

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D311/68

C07D405/12 C07D409/12

A61K 31/35



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95194413.4

[45] 授权公告日 2004 年 11 月 10 日

[11] 授权公告号 CN 1174975C

[22] 申请日 1995.5.31 [21] 申请号 95194413.4

[30] 优先权

[32] 1994. 6. 10 [33] GB [31] 9411632.4

[32] 1994. 6. 13 [33] GB [31] 9411798.3

[86] 国际申请 PCT/EP1995/002076 1995.5.31

[87] 国际公布 WO1995/034545 英 1995.12.21

[85] 进入国家阶段日期 1997.1.29

[71] 专利权人 史密丝克莱恩比彻姆有限公司

地址 英国英格兰米德尔塞克斯郡

[72] 发明人 W·N·陈 H·K·A·莫尔根

M·汤普森 J·M·埃文斯

审查员 彭见旭

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 关立新 姜建成

权利要求书 2 页 说明书 19 页

[54] 发明名称 苯并吡喃类化合物和它们作为治疗剂的用途

[57] 摘要

本发明涉及某些在 C-4 位具有取代的苯甲酰氨基的顺-和反-苯并吡喃化合物以及它们在治疗和/或预防某些 CNS 疾病中的用途。

ISSN 1000-8427 4

1、选自下述的化合物或其药学上可接受的盐:

- 顺-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃-3S-醇,
- 5 反-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯-4-氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 反-6-乙酰基-4S-(3,5-二氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-苯并吡喃-3R-醇,
- 反-6-乙酰基-4-(2-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇,
- 10 反-6-乙酰基-4S-(3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 反-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 15 顺-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇,
- 反-6-乙酰基-4S-(2,3,5-三氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 反-6-乙酰基-4S-苯甲酰氨基-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 20 反-6-乙酰基-4S-(3-碘代苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-苯并吡喃-2H-苯并吡喃-3R-醇,
- 反-6-乙酰基-4S-(5-氯-2-甲氧苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,
- 25 反-6-乙酰基-4-(2,3-二甲基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇,
- 顺-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯-4-氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇,
- 顺-6-乙酰基-4S-(3-氯-4-氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇,
- 30 反-6-乙酰基-4S-(2-氟-5-吡啶羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇,

反-6-乙酰基-4-(2-苯氧基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇,

反-6-乙酰基-4S-(2-氯-5-氟-2-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇。

- 5 2、权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗和/或预防下述疾病的药物上的用途：抑郁，用抗惊厥剂可治疗或可预防的疾病，癫痫，偏头痛和/或大脑局部缺血。

3、含权利要求 1 化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

苯并吡喃类化合物和
它们作为治疗剂的用途

5 本发明涉及新的化合物，制备它们的方法以及它们作为治疗剂的用途。

欧洲专利申请 No 0126311 公开了具有降低血压活性的取代的苯并吡喃化合物，包括 6 - 乙酰基 - 反 - 4 - (4 - 氟苯甲酰氨基) - 3 , 4 - 二氢 - 2 , 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3 - 醇。

10 EP - A - 0376524 , EP - A - 0205292 , EP - A - 0250077 , EP - A - 0093535 , EP - A - 0150202 , EP - A - 0076075 和 WO/89/05808 (Beecham Group plc)也记载了某些具有抗高血压活性的苯并吡喃衍生物。

EP - A - 0350805 (Biersdorf) , EP - A - 0277611 , EP - A - 15 0277612 , EP - A - 0337179 和 EP - A - 0355565 (Hoechst Aktiengesellschaft) ; EP - A - 0466131 (Nissan Chemical Industries Ltd) , EP - A - 0339562 (Yoshitomi Pharma Ceuticals) , EP - A - 415065 (E.Merck) , EP - A - 450415 (Squibb) , EP - A - 0482934 , EP - A - 0296975 , JO - 2004791 和 WO/89/07103 也记载了某些可以相信具有抗高血压活性的苯并吡喃衍生物。

EP - A - 0430621 和 EP - A - 0385584 (Beecham Group plc)记载了用于制备上述专利申请中记载的化合物的某些中间体的拆分方法。

25 EP - A - 0139992 (Beecham Group plc)描述了某些在 3 - 和 4 - 位为顺式异构现象的苯并吡喃衍生物，它们具有抗高血压活性。

PCT/GB92/01045 (Smithkline Beecham plc)记载了某些氟代苯甲酰氨基苯并吡喃，吡喃并吡啶和四氢萘类化合物，其中 3 - 和 4 - 位的取代基彼此为反式。这些化合物具有特别是抗焦虑和抗惊厥活性。

30 PCT/GB93/02512 和 PCT/GB93/02513 记载了另外一组具有特别是抗惊厥活性的化合物。这些专利申请在本申请的优先权日之时均未公开。现在惊异地发现，某些下述化合物具有抗惊厥活性，因之可用于治疗癫痫(eilepsy)并相信可以用于治疗或预防焦虑，狂躁，抑郁，与蛛网

膜下出血或神经性休克有关的疾病，与停止滥用药物有关的疾病，帕金森氏病，精神病，有或无先兆的偏头痛，大脑局部缺血，早老性痴呆 (Alzheimer's) 疾病，精神分裂症，OCD，即强迫性疾病和/或恐慌和/或攻击行为。

5 因之本发明提供：

顺-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃-3S-醇，

反-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯-4-氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

