

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D277/82

A61K 31/425



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99808052.7

[45] 授权公告日 2003 年 11 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1126747C

[22] 申请日 1999.7.1 [21] 申请号 99808052.7

[30] 优先权

[32] 1998.7.1 [33] SE [31] 9802360-9

[86] 国际申请 PCT/SE99/01197 1999.7.1

[87] 国际公布 WO00/01680 英 2000.1.13

[85] 进入国家阶段日期 2000.12.29

[71] 专利权人 黑肯·威尔赫姆·维克斯特罗姆

地址 荷兰格罗宁根

[72] 发明人 黑肯·威尔赫姆·维克斯特罗姆

坡·艾利克·安德伦

坡·阿维德·埃米尔·卡尔森

德克·迪杰克斯特拉 拉尔斯·谷恩

利奥纳得·亚历山大·范维列特

审查员 周胡斌

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

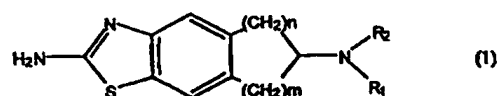
代理人 李 瑛

权利要求书 3 页 说明书 31 页

[54] 发明名称 新的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二
氢化茚和 2-氨基四氢化萘及其应
用

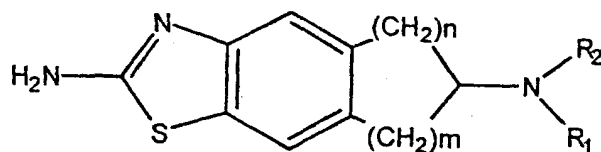
[57] 摘要

本发明涉及通式(1)所示 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚和 2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐: 其中 R₁ 和 R₂ 可相同或不同, 并选自氢原子、具有 1-7 个碳原子的烷基或卤代烷基、具有 3-7 个碳原子的(烷基)环烷基、具有 3-6 个碳原子的链烯基或链炔基、其中烷基部分具有 1-3 个碳原子且芳基核可被取代的芳基烷基, 并且 n 和 m 是 1 或 2。 本发明还涉及含有所述化合物的药物组合物, 以及所述化合物在制备对中枢神经系统和/或循环有多巴胺能作用的药物中的应用。



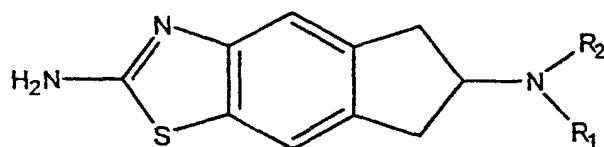
I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 具有通式 1 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚和 2-氨基四氢化萘, 及其对映异构体和酸加成盐:



其中 R_1 和 R_2 可相同或不同, 并选自氢原子、具有 1-7 个碳原子的烷基或卤代烷基、具有 3-7 个碳原子的 (烷基) 环烷基、具有 3-6 个碳原子的链烯基或链炔基、烷基部分具有 1-3 个碳原子且芳基核可被氟、氯或溴原子或磺酰氧基取代的芳烷基; n 和 m 是 1 或 2。

2. 权利要求 1 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚及其酸加成盐, 其中所述 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚具有通式 1a 所示结构:

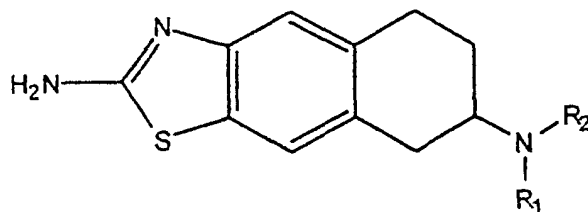


其中 R_1 和 R_2 的定义同权利要求 1。

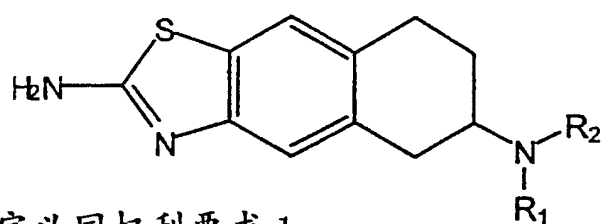
3. 权利要求 2 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_1 是正丙基, 且 R_2 是 H、 (C_1-C_7) 烷基或卤代 (C_1-C_7) 烷基。

4. 权利要求 2 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_1 是正丙基, 且 R_2 是芳基乙基。

5. 权利要求 1 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘, 该化合物具有通式 1b 所示结构:



6. 权利要求 1 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘及其酸加成盐, 其中所述 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘具有通式 1c 所示结构:



其中 R_1 和 R_2 的定义同权利要求 1。

7. 权利要求 5 和 6 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_1 是正丙基, 且 R_2 是 H、 (C_1-C_7) 烷基或卤代 (C_1-C_7) 烷基。

8. 权利要求 5 和 6 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_1 是正丙基, 且 R_2 是芳基乙基。

9. 权利要求 3 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_2 是正丙基。

10. 权利要求 4 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_2 是 2-噻吩基乙基。

11. 权利要求 7 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_2 是正丙基。

12. 权利要求 8 的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐, 其中 R_2 是 2-噻吩基乙基。

13. 权利要求 1-12 任一项的化合物, 其中酸加成盐是与无机酸或有机酸形成的生理学可接受酸加成盐。

14. 药物组合物, 其中含有权利要求 1-12 任一项的化合物或其生理可接受酸加成盐作为活性物质, 并任选含有一种或多种惰性载体和/或稀释剂。

15. 权利要求 1-12 的化合物或其生理可接受酸加成盐在制备用于治疗涉及多巴胺受体的中枢神经性神经-精神病和/或用于治疗循环障碍的药物中的应用。

16. 权利要求 1-12 的化合物或其生理可接受酸加成盐在制备适合治疗精神分裂症的药物中的应用。

17. 权利要求 1-12 的化合物或其生理可接受酸加成盐在制备适用于治疗帕金森氏病或帕金森神经功能障碍的药物中的应用。

18. 权利要求 1-12 的化合物或其生理可接受酸加成盐在制备用于治

疗药物滥用、尤其是酒精和/或可卡因滥用的药物中的应用。

19. 制备药物组合物的方法，其特征在于，通过非化学方法将权利要求 1-12 的化合物或其生理可接受酸加成盐混入一种或多种惰性载体和/或稀释剂中。

新的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茛 和 2-氨基四氢化茛及其应用

技术领域

本发明涉及新的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茛和 2-氨基四氢化茛及其应用。更具体来说,本发明涉及具有有价值药理活性的 2,6-二氨基噻唑并[4,5-f]二氢化茛(indan)、2,7-二氨基噻唑并[4,5-g]四氢化茛和 2,7-二氨基噻唑并[5,4-g]四氢化茛的(碱性基)-N-取代和(碱性基)-N,N-二取代衍生物、其酸加成盐、含有它们的药物组合物、以及它们在制备药物中的应用。

背景技术

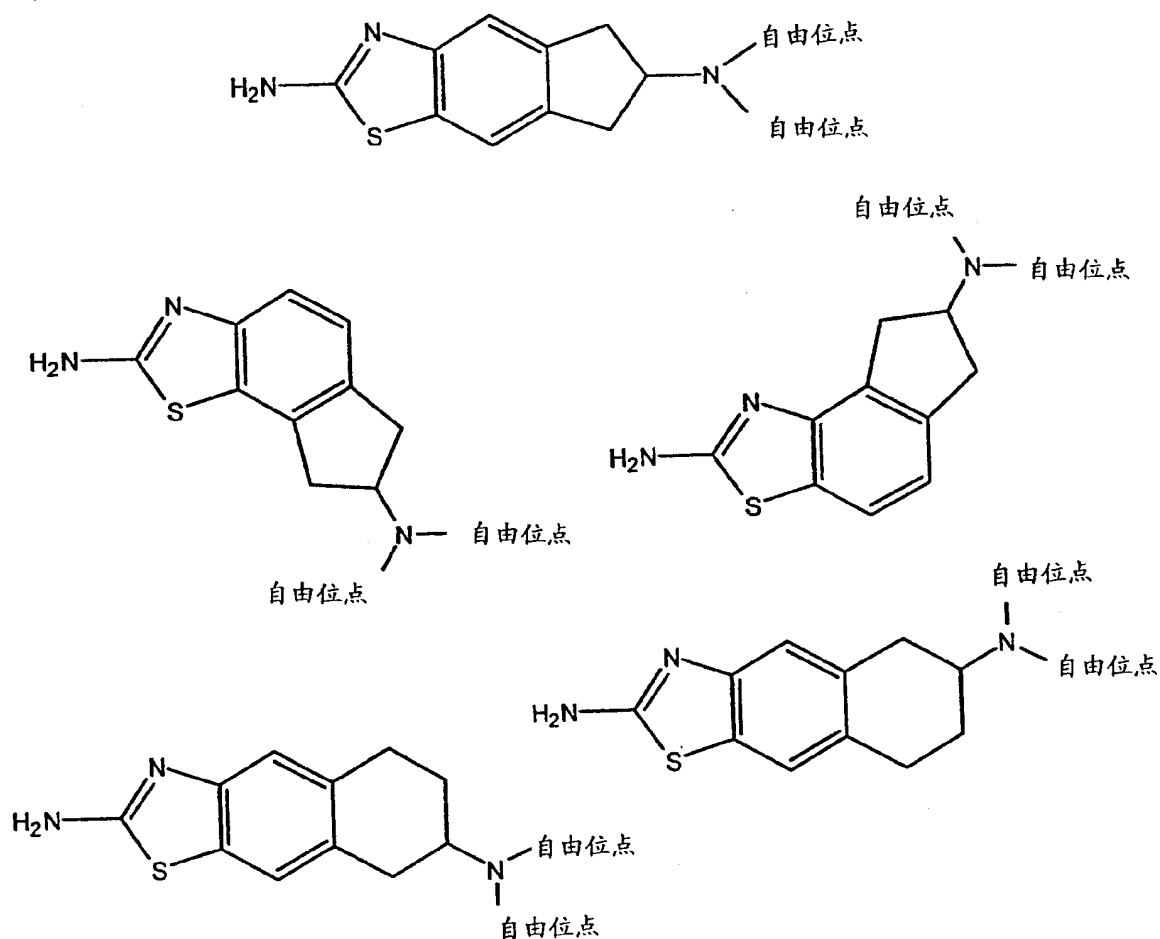
有多种四氢苯并噻唑在文献中是已知的。US-A-4337343 描述了对循环有作用、在 2-位被氢原子或烷基取代、并且在 4-位、5-位或 6-位被烷基氨基烷基取代的 4,5,6,7-四氢苯并噻唑。US-A-4208420 描述了对交感神经系统有刺激作用、并且起脑血管系统调节剂作用、在 2-位被氢原子或烷基取代、并且在 4-位、5-位或 6-位被烷基氨基取代的 4,5,6,7-四氢苯并噻唑,DE-A-2,136,233 描述了具有病毒抑制特性、在 2-位被氨基或任选取代的脲基或硫脲基取代的 4,5,6,7-四氢苯并噻唑。

四氢苯并噻唑 Pramipexol[®] (Mirapex)是目前市售的抗帕金森氏病药物(参见 Griss 等人的专利申请 EP 186087 A1 860702;还参见 Schneider 和 Mireau, JMC 1987, 30, 494-498)。

