度洛西汀


納布啡


N-去甲基氯氮平

本發明化合物可用於治療或預防任何疾病及/或病況，其中調節D-絲胺酸含量及/或其氧化產物可有效改善症狀。抑制酶可使得增加D-絲胺酸含量及減少毒性D-絲胺酸氧化產物之形成。因此，本發明提供治療或預防神經病症之方法及增強學習、記憶及/或認知之方法。本發明亦提供治療或預防以下之方法：由DAAO抑制介導之疾病；較佳地，精神分裂症及情感性精神分裂症之症狀範圍、抑鬱、妥瑞氏症候群、創傷後壓力病症(PTSD)、強迫行為病症(OCD)、痛覺缺失、與神經變性疾病相關之記憶及/或認知喪失，或特徵在於神經變性疾病之神經元功能喪失。在一些實施例中，精神分裂症及情感性精神分裂症之症狀範圍包括陰性、認知、抑鬱、陽性及一般精神病理學症狀範

圍。在另一實施例中，與DAAO抑制相關之疾病係輕度認知損害(MCI)、阿茲海默病、帕金森氏病或精神分裂症。在一些實施例中，與DAAO抑制相關之疾病係疼痛、運動失調或抽搐。在一些實施例中，本發明化合物可用於治療或預防與神經變性疾病相關之記憶及/或認知喪失(例如，阿茲海默病及精神分裂症)並預防特徵在於神經變性疾病之神經元功能喪失。另外，提供治療或預防疼痛、運動失調及抽搐之方法。

在一些實施例中，本文所闡述化合物之有效量在2 mg/kg體重至5 g/kg體重之範圍內；較佳地，10 mg/kg體重至3 g/kg體重或20 mg/kg體重至2 g/kg體重。

醫藥上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑及/或鹽意指載劑、稀釋劑、賦形劑及/或鹽必須與活性成分相容，不會不利地影響活性成分之治療益處，且對其接受者無害。

可藉由全身及/或局部(例如，在骨折、截骨術或矯形外科手術之位點)遞送化合物之任一方法投與活性成分或其醫藥組合物以實踐本發明。該等方法包括經口途徑、非經腸途徑、十二指腸內途徑等。

對於局部施加，可將活性成分或其醫藥組合物調配成含有懸浮或溶解於一或多種載劑中之活性組份之適宜軟膏。用於局部投與活性成分或其醫藥組合物之載劑包括(但不限於)：礦物油、液體石蠟脂、白石蠟脂、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蠟、糖(例如乳糖)及水。另一選擇為，可將醫藥組合物調配成含有懸浮或溶解於一或多種醫藥上可接受之載劑中之活性組份或其醫藥組合物的適宜洗劑或乳霜中。適宜載劑包括(但不限於)礦物油、山梨醇酐單硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六烷基酯蠟、鯨蠟醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇及水。

端視欲治療之病況、病症或疾病而定，可連同活性成分或其醫

藥組合物一起投與其他治療劑。彼等其他藥劑可作為多劑量方案之一部分以任一順序依序自活性成分或其醫藥組合物投與(連續或間歇投與)。另一選擇為，彼等藥劑可為單一劑型之一部分，與活性成分或其醫藥組合物混合在一起(同時或併行投與)。

對於經口投與，可用於本發明中之醫藥組合物可採取以下形式：溶液、懸浮液、錠劑、丸劑、膠囊、粉末、顆粒、半固體、持續釋放型調配物、酏劑、氣溶膠及諸如此類。含有各種賦形劑(例如檸檬酸鈉、碳酸鈣及磷酸鈣)之錠劑可連同各種崩解劑(例如澱粉(較佳地馬鈴薯或樹薯澱粉)及某些複雜矽酸鹽)一起、連同結合劑(例如聚乙烯吡咯啶酮、蔗糖、明膠及阿拉伯膠)一起使用。另外，潤滑劑(例如硬脂酸鎂、月桂基硫酸鈉及滑石粉)通常極可用於壓錠目的。亦採用相似類型之固體組合物作為軟填充及硬填充明膠膠囊中之填充劑；就此而言，較佳材料亦包括乳糖或牛乳糖以及高分子量聚乙二醇。當期望經口投與水性懸浮液及/或酏劑時，可將本發明之活性成分或其醫藥組合物與各種甜味劑、矯味劑、著色劑、乳化劑及/或懸浮劑以及稀釋劑(例如水、乙醇、丙二醇、甘油及其各種組合)組合。

本文所用術語「非經腸」係指包括靜脈內、肌肉內、腹膜腔內、胸骨內、皮下、脊髓內及關節內注射及輸注之投與模式。非經腸注射之醫藥組合物可包含醫藥上可接受之無菌水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液以及在即將使用前重構成為無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末。水性溶液尤其適於靜脈內、肌內、皮下及腹膜腔內注射目的。就此而言，所用無菌水性介質皆易於藉由熟習此項技術者眾所周知之標準技術獲得。適宜水性及非水性載劑、稀釋劑、溶劑或媒劑之實例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇及諸如此類)、羧甲基纖維素及其適宜混合物、植物油(例如橄欖油)及可注射之有機酯(例如油酸乙酯)。例如，可藉由使用諸如卵磷脂等包覆

材料、藉由維持所需粒徑（在分散液情況下）且藉由使用表面活性劑來維持適當流動性。

可用於本發明中之醫藥組合物亦可含有佐劑，例如(但不限於)防腐劑、潤濕劑、乳化劑及分散劑。微生物作用之預防可藉由納入各種抗細菌及抗真菌劑來確保，例如，對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸及諸如此類。亦可合意地包括等滲劑，例如糖、氯化鈉及諸如此類。可藉由納入延遲吸收之藥劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)達成可注射醫藥形式之延長吸收。

當使用鞘內或硬膜外途徑時，具體而言可用藉由緩慢輸注之投與。業內已知可用於以受控速率遞送化合物之可植入或可安裝在身體上之幫浦之數量。例如參見美國專利第4,619,652號。

除活性化合物外，懸浮液亦可含有懸浮劑，例如乙氧基化異硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇及山梨醇酐酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨潤土、瓊脂及黃蓍膠及其混合物。

出於經皮(例如，局部)投與之目的，製備在其他方面類似於上述非經腸溶液之稀的無菌水性或部分地水性溶液(濃度通常為約0.1%至5%)。

可用於本發明中之醫藥組合物亦可藉由鼻氣溶膠或吸入投與。該等組合物可根據醫藥調配領域熟知之技術來製備且可製備為鹽水溶液，其採用苯甲醇或其他適宜防腐劑、吸收促進劑（用於增強生物可用性）、氟碳化合物及/或其他習用增溶劑或分散劑。

用於經直腸或經陰道投與之組合物較佳為栓劑，其可藉由將活性成分或其醫藥組合物與適宜無刺激性賦形劑或載劑（例如可可脂、聚乙二醇或栓劑蠟）混合來製備，該等賦形劑或載劑在室溫下為固體但在體溫下為液體，且因此可在直腸或陰道腔內融化並釋放藥物。

其他醫藥上可接受之載劑包括(但不限於)無毒固體、半固體或液

體填充劑、稀釋劑、囊封材料或任一類型之調配助劑，包括(但不限於)離子交換劑、氧化鋁、硬脂酸鋁、卵磷脂、血清蛋白(例如人類血清白蛋白)、緩衝物質(例如磷酸鹽)、甘胺酸、山梨酸、山梨酸鉀、飽和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、鹽或電解質(例如硫酸魚精蛋白、磷酸氫二鈉、磷酸氫鉀、氯化鈉、鋅鹽、膠質二氧化矽、三矽酸鎂、聚乙烯基吡咯啶酮、基於纖維素之物質、聚乙二醇、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸酯、蠟、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段共聚物、聚乙二醇及羊毛脂。

