

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880002775.5

[51] Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

[43] 公开日 2010年2月24日

[11] 公开号 CN 101657440A

[22] 申请日 2008.1.22

[21] 申请号 200880002775.5

[30] 优先权

[32] 2007.1.22 [33] US [31] 11/625,603

[86] 国际申请 PCT/US2008/051717 2008.1.22

[87] 国际公布 WO2008/091901 英 2008.7.31

[85] 进入国家阶段日期 2009.7.22

[71] 申请人 生物科技研究有限公司

地址 中国香港

[72] 发明人 叶玉如 叶翠芬 胡月青 韩怡凡
金淑子

[74] 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司
代理人 程伟

权利要求书5页 说明书40页 附图9页

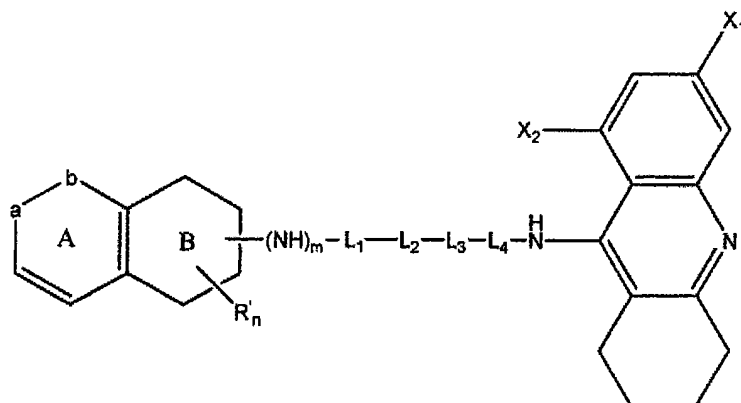
[54] 发明名称

异二聚体及其使用方法

[57] 摘要

本发明揭示了四氢吡啶和四氢喹啉酮的新型异二聚体。该异二聚体既能用作乙酰胆碱酯酶抑制剂又能用作N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂。该异二聚体可在人类和非人类中通过治疗或预防用于改善认知障碍。

1、一种通式 III 所示的化合物：



III

其中，A 和 B 代表一对 6 元稠环；

X_1 、 X_2 独立地选自氢、卤素、烷基或烷氧基；

L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 独立地选自直接相连的键、二价 C_{1-5} 亚烷基、1,4-环己烯、1,4-亚苯基、-CO-、-O-、-S-或-NR-；

R 选自氢、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、烯基、取代的烯基、芳基或取代的芳基；

R' 选自氢、卤素、烷基、烷氧基或烷基酯；

n 是 0-5；

a 是-N(D)或-C(O)-；

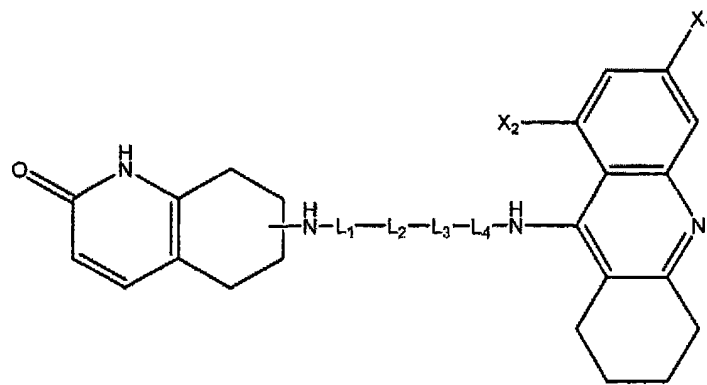
D 是甲基，或者当 m 是 0 时 D 是与 L_1 直接相连的键；

b 是-NH-或-C(O)-；

m 是 0 或 1；

条件是，如果 a 是-C(O)-，b 是-NH-，m 是 1，n 是 0，所述四氢喹啉酮在 5-氨基位连接，且 L_1 - L_2 - L_3 - L_4 是 C_{3-12} 亚甲基连接，则 X_1 或 X_2 其中之一不是 H。

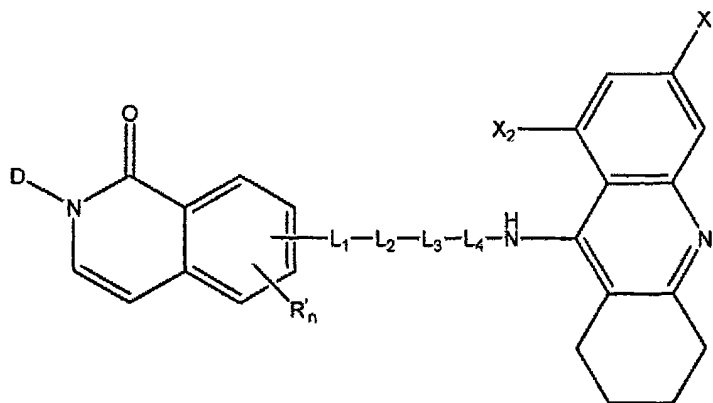
2、根据权利要求 1 所述的化合物，该化合物具有通式 I 的结构：



I

3、根据权利要求2所述的化合物，其中所述四氢喹啉酮在5位或者6位连接。

5、根据权利要求1所述的化合物，该化合物具有通式II的结构：



II

其中，

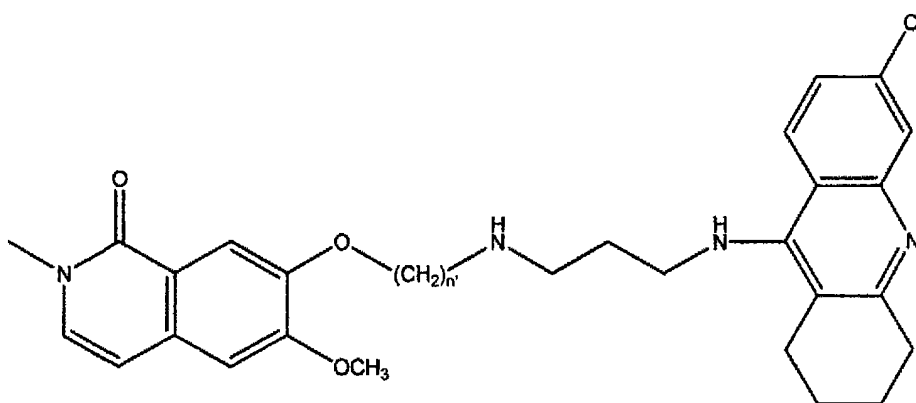
R 选自氢、烷基或取代的烷基。

6、根据权利要求5所述的化合物，其中 D 是甲基。

7、根据权利要求6所述的化合物，其中 R' 是甲氧基且 n 是 1。

8、根据权利要求7所述的化合物，其中 L₁ 是-O-。

9、根据权利要求8所述的化合物，该化合物具有通式IV的结构：



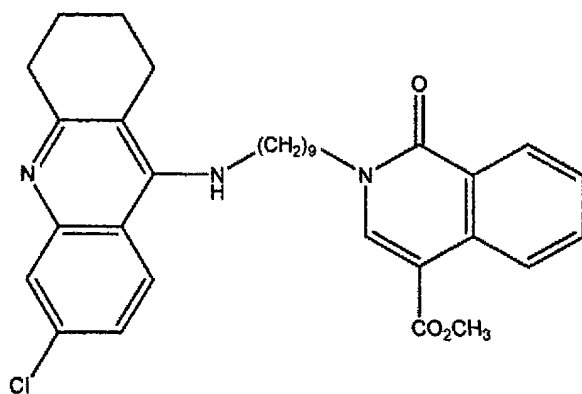
IV

其中 n' 是 2 至 5。

10、根据权利要求 5 所述的化合物，其中 D 是与 L_1 直接相连的键。

11、根据权利要求 10 所述的化合物，其中 R' 是甲基酯且 n 是 1。

12、根据权利要求 11 所述的化合物，该化合物具有以下通式的结构：



13、根据权利要求 1-12 任一项所述的化合物，其中 X_1 或 X_2 是 Cl。

14、根据权利要求 1-12 任一项所述的化合物的立体异构体。

15、一种抑制胆碱酯酶的方法，该方法包括将所述胆碱酯酶暴露于如权利要求 1-14 任一项所述的化合物。

16、根据权利要求 15 所述的方法，其中所述胆碱酯酶选自乙酰胆

碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。

17、一种抑制动物的胆碱酯酶的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的如权利要求 1-14 任一项所述的化合物。

18、根据权利要求 17 所述的抑制动物的胆碱酯酶的方法，其中所述待抑制的胆碱酯酶是乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。

19、一种抑制动物的 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的如权利要求 1-44 任一项所述的化合物。

20、一种抑制动物的胆碱酯酶和 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的如权利要求 1-4 任一项所述的化合物。

21、根据权利要求 20 所述的方法，其中所述待抑制的胆碱酯酶选自乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。

22、一种治疗动物神经系统疾病或病症的方法，该方法包括施用一定量的如权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物。

23、根据权利要求 22 所述的方法，其中所述疾病是神经退变性疾病。

24、根据权利要求 23 所述的方法，其中所述神经退变性疾病是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。

25、根据权利要求 22 所述的方法，其中所述神经系统病症是由中风或癫痫发作引起的。

26、一种治疗动物中阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病或痴呆的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的如权利要求 1 至 14 任一

项所述的化合物。

27、一种预防动物中中风、癫痫或脑损伤的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的如权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物。

28、一种改善动物中认知能力的方法，该方法包括施用如权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物。

29、根据权利要求 18 至 28 任一项所述的方法，其中所述动物是哺乳动物。

30、根据权利要求 29 所述的方法，其中所述哺乳动物是人。

31、根据权利要求 18 至 30 任一项所述的方法，其中所述化合物与一种药学上可接受的载体联合施用。

32、根据权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物在制备用于治疗痴呆、阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病的药物中的用途。

33、根据权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物在制备用于预防中风、癫痫或脑损伤的药物中的用途。

34、根据权利要求 1 至 14 任一项所述的化合物在制备用于改善认知能力的药物中的用途。

异二聚体及其使用方法

技术领域

本发明主要涉及四氢吡啶和四氢喹啉的新型异二聚体及其用途。特别地，本发明描述了既能用作乙酰胆碱酯酶抑制剂又能用作 N-甲基-D-天门冬氨酸（NMDA）受体拮抗剂的异二聚体。该异二聚体可在人类和非人类中用于改善认知障碍。此种改善既可以是治疗又可以是预防认知障碍。

背景技术

在中枢和外周神经系统中，神经元通过释放能使神经细胞进行交流的神经递质，化学物质来进行神经脉冲。乙酰胆碱（ACh）是一种能在胆碱能神经元中传递神经脉冲的神经递质。ACh 在学习和记忆中发挥重要作用。已经在帕金森病（PD）、多发性中风造成的痴呆、多发性硬化、精神分裂症中发现乙酰胆碱降低，乙酰胆碱降低是阿尔茨海默病（AD）的一个主要特点。而且，对患有 AD 的病人进行的尸体解剖研究发现基底细胞核的胆碱能神经元的损伤。因此认为：ACh 的丧失是认知功能例如学习和记忆丧失的原因，学习和记忆丧失为很多形式的痴呆包括阿尔茨海默病相关性痴呆的特点。

N-甲基-D-天门冬氨酸（NMDA）受体是配体门控的离子通道，其主要位于中枢神经系统（CNS）内。他们属于离子型谷氨酸受体家族，因为亚单元-NR1、NR2（NR2A、NR2B、NR2C、NR2D）和 NR3-的不同组合而以多种可被表达的亚型存在。他们存在多种不同的结合位点。因此，除了激动剂结合位点，还有增强、调节和抑制受体激活的各种化合物的结合位点。

NMDA 受体参与神经元的交流且在突触可塑性以及学习和记忆的机理中发挥重要作用。在正常条件下，NMDA 受体通过神经递质，谷氨酸来参加突触传递。但是，不正常的高水平的谷氨酸（由于病态）引起这些受体的过度激活从而导致过量的 Ca^{2+} 流入。其通过产生自由

基例如一氧化氮 (NO) 和活性氧 (ROS)、损失 ATP 和损失线粒体膜电位而导致神经元损伤。最终发生神经细胞功能下降和神经元细胞死亡。如果细胞的能量代谢被破坏, 这个过程, 称为兴奋毒性, 也会发生。

在神经退变性疾病和其他病理状态中牵涉到 NMDA 的过度激活, 因为其导致神经元损失和认知损伤。事实上, 在一系列神经退变性疾病例如帕金森病、阿尔茨海默病和亨廷顿病, 以及病症例如中风和神经性疼痛中, NMDA 受体介导的兴奋毒性在引起神经元损伤的最后共同途径中发挥重要作用。事实上, 最近的发现已经暗示: 在比以往认为的更多的神经性疾病中牵涉到 NMDA 受体, 例如多发性硬化、大脑性麻痹 (脑室周围白质软化) 和脊髓损伤, 以及慢性和严重情绪失调 (Mathew 等人, 2005)。

现有技术中已知的化合物要么表现出胆碱能活性, 要么表现出 NMDA 拮抗剂活性, 但不是二者都有。已经研发了一些他克林 (tacrine) 衍生物 (双他克林、氯代双他克林、氯代他克林等) 来治疗阿尔茨海默病。虽然这些化合物被报道对于 AChE 是强力的和选择性的, 但是没有检测到 NMDA 拮抗剂活性。

表现出乙酰胆碱酯酶抑制剂活性的胆碱能化合物是已知的且可以在市面上获得。多奈哌齐 (donepezil)、加兰他敏 (galantamine) 和利斯的明 (rivastigmine) 是公认的和已经处方使用的胆碱能药物, 其获得了 FDA 批准用于治疗轻度至中度阿尔茨海默病。虽然这些药物表现出稍微不同的药理学特性, 它们均为通过抑制乙酰胆碱的分解来发挥作用。这些化合物和本发明所述化合物之间的主要区别是它们仅仅通过单一作用机理来发挥其效应, 即抑制乙酰胆碱酯酶。它们不是 NMDA 受体拮抗剂。因此, 它们的治疗目的主要集中于增强胆碱能效应。此外, 这些化合物只适合于 AD 中的早期痴呆。

由于最近在许多种神经性疾病状态和病症中发现 NMDA 受体的参与, 所以对于 NMDA 拮抗剂作为治疗性药物有更普遍的研究。将 NMDA 拮抗剂开发为神经治疗性药物的一个壁垒是, 虽然它们有显著的神经治疗潜能, 但是很多有前途的 NMDA 拮抗剂也表现出致神经错乱和神经毒性特点。例如, 已经显示 MK-801 (地卓西平马来酸盐

(dizocilpine maleate)) 在缺血性中风中产生一定程度的神经保护。但是, MK-801 也与精神和运动副作用相关。一些 NMDA 拮抗剂已经被批准用于许多种神经病理性病症的临床使用, 例如癫痫症和神经性疼痛和神经退变性疾病例如阿尔茨海默病 (AD) 和帕金森病 (PD)。美金刚胺 (memantine) 是一种非竞争性 NMDA 拮抗剂, 其最近 (在 2004 年) 获得批准用于治疗血管性痴呆和中度至严重情形的阿尔茨海默病中的痴呆症状。美金刚胺是此类化合物中唯一成功获得 FDA 批准用于治疗 AD 的化合物。抑制谷氨酸诱导的神经毒性的机理与新型化合物的类似。但是, 与新型化合物不同, 美金刚胺不影响胆碱能突触途径。

但是, 最近表明: 已知的强有力的 AChE 抑制剂, 双-9-氨基-1,2,3,4-四氢吡啶 (也称为双 (7) -他克林) 与 NMDA 受体相互作用来降低谷氨酸诱导的兴奋毒性, 这个机理独立于其 AChE 抑制性和胆碱能传递活性 (Li 等人, 2005)。

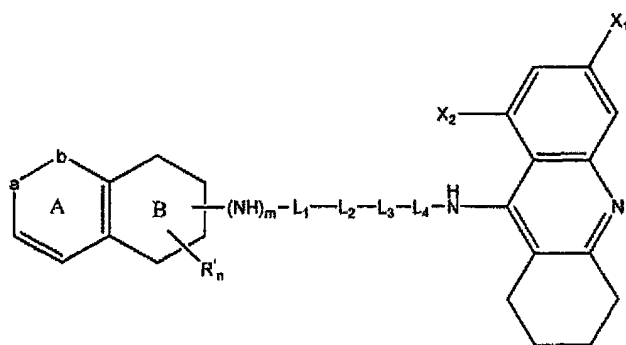
石杉碱甲 (huperzine A), 另外一个从中药石松千层塔 (club moss *Huperzia serrata*) 中分离的已知的强有力的抗胆碱酯酶抑制剂, 也具有与 NMDA 受体以非竞争性方式相互作用的能力 (Gordon 等人, 2001)。石杉碱甲能够通过阻断 NMDA 离子通道而抵抗兴奋毒性, 其与 MK-801 和其他 NMDA 拮抗剂不同, 是在没有拟精神病的副作用下发挥这个作用。这使得石杉碱甲成为治疗急性和慢性神经相关病症的理想候选。但是, 由于石杉碱甲源自天然产生的草药, 不具有专利性, 因此几乎没有机会可以由生物制药公司开发成治疗性药物。