然而,现有技术中没有描述过本发明所要求保护的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茛和 2-氨基四氢化茛(见下面式 1)。

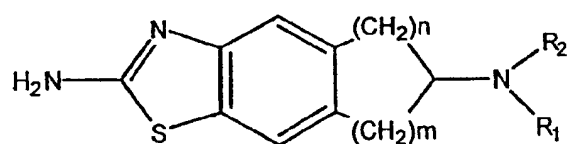
1998 年 6 月 9 日在登记文档库中进行了 CAS ONLINE 检索,结果没有检索到下述结构,这证实了要求保护的下述式 1 化合物是新的。下述化合物是在 CAS ONLINE 中检索并且没有检索到的化合物(子结构

检索；在这些检索中，限定了二氢化茚和四氢化萘环系氢，并且仅允许2个“自由位点”取代基为CAS ONLINE中的任意可能取代基）：



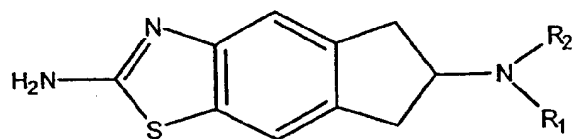
发明简述

一方面，本发明涉及下述通式(式1)新的2-氨基噻唑稠合的2-氨基二氢化茚和2-氨基四氢化萘、其对映异构体和酸加成盐、尤其是其与无机酸或有机酸形成的生理可接受酸加成盐：

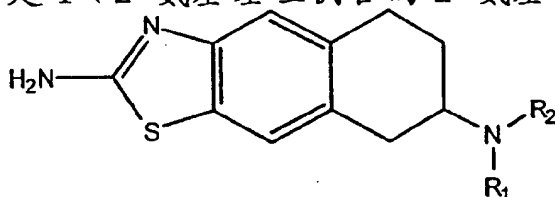


其中 R₁ 和 R₂ 可相同或不同，并选自氢原子、具有1-7个碳原子的烷基或卤代烷基、具有3-7个碳原子的(烷基)环烷基、具有3-6个碳原子的链烯基或链炔基、烷基部分具有1-3个碳原子且芳基核可被取代(例如被氟、氯或溴原子或磺酰氧基(例如三氟甲基磺酰基)取代)

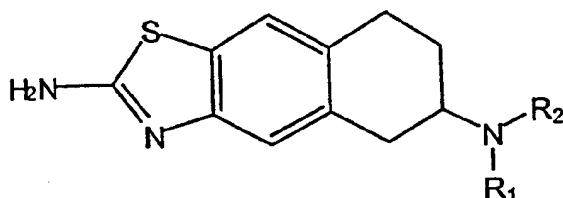
的芳基烷基, n 和 m 都是 1 (2-氨基噻唑稠合的 2-氨基二氢化茚; 式 1a):



或者 n 是 2 且 m 是 1 (2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘; 式 1b):



或者 n 是 1 且 m 是 2 (2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘; 式 1c):



通式 1 化合物具有有价值的药理活性, 尤其是对中枢神经系统和/或循环的多巴胺能系统有作用。

另一方面, 本发明涉及药物组合物, 所述组合物含有式 1 化合物或其生理可接受酸加成盐作为活性物质, 并任选含有一种或多种惰性载体和/或稀释剂。

另一方面, 本发明涉及式 1 化合物或其生理可接受酸加成盐在制备具有下述作用的药物中的应用: 对中枢神经系统和/或循环的多巴胺能系统有作用, 例如用于治疗涉及多巴胺受体的中枢神经性神经精神病、循环障碍、精神分裂症、帕金森氏病、帕金森神经功能障碍或药物滥用、尤其是酒精和/或可卡因滥用。

另一方面, 本发明涉及制备药物组合物的方法, 其特征在于, 通过非化学方法将式 1 化合物或其生理可接受盐与一种或多种惰性载体和/或稀释剂混合。

发明详述

本发明化合物由上述式 1 或其生理可接受盐表示。通过施用治疗

有效量的式 1 化合物，本发明化合物可用于治疗患有多巴胺产生性中枢神经系统障碍（例如精神分裂症、帕金森氏病、图雷特综合征、MBD、血催乳素过多和药物滥用（例如酒精或可卡因滥用））的哺乳动物、尤其是人。

在结构式 1 中，各含烃部分的碳含量是通过指出该部分具有“i - j 个碳原子”来表示。因此“1 - 7 个碳原子”烷基是指具有 1 - 7 个碳原子的直链和支链烷基，包括两端值，包括其异构体，例如甲基、乙基、丙基和异丙基。

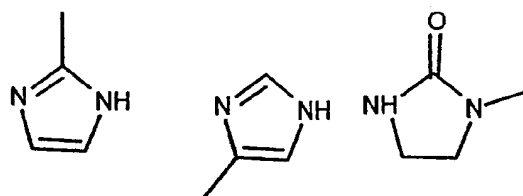
环烷基是具有 3 - 7 个碳原子的环烷基，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

术语“卤素”包括氟、氯、溴和碘。

作为基团 $-NR_1R_2$ 定义的实例，该基团表示氨基、甲基氨基、乙基氨基、正丙基氨基、异丙基氨基、正丁基氨基、异丁基氨基、叔丁基氨基、正戊基氨基、异戊基氨基、正己基氨基、正庚基氨基、二甲基氨基、二乙基氨基、二正丙基氨基、二正丁基氨基、甲基乙基氨基、甲基正丙基氨基、甲基异丙基氨基、乙基异丙基氨基、2, 2, 2-三氟乙基氨基、3, 3, 3-三氟丙基氨基、2-氟乙基氨基、3-氟丙基氨基、烯丙基氨基、丁烯-2-基氨基、己烯-2-基氨基、二烯丙基氨基、N-甲基烯丙基氨基、N-乙基烯丙基氨基、N-正丙基烯丙基氨基、N-正丁基烯丙基氨基、炔丙基氨基、丁烯-2-基氨基、己烯-2-基氨基、二炔丙基氨基、N-甲基炔丙基氨基、N-乙基炔丙基氨基、环丙基氨基、环丁基氨基、环戊基氨基、环己基氨基、环庚基氨基、N-甲基环己基氨基、N-乙基环己基氨基、苄基氨基、氯苄基氨基、溴苄基氨基、1-苯基乙基氨基、2-苯基乙基氨基、2-苯基正丙基氨基、3-苯基正丙基氨基、N-甲基苄基氨基、N-乙基苄基氨基、N-乙基对氯苄基氨基、N-乙基-2-苯基乙基氨基、N-烯丙基苄基氨基、N-烯丙基对氯苄基氨基、正丙基苯基乙基氨基、正丙基-2-噻吩基乙基氨基、正丙基-3-噻吩基乙基氨基。

作为“芳基烷基”的其它实例，该基团代表其中烷基部分具有 1

- 3 个碳原子, 且芳基部分可选自(取代的)苯基、1-萘基或 2-萘基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基、2-噻吩基或 3-噻吩基、2-呋喃基或 3-呋喃基(furanoyl)、2-咪唑基或 4-咪唑基和 1-咪唑啉-2-酮的芳基烷基, 为了清楚起见, 下面给出 2-咪唑基、4-咪唑基和 1-咪唑啉-2-酮的结构式:



2-咪唑基 4-咪唑基 1-咪唑啉-2-酮

可药用盐是指适用于给予本发明化合物或可以体外和体内接受本发明化合物的盐, 包括酸加成盐, 例如与盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸或富马酸形成的酸加成盐。烷基磺酸(例如 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$)也适于形成盐。这些盐可以是水合物形式。

然而, 特别优选的通式 1 化合物是定义如下的通式 1 化合物、其酸加成盐、尤其是生理可接受酸加成盐:

其中

R_1 代表氢原子、具有 1-3 个碳原子的烷基或 F-烷基或烯丙基,
 R_2 代表氢原子、具有 1-6 个碳原子的烷基、具有 1-6 个碳原子的卤代烷基、烯丙基、炔丙基、苯基乙基、2-噻吩基乙基、3-噻吩基乙基、环丙基甲基。

依据本发明, 本发明新化合物可通过方案 1-4(下文中)中描述的方法制得。

可通过常规方法将具有至少一个手性中心的通式 1 化合物拆分成其对映体, 例如通过手性相柱色谱法拆分, 通过将非对映异构盐分级结晶来拆分, 或通过将它们分别与旋光性辅助酸例如酒石酸、0,0-二苯甲酰基酒石酸、樟脑酸、樟脑磺酸或 α -甲氧基苯基乙酸形成共轭物来通过柱色谱法拆分。还可能形成式 1 非对映异构胺(见方案 1 和 2),

并通过色谱法和/或分级结晶来分离这些非对映异构体。

药物组合物是通过将式 1 化合物或其可治疗用酸加成盐与可药用载体混合而制得的。确切剂量和给药频率取决于所治疗具体病症、所治疗的病症的严重程度、具体患者的年龄、体重、一般身体状况、以及个体可能正在接受的其他治疗，这是本领域技术人员众所周知的。因此，可以以治疗或药理有效量将本发明化合物与可药用载体、稀释剂或缓冲剂给药来减缓与诊断出的生理病症有关的中枢神经系统障碍。可将本发明化合物对人或其它脊椎动物静脉内给药、肌肉给药、局部给药、经皮给药例如通过皮肤贴剂给药、颊给药或口服给药。

本发明组合物可呈适于对人或其它脊椎动物给药的单位剂型，例如片剂、胶囊剂、丸剂、粉剂、粒剂、无菌非肠道给药用溶液剂或悬浮剂、口服溶液剂或悬浮剂、含有适当量本发明化合物的水包油和油包水型乳剂、栓剂和流体悬浮剂或溶液剂。对于口服给药，可制备固体或流体单位剂型。为了制备固体组合物例如片剂，可将本发明化合物与常规组分例如滑石、硬脂酸镁、磷酸二钙、硅酸铝镁、硫酸钙、淀粉、乳糖、阿拉伯胶、甲基纤维素和具有类似功能的药物稀释剂或载体混合。胶囊剂可通过将本发明化合物与惰性药物稀释剂混合、并将所得混合物填充到具有适当尺寸的硬明胶胶囊中来制得。软明胶胶囊剂可通过用机械装置将本发明化合物与可药用植物油、轻质液状凡士林或其它惰性油的浆液装入胶囊中而制得。

可制备液体单位剂型或口服给药，例如糖浆剂、酏剂和悬浮剂。可将这些剂型与糖、芳香调味剂和防腐剂一起溶于含水载体中来形成糖浆剂。悬浮剂可借助于悬浮剂例如阿拉伯胶、西黄蓍胶、甲基纤维素等用含水载体制得。

可用本发明化合物与无菌载体制备非胃肠道给药用液体单位剂型。为了制备溶液剂，可将本发明化合物溶于注射用水中，过滤灭菌，然后填充到合适的瓶或安瓿中并密封。可将辅料例如局麻剂、防腐剂和缓冲剂溶于载体中。填充到瓶中后，可将组合物冷冻，并真空除去水。然后可在瓶中称出该冻干粉末的量，并在使用前重新配制。