固體醫藥賦形劑包括(但不限於)澱粉、纖維素、滑石粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、稻、麵粉、白堊、矽膠、硬脂酸鎂、硬脂酸鈉、甘油單硬脂酸酯、氯化鈉、脫脂乳粉及諸如此類。液體及半固體賦形劑可選自甘油、丙二醇、水、乙醇及各種油，包括石油、動物油、植物油或合成來源之油，例如，花生油、大豆油、礦物油、芝麻油等。較佳液體載劑、尤其可注射溶液包括水、鹽水、右旋糖水溶液及二醇。

熟習此項技術者已知或根據本發明將明瞭製備具有某一量之活性成分之各種醫藥組合物之方法。其他適宜醫藥賦形劑及其調配物闡述於Remington's Pharmaceutical Sciences, E. W. Martin編輯, Mack Publishing Company, 第19版, 1995年中。

在其他態樣中，本發明提供選擇DAAO抑制劑之方法，其包含選擇藥物數據庫；去除含有金屬原子之化合物及分子量在100 g/mol至700 g/mol範圍外之化合物；選擇與DAAO之Leu51、Gln53、Leu215、His217、Tyr 224、Tyr228、Ile230、Arg283及Gly313中之三個以上殘基相互作用之化合物候選者，及使所選化合物候選者經受抑制活性分析。

本發明方法中可使用任何藥物數據庫。藉由去除含有金屬原子

之分子及分子量在100 g/mol至700 g/mol範圍外之分子將化合物縮減成子組。為評價所選化合物在DAAO之活性位點中之可能的結合模式及相互作用型式，對該等化合物實施MSD。根據MDS之結果，分析在DAAO附近靠近每一化合物之殘基。根據文獻，DAAO之活性位點含有以下殘基：Leu51、Gln53、Leu215、His217、Tyr 224、Tyr228、Ile230、Arg283及Gly313。將附近在3 Å距離內具有三個以上上文所提及殘基之分子視為候選者。藉由實施本發明之選擇方法獲得本文所提及之DAAO抑制性化合物。

實例

實例1 DAAO抑制劑材料之選擇

D-丙胺酸、3-(4-羥基苯基)丙酸(HPPA)、豬腎DAAO、過氧化物酶、Tris-base、埃索美拉唑、N-去甲基氯氮平、納布啡及胺酚喹係購自Sigma-Aldrich公司LLC. (Sigma-Aldrich, USA)。Tris-HCl鹽係購自invitrogen (Life Technologies公司, USA)。5-O-去甲基-奧美拉唑及奧氮平係購自Toronto Research Chemicals (Canada)。PM-BRL 36583A及PM-BRL 36610A來自GlaxoSmithKline (United Kingdom)。度洛西汀係購自Sequoia Research Products (United Kingdom)。黑色96孔板係購自Nunc (Thermo Scientific, USA)。

虛擬篩選

自蛋白質數據庫獲得DAAO晶體結構*(Schnell, E.; Sizemore, M.; Karimzadegan, S.; Chen, L.; Bredt, D. S.; Nicoll, R. A., Direct interactions between PSD-95 and stargazin control synaptic AMPA receptor number. Proc Natl Acad Sci US A 2002, 99 (21), 13902-7)* (PDB id: 3G3E)。使用來自DrugBank (DrugBank **http://www.drugbank.ca/**)及在國內收集之藥物代謝物及化合物之總共1463種化合物進行虛擬篩選。藉由去除含有金屬原子之分子及分子量在100 g/mol至700 g/mol

範圍外之分子將該等化合物縮減成子組。將總共1367種化合物之結果進行預選用於以下步驟。使用ChemAxon之mmff94*(Halgren, T. A., Merck molecular force field . 1. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. J Comput Chem 1996, 17 (5-6), 490-519)*力場幾何學上最佳化該等化合物*(Weber, L., JChem Base – ChemAxon. Chem World-Uk 2008, 5 (10), 65-66)*。DAAO晶體結構僅保持單體。使用MGL工具包(MGL工具包，***http://mgltools.scripps.edu/)***在DAAO晶體結構中去除水並添加氫。在晶體複合物中去除化合物3-羥基喹啉-2(1H)-酮同時保留輔因子FAD。使用MGL工具包(MGL工具包.***http://mgltools.scripps.edu/)***指派化合物部分電荷。使用AutoDock Vina將總共1367種化合物嵌合成DAAO-FAD複合物(*Trott, O.; Olson, A. J., Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. J Comput Chem 2010, 31 (2), 455-461)*複合物，且嵌合分值係基於AMBER力場 (*Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. 1.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A., A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules (第117卷, 第5179頁, 1995). J Am Chem Soc 1996, 118 (9), 2309-2309)*。嵌合盒為在DAAO晶體結構中中心配位為(10.932, -36.407, 31.470)之20 Å正方形。窮盡值(研究花費之時間)之設定為8。選擇具有最有利嵌合分值之前100種化合物來參加MDS步驟。

分子動力學模擬(MDS)

吾人針對每一化合物選擇具有最低能量之結合模式且藉由使用GROMACS版本4.5.2及GROMOS 53A6力場*(Oostenbrink, C; Soares, T.*

*A.; van der Vegt, N F. A.; van Gunsteren, W. F., Validation of the 53A6 GROMOS force field. Eur Biophys J Biophy 2005, 34 (4), 273-284)*實施MDS過程。將蛋白質結構置於SPC216型水分子之簡單立方週期盒中，且將蛋白質與盒每一邊之間之距離設為0.9 nm。為維持整體靜電中性及等滲條件，將Na^+及Cl^-離子隨機放置在此溶劑化盒內。為維持適當結構並去除不利的範德華接觸(van der Waals contact)，採用使用最陡下降演算法之1000步能量最小化，其中步驟間差值之能量最小化收斂準則為小於1000 kJ mol^{-1} nm^{-1}。在能量最小化後，在恒溫(300 K)、壓力(1 atm)及0.001 ps (1 fs)之時間步長下且每1000步記錄系統之坐標，使系統經受1ns分子動力學模擬。

DAAO酶分析

根據Oguri等人*(Oguri, S., Screening of d-amino acid oxidase inhibitor by a new multi-assay method. Food chemistry* ***2007,*** *100 (2), 616)*之報導修改DAAO酶活性分析。藉由使用受質D-丙胺酸反應產生之過氧化氫(H_2O_2)進一步與3-(4-羥基苯基)丙酸(HPPA)發生反應來量測DAAO活性。藉由H_2O_2及過氧化物酶氧化HPPA以變成螢光二聚體，該二聚體經量測以代表DAAO之活性。在50 mM D-丙胺酸(溶解於0.2 M Tris-HCl緩衝液(pH 8.3)中)中製備DAAO之受質。將100 μl D-丙胺酸溶液與以下混合：4 μl (100%)具有在31.36 nM、94.08 nM、0.28 μM、0.85 μM、2.54 μM、7.62 μM、22.86 μM、68.59 μM、0.21 mM、0.62 mM、1.85 mM、5.56 mM、16.67 mM及50.00 mM範圍內之不同藥物濃度的二甲亞碸(DMSO)，其中每一反應濃度中之最終DMSO濃度為0.167 %。在黑色96孔板中在37℃下利用220 μl反應主混合將10 μl D-丙胺酸及藥物混合物培育5分鐘。對於110個反應分析，反應主混合含有110 μl 5 U/mL豬腎DAAO (Sigma-Aldrich, USA)溶液(利用0.2 M Tris - HC1緩衝液(pH 8.3)溶解)、1.1 mL 15 U/mL過氧化物 S

