[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C07D295/108
C07D295/192 C07D213/36
C07D317/16 A61K 31/495
A61P 1/10 A61P 25/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 02111614.8

[45] 授权公告日 2004 年 12 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 1181065C

[22] 申请日 2002.5.8 [21] 申请号 02111614.8

[71] 专利权人 上海医药工业研究院
地址 200040 上海市北京西路 1320 号
[72] 发明人 李建其 黄丽瑛 闵 阳 翁志洁 张椿年
审查员 徐 赤

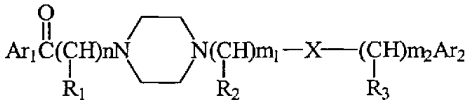
[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司
代理人 罗大忱

权利要求书 2 页 说明书 26 页 附图 1 页

[54] 发明名称 芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物及其作为脑神经保护剂的应用

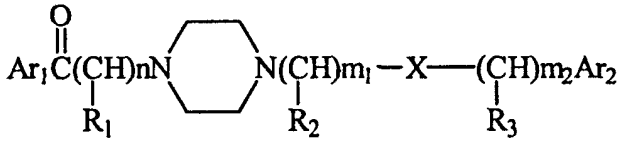
[57] 摘要

本发明公开了一种芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物及其作为脑神经保护剂的应用。本发明的化合物芳烷甲酰烷基哌嗪类衍生物对抗缺血性脑卒中，尤其可作为缺血性脑梗塞急性期治疗剂及对缺血性脑卒中后的脑神经具有保护作用。本发明可用于制备缺血性局灶性脑梗塞急性期治疗剂和缺血性脑卒中后脑神经保护剂。本发明在动物试验中显示出对动物全脑缺血和局灶性脑缺血的预防和治疗作用，比目前使用于缺血性脑梗塞急性期治疗和脑卒中后脑神经保护的同类药物的综合效果要好得多。本发明人还发现，本发明的毒性较低，对中枢神经系统的副作用较小。所述及的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物为具有如下结构通式化合物的游离碱或盐。



ISSN1008-4274

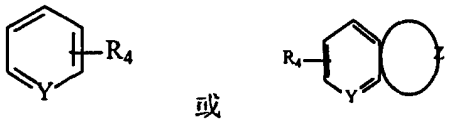
1. 一种芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，该衍生物为具有如下结构通式的化合物的游离碱或盐：



所说的盐为盐酸盐、溴氢酸盐、硫酸盐、三氟醋酸盐或甲磺酸盐的一种；

其中：

Ar_1，Ar_2代表：



或

R_1，R_2，R_3，R_4代表氢、C_1－C_3的烷基、C_5或 C_6的脂肪环、苯基、羟基、甲氧基、乙氧基、氨基、卤素、羧酸基、羧酸酯基、硝基或乙腈基中的一种；

X代表羟次甲基、羰基、酰胺基、亚乙烯基、磺酰基或亚磺酰基中的一种；

Y代表C、N或O中的一种；

Z代表含C、S、N或O的五元环或六元环； n，m_1,m_2为0，1，2或3，且当X=羰基时，n，m_1,m_2为1，2或3。

2. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，所说的盐为盐酸盐或溴氢酸盐。

3. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，所说的盐含 0.5-3 分子的结晶水。

4. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，R_1，R_2，R_3 为 氢、C_1－C_3的烷基、羟基、氨基、羧酸酯基，R_4为氢、羟基、硝基、卤素、氨基或C_1－C_3的烷基中的一种。

5. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于， X为羟次甲基 、羰基或酰胺基中的一种。

6. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于， Y为C或N。

7. 如权利要求 1 所述的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，所述的化合物为：

N^1-苯甲酰甲基-N^4-苄胺基甲酰甲基 哌嗪、

N^1, N^4-双苄胺基甲酰甲基 哌嗪、

N^1-[1-(苯甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪、

N^1-(4'-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4-[(α-R-苯乙胺基)甲酰甲基] 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-甲氧基苄胺基甲酰甲基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2'-吡啶甲胺基甲酰甲基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- [(3',4'-亚甲二氧基)苯甲胺甲酰甲基] 哌嗪、

N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪、

N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基萘甲酰基)乙基] -N^4- (α-苯乙胺基甲酰甲基)哌嗪。

8.. 一种芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，其特征在于，该衍生物为如下化合物的游离碱或盐：

N^1-(苄胺基甲酰甲基)-N^4-苯丙烯基哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- (2',4'-二氟苯甲磺酰基)哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4-乙酰苯胺基哌嗪、

N^1-苯甲酰-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-(4-硝基-苯甲酰)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-[(3-羟基-3-苯基)丙基] 哌嗪、

N^1-(4-氯苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-(1-甲基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- (3'-腈基苯甲磺酰基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- (苯氧苯甲磺酰基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- [2'-(苯磺酰甲基)苯甲磺酰基] 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- (4'-三氟甲基苯甲磺酰基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- (联二苯基甲磺酰基) 哌嗪、

N^1-苯甲酰甲基-N^4- [4'-(邻腈基苯基)苯甲磺酰基] 哌嗪

N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4- [4'-(邻腈基苯基)苯甲磺酰基] 哌嗪、

N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4- [2'-(苯磺酰甲基)苯甲磺酰基] 哌嗪或

N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4- (4'-硝基苯甲磺酰基) 哌嗪；

所说的盐为盐酸盐、溴氢酸盐、硫酸盐、三氟醋酸盐或甲磺酸盐的一种。

9. 权利要求 1-8 任一所述的衍生物在制备抗缺血性脑卒中脑神经保护剂中的应用。

10. 用于治疗缺血性脑卒中的药物组合物，其特征在于，该组合物中含有治疗有效量的权利要求 1-8 任一所述的衍生物和医学上可接受的载体。

芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物及其作为脑神经保护剂的应用

技术领域

本发明涉及芳烷甲酰烷基哌嗪类衍生物，以及该化合物作为脑神经保护剂的用途。

背景技术

脑血管意外(中风)尤其是缺血性脑卒中，是目前人类第三大死因，同时亦是导致长期严重丧失自理能力的第一位因素。在发达国家中，中风占男性总死亡的 10%，女性总死亡的 17%。随着社会人口的日趋老龄化，预计今后三年患者将上升 13%。中风幸存者中有四分之三由于不同程度的残疾和功能障碍，不仅导致治疗费用的大量增加，亦将成为严重的社会问题。

目前，用于缺血性脑卒中风的药物有两大类：

1、诱导缺血区再灌注药物：使闭塞的血管再通，恢复脑血流，挽救缺血脑组织。主要为溶栓和抗凝剂、血管扩张剂、自由基清除剂、脑功能促进剂及一些活血化瘀中药组方等。

2、脑神经保护剂：预防急性缺血性卒中早期恶化，降低脑缺血引起的神经元损伤。

第一类药物的安全性和有效性因个体差异存在不同争议，尤其是某些药物有诱发出血，使缺血加重，病情恶化及早期死亡率增加等弊端，因此，其推广应用受到了一定的局限；

第二类药物为一种脑神经保护剂。中枢神经研究表明：脑缺血时，中枢神经递质兴奋性氨基酸(简称 EAA)大量释放，作用于 EAA 受体，主要是效应器复合物（N-甲基-D-天冬氨酸受体,简称 NMDA 受体），打开 Ca^{2+}和 Na^{+}通道，改变离子通透性，造成神经细胞内外离子平衡紊乱，主要 Ca^{2+}和 Na^{+}大量内流，引起神经细胞肿、坏死。从理论上讲，若能抑制 NMDA 受体的活性，就能减少钙内流，有效地阻止 NMDA 受体介导的缺血性脑损伤。

近几年各种 EAA 受体拮抗剂的发现为缺血性脑损伤治疗开辟了一条新途径，其中 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂是目前开发防治脑卒中新药的主要手段，国外已有 GV-150526A、AR-R15896、ACEA-1021、ZD-9379 等 NMDA 受体拮抗剂进入抗缺血性脑卒中的各期临床阶段。

作用于 NMDA 受体的竞争性拮抗剂含有两个酸性基团，极性较大，难以透过血脑屏障，且口服生物利用度差。文献 Fritz. K. I. Brain Res.(1996), 729(1)66-74 报道哌

嗪衍生物 CPP 及其类似物是受体的高选择性强效拮抗剂，能透过血脑屏障，口服亦有活性。文献 Eur. J. Pharmacol. (1996), 313(1/2), 159-162 报道的 Ly-274614 是迄今最有效的几个竞争性 NMDA 受体拮抗剂之一。然而，上述这类拮抗剂的治疗指数较低，且易引起运动原损伤等神经副作用。作用于阳离子通道的分离性麻醉剂如 PCP，MK-801[(±)-S-甲基二氢二苯骈环庚烯亚胺马来酸] 等非竞争性拮抗剂虽易透过血脑屏障，但选择性低，神经行为毒性更大，无临床研究和应用价值。

90 年代以来不断有新的化合物进入临床研究。设计合成能透过血脑屏障，生物利用度高、口服有效、具有兴奋和保护神经原双重作用的 NMDA 受体调节剂及专一性强、效能高，使神经及认识过程的毒付作用减到最小的新型拮抗剂，是这一研究领域的长期艰巨任务和挑战课题，也将具有巨大的社会和经济价值。

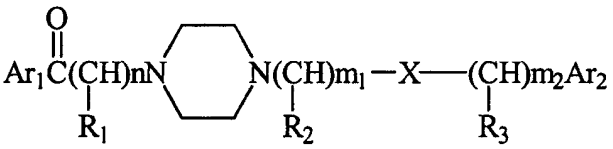
发明内容

本发明需要解决的技术问题之一是公开一种具有医用价值的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物，以克服现有技术存在的有诱发出血、难以透过血脑屏障、口服生物利用度差、选择性低和神经行为毒性大等缺陷；