本发明化合物及其生理可接受酸加成盐具有有价值的药理活性，尤其是对中枢神经系统有作用，特别是对多巴胺受体（自身受体和/或突触后受体）具有刺激作用，或抑制多巴胺受体的作用，从而具有部分激动剂特性。对于哺乳动物 CNS 中的多巴胺受体有高内在效力的本发明化合物适于治疗帕金森氏病，既可以单独治疗，也可以与例如 L-DOPA 和卡比多巴进行联合治疗。本发明化合物还是抗血催乳素过多（hyperprolactinergic）药物。对于哺乳动物 CNS 中的多巴胺受体有低内在效力的本发明化合物（部分激动剂，反激动剂（inverse agonist）和/或对抗剂）适于治疗精神障碍例如精神分裂症。

下述实施例是为了进一步举例说明本发明：

合成本发明要求保护的某些化合物的下述详细实验内容（还见在各实施例后面提供的方案 1-4）并不是对本发明的限制。

实施例 1

合成 7-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(11a)的对映体（方案 1）

4-邻苯二甲酰亚氨基苯基乙酸(2)

将 4-氨基苯基乙酸(1)溶于冰醋酸中，加入邻苯二甲酸酐。将该反应混合物回流 30 分钟，然后冷却。如果产物沉淀出来，将其过滤，否则进行萃取，将溶剂蒸发并用二氧化硅进行色谱纯化。

6-邻苯二甲酰亚氨基-2-四氢化萘酮(3)

将化合物 2 悬浮在二氯甲烷中，加入 SOCl_2 。将该混合物回流直至所有酸 2 都溶解（3-4 小时），然后将溶剂蒸发，获得了酰氯粗产物，无需纯化用于下步反应，将其再溶于二氯甲烷中，在约 -5°C 温度下将其滴加到 AlCl_3 的二氯甲烷溶液中。向该混合物中迅速鼓入乙烯气流。1-2 小时后，将该反应混合物在冰浴中冷却，并缓慢地加入冰水。提取产物 3，并通过色谱法和/或蒸馏或结晶纯化。

6-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N-甲基苄基)氨基四氢化萘(4)

将 6-邻苯二甲酰亚氨基-2-四氢化萘酮(3)和(S)-(-)-甲基苄基胺溶于 1,2-二氯乙烷。将三乙酰氧基硼氢化钠和催化量的冰醋酸加到

该反应混合物中。将该反应混合物搅拌 48 小时，将溶剂减压蒸发，把水加到残余物中。用 10% 碳酸氢钠将该水层碱化，用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用盐水洗涤，用硫酸镁干燥，减压浓缩，获得了 4，为油状物。

6-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基四氢化萘(5)

将 6-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基)氨基四氢化萘(4)溶于二氯甲烷，冷却至 0℃，并加入三乙胺。经 30 分钟滴加丙酰氯在二氯甲烷中的溶液。加入完成后，将该反应混合物搅拌 30 分钟。用水将该混合物洗涤，然后用盐水洗涤，用硫酸镁干燥。用二氧化硅柱色谱法和/或采用例如正相 (straight phase) Chromasil (10 μ m, EKA Chemicals, Bohus, Sweden) 的制备 HPLC 分离该非对映异构体。

6-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基四氢化萘(6)

将 6-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基四氢化萘(5)溶于无水乙醇，然后加入水合肼。将该反应混合物在室温搅拌 0.5 小时，之后将挥发性物质减压除去。将残余物在氯仿中回流 0.5 小时，冷却至室温，过滤以除去固体苯二甲酰亚氨基肼。将滤液减压浓缩，获得了产物 6。

6-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-正丙基)氨基四氢化萘(7)

将 LiAlH_4 悬浮在无水乙醚中，将该悬浮液在冰上冷却。在 0-25℃ 温度下滴加 6-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基四氢化萘(6)在无水乙醚中的溶液。加入完成后，将该混合物在冰冷却下搅拌 1 小时，然后在室温搅拌 1 小时，之后加热回流 2 小时。冷却至室温后，通过小心地加入水、4N NaOH 和水（加入顺序依此）来中止反应。将该混合物加热回流直至所有沉淀物变成白色（10 分钟），冷却至室温，经硅藻土过滤。用硫酸钠将滤液干燥，并减压浓缩。

7-氨基-2-((N- α -甲基苄基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(8)

将 6-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-正丙基)氨基四氢化萘(7)和硫氰酸钾溶于冰醋酸中。经 15 分钟滴加溴在冰醋酸中的溶液。加入完成

后,将该反应混合物搅拌 1.5 小时,然后用 10% NaOH 碱化,并用乙酸乙酯萃取。合并有机层,用盐水洗涤一次,用硫酸镁干燥,并减压浓缩。用二氧化硅柱色谱法纯化产物。

7-氨基-2-N-正丙基氨基噻唑并[4,5-g]四氢化萘(9)

将 7-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-正丙基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(8)和甲酸铵溶于甲醇,加入 10% Pd/C (在 N₂ 下)。将该反应混合物加热回流 1 小时。经硅藻土滤除 Pd/C,将溶剂减压蒸发。把残余物再溶于乙腈中,通过过滤除去固体,将溶剂蒸发,获得了产物。

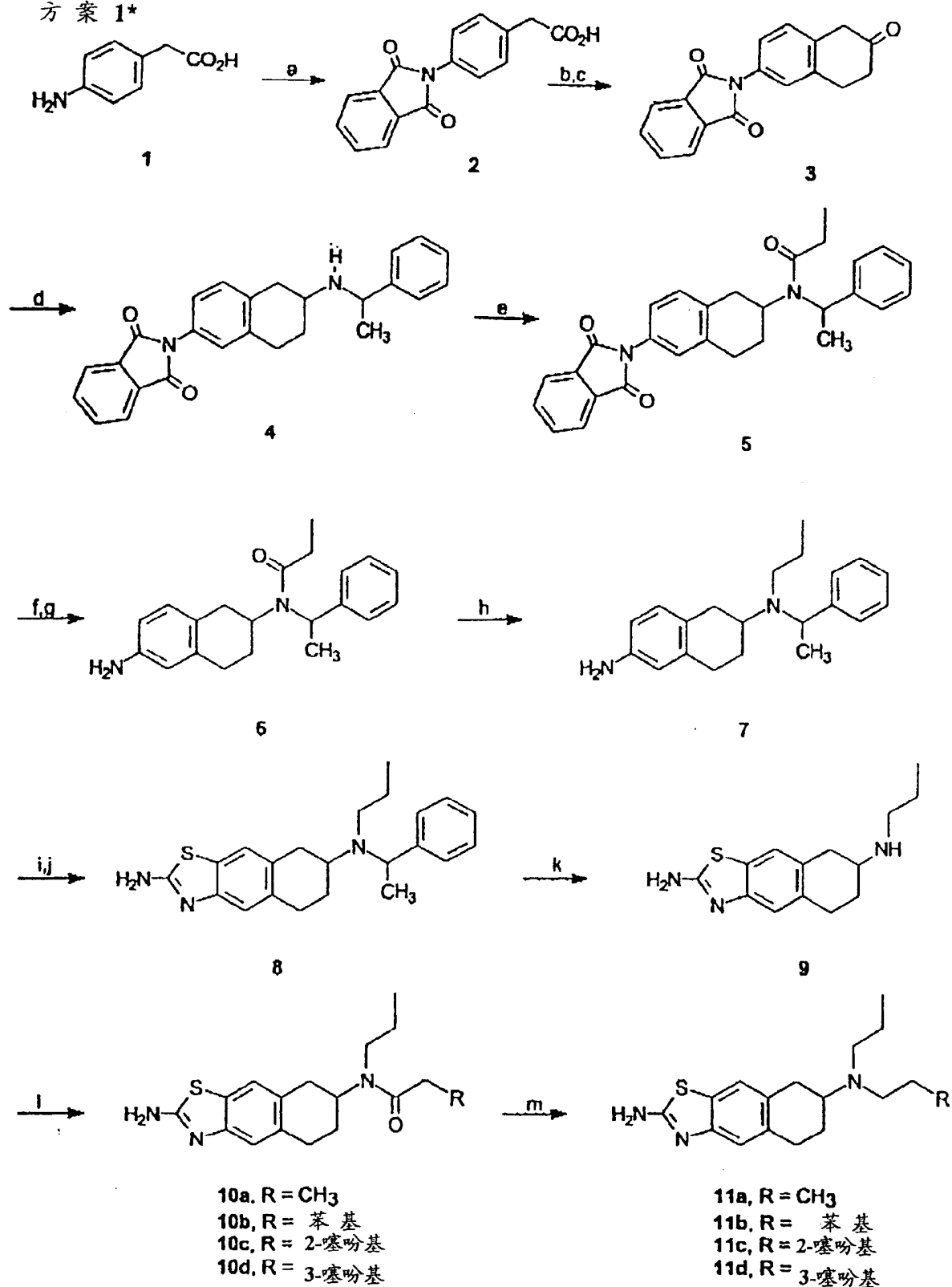
7-氨基-2-((N-丙酰基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(10a)

按照将 4 转化成 5 所采用的方法,将 7-氨基-2-N-正丙基噻唑并[4,5-g]四氢化萘(9)转化成 10a。

7-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(11a)

将 7-氨基-2-(N-丙酰基-N-正丙基)噻唑并[4,5-g]四氢化萘(10a)溶于无水乙醚,经 1 小时滴加 BH₃ (在 THF 中的溶液)。加入完全后,将该反应混合物加热回流 1 小时。将该混合物冷却至室温,小心地加入水。然后加入 10% HCl,将所有挥发性溶剂减压蒸发。用 10% NaOH 将剩余水溶液碱化,用乙酸乙酯萃取。合并有机层,用硫酸钠干燥,并减压浓缩。

方案 1*



*合成类似于 Hansson 等人, 二丙基-(6, 7, 8, 9-四氢-3H-苯并[e]吡啶-7-基)胺对映体的合成和药理学, 9th Noordwijkerhout-Camerino 论文集, 5月23-27, 1993, Noordwijkerhout, The Netherlands (海报简报)。

试剂: (a) 邻苯二甲酸酐, HOAc, Δ ; (b) SOCl₂, CH₂Cl₂ Δ ; (c) 乙烯, AlCl₃, 苯, 0℃; (d) α -甲基苄基胺, NaB(OAc)₃H, cat. HOAc, 1, 2-二氯乙烷; (e) 丙酰氯, Et₃N, CH₂Cl₂; (f) 分离非对映异构体; (g) H₂NNH₂•H₂O, EtOH, Δ ; (h) LiAlH₄, Et₂O, 室温; (i) KSCN, Br₂, HOAc, 室温; (j) 分离可能的区域异构体 (regioisomer); (k) HCO₂NH₄, Pd/C 10%, MeOH, Δ ; (l) 酰氯, Et₃N, CH₂Cl₂; (m) 在 THF 中的 BH₃, Et₂O, Δ 。