10 反-6-乙酰基-4S-(3,5-二氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

反-6-乙酰基-4S-(3,5-二氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

15 反-6-乙酰基-4-(2-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇，

反-6-乙酰基-4S-(3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

反-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

20 顺-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇，

反-6-乙酰基-4S-(2,3,5-三氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

25 反-6-乙酰基-4S-(2,3,4-三氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

反-6-乙酰基-4S-苯甲酰氨基-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

反-6-乙酰基-4S-(3-碘代苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

30 反-6-乙酰基-4S-(5-氟-2-甲基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇，

反-6-乙酰基-4S-(5-氯-2-甲氧基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2

- 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇,
反 - 6 - 乙酰基 - 4 - (2, 3 - 二甲基苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二
甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3 - 醇,
顺 - 6 - 乙酰基 - 4S - (2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2,
5 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3S - 醇,
顺 - 6 - 乙酰基 - 4S - (3 - 氯 - 4 - 氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 -
二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3S - 醇,
反 - 6 - 乙酰基 - 4S - (2 - 氟 - 5 - 吡啶羰基氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 -
二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇,
10 反 - 6 - 乙酰基 - 4 - (2 - 苯氧基苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲
基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3 - 醇,
反 - 7 - 乙酰基 - 4 - (4 - 氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲基 -
2H - 1 - 苯并吡喃 - 3 - 醇,
反 - 6 - 乙酰基 - 4S - (2 - 氯 - 5 - 氟 - 2 - 噻吩基羰基氨基) - 3, 4 - 二氢
15 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇,
顺 - 6 - 乙酰基 - 4S - (2 - 氯 - 5 - 氟 - 2 - 噻吩基羰基氨基) - 3, 4 - 二氢
- 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3S - 醇,
顺 - 6 - 乙酰基 - 4S - (2, 3, 4 - 三氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2
- 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3S - 醇,
20 或其药学上可接受的盐。

这些化合物下文称为式(I)化合物。

- 应该理解式(I)化合物在 3 - 和 4 - 位有手性碳原子, 因此存在对映
体, 本发明包括每种对映异构体及包括其外消旋体的混合物。还应进一
步理解为, 对于不同的应用, 个别的对映体形式是优选的, 因此, 除了
25 用于蛛网膜下出血或神经性休克之外, 3R, 4S 和 3S, 4S 对映体是优选
的, 但是对于用于治疗蛛网膜下出血和神经性休克, 3S, 4R 和 3R, 4R
对映体是优选的。

应理解式(I)化合物或其药学上可接受的盐也包括这些化合物的溶剂
化物, 例如水合物。

- 30 本发明还提供上述定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 根
据其是顺式或反式, 它们主要是以 3S, 4S 或 3R, 4S 对映异构体形式
存在。

例如, 应理解术语“主要是以 3S, 4S 对映异构体存在”意思是和 3R, 4R 对映异构体比较, 存在大于 50 % 的 3S, 4S 对映异构体。

更优选存在大于 60 % 的 3S, 4S 对映异构体, 进一步优选存在大于 70 % 的 3S, 4S 对映异构体, 甚至更优选存在大于 80 % 的 3S, 4S 对映异构体, 进一步更优选存在大于 90 % 的 3S, 4S 对映异构体, 最优选和 3R, 4R 对映体比较, 存在大于 95 % 的 3S, 4S 对映异构体化合物。

同样情况适用于 3R, 4S 异构体的情况。

这些化合物及其药学上可接受的盐是新的化合物并且构成本发明的优选方面。

对哺乳动物给药可以通过口服, 非肠道, 舌下或透皮给药的方式。

治疗上述疾病的有效量依赖于一般的因素如被治疗疾病的性质及严重程度以及哺乳动物的体重。但是单位剂量通常含 1 - 1000mg, 合适的为 1 - 500mg, 例如 2 - 400mg 的数量范围如 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 和 400mg 的活性化合物。单位剂量通常可一次给药, 或每天给药一次以上, 例如每天 1, 2, 3, 4, 5 或 6 次。更通常是每天给药 1 - 4 次, 例如对于 70kg 体重的成年人, 总的日剂量范围是 1 - 1000mg, 例如 1 - 500mg, 即约为 0.01 - 15mg/kg/天的范围, 更通常为 0.1 - 6mg/kg/天, 例如 1 - 6mg/kg/天。

极为优选式(I)化合物以单位剂量组合物的形式给药, 如单位剂量口服(包括舌下给药), 直肠, 局部或非肠道(特别是静脉)给药的组合物。

这种组合物可以通过混合来制备, 并合适地采用口服或非肠道给药, 可以是片剂, 胶囊, 口服液体制剂, 粉剂, 颗粒剂, 锭剂, 可配制的粉剂, 注射或灌注用溶液或悬浮液或栓剂。口服给药的组合物是优选的, 特别是成型的口服组合物, 因为它们对于一般使用更为方便。

口服给药的片剂和胶囊通常以单位剂量形式被提供, 通常含有赋形剂如粘合剂, 填充剂, 稀释剂, 成片剂, 润滑剂, 崩解剂, 着色剂, 矫味剂和润湿剂。片剂可以按照本领域公知的方法进行包衣。

使用的合适的填充剂包括纤维素, 甘露醇, 乳糖和其它类似物。合适的崩解剂包括淀粉, 聚乙烯吡咯烷酮和淀粉衍生物如淀粉乙醇酸钠。合适的润滑剂例如包括硬脂酸镁。合适的药学上可接受的润湿剂包括十二烷基硫酸钠。