本发明的目的是提供改善的或者替代的可用于治疗或预防神经退变性疾病的化合物。

发明内容

本发明主要包括含有氨基四氢喹啉酮和四氢吡啶部分的化合物。

更具体地, 本发明主要包括通式 III 所示的化合物:



III

其中，A 和 B 代表一对 6 元稠环；

X_1 、 X_2 独立地选自氢、卤素、烷基或烷氧基；

L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 独立地选自直接相连的键、二价 C_{1-5} 亚烷基、1,4-环己烯、1,4-亚苯基、-CO-、-O-、-S-或-NR-；

R 选自氢、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、烯基、取代的烯基、芳基或取代的芳基；

R' 选自氢、卤素、烷基、烷氧基或烷基酯；

n 是 0-5；

a 是-N(D)或-C(O)-；

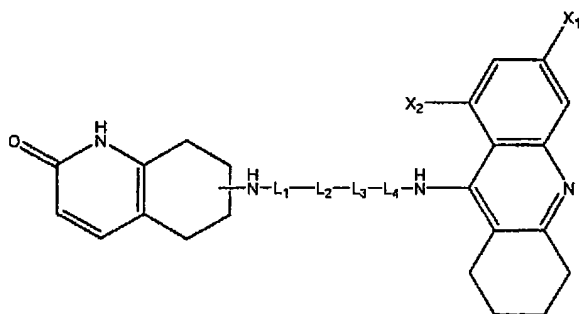
D 是甲基，或者当 m 是 0 时 D 是与 L_1 直接相连的键；

b 是-NH-或-C(O)-；

m 是 0 或 1；

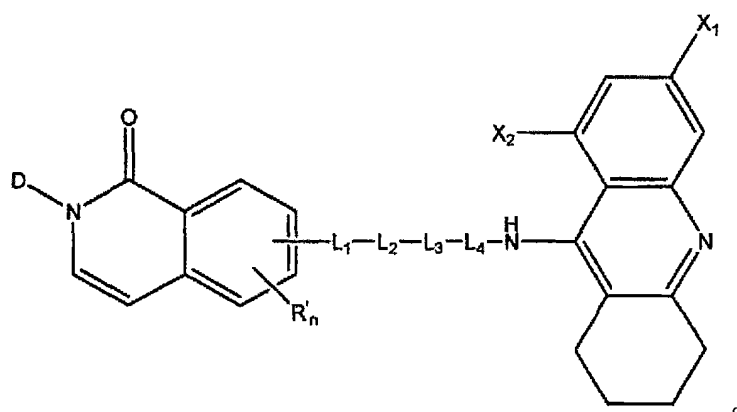
条件是，如果 a 是-C(O)-，b 是-NH-，m 是 1，n 是 0，所述四氢喹啉酮在 5-氨基位连接，且 L_1 - L_2 - L_3 - L_4 是 C_{3-12} 亚甲基连接，则 X_1 或 X_2 其中之一不是 H。

在一个具体实施方式中，本发明包括通式 I 所示的化合物：



I

在另一个具体实施方式中，本发明包括通式 II 所示的化合物：



在一个优选的具体实施方式中， X_1 或 X_2 是 Cl。

在另一个优选的具体实施方式中，四氢喹啉酮部分在 5 位或者 6 位连接。

本发明还包通式 III 所示的化合物的立体异构体。

在本发明的另一个方面主要包括一种抑制胆碱酯酶的方法，该方法包括将胆碱酯酶暴露于通式 III 所示的化合物。

在一个优选的具体实施方式中，胆碱酯酶选自乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。在特别优选的具体实施方式中，胆碱酯酶在动物中且通式 III 所示的化合物被施用到所述动物中。优选地，待抑制的胆碱酯酶是乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。

本发明还描述了一种在动物中抑制 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的通式 III 所示的化合物。

在本发明的另一个方面，描述了一种在动物中抑制胆碱酯酶和 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的方法，该方法包括向所述动物施用一定量的通式 III 所示的化合物。优选地，待抑制的胆碱酯酶是乙酰胆碱酯酶或丁酰胆碱酯酶。

在本发明的另一个方面描述了一种治疗动物的神经系统疾病或病症的方法，该方法包括施用一定量的通式 III 所示的化合物。在一个优选的具体实施方式中，该疾病是神经退变性疾病。在一个特别优选的具体实施方式中，神经退变性疾病为阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。

在一个替代具体实施方式中，神经系统病症是由中风或癫痫发作引起的。

在另一个方面，本发明主要描述了一种治疗动物中阿尔茨海默病、

帕金森病、亨廷顿病或痴呆的方法，该方法包括施用一定量的通式 III 所示的化合物。

本发明还描述了一种预防动物中中风、癫痫或脑损伤的方法，该方法包括施用一定量的通式 III 所示的化合物。

本发明还描述了一种改善动物中认知能力的方法，该方法包括施用一定量的通式 III 所示的化合物。

本发明所述方法优选为在哺乳动物中实行，更优选为人。

在另一个方面，本发明描述了通式 III 所示的化合物在制备用于治疗痴呆、阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病的药物中的用途；在制备用于预防中风、癫痫或脑损伤的药物中的用途；以及在制备用于改善认知能力的药物中的用途。

附图说明

图 1 比较了本发明所述化合物的 NMDA 受体拮抗剂活性和已知的 NMDA 拮抗剂活性。

图 2 显示了要求保护的化合物保护大鼠皮层神经元抵抗 NMDA 兴奋毒性的能力。

图 3 显示了要求保护的化合物保护皮层神经元抵抗 NMDA 损伤的能力（通过细胞死亡百分率测定）。

图 4a 至 4f 显示了要求保护的化合物在 Morris 水迷宫测试中逆转东莨菪碱（scopolamine）诱导的行为缺陷的能力。

图 5a 至 5h 显示了要求保护的化合物保护个体抵抗神经损伤的能力。

具体实施方式

在本说明书中引用了公开文献，在这里全文引用作为参考。

至今为止，在 AD 病人中降低认知下降速率的最成功的方法是基于阻断乙酰胆碱酯酶（AChE）。作为神经脉冲的结果，AChE 在被释放进入突触间隙后负责分解 ACh。通过乙酰胆碱酯酶抑制剂（AChEI）暂时阻断 AChE 的活性，增加了大脑和脊髓中 ACh 的浓度，ACh 的效应持续。这个作用机理（也称为胆碱能效应）增强了中枢胆碱能神经

元的功能,中枢胆碱能神经元控制着学习和记忆。在临床评价中,AChEI在阿尔茨海默病人中表现出改善认知和记忆。事实上,FDA批准首先治疗轻度-中度AD的药物——多奈哌齐、加兰他敏和利斯的明——为可逆的AChEI。本发明所述化合物对记忆和学习的贡献已经在动物模型中证明。

除了AChE的经典作用之外,最近的报道暗示AChE在大脑中的非经典作用。虽然在AD的大脑的神经炎症斑中发现了AChE和BChE,但是只发现AChE能够促进 β 淀粉样(A β)纤维(amyloid-beta fibril)组装并加速斑的沉积(Inetrosa等人,1996)。相反,BChE在体外减弱淀粉样纤维的形成(Diamant等人,2006)。针对AChE的催化结合位点的抑制剂增加大脑中的乙酰胆碱水平,而抑制该酶的外周阴离子结合位点(PAS)的抑制剂可以防止AChE向A β 的前聚集(pro-aggregating)能力(Piazzini等人,2003)。

通式III所示的新型化合物还具有提供神经保护的能力。特别地,它们可通过阻断N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体的作用来保护受到谷氨酸诱导的应力的神经细胞和组织免受损害(与仅仅治疗损伤相反)。

鉴于NMDA受体在神经元病理性病症中的作用,已经鉴定了NMDA受体拮抗剂作为兴奋毒性的治疗性试剂以减轻与其神经元病状和病症(即使有这些病状和病症,目前仅有少量的有效治疗)相关的症状。本发明所述化合物因此是急性和慢性中枢神经系统(CNS)病状的潜在治疗性试剂,例如神经退变性疾病、慢性疼痛、中风和癫痫。

通过防止有效的受体激活和谷氨酸的突触传递,本发明所述化合物可以预防兴奋毒性及其相关的下游事件,这些事件引起神经元组织损伤和死亡,和疾病状态。

通式III所示的化合物表现出两种作用模式。像胆碱能药物一样,它们在胆碱能神经元的神经元突触中抑制乙酰胆碱酯酶以增强胆碱能效应,因此在改善痴呆和AD相关性痴呆的认知缺陷中发挥重要作用。它们还作为NMDA受体拮抗剂来抵抗谷氨酸诱导的神经毒性,在很多神经性疾病和病状中牵涉到谷氨酸诱导的神经毒性。

因此,通式III所示的化合物代表新一代的化合物,其能同时抵抗

谷氨酸诱导的神经毒性和在疾病性大脑中改善认知缺陷。它们的新的意义在于：它们具有两个主要的活性机制，均在进行性疾病例如 AD 中发挥重要作用。事实上，最近的研究表明，表现出可防止谷氨酸诱导的神经元细胞凋亡的 AChE 抑制剂可能在 AD 治疗上比纯粹的 AChE 抑制剂具有更大的价值 (Li 等人, 2005)。

此外，在 AD 治疗的临床实践中，正在进行研究来确定组合治疗的效果——同时施用 NMDA 拮抗剂(美金刚胺)和一种胆碱能药物(多奈哌齐、加兰他敏和利斯的明)。因此，本发明所述化合物可能比在已经存在的 AD 药物中发现的那些具有更高的治疗益处。

通式 III 所示的化合物还相对于 AChE 表现出比相对于 BChE 的强选择性。这个选择性使得 AChEI 抑制 AChE 诱导的 A β 的凝集。但是另一方面，他克林是非选择性的混合型 AChE 抑制剂，其与 BChE 更紧密地结合。因此，他克林对于 AChE 诱发的 A β 凝集没有效应。另一个例子是 PAS 结合抑制剂，丙啶 (propidium)，其相对于 BChE 表现出比相对于 AChE 较弱的选择性，因此，强烈地抑制 AChE 诱发的 A β 凝集。因此，抑制剂对于 AChE 而不是对于 BChE 的选择性被建议为寻找新型潜在治疗性候选者的重要因素 (Bolognesi 等人, 2005)。

胆碱能增强：

本发明所述异二聚体还被证明具有改善认知能力的的能力，如在 Morris 水迷宫实验中所见。因此，它们可能在导致认知退化如精神分裂症、大脑性麻痹、孤独症的医学症状中有益处。精神分裂症患者中的认知缺陷是广为人知的，以至于新的发展中的抗精神病药物也旨在增强认知功能 (Voruganti 等人, 2007)。患有大脑性麻痹的儿童也表现出认知缺陷的表征 (Dahlgren, 2006; Pirila 等人, 2007)，可能从那些增强其学习和记忆能力的治疗中获益。此外，化疗也与认知缺陷相关联。虽然准确的机理还没有被确定，但是人们认为化疗药物可能跨过血液-大脑屏障并以最终改变认知功能的方式影响大脑。例如，研究发现由于乳腺癌接受化疗的妇女的亚群体表现出手术后认知缺陷 (Schagen 等人, 2006)，在一些病人中，退化随时间愈演愈烈。

NMDA 受体拮抗剂：

本发明所述异二聚体被证明具有额外的神经保护特性，并保护神

神经元细胞免受 NMDA 诱导的损伤和缺血。这些化合物在治疗数种中枢神经系统 (CNS) 相关的疾病和病症中具有重要的临床意义。

对于 NMDA 受体参与 CNS 疾病, 有丰富的研究证据。NMDA 受体的持续激活引起兴奋毒性和神经元细胞死亡。因此, NMDA 受体拮抗剂是急性和慢性 CNS 病症的潜在的治疗试剂, 所述急性和慢性 CNS 病症例如神经退变性疾病 (阿尔茨海默病和认知障碍、帕金森病、多发性硬化、亨廷顿病、脑损伤)、癫痫症、神经性疼痛和偏头痛、脑血管缺血或中风、酒精中度和药物依赖性、严重的抑郁症 (Kwon 和 Herrling, 2006; Planells-Cases 等人, 2006)。关于获得 FDA 批准的 NMDA 拮抗剂, 美金刚胺的已经发表的研究证明这个 NMDA 受体拮抗剂对于痴呆、帕金森病 (PD)、中风、癫痫症、CNS 损伤、肌萎缩性脊髓侧索硬化 (ALS)、药物依赖性青光眼和慢性疼痛具有疗效 (Sonkusare 等人, 2005)。此外, 现在对于几个 NMDA 拮抗剂进行的临床试验研究表明其对于癫痫发作的有益效用 (Kohl 等人, 2001)。NMDA 受体也参与伤害感受, 研究工作表明 NMDA 受体拮抗剂可能对于癌症病人中神经性疼痛的治疗有效 (Amin 和 Sturrock, 2003)。NMDA 受体拮抗剂也可能对于非酮性高甘氨酸血症 (一种与甘氨酸裂解酶活性缺失或减少相关的常染色体隐性病症) 的治疗有效 (Deutsch 等人, 1998)。

参考文献:

Amin P., Sturrock N.D. (2003). A pilot study of the beneficial effects of amantadine in the treatment of painful diabetic peripheral neuropathy. *Diabet Med* 20: 114-118.

Dahlgren S.A. (2006). Reading and spelling disabilities in children with severe speech impairments and cerebral palsy at 6, 9, and 12 years of age in relation to cognitive development: a longitudinal study. *Dev Med Child Neurol*. 48: 629-634.

Deutsch S.I., Rosse R.B., Mastropaolo J. (1998) Current status of NMDA antagonist interventions in the treatment of nonketotic hyperglycinemia. *Clin Neuropharmacol* 21 : 71-79.

Kohl B.K., Danhardt G. (2001). The NMDA receptor complex: a promising target for novel antiepileptic strategies. *Curr Med Chem* 8: 1275-1289.

Kwon M, Herrling P. (2006). List of drugs in development for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Dis* 3: 148-186.

Planells-Cases R., Lerma J., Ferrer-Montiel A. (2006). Pharmacological intervention at ionotropic glutamate receptor complexes. *Curr Pharm Des* 12: 3583-96.

Pirila S, van der Meere J, Pentikainen T, Ruusu-Neimi P, Korpela R, Kilpinen J, Niemine P. (2007). Language and motor speech skills in children with cerebral palsy, *K Commun Disord* 40: 116-128.

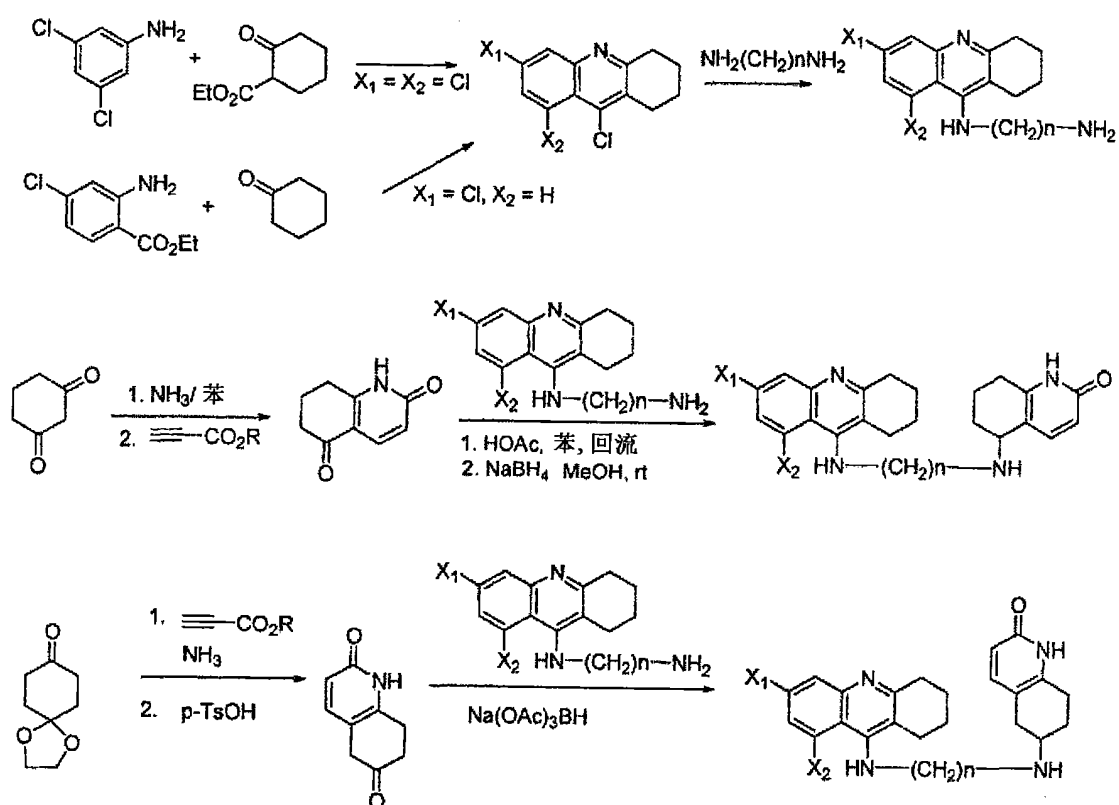
Schagen SB, Muller MJ, Boogerd W, Mellenbergh GJ, van Dam FS. (2006). Change in cognitive function after chemotherapy: a prospective longitudinal study in breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 98: 1742-1745.

