

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D209/44



[12] 发明专利说明书

A61K 31/4035 A61P 43/00

C07D403/12 C07D401/12

[21] ZL 专利号 00808728.8

[45] 授权公告日 2004 年 7 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 1156445C

[22] 申请日 2000.5.31 [21] 申请号 00808728.8

[30] 优先权

[32] 1999.6.10 [33] US [31] 60/138,543

[86] 国际申请 PCT/US2000/015073 2000.5.31

[87] 国际公布 WO2000/076969 英 2000.12.21

[85] 进入国家阶段日期 2001.12.10

[71] 专利权人 沃尼尔·朗伯公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 C·E·奥格利萨弗兰 Y·赖

A·T·萨卡比 L·C·沃克尔

审查员 李跃然

[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

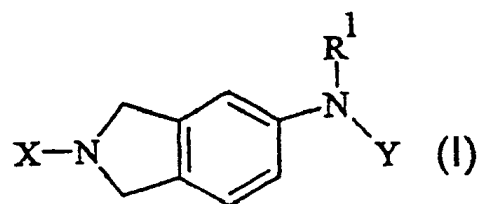
代理人 程金山

权利要求书 5 页 说明书 45 页

[54] 发明名称 采用二氢异吲哚衍生物抑制淀粉样
蛋白聚集和使淀粉样蛋白沉积成像
的方法

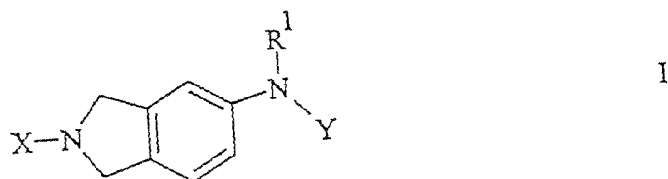
[57] 摘要

本发明提供了一种使用式(I)的新化合物治疗
老年性痴呆的方法,其中 X 是苯基或取代的苯基;
Y 是苯基,取代的苯基,吡啶基,或取代的吡啶
基。还提供了用式(I)化合物抑制淀粉样蛋白聚集
的方法和用二氢异吲哚衍生物使淀粉样蛋白沉积成
像的方法。



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

1. 式 I 的化合物或其可药用盐:

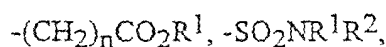
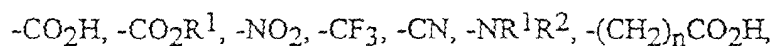
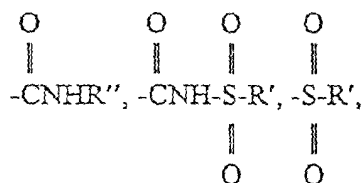


其中

X 为苯基或取代的苯基;

Y 为苯基、取代的苯基、吡啶基或取代的吡啶基;

其中, 取代的苯基和取代的吡啶基具有 1-4 个取代基, 每一个取代基彼此独立地选自 $-OC_1-C_{12}$ 烷基、卤素、 $-C_1-C_6$ 烷基、苯基、



四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、十氢异喹啉基、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基或苯基;

R^1 和 R^2 独立地为氢或 C_1-C_6 烷基;

每一个 n 独立地为 0-5, 包括 0 和 5;

R'' 为氢、 C_1-C_6 烷基或苯基; 和

R' 为氢、 C_1-C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中

X 为取代的苯基, 而该取代的苯基具有 1-3 个取代基, 取代基彼此独立地选自 $-OC_1-C_6$ 烷基、卤素、 C_1-C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其中

Y 为取代的苯基, 而该取代的苯基具有 1-3 个取代基, 取代基彼此独立地选自 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OC}_1-\text{C}_{12}$ 烷基、 $-\text{CN}$ 、四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基或 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基。