这些固体的口服组合物可以用掺合，填充，压片等常规方法制备。重复的掺合操作可使活性成分充分分散到使用大量填充剂的这种组合物中。这种操作当然是本领域的常规操作。

口服液体制剂例如可以是水的或油的悬浮液，溶液，乳液，糖浆或
5 酞剂，或者可以干的产品形式提供，使用前用水或其它合适的载体现场配制，这种液体制剂可以含常规的添加剂如悬浮剂例如山梨糖醇，糖浆剂，甲基纤维素明胶，羟乙基纤维素，羧甲基纤维素，硬脂酸铝胶体或氢化的食用脂肪；乳化剂例如卵磷脂，脱水山梨醇单油酸酯，阿拉伯胶；
10 非水性载体(可包括食用油)例如是杏仁油，分馏的椰子油，油性的酯如甘油酯，聚乙二醇酯或乙醇酯；防腐剂如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸，假如需要还可加入常规调味剂或着色剂。

口服制剂也包括常规的缓释剂，例如肠溶片或颗粒。

对于非肠道给药，液体单位剂量形式可以包括化合物和无菌载体被制备。根据载体性质及所需浓度，化合物可以被悬浮或被溶解在其中。
15 非肠道给药的溶液的制备方法通常是将化合物溶在载体里，过滤，灭菌，再装入合适的小瓶或安瓶中并封口。佐剂如局部麻醉剂，防腐剂和缓冲剂溶在载体中也是有利的。为了增加稳定性，装入小瓶后可将组合物冷冻并于真空下除去水。

非肠道给药的悬浮液实质上用和上述相同的方法制备，只是将化合物
20 悬浮在载体中而不是溶解在载体中，并且于悬浮在无菌载体中之前通过暴露于环氧乙烷灭菌。将表面活性剂和润湿剂加入到组合物中以促进本发明化合物的均匀分布是有利的。

通常，组合物一般带有书写的或印刷的用于所涉及的药物治疗的使用指南。

25 本发明进一步提供一种药物组合物，它用于治疗 and 预防焦虑，狂躁，抑郁，和蛛网膜下出血或神经性休克有关的疾病，与停止滥用药物如可卡因，尼古丁，醇及苯并二氮杂草有关的疾病，用抗惊厥剂可治疗或可预防的疾病如癫痫，帕金森氏病，精神病，偏头痛，大脑局部缺血，
30 早老性痴呆，精神分裂症和/或攻击行为。该组合物包括式(I)化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

本发明还提供治疗和/或预防下述疾病的方法：焦虑，狂躁，抑郁，与蛛网膜下出血或神经性休克有关的疾病，与停止滥用药物如可卡因，

尼古丁，醇和苯并二氮杂萆有关的疾病，用抗惊厥剂可治疗和/或预防的疾病如癫痫，帕金森氏疾病，精神病，偏头痛，大脑局部缺血，老年性痴呆，精神分裂症和或攻击行为。该方法包括对需要的患者施用有效量的或预防量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

- 5 本发明的另一方面提供了式(I)化合物包括其药学上可接受的盐在制备治疗和或预防下述疾病的药物方面的用途，这些疾病是焦虑，狂躁，抑郁，与蛛网膜下出血或神经性休克有关的疾病，与停止滥用药物如可卡因，尼古丁，醇和苯并二氮杂萆有关的疾病，用抗惊厥剂可治疗或预防的疾病如癫痫，帕金森氏病，精神病，偏头痛，大脑局部缺血，
- 10 老年性痴呆，精神分裂症和/或攻击行为。

本发明另一方面提供了含式(I)化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

- 本发明的另一方面提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为治疗剂的用途，特别是治疗和/或预防焦虑，狂躁，抑郁，和蛛网膜下
- 15 出血及神经性休克有关的疾病，和停止滥用药物如可卡因，尼古丁，醇及苯并二氮杂萆有关的疾病，用抗惊厥剂可治疗或预防的疾病，如癫痫，帕金森氏病，精神病，偏头痛，大脑局部缺血，老年性痴呆，精神分裂症和/或攻击行为。

这种组合物可以按照前述方法被制备。

- 20 一般来说式(I)顺式化合物可以从相应的反式化合物制备，其制备方法一般记载于 EP - 0126311，EP - 0376524，EP - 205292，EP - 0250077，EP - 0093535，EP - 0150202，EP - 0076075，WO/89/05808，EP - 0350805，EP - 0277611，EP - 0277612，EP - 0337179，EP - 0339562，EP - 0355565，EP - A -
- 25 415065(E.Merlk)，EP - A - 450415(Squibb) EP - 0466131，EP - A - 0482934，EP - A - 0296975，JO - 2004 - 791 和 WO/89/07103 中。

式(I)的顺式化合物可按照通常的方法或 EP - A - 0139992 中记载的类似方法制备。

- 30 式(I)的顺式化合物也可以按照 G.Burrell 等人(Tet. Letters，31,3649-3652 (1990)或按照 U.Quast 和 E.Villhauer，Eur (J. Pharmacol，Molecular Pharmacology Section 245，165 - 171(1993))所述的方法制

备。

应该懂得式(I)的外消旋体可以被拆分,或者式(I)的对映体纯的化合物可以用本领域常规的方法制备,特别是用 EP - 0430631 和 EP - 0355584 中所述的方法制备。

- 5 应该明白,式(I)化合物优选以所需的对映体形式被制备,方法是用在 WO/91/14694 或 WO 93/17026 中所述的催化剂和条件下形成手性纯的环氧化物,然后用其中所述方法将该环氧化物转化成所需的化合物。