Sonkusare SK, Kaul CL, Ramarao P. (2005) Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders — memantine, a new hope. *Pharmacol Res* 51 : 1-17.

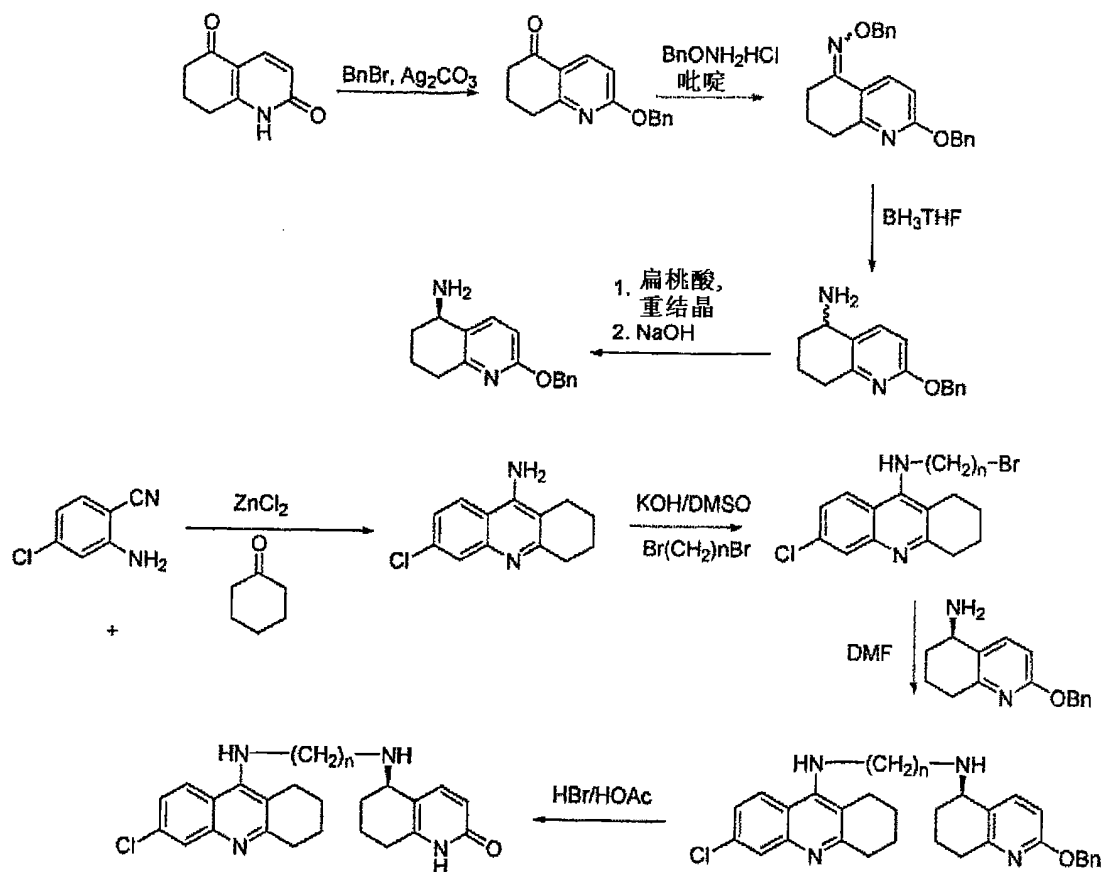
Voruganti LP, Awad AG, Parker G, Forrest C, Usmani Y, Fernando ML, Senthilal S. (2007). Cognition, functioning and quality of life in schizophrenia treatment: Results of a one-year randomized controlled trial of olanzapine and quetiapine. *Schizophr Res.* (e-pub)

制备本发明所述化合物的图解方法如下所示:

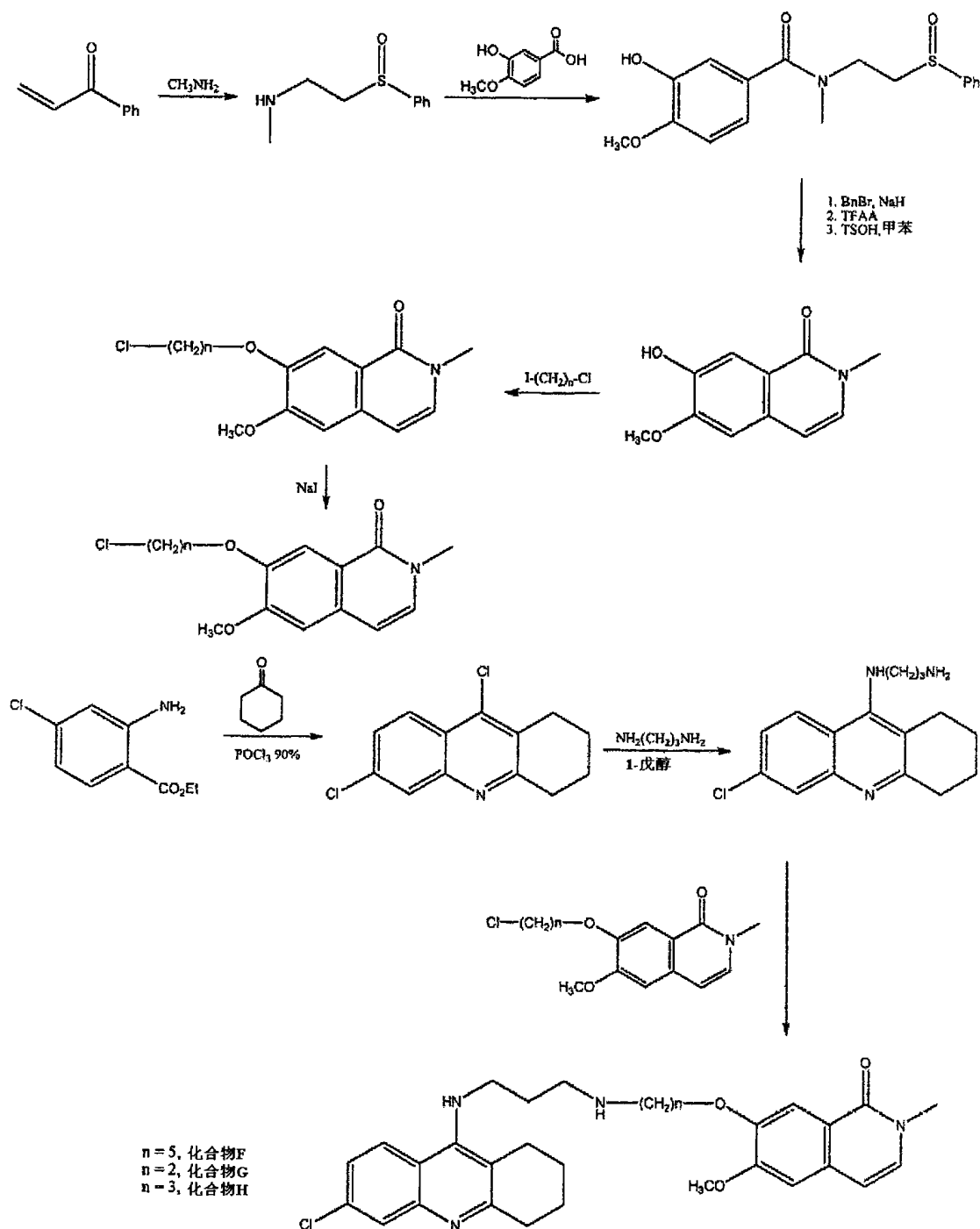
方案 1 外消旋异二聚体的合成

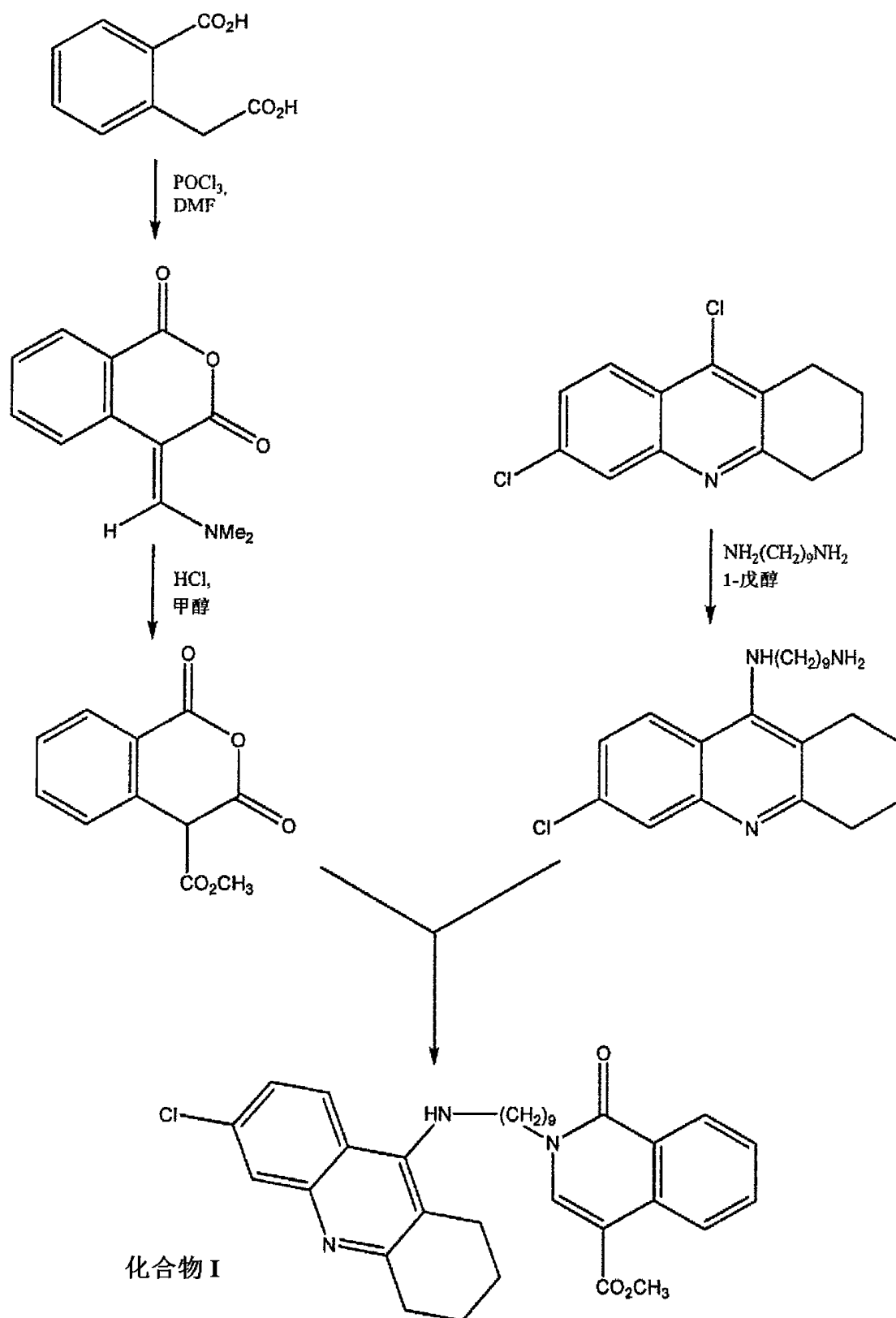


方案2 对映异构体纯的异二聚体的合成



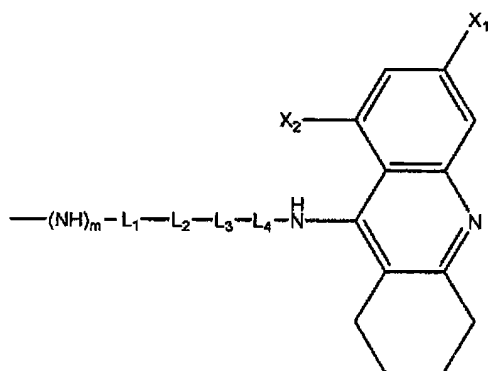
方案3 外消旋异二聚体的合成





在由双 6 元环代表的 A/B 稠环结构中，B 环可以是具有不同数目不饱和键的芳香或非芳香的环，只要共振（resonance）效应允许。

与 B 环结合的基团如下所示：



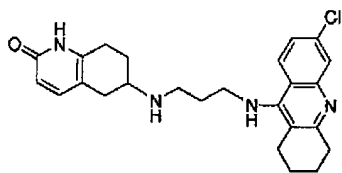
其中 m 是 0 或 1, 如图 I, II, III 所示, 这并不意味着限定这个基团与 B 环连接。这个基团也可以与 A 环上的任意位点连接, 只要八隅规则 (octet rule) 允许。

本发明将通过参考多个的实施例进行描述。提供这些是作为本领域技术人员的指引来完成本发明, 并不是为了以任何方式限制权利要求的范围。

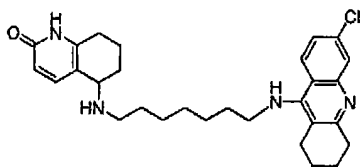
实施例

本发明所述的多个化合物进行实验程序以测定其在动物个体中分别的神经保护能力以及其逆转或阻碍神经损伤的能力。所测的化合物具有以下通式:

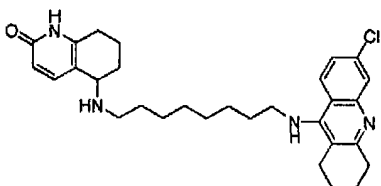
化合物 A



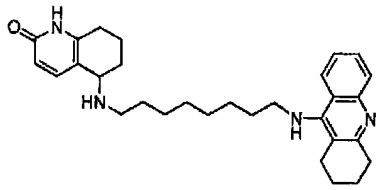
化合物 B



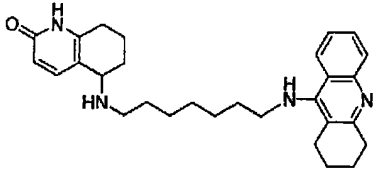
化合物 C



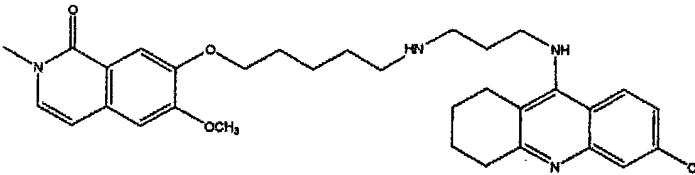
化合物有 D



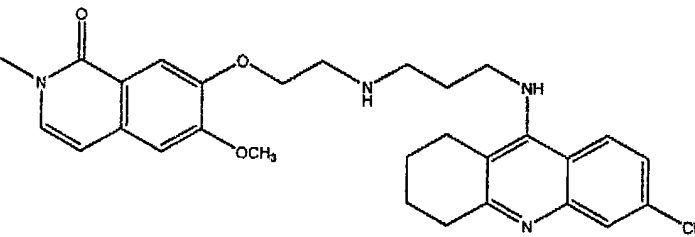
化合物 E



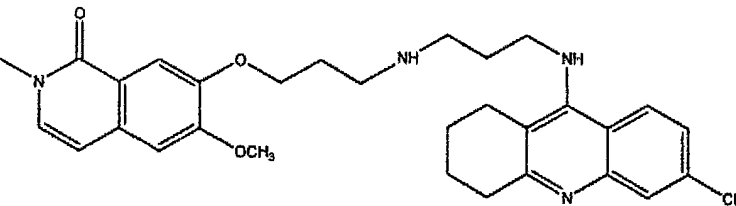
化合物 F



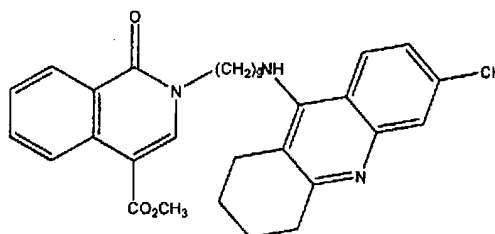
化合物 G



化合物 H



化合物 I



实施例 1

AChE 和 BChE 的体外抑制

测定了对乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和丁酰胆碱酯酶 (BChE) 的体外抑制。BChE 像 AChE 一样, 分解乙酰胆碱 (ACh), 但是 BChE 在

血浆和其他器官例如肝脏、皮肤和胃肠道中被发现。由于 BChE 抑制可引起不想要的副作用,所以测定了通式 I 所示的化合物(i)对于 AChE 的有效抑制和 (ii) 对于 AChE 而不是 BChE 的有效的选择性。

通过进行胆碱酯酶测试并使用基于 Ellman 方法的分光光度方法测定酶的抑制来证明化合物的抗乙酰胆碱酯酶活性。分别从斩首大鼠的皮层和血清中制备抑制性研究中所使用的酶, AChE 和 BChE。确定了通式 I 所示的每个新型化合物达到 50%酶抑制所需的浓度 (IC_{50})。结果见表 1。