本发明需要解决技术问题之二是公开上述芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物作为抗缺血性脑卒中脑神经保护剂的应用。

本发明进一步需要解决的技术问题是提供一种用于治疗抗缺血性脑卒中的药物组合物。

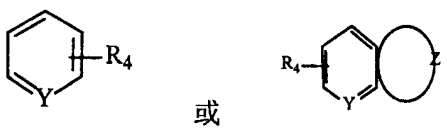
所述及的芳烷甲酰烷基哌嗪衍生物为具有如下结构通式化合物的游离碱或盐：



所说的盐为盐酸盐、溴氢酸盐、硫酸盐、三氟醋酸盐或甲磺酸盐等种的一种。优选的盐为盐酸盐、溴氢酸盐，其盐可含 0.5-3 分子的结晶水。

其中：

Ar_1，Ar_2代表：



或

R_1，R_2，R_3，R_4代表氢、C_1－C_3的烷基、C_5或/和 C_6的脂肪环、苯、取代苯基、羟基、甲氧基、乙氧基、氨基、取代氨基、卤素、羧酸基、羧酸酯基、硝基或乙腈基等中的一种；

优选的 R_1，R_2，R_3 为 氢、C_1－C_3的烷基、羟基、氨基及取代氨基或羧酸酯基。

优选的R_4为氢、羟基、烷氧基、硝基、卤素、氨基及取代氨基或C_1—C_3的烷基。

X代表羟次甲基（-CHOH-）、羰基（-CO-）、酰胺基（-CO-NH-）、亚乙烯基（-CH=CH-）、磺酰基（-SO_2-）或亚磺酰基（-SO-）中的一种；

优选的X为羟次甲基（-CHOH-）、羰基（-CO-）或酰胺基（-CO-NH-）中的一种。

Y代表C、N或O中的一种；

优选的Y为C或N。

Z代表含C、S、N或O的五圆环或六圆环； n，m_1,m_2为0，1，2，3，且当X=羰基（-CO-）时，n,m_1,m_2为1，2，3。

优选的化合物为：

代号	名 称
IV-1	N^1-苯甲酰基-N^4-苯甲酰甲基哌嗪
IV-2	N^1, N^4-双苯甲酰甲基哌嗪
IV-3	N^1-(4-硝基苯甲酰基)-N^4-苯甲酰甲基哌嗪
IV-4	N^1-(α-乙酰酯基苯乙酰基)-N^4-[1-(苯甲酰基)乙基] 哌嗪
IV-5	N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4-氯-苯甲酰甲基) 哌嗪
IV-6	N^1, N^4-双(4-氯-苯甲酰甲基)哌嗪
IV-7	N^1-萘甲酰甲基-N^4-苯甲酰甲基哌嗪
IV-8	N^1-(1-甲基-苯甲酰甲基)-N^4-苯甲酰甲基 哌嗪
IV-9	N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4-甲氧基-苯甲酰甲基) 哌嗪
IV-10	N^1,N^4-双[1-(苯甲酰基)乙基]哌嗪、
IV-11	N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4-硝基-苯甲酰甲基) 哌嗪
IV-12	N^1-苯乙酰基- N^4-苯甲酰甲基哌嗪
IV-13	N^1-苯甲酰乙基-N^4-苯甲酰甲基哌嗪
IV-14	N^1, N^4-双(4-甲氧基-苯甲酰甲基)哌嗪
IV-15	N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙酰基) 哌嗪
IV-16	N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙酰基) 哌嗪
IV-17	N^1-[1-(苯甲酰基)乙基] -N^4-[2- -羟基-2-(4'-氯苯基)乙酰基] 哌嗪
IV-18	N^1-(1-甲基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙酰基) 哌嗪
IV-19	N^1-苯甲酰甲基-N^4-[2-羟基-2-(4'-氯苯基)乙酰基] 哌嗪
IV-20	N^1-苯甲酰甲基-N^4-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基〕哌嗪
IV-21	N^1-(苄胺基甲酰甲基)-N^4-苯丙烯基哌嗪
IV-22	N^1-苯甲酰甲基-N^4- (2',4'-二氟苯甲磺酰基) 哌嗪
IV-23	N^1-苯甲酰甲基- N^4-苄胺基甲酰甲基 哌嗪
IV-24	N^1-苯甲酰甲基-N^4-乙酰苯胺基哌嗪

IV-25 N^1, N^4-双苄胺基甲酰甲基 哌嗪

IV-26 N^1-[1-(苯甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-27 N^1-(4'-氯苯甲酰甲基)-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-28 N^1-(4'-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-29 N^1-苯甲酰甲基-N^4-[(α-R-苯乙胺基)甲酰甲基] 哌嗪

IV-30 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-甲氧基苄胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-31 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2'-吡啶甲胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-32 N^1-苯甲酰甲基-N^4-[（3',4'-亚甲二氧基）苯甲胺甲酰甲基] 哌嗪

IV-33 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-34 N^1-苯甲酰-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-35 N^1-(4-硝基-苯甲酰)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-36 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-37 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-38 N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-[(3-羟基-3-苯基)丙基] 哌嗪

IV-39 N^1-(4-氯苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-40 N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-41 N^1-(1-甲基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-42 N^1-(4-乙酰胺基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪

IV-43 N^1-(2-羟基苯乙酰基)-N^4-[(1-甲基-2-羟基)苯乙基] 哌嗪

IV-44 N^1-(2S-羟基苯乙酰基)-N^4-(1-甲基苯甲酰甲基) 哌嗪

IV-45 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3'-氟苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-46 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3'-溴苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-47 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3'-碘苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-48 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3'-腈基苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-49 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(α-苯乙胺基甲酰甲基) 哌嗪

IV-50 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2'-氟苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-51 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2',5'-二氟苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-52 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2',5'-二氯苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-53 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(苯氧苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-54 N^1-苯甲酰甲基-N^4-[2'-(苯磺酰甲基)苯甲磺酰基] 哌嗪

IV-55 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-三氟甲基苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-56 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(联二苯基甲磺酰基) 哌嗪

IV-57 N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3'-甲氧基苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-58 N^1-苯甲酰甲基-N^4-[4'-(邻腈基苯基)苯甲磺酰基] 哌嗪

IV-59 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(2',4'-二氟苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-60 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(2',5'-二氟苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-61 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-[4'-(邻腈基苯基)苯甲磺酰基] 哌嗪

IV-62 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-[2'-(苯磺酰甲基)苯甲磺酰基] 哌嗪

IV-63 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(3',4'-二氯苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-64 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-(4'-硝基苯甲磺酰基) 哌嗪

IV-65 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-苄胺基甲酰甲基哌嗪

IV-66 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(4'-甲氧基苯甲酰甲基)哌嗪

IV-67 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(4'-氯苯甲酰甲基) 哌嗪

IV-68 N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(4'-甲磺酰基苯甲酰甲基) 哌嗪

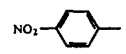
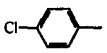
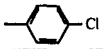
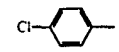
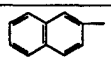
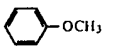
IV-69 N^1-苄胺基甲酰甲基-N^4-[1-甲基-2-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘基)羟乙基] 哌嗪

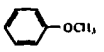
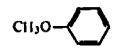
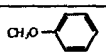
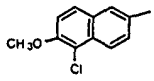
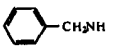
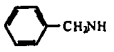
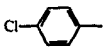
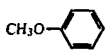
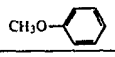
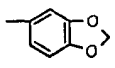
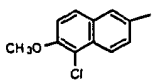
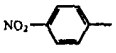
IV-70 N^1-(4-氯苯甲酰甲基)-N^4-[1-甲基-2-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘基)羟乙基] 哌嗪 。

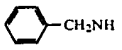
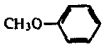
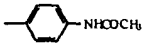
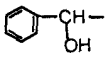
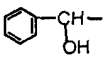
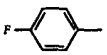
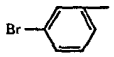
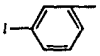
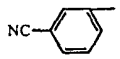
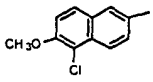
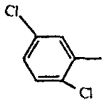
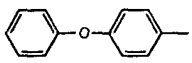
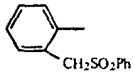
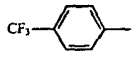
最优选的化合物为 N^1-苯甲酰甲基- N^4-苄胺基甲酰甲基 哌嗪。

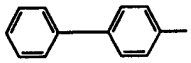
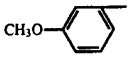
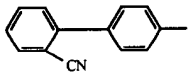
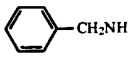
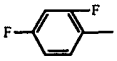
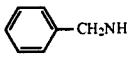
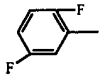
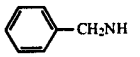
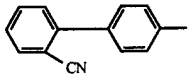
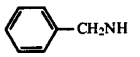
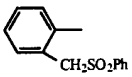
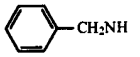
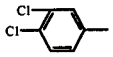
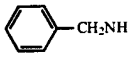
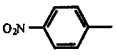
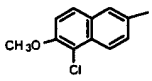
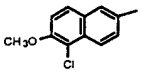
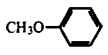
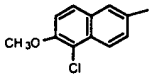
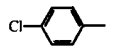
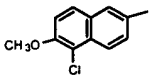
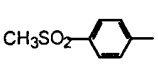
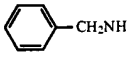
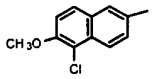
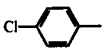
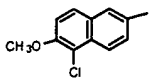
结构见表 1。