实施例 2

以可分开的区域异构体混合物形式存在的 2-氨基噻唑稠合的 2-氨基四氢化萘的合成

将 N,N-二正丙基氨基四氢化萘 × HCl (DPAT × HCl; Mw 267.5; 5 mmol; 1.34 g) 溶于二氯甲烷, 加入 10% 碳酸氢钠, 将该碱萃取到有机层中。分离有机相, 用硫酸钠干燥, 过滤, 将溶剂减压蒸发, 获得了油状物, 将其溶于 TFA (10 mL) 中, 在 0℃ 用约 5 分钟分批加入 KNO₃ (5.5 mmol; 556 mg)。该反应发生了, 同时没有形成任何副产物, 依据 GC (100-10℃/分钟-280) 仅形成了单硝基异构体。将溶剂 TFA 减压蒸发, 把油状残余物溶于二氯甲烷中, 加入水和 NaOH 小粒直至 pH 呈碱性。萃取, 干燥, 蒸发, 获得了 1.0 g 油状物。GC/MS (100-10℃/分钟-320) 表明有 4 种异构体: Rt=11.39 分钟: M⁺ 在 m/e=276 (小), 基峰在 m/e=247 (M-29)。其它产物具有相同 MS, 但是 GC 保留时间 Rt 分别为 12.04、12.53 和 12.59 分钟。最后 2 个流出峰占主要地位。

将含有 4 种硝基异构体的油状粗产物溶于甲醇 (约 50 mL), 加入 NH₄HCOO (2 当量 >>> 2 × 5 × 66.06 = 660 mg; 取 1.0 g) 和 10% Pd/C; 约 100 mg)。将该混合物在室温搅拌过夜。在室温过夜后没有发生任何还原, 但是回流约 3 小时后, 这些硝基异构体已经转化成胺异构体。GC/MS (100-10℃/分钟-320) 表明有 4 种异构体: Rt=10.26 分钟: M⁺

在 $m/e=246$ (小), 基峰在 $m/e=146$ (M-100)。观察到另一显著峰在 $m/e=217$ (M-29)。其它产物具有相同 MS, 但是 GC 保留时间 R_t 分别为 10.42 和 11.02 分钟。

乙酰化 (Ac_2O 和吡啶) 后给出了下述 GC/MS 保留时间: R_t 分别为 13.16、14.00 和 14.38。GC/MS (100-10 $^{\circ}C$ /分钟-320) 表明有 3 种 (或者可能是 4 种, 如果其中一个峰有重叠) 具有类似光谱的异构体: M' 在 $m/e=288$ (小), 基峰在 $m/e=259$ (M-29)。观察到其它显著峰在 $m/e=146$ 和 188。

将两种或两种以上 NH_2 -DPAT 异构体 (对于 GC (100-10 $^{\circ}C$ /分钟-280), 一个主峰在 $R_t=12.48$ 分钟; 样品上的 2-4 个主峰已经被乙酰化: $R_t=14.98$ 分钟 (14%), $R_t=15.86$ 分钟 (30%) 和 $R_t=16.57$ 分钟 (51%)) 的混合物 (660 mg; $M_w=246. >>> 2.68$ mmol) 溶于 $HOAc$ (10 mL), 加入 $KSCN$ ($M_w=97.18$; $2 \times 2.68 \times 97.18 = 521$ mg)。在室温用 15 分钟向该混合物中加入 Br_2 ($1 \times 2.68 \times 160 / 3.11 = 138$ μL , 在 2 mL $HOAc$ 中)。

该反应进行得很好, 2 小时后, 加入水和 $NaOH$ (S) 以将反应碱化, 用 $EtOAc$ 萃取该混合物, 然后用二氯甲烷萃取。合并有机层, 干燥并过滤, 将溶剂减压蒸发, 获得了油状物 (约 0.97 g)。

GC/MS (100-10 $^{\circ}C$ /分钟-320) 表明有 4 种异构体 (或者如果一个或多个峰中有重叠的话, 也许有更多 (最多 6 种)), 除了一个以外其它都具有类似光谱: $R_t=15.45$ 分钟, M' 在 $m/e=303$ (小), 基峰在 $m/e=72$ 。其它显著峰在 $m/e=274$ (M-29) 和 176 (M-100)。该光谱在色谱图方面与其它峰有几分差异: $R_t=16.27$ 分钟, M' 在 $m/e=303$ (小), 基峰在 $m/e=203$ (M-100)。另一显著峰在 $m/e=274$ (M-29)。在 GC/MS 色谱图中具有该质谱的其它峰在 $R_t=16.40$ 分钟和 $R_t=16.50$ 分钟。

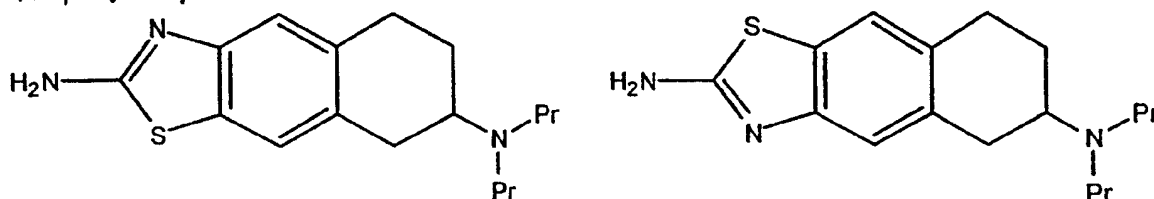
用二氧化硅 (约 100 g, 用二氯甲烷洗脱, 二氯甲烷: 甲醇的比例依次为 20:1、10:1 和 5:1) 通过色谱法纯化粗产物 (油状物)。馏分体积约为 10 mL, 溶剂快速通过该柱。

合并 Fr 14-18 并蒸发: 19 mg; 没有 NMR; GC/MS 表明除了原料 DPAT 以外没有任何值得关注的峰。

合并 Fr 19-24 并蒸发: 17 mg; 没有 NMR; GC/MS 表明除了原料 DPAT 以外没有任何值得关注的峰。

合并 Fr 25-28 并蒸发: 20 mg; NMR 表明在 $\delta=7.0$ ppm 有一个单峰。另一个单峰 ($\delta=7.2$ ppm) 是 CHCl_3 。这值得注意, 因为这些收集馏分的 GC/MS 光谱显现出溴化产物的大峰 ($m/e=388$)。

合并 Fr 37-46 并蒸发: 80 mg; NMR 表明起初可以解释为 AB 光谱, 但是该双峰不向右倾斜 (屋顶效应), 下述其它馏分也会出现这种情况。因此进行二维实验 (500 MHz 机器)。该实验表明质子间有偶合 (因此双峰在 $\delta=7.2$ 和 7.0 处; $J=8$ Hz)。然而, 该光谱在 $\delta=7.28$ 和 7.24 处还包含 2 个单峰 (其强度是推定双峰的 10-20%)。这表明在合并馏分 37-46 中的化合物混合物可能含有下述两个要求保护的产物中的一个:



通过仔细观察馏分 (37-46) 中的 GC/MS 峰 ($R_t=16.36$ 分钟) 发现, 该峰是裂开的。TLC (使用二氧化硅的 TLC, 用二氯甲烷: 甲醇 5:1 洗脱, 施加浓溶液) 也表明有 2 个点。从这两种技术获得的结果可支持上述两种 “直环 (straight ring)” 异构体的混合物。

将 Fr 43 选出 (9 mg), 并分别进行 GC/MS 和 NMR (300 MHz)。GC/MS 表明 $R_t=16.43$ 分钟, M^+ 在 $m/e=303$, 基峰在 $m/e=203$ 。另一个显著峰在 $m/e=294$ ($M-29$)。该 GC/MS 峰没有裂开, 因此 Fr 43 可能含有上述两种 “直环” 异构体中的一种。

取出 Fr 37-46 (10mg) 并溶于 23 mg HOAc, 用水稀释至总体积为 1.2 mL。以 10 mg/kg 的剂量给一只大鼠在颈部区域皮下注射, 约 5 分钟后该大鼠表现出了 5-HT 行为综合症。下唇缩进也非常突出, 并持续了约 4 小时。因此, Fr 37-46 中的异构体混合物含有一种或几种药理活性化合物, 可能是上述 “直环” 异构体中的一种或两种。

合并 Fr 47-55 并蒸发: 141 mg; GC/MS 表明主峰在 $R_t=16.30$ 分

钟, M^+ 在 $m/e=303$, 基峰在 $m/e=203$ 。另一显著峰是 $m/e=274$ ($M-29$)。NMR 表明在 AB 光谱中有明显偶合 (O-质子; $\delta=7.06$ (d, $J=8$ Hz) 和 $\delta=6.86$ (d, $J=8$ Hz))。

合并 Fr 62-66 并蒸发: 51 mg; 没有进行 GC/MS; NMR 表明在 AB 光谱中有明显偶合 (O-质子; $\delta=7.06$ (d, $J=8$ Hz) 和 $\delta=6.92$ (d, $J=8$ Hz))。

备注: 为了使上述“多目标合成”的效率更高, 对于一种或几种产物(异构)混合物 NO₂-DPAT、NH₂-DPAT 或 2-氨基噻唑-DPAT 应当使用半制备和/或制备 HPLC。可以以正相或反相方式进行。

获得上述“直环”异构体的另一方法是, 使用已知的 6-氨基-2-(N,N-二丙基氨基)四氢化萘 (CAS RN 83343-17-3) 和已知的 7-氨基-2-(N,N-二丙基氨基)四氢化萘 (对于 R-对映体、(-)-对映体、(+)-对映体和外消旋混合物分别使用 CAS RNs 200350-40-9, 129462-30-2, 129462-29-9 和 83343-37-7) 作为原料, 按照上述方法和在该实验部分中其它地方 (例如见下文中化合物 22 的合成) 所述方法, 在 HOAc 中与 KSCN 和 Br₂ 进行反应。

实施例 3

合成 6-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茚 (22) 的对映体 (方案 2)

5-硝基-2-(N- α -甲基苄基)氨基茚 (13)

将 5-硝基二氢茚-2-酮 (CAS RN [116530-60-0]; 12)、(S)-(-)- α -甲基苄基胺和催化量的对甲苯磺酸溶于甲苯中, 在氮气气氛下于迪安-斯达克榻条件下回流。5 小时后, 在减压条件下除去挥发性物质, 获得了产物。

5-氨基-2-(N- α -甲基苄基)氨基二氢化茚 (14)

将 5-硝基-2-(N- α -甲基苄基)氨基茚 (13) 溶于甲醇, 加入 10% Pd/C (在氮气下)。将该反应混合物置于帕尔 (Parr) 装置中, 在 1.0 atm 的氢气压力下振摇不到 1 小时。经硅藻土过滤除去 Pd/C, 将溶剂减压蒸发, 获得了产物。

5-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基)氨基二氢化茛(15)

将 5-氨基-2-(N- α -甲基苄基)氨基二氢化茛(14) 溶于冰醋酸中, 加入邻苯二甲酸酐。将该反应混合物回流 30 分钟, 然后冷却。过滤出沉淀产物。

5-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(16)

将 5-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基)氨基二氢化茛(15)溶于二氯甲烷, 冷却至 0℃, 并加入三乙胺。经 30 分钟滴加丙酰氯在二氯甲烷中的溶液。加入完成后, 将该反应混合物搅拌 30 分钟。用水将该混合物洗涤, 然后用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥。用二氧化硅柱色谱法和/或采用例如正相 Chromasil (10 μ m, EKA Chemicals, Bohus, Sweden)的制备 HPLC 分离该非对映异构体。

5-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(17)

将 5-邻苯二甲酰亚氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(16) 溶于无水乙醇, 然后加入水合肼。将该反应混合物在室温搅拌 0.5 小时, 然后将挥发性物质减压除去。将残余物在氯仿中回流 0.5 小时, 冷却至室温, 过滤以除去固体苯二甲酰亚氨基肼。将滤液减压浓缩, 获得了产物。