表 1

通式 I 所示的新型化合物的 AChE 抑制活性

测试化合物	AChE IC_{50} (nM)	BChE IC_{50} (nM)	选择性 AchE*
化合物 A	0.2497 ± 0.05	56.74 ± 25	227.23
化合物 B	0.0068 ± 0.003	31.09 ± 1.96	4563
化合物 C	0.0127 ± 0.002	637.9 ± 121.6	50317.32
化合物 D	13.64 ± 1.76	429.87 ± 46.72	31.52
化合物 E	11.95 ± 1.66	610.11 ± 43.99	51.11
他克林	143.3 ± 32.5	44.43 ± 15.3	0.31
双(7)-他克林	13.2 ± 1.4	404 ± 21	30.6

*对于 AChE 的选择性定义为 $IC_{50}(\text{BChE}) / IC_{50}(\text{AChE})$

他克林和双(7)-他克林均为已知的 AChE 抑制剂,将他们用于比较。双(7)-他克林是 AChE 的有效的和选择性的抑制剂,但是表 1 中数据显示,化合物 A、B 和 C 相对于他克林和双(7)-他克林来说,对 AChE 表现出更强的效力和选择性。化合物 A、B 和 C 分别比他克林强~200、20471 和 11000 倍,分别比双(7)-他克林强~53、1885 和 1039 倍。

实施例 2

NMDA 受体拮抗剂活性

进行了全细胞膜片钳实验来测定存在和不存在新型化合物的情况下,穿过海马趾神经元表面的离子流,以此来证明 NMDA 受体活性。NMDA 受体是门控离子通道,其允许在神经脉冲中电流的流入。该受体的拮抗剂将防止电流的流入。美金刚胺,一种已知的 NMDA 拮抗剂

被用作阳性对照。

将来自胚胎期第 18 天的大鼠的海马趾神经元分离、胰蛋白酶化、并植入 35-mm 的培养板，密度为 3×10^4 个细胞/板，在补充了 B27 营养物的 Neurobasal 培养基 (NB) 中培养。存在和不存在新型化合物 (化合物 A、B 和 C) ($10 \mu\text{g/mL}$) 的情况下，以 NMDA ($50 \mu\text{M}$) 处理 DIV10-14 大鼠海马趾神经元。数据以 NMDA 诱导的电流百分率表示。DMSO 为溶剂对照。图 1 显示了化合物 A、B 和 C 降低了海马趾神经元中 NMDA 诱导的电流。

实施例 3

新型化合物保护大鼠皮层神经元抵抗 NMDA 兴奋毒性

将化合物进行 NMDA 生存性测试以研究其防止 NMDA 受体诱导的兴奋毒性的能力。进行 NMDA 生存性测试以测定在缺血损伤之前以化合物处理皮层神经元细胞时对皮层神经元细胞的保护程度。

存在化合物 (cpd) B 或 C ($\mu\text{g/mL}$) 的情况下，以 NMDA ($20 \mu\text{M}$) 处理 DIV10 皮层神经元。处理后 24 小时检测培养基中的 LDH 释放。DMSO 为溶剂对照，MK-801 ($10 \mu\text{M}$) 为已知的 NMDA 拮抗剂。图 2 证明化合物 B 和 C 能够保护大鼠皮层神经元抵抗 NMDA 兴奋毒性。

存在和不存在化合物 (MK-801, $10 \mu\text{M}$; 化合物 A, $0.001-10 \mu\text{g/mL}$) 的情况下，以 NMDA ($20 \mu\text{M}$) 处理 DIV11 大鼠皮层神经元。处理后 24 小时检测培养基中的 LDH 释放。DMSO 为溶剂对照。图 3 证明化合物 (cpd) A 能够保护皮层神经元抵抗 NMDA 损伤。

实施例 4

新型化合物在体内研究中增强学习和记忆

在年轻成年大鼠中使用 Morris 水迷宫实验 (研究海马趾依赖性学习和记忆的优秀测试) 证明了化合物对空间学习和记忆的效应。Morris 水迷宫实验由一个水池组成，其中有一个隐藏的、淹没的逃跑平台。大鼠必须通过一段连续时间来学习该平台的位置，不论是使用周围还是局部的提示。定位隐藏平台所需要的时间 (逃跑反应时间) 作为动物的认知能力的测定。

对于化合物 B (图 4a)，对照组 (sham) 中的测试个体在 4 天的训练后使用了 ~20 秒来检测到平台位置。与此相反，经过相同的训练阶段

后，东莨菪碱诱导的记忆损伤组需要两倍以上的时间来定位平台的位置。随后施用化合物 B 逆转了由东莨菪碱所增加的逃跑反应时间，化合物 B 的浓度为 0.1 mg/kg，这比 1.5 mg/kg 的他克林 (THA) 更有效。

首先通过腹腔内向年轻成年大鼠施用东莨菪碱 (0.1 mg/kg) 以损伤其记忆。然后将东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠口服使用三种不同剂量中一种的化合物 B (0.025、0.050 或 0.100 mg/kg)，然后在 4 天内进行 Morris 水迷宫实验。在每一天，测定大鼠检测到水迷宫中隐藏平台所需要的时间，以秒计。为了比较的目的，向东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠类似施用他克林 (1.5 mg/kg)，但是在缩短逃跑反应时间上有效性较低。图 4a 证明化合物 B 在 Morris 水迷宫测试中逆转了东莨菪碱诱导的行为缺陷。

对于指定的化合物 C (图 4b)，对照组 (sham) 中的测试个体在 4 天的训练之后使用了不到 20 秒的时间来检测到平台位置，然而东莨菪碱诱导的记忆损伤组用了~40 秒的时间。浓度为 0.4 mg/kg 的化合物 C 显著地逆转了由东莨菪碱所增加的逃跑反应时间。浓度为 0.2 mg/kg 和 0.4 mg/kg 的化合物 C 比浓度为 1.5 mg/kg 的他克林 (THA) 更加有效。

首先通过腹腔内向年轻成年大鼠施用东莨菪碱 (0.1 mg/kg) 以损伤其记忆。然后将东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠口服使用三种不同剂量中一种的化合物 C (0.1、0.2 或 0.4 mg/kg)，然后在 4 天内进行 Morris 水迷宫实验。在每一天，测定大鼠检测到水迷宫中隐藏平台所需要的时间，以秒计。为了比较的目的，向东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠类似施用他克林 (1.5 mg/kg)，但是在缩短逃跑反应时间上有效性较低。图 4b 证明化合物 C 在 Morris 水迷宫测试中逆转了东莨菪碱诱导的行为缺陷。

对于化合物 A (图 4c)，对照组 (sham) 中的测试个体在 4 天的训练之后使用了不到 20 秒的时间来检测到平台位置，然而东莨菪碱诱导的记忆损伤组用了~50 秒的时间。浓度为 0.2 和 0.4 mg/kg 的化合物 A 显著地逆转了由东莨菪碱诱导的行为缺陷。

首先通过腹腔内向年轻成年大鼠施用东莨菪碱 (0.1 mg/kg) 以损伤其记忆。然后将东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠口服使用三种不同剂量中一种的化合物 A (0.1、0.2 或 0.4 mg/kg)，然后在 4 天内进行 Morris

水迷宫实验。在每一天，测定大鼠检测到水迷宫中隐藏平台所需要的时间，以秒计。图 4c 证明化合物 A 在 Morris 水迷宫测试中逆转了东莨菪碱诱导的行为缺陷。

对于化合物 B 和 C，也测定了训练过程中对于装置区域（其中平台被安置）的空间觅向（spatial bias）（空间定向能力测试(probe trial)中训练区的总游泳距离的百分率）。东莨菪碱诱导的记忆损伤大鼠表现出~25%的空间觅向，与此相反，在非记忆损伤对照组大鼠中观测到40%。但是，向记忆损伤大鼠施用化合物 B（图 4d）、C（图 4e）或 A（图 4f）显著性增强了空间觅向。

也测定了训练过程中对于测试装置区域（其中隐藏平台被安置）的空间觅向。与没有施用药物的记忆损伤组（黑色柱）比，施用化合物 B 引起空间觅向增加。化合物 B（0.05 和 0.1 mg/kg）表现出与对照水平相近的空间觅向（sham：非记忆损伤大鼠）。他克林（THA）作为比较目的被引入。图 4d 显示口服施用（p.o.）化合物 B 对东莨菪碱（0.1 mg/kg）处理的小鼠的空间觅向（空间定向能力测试中训练区的总游泳距离的百分率）的效应。

图 4e 显示了化合物 C 对东莨菪碱（0.1 mg/kg）诱导的空间觅向（空间定向能力测试中训练区的总游泳距离的百分率）的效应。与没有施用药物的记忆损伤组（黑色柱）比，施用化合物 C 引起空间觅向增加。剂量为 0.2 和 0.4 mg/kg 化合物 C 表现出与对照水平相近的空间觅向（sham：非记忆损伤大鼠）。他克林（THA）作为比较目的被引入。

图 4f 显示了化合物 A 对东莨菪碱（0.1 mg/kg）诱导的空间觅向（空间定向能力测试中训练区的总游泳距离的百分率）的效应。与没有施用药物的记忆损伤组（黑色柱）比，施用化合物 A 引起空间觅向增加。剂量为 0.2 和 0.4 mg/kg 化合物 A 表现出与对照水平相近的空间觅向（sham：非记忆损伤大鼠）。

实施例 5

在测试个体中产生的保护性效应的研究

进行了 MCAO（中颈动脉阻塞模型）以研究当大脑暴露于瞬间局部缺血（缺少氧气）（以此来模拟中风时的状况）时，化合物 A、B 和 C 对大脑的保护性效应。从这个研究中获得了三种主要类型的数据。

(i) 在对小鼠进行 22 小时再灌注后, 观测到神经缺陷。使用四点评级神经评分系统 (Mann Whitney U 测试) 测定了新型化合物抵抗这些神经缺陷出现的能力。对于以下每个观测标志, 记录了测试个体的分布 (缺血后以本发明化合物处理或不处理): (0) 没有观测到神经缺陷 (正常); (1) 不能完全伸展左前爪 (轻度); (2) 向对侧转圈 (中度); 和 (3) 丧失步行反射和正位反射 (严重)。

(ii) 测试个体的大脑切片被分成 5 个小片, 测定每个切片的梗塞面积和体积。对于每个大脑切片, 将缺血后以本发明化合物处理的测试个体的梗塞面积百分率与对照组进行比较。

(iii) 对于缺血后以本发明化合物处理的测试个体, 测定其大脑半球膨胀和梗塞体积 (由于供血不足引起的坏死组织面积), 并与对照组进行比较。所有的三个化合物均有效地降低了梗塞体积 (由于供血不足引起的坏死组织面积) 和缺血状态下大脑半球膨胀。

缺血后 5 分钟、再灌注后 5 分钟或缺血后 6 小时施用化合物。图 5a 至 5f 分别显示缺血后或再灌注后 5 分钟施用异二聚体化合物 B、C 或 A 的结果。图 5g 和 5h 显示缺血后 6 小时施用新型异二聚体的结果。

表 2 显示化合物 B 减少了缺血诱导的神经缺陷。

表 2

化合物	n (死亡/总数)	观测到的神经缺陷				均数 ± SEM
		0	1	2	3	
载体	10 (0/10)	0	2	8	0	1.8 ± 0.1
化合物 B (0.05 µg/kg)	9 (2/11)	0	8	1	0	1.1 ± 0.1*
化合物 B (0.5 µg/kg)	4 (4/8)	0	2	2	0	1.5 ± 0.3

缺血后 5 分钟施用化合物 B。基于四点评级神经评分系统 (Mann Whitney U 测试) 的神经评分的分布: (0) 没有观测到神经缺陷 (正常); (1) 不能完全伸展左前爪 (轻度); (2) 向对侧转圈 (中度); 和 (3) 丧失步行反射和正位反射 (严重)。*P<0.01, 当与载体相比。

图 5a 证明以 0.05 µg/kg 施用后, 化合物 (cpd) B 降低了大脑切片 #2 和 #3 的梗塞面积。图 5a 的原始数据列于表 3。

表 3

		大脑切片#中的梗塞面积%				
	(n)	1	2	3	4	5
载体	10	15.7± 2.5	55.1± 3.3	54.9± 2.6	45.5± 5.4	0.5±0.7
化合物 B (0.05 µg/kg)	9	11.5± 3.0	42.6± 4.8*	40.0± 6.6*	34.0± 6.5	0.1±0.5

大脑被切成 5 个切片，每个 2 mm 厚。使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。计算梗塞面积和体积的百分率，以对侧半球的梗塞面积的百分率表示以消除浮肿向缺血损伤的分布。*P<0.05。

图 5b 显示施用化合物 (cpd) B 减少了梗塞体积但是没有减少半球膨胀。图 5b 的原始数据列于表 4。

表 4

化合物	n	梗塞体积 (%)	半球膨胀 (%)
载体	10	41.7±1.9	8.2±0.9
化合物 B (0.05 µg/kg)	9	31.2±4.6*	6.5±1.5

使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。按照如下（同侧体积-对侧体积）/对侧体积 X 100%计算大脑半球膨胀。*P<0.05。

表 5 显示化合物 C 减少了缺血诱导的神经缺陷。

表 5

化合物	n (死亡/总数)	观测到的神经缺陷				均数± SEM
		0	1	2	3	
载体	7 (4/11)	0	1	5	1	2.0±0.2
化合物 C (0.005 µg/kg)	9 (1/10)	0	9	0	0	1.0±0.0
化合物 C (0.05 µg/kg)	6 (1/7)	0	4	2	0	1.3±0.2

再灌注后 5 分钟施用化合物 C。基于四点评级神经评分系统 (Mann Whitney U 测试) 的神经评分的分布：(0) 没有观测到神经缺陷 (正常)；(1) 不能完全伸展左前爪 (轻度)；(2) 向对侧转圈 (中度)；和 (3)

丧失步行反射和正位反射（严重）。注意：不能计算 P 值（载体 相对于 0.005），因为对于 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，SEM 为 0。

图 5c 显示再灌注 5 分钟后施用化合物（cpd）C 后，大脑切片#4 的梗塞面积减少。图 5c 的原始数据列于表 6。

表 6

化合物	(n)	大脑切片#中的梗塞面积%				
		1	2	3	4	5
载体	7	11.8 \pm 3.4	48.1 \pm 3.6	52.6 \pm 4.1	43.2 \pm 8.6	-1.6 \pm 1.1
化合物 C (0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	9	18.8 \pm 3.3	47.8 \pm 3.0	45.4 \pm 1.8	18.5 \pm 3.8*,#	0.6 \pm 0.5
化合物 C (0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	6	12.8 \pm 3.3	54.0 \pm 4.1	51.4 \pm 3.1	26.2 \pm 6.7	-1.0 \pm 0.8

大脑被切成 5 个切片，每个 2 mm 厚。使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。计算梗塞面积和体积的百分率，以对侧半球的梗塞面积的百分率表示以消除浮肿向缺血损伤的分布。

*P<0.01，当与载体单独相比较时（t-检验）。

#P<0.05，当在 3 组中比较，然后与载体比较时（ANOVA 测试，然后 Bonferroni's post 测试）。

图 5d 显示再灌注 5 分钟后施用化合物（cpd）C 减少了梗塞大小也减少了半球膨胀。图 5d 的原始数据列于表 7。

表 7

化合物	n	梗塞体积 (%)	半球膨胀 (%)
载体	7	38.4 \pm 3.2	9.9 \pm 0.7
化合物 C (0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	9	30.1 \pm 1.5*	7.1 \pm 1.0 §
化合物 C (0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	6	34.5 \pm 3.7	7.4 \pm 1.0#

使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。按照如下（同侧体积-对侧体积）/对侧体积 X 100%计算大脑半球膨胀。

* $P < 0.02$, 当与载体单独相比较时 (t-检验); § $P < 0.04$, 当与载体单独相比较时 (t-检验); # $P = 0.0595$, 当与载体相比较时 (t-检验)。

表 8 显示化合物 A 减少了缺血诱导的神经缺陷。

表 8

化合物	n (死亡/总数)	观测到的神经缺陷				均数± SEM
		0	1	2	3	
载体	10 (8/18)	0	2	7	1	1.9±0.2
化合物 A (0.005mg/kg)	5 (5/10)	0	2	3	0	1.6±0.2
化合物 A (0.05 mg/kg)	6 (1/7)	0	5	1	0	1.2±0.2*
化合物 A (0.1 mg/kg)	9 (4/13)	0	7	2	0	1.2±0.1*
化合物 A (0.2 mg/kg)	7 (4/11)	0	2	4	1	1.9±0.7*

缺血后 5 分钟施用化合物 A。基于四点评级神经评分系统 (Mann Whitney U 测试) 的神经评分的分布: (0) 没有观测到神经缺陷 (正常); (1) 不能完全伸展左前爪 (轻度); (2) 向对侧转圈 (中度); 和 (3) 丧失步行反射和正位反射 (严重)。* $P < 0.05$, 当与载体相比。