表 1 化合物结构

代号	Ar_1	Ar_2	R_1	R_2	R_3	X	M_1 m_2	n
IV-1	Ph	Ph	H	0	0	C=O	1 0	0
IV-2	Ph	Ph	H	H	0	C=O	1 0	1
IV-3		Ph	0	H	0	C=O	1 0	0
IV-4	Ph	Ph	CH_3	0	$OCOCH_3$	C=O	0 1	1
IV-5	Ph		H	H	0	C=O	1 0	1
IV-6			H	H	0	C=O	1 0	1
IV-7		Ph	H	H	0	C=O	1 0	1
VI-8	Ph	Ph	CH_3	H	0	C=O	1 0	1
IV-9	Ph		H	H	0	C=O	1 0	1
IV-10	Ph	Ph	CH_3	CH_3	0	C=O	1 0	1
IV-11	Ph		H	H	0	C=O	1 0	1
IV-12	Ph	Ph	H	0	H	C=O	0 1	1
IV-13	Ph	Ph	H	H	0	C=O	1 0	2

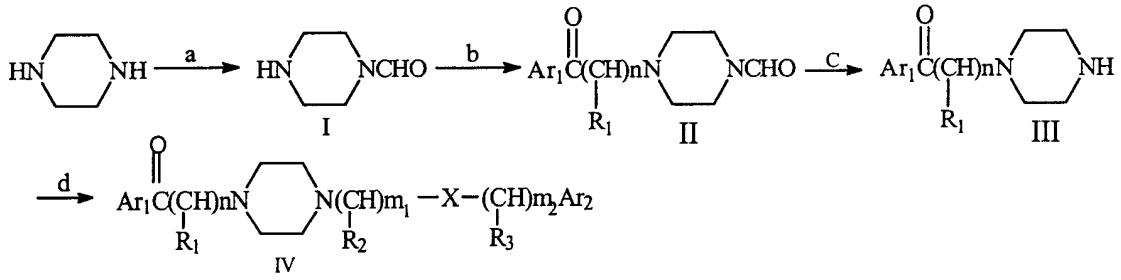
IV-14			H	H	0	C=O	1 0	1
IV-15	Ph	Ph	H	0	OH	C=O	0 1	1
IV-16		Ph	H	0	OH	C=O	0 1	1
IV-17	Ph		CH_3	0	OH	C=O	0 1	1
IV-18	Ph	Ph	CH_3	0	OH	C=O	0 1	1
IV-19	Ph		H	0	OH	C=O	0 1	1
IV-20	Ph		H	CH_3	0	CO	1 0	1
IV-21		Ph	H	H	0	CH=CH	1 0	1
IV-22	Ph		H	0	H	SO_2	0 1	1
IV-23	Ph	Ph	H	H	H	CONH	1 1	1
IV-24	Ph	Ph	H	H	0	CONH	1 0	1
IV-25		Ph	H	H	H	CONH	1 1	1
IV-26	Ph	Ph	CH_3	H	H	CONH	1 1	1
IV-27		Ph	H	H	H	CONH	1 1	1
IV-28		Ph	H	H	H	CONH	1 1	1
IV-29	Ph	Ph	H	H	CH_3	CONH	1 1	1
IV-30	Ph		H	H	H	CONH	1	1
IV-31	Ph		H	H	H	CONH	1 1	1
IV-32	Ph		H	H	H	CONH	1 1	1
IV-33		Ph	CH_3	H	H	CONH	1 1	1
IV-34	Ph	Ph	0	H	0	CHOH	1 0	0
IV-35		Ph	0	H	0	CHOH	1 0	0
IV-36	Ph	Ph	H	H	0	CHOH	1 0	1

IV-37		Ph	H	H	0	CHOH	1 0	1
IV-38		Ph	H	H	0	CHOH	2 0	1
IV-39		Ph	H	H	0	CHOH	1 0	1
IV-40		Ph	H	H	0	CHOH	1 0	1
IV-41	Ph	Ph	CH_3	H	0	CHOH	1 0	1
IV-42		Ph	H	H	0	CHOH	1 0	1
IV-43		Ph	0	CH_3	0	CHOH	1 0	0
IV-44		Ph	0	CH_3	0	C=O	1 0	0
IV-45	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-46	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-47	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-48	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-49		Ph	CH_3	H	CH_3	CONH	1 1	1
IV-50	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-51	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-52	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-53	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-54	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-55	PH		H	0	H	-SO-	0 1	1

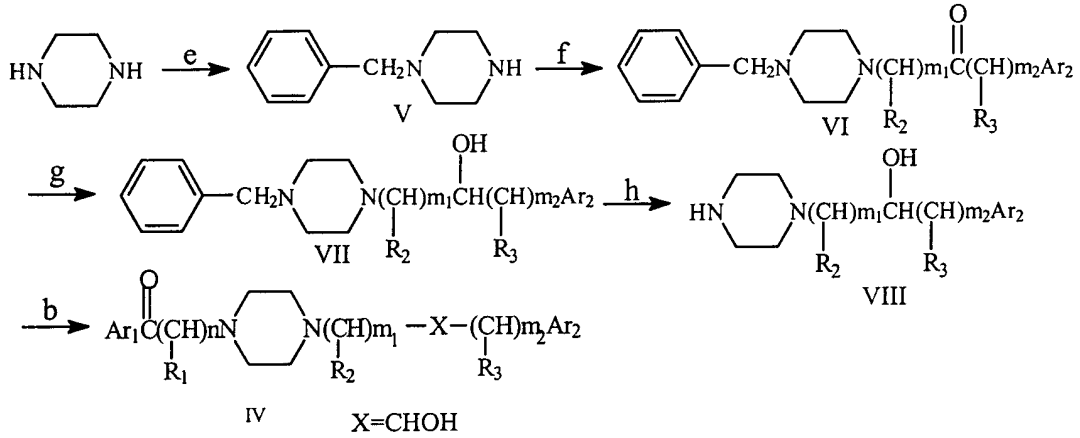
IV-56	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-57	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-58	Ph		H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-59			H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-60			H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-61			H	0	H	-SO-	1 1	1
IV-62			H	0	H	-SO-	1 1	1
IV-63			H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-64			H	0	H	-SO-	0 1	1
IV-65		Ph	CH_3	H	H	CONH	1 1	1
IV-66			CH_3	H	0	CO	1 0	1
IV-67			CH_3	H	0	CO	1 0	1
IV-68			CH_3	H	0	CO	1 0	1
IV-69			H	CH_3	0	CHOH	1 0	1
IV-70			H	CH_3	0	CHOH	1 0	1

上述的化合物可采用两种反应路线进行制备：

工艺路线 1：



工艺路线 2：



其中：

a: $HCOOCH_3$ b: $Ar_1C(=O)(CH)nCl$, K_2CO_3, KI, CH_3COCH_3

c: NaOH d: $Ar_2(CH)m_2-X-(CH)m_1Cl$, K_2CO_3, KI, DMF

e: , KOH, CTBA, /H_2O f: $Ar_2(CH)m_2CO(CH)m_1Cl$, H_2CO_3, KI, CH_3COCH_3

g: KBH_4, CH_3OH, h: 10%Pd-C/H_2, HAc $m_1=m_2=n$ 0,1,2,3

g: KBH_4, CH_3OH h:10% Pd-C/H_2, HAc

所述及的化合物以哌嗪为起始原料，首先将哌嗪环一侧氮原子用甲酰基保护，再经烷基化，碱水解甲酰基后，可得到纯度和收率较高的化合物(III)，三步总收率可达40%左右。化合物(III)是制备目标化合物(IV)的主要中间体，与相应的卤代物进行 N^4 的烃基化反应得到目标化合物（IV），采用对亲核试剂很少溶剂化的极性非质子溶剂 DMF 为反应溶媒，K_2CO_3 为去酸剂，反应可在室温进行，收率达 80%左右，若以

K_2CO_3/CH_3COCH_3，$NaHCO_3/C_2H_5OH$ 及 $Et_3N/CHCl_3$ 为反应系统，需长时间回流(8-24小时)，反应颜色随时间延长而加深，影响产物的质量和收率。采用上述步骤，可获得目标化合物 IV-1 至 IV-33 及 IV-44 至 IV-64。

目标化合物 IV-34 至 IV-43 含羰基和羟基双官能团，采用 N-苄基哌嗪为原料与相应溴代芳烷酮进行亲核取代反应得到哌嗪 N^1,N^4-双取代化合物（VI），（VI）经 KBH_4 还原羰基后,再用 10% Pd-C,在 HAc 中，70℃进行苄基氢介得到化合物（VIII）。化合物（VI）的还原和氢介亦可经反应 h 同时进行，若羰基的活性较弱时，常压下仍有较多羰基物未反应，因此先用 KBH_4 还原羰基再进行氢介反应可得到纯度高的化合物（VIII）。

以（VIII）为关键中间体与卤代芳烷酮进行亲核反应，得到目标化合物 IV-34 至 IV-43。

b、d、和 f 中的卤代芳烷甲酰烷基化合物可以通过商业渠道购买，亦可采用文献报道的常规方法，以溴素或溴化铜与相应芳烷酮进行卤代反应制备。

发明人发现，本发明的化合物芳烷甲酰烷基哌嗪类衍生物对抗缺血性脑卒中，尤其可作为缺血性脑梗塞急性期治疗剂和缺血性脑卒中后脑神经具有治疗作用。本发明的化合物可用于制备缺血性脑梗塞急性期治疗剂和缺血性脑卒中后脑神经保护剂。

可采用本领域公知的方法，将治疗有效量的本发明的化合物与一种或多种药学上可接受的载体相混合，制备成常规的固体制剂如片剂、粉剂、胶囊或针剂等。

所述及的载体是指药学领域常规的药物载体，如：稀释剂、赋形剂如水等，填充剂如淀粉、蔗糖等，粘合剂如纤维素衍生物、明胶和聚乙烯吡咯烷酮等，润湿剂如甘油等，表面活性剂如十六烷醇等，崩解剂如碳酸钙等，润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙和镁等。