酶溶液(利用0.2 M Tris-HCl緩衝液(pH 8.3)溶解)、1.1 mL 20 mM HPPA溶液(利用0.2 M Tris-HCl緩衝液(pH 8.3)溶解)及2.2 ml 2 M Tris-HCl緩衝液(pH 8.3)。

藉由320 nm下之輻照激發在405 nm下量測螢光強度(Fs)。DAAO酶活性愈高，螢光強度愈高。自以下等式獲得螢光抑制指示物(Fi)：Fi = (Fs- $F_{藥物}$)/ (F_{DMSO})。其中在藥物混合物溶液(使用0.2 M Tris HCl緩衝液, pH 8.3, 不含D-丙胺酸)中量測螢光藥物空白對照($F_{藥物}$)。在100% DMSO溶液中量測DMSO空白對照(F_{DMSO})。但是，在D-胺基酸氧化酶之分析中，反應混合物中通常包括FAD，此乃因此輔助因子易於自全酶解離，本發明方法係在無FAD下實施。藉由使用降低50%之DAAO活性之抑制濃度(IC_{50})比較DAAO抑制劑之抑制效應。藉由GraphPad Prism第5版軟體(GraphPad Software公司, La Jolla, CA) (GraphPad Prism 5, GraphPad software公司: California, USA)藉助非線性回歸模型計算IC_{50}值。

結果

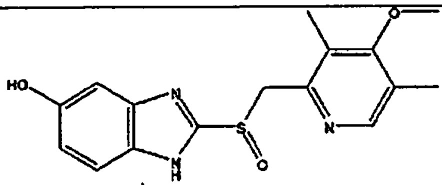
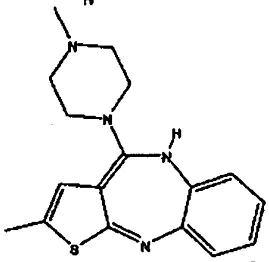
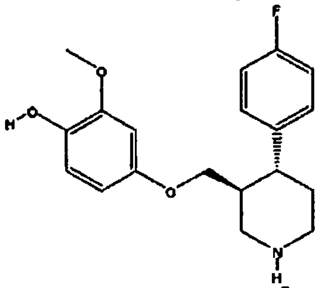
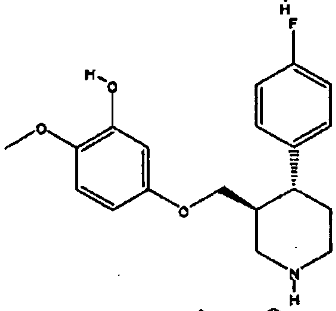
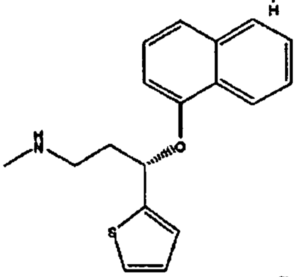
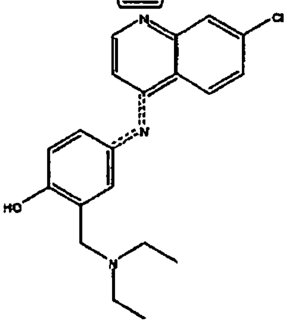
候選化合物之選擇。為評價100種所選化合物在DAAO之活性位點中之可能的結合模式及相互作用型式，對該等化合物實施MSD。使用GROMOS 53A6力場*(Oostenbrink, C; Soares, T. A.; van der Vegt, N. F. A.; van Gunsteren, W. F., Validation of the 53A6 GROMOS force field. Eur Biophys J Biophy 2005, 34 (4), 273-284)及*SPC216型水分子模擬複雜系統。若系統不為靜電中性條件，則應添加Na^+或Cl^-。根據MDS之結果，分析在DAAO附近靠近每一化合物的殘基。根據文獻，DAAO之活性位點含有以下殘基：Leu51、Gln53、Leu215、His217、Tyr 224、Tyr228、Ile230、Arg283及Gly313。(*Sparey, T*等人，*Bioorg Med Chem Lett* ***2008,*** *18 (11), 3386-91; Kawazoe, T.*等人, *Biochem Bioph Res Co* ***2007,*** *355 (2), 385-391; Duplantier, A. J.*等人, *J Med*

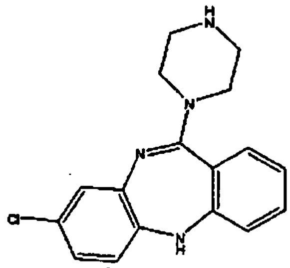
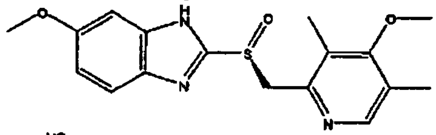
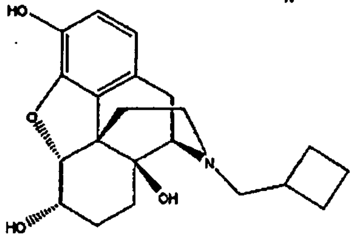
Chem ***2009****, 52 (11), 3576-3585)*。將附近在3 Å距離內具有三個以上上文所提及殘基之分子視為候選者。可自商業來源獲取9個候選者以進行測試並繼續進行活體外研究。化合物之名稱及結構以及其IC_{50}列示於**表1**中。

實驗評估。在藉由320 nm下之輻照激發在405 nm下量測之螢光強度(Fs)下測試化合物。在利用不同的苯甲酸鈉濃度培育後之DAAO酶活性顯示，IC_{50} (降低50%之DAAO活性之苯甲酸鈉濃度)為約71.74 μM (95%信賴區間，在62.67 μM至82.13 μM之範圍內)。對於其他已知藥物，吾人亦實施酶分析以驗證IC_{50}。每一已知藥物之IC_{50}顯示於**表1**中且在圖2中繪製IC_{50}之曲線。DAAO酶活性愈高，螢光強度愈高。所有9種化合物之IC_{50}值皆位於微莫耳範圍內。證實5種化合物具有抑制活性，且IC_{50}值在1μM至10 μM之範圍內。5種藥物再利用候選者為5-O-去甲基-奧美拉唑、奧氮平、PM-BRL 36583A、PM-BRL 36610A及度洛西汀。其中，在酶分析測試中5-O-去甲基-奧美拉唑具有最好的抑制，且IC_{50}值為1.19 μM。5-O-去甲基-奧美拉唑係奧美拉唑之代謝物，其因其在治療消化不良、消化性潰瘍疾病及胃食道逆流疾病中之治療用途而為人所知。

S

表1.藉由化合物之DAAO IC

等級	化合物名稱	結構	IC_{50} (μM)
1	5-O-去甲基-奧美拉唑(RS-D7)		1.185
2	奧氮平		3.278
3	PM-BRL36610A		3.45
4	PM-BRL 36583A		3.669
5	度洛西汀		5.469
6	胺酚喹		97.62