6-氨基-2-((N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(18)

将 5-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(17)和硫氰酸钾溶于冰醋酸中。用 15 分钟滴加溴在冰醋酸中的溶液。加入完成后, 将该反应混合物搅拌 1.5 小时, 然后用 10% NaOH 碱化, 并用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 用盐水洗涤一次, 用硫酸镁干燥, 并减压浓缩。如果在化合物 16 的阶段未分离, 则用二氧化硅柱色谱法和/或采用例如正相 Chromasil (10 μ m, EKA Chemicals, Bohus, Sweden)的制备 HPLC 分离该非对映异构体。

6-氨基-2-((N- α -甲基苄基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(19)

将 LiAlH_4 悬浮在无水乙醚中，将该悬浮液在冰上冷却。滴加 6-氨基-2-(N- α -甲基苄基-N-丙酰基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(18)在无水乙醚中的溶液。加入完成后，将该混合物在冰冷却下搅拌 1 小时，然后在室温搅拌 1 小时，之后加热回流 2 小时。冷却至室温后，通过小心地加入水、4N NaOH 和水（加入顺序如此）来中止反应。将该混合物加热回流直至所有沉淀物变成白色（10 分钟），冷却至室温，经硅藻土过滤。用硫酸钠将滤液干燥，并减压浓缩。

6-氨基-2-(N-正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(20)

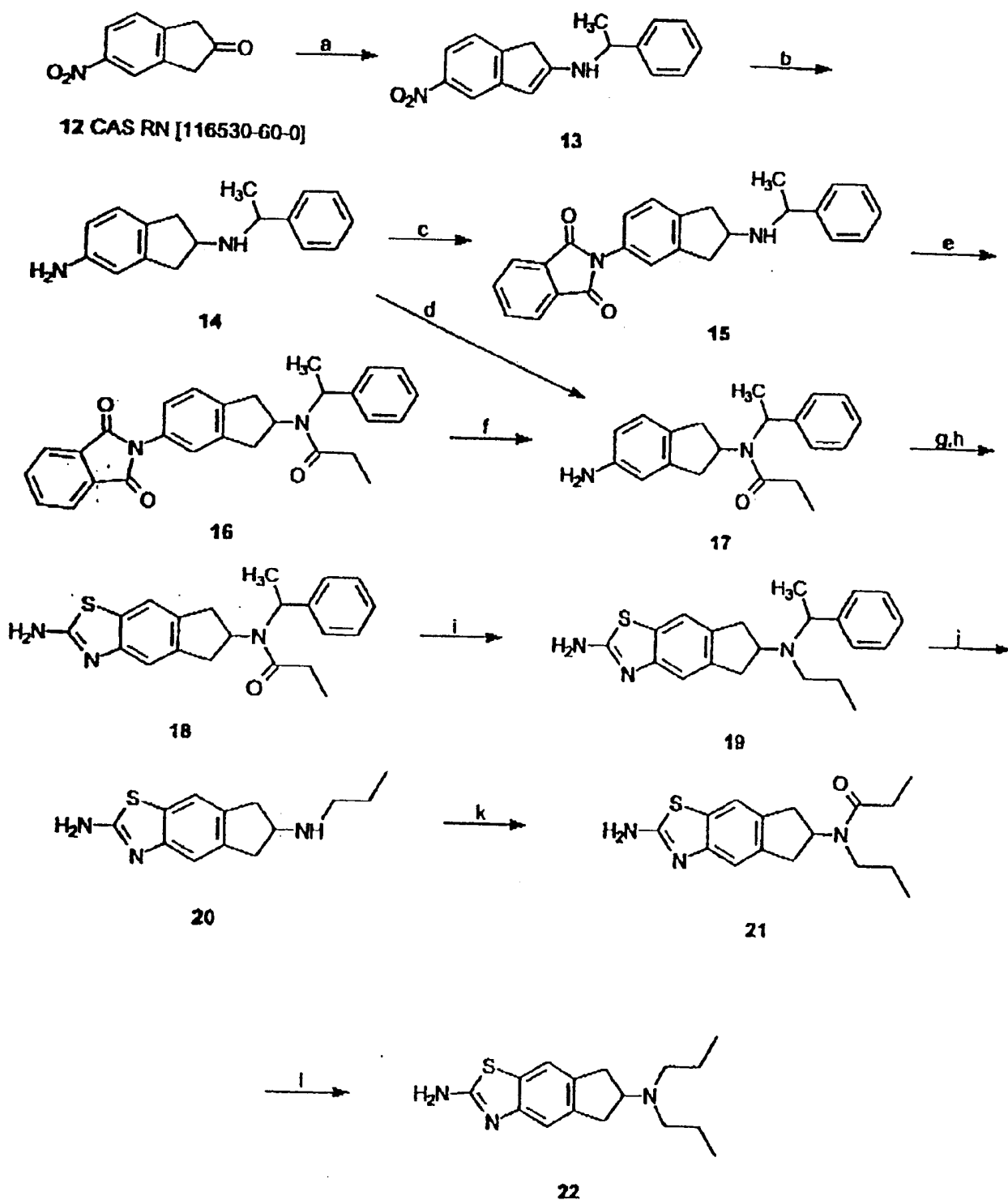
将 6-氨基-2-((N- α -甲基苄基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(19)和甲酸铵溶于甲醇，加入 10% Pd/C（在 N_2 下）。将该反应混合物在 50℃ 加热 1 小时。经硅藻土滤除 Pd/C，将溶剂减压蒸发。把残余物再溶于乙腈中，通过过滤除去固体，将溶剂蒸发，获得了产物。6-氨基-2-(N-丙酰基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(21)

按照将 15 转化成 16 所采用的方法，将 6-氨基-2-(N-正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(20)转化成 21。

6-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(22)

将 6-氨基-2-((N-丙酰基-N-正丙基)氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茛(21)溶于无水乙醚，用 1 小时滴加 BH_3 （在 THF 中的溶液）。加入完成后，将该反应混合物加热回流 1 小时。将该混合物冷却至室温，小心地加入水。然后加入 10% HCl，将所有挥发性溶剂减压蒸发。用 10% NaOH 将剩余水溶液碱化，用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用硫酸钠干燥，并减压浓缩。

方案 2



试剂: (a) α -甲基苄基胺, cat. p-TosOH, 甲苯, Δ ; (b) H_2 , Pd/C 10%, MeOH; (c) 邻苯二甲酸酐, HOAc, Δ ; (d) 丙酰氯, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (e) 丙酰氯, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (f) $H_2NNH_2 \cdot H_2O$, EtOH, Δ ; (g) KSCN, Br_2 , HOAc, 室温; (h) 分离非对映异构体和可能的区域异构体; (i) $LiAlH_4$, Et_2O , 室温; (j) HCO_2NH_4 , Pd/C 10%, MeOH, Δ ; (k) 丙酰氯, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (l) 在 THF 中的 BH_3 , Et_2O , Δ .

实施例 4

合成外消旋的 6-氨基-2-N-正丙基氨基噻唑并[4,5-f]二氢化茚 (20) (方案 3)

2-丙酰胺基二氢化茚 (24)

将 2-氨基二氢化茚盐酸盐 23 (2.0 g, 11.8 mmol) 和碳酸氢钠 (2.8 g, 32.8 mmol) 溶于 36 mL 水与 80 mL 乙酸乙酯的良好搅拌的双层体系中。将该混合物冷却至 $0^\circ C$, 用 30 分钟滴加丙酰氯 (1.1 mL, 12 mmol) 在 25 mL 乙酸乙酯中的溶液。加入完成后, 将该混合物再搅拌 30 分钟。将水层和有机层分离, 将水层用乙酸乙酯萃取两次。合并有机层, 用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 并减压浓缩, 获得了 21, 为白色固体结晶 (1.52 g, 67%)。

mp $116-118^\circ C$; ^1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) 1.13 (t, J = 7.6, 3H), 2.15 (q, J = 7.6, 2H), 2.78 (dd, J₁ = 16.2, J₂ = 4.3, 2H), 3.31 (dd, J₁ = 16.2, J₂ = 7.0, 2H), 4.71-4.80 (m, 1H), 5.87 (br s, 1H), 7.15-7.32 (m, 4H); ^{13}C NMR 9.5, 29.5, 40.0 (2C), 50.2, 124.7 (2C), 126.6 (2C), 140.8 (2C), 173.6; MS (EI/PI) m/e 189 (M⁺). $C_{12}H_{15}NO \cdot H_2O$: C: 74.42 (74.70), H: 8.01 (7.85), N: 7.24 (7.28).

5-氨基-2-丙酰胺基二氢化茚 (25)

将酰胺 24 (1.0 g, 5.5 mmol) 溶于硝基甲烷 (18 mL), 并在冰上冷却。用 30 分钟滴加由 0.74 mL 浓硝酸、1.6 mL 水和 10 mL 浓硫酸组成的硝化混合物。加入完成后, 将该反应混合物搅拌 1 小时, 同时缓慢地温热至室温。用冰中止该反应, 用乙酸乙酯萃取该反应混合物。合并有机层, 用盐水洗涤一次, 用硫酸镁干燥, 并减压浓缩, 获得了黄色固体 (1.2 g, 95%), 该黄色固体主要由 5-硝基-2-丙酰胺

基二氢化茛（82%，依据 GC 测定）组成。

将该硝基化合物（1.2 g, 含有 4.3 mmol 5-硝基-2-丙酰胺基二氢化茛）和甲酸铵（1.4 g, 22.2 mmol）溶于 55 mL 甲醇中。（在氮气氛下）将该混合物用 10% Pd/C（0.56 g）处理，然后在 50℃ 搅拌 45 分钟。冷却至室温后，经硅藻土滤除 Pd/C，将甲醇减压蒸发。用二氧化硅通过 MPLC 纯化残余的粉红色固体（开始用 100% 己烷洗脱，最后用 100% 乙酸乙酯洗脱），获得了 22，为白色固体（0.67 g, 76%）。

mp 127-128°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) 1.08 (t, $J = 7.7$, 3H), 2.10 (q, $J = 7.6$, 2H), 2.62 (dt, $J_1 = 16.1$, $J_2 = 4.2$, 2H), 3.14 (dd, $J_1 = 16.2$, $J_2 = 7.1$, 2H), 3.61 (s, 2H), 4.59-4.67 (m, 1H), 6.12 (d, $J = 7.3$, 1H), 6.45-6.51 (m, 2H), 6.94 (d, $J = 7.8$, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ 9.6, 29.4, 38.9, 40.0, 50.5, 111.5, 113.7, 125.1, 130.5, 142.2, 145.4, 173.6; MS (EIPI) m/e 204 (M^+). 元素分析计算值(实测值) $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2$: C: 70.59 (70.37), H: 7.84 (7.82), N: 13.73 (13.67).