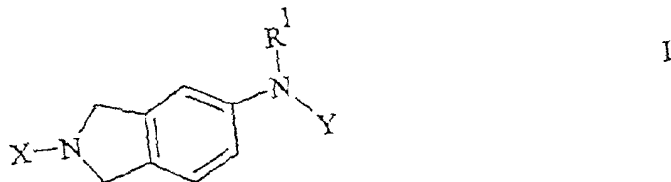
4. 根据权利要求 1 的化合物, 其中

Y 为取代的苯基, 而该取代的苯基具有 1-3 个取代基, 取代基之一选自 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。

5. 根据权利要求 4 的化合物, 其中基团 $-\text{CO}_2\text{H}$ 位于苯环的 2-位上。

6. 根据权利要求 2 的化合物, 其中取代的苯基具有两个氯取代基, 它们位于苯环的 3 和 4 位上。

7. 式 I 的化合物或其可药用盐:



其中

X 为苯基或取代的苯基, 其中, 当 X 为取代的苯基时, 该取代的苯基具有 1-4 个取代基, 取代基彼此独立地选自 $-\text{OC}_1-\text{C}_6$ 烷基、卤素、 C_1-C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基;

Y 为苯基或取代的苯基, 其中, 当 Y 为取代的苯基时, 该取代的苯基具有 1-4 个取代基, 取代基彼此独立地选自 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OC}_1-\text{C}_{12}$ 烷基、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基或 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基;

R^1 和 R^2 独立地为氢或 C_1-C_6 烷基; 和

每一个 n 独立地为 0-5, 包括 0 和 5。

8. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:

2-[2-(2, 3, 4-三甲氧基-苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

5-硝基-2-[2-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

4-甲氧基-5-硝基-2-[2-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-甲氧基-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3-氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(4-氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(3, 4-二甲基苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;或

2-[2-(3-氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸。

9. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:

2-[2-(3, 4-二甲基-苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-(2-苯基-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸;

2-[2-(3-氯-苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-[2-(1H-四唑-5-基)-苯基]-胺;

5-氨基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

5-硝基-2-(2-苯基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3-氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3-甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3-氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-氟-苯甲酸; 和

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-烟酸。

10. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:

2-[2-(3,4,5-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苄腈; 或

2-[2-(3-甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸。

11. 一种药物组合物, 其包含权利要求1的化合物和其可药用载体、稀释剂或赋形剂。

12. 权利要求1的化合物用于制备治疗老年性痴呆的药物的用途。

13. 权利要求 1 的化合物用于制备抑制淀粉样蛋白聚集形成淀粉样蛋白沉积物的药物的用途。

14. 标记的权利要求 1 的化合物用于制备通过成像检测患者淀粉样蛋白沉积物的诊断试剂的用途。

15. 根据权利要求 14 的用途，其中所述患者患有或怀疑患有早老性痴呆。

16. 根据权利要求 14 的用途，其中标记的化合物为放射性标记的化合物。

17. 根据权利要求 14 的用途，其中标记的化合物采用 MRI 进行检测。

采用二氢异吡啉衍生物抑制淀粉样蛋白聚集 和使淀粉样蛋白沉积成像的方法

发明领域

本发明涉及一种抑制淀粉样蛋白聚集和使淀粉样蛋白沉积成像的方法。更具体地说,本发明涉及一种采用二氢异吡啉衍生物抑制淀粉样蛋白聚合以治疗老年性痴呆的方法。

发明背景

淀粉样变性是一种以各种不可溶的原纤维蛋白质在患者的组织中聚合为特征的疾病。聚集或沉积的原纤维蛋白质被称之为淀粉样蛋白。当在沉积物中发现的特定蛋白质或肽改变时,原纤维状形态和大量的 β -片次级结构的存在对许多类型的淀粉样蛋白来说是很普通的。淀粉样沉积是由于淀粉样蛋白聚集,以及随后聚集物和/或淀粉样蛋白进一步结合而形成的。