- 式(I)的反式化合物可按照 PCT/GB 92/01045 所述的方法制备,该方法本文作为参考,或者式(I)的反式化合物可以按照上述专利中提到的类似方法被制备。

以下化合物按照上述专利公开中所述的类似方法制备。

下述说明,实施例及药理学的试验结果用以说明本发明。

说明 1

2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯甲酸

- 15 2, 3 - 二氯氟苯(5g), 三氯化铝(6.91 g)和乙酰氯(3.85 ml)于 130 °C, 氩气氛中加热 20 小时,将黑色残留物倒入浓盐酸-冰的混合物中,再加入乙醚,分层,有机相用饱和碳酸氢钠溶液和食盐水洗涤,用无水硫酸镁干燥,过滤,蒸发,得到的黑色残留物用正己烷处理,过滤正己烷溶液,蒸发溶剂得到 2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯乙酮(1.04g)。

- 20 将此粗产品(0.69g)和 5 % 高氯酸钠(23ml), 二噁烷(20ml)一起回流 16 小时,将溶液冷却并蒸发,加入水(20ml)和浓 - HCl 至 pH 为 1, 过滤沉淀出的固体,从丙酮-水中重结晶,得到 2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯甲酸(0.36g)

说明 2

- 25 顺 8 - 乙酰基 - 2 - (3 - 氯 - 4 - 氟苯基) - 3a, 9b - 二氢 - 4, 4 - 二甲基 - 4H - 苯并[b]吡喃并[4, 3 - d] 噻唑

- 反 6 - 乙烯基 - 4S - (3 - 氯 - 4 - 氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 苯并[b]吡喃 - 3R - 醇(WO 94/13656 的实施例 62 化合物)(3.37 g, 8.6 mmol)的无水二氯甲烷(90ml)溶液和
30 DAST(1.40ml, 10.59 mmol)于室温保持 2 天。真空蒸发,残留物用 Kieselgel 60 色谱法提纯,用 25 % 乙酸乙酯/正己烷洗脱,得到标题的噻唑啉,为无色胶状物(2.50g, 78%)

^1H nmr (CDCl_3): δ : 1.35 (3H, s), 1.59 (3H, s), 2.60 (3H, s), 4.80 (1H, d), 5.35 (1H, d), 6.90 (1H, d), 7.15 (1H, t), 7.82 (1H, m), 8.00 (1H, dd), 8.10 (1H, d).

实施例 1

顺 6 - 乙酰基 - 4S - (2, 3 - 二氯苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2H
5 - 1 - 苯并吡喃 - 3S - 醇

将反 6 - 乙酰基 - 4S - (2, 3 - 二氯苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇(0.84 g)溶于二氯甲烷(50ml)中, 加入二乙氨基硫三氟化物(DAST)(0.325ml), 将溶液搅拌过夜。将混合物蒸发至干, 在 Kieselgel 60 上用色谱法提纯, 用 CH_2CH_2 - EtoAc 梯度洗脱, 得淡白色胶状物(0.71g), 将其保留在二噁烷(20ml)和含 5N H_2SO_4 (3ml)的水(6ml)中 2 天。将混合物用固体碳酸氢钠碱化, 搅拌 2 小时, 蒸发至干。将混合物在乙酸乙酯和水之间分配, 有机相用食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤并蒸发, 得淡黄色胶状物(0.639g)。将从该反应得到的产品和前述方法得到的产品(0.3g)合并, 用 Kieselgel 60
10 进行色谱法提纯, 用二氯甲烷 - 1 % 甲醇洗脱, 得白色固体(0.47g), 从乙酸 - 乙酯 - 己烷中重结晶, 再用丙酮 - 己烷重结晶, 得标题化合物, mp 104-107 $^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}} = -7.50^\circ$ (MeOH, c = 1.0)

实施例 2

反 6 - 乙酰基 - 4S - (2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二
20 氢 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇

本实施例化合物按照实施例 1 使用的方法, 使 2, 3 - 二氯 - 4 - 氟苯甲酸(说明 1)和反 - 6 - 乙酰基 - 4S - 氨基 - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇 D - (-)扁桃酸盐进行偶联而制备。标题化合物从丙酮 - 己烷中重结晶, 为晶体, mp 205-206 $^\circ\text{C}$,
25 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17.6^\circ$ (MeOH, c = 0.44)

实施例 3

反 - 6 - 乙酰基 - 4S - (3, 5 - 二氯苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇

mp 220 $^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +22.2^\circ$ (MeOH, c=1.18)

30 实施例 4

反 - 6 - 乙酰基 - 4S - (3, 5 - 二氯苯甲酰氨基) - 3, 4 - 二氢 - 2, 2 - 二甲基 - 2H - 1 - 苯并吡喃 - 3R - 醇

mp 203 °C, $[\alpha]_D^{20} + 28.9^\circ$ (MeOH, c=1.0)

实施例 5

反-6-乙酰基-4-(2-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

5 mp 175.5 - 177 °C

实施例 6

反-6-乙酰基-4S-(3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 211 - 213 °C

10 实施例 7

反-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 194 °C; $[\alpha]_D^{20} = -1.0^\circ$ (MeOH, c=1.03)

实施例 8

15 顺-6-乙酰基-4S-(2,5-二氯-3-噻吩基羰基氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇

米色的泡沫体。

NMR (CDCl₃) δ : 1.40 (3H), 1.54 (3H), 2.06 (1H, d), 3.84 (1H, dd), 5.60 (1H, dd), 6.92 (1H, d), 7.22 (1H, brd), 7.30 (1H), 7.85 (1H, dd), 7.96 (1H).