5-氨基-2-N-正丙基氨基二氢化茛 (26)

将酰胺 25（0.62 g, 3.0 mmol）溶于 8 mL 无水乙醚，用 1 小时滴加 BH_3 （16 mL 1 M 的 THF 溶液）。加入完成后，将该反应混合物加热回流 1 小时。将该混合物冷却至室温，小心地加入 1.6 mL 水。然后加入 3.2 mL 10% HCl，将所有挥发性溶剂减压蒸发。用 10% NaOH 将剩余水溶液碱化，并用乙酸乙酯萃取（2 20 mL）。合并有机层，用硫酸钠干燥，并减压浓缩。获得了 23，为澄清油状物（0.52 g, 90%）。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) 0.92 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.43-1.61 (m, 2H), 2.58-2.71 (m, 4H), 3.00-3.11 (m, 2H), 3.52-3.65 (m, 3H), 6.49 (d, $J = 7.8$, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.96 (d, $J = 7.8$, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ 11.6, 23.2, 38.9, 39.9, 50.0, 59.8, 111.5, 113.4, 125.0, 131.6, 142.9, 145.0; MS (EIPI) m/e 190 (M^+).

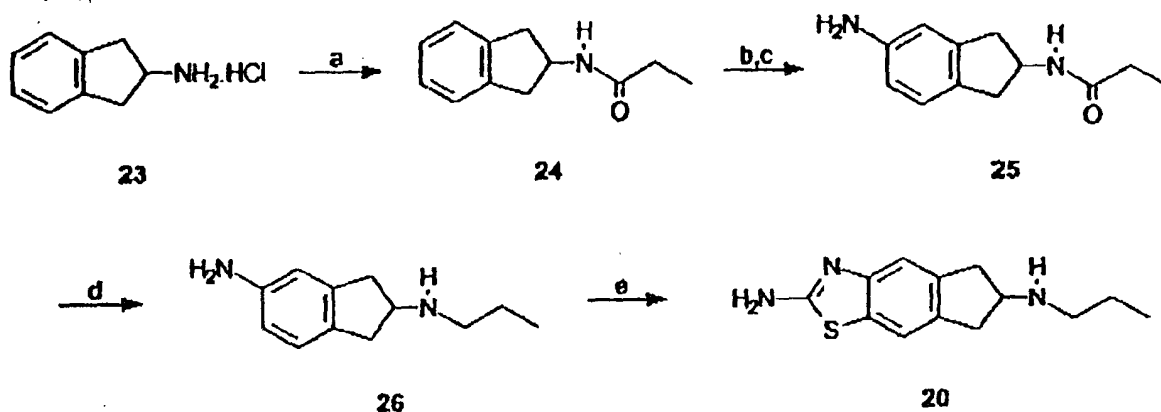
将部分产物转化成二盐酸盐，并用乙醇重结晶，获得了白色结晶。熔点：238-242°C。 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$ 的元素分析计算值(实测值): C: 54.96 (54.59), H: 7.63 (7.66), N: 10.69 (10.46)。

6-氨基-2-N-正丙基氨基噻唑并[4,5-f]二氢化茛 (20)

按照将 17 转化成 18 所采用的方法，将化合物 26（0.48 g, 2.5 mmol）转化成 20（0.29 g, 46%）。将该产物转化成二盐酸盐，并用甲醇/乙醇重结晶，获得了白色固体。

mp 285-290°C; $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 200 MHz) 0.81 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.48-1.60 (m, 2H), 2.92 (t, $J = 7.7$, 2H), 2.96-3.08 (m, 2H), 3.26-3.38 (m, 2H), 3.95-4.08 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.40 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ 9.9, 19.1, 34.9, 35.2, 47.5, 57.9, 109.7, 118.3, 121.9, 136.1, 136.2, 139.5, 169.2; IR (KBr, cm^{-1}) 2967, 2805, 2658, 1651, 1459; MS (EIPI) m/e 247 (M^+). 元素分析计算值(实测值) $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S} \cdot 2\text{HCl} \cdot ?\text{H}_2\text{O}$: C: 47.37 (47.78), H: 6.07 (6.07), N: 12.75 (12.88).

方案 3



试剂: (a) 丙酰氯, NaHCO_3 , H_2O , EtOAc ; (b) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$, MeNO_2 , 0°C ; (c) NH_4CO_2 , Pd/C 10%, MeOH , 50°C ; (d) 在 THF 中的 BH_3 , Et_2O , 室温 $\rightarrow$ 回流; (e) KSCN , Br_2 , AcOH .

实施例 5

合成外消旋的 6-氨基-2-(N,N -二正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茚(22)和 5-氨基-2-(N,N -二正丙基氨基)噻唑并[5,4-e]二氢化茚(31; 该化合物不是本发明化合物)(方案 4)

2-N-正丙基氨基二氢化茚(27)

按照还原 25 的方法, 将 2-丙酰胺基二氢化茚(24, 0.83 g, 4.4 mmol)转化成 28(0.75 g, 98%)。将少量该产物转化成盐酸盐, 并用 2-丙醇重结晶, 获得了白色结晶。

mp $191-192^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) 1.04 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.70-1.82 (m, 2H), 3.01-3.20 (m, 4H), 3.29-3.48 (m, 2H), 4.00-4.11 (m,

1H), 7.18-7.30 (m, 4H); ^{13}C NMR 9.7, 19.3, 35.5 (2C), 47.6, 58.0, 124.2 (2C), 127.0 (2C), 138.6 (2C). HRMS 计算值(实测值) $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}$ 175.1361 (175.1364).

2-(N-正丙基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(28)

按照将 23 转化成 24 所采用的方法, 将化合物 27 (0.75 g, 4.3 mmol) 转化成 28。用二氧化硅通过 MPLC 纯化该产物(开始用 100% 己烷洗脱, 最后用己烷:乙酸乙酯 = 1:1 洗脱), 获得了 28, 为澄清油状物 (0.73 g, 74%)。

^1H -NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 0.83 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.16 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.49-1.63 (m, 2H), 2.35-2.46 (m, 2H), 3.03-3.22 (m, 6H), 4.65-4.83 (m, ?H), 5.08-5.25 (m, ?H), 7.16-7.19 (m, 4H). HRMS 计算值(实测值) $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}$ 231.1623 (231.1614).

5-氨基-2-(N-正丙基-N-丙酰基)氨基二氢化茛(29)

将化合物 28 (0.70 g, 3.0 mmol) 转化成 5-硝基-2-(N-正丙基-N-丙酰基)氨基二氢化茛, 然后按照将 24 转化成 25 所采用的方法, 将其还原成 29。用二氧化硅通过 MPLC 纯化该产物(开始用 100% 己烷洗脱, 最后用己烷:乙酸乙酯 = 1:1 洗脱), 获得了 29, 为浅黄色油状物 (0.49 g, 66%)。

^1H -NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 0.83 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.15 (t, $J = 7.3$, 3H), 1.48-1.65 (m, 2H), 2.32-2.43 (m, 2H), 2.93-3.01 (m, 4H), 3.05-3.21 (m, 2H), 3.61 (br s, 2H), 4.60-4.77 (m, ?H), 5.10-5.28 (m, ?H), 6.50 (d, $J = 7.6$, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.96 (d, $J = 7.6$, 1H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 200 MHz) 8.6, 10.0, 22.4, 26.3, 35.9, 36.0, 43.9, 57.1, 111.4, 114.3, 124.2, 130.4, 141.5, 145.4, 175.0. HRMS 计算值(实测值) $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ 246.1732 (246.1720).

5-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)二氢化茛(30)

按照将 25 还原成 26 所采用的方法, 将化合物 29 (0.43 g, 1.8 mmol) 转化成 30 (0.39 g, 96%)。

^1H -NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 0.88 (t, $J = 7.3$, 6H), 1.42-1.57 (m, 4H), 2.47-2.55 (m, 4H), 2.77-3.00 (m, 4H), 3.55-3.67 (m, 1H), 6.49 (d, $J = 7.8$, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.95 (d, $J =$

7.8, 1H); ^{13}C NMR 11.7 (2C), 19.7 (2C), 35.4, 36.5, 53.2 (2C), 63.3, 111.3, 113.4, 124.8, 131.8, 142.9, 144.9. HRMS 计算值(实测值) $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2$ 232.1939 (232.1936).

6-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-f]二氢化茚(22)和 5-氨基-2-(N,N-二正丙基氨基)噻唑并[4,5-e]二氢化茚(31)

按照将 7 转化成 8 所采用的方法, 将化合物 30(0.35 g, 1.5 mmol) 转化成 22 和 31 的混合物。用二氧化硅通过 MPLC 将产物分离(开始用己烷:乙酸乙酯=1:1 洗脱, 最后用乙酸乙酯:乙醇=1:1 洗脱), 获得了 22, 为浅黄色固体(0.18 g, 41%), 和 31, 为浅黄色固体(0.11 g, 25%)。

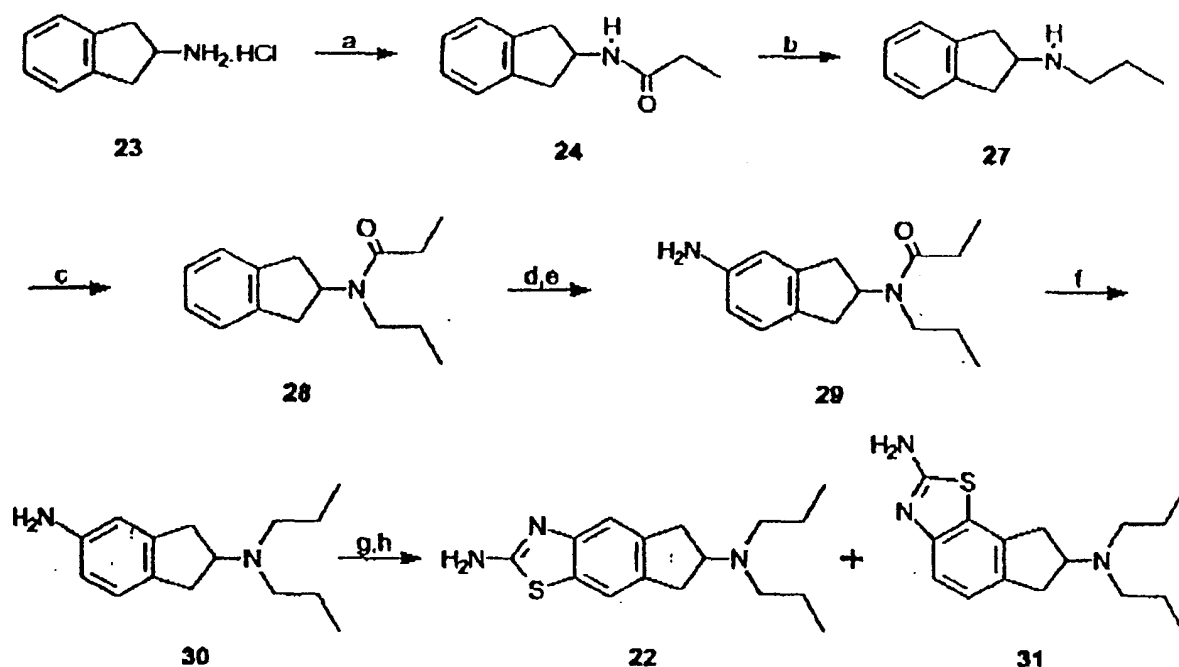
22: ^1H -NMR (CD_3OD , 200 MHz) 0.94 (t, $J=7.3$, 6H), 1.57-1.66 (m, 4H), 2.70-2.78 (m, 4H), 2.92-3.25 (m, 4H), 3.65-3.88 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.37 (s, 1H); ^{13}C NMR 10.3 (2C), 17.8 (2C), 35.1, 35.4, 52.5 (2C), 63.3, 113.1, 116.0, 129.1, 134.0, 138.4, 150.8, 168.2; IR (KBr, cm^{-1}) 2967, 2632, 1638; MS (EIPI) m/e 289 (M^+).