按照本发明，片剂、粉剂、胶囊或针剂中，本发明的化合物的重量百分比含量为0.1%-99.5%。

本发明的化合物可以通过口服、注射等方式施用于需要这种治疗的患者。用于口服时，可将其制备成常规的固体制剂如片剂、粉剂或胶囊等；用于注射时，可将其制备成注射液。

本发明的施用量可根据用药途径、患者的年龄、体重、所治疗的疾病的类型和严重程度等进行变化，其日剂量可以是 2-50mg/kg 体重(po)或 1－20mg/kg（iv）。

本发明的化合物在动物试验中显示出对动物全脑缺血和局灶性脑缺血的预防和治+疗作用，比目前使用于缺血性脑梗塞急性期治疗和缺血性脑卒中后脑神经的药物的

效果要好得多。

本发明人还发现，本发明的化合物的毒性较低，对中枢神经系统的副作用较小。

附图说明

图 1 为 IV23 抑制 100μ MNMDA 诱导电流的浓度曲线。

具体实施方式

通法一： N-芳烷甲酰烷基哌嗪(III) 盐酸盐 合成

将无水哌嗪（上海化学试剂站售）258g（3mol）置于甲酸甲酯 180g(3mol)中，加热至 80℃，回流 8 小时，冷至室温，减压除去未反应的哌嗪，收集 130-4℃/8-10mmHg 馏份，得 N-甲酰基哌嗪化合物 240g，收率 70%。$\eta_{D(20℃)}$ 1.5140（文献 140-170℃/10mmHg $\eta_{D\ (20℃)}$ 1.5100）。

将上述 N-甲酰基哌嗪(310 mmol)，卤代芳烷甲酰烷基 (372 mmol),无水 K_2CO_3 (465mmol)及碘化钾(30mmol)置于丙酮 320 ml 中，剧烈搅拌加热回流 8-16 小时，冷至室温，过滤，用少许丙酮洗，合并滤液减压蒸干为桔红色油状物。在油水物中加入 5%NaOH 350 ml，回流反应 10 小时，冷至室温，用 6N HCl 调反应液 PH＝8，再用 $CHCl_3$ (200ml×3)提水层，合并氯仿层，用水 50 ml，饱和 NaCl 溶液 50 ml 洗，$MgSO_4$ 干 燥。 过滤，减压蒸干溶媒，用乙醇 50ml 溶解油状物，HCl/C_2H_5OH (5N)调 PH＝3，析出固体，用无水乙醇重结晶，得 N-芳烷甲酰烷基哌嗪双盐酸盐(III)，收率 55-60%。

通法二： N^1-芳烷甲酰烷基-N^4-芳烷基哌嗪(IV) 盐酸盐 合成

将 N-芳烷甲酰烷基哌嗪双盐酸盐(III)(10mmol)，卤代芳烷基(12mmol)，碘化钾(1 mmol)和无水 K_2CO_3 (35mmol) 置于 DMF(50ml)中，25℃-50℃搅拌反应 8-12 小时，过滤，减压蒸干溶剂， 加水 50ml，用 AcOEt(100ml×3)提取，合并酯层，依次用水 20ml，饱和 NaCl 溶液 30ml 洗，$MgSO_4$ 干燥。过滤，蒸去溶剂，加乙醇 30 ml 溶解，用 HCl/C_2H_5OH (5N)调 PH＝2，过滤析出的固体，乙醇/水或甲醇重结晶，得目标化合物 (IV)，收率 60-85%。

通法三：N^1-苄基-N^4-芳烷酰烷基哌嗪(VI) 盐酸盐合成

将 350mmol 哌嗪(上海化学试剂站售)，固体 KOH 100mmol(市售)，十六烷基三甲基溴化胺(CTAB，1mmon)，置于 18ml 水中，加热溶解，在 70℃下滴加氯化苄的苯溶液(100mmol 溶解于苯 140 ml 中)，滴加完毕后，回流反应 1 小时，静置分层，有机相分别用 50 ml 水和 50ml 饱和 NaCl 溶液洗涤，用 $MgSO_4$ 干燥，过虑，减压蒸干溶剂，用 50ml 无水乙醇溶解，滴加 HCl/C_2H_5OH 溶液，使溶液 pH 为 3，析出固体，过滤，干燥，乙醇重结晶得 N-苄基哌嗪双盐酸盐。收率 55-86%。

上述 N-苄基哌嗪双盐酸盐 (20mmol)，卤代芳酰烷基 (24 mmol)，无水 K_2CO_3 g (70 mmol)和碘化钾（2 mmol）在丙酮（100ml）中按通法二进行反应及后处理，得到化

合物(VI),，收率 65-75%。

通法四： N^1-苄基-N^4-芳烷醇哌嗪(VII) 盐酸盐 合成

N^1-苄基-N^4-芳烷酰烷基哌嗪双盐酸盐(VI)(3.5 mmol)置于甲醇 60 ml 中，加入无水 $KHCO_3$ (8.75 mmol)，搅拌 10 分钟后，分数次加入 KBH_4 (14 mmol)，室温搅拌 2 小时，内温 50℃反应 1 小时。用 1N HCl 调节反应液 PH＝3。减压蒸除甲醇后加水 20ml，用 1N NaOH 碱化(PH=8)，过滤。滤液用 EtOAc 40ml×3 提取，合并酯层，用饱和 NaCl20 ml 洗，$MgSO_4$ 干燥。过滤，减压蒸干溶剂，残留物溶于乙醇 20 ml 中，用 HCl/C_2H_5OH 调 PH＝2，析出固体，过滤，乙醇/水重结晶得产物，收率 60-80%。红外光谱表明羰基吸收峰消失。

通法五：N-芳烷醇哌嗪 (VIII) 盐酸盐 合成

N^1-苄基-N^4-芳烷醇哌嗪双盐酸盐(VII) (11mmol)，置于 HAc 60 ml 中，加 10% Pd-C 0.4g，于内温 70℃ 通 H_2 反应 4-8 小时，过滤，减压蒸除 HAc，油状物用乙醇 10 ml 溶解，加 HCl/C_2H_5OH 调 PH＝4，有固体析出，过滤，乙醇重结晶。收率 80-85%。

实施例 1

(IV-2) N^1, N^4-双苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐的制备

将无水哌嗪 2g (23.22 mmol)，氯化苯乙酮 7.89g (51.08 mmol)和无水 K_2CO_3 8g (58.05 mmol) 置于 DMF30 ml 中，内温 50℃，反应 8 小时，按通法二后处理，得产物 6.6g，收率 72%，mp 258－259℃。

元素分析：$C_{20}H_{22}N_2O_2 \cdot 2HCl$ (C:60.91%, H:6.40%, N:7.26%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ3.46(m,8H,哌嗪-H)，5.09(s,4H,2$COCH_2N$),7.59-8.02 (m, 10H, ArH)。

MS: m/z 322 (M^+)，217，97。

实施例 2

(IV-7) N^1-(2-萘甲酰甲基)-N^4-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐

将N-甲酰基哌嗪20g(175mmol)，氯化苯乙酮(市售)32.5g(210mmol)和无水 K_2CO_3 36g(262mmol)，置于丙酮 180ml 中，按通法一进行反应及后处理，得到 N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐 28g，收率 57%，mp 246-8℃(dec)。

2-溴-2'-萘丙乙酮 0.95g(3.8 mmol, Aldrich)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐 0.89g (3.2 mmol)和无水 K_2CO_3 1.56g(11.2 mmol)在 DMF30 ml 中 50℃反应 10 小时，按通法二后处理，得产物 0.88g，收率 60.69%，mp 236-237℃。

元素分析：$C_{24}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot 1/2H_2O$。(C:63.41%, H:5.87%, N:5.96%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6/D_2O): δ3.56(m,8H,哌嗪-H)， 4.90(s,2H,$PhCOCH_2$),5.03(s,2H), 7.54-8.63(m,12H，ArH)。

MS: m/z 373(M + H)，353，185。

实施例 3

(IV-8) N^1-(1-甲基-苯甲酰基) -N^4-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐

2-溴-苯丙酮(3mmol,Aldrich)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(2.5 mmol,按通法一制备)和无水 K_2CO_3(8.75 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.64g，收率 62%，mp 236-238℃。

元素分析：$C_{21}H_{24}N_2O_2$·2HCl (C:62.02%, H:6.64%, N:6.57%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ1.73(d,J=6.0,3H,$COCH(CH_3)N$),3.56(m,8H,哌嗪-H),5.44(m, br,1H,COCHN),4.90(s,2H,$PhCOCH_2$),7.55-8.05(m,10H,ArH)。

MS: m/z 336 (M+)

实施例 4

(IV-9) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-甲氧基-苯甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

对甲氧基氯代苯乙酮(3mmol)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(3 mmol)和无水 K_2CO_3 (10 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.68g,收率 62%，mp226-228℃

元素分析：$C_{21}H_{24}N_2O_3$·2HCl·H_2O (C:57.13%, H:6.10%, N:6.23%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ2.05(s，3H,CH_3O),3.56(m,8H,哌嗪-H),5.07-5.12(m, 4H,$COCH_2N$) 7.53-8.04(m,9H,ArH)。

MS: m/z 352 (M+)

实施例 5

(IV-10) N^1,N^4-双(1-甲基苯甲酰甲基)哌嗪盐酸盐

将无水哌嗪（1.5mmol)，2-溴-1-苯丙酮(3mmol,Aldrich)，和无水 K_2CO_3(8.75 mmol)在 DMF30ml 中，内温 50oC，反应 8 小时，按通法二后处理，得产物 0.55g，收率 85%，mp240－242℃。

元素分析：$C_{22}H_{26}N_2O_2$·2HCl·1/2H_2O (C:61.40%, H:6.74%, N:6.64%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ1.73(d,J=6.0,6H,$2COCH(CH_3)N$),3.56(m,8H,哌嗪-H),5.44(m, br,2H,COCHN), 7.53-8.06(m,10H,ArH)。

MS: m/z 350(M^+)

实施例 6

(IV-11) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-硝基苯甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

对硝基氯代苯乙酮(3.2mmol)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(3mmol)和无水 K_2CO_3 (9mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.71g，收率 61%,mp204-205℃。