实施例 9

20 反-6-乙酰基-4S-(2,3,5-三氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 219 - 223 °C

实施例 10

反-6-乙酰基-4S-(2,3,4-三氯苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

25 mp 167 °C, $[\alpha]_D^{20} = +3.0^\circ$ (MeOH, c=0.945)

实施例 11

反-6-乙酰基-4S-苯甲酰氨基-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 188 - 191 °C

30 实施例 12

反-6-乙酰基-4S-(3-碘代苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 171 - 173 °C; $[\alpha]^{20}_D + 15.5^\circ$ (MeOH, c=1.00)

实施例 13

5 反-6-乙酰基-4S-(5-氟-2-甲基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 194 - 196 °C

实施例 14

10 反-6-乙酰基-4S-(5-氯-2-甲氧基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 191 - 194 °C

实施例 15

15 反-6-乙酰基-4-(2,3-二甲基苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

mp 188 - 189 °C

实施例 16

顺-6-乙酰基-4S-(2,3-二氯-4-氟-苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇

mp 130 °C

20 实施例 17

顺-6-乙酰基-4S-(3-氯-4-氟苯甲酰氨基)-3,4-二氢-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3S-醇

25 噁唑啉(D2)(2.5g, 6.68 mmol)在1,4-二噁烷(45ml)水(15ml)和5N硫酸(6ml)中的溶液于室温保持1天。加入过量的NaHCO₃, 室温搅拌所得悬浮液2小时, 真空浓缩混合物, 在乙酸乙酯和水之间分配, 有机相用水, 食盐水洗涤, 干燥(Na₂SO₄)。

真空蒸发得到浅黄色胶状物, 在Kieselgel 60上用色谱法提纯, 用25%乙酸乙酯/正己烷洗脱。合并适当的级份, 从丙酮/正己烷中重结晶, 得到标题化合物, 为白色晶体(1.20g, 46%), mp 151-153 °C

30 测定值: C: 61.04, H: 4.91, N: 3.86%

理论值: C: 61.31, H: 4.89, N: 3.57% (C₂₀H₁₉ClFNO₄)

$\nu_{\max}$ (KBr): 3360, 3310, 2950, 1680, 1640, 1260 and 840cm^{-1}

^1H nmr (CDCl_3) δ : 1.40 (3H, s), 1.56 (3H, s), 2.12 (1H, d, exD_2O), 2.50 (3H, s), 3.84 (1H, dd), 5.62 (1H, dd), 6.91 (1H, d), 6.95 (1H, br, d), 7.23 (1H, t), 7.75 (1H, m), 7.83 (1H, dd), 7.92 (1H, d), 7.96 (1H, dd).

m/z : 391 (M^+ , 1%), 373 (4), 358 (88), 203 (50), 157 (100).

实施例 18

顺-6-乙酰基-4-(2, 3, 4-三氟苯甲酰氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

NMR (CDCl_3): δ 1.41 (3H, s), 1.55 (3H, s), 2.50 (3H, s), 3.85 (1H, dd), 5.67 (1H, dd), 6.92 (1H, d), 7.03 - 7.20 (1H, m), 7.78 - 7.90 (2H, m), 7.95 (1H, s).

实施例 19

- 5 反-7-乙酰基-4-(4-氟苯甲酰氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

mp 189-193°C

实施例 20

- 10 反-6-乙酰基-4S-(2-氟-5-吡啶羧基氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3R-醇

mp 84°C。

实施例 21

反-6-乙酰基-4-(2-苯氧基苯甲酰氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

- 15 mp 208°C

以下实施例使用上述类似方法制备

实施例 22

反-6-乙酰基-4-(2-氯-5-氟-2-噻吩基羧基氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

- 20 实施例 23

顺-6-乙酰基-4-(2-氯-5-氟-2-噻吩基羧基氨基)-3, 4-二氢-2, 2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-3-醇

药理学实验数据

1. 鼠群居相互作用试验

本发明式(I)化合物或其药学上可接受的盐用下述方法做治疗用途方面的试验。

用原先由 File(1980, J.Neurosci. Methods, 2, 219-238)所述的鼠群居互相作用方法评估潜在的抗焦虑性质。在此模型中, 抗焦虑剂选择性地
5 增加群居互相作用, 不依赖于对运动活性的任何影响。

方法:

试验前将雄性 Spragne-Dawley 大鼠(Charles River, U.K., 250-300g)单独喂养 3 天, 在试验当天将动物任意分成 8 - 16 只的组, 用各种剂量的化合物(1 - 300mg/kg)或赋形剂口服剂量体积 1ml/kg, 给药后 60
10 分钟, 以重量 - 和治疗 - 匹配的雄鼠对(第一次相通)放入一高亮度的, 条件不熟悉的群居相互作用箱中, 该箱由白色甲基丙烯酸甲酯制成, 54 × 37 × 26cm, 带透明的甲基丙烯酸甲酯前窗。地板被分成 24 块相等的方块并照亮(115 勒克司)。通过遥控“隐蔽的”监视所跨过的方块的数目对在积极的群居相互作用(嗅, 修饰, 跟随, 骑, 上下攀登, 打斗,
15 咬)中所用的时间(秒)评分(做为运动指数)。