图 5e 显示以 0.05 和 0.1 mg/kg 的剂量施用化合物 (cpd) A 后, 梗塞面积的改善。图 5e 的原始数据列于表 9。

表 9

化合物	(n)	大脑切片#中的梗塞面积%				
		1	2	3	4	5
载体	(10)	0.8± 2.0	55.9± 1.8	53.6± 2.1	33.5± 2.2	-7.1± 1.5
化合物 A (0.005 mg/kg)	(5)	2.2± 2.0	48.8± 4.3	49.3± 4.4	26.5± 9.3	-4.3± 0.6
化合物 A (0.05)	(6)	-0.4± 2.2	39.1± 2.4**	44.5± 0.9**	17.1± 3.2**	-6.3± 2.8

mg/kg)						
化合物 A (0.1 mg/kg)	(9)	2.0± 1.8	49.5± 2.0*	48.4± 1.8*	10.4± 3.3**	-9.9± 1.7
化合物 A (0.2 mg/kg)	(7)	1.3± 0.7	44.7± 6.6	49.0± 3.8	37.3± 3.8	-3.3± 1.6

缺血后 5 分钟施用化合物 A。大脑被切成 5 个切片，每个 2 mm 厚。使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。计算梗塞面积和体积的百分率，以对侧半球的梗塞面积的百分率表示以消除浮肿向缺血损伤的分布。（*P=0.05，**p<0.01，t-检验，当与载体相比时）。

图 5f 显示缺血后 5 分钟施用化合物 (cpd) A (剂量为 0.05 和 0.1mg/kg) 减少了梗塞体积但是没有减少半球膨胀。图 5f 的原始数据列于表 10。

表 10

化合物	n	梗塞体积 (%)	半球膨胀 (%)
载体	(10)	36.0±1.4	13.4±0.8
化合物 A (0.005 mg/kg)	(5)	31.3±4.3	10.3±0.4
化合物 A (0.05 mg/kg)	(6)	24.8±1.1**	15.5±1.1
化合物 A (0.1 mg/kg)	(9)	26.5±1.4*	12.5±1.1
化合物 A (0.2 mg/kg)	(7)	33.8±1.6	15.2±1.2

使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。按照如下（同侧体积-对侧体积）/对侧体积 X 100%计算大脑半球膨胀。

*P<0.005；**P<0.001（t-检验，当与载体相比时）。

表 11 显示在缺血后 6 小时施用化合物 B 或 C 减少了神经缺陷。

表 11

化合物	n (死亡/总数)	观测到的神经缺陷				均数± SEM
		0	1	2	3	

载体	10 (0/10)	0	1	7	2	2.1±0.2
化合物 B (0.005 µg/kg)	9 (0/9)	0	7	2	0	1.2±0.2**
化合物 B (0.05 µg/kg)	8 (3/12)	0	5	3	0	1.4±0.2*
化合物 C (0.005 µg/kg)	8 (1/9)	0	6	2	0	1.3±0.2*
化合物 C (0.05 µg/kg)	8 (1/9)	0	6	2	0	1.3±0.2*

缺血后 6 小时施用化合物 B 或 C。基于四点评级神经评分系统 (Mann Whitney U 测试) 的神经评分的分布: (0) 没有观测到神经缺陷 (正常); (1) 不能完全伸展左前爪 (轻度); (2) 向对侧转圈 (中度); 和 (3) 丧失步行反射和正位反射 (严重)。

*P<0.03, **P<0.01, Mann Whitney 检验, 当与对照相比。

图 5g 显示在缺血后 6 小时施用化合物 (cpd) B 或 C 时, 梗塞面积的改善。图 5g 的原始数据列于表 12。

表 12

		脑切片#中的梗塞面积%				
化合物	(n)	1	2	3	4	5
载体	(10)	18.3± 2.9	52.5± 2.8	50.3± 3.6	30.6± 5.1	-0.7± 0.6
化合物 B (0.005 µg/kg)	(9)	11.9± 4.3	43.4± 6.5	40.1± 4.7**	24.3± 7.5	-1.4± 1.0
化合物 B (0.05 µg/kg)	(8)	15.7± 2.9	50.5± 7.2	41.7± 6.0	25.2± 8.2	-1.3± 1.7
化合物 C (0.005 µg/kg)	(8)	15.9± 4.0	40.2± 7.9	35.5± 5.3**	12.5± 4.9**	-0.8± 0.8
化合物 C (0.05 µg/kg)	(8)	11.7± 3.3	38.0± 6.8*	32.5± 6.6**	16.8± 6.0	0.5± 0.4

大脑被切成 5 个切片, 每个 2-mm 厚。使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。计算梗塞面积和体积的百分率, 以对侧半球的

梗塞面积的百分率表示以消除浮肿向缺血损伤的分布。

*P<0.05, **p<0.03, t-检验, 当与对照相比时。

图 5h 证明缺血后 6 小时施用化合物 (cpd) B 或 C, 减少了梗塞体积。图 5h 的原始数据列于表 13。

表 13

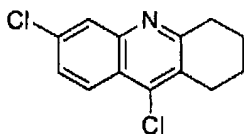
	n	梗塞体积 (%)	半球膨胀 (%)
载体	(10)	35.8±2.9	7.0±0.8
化合物 B (0.005 µg/kg)	(9)	28.5±3.4	7.3±1.2
化合物 B (0.05 µg/kg)	(8)	31.1±4.8	7.0±1.5
化合物 C (0.005 µg/kg)	(8)	23.9±4.3*	6.2±1.2
化合物 C (0.05 µg/kg)	(8)	23.5±4.4*	5.0±1.2

使用图像分析程序分析每个后表面的梗塞面积。按照如下 (同侧体积-对侧体积) /对侧体积 X 100%计算大脑半球膨胀。

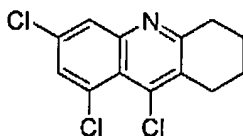
*P<0.03, t-检验, 当与对照相比时。

实施例 6

以下证明了合成本发明所述化合物时所用的特定方法。



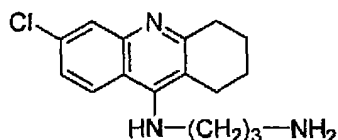
6,9-二氯-1,2,3,4-四氢-吲哚: 向 2-氨基-4-氯苯甲酸 (4.5 g, 26.23 mmol) 和环己酮 (2.72 mL, 26.23 mmol) 的混合物中加入 22 mL 三氯氧磷。将混合物加热回流持续 3 小时。将多余的三氯氧磷蒸掉, 以饱和的碳酸氢钠处理所得的混合物。过滤浅褐色沉淀, 用水洗涤, 真空干燥, 得到所需产物 6.50 g (25.77 mmol, 98.2%)。



6,8,9-三氯-1,2,3,4-四氢-吲哚: 将 3,5-二氯-苯胺 (3.0 g, 18.7 mmol)

和 2-氧代-环己烷羧酸乙酯 (3.3 mL, 20.5 mmol) 的混合物在氮气下加热至 90 摄氏度持续 24 小时。加入苯醚 (15 mL), 将混合物加热至回流。通过迪安-斯脱克分水器 (Dean-Stark trap) 除去反应所产生的乙醇。按照 TLC 所示反应完全之后, 使混合物冷却至室温。加入己烷, 通过过滤收集所得的固体。将由乙醇产生的固体重结晶, 从而得到所需产物 6,8,-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-酚 (2.4 g, 48%)。

将 6,8,-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-酚 (1.8 g, 6.7 mmol) 的三氯氧磷溶液 (45 mL) 加热至 135 摄氏度, 持续 45 分钟。在真空下将多余的三氯氧磷蒸掉, 使剩余的混合物冷却至室温, 以饱和的碳酸氢钠处理。用二乙醚 (x 3) 提取所得的悬浮液。将混合的醚提取物用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。从乙醇重结晶得到所需产物 (1.3 g, 68%), 其为白色固体。



N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丙烷-1,3-二胺: 将 6,9,-二氯-1,2,3,4-四氢吡啶 (1.0 g, 3.97 mmol), 1,3-二氨基丙烷 (1.67 mL, 19.83 mmol) 和 4 mL 的 1-戊醇的混合物注入密封的管中。将混合物加热至 160 摄氏度, 持续 24 小时。冷却后, 加入饱和碳酸氢钠, 用二氯甲烷提取混合物三次。混合的提取物用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。以 10-20% 的 MeOH/CH₂Cl₂ (1%氢氧化铵) 通过硅胶柱层析纯化所得残余物从而得到所需产物, 其为褐色油状 (1.0 g, 87%)。

¹HNMR(400MHz, CDCl₃): 7.92 (d, *J* = 9.2 Hz, 1 H), 7.83 (d, *J* = 2.4 Hz, 1 H), 7.21 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1 H), 3.61 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H), 2.98 (m, 2 H), 2.88 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H), 2.62 (m, 2 H), 1.87 (m, 4 H), 1.77 (m, 2 H)。

¹³CNMR(100MHz, CDCl₃): 159.1, 150.7, 147.8, 133.5, 127.1, 124.5, 123.6, 118.0, 115.3, 48.3, 40.4, 33.9, 33.8, 24.9, 22.9, 22.6。

四个化合物, 命名为 F、G、H、I, 抑制乙酰胆碱酯酶 (AChE)。

测定了对 AChE 和丁酰胆碱酯酶 (BChE) 的体外抑制。BChE 像 AChE 一样, 分解乙酰胆碱 (ACh), 但是 BChE 在血浆和其他器官例如肝脏、皮肤和胃肠道中被发现。由于 BChE 抑制可引起不想要的副

作用,所以测定了化合物(i)对于AChE的有效抑制和(ii)对于AChE而不是BChE的强选择性。

通过进行胆碱酯酶测试并使用基于Ellman方法的分光光度方法测定酶的活性来证明化合物的抗乙酰胆碱酯酶活性。分别从斩首大鼠的皮层和血清中制备抑制性研究中所使用的酶,AChE和BChE。确定了每个新型化合物达到50%酶抑制所需的浓度(IC₅₀)。结果见下表。

表 14

通式 II 所示的新型化合物的 AChE 抑制活性

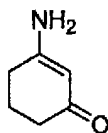
测试化合物	AChE IC ₅₀ (nM)	BChE IC ₅₀ (nM)	选择性 AChE*
化合物 F	7.13 ± 0.76	306.00 ± 7.02	42.92
化合物 G	19.03 ± 1.69	1620.00 ± 20.00	85.11
化合物 H	14.33 ± 1.26	419.00 ± 63.17	29.23
化合物 I	53.73 ± 9.46	5973.33 ± 501.48	111.17

*对于 AChE 的选择性定义为 IC₅₀ (BChE) / IC₅₀ (AChE)

根据以上所述程序,使用合适的二胺和氯吡啶制备了以下化合物,产率为 80-95%:

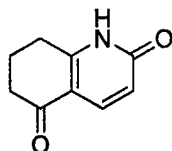
N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丁烷-1,4-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-戊烷-1,5-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-己烷-1,6-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-庚烷-1,7-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-辛烷-1,8-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-壬烷-1,9-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-癸烷-1,10-二胺;
 N¹-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-十二烷-1,12-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丙烷-1,3-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丁烷-1,4-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-戊烷-1,5-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-己烷-1,6-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-庚烷-1,7-二胺;
 N¹-(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-辛烷-1,8-二胺;

N^1 -(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-壬烷-1,9-二胺;
 N^1 -(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-癸烷-1,10-二胺; 和
 N^1 -(6,8-二氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-十二烷-1,12-二胺。

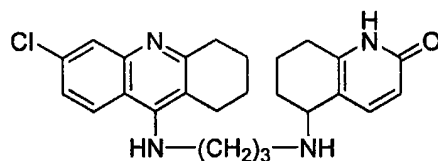


3-氨基-环己-2-烯酮: 向 1L 的双颈烧瓶, 连接一个带有冷凝器和氨输入的迪安-斯脱克装置中注入 200 g (1.78 mol) 的 1,3-环己二酮和 600 mL 的苯。将混合物加热至回流, 氨气起泡进入反应。反应中产生的水被迪安-斯脱克装置捕获。混合物形成两层, 底层在回流 4 小时后被固化。然后终止反应, 冷却至室温。将苯轻轻倒出, 所得的固体用 300 mL 的氯仿研磨, 过滤得到所需的产物, 其为黄色固体 (167.1 g, 1.51 mol, 86%)。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): 5.23 (s, 1 H), 3.20 (bs, 1 H), 2.37 (m, 2 H), 2.28 (m, 2 H), 1.97 (m, 2 H)。



7,8-二氢-1H,6H-喹啉-2,5-二酮: 向 500 mL 的烧瓶, 连接一个冷凝器中加入 3-氨基-环己-2-烯酮 (110 g, 0.99 mol) 和丙炔酸乙酯 (ethyl propiolate) (100 mL, 0.99 mol)。将混合物加热至 100 摄氏度。反应起始时缓慢, 随着反应进行而加速。当反应在 120 摄氏度回流 4 小时后, 将混合物加热至 150 摄氏度以除去任何液体。最后, 将混合物加热至 190 摄氏度并持续 1 小时。将反应冷却至室温, 加入 300 mL 的二氯甲烷。将混合物研磨并过滤以得到所需的产物 (34 g, 21%)。



5-[3-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-丙基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮: 向烧瓶中加入 N^1 -(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丙烷

-1,3-二胺(116 mg, 0.40 mmol), 7,8-二氢-1H,6H-喹啉-2,5-二酮(85 mg, 0.52 mmol), 苯(4 mL)和一滴乙酸, 将得到的混合物在氮气下加热至回流。反应产生的水通过迪安-斯脱克装置除去。回流24小时后, 蒸掉苯, 加入甲醇(2 mL), 然后加入硼氢化钠(30 mg, 0.80 mmol)。室温搅拌24小时后, 终止反应并浓缩。以饱和碳酸氢钠和二氯甲烷处理混合物。分层, 以二氯甲烷提取水层两次。将混合的二氯甲烷提取物合并, 以硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。使用二氯甲烷中的15%的MeOH/1%氢氧化铵通过制备型TLC纯化所得残余物, 以得到所需产物(102 mg, 0.23 mmol, 58%)。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 7.84 (d, $J = 1.8$ Hz, 1 H), 7.41 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 7.19 (dd, $J = 9.0, 1.8$ Hz, 1 H), 6.36 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 3.62 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H), 3.53 (m, 1 H), 2.96 (m, 2 H), 2.89 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.63 (m, 4 H), 1.74-1.83 (m, 10 H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (100MHz, CDCl_3): δ 164.8, 159.1, 150.9, 147.7, 144.2, 143.1, 133.8, 127.1, 124.5, 123.9, 118.1, 116.9, 116.8, 115.5, 53.2, 48.6, 45.4, 33.8, 31.8, 27.2, 26.8, 25.0, 22.9, 22.6, 17.3。

根据上述程序制备以下化合物:

5-[5-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-戊基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-100)

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.89 (m, 2 H), 7.51 (m, 1 H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 6.37 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (bs, 1 H), 3.59 (m, 1 H), 3.50 (m, 3 H), 3.03 (m, 2 H), 2.66 (m, 6 H), 1.91 (m, 6 H), 1.67-1.79 (m, 4 H), 1.57 (m, 2 H), 1.25 (m, 2 H)。

5-[6-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-己基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-101)

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.88 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 6.40 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (brs, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.49 (m, 3 H), 3.03 (m, 2 H), 2.68 (m, 4 H), 2.60 (m, 2 H), 1.92 (m, 6 H), 1.78 (m, 2 H), 1.67 (m, 2 H), 1.50 (m, 2 H), 1.41 (m, 4 H)

5-[7-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-庚基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-102)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.88 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.87 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 6.39 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (brs, 1 H), 3.53 (m, 1 H), 3.47 (m, 3 H), 3.02 (m, 2 H), 2.66 (m, 4 H), 2.58 (m, 2 H), 1.91 (m, 6 H), 1.77 (m, 2 H), 1.65 (m, 2 H), 1.46 (m, 2 H), 1.34 (m, 6 H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, CDCl_3): δ 164.8, 159.2, 150.5, 147.9, 144.0, 143.1, 133.6, 127.3, 124.3, 123.9, 118.2, 117.2, 116.7, 115.5, 52.9, 49.5, 46.9, 34.0, 31.7, 30.4, 29.2, 27.5, 27.2, 26.8, 26.8, 24.5, 22.9, 22.6, 17.4。

5-[8-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-辛基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-103)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.88 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.87 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 6.39 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 4.05 (brs, 1 H), 3.59 (m, 1 H), 3.48 (m, 3 H), 3.03 (m, 2 H), 2.67 (m, 6 H), 1.91 (m, 6 H), 1.78 (m, 2 H), 1.65 (m, 2 H), 1.50 (m, 2 H), 1.32 (m, 8 H)

5-[9-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-壬基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-104Lh)

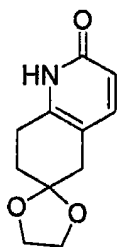
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.89 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.88 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 6.40 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (brs, 1 H), 3.54 (m, 1 H), 3.48 (m, 2 H), 3.02 (m, 2 H), 2.67 (m, 4 H), 2.59 (m, 2 H), 1.91 (m, 6 H), 1.78 (m, 2 H), 1.65 (m, 2 H), 1.48 (m, 2 H), 1.32 (m, 10 H)