元素分析：$C_{20}H_{21}N_3O_4$·2HCl·3/2H_2O (C:51.71%, H:5.80%, N:8.99%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ 3.56(m,8H,哌嗪-H),5.09－5.21(m，4H，2COCH_2N)， 7.55-9.05(m,9H,ArH)。

MS: m/z 367 (M^+)

实施例 7

(IV-13) N^1-苯甲酰乙基-N^4 苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐

3－溴苯丙酮 1.5g(8.9mmol)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐 2.05g(7.4mmol)和无水 K_2CO_3(21.75 mmol)在 DMF50ml 中，按通法二制备，收率 76%，mp204-205℃

元素分析：$C_{21}H_{24}N_2O_2$·2HCl (C:61.17%, H:6.37%, N:6.48%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ 3.37-3.41（m，4H，NCH_2CH_2CO），3.55 (m,8H,哌嗪-H),5.15(s, 2H,COCH_2N), 7.43-7.95(m,10H,ArH)。

MS: m/z 336(M+),231,105

实施例 8

(IV-18) N^1-(1-甲基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙酰基) 哌嗪盐酸盐

2-溴-苯丙酮(3mmol,Aldrich)，N-(2-羟基苯乙酰基)哌嗪盐酸盐(2.5 mmol,按通法一制备)和无水 K_2CO_3(8.75 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.65g，收率 67%。

元素分析：$C_{21}H_{24}N_2O_3$·HCl (C:64.80%, H:6.42%, N:7.20%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ1.73(d,J=6.0,3H,COCH(CH_3)N),3.56(m,8H,哌嗪-H), 4.77(s,1H,PhCHCO), 5.44(m, br,1H,COCHN)， 7.55-8.05(m,10H,ArH)。

MS: m/z 353(M+)

实施例 9

(IV-20) N^1-苯甲酰甲基-N^4-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]哌嗪盐酸盐

2-溴-(5'-氯-6'-甲氧基)萘丙乙酮(3.8 mmol,Aldrich)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐 0.89g (3.2 mmol)和无水 K_2CO_3 1.56g(11.2 mmol)在 DMF 30ml 中 50℃反应 10 小时，按通法二后处理，得产物 1.09g，收率 61%。

元素分析：$C_{26}H_{27}ClN_2O_3$·2HCl·2H_2O。

^{1}HNMR(DMSO-d_6/D_2O): δ 1.70（d,J=6.0,3H,COCH(CH_3)N）,3.56(m,8H,哌嗪-H), 4.90(s,2H,PhCOCH_2) ，5.41(m, br,1H,COCHN)， 8.64-9.11(m,4H，ArH)。

MS: m/z 451(M+)

实施例 10

(IV-21) N^1-(苄胺基甲酰甲基)-N^4-苯丙烯基哌嗪盐酸盐

氯乙酰苄胺(3.9mmol)，反式-1-肉桂哌嗪盐酸盐(5.1mmol,按通法一制备)和无水 K_2CO_3(8.5 mmol)在 DMF 30ml 中，按通法二制备，得产物 0.75g，收率 69%，mp：226-228℃。

元素分析：$C_{22}H_{27}N_3O\cdot 2HCl\cdot H_2O$(C:59.97% H:7.02% N:9.65%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ3.46-3.57(m,10H,哌嗪-H),3.87-3.98（m,2H,CH=CH）4.37(m, 2H,NCH_2CH=CH),6.24(t,1H,NHCO),6.90(t,2H,PhCH2NH),7.27-7.48(m,10H,ArH)。

IR(KBr):v3310,3070,2380,1660,1595,1450,1280,1000,980,950,745,690。

MS: m/z 349(M+),215,172,117,97,91。

实施例 11

(IV-22) N^1-苯甲酰甲基-N^4- (2',4'-二氟苯甲磺酰基)哌嗪盐酸盐

2,4-二氟苯甲磺酰氯(3.5mmol)，N-苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(3mmol)和无水K_2CO_3(10.5 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.81g，收率 71%。

元素分析：$C_{19}H_{20}F_2N_2O_3S\cdot HCl\cdot 3/2H_2O$ (C:57.21%, H:5.89%, N:7.10%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6):δ 3.56(m,8H,哌嗪-H), 4.89(s,2H,$ClSO_2CH_2$), 5.09(s, 2H, $COCH_2N$), 7.24-8.05(m,8H,ArH)。

MS: m/z 412(M^+)

实施例 12

(IV-23) N^1-苯甲酰甲基-N^4-苄胺基甲酰甲基哌嗪盐酸盐

该化合物具有上述结构通式，其中 Ar_1,Ar_2 为苯基；R_1，R_2，R_3 为氢； X 为酰胺基（-CO-NH-）； $n=m_1=m_2=1$。

N- 苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐 1g (3.6mmol)，氯乙酰苄胺 0.73g (4 mmol,由氯乙酰氯与苄胺在 2NnaOH 水溶液中制备)，碘化钾(10 mg)和无水 K_2CO_3 1.8g(13 mmol)置于 DMF(15 ml)中，50℃搅拌反应 8 小时，过滤，减压蒸干溶剂， 加水 20 ml，用 AcOEt(50ml×3)提取，合并酯层，依次用水 10ml，饱和 NaCl 溶液 10ml 洗，$MgSO_4$ 干燥。过滤，蒸去溶剂，加乙醇 10 ml 溶解，用 HCl/C_2H_5OH (5N)调 PH＝2，过滤析出的固体，乙醇/水或甲醇重结晶，得目标化合物 0.84g,收 率 55%，mp 208－210℃。

元 素 分 析：$C_{21}H_{25}N_3O_2\cdot 2HCl$ 实验值(%): C 59.40 H 6.45 N9.87; 理论值(%): C 59.55 H 6.43 N 9.93。

IR (KBr) : ν 3180, 2950, 1690, 1670, 1570。

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ 3.35-3.46 (m, 8H, 哌嗪-H)，3.89 (s, 2H, $PhCH_2$), 4.32 (s, 2H, NCH_2CON), 4.88 (s, 2H, $COCH_2N$), 7.23-7.96 (m, 10H, ArH)，9.13(s, NH)。

MS : m/z 351 (M^+)，246。

含量（HPLC）：>99%

实施例 13

(IV-26) N^1-[1-(苯甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基)哌嗪盐酸盐

氯乙酰苄胺(3.06mmol)，N-(1-甲基苯甲酰甲基)哌嗪盐酸盐(3mmol,按通法一制备)

和无水 K_2CO_3(10.5 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.91g，收率 80%。

元素分析：$C_{22}H_{25}N_3 \cdot 2HCl \cdot H_2O$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ1.74(d,J=6.0,3H,COCH(CH_3)N), 3.56(m,8H,哌嗪-H), 4.14 (s,2H,$PhCH_2$), 4.35(s,2H,NCH_2CON), 5.44(m, br,1H,COCHN), 7.23-8.03 (m,10H, ArH)

MS: m/z 365(M^+)

实施例 14

(IV-28) N^1-(4'-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

氯乙酰苄胺(3.6mmol)，对甲氧基苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(3 mmol,按通法一制备)和无水 K_2CO_3(10.5 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.86g，收率 74%。

元素分析：$C_{22}H_{27}N_3O_3 \cdot 2HCl \cdot 1/2H_2O$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ 3.56(m,8H,哌嗪-H), 3.77（s,3H,CH_3O)，4.14(s,2H,$PhCH_2$), 4.35(s,2H,NCH_2CON), 5.09（s,2H，$COCH_2N$）, 7.26-8.03 (m,9H,ArH)。

MS: m/z 381(M^+)

实施例 15

(IV-29) N^1-苯甲酰甲基-N^4-[(α-R-苯乙胺基)甲酰甲基] 哌嗪盐酸盐

氯乙酰-α-R-苯乙胺(3mmol)，苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(2.5mmol)和无水 K_2CO_3(8.75 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.72g，收率 63.2%。

元素分析：$C_{22}H_{27}N_3O_2 \cdot 2HCl \cdot H_2O$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ 1.44（d，3H,NHCHCH_3)，3.55(m,8H,哌嗪-H), 4.04(s, 1H, Ph$CHCH_3$), 4.35(s,2H,NCH_2CON), 5.12（s,2H，$COCH_2N$）, 7.23-8.14 (m,10H, ArH)。

MS: m/z 365(M^+)

实施例 16

(IV-30) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(4'-甲氧基苄胺基甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

对甲氧基氯乙酰苄胺(3.65mmol)，苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(3.97mmol)和无水 K_2CO_3(13.9 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，收率 61%。

元素分析：$C_{22}H_{27}N_3O_3 \cdot 2HCl \cdot 1/2H_2O$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ3.55(m,8H,哌嗪-H), 3.77(s,3H,CH_3O), 4.14(s,2H,$PhCH_2N$), 4.35(s,2H,NCH_2CON), 5.12（s,2H，$COCH_2N$）, 7.23-8.14 (m,9H,ArH)。

MS: m/z 381(M^+)

实施例 17

(IV-31) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2'-吡啶甲胺基甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

2－吡啶甲胺基甲酰甲基氯（1.3mmol)，苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(1 mmol)和无水

K_2CO_3(8.75 mmol)在 DMF30ml 中，按通法二制备，得产物 0.7g，收率 60.45%。

元素分析：$C_{20}H_{24}N_4O_2 \cdot 3HCl$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ3.33-3.54(m,8H,哌嗪-H), 4.33(s,2H,$NHCH_2$), 4.39 (s,2H, NCH_2CON), 5.12(s,2H，$COCH_2N$), 7.46-8.96 (m,9H,ArH,吡啶-H)。

MS: m/z 381(M^+)