7	N-去甲基氯氮平		102.4
8	埃索美拉唑		106
9	納布啡		120.9

DAAO-FAD結構下之5-O-去甲基-奧美拉唑之嵌合及相互作用研究。先前研究指示若干抑制劑具有來自PDB之可獲得DAAO-FAD-化合物晶體複合物(*Schnell, E.;等人, Proc Natl Acad Sci USA* ***2002, 99*** *(21), 13902-7)*，例如，亞胺基-DOPA (*Kawazoe, T.等人, Biochem Bioph Res Co 2007, 355 (2), 385-391)*、3-羥基喹啉-2(1H)-酮*(Duplantier, A. J.等人, J Med Chem* ***2009,*** *52 (11), 3576-3585)及*4H-氟[3,2-b]吡咯-5-甲酸*(Sparey, T.等人; Bioorg Med Chem Lett* ***2008,*** *18 (11), 3386-91)*。其PDB id分別為2E82、3G3E及3CUK。根據結構分析，3種化合物位於FAD附近。關鍵相互作用可能源於殘基Leu51、Gln53、Leu215、His217、Tyr 224、Tyr228、Ile230、Arg283及Gly313。而且，大多數關鍵殘基可與除Leu51、Leu215及Ile230外之化合物形成氫鍵。*(Sparey, T.等人, Biochem Bioph Res Co* ***2007,*** *355 (2), 385-391; Duplantier, A. J.等人, J Med Chem* ***2009,*** *52 (11), 3576-3585)*

吾人分析DAAO-FAD-5-O-去甲基-奧美拉唑複合物之嵌合及MDS結果，如**圖1**中所顯示。**圖1(a)**中展示5-O-去甲基-奧美拉唑及3-羥基喹啉-2(1H)-酮之相對結合姿態及位置*(Duplantier, A. J.等人, J Med*

Chem 2009, 52 (11), 3576-3585) (其係自PDB晶體結構獲得)。在圖1(a)中，3-羥基喹啉-2(1H)-酮在FAD附近。然而，當5-O-去甲基-奧美拉唑之苯并咪唑部分位於FAD附近時，結合姿態與上文所闡述之化合物不同。5-O-去甲基-奧美拉唑之吡啶環位於遠離FAD之其他區域。在圖**1(b)及(d)**中，殘基與5-O-去甲基-奧美拉唑相互作用且包括於Leu51、Pro54、Leu56、Trpl07、His217、Asp218、Tyr224及Gly313中。其中，Leu56、Trpl07及Tyr224與5-O-去甲基-奧美拉唑形成氫鍵。根據該等分析，吾人表明5-O-去甲基-奧美拉唑之結合模式與3-羥基喹啉-2(1H)-酮不同，且氫鍵亦在複合系統中起重要作用。

實例2 小鼠中之臨床前藥物測試

與人類研究互補，強有力的方法係使用動物模型來鑑別功能因果關係並在具有較少遺傳異質性或沒有遺傳異質性之種群中篩選出潛在化合物。在臨床前藥物測試中，動物模型在醫藥發現及研發工作中提供重要工具*(Everitt J.I, Toxicologic Pathology. 2015, 43(1), 70-7)*。實際上，動物模型不僅在發現及驗證潛在藥物/治療中起不可或缺的作用，且亦提供用以闡明基因與相關症狀間之因果關係之可行方法*(Lai, W.S等人, Current Pharmaceutical Design, 2014, 20(32), 5139-50)*。一方面，健康動物模型可有助於確保治療潛力之品質、效能及安全性*(Lebron, J.A等人, Expert Review of Vaccines, 2005, 4(6), 855-66)*。另一方面，具有特異基因之遺傳改造小鼠或基因轉殖小鼠之生成容許研究者研究活體內精神分裂症易感基因之生物功能。在多巴胺假設中，例如，據報導增加突觸多巴胺含量之安非他命/甲基安非他命會導致正常個體之精神病或使患有精神分裂症之個體中之精神病惡化*(Lieberman, J. A等人, Psychopharmacology (Berl),1987, 91(4), 415-433; Grant, K. M等人, Journal of Neuroimmune Pharmacology, 2012, 7(1), 113-139)*。因此，在小鼠中投與安非他命/甲基安非他命提供用

以進一步研究精神分裂症之病理生理學之良好模型。然而，聚焦於多巴胺系統導致在瞭解精神分裂症之認知功能障礙及陰性症狀之機制中之進展受限(*Miyamoto, S*等人, *Molecular Psychiatry, 2012, 17, 1206-1227)*。因此，為改良對精神分裂症之病理學及症狀學(具體而言認知及陰性症狀)之瞭解，麩胺酸鹽路徑之功能障礙係該疾病之病理生理學背後的顯著機制之一(*Egerton, A*等人, *Current Pharmaceutical Biotechnology, 2012, 13(8), 1500-1512; Moghaddam, B; Javitt, D, Neuropsychopharmacology, 2012, 37(1), 4-15)*。

沿相同路線，積聚研究已顯示NMDA受體拮抗劑(例如苯環己派啶(PCP)及地佐環平(dizocilpine) (MK-801))可在健康個體中產生「精神分裂症樣」症狀(*Javitt, D. C; Zukin, S. R, The American Journal of Psychiatry, 1991, 148, 1301-1308; Krystal, J. H*等人, *Archives of GeneralPsychiatry, 1994, 51, 199-214)*，且在來自精神分裂症患者及具有NMDA拮抗作用之動物模型之屍體組織中觀察到失調之NMDA受體亞單位(*Gunduz-Bruce, H*等人, *Brain Research Reviews, 2009, 60, 279-286; Lisman, J. E*等人, *Trends in Neurosciences, 2008, 31, 234-242)*。根據對限制PCP使用之法律限制，MK-801係較好NMDA拮抗劑，其係結合於NMDA受體之離子通道內部，由此預防離子之流動。此外，新的證據亦展現MK-801能夠誘導與小鼠精神分裂症相關之認知缺陷及陰性症狀(*Neill, J.C; Barnes*等人, *Pharmacology & Therapeutics, 2010, 128(3), 419-32; Bubeníková-Valesová, V*等人, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2008, 32(5), 1014-23)*。值得利用MK-801小鼠精神分裂症模型來顯示現象學有效性，且其適於尋找具有抗精神病藥物效應之新穎物質。

小鼠中RS-D7活體內效力之結果

利用野生型(WT，健康)小鼠及藥理學動物精神分裂症模型(例如

MK-801及甲基安非他命小鼠精神分裂症模型)作為充分確立的動物精神分裂症模型，吾人研究RS-D7 (一種DAO抑制劑)對減輕精神分裂症相關之陰性及認知缺陷之治療潛力。已在健康對照小鼠或藥理學小鼠精神分裂症模型中針對模仿精神分裂症之認知(例如，前脈衝抑制)及陰性症狀(例如，蔗糖偏好性測試及熱板測試)選擇且實施一系列行為任務*(Lai, W.S等人, Current Pharmaceutical Design, 2014, 20(32), 5139-50)*。藥理學動物精神分裂症模型部分地由於臨床表現及對治療之反應之相似性。已在不同程度的測試有效性下評估該等行為任務，以評價小鼠中精神分裂症相關之行為缺陷。使用不同批次之雄性成年C57/B16小鼠，且在別處闡述不同行為任務之細節。

在WT小鼠模型中：

對於小鼠中之精神分裂症樣陰性症狀，使用熱板測試來評價小鼠之基礎性疼痛及傷害感受功能。與WT對照相比，在注射40 mg/kg RS-D7 (腹腔內)後對於55℃熱板測試，小鼠第一反應(亦即，驚跳)之潛伏期有所加速且驚跳次數有所增加(圖3A及圖3B)。該等結果表明注射40 mg/kg RS-D7可增強小鼠之傷害感受功能。

為評價小鼠之精神分裂症樣認知功能，使用前脈衝抑制(PPI)來評估注射RS-D7後之小鼠之感覺運動門控功能。前脈衝抑制(PPI)係較弱預刺激(前脈衝)抑制有機體對後續強的驚人的刺激(脈衝)之反應之神經現象。在一些病症(包括患有精神分裂症之患者)中記錄了PPI之缺陷。與鹽水對照相比，注射20 mg/kg RS-D7 (腹腔內)在78 dB前脈衝下誘導更大PPI (圖3C)。此發現表明，20 mg/kg RS-D7可增強小鼠之感覺運動門控功能。