对每一特定的治疗组计算在群居互相作用中所用时间和跨过方块的数量的平均和标准误差。给药引起的变化用和对照值比较增加或降低的百分数表示, 使用 Dunnett's 多次比较方法随后用变化的数值单向分析, 在给赋形剂和给药治疗组之间进行统计学比较。

20 药物悬浮在 1 % 甲基纤维素中。

2. MES 试验:

最大电休克发作(MES)界线试验在啮齿目动物中对于测定潜在的抗惊厥性质是特别敏感的。¹在此模型中, 抗惊厥剂提高电诱发的发作界线, 而防预惊厥剂降低发作界线。

25 方法:

小鼠(雄性, Charles River, U.K. CD-1 株, 25 - 30g)被随意分为 10 - 20 只为一组, 以各种剂量的化合物(0.3 - 300mg/kg)或赋形剂口服或腹膜内给药剂量体积 10ml/kg。给药 30 或 60 分钟后通过角膜电极进行简单的电休克(0.1 秒, 50Hz, 正弦波)。在特定治疗组中 50 % 鼠被诱发强直性发作所需的平均电流和标准偏差(CC₅₀)通过 Dixon 和 Mood
30 (1948)²的“上下法”测定。用 Litchfield 和 Wilcoxon (1949)的方法在给赋形剂组和给药组之间进行统计学比较。

在对照组动物中, CC_{50} 一般是14 - 18mA, 因之对照组的⁵第一只动物遭到16mA的电流。假如强直性发作未出现, 对随后的小鼠增加电流。假如出现了强直性惊厥, 随后就降低电流, 直到该组内所有的鼠做完试验。

- 5 计算出对比于对照组, 每一组 CC_{50} 的百分数增加或降低。

使用Hugo Sachs Elektronik Constant Current Shock Generator完成研究, 上述休克发生器能在全部的0 - 300mA变化之间控制休克水平, 通常使用2mA的间隔。

药物被悬浮于1%甲基纤维素中。

10 参考

- 1、 Losche, W.和 Schmidt, D.(1988)癫痫 Res., 2,145-181;
- 2、 Dixon. W.J.和 Mood, A.M.(1948), J.Amer.Stat. Assn., 43,109-126;
- 3、 Litchfield, J.T.和 Wilcoxon, F.(1949). 药理学与实验治疗学杂志, 96, 99 - 113.

15 结果:

实施例17化合物在p.o.10mg/kg给药时增加休克界线105%。

3 X - 型迷宫试验

用下述方法检查式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗用途。

20 引言

测试焦虑的X - 型迷宫试验(Handley and Mithani,1984)检查天真的大鼠在装置中的探索性反应, 上述装置有抗焦虑的(打开的臂)和相对不抗焦虑的(关闭的臂)两个地方。用药物处置后对打开的臂的探索选择性增加被假定指出抗焦虑效果。

25 方法:

将X - 型迷宫从地面提高70cm。迷宫由两个关闭的臂45cm长×15cm(宽)×10cm(高)和两个打开的臂45×10×1cm构成, 并且每一类型的两个臂彼此相对。两种类型的臂标志成两个相等的部分。将鼠放在X - 迷宫的中心, 观察10分钟, 在此期间记录以下参数: 1) 进入(a)
30 打开的臂(b)关闭的臂(c)打开的臂的末端(d)关闭的臂的末端的次数及所用时间。2)十字路口部分的次量。在打开的臂中引起的恐惧驱动超过在关闭的臂中引起的恐惧驱动, 鼠通常表现出明显地选择关闭的臂。抗焦

考虑药增加鼠进入打开的臂的外半部的次数和所用的时间,以及进入整个打开的臂的百分数和所用的时间,对每一动物计算这四个表示焦虑的数据及在十字路口部分游荡的次数。在试验前 30 到 60 分钟对 6 - 12 只鼠的每组用腹膜内或口服方式给药。用 Mann-Whitney “U” 试验 (twotailed) 方法在给赋形剂和给药组之间作统计学比较。

S.L.Handley 和 S.Mithani, 药学文献(Arch. Pharmacol),1984, 327, 1 - 5。

4. Mongrel 狗推迟的大脑血管痉挛

用下述方法试验式(I)化合物或其药学上可接受的盐在治疗方面的用途。

25 只雄性 mongrel 狗, 体重 9 - 12kg 被用以此项研究。

动物按照实验室动物护理和使用指南被喂养[DHEW (DHHS)公开号 No (NIH) 85-23 修正版 1985]。使用实验室动物的所有方法都是 Smithkline. Beecham Pharmaceutical 的 Institutional Animal Care and Use Committee 批准的。每个动物用戊巴比妥(35mg/kg, iv)麻醉并以仰卧姿势放于加热的手术台上。所有的动物被切开气管并使瘫痪(筒箭毒碱, 0.1mg/kg, iv)并用室内空气人工通气。末端一定时起落的 CO₂(etCO₂)被连续监视并周期性地进行动脉血气体的分析, 以保证在每一试验的整个过程中稳定的和适当地通气。聚乙烯的插管被放入左外颈静脉和右股动脉及给药的静脉, 分别监视动脉血压和血样, 然后左椎动脉的经股动脉的导管插入术使用 5 只法国的 Lehman 涤纶插管(Bard, Tewksbury MA)通过左股动脉进行。需要的话试验前用戊巴比妥(5mg/kg, iv)补充麻醉。