将该化合物转化成二盐酸盐, 并用 100% 乙醇重结晶, 获得了灰白色固体, 熔点: 273-275 $^{\circ}\text{C}$ (分解)。元素分析计算值(实测值) $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{S}\cdot 2\text{HCl}\cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C: 51.89 (52.02), H: 6.49 (6.82), N: 11.35 (11.28)。

31: ^1H -NMR (CD_3OD , 200 MHz) 0.89 (t, $J=7.3$, 6H), 1.46-1.57 (m, 4H), 2.49-2.57 (m, 4H), 2.72-3.18 (m, 4H), 3.52-3.78 (m, 1H), 7.06 (d, $J=8.1$, 1H), 7.18 (d, $J=8.1$, 1H); ^{13}C NMR 10.6 (2C), 18.7 (2C), 35.6, 35.8, 52.6 (2C), 62.9, 115.7, 121.4, 126.0, 133.4, 134.7, 150.8, 167.5; IR (KBr, cm^{-1}) 2966, 2717, 2633, 1637, 1458; MS (EIPI) m/e 289 (M^+).

将该化合物转化成二盐酸盐, 并用 100% 乙醇重结晶, 获得了灰白色固体, 熔点: 233-237 $^{\circ}\text{C}$ (分解)。 $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{S}$ 的 HRMS 计算值(实测值): 289.1613 (289.1619)。

方案 4



试剂: (a) 丙酰氯, NaHCO_3 , H_2O , EtOAc ; (b) 在 THF 中的 BH_3 , Et_2O , 室温 $\rightarrow$ 回流; (c) 丙酰氯, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (d) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$, MeNO_2 , 0°C ; (e) NH_4CO_2 , Pd/C 10%, MeOH , 50°C ; (f) 在 THF 中的 BH_3 , Et_2O , 室温 $\rightarrow$ 回流; (g) KSCN , Br_2 , AcOH ; (h) 用二氧化硅柱色谱法分离异构体。

药理学特征

可通过一种或几种下述方法确定本发明化合物的药理特征。这些方法的组合可用于评价本发明化合物的亲和力与内在效力。下述方法只是举例说明, 并不是限制本发明的药理范围。

DA 受体结合

可在例如在中国仓鼠卵巢(CHO) K-1 细胞中表达的人多巴胺(DA) D2L、D3 或 D4.2 受体的常规体外结合测试模型中测试本发明化合物。在拮抗剂结合实验中, 通过测定本发明化合物从 D2L、D3 或 D4.2 受体中置换 $[3\text{H}]$ -螺哌隆的能力来确定其亲和力。在激动剂结合实验中, 使用 $[3\text{H}]$ -N-0437(5-羟基-2-(N-正丙基-N-(2-噻吩基乙基)氨基)

四氢化萘)或[3H]-NPA(N-丙基去甲阿扑吗啡)作为放射性配体来测定对于 D2L DA 受体的亲和力。用[3H]-NPA 获得的亲和力数据与用[3H]-N-0437 获得的亲和力数据相当。

内在活性(体外方法)

可用至少两种不同的体外功能测试来确定本发明化合物的内在效力: i)促有丝分裂测试(Lajiness 等人, JPET, 1993, 267, 1573-1581, Chio 等人, 分子药理学(Mol. Pharmacol.) 1994, 45, 51-60)。在用人 DA D2 或 D3 受体转染的 CHO-L6 细胞中测定[3H]-胸腺嘧啶脱氧核苷摄取, ii)c-AMP 法(Pugsley 等人, JPET, 1995, 274, 898-911)。在 6-OH-DA 损伤大鼠中的对侧转动

可在用 6-OH-DA 单侧损伤的大鼠中评价本发明化合物(Ungerstedt 和 Arbuthnott, 脑研究(Brain Res.) 1970, 24, 485-493)。在该模型中,通过脑内注射神经毒素 6-OH-DA 将黑质纹状体 DA 系统一侧(左侧或右侧)的 DA 神经元选择性地完全变性。这使突触后的过敏性在受损侧逐步出现。通过系统给予 DA 激动剂,大鼠开始对侧转动,即转向未损伤一侧。这种激起的转动行为是化合物 DA(D1 和/或 D2)激动剂特性的测定手段。

在大鼠纹状体中微透析

使用重 280-320 g 的雄性 Wistar 大鼠(得自 Harlan, Zeist, The Netherlands),如运动活性实验所述将其饲养。基本上如上所述(Westerink, 分析化学趋势(Trends in Anal.Chem.) 1992, 11, 176-182)在自由运动的动物中进行联机脑微透析。简言之,局部施用 choral 水合物(400 mg/kg ip.)及 10%利多卡因将大鼠麻醉。然后将大鼠固定在立体定位支架(kopf)上。放置门齿杆,以使脑壳保持水平位置。将脑壳暴露,并钻孔。在该实验中使用 Y 形插管,露出 3 mm 长端部。透析管(ID: 0.22 mm; OD: 0.31 mm)是用聚丙烯腈甲代烯丙基磺酸酯共聚物制得的(AN 69, Hospal, Bologna, 意大利)。将透析膜植入到纹状体内,其坐标是依据 Paxinos 和 Watson (1982)的脑图谱相对于前囟点计算的: A+1, L3, D6。用尖针头取出硬膜。将两个

锚螺钉放置在近旁的不同骨板上。在插入脑中之前，依次用超纯水、甲醇、超纯水和林格溶液（1.2 mM Ca^{2+} ）灌注透析探针。在立体定位引导下，将透析探针放置在钻孔中。用磷酸盐（phosphatine）牙科用粘固粉（辅助（associated）牙用产品 LTD, Kemdent Works, Purdon, Swinden, Wiltshire SN 59HT）将探针粘固在该位置上。

植入插管 17–56 小时后，在清醒的大鼠中进行实验。用林格溶液（147 mM NaCl, 4 mM KCl, 1.2 mM CaCl_2 , 1.1 mM MgCl_2 ）以 2 升/分钟的速度（CMA/102 微透析泵）灌注纹状体。实验后，将大鼠处死，并取出脑。把脑取出后，将其保存在 4% 仲甲醛溶液中，直至将其切片以控制透析探针的定位。

采用电化学检测法，通过 HPLC 定量测定多巴胺、DOPAC 和 5-HIAA。使用 HPLC 泵（LKB, Pharmacia）与对 Ag/AgCl 参比电极在 625 mV 工作的 EC-检测器（Antec, Leiden）联接。分析柱是 Supelco Supelcosil LC-18 柱（15 cm, 4.6 mm, 3 μm ）。流动相由 4.1 克/升乙酸钠（Merck）、85 毫克/升辛磺酸（Aldrich）、50 毫克/升 EDTA（Merck）、8.5% 甲醇（Labscan）和超纯水的混合物组成（用冰醋酸将 pH 调节至 4.1）。统计学：用序列的 Friedman 重复测量方差分析（Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks）通过 post-hoc 测试 Dunnetts 法分析微透析数据。

用微透析法评定 22 在体内对大鼠纹状体中 DA 周转的作用。

抑制大鼠中 D-苯丙胺诱导的运动过度

基本上按 Arnt, J. 欧洲药理学杂志（Eur. J. Pharmacol.）1995, 283, 55–62 所述进行运动过度测试。使用重 200–250 g 的雄性 Wistar 大鼠（得自 Harlan, Zeist, The Netherlands）。在实验前将大鼠成组饲养，使其能任意摄取食物和水，在早晨 7.00 开始光照，在下午 19.00 关灯。用 AUTOMEX II 活性监测器（Columbus Instruments, Columbus, Ohio, USA）测定运动活性。以 1 mL/kg 的体积皮下给予实验药物，15 分钟后，给予 0.5 mg/kg 或 2 mg/kg D-苯丙胺（Sigma, St. Louis, MO, USA）。将药物溶于盐水中。给予 0.5 mg/kg D-苯丙

胺后，将大鼠置于固定在活性监测器上的有机玻璃笼子中，等待 5 分钟后开始测定。以 15 分钟的间隔记录 60 分钟活性。

抑制 D-苯丙胺诱导的运动过度 (acc. 计数/h±SEM) ; n=4		
22 (10 μmol/kg sc.) + D-AMPH 0.5 mg/kg	570 ± 230	(是 contr. 的 18%)
盐水 + D-AMPH 0.5 mg/kg	3180 ± 850	

在单侧损伤的猴中的对侧转动

动物

在本实验中使用分别重 270 - 450 克的 6 只普通猴 (Callitrix Jacchus, 3 只雌性, 3 只雄性)。将动物成对培养, 都在温度控制 (25±1℃) 与湿度 (50% 相对湿度) 控制的环境中饲养, 并采用 12 小时昼夜周期 (从早晨 6 点到下午 6 点给予光照)。在早晨让猴接受强化乳溶液和面包, 下午接受新鲜水果。猴子能随时自由地摄取水。

该实验得到了动物伦理学委员会 (Animal Ethics Committee), Uppsala 大学的批准。

6-OHDA 损伤

在 80 mg/kg 氯胺酮 (Ketalar®, 50 mg/ml, Parke-Davis) 和 4.5 mg/kg 赛拉嗪 (Rompur® vet. 20 mg/ml Bayer AG) 麻醉下, 将动物置于 Kopf 立体定位装置中。在麻醉诱导前, 将动物用去甲丙咪嗪 (25 mg/kg i.m.) 预处理。在手术期间维持无菌条件。用抗坏血酸 (Research Biochemicals Inc., Natick, MA) 将 6-OHDA HBr 溶于盐水至浓度为 4 mg/ml, 并依据 Annet 等人报道的方法 (1992) 大脑内注射到黑质纹状体束的 5 个位点内。依据 Stephan 等人的神经图谱 (1980) 的脑坐标如下: 前-后 (AP)+6.5, 内侧-外侧 (ML)-1.2, 背侧-腹侧 (DV)+7.0, DV+6.0, ML-2.2, DV+7.5, DV+6.5, ML-3.2, DV+7.5。将毒素注射到脑右侧, 除了最内侧位点注射 3 μl 以外, 其它所有位点都注射 2 μl。动物很快地从手术中恢复。

大脑内注射至少 16 个月后开始实验。开始实验前 2 周，测试动物对阿扑吗啡的反应。将盐酸阿扑吗啡（Apomorphini hydrochloridum 1/2 AQ, Apoteksbolaget）以 0.15 mg/ml 的浓度溶于无菌水。将动物单独置于具有不锈钢栅栏门（46.6 × 62 cm）的铝制观测笼子（46.5 × 46.5 × 62 cm）中，以 0.2 mg/kg 的剂量皮下（s.c.）注射阿扑吗啡后观测 60 分钟。在以后的测试中只使用对阿扑吗啡表现出对侧转动的动物。

药物

在实验前，猴子已用其它部分药物治疗过。但是在开始本实验前至少 1 个月，这些猴子不接受任何药物。在本实验中使用的所有药物溶液都是在实验当天配制的，每只猴子每周只进行一次实验。