实施例 18

(IV-32) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(3′,4′-亚甲二氧基苄基)哌嗪盐酸盐

氯乙酰-(3,4-亚甲二氧基苄基)胺（5mmol)，苯甲酰甲基哌嗪盐酸盐(5 mmol)和无水 K_2CO_3(17.5 mmol)在丙酮 60ml 中，按通法二制备，得产物 0.76g，收率 63.45%。

元素分析：$C_{21}H_{25}N_2O_3 \cdot 2HCl \cdot 1/2H_2O$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ2.42(s,2H,OCH_2O), 3.33-3.54(m,8H,哌嗪-H), 4.33(s,2H,$NHCH_2$), 4.39(s,2H,NCH_2CON), 5.12（s, 2H，$COCH_2N$）, 7.25-8.11 (m,8H,ArH)。

MS: m/z 395(M^+)

实施例 19

(IV-33) N^1-[1-(5'-氯-6'-甲氧基-2'-萘甲酰基)乙基]-N^4-(苄胺基甲酰甲基) 哌嗪盐酸盐

氯乙酰苄胺 0.43g(2.3mmol)，1-(5'-氯-6'-甲氧基萘甲酰基)乙基哌嗪盐酸盐 0.8g (1.9 mmol, 按通法一制备)和无水 K_2CO_3 0.95g(6.6 mmol)在丙酮 40ml 中，按通法二制备，得产物 0.86g，收率 60%。

元素分析：$C_{27}H_{30}ClN_3O_3 \cdot 2HCl \cdot H_2O$ (C:57.21%, H:5.89%, N:7.10%)

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ1.68(s,3h,CH_3CH), 3.64-4.02(br,11H,哌嗪-H), 4.40(s, 3H, OCH_3), 5.37(t,2H,$PhCH_2$), 7.24-7.70(m,10H,ArH), 8.34(m,1H,NH)。

MS: m/z480$(M+H)^+$, 345, 260, 219, 205.

实施例 20

(IV-34) N^1-苯甲酰-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

按通法三制备 N-苄基哌嗪双盐酸盐，收率 70%。

N-苄基哌嗪双盐酸盐(20mmol)，氯代苯乙酮(24mmol)，无水 K_2CO_3(70mmol)和碘化钾(2mmol)在丙酮(100ml)中按通法二进行反应及后处理，得到化合物 N^1-苄基-N^4-苯甲酰甲基哌嗪双盐酸盐(13.4mmol)，收率 67%。

N^1-苄基-N^4-苯甲酰甲基哌嗪双盐酸盐（3.5mmol）置于 60ml 甲醇中，按通法四进行反应及后处理得化合物 N^1-苄基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（2.28mmol)，收率 65%。

N^1-苄基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（2.28mmol）按通法五进行脱苄基反应得 N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（1.94mmol)，收率 85%。

N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（1.94mmol），苯甲酰氯（2.33mmol），K_2CO_3（6.8mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.51g（1.48mmol），收率 76.4%， mp116-118oC。

元素分析：$C_{19}H_{22}N_2O_2 \cdot HCl$

^{1}HNMR(DMSO-d_6): δ 3.27-3.65(m,10H,NCH_2，哌嗪-H),5.21(m, 1H,CHOH), 7.27-7.47(m,10H,ArH)。

IR（KCl）： ν 3300，2940，1625，1490，1100。

MS: m/z311$(M+H)^+$，293，203。

实施例 21

(IV-36) N^1-苯甲酰甲基-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（3mmol，按实施例 20 得到），溴代苯乙酮（3.6mmol），K_2CO_3（10.5mmol），置于 DMF15ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.81g（2mmol），收率 67.2%，mp 220-221℃

元素分析：$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot 1/2H_2O$

IR（KCl）： ν 3300，2970，1690，1620，1590，1060。

MS: m/z325(M^+)，185。

实施例 22

(IV-37) N^1-(苄胺基甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

N-(2-羟基苯乙基)哌嗪双盐酸盐（2mmol），氯乙酰苄胺（2.4mmol），K_2CO_3（7mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.64g（1.51mmol），收率 75.1%，mp 206-208℃

元素分析：$C_{21}H_{27}N_3O_2 \cdot 2HCl$

IR（KCl）： ν 3350，3220，2980，1680，1600，1540。

MS: m/z354$(M+H)^+$，185。

实施例 23

(IV-38) N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-[(3-羟基-3-苯基)-丙基] 哌嗪盐酸盐

N-苄基哌嗪双盐酸盐（30mmol），3-溴 1-苯丙酮（36mmol），无水 K_2CO_3（105mmol）和碘化钾（3mmol）在丙酮（150ml）中按通法二进行反应及后处理，得到化合物 N^1-苄基-N^4-苯甲酰乙基哌嗪双盐酸盐（22mmol ），收率 73.2%。

N^1-苄基-N^4-苯甲酰乙基哌嗪双盐酸盐（3.5mmol）置于 60ml 甲醇中，按通法四进行反应及后处理得化合物 N^1-苄基-N^4-(3-羟基苯丙基) 哌嗪双盐酸盐（2.6mmol），收率 75%。

N^1-苄基-N^4-(3-羟基苯丙基) 哌嗪双盐酸盐（2.5mmol）按通法五进行脱苄基反应

得 N-(3-羟基苯丙基) 哌嗪双盐酸盐（2.07mmol），收率 83%。

N-(3-羟基苯丙基) 哌嗪双盐酸盐（2mmol），对甲氧基氯代苯乙酮（2.4mmol），K_2CO_3（7mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.62g（1.41mmol），收率 70.4%，mp 240-243℃

元素分析：$C_{22}H_{28}N_2O_3 \cdot 2HCl$ (C: 60.21%, H: 7.03%, N: 6.31%)

MS: m/z368(M^+)

实施例 24

(IV-39) N^1-(4-氯苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（2mmol），对氯溴代苯乙酮（2.4mmol），K_2CO_3（7mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.63g（1.4mmol），收率 70%。

元素分析：$C_{20}H_{23}ClN_2O_2 \cdot 2HCl \cdot H_2O$

IR（KCl）：ν 3300，2960，1700，1620，1570，1060。

MS: m/z359（M^+）

实施例 25

(IV-40) N^1-(4-甲氧基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（2mmol），对甲氧基溴代苯乙酮（2.4mmol），K_2CO_3（7mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.66g（1.42mmol），收率 71%。

元素分析：$C_{21}H_{26}N_2O_3 \cdot 2HCl \cdot 2H_2O$

IR（KCl）：ν 3300，2950，1690，1625，1550，1060。

MS: m/z354（M^+）

实施例 26

(IV-41) N^1-(1-甲基苯甲酰甲基)-N^4-(2-羟基苯乙基) 哌嗪盐酸盐

N-(2-羟基苯乙基) 哌嗪双盐酸盐（2mmol），2-溴-苯丙酮（2.4mmol），K_2CO_3（7mmol），置于 DMF10ml 中，按通法二进行反应和后处理得目标产物 0.52g（1.26mmol），收率 63%。

元素分析：$C_{21}H_{26}N_2O_2 \cdot 2HCl$

IR（KCl）：ν 3300，2870，1750，1610，1590，1030。

MS: m/z338（M^+）

实施例 27

片剂：本发明的衍生物 15mg

淀粉	55mg
蔗糖	190mg
硬脂酸钙	4mg

实施例 28

针剂：本发明的衍生物	3mg
氯化钠	10mg
水	50mg

实施例 29

化合物对 L-Glu 引起豚鼠回肠纵性肌最大收缩的影响

参照文献（Luzzi ,Br J Pharmacol, 95:1271,1988 年）的方法，以 L-Glu 兴奋豚鼠回肠纵行肌离体标本引起最大收缩，观察化合物对标本的影响，以测定化合物对 NMDA 受体作用的生物活性。

方法：以 GLU 引起标本收缩，用 NMDA 离子型通道阻滞剂氯胺酮（Ket）和多胺位点拮抗剂 Ifenprodil 作为阳性对照。采用 13 个化合物进行筛选试验，结果表明，有 8 个化合物（IV-2,3，5,6，7,8，23,34）能抑制 Glu 引起的最大收缩，体现了对 NMDA 受体的拮抗活性(10^{-5}M)；5 个化合物（IV-1,9，10，11,35）能直接兴奋标本，引起标本收缩，具有 Glu 样兴奋活性，结果见表 2。

表 2 化合物对 L-Glu 引起标本收缩的拮抗作用

代号	拮抗作用%	代号	兴奋作用
IV-2	25	IV-1	3×10^{-6}
IV-3	37	IV-9	10^{-5}
IV-5	30	IV-10	10^{-5}
IV-6	25	IV-11	10^{-5}
IV-7	25	IV-35	3×10^{-5}
IV-8	25	L-Glu	3.89×10^{-5}
IV-23	40		
IV-34	25		
氯胺酮（Ket）	$5.61x10^{-7}$		
Ifenprodil	41%(10^{-5})		

实施例 30

化合物抗小鼠脑缺氧活性

采用亚硝酸钠(225mg/kg ip)致小鼠缺氧死亡模型，观察化合物对小鼠死亡时间的延长率，评价耐缺氧活性。采用本发明的 40 个化合物(20mg/kg sc) 的筛选结果表明，

其使小鼠的生存时间有不同程度的延长，其中 9 个化合物（IV-2,10,23,32,34,36, 39,40,41）的延长率大于 50%，显示耐缺氧作用，IV-23 和 IV-2 的生存时间延长率达 100%， 作用显著(见表 3)。

表 3 化合物耐缺氧活性

化合物 (SIPI)	耐缺氧 死亡时间 延长率(%)	化合物 (SIPI)	耐缺氧 死亡时间 延长率(%)	化合物 (SIPI)	耐缺氧 死亡时间 延长率(%)	化合物 (SIPI)	耐缺氧 死亡时间 延长率(%)
IV-1	3	IV-2	**100**	IV-3	7	IV-5	22
IV-6	4	IV-7	21	IV-8	21	IV-9	30
IV-10	**60**	IV-11	2	IV-13	32	IV-16	30
IV-17	14	IV-18	25	IV-19	18	IV-21	33
IV-22	26	IV-23	**100**	IV-24	34	IV-25	30
IV-26	36	IV-32	**58**	IV-34	**60**	IV-35	42
IV-36	**65**	IV-37	13	IV-39	**85**	IV-40	**60**
IV-41	**55**	IV-44	3	IV-48	16	IV-49	30
IV-53	15	IV-54	25	IV-55	4	IV-56	25
IV-58	25	IV-61	22	IV-62	36	IV-64	20