在甲基安非他命小鼠精神分裂症模型中

甲基安非他命係有效的精神刺激劑，其可增加大腦中細胞外多巴胺之量。甲基安非他命(或安非他命)誘導之精神病模型已經充分確

立且其可用於實驗室動物之精神分裂症中。與DMSO及CBIO對照相比，尤其在74 dB前脈衝下，注射20 mg/kg RS-D7 (腹腔內)可在注射甲基安非他命(3 mg/kg, 腹腔內)之ICR小鼠中誘導更大的PPI (圖4)。此發現表明注射20 mg/kg RS-D7可增強經甲基安非他命治療之小鼠之感覺運動門控功能。

在MK-801小鼠精神分裂症模型中：

MK-801係非競爭性NMDA受體拮抗劑。注射及慢性注射MK-801可提供潛在動物模型以模仿精神分裂症之陰性及認知症狀。C57/B16小鼠接受急性MK-801 (0.2 mg/kg, 腹腔內)投與，且選擇MK-801之劑量以在曠場中避免刻板行為。與鹽水對照相比，在急性MK-801注射後觀察到蔗糖攝取顯著降低。有趣地，注射20 mg/kg RS-D7可拯救小鼠中MK-801誘導之缺陷(圖5A)。此結果表明，在蔗糖偏好性測試中急性注射RS-D7可減輕MK-801誘導之興致缺乏。

對於熱板測試，注射RS-D7亦可分別減少熱板測試中MK-801誘導之潛伏期變更及反應次數(圖5B及圖5C)。對於PPI，如圖5D中所繪示，急性MK-801注射之小鼠展現聲音PPI之顯著降低。重要地，注射40 mg/kg RS-D7可顯著減輕該等小鼠中MK-801誘導之PPI缺陷。該等結果表明RS-D7可使小鼠中MK-801誘導之功能障礙正常化。

總之，來自健康對照小鼠及藥理學小鼠精神分裂症模型之所有發現皆支持，RS-D7可改良或減輕小鼠中精神分裂症相關之陰性及認知症狀。

【符號說明】

無

S

申請專利範圍

1. 一種選擇DAAO抑制劑之方法，其包含選擇藥物數據庫；去除含有金屬原子之化合物及分子量在100 g/mol至700 g/mol範圍外之化合物；選擇與DAAO之Leu51、Gln53、Leu215、His217、Tyr 224、Tyr228、Ile230、Arg283及Gly313中之三個以上殘基相互作用之化合物候選者，及使該等所選化合物候選者經受抑制活性分析。
2. 如請求項1之方法，其中該化合物候選者係選自由以下組成之群：埃索美拉唑(esomeprazole)、奧氮平(olanzapine)、5-O-去甲基-奧美拉唑(5-O-desmethyl-omprazole)、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹(amodiaquin)、度洛西汀(duloxetine)、納布啡(nalbuphine)及N-去甲基氯氮平，或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。
3. 如請求項1之方法，其中該化合物候選者係5-O-去甲基-奧美拉唑或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。
4. 如請求項1之方法，其中該等候選化合物係用於治療或預防與DAAO抑制相關之疾病。
5. 如請求項4之方法，其中該疾病係精神分裂症及情感性精神分裂症之症狀範圍、抑鬱、妥瑞氏症候群(Tourette Syndrome)、創傷後壓力病症(PTSD)、強迫行為病症(OCD)、痛覺缺失、與神經變性疾病相關之記憶及/或認知喪失或特徵在於神經變性疾病之神經元功能喪失。
6. 如請求項5之方法，其中精神分裂症及情感性精神分裂症之該等 S

症狀範圍包括陰性、認知、抑鬱、陽性及一般精神病理學症狀範圍。

7. 如請求項4之方法，其中該疾病係輕度認知損害(MCI)、阿茲海默病(Alzheimer's disease)、帕金森氏病(Parkinson's disease)或精神分裂症。

8. 一種化合物之用途，該化合物選自由以下組成之群：埃索美拉唑、奧氮平、5-O-去甲基-奧美拉唑、(-)-反式4-(4-氟苯基)-3-(3-羥基-4-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶(BRL 36583A)、(-)反式4-(4-氟苯基)-3-(4-羥基-3-甲氧基苯氧基甲基)六氫吡啶-鹽酸鹽(BRL 36610A)、胺酚喹、度洛西汀、納布啡及N-去甲基氯氮平、或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物，其用於製造用以治療及/或預防個體中與DAAO抑制相關之疾病之醫藥。

9. 如請求項8之用途，其中該化合物係5-O-去甲基-奧美拉唑或其治療上可接受之鹽、溶劑合物、前藥或異構物。

10. 如請求項8之用途，其中由DAAO抑制介導之該疾病係精神分裂症及情感性精神分裂症之症狀範圍、抑鬱、妥瑞氏症候群、創傷後壓力病症(PTSD)、強迫行為病症(OCD)、痛覺缺失、與神經變性疾病相關之記憶及/或認知喪失或特徵在於神經變性疾病之神經元功能喪失。

11. 如請求項10之用途，其中精神分裂症及情感性精神分裂症之該等症狀範圍包括陰性、認知、抑鬱、陽性及一般精神病理學症狀範圍。

12. 如請求項8之用途，其中與DAAO抑制相關之該疾病係輕度認知損害(MCI)、阿茲海默病、帕金森氏病或精神分裂症。

13. 如請求項8之用途，其中與DAAO抑制相關之該疾病係疼痛、運動失調或抽搐。

圖式

(a)

圖1

(b)