本发明化合物对于急性大脑血管痉挛的效果用 15 只狗评价。椎间注射放射性对比物(碘海醇 300)后, 在所有动物中得到在前的脊柱动脉和基底动脉的对照数减血管造影照片。在每只狗中, 通过寰枕膜针穿刺术从骨池中取出 4ml 脑脊液, 并注入 4ml 自身静脉血。脑池内供血 30 分钟后对每只狗重复血管造影照片, 基底的和在前脊柱动脉的急性血管痉挛被鉴定并被定量。灌注赋形剂(10%聚乙二醇 200)30 分钟对急性血管痉挛没有影响, 30 分钟灌注试验化合物对急性血管痉挛的逆转的影响在底基的和在前的脊椎动脉中被观察到。

本发明化合物的效果也用推迟大脑血管痉挛的慢性犬模型检查(大

脑血管痉挛的两个血友病性出血模型)。在此模型中,对照的椎骨血管造影照片被得到,自身血在脑池内被供给1天(如上述),3天时重复脑池内供血,7天时对所有动物用血管造影术方法定量严重的推迟血管痉挛。灌注赋形剂(1%聚乙二醇200)60分钟对在底基的和在前的脊柱动脉中看到的推迟血管痉挛无影响(n=5);灌注试验化合物对于极大地推迟脑血管痉挛的逆转的效果指出,本发明化合物是有活性的。

使用下述方法可以检查式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗用途。

1) 抗帕金森氏病活性

10 6-羟基多巴胺-损害的鼠模型

由 Ungerstedt, U, 1971, 斯堪的纳维亚生理学报 367, 49 - 68 和/或 Ungerstedt, U, 1971 Acta Physiol, Scand. 367, 69 - 93 记载的上述试验可用于确定本发明式(I)化合物或其药学上可接受的盐的抗帕金森氏病活性。

15 2) 抗精神病活性

苯异丙胺诱发的鼠过度运动模型

由 Kokkindis L, 和 Anisman, M, 1980, Psychological Bulletin, 88, 551 - 579 记载的上述试验可用于确定本发明式(I)化合物或其药学上可接受的盐的抗精神病活性

20 3) 抗偏头痛活性

皮质扩散抑郁的偏头痛

由 Wahl 等人 1987, Brain Research, 411, 72 - 80 所述的上述试验可用于确定本发明式(I)化合物或其药学上可接受的盐的抗偏头痛的活性。

25 动物的准备

试验用雌性或雄性猫(2.5 - 3.0kg)进行,它们被禁食过夜,可以饮水。用 4 - 5 % 三氟溴氯乙烷麻醉并通过静脉给药 α -氯醛糖(90 - 110mg/kg)维持。直肠温度和酸碱状况维持在生理学范围内,切开右股动脉和静脉以便分别测量压血,动脉血样和给药,从血压信号测定心率并记录,实行左侧顶骨颅骨切开术和 durectomy,脑用 37 °C 预热的矿物油覆盖,用体内电视显影术研究脉管大小的变化并记录于录相带上。皮质扩散抑郁的诱发。

通过向远离记录电极的大脑侧裂上的脑回区,可看到的脉管和其它血管给少量(30mg 结晶)KCl 诱发 CSD。因大脑用一层温热的矿物油覆盖, KCl 在加入 5 分钟内慢慢溶于大脑,随后残留的 KCl 用盐水拭子从脑表面洗刷掉,在至 120 分钟期间内记录细胞外潜在的和动脉及静脉尺寸的变化。

5 药物处理

实施例 17 的化合物,悬浮液(10mg/kg, ip)或赋形剂(1% labrasol i.p)在 CSD 开始前 90 分钟被给药。

在对照动物(n=4)中, KCl - 诱发的再现 CSD 过程在观察期间被监视,相反,实施例 17 处理的动物(n=3)仅仅最初的 CSD 过程被检查对于施用 KCl 的反应。在对照和治疗组中 CSD 过程的总的中值(min-max)数分别是 5.5(4-9)和 2(1-2)。

类 CSD 过程的总持续时间在对照组是 60.3 ± 6 分钟(n=4), 在实施例 17 治疗动物(1=3)大大($p < 0.05$)降低到 13.7 ± 0.3 分。

15 4) 大脑局部缺血

a) Mongolian 沙土鼠试验

体内试验用成年 Mongolian 沙土鼠(Tumblebrook Farm (MA)体重 60 - 80g)完成。暂时的前脑缺血通过在 2.5% isoflourane 100% O₂ 麻醉下两侧颈动脉的结扎产生,动物被放在加热垫上以维持体温 37 °C。普通的颈动脉被暴露,动脉瘤小夹放在两动脉上一段时间,如图的说明。在闭塞(预处理)前 30 分钟或者其后 30 分钟,溶于食盐水中的 PBN 以药丸腹膜内给药,并于 6 小时再灌注,随后以同样剂量 b.i.d 两天(后处理)。为了定量 CA 1 神经元,将动物于局部缺血后 7 天杀死并用缓冲的福尔马林灌注。取出脑,放于福尔马林中 3 天,包埋在石蜡中,切下 7 - μm 厚的冠状部分(1.5-1.9mm 前窗¹⁵),用劳思氏紫染色。对每只动物计算在 3 部分两海马边的 CA 1 层约 750 - μm 长的完整神经元的数目。

b) MCAO 方法

从商店买到三种成熟的雄性鼠(SHR)(Taconic Farms, Germantown, NY; Charles River, Danvers, MA, 和 Charles River)18 周龄,体重 250 - 300g, 用于此研究之前喂养 2 - 4 周。为了证实所研究的三种动物确实是高血压和正常血压的,将每种动物的组用 isoflourane (Anaquest, Madison, WI)麻醉,并在无菌条件下经常地记录血压。股动脉用聚乙烯