淀粉样沉积的存在会表现在各种疾病中,每一种疾病又与特定结合的蛋白相关,如地中海热、综合征、自发性骨髓瘤、淀粉样多神经病、淀粉样心肌病、系统性老年性淀粉样变性、淀粉样多神经病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、老年性痴呆、唐氏综合征、羊迟发性病毒感染、Creutzfeldt-Jacob 疾病、库鲁病、Gerstmann-Straussler-Scheinker 综合征、甲状腺髓样癌、孤立性心房淀粉样变性、在透析患者中的 β_2 -微球蛋白淀粉样蛋白、包涵体肌炎、在肌肉萎缩疾病中的 β_2 -淀粉样蛋白沉积、镰状细胞性贫血、帕金森氏病、兰格汉斯岛 II 型糖尿病胰岛瘤。

老年性痴呆是一种变性性脑疾病,其临床特征是,记忆、认知、推理、判断和情绪稳定性的进行性丧失,逐渐地导致精神颓废,最终导致死亡。由于老年性痴呆和相关的变性性脑疾病是日益增加的老年化人口

的主要医疗问题，因此，就迫切需要对此类疾病新的治疗方法和诊断方法。

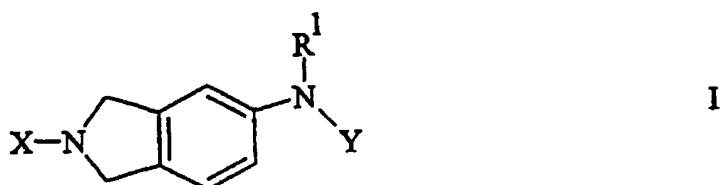
人们一直在寻求一种在患者中进行的简单而无损伤的检测和定量淀粉样沉积的方法。目前，对淀粉样沉积的检测涉及活组织检查或尸体解剖材料的组织学分析。两种方法均存在严重缺陷。例如，尸体解剖仅可用于验尸诊断。

体内淀粉样沉积的直接成像是非常困难的，这是因为，沉积物与正常的组织一样具有相同的物理性质(即，密度和含水量)。直接采用磁共振成像(MRI)和计算机辅助断层摄影术(CAT)对淀粉样沉积物进行成像的努力并未成功，仅仅在某些特定有利的条件下才能检测淀粉样沉积。此外，人们还试图采用抗体、血清淀粉样P蛋白或其它蛋白质分子来标记淀粉样沉积物，这对于组织外周提供了某些选择，但是组织内部成像还是很差。

因此，用于对患者淀粉样蛋白沉积进行成像和定量的非侵入性技术是非常有用的。此外，抑制淀粉样蛋白聚集而形成淀粉样沉积的化合物也是非常有用的。

发明概述

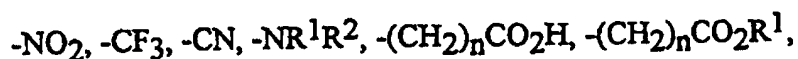
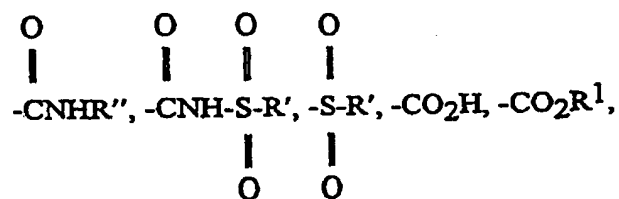
本发明提供了式 I 的化合物或其可药用盐：



其中

X 为苯基或取代的苯基；

Y 为苯基、取代的苯基、吡啶基或取代的吡啶基；其中，取代的苯基和取代的吡啶基可具有 1-4 个取代基，每一个取代基彼此独立地选自 $-OC_1-C_{12}$ 烷基、卤素、 $-C_1-C_6$ 烷基、苯基、



$-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、十氢异喹啉基、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基或苯基；

R^1 和 R^2 独立地为氢或 C_1 - C_6 烷基；

每一个 n 独立地为 0-5 (含)；

R'' 为氢、 C_1 - C_6 烷基或苯基；和

R' 为氢、 C_1 - C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基。

在式 I 化合物的优选实施方案中，X 为取代的苯基，取代的苯基具有 1-3 个取代基，其彼此独立地选自 $-\text{OC}_1$ - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基。

在式 I 化合物的优选实施方案中，Y 为取代的苯基，取代的苯基具有 1-3 个取代基，其彼此独立地选自 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OC}_1$ - C_{12} 烷基、 $-\text{CN}$ 、四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基或 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基。