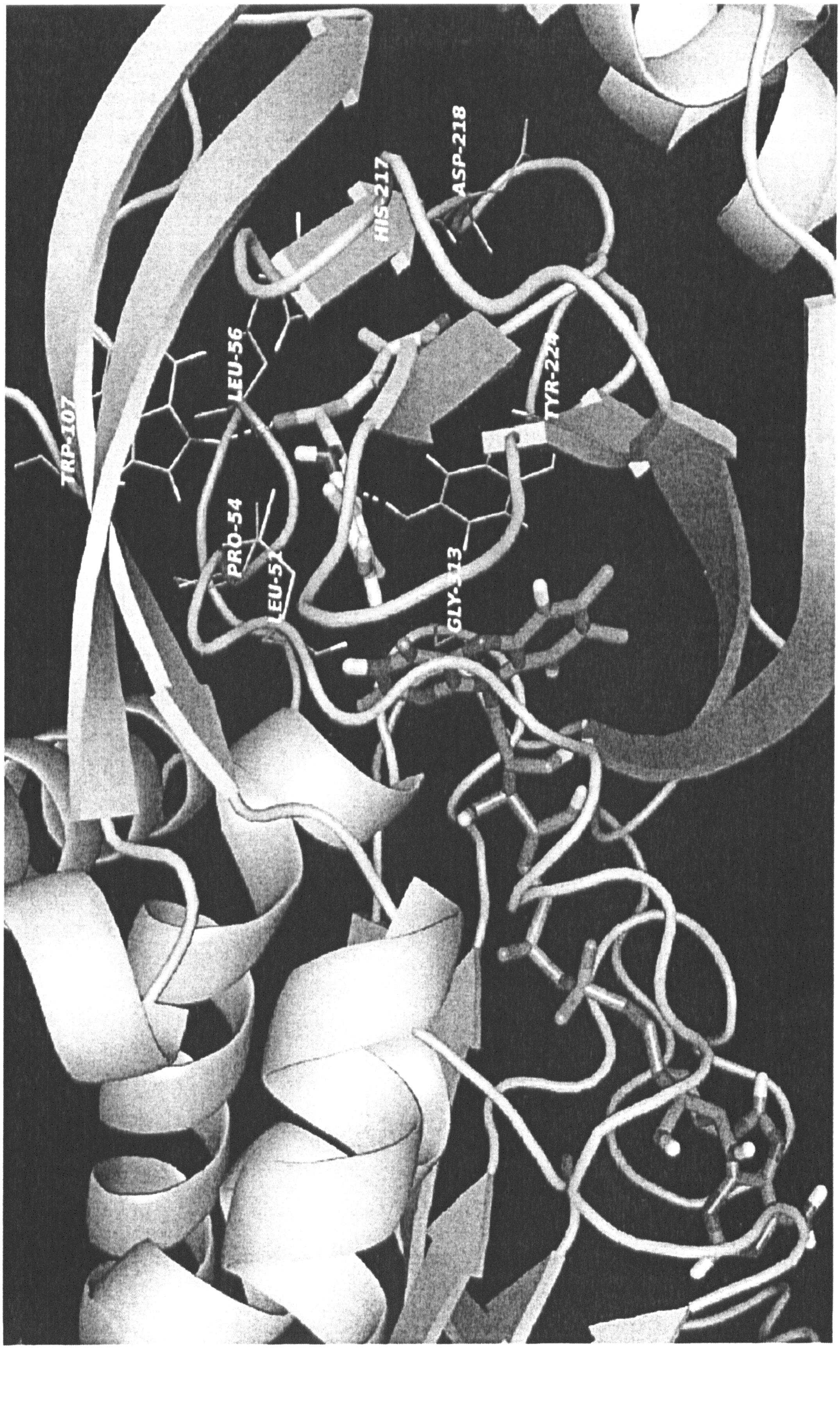
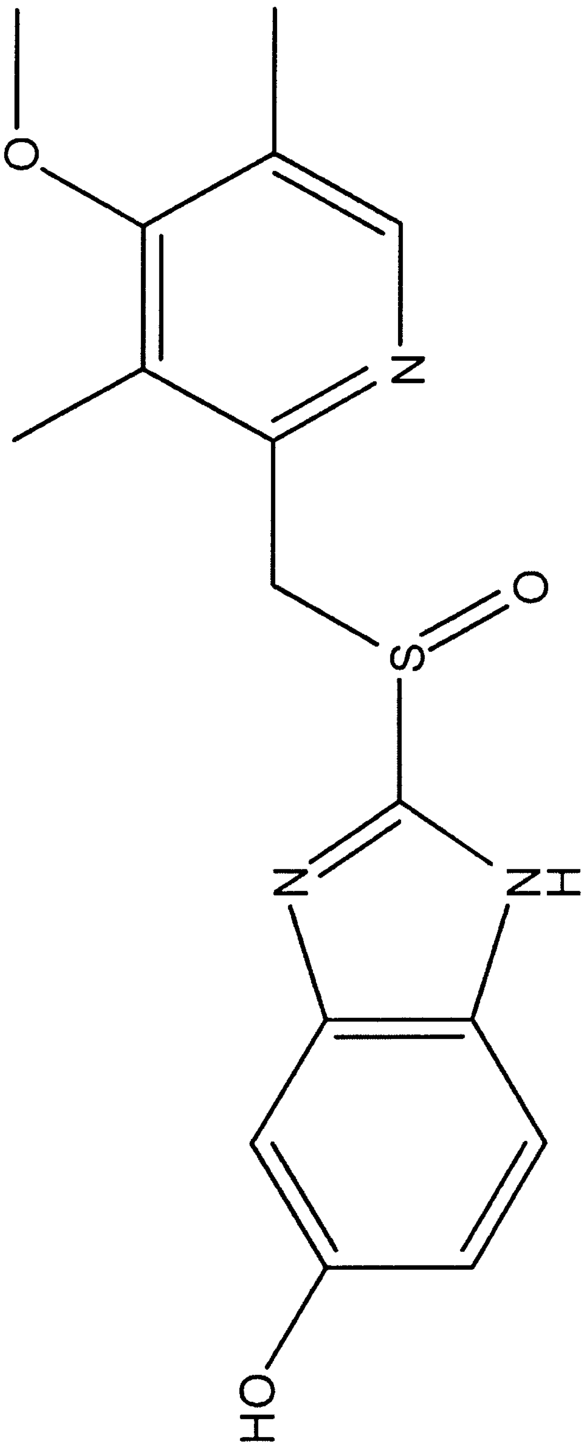


圖 1



(c)

圖 1

(d)