多巴胺模拟剂：将盐酸阿扑吗啡（Apomorphini hydrochloridum 1/2 AQ, Apoteksbolaget）以 0.2 mg/kg 的浓度溶于灭菌水，在实验时皮下注射到颈部。

将化合物 22 以三种不同剂量皮下注射到每只猴子的颈部（0.3、1.0 和 3.0 mg/kg）。在实验当天用 0.9% 盐水配制化合物 22。将化合物 22 单独或与阿扑吗啡一起皮下注射到颈部。

行为评价（转动行为）

行动评价都在单独的观测笼子中进行。笼子大小为 62 × 46.5 × 46.5 cm，并且在前面有不锈钢栅栏。给予每种药物后，每分钟目测观察来计数同侧和对侧转动，观察 60 分钟。为了评分，仅计数全转。在给药和观测前，先让动物对笼子习惯 10 分钟。

统计分析

用重复测量的差异单边分析（ANOVA）分析数据。当所得 F 值涉及 $p < 0.05$ 时，用成对 t-检验比较各组。可接受的显著性水平是 $p < 0.05$ 。

表 1. 用或未用 0.2 mg/kg 阿扑吗啡预处理的、通过化合物 22 诱导的对侧转动。化合物 22 的剂量以 mg /kg 级非胃肠道给药。

猴 编 号	体 重 克	NaCl	22 (0.3)	22 (0.3)	22 (1.0)	22 (1.0)	22 (3.0)	22 (3.0)
		Apo	NaCl	Apo	NaCl	Apo	NaCl	Apo
4(D24)	460	218	0	157	0	0	0	0
50(Z9)	380	472	0	0	0	0	0	0
30(D14)	430	762	0	0	0	11	0	0
21(D21)	290	1114	0	1179	34	1825	0	1349
21(D21)	290	-	-	-	-	1242	-	-
61(F8)	340	1144	58	1494	223	1396	57	1805
35(F3)	256	1344	41	1194	92	815	15	909

在单侧损伤的猴中的同侧转动

可用合适剂量的(+)-苯丙胺将 6-OH-DA 损伤的猴预处理以诱导一定程度的同侧转动。本发明的一些化合物可影响该作用。未损伤一侧的完整 DA 神经元由于给予的(+)-苯丙胺剂量的刺激而释放 DA。释放的 DA 将到达这些神经系统的正常敏感性突触后 DA 受体，并诱导同侧转动行为，该同侧转动的强度可能比 DA 激动剂（例如全激动剂阿扑吗啡）诱导的对侧转动小，因为损伤一侧的 DA 受体比未损伤一侧的 DA 受体更敏感。采用手工评分来定量表示这种同侧转动行为。

用 MPTP 处理的 Rhesus 猴子：帕金森氏病模型

神经毒素 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)的发现 (Langston 等人, 科学 219, 979(1983)) 给帕金森氏病提供了动物模型。MPTP 在人和猴子中诱发的不可逆神经学综合征在其临床、病理、生化和药理特征方面基本上与自发性帕金森氏病相似 (Markey 等人, 自然 311, 464(1984))。这种相似性的原因是, MPTP 选择性地破坏脑黑质中的小组多巴胺能神经细胞, 而自然发生的帕金森氏病中的变性过程也破坏这些细胞。甚至有人认为, 自发性帕金森氏病的病因是在机体中形成了 MPTP 或类似化合物 (Snyder, S.H., 自然 311, 514(1984))。可能作为 MPTP 特殊代谢的结果, 迄今为止, 仅在猴子和人中证实了 MPTP-帕金森氏病图象的临床影响。因此, 在 Rhesus 猴子中建立起的该 MPTP 模型非常适于测定抗帕金森氏病药物的活性。某

些本发明化合物具有潜在的抗帕金森氏病作用。

用 MPTP 处理的猴：帕金森氏病模型

雄性普通猴代表另一这种模型 (Ekesbo 等人, 神经报告 (Neuroreport) 1997, 8, 2567-2570)。将雄性普通猴 (实验时体重为 350 - 385 g) 在普通笼子中饲养, 提供温度 ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) 和湿度 (50 % 相对湿度) 控制环境和 12:12 小时光照/黑暗周期 (在 06.00 - 18.00 小时提供光照)。猴子可以自由摄取水和新鲜橙汁, 每天给予一次粥和面包。所有动物用 MPTP $\times$ HCl 处理 5 天 (2.0 mg/kg/天 , 溶于 0.9 % 盐水中, s.c.), 每天注射 1 次。用 MPTP 连续处理 3 天后, 中断 2 天以使动物补充体液。MPTP 处理第 5 天后, 发生了伴有运动不能、运动过慢和僵硬的严重 PD-状综合征。通过包括下述项目的可见无能分级体系给运动功能障碍程度评分: 警觉性; 对刺激的反应; 运动控制; 注意力和眼睛运动; 姿势; 平衡性; 能动性; 发声和震颤。对于每只猴子, 在每天早晨进行无能等级评定。

用 MPTP 处理的猴: L-DOPA/卡比多巴诱导的运动障碍

最后一次注射 MPTP $\times$ HCl 后的那天, 开始给予左旋多巴/卡比多巴 ($15/7.5 \text{ mg/kg}$, 每天给药 2 次), 并持续于整个实验期间。左旋多巴溶液是在含有 5 % 葡萄糖的盐水中新制备的, 左旋多巴/卡比多巴浓度为 $1.6/0.8 \text{ mg/ml}$, 并且是 i.p. 给药。注射左旋多巴后, 在所有动物中在 5 - 10 分钟内观察到了帕金森特征的逆转。将姿势标准化后, 能动性和发声明显提高, 所有动物看上去都非常不安, 并且似乎被驱动着运动。攀爬是显著特征, 在笼子四壁垂直和水平攀爬, 并且在天花板上头朝下爬动, 并且经常伴有固定地拍击或接触笼子栅栏和四壁。

用左旋多巴处理 8 - 10 天后, 在测试动物中出现了峰值剂量运动障碍性运动, 并且在随后的日子里变得更加严重和普遍。给予左旋多巴后 2 周, 每一动物都表现出具有高度再现性的特异反应性运动障碍模式。诱导抗帕金森作用后不久这些运动障碍性运动就很明显, 并包括严重的手臂运动障碍、双向伸出、挥动和远侧颤动。偶尔看见后肢

舞蹈病和偏身舞蹈性颤搐。张力障碍性运动少见，但是当存在时，它是在左旋多巴给药前、期间和之后发生的。张力障碍通常以具有持续颈后倾的颈张力障碍形式出现。对于每一动物和每一测试药物以及给药剂量，通过现场目测观察以及随后用录像带观察来评价运动障碍和运动功能障碍的程度。用特别设计的运动障碍评分系统给运动障碍评分。

所有评定都由培训过的观察者进行。

测试潜在抗药物滥用作用的模型

最近，许多研究指出，基底前脑边缘系统内酒精与多巴胺传递的相互作用可能对于酒精需求增加特别重要。尤其是，电生理学实验指出，在大鼠中系统给予酒精选择性地刺激了突出到依状核腹部区(VTA)的含多巴胺细胞的活动(firing)(Pulvirenti L, Koob GF, 1994, 多巴胺激动剂、部分激动剂和精神刺激成瘾性, 药理学趋势(Trends Pharmacol. Sci.) 15, 374-379)。Bono等人已经发现，急性和慢性给予部分多巴胺激动剂都显著降低酒精摄取(Bono G, Balducci C, Richelmi P, Koob GF, Pulvirenti L, 1996, 多巴胺部分受体激动剂降低大鼠酒精摄取, 欧洲药理学杂志(Eur. J. Pharmacol) 296, 233-238)。已经有人提出多巴胺部分受体激动剂降低大鼠中乙醇需求增加特性，这种作用与以前用可卡因观察到的结果相似。Pulvirenti和Koob的实验(Bono G, Balducci C, Richelmi P, Koob Gf, Pulvirenti L, 1996, 多巴胺部分受体激动剂降低大鼠酒精摄取, 欧洲药理学杂志(Eur. J. Pharmacol) 296, 233-238)中使用的部分激动剂以高亲和力与多巴胺受体结合，但是具有低的内在活性。结果是，在高多巴胺能气氛条件下这些化合物起拮抗剂作用。在低多巴胺气氛条件下，例如在去神经之后或神经递质功能耗尽期间，部分受体激动剂表现出激动剂特性。本发明化合物可在抑制药物滥用的药理模型(见下文)中表现出作用，并且可能是用于治疗药物滥用的潜在临床治疗剂。

材料和方法

将在开始训练时重 100 - 120 g 的雄性白化 Wistar 大鼠 (Charles River) 单独饲养, 并提供标准的 12 小时光照-黑暗周期 (从早晨 7:00 - 下午 7:00 提供光照)。开始 3 天 (22 小时/天) 不给大鼠提供水, 以促使它们在每天 2 小时的提供酒精期间喝酒精。在随后的整个训练和测试期间大鼠可以随意摄取食物和水。所有训练和测试都在饲养笼子中进行。通过由 Samson (1986) 描述、并由 Rassnick 等人 (1992) 改进的蔗糖褪色技术的变型训练动物喝酒精。在本实验中, 将糖精加到乙醇溶液中以提高酒精溶液的可口性并克服酒精的讨厌味道。开始训练大鼠从含有水或 0.2% (w/v) 糖精强化的两瓶的任一瓶中饮用, 训练 3 天, 每天时间为 120 分钟。然后给大鼠提供每天 120 分钟的下述自由选择条件: 其中一瓶装水, 另一瓶装 0.2% (w/v) 糖精 + 酒精, 酒精每天轮换。在训练的 4 - 10 天中, 训练大鼠从含有水或乙醇 5% (w/v) + 糖精 0.2% (w/v) 的两瓶的任一瓶中饮用。在训练的 10 - 12 天, 给大鼠提供装水或酒精 5% (w/v) 的两个瓶子。以后将酒精浓度提高到 8%, 给大鼠提供 3 天的酒精-糖精溶液, 提供 1 天的不含糖精的 8% 酒精。然后在糖精存在下加入 10% 酒精, 并用该浓度训练 3 天。然后逐渐降低糖精浓度, 在不存在水或食物的缺乏、并且酒精溶液中不含甜味剂的情况下, 每天给动物提供 10% 酒精或水的自由选择。整个训练期间通常需要 20 - 30 天。在训练结束时, 达到了稳定的基线摄取, 定义为连续 3 天摄取量的 $\pm 20\%$ 。所有训练和测试的持续时间都是每天 120 分钟, 在早晨 9:00 - 下午 12:00 之间进行。酒精溶液是用 100% 乙醇制得的, 并且用自来水稀释至 5, 8 和 10% 浓度 (w/v)。

自由基捕获特性

本发明化合物可具有自由基捕获/抗氧化特性, 这种特性可用 (非酶促) 脂质过氧化分析测定。在该分析中, 通过将 Fe^{2+} 和抗坏血酸盐加到大鼠肝脏微粒体制备物中来诱导经 Fenton 反应的自由基生成。这些自由基引发称为脂质过氧化的过程, 这种脂质过氧化可通过自由基捕获剂来抑制 (Haenen 和 Bast, FEBS Lett. 1983, 159, 24-28)。