实施例 31

化合物抗大鼠全脑缺血活性

采用大鼠双侧颈动脉结扎＋失血性低血压脑缺血模型，进行抗脑缺血研究。

方法：采用实施例（IV-2，23，34，36）的 4 个化合物，口服给药，试验前口服 3 天，试验当日实验前 1 小时给药，剂量为 20mg/kg，体积为 5ml/kg，阳性对照组给予生理盐水(5ml/kg)，阳性药为钙拮抗剂尼莫地平(1mg/kg)，观察化合物对结扎 10 分钟后再灌注的 EEG 恢复时间，以评价化合物抗脑缺血作用。4 个化合物的研究结果见表 4。

表 4 化合物抗大鼠全脑缺血结果

化合物名称	动物数	EEG 恢复时间 (min)
生理盐水	6	22.00 ± 0.89
尼莫地平	6	13.49 ± 5.55
IV-2	6	16.90 ± 0.86
IV-23	9	13.32 ± 5.10
IV-34	6	14.21 ± 2.33
IV-36	6	20.10

结果表明，IV-23，IV-34 和 IV-2 三个化合物与生理盐水的正常组比较，明显缩短大鼠脑缺血后 EEG 的恢复时间，差异显著，提示对大鼠全脑缺血再灌注引起的脑损伤有较强的保护作用，其中 IV-23, IV-34 的作用强度与尼莫地平相当。

实施例 32

化合物抗大鼠局灶性脑缺血活性

采用大鼠大脑中动脉结扎脑缺血模型进行抗局灶性脑缺血研究，计算局灶性脑缺血后梗塞区与大脑半球的重量百分率，评价化合物对局灶性脑缺血的拮抗作用。5个化合物（IV-20，21，22，23，33）的研究结果见表5。

表5 化合物抗局灶性脑缺血比较试验

组别	动物数	行为学评分		大脑右半球重 (g)	坏死区重 (g)	坏死百分率 (%)
		术后	24h			
阴性对照组	10	9.6±0.5	8.2±1.8	0.74±0.02	0.21±0.08	28.8±10.6
尼莫地平	8	9.3±1.7	9.0±4.1*	0.730±0.017*	0.188±0.013	25.7±1.7
IV-20	8	9.5±0.6	8.8±1.3*	0.74±0.01	0.14±0.04	18.80±5.61*
IV-21	8	9.8±0.5	6.8±2.5*	0.76±0.02	0.12±0.07	15.53±8.27*
IV-22	8	9.6±0.9	7.4±2.4*	0.73±0.01	0.10±0.02	13.61±3.31**
IV-23	8	9.4±1.5	4.2±1.3**	0.737±0.029	0.057±0.012	13.3±1.7**
IV-33	8	9.6±0.6	8.4±1.5*	0.75±0.02	0.12±0.04	15.74±5.70**

* P>0.05 **P<0.01 与阴性对照组比较 P.O.20mg/kg

坏死百分率：与阴性对照组比较，化合物IV-23、IV-33及IV-22（灌胃给药，20mg/kg）能使坏死区脑组织及坏死区与右半球的百分比明显降低(P<0.01)，阳性对照组尼莫地平不显著(P=0.072)。行为学评分：术后 24 小时，IV-23 使大鼠的行为学评分明显降低(P<0.01)，强于对照组尼莫地平。结果表明 IV-23 对大鼠大脑中动脉结扎引起局灶性脑梗塞的拮抗作用最强。

实施例 33

化合物 IV-23 抗脑缺血药理研究结果：

1、IV-23 抗脑缺血临床前药效学研究

（1） IV-23 抗小鼠脑缺氧作用

- 化学品致小鼠脑缺氧研究

  IV-23（20mg/kg,sc）使亚硝酸钠（225mg/kg,ip）致小鼠缺氧死亡时间的延长率达100%，具有显著的抗脑缺氧活性。

- 乏氧性缺氧研究

实验方法：将雄性昆明种小鼠随机分为 8 组，每组 12 只，生理盐水组皮下注射 0.2ml/10g 体重，其余各组皮下注射各剂量的 ACEA1021(国外临床研究期的 NMDA 受体拮抗剂)或 IV-23。每组动物给药 30min 后，将各组动物分别放入装有 10g 钠石灰的 125ml 的广口瓶中，迅速密闭广口瓶，记录小鼠存活时间，计算各组动物平均存活时间，并与生理盐水组结果进行比较。

实验结果：对照组小鼠在该实验中平均存活时间为 14.05±0.65 分钟，给予 IV-23 或 ACEA-1021 后小鼠的存活时间均显著延长(见表 6)。结果经“logit”计算，IV-23 组及阳性对照组 ACEA-1021 组的 ED_{50} 分别为 6.2mg/kg 和 29.2mg/kg。提示 IV-23 可

明显延长小鼠的存活时间，提示 IV-23 对脑缺氧有一定的保护作用。

表 6 IV-23 对小鼠乏氧性缺氧的对抗作用

组别	剂量(mg/kg, sc.)	平均存活时间(min)(means±S.E.M.)
生理盐水组		14.05±0.65
ACEA-1021 组	2.5	17.33±1.18*
	5	18.20±0.82**
	10	19.47±1.17**
	20	20.04±1.38**
IV-23 组	10	16.46±0.89*
	20	17.11±0.53**
	40	19.26±0.91**
	80	20.04±1.56**

注：与生理盐水组比 *P<0.05，**P<0.01

（2） IV-23 抗大鼠全脑缺血作用

IV-23 抗全脑缺血再灌注损伤作用：观察大鼠四动脉结扎全脑缺血再灌注后，脑电图恢复时间及翻正反射时间以评价对全脑缺血损伤的作用(时间短作用强)。与阴性组相比，IV-23 不同剂量组（20mg/kg,10mg/kg,5mg/kg,灌胃给药）均能使全脑缺血再灌注大鼠，灌注后脑电图恢复时间及翻正反射时间明显缩短 (P<0.01)；与阳性组相比，IV-23 不同剂量能使全脑缺血再灌注大鼠，灌注后脑电图恢复时间明显缩短 (P<0.01) 。结果表明 IV-23 对大鼠全脑缺血再灌注损伤有保护作用（见表 7)。

表 7 IV-23 对大鼠全脑缺血再灌注的脑电图和行为学影响

组别	动物数	脑电图消失时间(S)	脑电图恢复时间(S)	翻正反射恢复时间(S)
阴性对照组	7	345.0±380.5	2737.5±1032.2	1895.0±986.7
尼莫地平	5	$396.0\pm559.8^{\Delta}$	$3264.0\pm336.4^{\Delta}$	$1284.0\pm1319.8^{\Delta}$
高剂量组	4	$566.3\pm430.3^{*\Delta}$	$70.3\pm20.1^{***\Delta\Delta\Delta}$	$147.0\pm123.1^{*\Delta\Delta\Delta}$
中剂量组	7	$557.1\pm639.4^{*\Delta}$	$334.3\pm674.3^{***\Delta\Delta\Delta}$	$822.8\pm741.9^{*\Delta\Delta}$
低剂量组	6	$275.5\pm338.1^{*\Delta}$	$184.6\pm214.1^{***\Delta\Delta\Delta}$	$550.0\pm282.5^{*\Delta\Delta\Delta}$

ΔP>0.05, ΔΔP <0.05, ΔΔΔP<0.01 与阴性对照组比较

*P>0.05, **P <0.05, ***P<0.01 与阳性对照组比较

（3） IV-23 抗大鼠局灶性脑缺血作用

● 电凝烧灼阻断大鼠中动脉引起局灶性脑梗塞实验：坏死百分率：与阴性对照组比较，IV-23 中、高剂量组（灌胃给药）能使坏死区脑组织及坏死区与右半球的百分比明显降低(P<0.01)，低剂量组大鼠脑缺血坏死百分率减少，但差异不显著(P=0.098)，阳性对照组尼莫地平不显著(P=0.072)。行为学评分：术后 24 小时，IV-23 中、高剂量组使大鼠的行为学评分明显降低，且中剂量组差异显著(P<0.01)，强于对照组尼莫地平。结果表明 IV-23 对大鼠大脑中动脉结扎引起的局灶性脑梗塞有明显的治疗作用(见表 8)，其药效与剂量有一定的关系。

表 8 IV-23 对脑中动脉结扎大鼠的组织学和行为学影响

组别	动物数	行为学评分		大脑右半球重(g)	坏死区重（g）	坏死百分率（%）
		术后	24h			
阴性对照组	10	9.6±0.5	8.2±1.8	0.74±0.02	0.21±0.08	28.8±10.6
尼莫地平	9	9.7±0.5	8.3±2.0*	0.74±0.01	0.15±0.05	20.5±6.8*
高剂量组	9	9.7±0.5	6.7±2.6*	0.73±0.02	0.11±0.05	14.2±6.8***
中剂量组	10	9.6±0.5	5.6±2.7**	0.73±0.01	0.10±0.06	13.4±8.4***
低剂量组	10	9.7±0.5	8.1±2.0*	0.73±0.01	0.15±0.06	20.8±8.8*