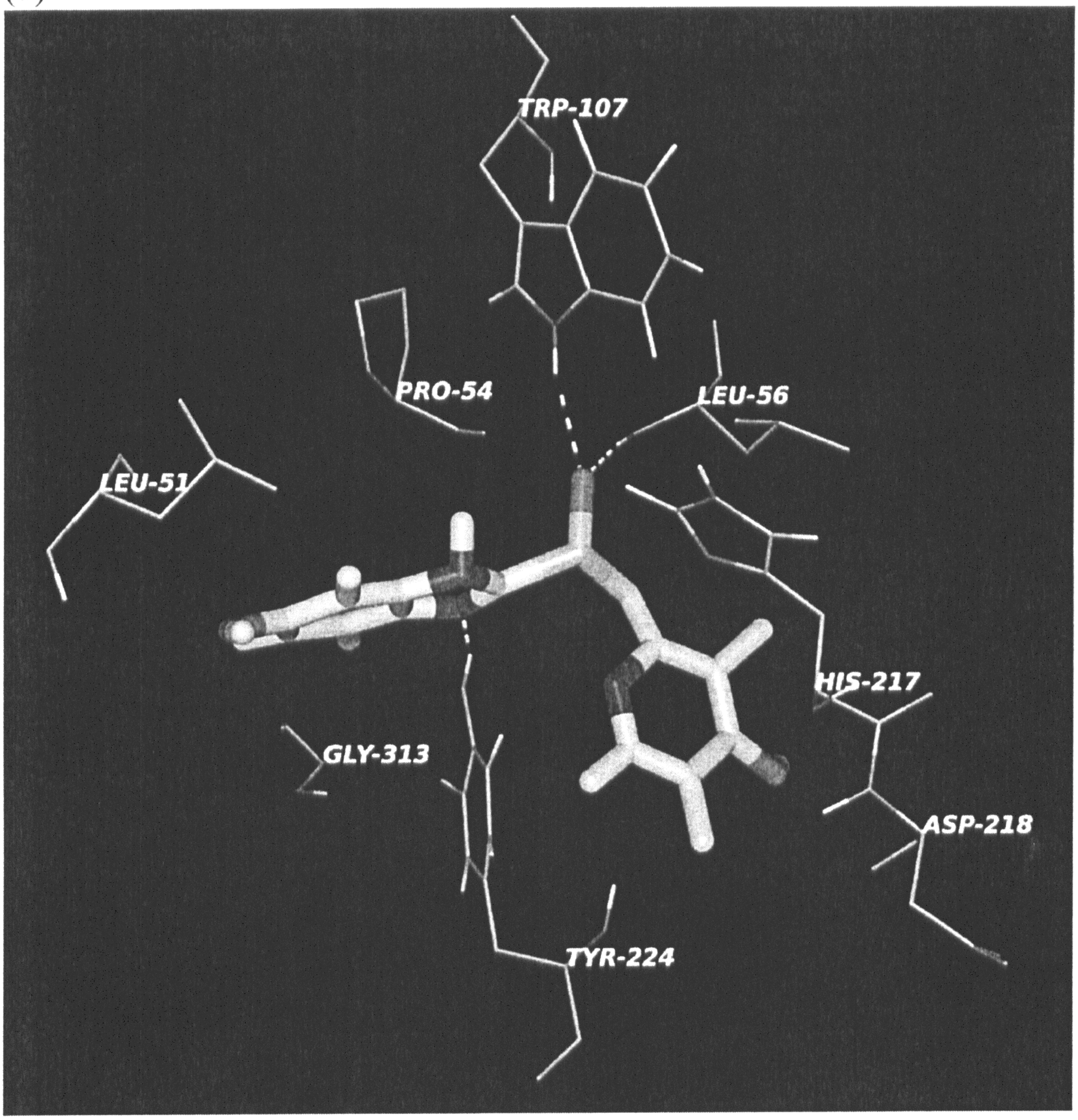
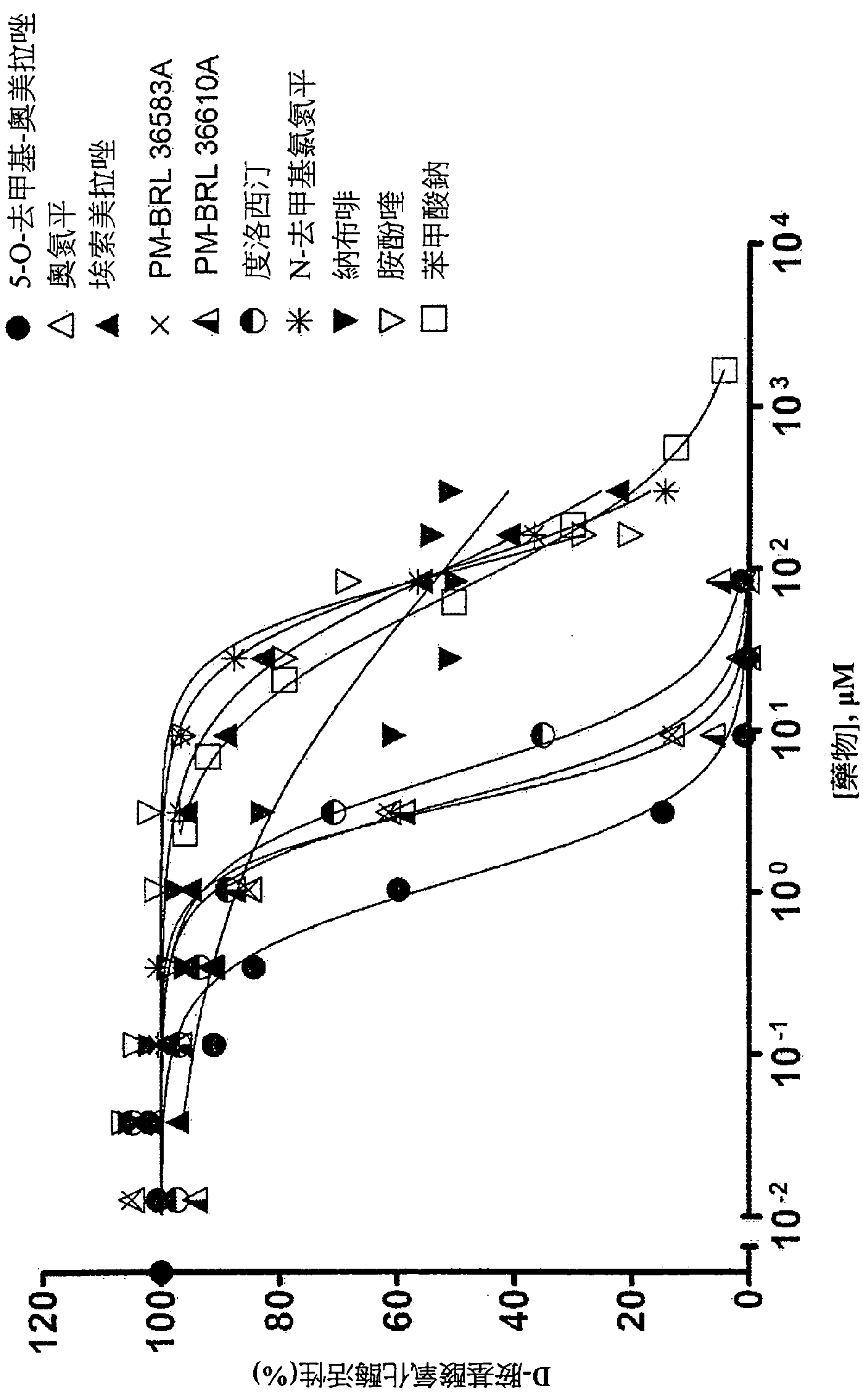


圖 1



5-O-去甲基-奧美拉唑
奧氮平
埃索美拉唑
PM-BRL 36583A
PM-BRL 36610A
度洛西汀
N-去甲基氯氮平
納布啡
胺酚喹
苯甲酸鈉
D-胺基酸氧化酶活性(%)
120
100
80
60
40
20
0
10⁻²
10⁻¹
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
[藥物], μM