5-[10-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-癸基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-105 Lh)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 7.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.88 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 6.40 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (brs, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.47 (m, 2 H), 3.02 (m, 2 H), 2.67 (m, 4 H), 2.59 (m, 2 H), 1.91 (m, 6 H), 1.75 (m, 2 H), 1.64 (m, 2 H), 1.47 (m, 2 H), 1.32 (m, 12 H)

5-[12-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-十二基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮 (he-3-109)

^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 7.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.88 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 6.40 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 3.95 (brs, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.48 (m, 2 H), 3.02 (m, 2 H), 2.67 (m, 4 H), 2.59 (m, 2 H), 1.91 (m, 6 H), 1.75 (m, 2 H), 1.64 (m, 2 H), 1.47 (m, 2 H), 1.32 (m, 16 H)

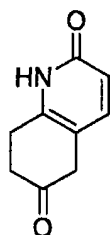


1,5,7,8-四氢-喹啉-2,6-二酮-6-乙二醇缩酮: 在一个密封的压力管中将 60 mL 铵饱和甲醇中的 1,4-环己二酮单乙二醇缩酮 (10 g, 64 mmol) 和丙炔酸甲酯 (6.8 mL, 76.8 mmol) 的混合物加热至 110 摄氏度, 持续 24 小时。然后反应冷却至室温并浓缩。以二氯甲烷中的 5% 甲醇进行硅胶柱层析纯化, 从而得到所需产物 (4.1 g, 19.6 mmol, 31%)。

^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 7.18 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 6.42 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 4.01 (s, 4 H), 2.91 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H), 2.71 (s, 2 H), 1.92 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H)。

^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3): δ 164.9, 143.5, 141.9, 117.2, 112.2, 107.3, 64.6, 36.2, 30.1, 25.7。

MS (ESI) 208.26 (M + H)。

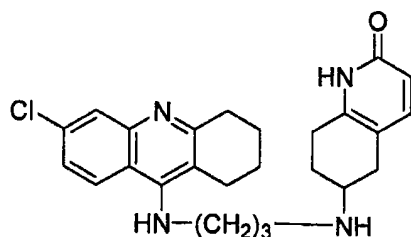


1,5,7,8-四氢-喹啉-2,6-二酮: 将 30 mL 水中的 1,5,7,8-四氢-喹啉-2,6-二酮-6-乙二醇缩酮 (2 g, 9.66 mmol) 和对甲基苯磺酸一水合物 (184 mg, 0.97 mmol) 的混合物加热至回流, 持续 3 小时。TLC 显示所有的起始缩酮均消失。然后将混合物冷却至室温, 加入碳酸氢钠。将混合物浓缩, 加入硅胶。以 5% 的甲醇/二氯甲烷通过硅胶柱层析纯化, 从而得到所需产物, 产率为 90%。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.25 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 6.49 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 3.36 (s, 2 H), 3.11 (t, $J = 7.0$ Hz, 2 H), 2.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2 H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 207.1, 165.0, 142.8, 142.2, 118.1, 111.2, 40.3, 36.9, 26.0。

MS (ESI): 164.20 (M + H)。



6-[3-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-丙基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮: 向 5 mL 二氯甲烷中的 N^1 -(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-丙烷-1,3-二胺 (50 mg, 0.17 mmol) 和 1,5,7,8-四氢-喹啉-2,6-二酮 (31 mg, 0.19 mmol) 的混合物中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (110 mg, 0.52 mmol) 和催化量的乙酸。室温下搅拌 24 小时后, 通过加入饱和碳酸氢钠而终止反应。将混合物用二氯甲烷提取三次。将混合的二氯甲烷提取物干燥、过滤并浓缩。以二氯甲烷中的 10% MeOH/1% 氢氧化铵通过硅胶柱层析纯化, 从而得到所需产物 (27.6 mg, 0.063 mmol, 37%)。Mp: 98-100 C。

IR(KBr): 3422, 2931, 1633, 1605, 1447, 1361, 1092, 831。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 1.72 (m, 1H); 1.88 (m, 6H); 2.07 (m, 1H); 2.42 (m, 1H); 2.53-2.61 (m, 6H); 2.93-2.99 (m, 4H); 3.75 (m, 2H); 6.37 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.20 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz); 7.25 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H); 7.84 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H); 7.99 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H)。

$^{13}\text{C NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 21.9; 22.5; 23.9; 24.9; 26.9; 29.0; 30.5; 31.9; 32.5; 34.4; 45.3; 52.9; 65.0; 112.4; 114.3; 116.8; 117.0; 124.3; 125.0; 135.2; 141.6; 143.7; 144.1; 145.1; 152.2; 156.8; 164.0。

MS(ESI): 437.31 (M + H)。

通过上述程序制备了以下化合物:

6-[9-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-壬基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮:

Mp: 163-165 C。

IR(KBr): 3418, 2929, 2854, 1630, 1449, 1092, 832。

^1H NMR(400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 1.30 (m, 6 H); 1.58-1.69 (m, 8 H); 1.92 (m, 6 H); 2.12 (m, 1H); 2.47(m, 1 H); 2.65-2.82 (m, 8 H); 3.00 (m, 2 H); 3.58 (m, 2 H); 6.37(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H); 7.23 (d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H); 7.30 (dd, $J = 9.2, 2.4\text{ Hz}$, 1H); 7.85 (d, $J = 2.4\text{ Hz}$, 1H); 7.98 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H)。

^{13}C NMR(75MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 22.0; 22.5; 24.2; 25.0; 26.3; 26.6; 27.0; 28.6; 29.0; 29.1; 29.2; 31.3; 32.3; 46.3; 48.4; 49.2; 52.6; 112.1; 114.4; 117.0; 117.1; 124.2; 124.7; 124.8; 134.8; 141.3; 143.6; 145.8; 151.8; 157.5; 163.8。

MS(ESI): 521.46 (M+H)。

6-[8-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-辛基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮:

Mp: 185-187 C。

IR(KBr): 3400, 2990, 2856, 1649, 1630, 1605, 1518, 1452, 1357, 1179, 1092, 830。

^1H NMR($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 1.33 (m, 8 H); 1.58-1.69 (m, 6 H); 1.92 (m, 4 H); 2.12 (m, 1 H); 2.47(m, 2 H); 2.65-2.83 (m, 7 H); 3.01 (br, 3 H); 6.37 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H); 7.22 (d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H); 7.30 (m, 1 H); 7.87(m, 1 H); 7.98(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H)。

^{13}C NMR($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 22.0; 22.5; 24.3; 25.0; 26.3; 26.6; 26.9; 28.6; 29.0; 29.1; 31.3; 31.4; 32.3; 46.4; 48.6; 52.7; 112.1; 114.5; 117.1; 117.2; 124.3; 124.8; 124.8; 135.0; 141.2; 143.7; 145.7; 151.9; 157.4; 163.8。

MS(ESI): 507.38 (M + H)。

6-[7-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-庚基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮:

Mp: 126-127 C。

IR(KBr): 3423, 2930, 1629, 1450, 1092, 831。

^1H NMR($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 1.38 (br, 6 H); 1.59-1.70 (m, 6 H); 1.92 (br, 4 H); 2.12(m, 1 H); 2.47(m, 2 H); 2.66-2.78 (m, 7 H); 3.01 (br, 3 H); 6.37(d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H); 7.22(d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H); 7.30(m, 1H); 7.86(s, 1 H); 7.98(d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H)。

^{13}C NMR($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 22.0; 22.5; 24.3; 25.; 26.3; 26.6; 26.9; 28.5; 28.9; 31.2; 31.4; 32.2; 46.3; 48.5; 52.7; 112.1; 114.5; 117.0; 117.2; 124.4; 124.7; 124.8; 135.0; 141.2; 143.6; 145.6; 151.9; 157.4; 163.8。

MS(ESI): 493.37 (M + H)。

6-[6-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-己基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮:

Mp: 147-149 C。

IR(KBr): 3423, 2930, 1634, 1459, 1092, 829。

¹H NMR(CDCl₃/CD₃OD): δ 1.42 (m, 4H); 1.59-1.71 (m, 5H); 1.92 (m, 5H); 2.11(m, 2H); 2.43(m, 1H); 2.67-2.73(m, 8H); 3.00(br, 3H); 3.57(m, 3H); 6.38(d, 1H, J=8.8Hz); 7.23(d, 1H, J=9.2Hz); 7.30(m, 1H); 7.85(m, 1H); 7.97(d, 1H, J=9.2Hz)。

¹³C NMR(CDCl₃/CD₃OD): δ 22.1; 22.5; 23.9; 24.3; 25.0; 26.5; 26.7; 28.9; 31.2; 31.8; 32.5; 34.3; 46.3; 52.7; 112.3; 114.7; 117.0; 124.2; 124.7; 125.0; 134.7; 141.4; 143.7; 146.1; 146.0; 151.6; 157.7; 163.9

MS(ESI): 479.36 (M + H)。

6-[10-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-癸基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮:

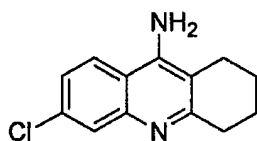
Mp: 161-163 C。

IR(KBr): 3411, 2929, 2854, 1630, 1450, 1360, 1092, 832。

¹H NMR(CDCl₃/CD₃OD): δ 1.28 (m, 12 H); 1.58-1.68 (m, 5 H); 1.91 (m, 5 H); 2.14 (m, 1 H); 2.47(m, 1 H); 2.65-2.78 (m, 6 H); 3.01(br, 3 H); 3.55 (m, 3 H); 6.36(d, J = 9.2Hz, 1 H); 7.20 (d, J = 9.2Hz, 1 H); 7.29 (m, 1 H); 7.87 (m, 1 H); 7.95(d, J = 9.2 Hz, 1H)。

¹³C NMR(CDCl₃/CD₃OD): δ 22.2; 22.7; 24.3; 25.1; 26.4; 26.8; 27.1; 28.8; 29.2; 29.3; 29.3; 29.3; 29.3; 29.3; 31.5; 31.5; 32.7; 46.5; 52.7; 112.1; 114.6; 117.2; 117.3; 124.3; 124.7; 125.4; 134.7; 141.3; 143.7; 146.3; 151.6; 158.0; 164.0。

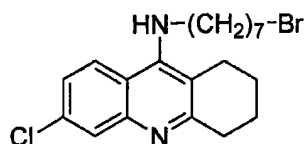
MS (ESI): 535.37 (M + H)。



6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基胺: 在圆底烧瓶中混合 2-氨基-4-氯苯甲腈 (5.0 g, 33 mmol)、环己酮 (30 ml) 和氯化锌 (4.8 g, 35 mmol) 混合并加热至 120 摄氏度, 持续 3 小时。冷却至室温后, 轻轻倒出溶剂。将所得的残余物以乙酸乙酯 (30 ml) 研磨成粉。通过过滤收集固体物, 加入 10% NaOH 水溶液 (50 ml)。搅拌 2 小时后, 将混合物过滤, 以水彻底洗涤滤饼。然后以甲醇提取滤饼。将混合的甲醇提取物浓缩以获得所需产物 (3.8 g, 16 mmol), 产率为 48%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 8.06 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 7.68 (d, $J = 2.1\text{Hz}$, 1H), 7.33 (dd, $J = 9.0, 2.1\text{Hz}$, 1H), 2.92 (t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 2.61 (t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 1.94 (m, 4H)。

MS (ESI): 233 [M+1]



(7-溴-庚基)-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-胺: 将氢氧化钾 (95 mg, 1.7 mmol) 加入到 6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基胺 (395 mg, 1.7 mmol) 的二甲基亚砜 (15 ml) 溶液中, 将混合物在室温下氮气中用力搅拌, 持续 2 小时。加入 1,7-二溴庚烷 (438 mg, 1.7 mmol), 室温下继续搅拌反应物 12 小时。将反应混合物倾倒入冰水中, 用乙酸乙酯提取。将混合的乙酸乙酯提取物干燥、过滤并浓缩。以己烷/乙酸乙酯/三乙基胺 (8/2/1) 通过硅胶柱层析纯化, 从而得到所需产物 (244 mg, 0.60 mmol), 产率为 35%。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.87 (m, 2H), 7.24 (dd, $J = 9.0, 2.1\text{Hz}$, 1H), 3.62 (t, $J = 6.9\text{Hz}$, 2H), 3.54 (t, $J = 6.6\text{Hz}$, 2H), 3.18 (bs, 2H), 2.81 (bs, 2H), 1.23~2.04 (m, 14H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 159.4, 150.6, 148.0, 133.7, 127.5, 124.5, 123.9, 118.3, 115.6, 49.4, 33.9, 33.7, 32.5, 31.5, 28.3, 27.8, 26.6, 24.4, 22.8, 22.5。

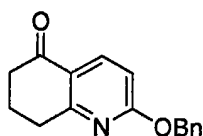
根据以上程序制备了以下化合物:

(8-溴-辛基)-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-胺

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.88 (m, 2H), 7.26 (dd, $J = 9.3, 1.9\text{Hz}$, 1H), 3.46 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 3.39 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 3.02 (brs, 2H), 2.65 (brs, 2H), 1.25~1.91 (m, 16H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 159.3, 150.5, 147.9, 133.7, 127.4, 124.4, 123.9, 118.2, 115.5, 49.5, 34.0, 33.9, 32.7, 31.7, 29.1, 28.6, 28.0, 26.8, 24.6, 23.0, 22.7。

(9-溴-壬基)-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-胺

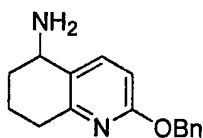
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3): δ 7.87 (m, 2H), 7.24 (dd, $J = 9.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.38 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 3.01 (brs, 2H), 2.64 (brs, 2H), 1.23~1.90 (m, 17H)。
 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 159.1, 150.5, 147.8, 133.6, 127.2, 124.4, 123.8, 118.1, 115.4, 49.5, 34.0, 33.9, 32.7, 31.7, 29.2, 29.1, 28.6, 28.0, 26.8, 24.5, 22.9, 22.6。



2-苄氧基-7,8-二氢-6H-喹啉-5-酮: 将甲苯 (250 mL) 中的 7,8-二氢-1H,6H-喹啉-2,5-二酮 (20.4 g, 125.0 mmol), 苄基溴 (17.8 mL, 150 mmol) 和 20.8 g, 75 mmol) 的混合物在室温下避光搅拌 3 天。终止反应, 以硅藻土过滤, 以二氯甲烷和甲醇的混合物洗涤。将过滤物浓缩, 在石油醚 (150 mL) 中研磨。将混合物过滤得到所需产物 (29.4 g, 92%)。

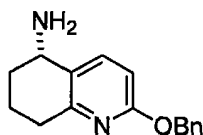


O-苄基-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉 5-基)-羟基胺: 向吡啶 (300 mL) 中的 2-苄氧基-7,8-二氢-6H-喹啉-5-酮 (37.8 g, 149 mmol) 的混合物加入盐酸 O-苄基羟基胺 (26.2 g, 164 mmol), 在室温下搅拌得到的混合物, 持续 24 小时。将反应物浓缩, 以二氯甲烷稀释, 以饱和的碳酸氢钠洗涤两次, 以盐水洗涤两次。将二氯甲烷层干燥, 过滤并浓缩。以己烷中的 5% 乙酸乙酯通过硅胶柱层析纯化, 从而得到所需产物 (51.0 g, 96%), 其为灰白色固体。



2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉 5-基-胺: 在氮气中用冰水浴将溶于干燥的 THF (65 mL) 中的 O-苄基-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-羟基胺 (51.0 g, 142 mmol) 冷却。在 30 分钟内通过加液漏斗滴加硼烷 (1.0 M, 在 THF 中, 427 mL)。使反应物回暖至室温, 搅拌过夜。然后将混合物加热至回流。2 小时后, 终止加热, 使反应物冷却至室温。通过加液漏斗滴加水 (120 mL)。然后将混合物浓缩, 加入 20% 氢氧化钠水溶液 (200 mL)。将所得的混合物加热至回流, 持续 2 小时。使反应物冷却至室温, 以二氯甲烷提取 3 次。将混合的二氯甲烷提取物干燥、过滤并浓缩。以 20% 甲醇/1% 氢氧化铵/二氯甲烷通过硅胶柱层析

纯化，从而得到所需产物（32.0 g，89%），其为无色油状。

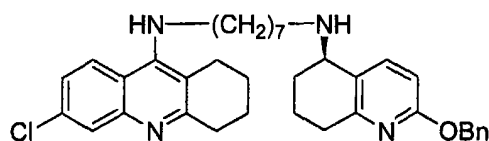


(S)-2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺：

拆分：向溶于 700 mL 甲醇的 R-(-)扁桃酸（26.64 g，104.8 mmol）的溶液中，加入溶于 100 mL 甲醇的外消旋 2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺（15.95 g，104.8 mmol）。加入完成后，另外再加入甲醇直至总体积达到 0.95 L。将溶液旋动，置于室温过夜。R-(-)扁桃酸和(S)-2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺的盐结晶。通过过滤收集晶体（15.8 g，36.6%），以甲醇洗涤。其光学纯度被测定为 94% ee。通过加热将晶体再次溶于 760 mL 的甲醇，将所得到的溶液置于室温过夜。通过过滤收集针状结晶（9.6 g，22%，97% ee）。从母液中获得另一个产物（3.6 g，8.5%，98% ee）。