*P>0.05, **P<0.05, ***P<0.01 与阴性对照组比较

● 光化学诱导大鼠中动脉闭塞引起局灶性脑损伤试验：与阴性对照组（生理盐水）相比，IV-23 能使大鼠的行为学明显改善(P<0.05)，坏死区脑组织重量及坏死区与右半球的百分比较阴性组非常明显地降低（P<0.01），即术后 24 小时，IV-23(2mg/kg, i.v)可使脑梗塞坏死百分率降低 52%。与阳性对照组(ACEA-1021)相比，IV-23 也能明显缩小大鼠脑缺血坏死区的范围及坏死区与右半球的百分比(P<0.01)。见表 9。

表9 IV-23 对光化学引起的脑中动脉闭塞大鼠的组织学和行为学影响

组别	剂量(mg/kg)	动物数	行为学评分		大脑右半球重（g）	坏死区重（g）	坏死百分率（%）
			术后	24h			
阴性组	0	8	9.4±0.5	9.1±0.8	0.68±0.01	0.16±0.01	23±1
阳性组	2	8	9.5±0.5	7.1±1.9**	0.70±0.01	0.12±0.02***	17±2***
IV-23	2	7	9.6±0.5	5.4±1.9***Δ	0.68±0.01	0.08±0.02***ΔΔΔ	11±3***ΔΔΔ

*P>0.05，**P<0.05，***P<0.01 与阴性对照组比较

ΔP>0.05，ΔΔP<0.05，ΔΔΔP<0.01 与阳性对照组比较

● 线栓法致大鼠大脑中动脉阻断造成局灶性脑缺血试验：实验结果显示，阳性药 ACEA-1021 能显著减少缺血 6hr 后脑梗塞体积百分比，表明该模型可靠。不同剂量的 IV-23 组（静脉给药）均能显著减少大鼠大脑局灶性、永久性缺血的脑梗塞体积百分比，且与缺血时间相关（见表 10）。IV-23 在缺血后 6 小时，5mg/kg 使脑梗塞体积显著降低，缺血后 3 小时，5mg/kg 可使脑梗塞体积降低 46.3%（见表 11）。

表10 IV-23对不同缺血时间的脑缺血的对抗作用(n=10)

组别	剂 量 (mg/kg)	缺血时间 (hr)	脑梗塞体积百分比(%) (Means ± SEM)	P值
生理盐水		1	3.76 ± 1.13	
生理盐水		3	15.87 ± 2.28	
生理盐水		6	20.00 ± 0.82	
IV-23	5	1	1.31 ± 0.50	[a]>0.05
IV-23	5	3	8.57 ± 1.42	[b]<0.05
IV-23	5	6	12.90 ± 1.11	[c]<0.001

a 与缺血 1hr 生理盐水组比 b 与缺血 3hr 生理盐水组比 c 与缺血 6hr 生理盐水组比

表 11 不同剂量 IV-23 对脑缺血(6hr)的对抗作用(n=10)

组别	剂量 (mg/kg)	缺血时间(hr)	脑梗塞体积百分比(%) (Means ± SEM)	P值*
生理盐水		6	20.00 ± 0.82	
IV-23	2.5	6	15.42 ± 1.71	<0.05
IV-23	5	6	12.90 ± 1.11	<0.001
IV-23	10	6	14.92 ± 1.40	<0.01
ACEA-1021	10	6	12.73 ± 1.24	<0.001

与缺血6hr生理盐水组比

上述三种局灶性脑栓塞模型研究表明：IV-23 使缺血后脑梗塞体积明显缩小，具有显著的预防和治疗效果，且作用明显优于尼莫地平和 ACEA-1021。

实施例 34

2、IV-23 抗脑缺血作用机理研究

● 对抗 NMDA 引起新生大鼠海马脑片神经元损伤的作用：

电生理试验:在急性分离大鼠海马 CA1 锥体神经元上应用全细胞膜片模型上，IV-23 抑制 NMDA(100μM)诱发的电流效应，并呈现浓度依赖性，IC_{50}:562.7±1.1μM(n=4,hill 系数为 1.17)，说明 IV-23 对 NMDA 引起的神经元细胞的去极化具有抑制作用，证实其为 NMDA 受体拮抗剂。（见图 1）

实验方法：全细胞膜片钳技术。分离大鼠海马，切成厚 500μm 的脑片。取海马 CA1 区置于人工脑脊液（ACSF）中孵育 1 小时以上。溶液通予纯氧饱和。脑片孵育后置含有 protease(1mg/ml) 的 ACSF 中 5 分钟。用 trypsin inhibitor type II-S(3mg/ml)终止 protease 的消化作用。然后用试管打散脑片得游离细胞，静置片刻开始实验。

电生理实验采用 whole-cell patch-clamp 技术。实验用放大器为 Axon- 200A 膜片钳放大器，辅以 DigiData-1200A 采样接口。应用软件为 AxoScope Version 1.0。实验以 100μm NMDA 产生的全细胞电流为标准。施加不同尝试的样品，观察其对 NMDA 电流的影响。以其不同浓度对 NMDA 电流的影响比率得 IC_{50} 值。

实验结果：IV-23 以依赖浓度的方式抑制 NMDA 所诱发的电流反应。其 IC_{50} 为 562.7 ± 1.1μm (n=4), hill 系数等于 1.17。说明 IV-23 对 NMDA 引起的神经无细胞的去极化具有抑制作用。

● IV-23 对抗 NMDA 所致神经细胞损伤试验：实验采用原代培养的大鼠大脑皮层神经细胞，以 NMDA 造成细胞损伤为模型，研究 IV-23 对 NMDA 所致神经细胞损伤的作用。结果表明 IV-23 可明显降低 NMDA 所致大鼠原代培养神经细胞上清液中 LDH 比活性升高（见表 12），提示 IV-23 对 NMDA 所致大鼠原代培养神经细胞损伤有保护作用（见表 13），亦进一步佐证其为新型的 NMDA 受体拮抗剂及抗缺血性脑损伤

的作用机理。

表 12 NMDA 对神经细胞的损伤作用(n=12)

组别	浓度(mmol/L)	LDH 比活性(U/g 蛋白)
正常组		0.68±0.05
NMDA 组	0.1	1.51±0.25**
	0.5	1.63±0.19**
	1	1.74±0.17**
	2	2.38±0.31**

注：与正常组比**P<0.01

表 14 IV-23 对 NMDA(1mmol/L)神经细胞损伤的对抗作用(n=12)

组别	浓 度 (mol/L)	LDH 比活性(U/g 蛋白) (mean ± SEM)	保护率(%)
生理盐水组		1.74±0.17	
IV-23组	10	1.86±0.20	0
	50	1.23±0.14*	48.1
	100	1.05±0.16**	65.1
	200	0.79±0.19**	89.6

注：与生理盐水组比 *P<0.05，**P<0.01

实施例 35

3、IV-23 急性毒性试验

IV-23 的 i.v 和 p.o 给药后的 LD_{50}(mice,mg/kg,95%可信限)分别为 132.77(115.79-147.86)和 845.73(737.87-970.70)。

4、IV-23 致突变试验

- IV-23 对鼠沙门氏菌无诱变作用，Ames 试验阴性。
- 啮齿动物微核试验阴性
- 哺乳动物培养细胞染色体畸变试验阴性

5、IV-23 抗血小板聚集试验

IV-23 在浓度为 1×10-4mol/L 时对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集无抑制作用，提示其抗脑梗塞活性非抗凝作用途径。

6、结语：

IV-23 属结构新颖的 NMDA 受体拮抗剂；对 NMDA 所致大鼠原代培养神经细胞损伤有明显的保护作用；对大鼠大脑中动脉结扎引起的局灶性脑梗塞，口服(10mg/kg)和静注(2.5mg/kg)有明显的治疗作用，其药效与剂量有一定的关系，且作用明显优于尼莫地平及阳性对照品 ACEA-1021；对全脑缺血再灌注损伤有保护作用；致突变试验阴性。IV-23 在大鼠全脑和局灶性脑缺血模型上所显示的显著活性及安全性，提示其可能对人脑梗塞有预防和治疗作用。

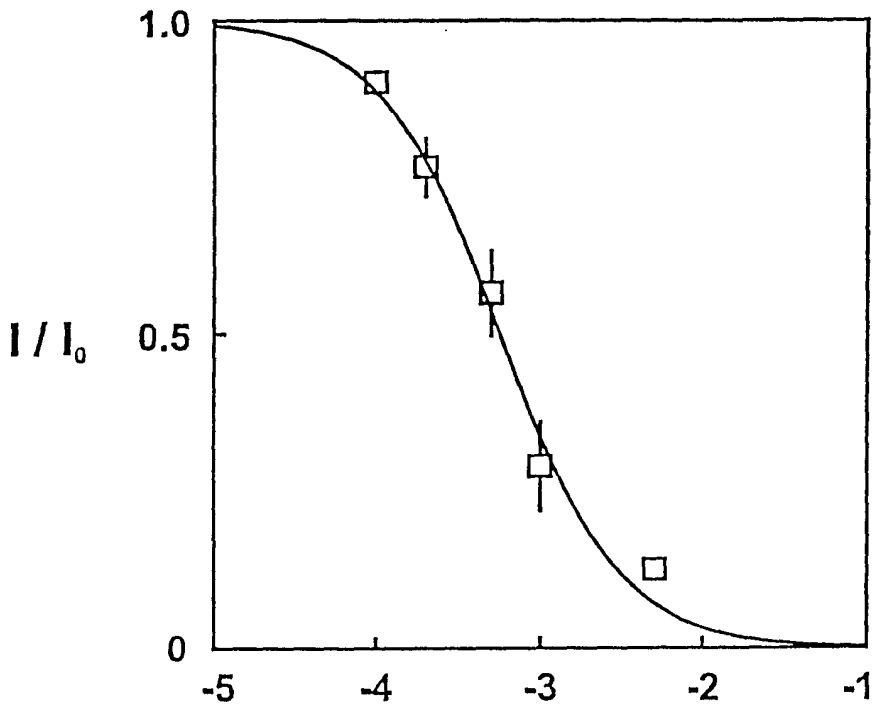


图 1