圖 2

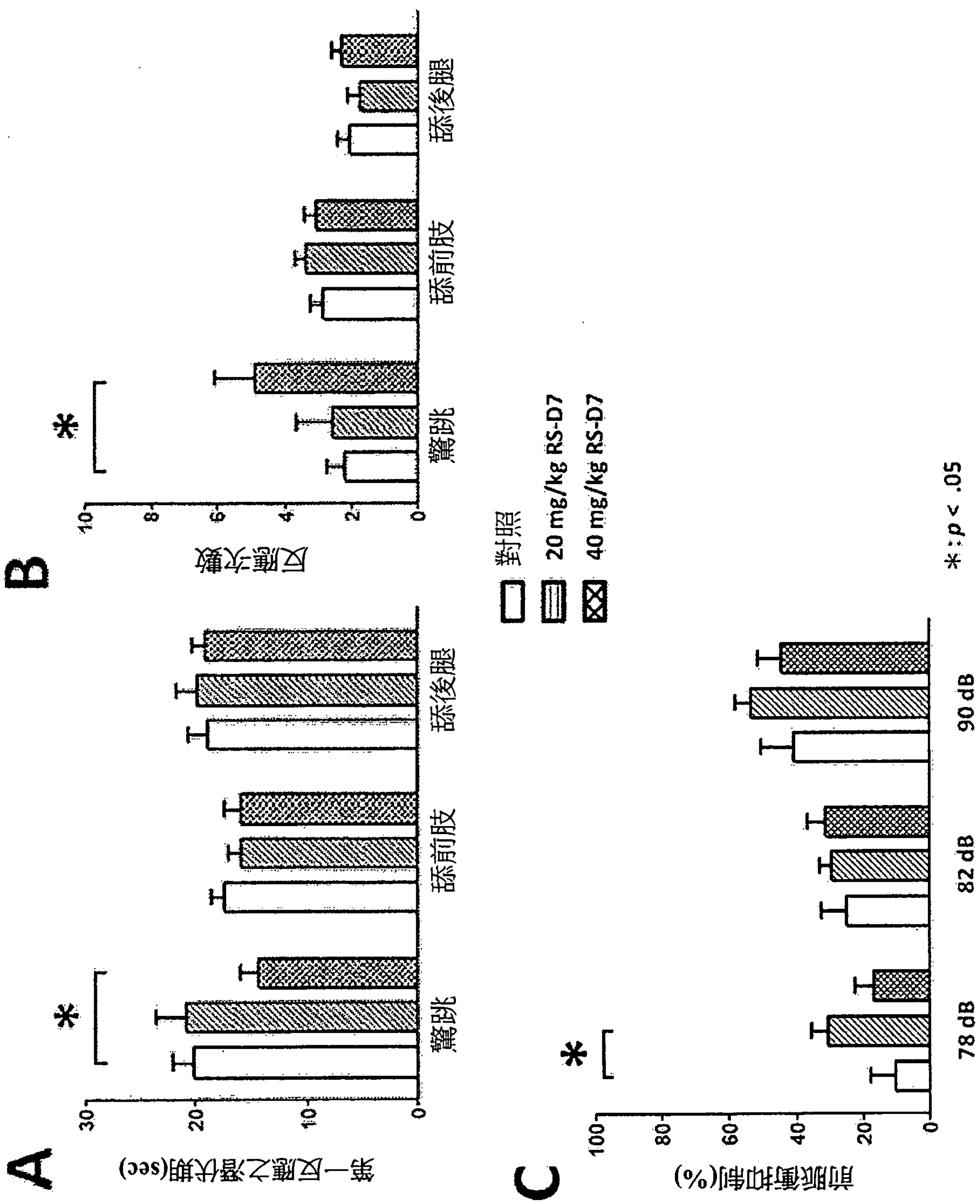

A
第一反應之潛伏期(sec)
0
10
20
30
驚跳
舔前肢
舔後腿
*
B
反應次數
0
2
4
6
8
10
驚跳
舔前肢
舔後腿
*
對照
20 mg/kg RS-D7
40 mg/kg RS-D7
C
前脈衝抑制(%)
0
20
40
60
80
100
78 dB
82 dB
90 dB
*
*: p < .05

圖 3

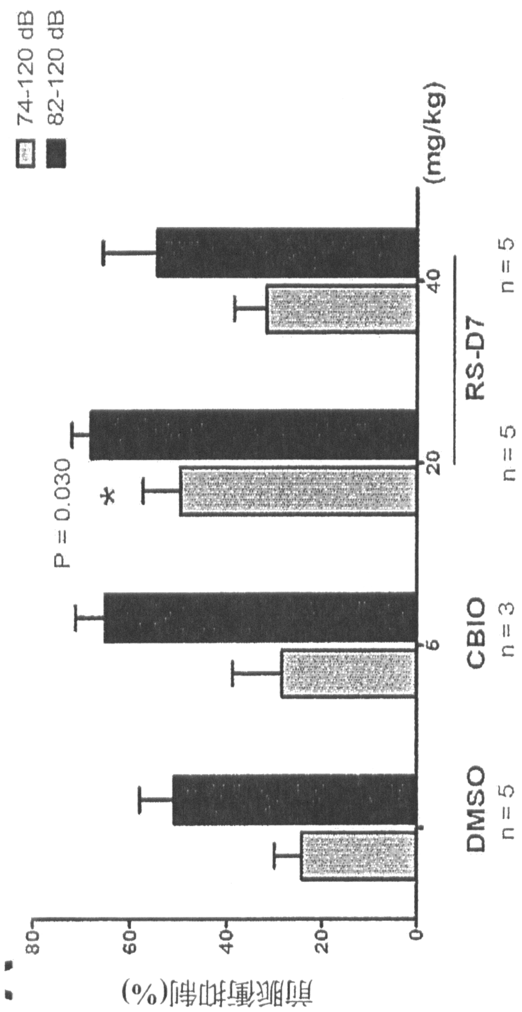

前脈衝抑制(%)
80
60
40
20
0
74-120 dB
82-120 dB
(mg/kg)
P = 0.030
*
6
20
40
DMSO
n = 5
CBIO
n = 3
RS-D7
n = 5
n = 5

圖 4

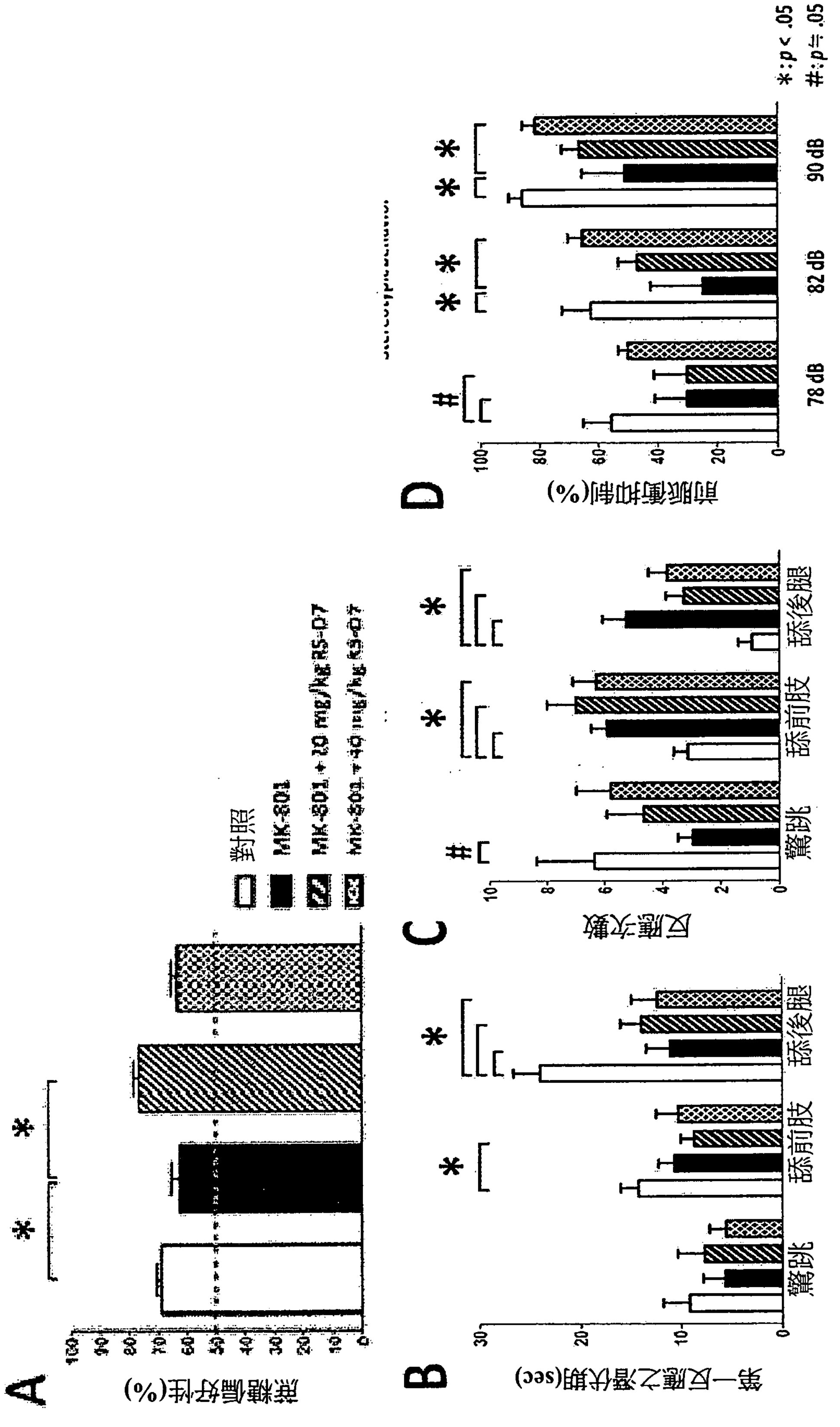

A
蔗糖偏好性(%)
對照
MK-801
MK-801 + 10 mg/kg RS-D7
MK-801 + 40 mg/kg RS-D7
B
第一反應之潛伏期(sec)
驚跳
舔前肢
舔後腿
C
反應次數
驚跳
舔前肢
舔後腿
D
前脈衝抑制(%)
78 dB
82 dB
90 dB
*: p < .05
#: p ≒ .05

圖 5