释放：将 R-(-)扁桃酸和(S)-2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺的盐（13.29 g，~98% ee）加入氢氧化钠水溶液（82 mL，2N）中，将所得的混合物加热至 50 摄氏度，持续 30 分钟。以二氯甲烷提取所得的混合物 3 次。用盐水洗涤混合的二氯甲烷一次，以硫酸钠干燥，过滤并浓缩以得到所需产物（8.3 g），其为无色油状。

(R)-2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺：根据上述程序，使用(S)-(+)-扁桃酸作为拆分试剂，获得所需的(R)对映异构体。



(R)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-己烷-1,7-二胺：在氮气中将干燥的 N,N-二甲基甲酰胺（2.1 mL）中的(7-溴-庚基)-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-胺（180 mg，0.43 mmol）和(S)-2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基胺（108 mg，0.43 mmol）的溶液加热至 120 摄氏度，持续 5 小时。冷却至室温后，将反应混合物倾倒入冰水。以乙酸乙酯提取混合物。将混合的乙酸乙酯干燥、过滤并浓缩。以己烷/乙酸乙酯/三乙胺（8/2/1）通过硅胶柱层析纯化所得的

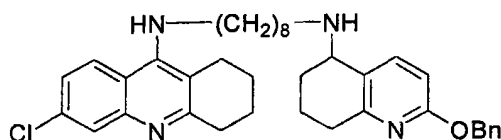
粗产物，从而得到所需产物（80 mg，0.14 mmol），产率为 33%。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.88 (m, 2H), 7.24~7.56 (m, 7H), 6.58 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.68 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.01 (brs, 2H), 2.56~2.82 (m, 6H), 1.31~1.98 (m, 18H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 161.5, 159.4, 154.5, 150.6, 148.0, 139.5, 137.5, 133.7, 128.2 (2C), 127.9 (2C), 127.5, 127.4, 127.2, 124.4, 124.0, 118.3, 115.6, 108.2, 67.4, 54.6, 49.6, 47.0, 34.1, 32.4, 31.8, 30.5, 29.3, 28.2, 27.4, 27.0, 24.6, 23.0, 22.7, 18.9。

根据以上程序制备了以下化合物。

(S)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)庚烷-1,7-二胺

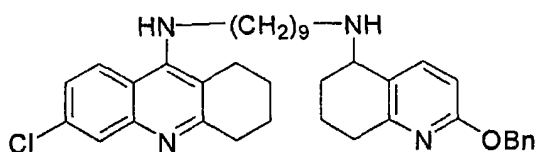


(S)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-辛烷-1,8-二胺

(R)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-辛烷-1,8-二胺

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.24~7.89 (m, 9H), 6.59 (dd, $J = 8.3, 5.6$ Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.68 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H), 3.46 (m, 2H), 3.01 (brs, 2H), 2.61~2.83 (m, 6H), 1.25~1.96 (m, 20H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 161.5, 159.3, 154.4, 150.6, 148.0, 139.5, 137.5, 133.7, 128.2 (2C), 127.9 (2C), 127.5, 127.4, 127.2, 124.4, 124.0, 118.3, 115.6, 108.2, 67.4, 54.6, 49.6, 47.1, 34.1, 32.4, 31.8, 30.6, 29.5, 29.3, 28.2, 27.4, 26.9, 24.6, 23.0, 22.7, 18.9。



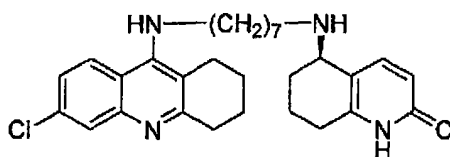
(S)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-壬烷-1,9-二胺

(R)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-壬烷-1,9-二胺

-9-基)-壬烷-1,9-二胺

NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.24~7.89 (m, 9H), 6.59 (d, J = 8.3Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.69 (m, 1H), 3.47 (t, J = 7.1Hz, 2H), 3.01 (brs, 2H), 2.61~2.82 (m, 6H), 1.25~1.96 (m, 22H);

¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 161.5, 159.3, 154.4, 150.6, 148.0, 139.5, 137.5, 133.7, 128.2 (2C), 127.9 (2C), 127.5, 127.4, 127.2, 124.5, 124.0, 118.3, 115.5, 108.2, 67.4, 54.6, 49.6, 47.1, 34.1, 32.4, 31.8, 30.6, 29.5 (2C), 29.3, 28.2, 27.4, 26.9, 24.6, 23.0, 22.7, 18.9。



(6R)-5-[7-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基氨基)-庚基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮: 向在 0℃冷却的乙酸 (4 mL) 中的 30%溴化氢溶液中一次加入(R)-N-(2-苄氧基-5,6,7,8-四氢-喹啉-5-基)-N'-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基)-庚烷-1,7-二胺 (105 mg, 0.18 mmol)。将混合物在 0℃搅拌 1 小时, 使其回暖至室温。5 小时后, 以 10%的 NaOH 将反应淬灭直至 pH 值达到 13。然后用乙酸乙酯提取混合物 3 次, 每次 8 mL。将有机层混合、干燥、过滤并浓缩。使用 2:3:0.5:0.5 (CH₂Cl₂/石油醚/MeOH/三乙基胺) 作为洗脱液通过柱层析将所得到的残余物纯化, 从而得到所需的产物 (33 mg, 0.0652 mmol, 68%产率)。

根据以上程序制备了以下对映异构体纯的化合物:

(6S)-5-[7-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基-氨基)-庚基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮;

(6R)-5-[8-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基-氨基)-辛基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮;

(6S)-5-[8-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基-氨基)-辛基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮;

(6R)-5-[9-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基-氨基)-壬基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮; 和