管(PE 60 ; Clay Adams. Parsippany , NJ)插套管并延伸到降主动脉。管子从动脉经皮下导入,并在颈背正下方的肩甲骨之间施外置术,并用无菌等渗食盐水清洗/填充。切口用 2 - 0 丝线缝好,并用 5 % 利多卡因软膏处理(Astra Pharmaceuticals , Westborough , M.A.)。从外科手术/麻醉 5 分钟内记录动物的状况,手术后 4 - 5 小时记录平均动脉血压(5min/rat)。记录是通过每只鼠外置术管连接到 Statham 压力传导器(P2.3Db ; Statham Medical Instrument S. Los Angeles , (A)进行的,传导器连接到多种波动描记器(Model R 711:Beckman Instruments , Inc., Fullerton, CA)上。

10 病灶的发作方法:

在用戊巴比妥钠(65mg/kg i.p., 需要的话补加)麻醉下,对 SHR, SD 大鼠完成 MCAO 或 Sham 手术。手术前后所有的动物都可以喂养后饮水。在整个手术过程中使用加热垫维持体温为 37 °C。类似于上述方法(2.4)进行外科手术。剃光头右背侧表面并涂上碘,将鼠放在超实体性的装置上(David Kopf . Instruments , Tujunga , CA),在头顶右侧手术。在眶和外听道之间切开 1 - 2cm 的切口,从头颅剖开颞肌,并不要损伤颞骨或下颌神经缩合,在显微镜下用食盐水灌注,在嘴到颞骨 - 鳞部颞骨头颅骨缝之间作 2 - 3mm 的颅骨切开术。使用 30 口径针的改进的针尖在动脉上打开硬脑膜。对于永久性的右部 MCAO,使用电凝集(Force 2 Electrosurgicul Generator , Valley Lab Inc., Boulder , Co)。动脉同时被闭合,在嘴到外侧嗅觉道之间在下大脑静脉处切开,一小条无菌盐水浸渍的 Gelfoam (Upjohn , Kalamazoo , MI)放在颅骨上,颞肌和皮被封在两层内。动物在加热灯下从麻醉中恢复并放回它们的笼子。MCAO 后 24 小时将其杀死,脑子准备作反应性组织学检查。

25 局部缺血损伤测定

神经学评价之后(手术后 24 小时)鼠用过量的戊巴比妥钠致死。在 2 - 3 分钟内取出脑,用鼠脑切片器[(59); Zivic-Miller Laboratories Inc; Allison Park, PA)从嗅球到皮层脑的接合处制备六个冠前脑切片(2mm 厚),将切片立即浸入 1 % 三苯基四唑鎓氯化物(TTC)的磷酸盐缓冲溶液中,(37 °C, 20 - 30 分钟(6.78))。通过过滤到 10 % 磷酸盐缓冲的福尔马林中固定染色的组织。用偏振照像机给每个 TTC 染色部分的两侧拍彩色照片。用影像分析系统对上述照片作局部缺血性损伤的定量分析。

(Amersham RAS 3000; Loats Associates, Inc.). 手术后对每只鼠的全部前脑(共 11 个平面)评估形态学变化, 从 6 个 2mm 厚部分的每边及从前卤(97)的相应的约 1mm 部分(+5mm - -5mm)得到 11 个平面图像并包括完整的前脑, 这些平面图象表面(从照片上看)被数字化, 并用于图象分析系统确定梗死的和肿胀的面积, 如前述(2,4,98,122)对每一切片确定由于 MCAO 导致的局部缺血损伤的两个参数。“半球肿胀”表示同侧半球(即手术边)对于对侧半球(正常的)大小的增加的百分比, 用下式计算:

$$10 \quad \text{百分半球肿胀} = \frac{\text{同侧半球面积} - \text{对侧半球面积}}{\text{对侧半球面积}} \times 100$$

表示对于对侧半球(正常的)梗死组织百分数的“梗死面积”用下式计算:

$$15 \quad \text{百分半球梗死面积} = \frac{\text{梗死面积}}{\text{对侧半球面积}} \times 100$$

20 肿胀和梗死面积参照对侧半球表示(即同侧局部缺血损伤被标准化为正常的对侧半球)。对每个切片确定这些参数, 评估整个前脑损伤的外形(即“前脑外形图”), 使用上述公式中每个切片数据的总和评估“总的”前脑变化。

25 与半球肿胀有关的随着 MCAO 的脑水肿的出现是通过比较前述的湿/干重量确定的(45, 118), Sham 或 MCAO 手术后 24 小时将鼠用过量的戊巴比妥钠致死, 迅速取出脑, 在脑皮层接合部分离出前脑, 切成两个半球, 在断头术 2 分钟内用 Mettler Type H5 Chemical balance (化学样)(Mettler Instruments Corp, Hightstown, NJ)测量每个前脑半球。于 80 °C 干燥器中将该半球干燥 48 - 72 小时后用同一个秤测出干重,每个半球的水份从湿干重差除以湿重乘 100 计算:

$$\text{百分水份含量} = \frac{\text{湿重} - \text{干重}}{\text{湿重}} \times 100 \%$$