(6S)-5-[9-(6-氯-1,2,3,4-四氢-吡啶-9-基-氨基)-壬基氨基]-5,6,7,8-四氢-1H-喹啉-2-酮。

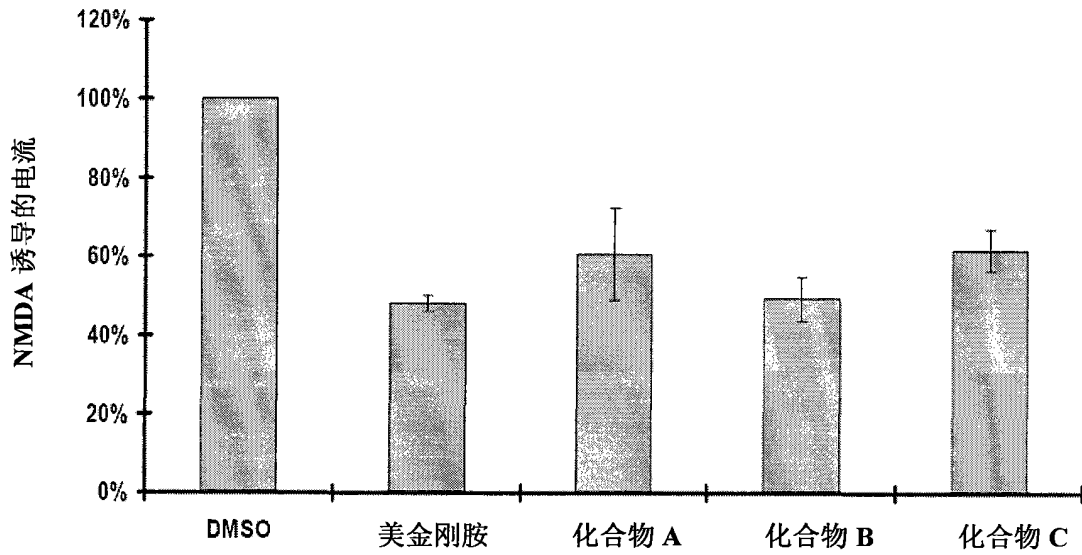


图 1

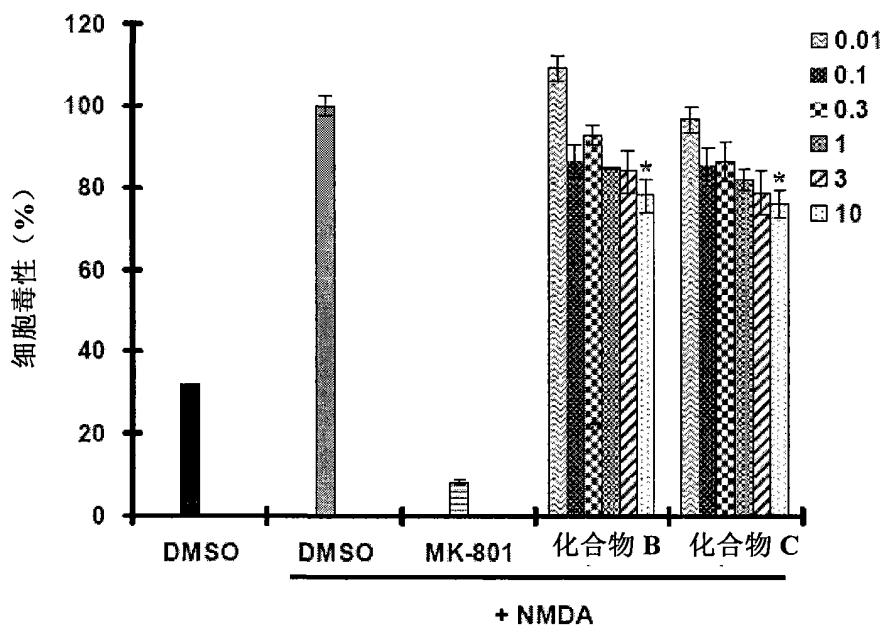


图 2

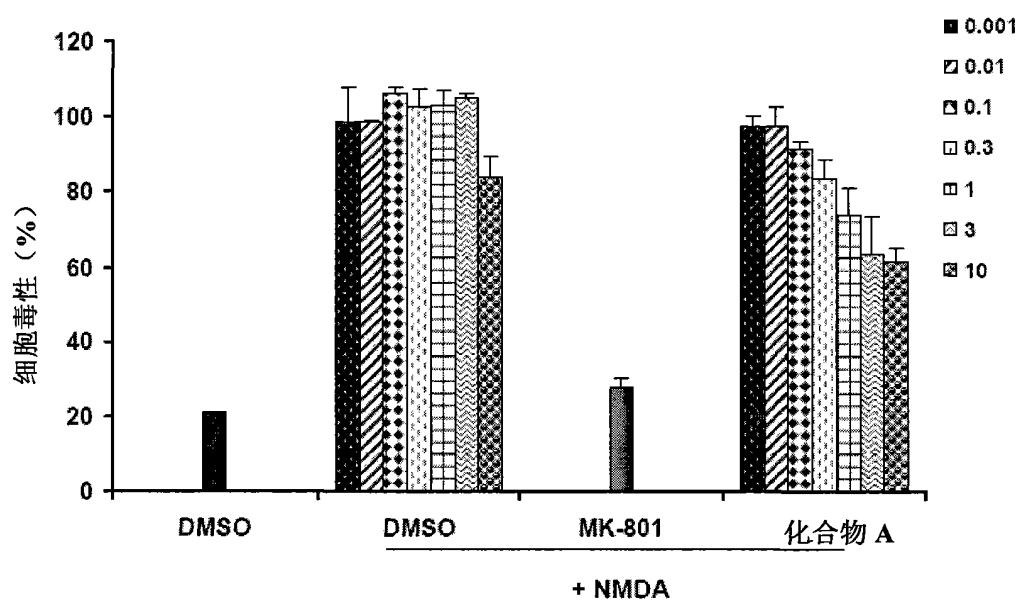


图 3

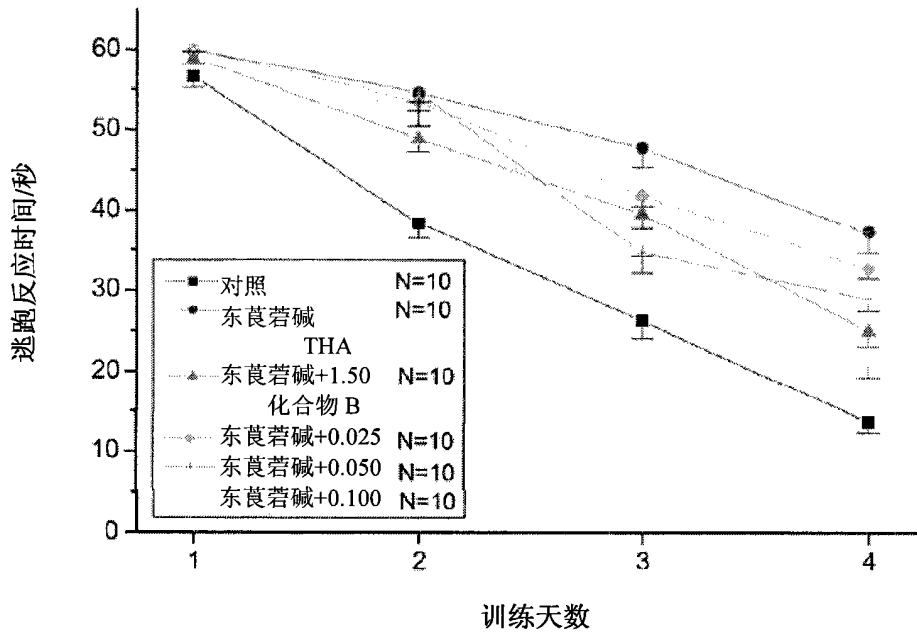


图 4a

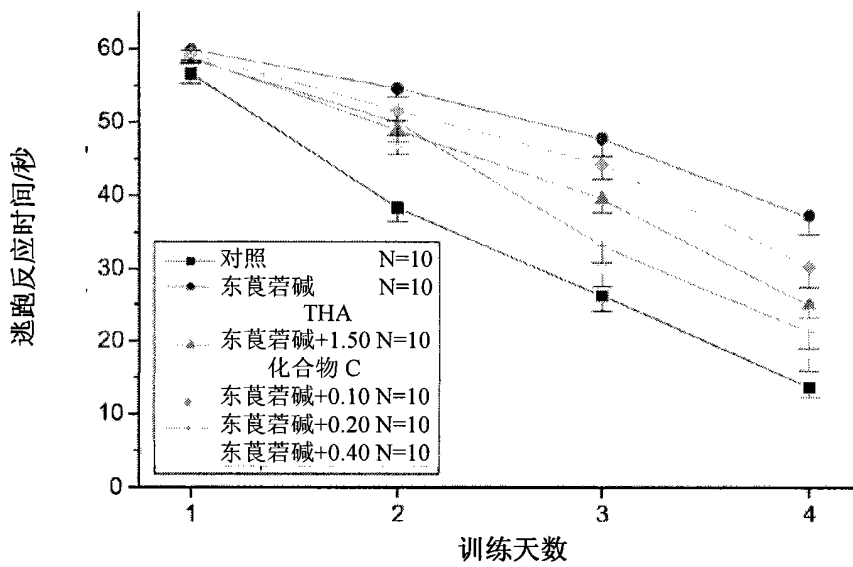


图 4b

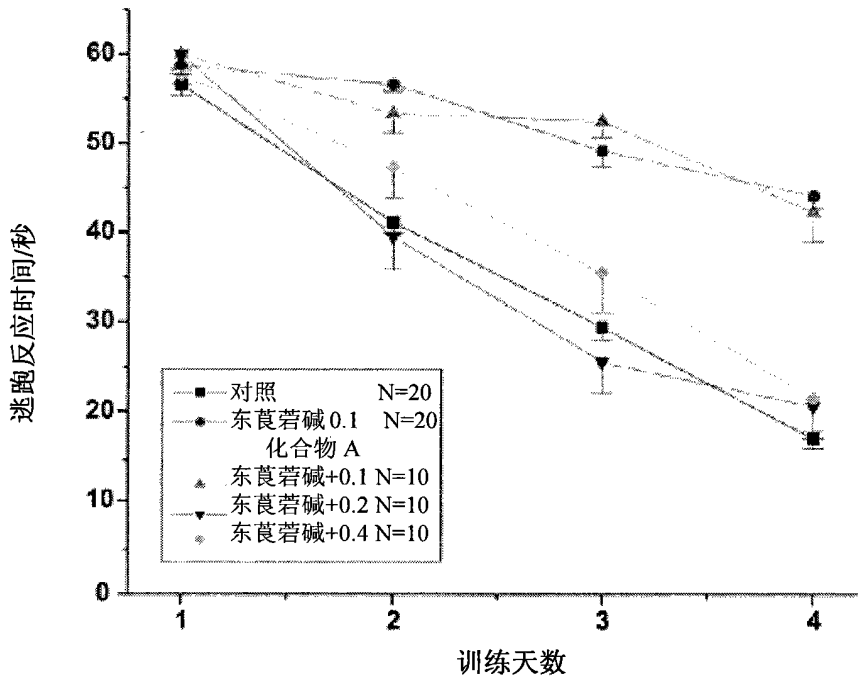


图 4c

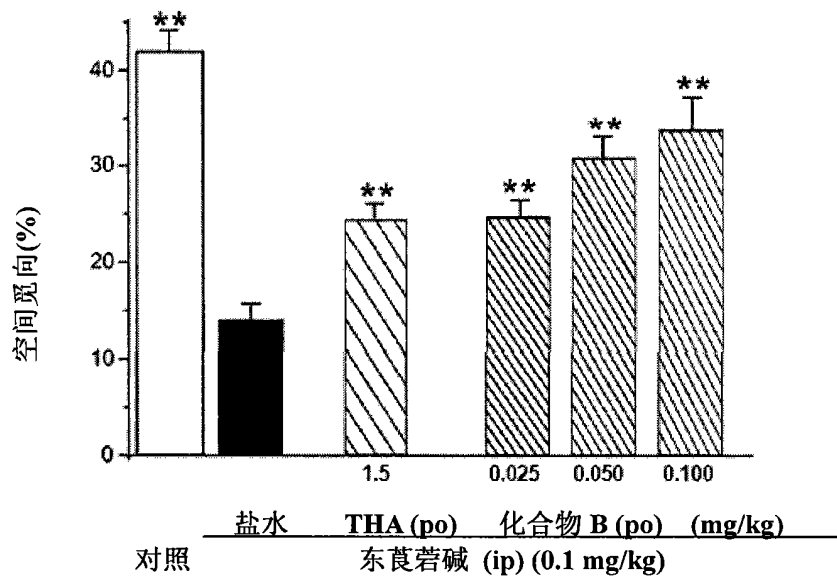


图 4d

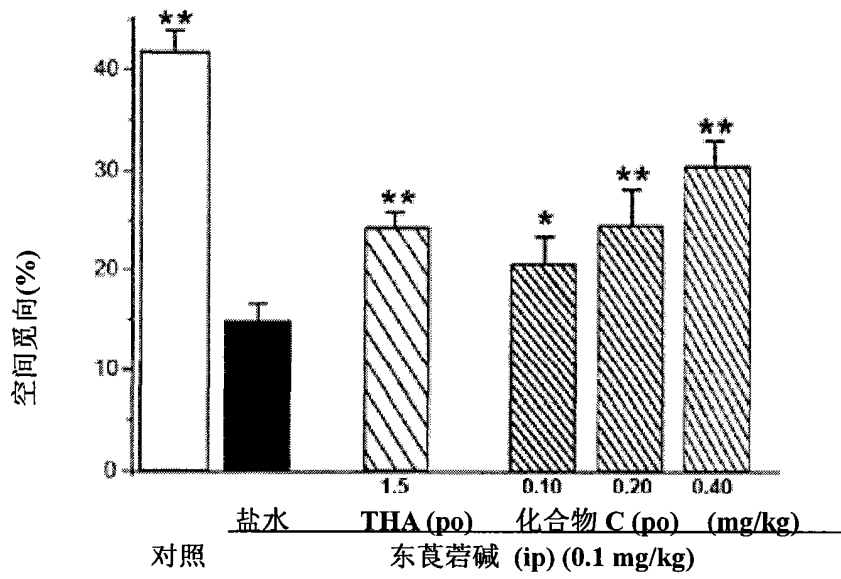


图 4e

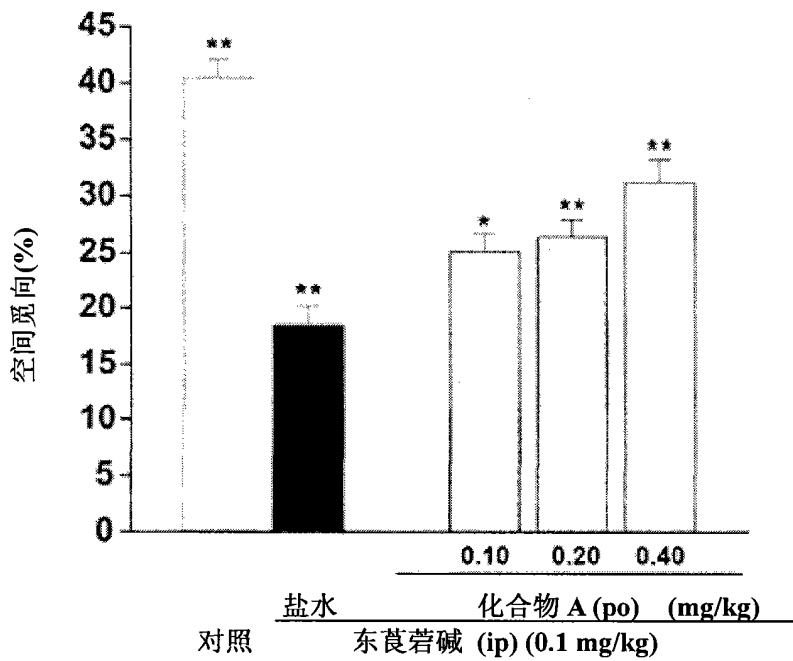


图 4f

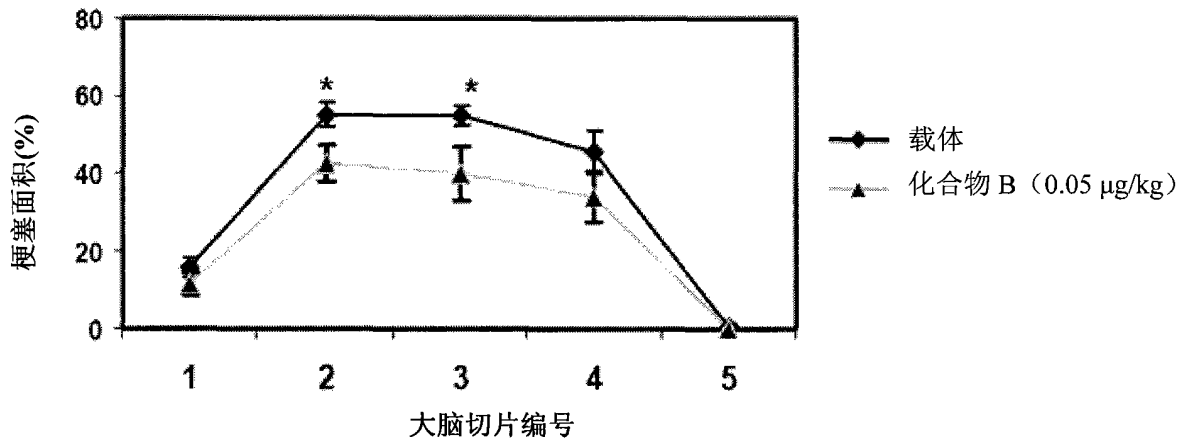


图 5a

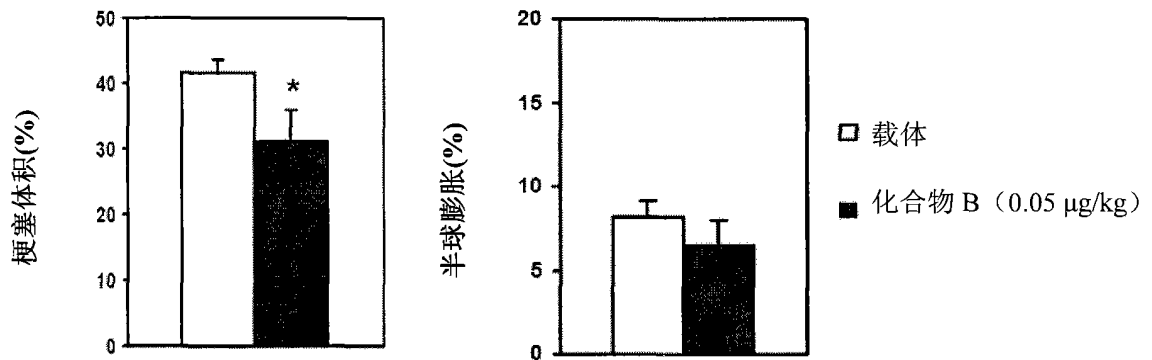


图 5b

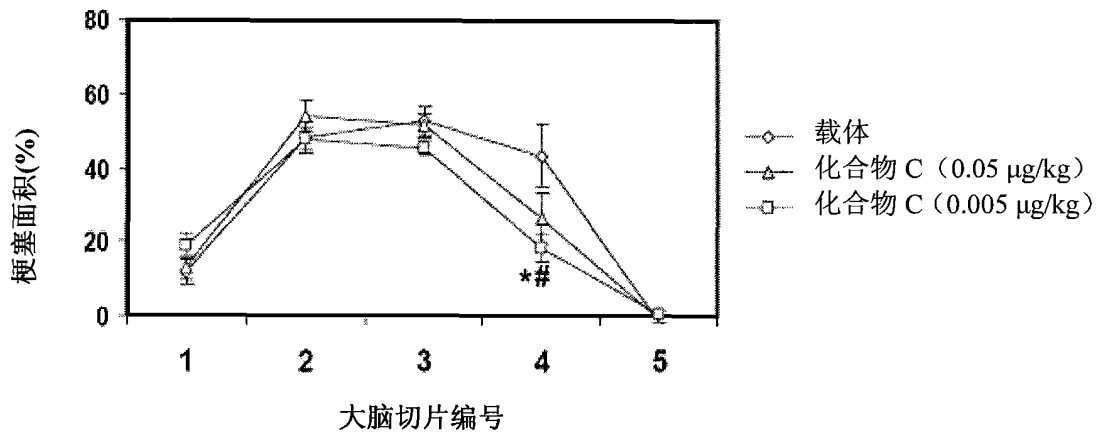


图 5c

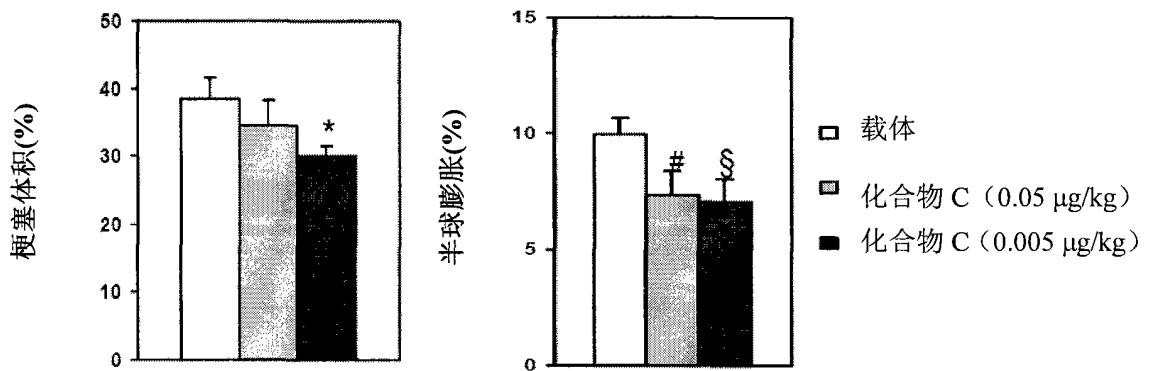


图 5d

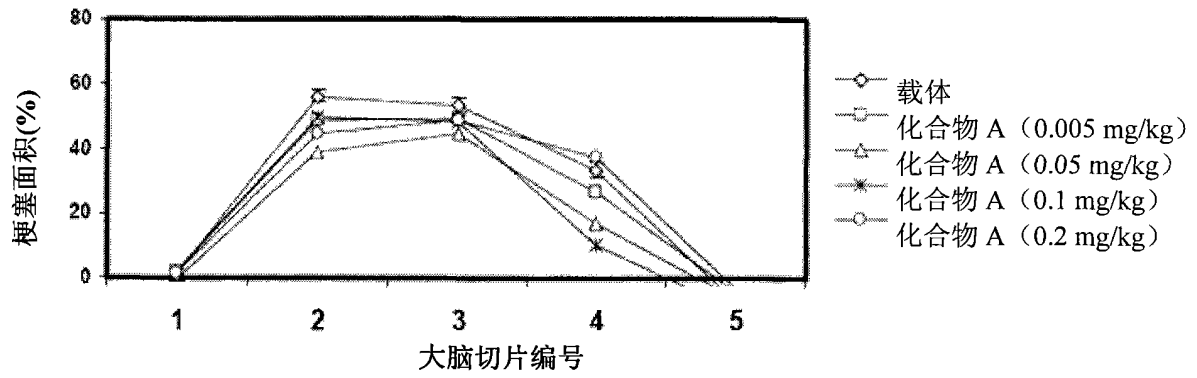


图 5e

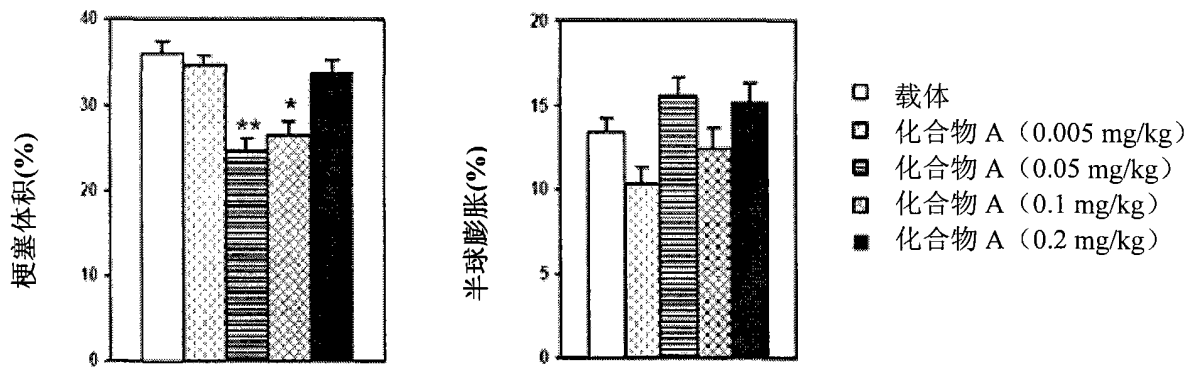


图 5f

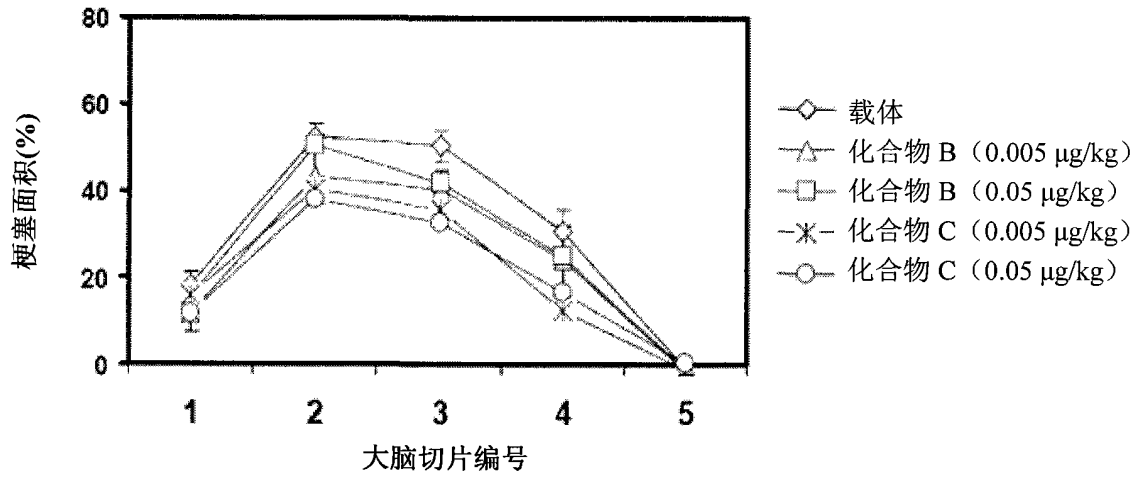


图 5g

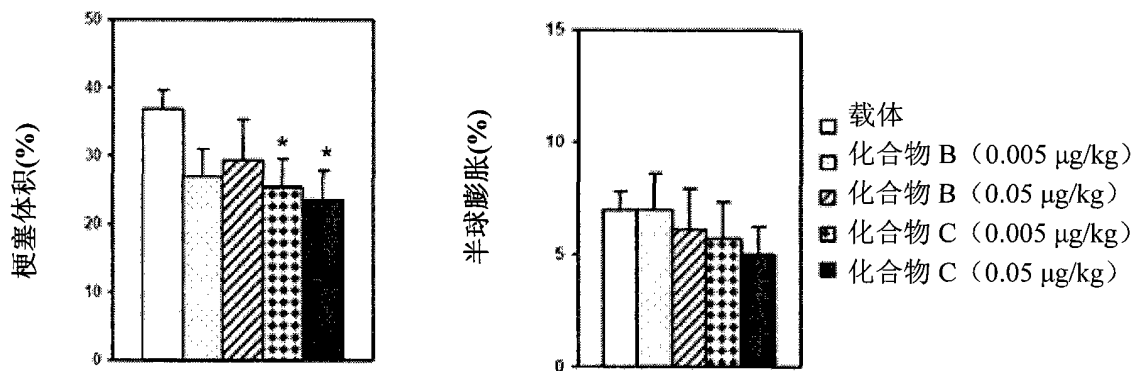


图 5h