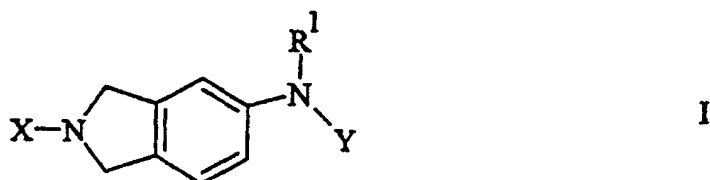
在式 I 化合物的优选实施方案中，Y 为取代的苯基，取代的苯基具有 1-3 个取代基，其中一个选自 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。

在式 I 化合物的更优选实施方案中，Y 为取代的苯基，其中，取代基为 $-\text{CO}_2\text{H}$ ，其位于苯环的 2 位。

在式 I 化合物的更优选实施方案中，其中，X 为取代的苯基，取代

的苯基具有两个氯取代基，它们位于苯环的 3 和 4 位。

本发明还提供了具有下式 I 的化合物或其可药用盐：



其中

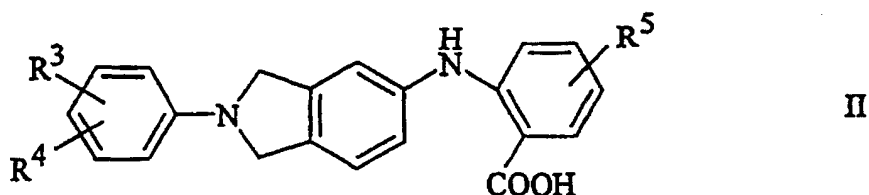
X 为苯基或取代的苯基，

其中，当 X 为取代的苯基时，取代的苯基具有 1-4 个取代基，其彼此独立地选自 $-OC_1-C_6$ 烷基、卤素、 C_1-C_6 烷基、 $-CF_3$ 或苯基；

Y 为苯基、取代的苯基、吡啶基或取代的吡啶基；其中，当 Y 为取代的苯基或取代的吡啶基时，取代的苯基或取代的吡啶基具有 1-4 取代基，其彼此独立地选自 $-CO_2H$ 、 $-NO_2$ 、 $-OC_1-C_{12}$ 烷基、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-(CH_2)_nCO_2H$ 、 $-SO_2NR^1R^2$ 、四唑基、 $-(CH_2)_n$ -四唑基、十氢异喹啉基、苯基、咪唑基、 $-(CH_2)_n$ 咪唑基、 $-CH=CH$ -四唑基或 $-CH=CH$ -咪唑基；

R^1 和 R^2 独立地为氢或 C_1-C_6 烷基；每一个 n 独立地为 0-5（含）。

特别优选的化合物和其可药用盐具有通式 II



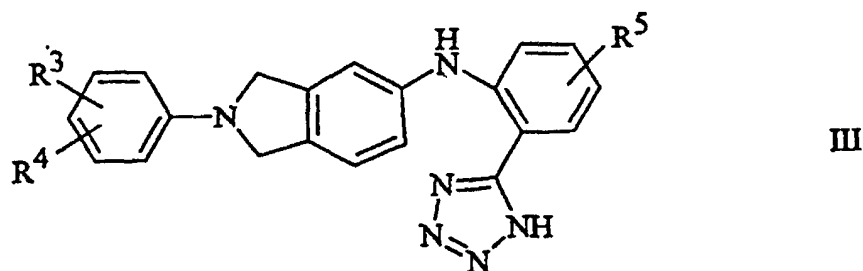
其中

R^3 为卤素；

R^4 为氢或卤素；和

R^5 为氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 $-O-C_1-C_6$ 烷基、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 或 $-NR^1R^2$ 。

本发明的另一组优选的化合物和其可药用盐具有通式 III：



其中

R^3 为卤素；

R^4 为氢或卤素；和

R^5 为氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 $-O-C_1-C_6$ 烷基、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 或 $-NR^1R^2$ 。

本发明还提供了下述化合物：

2-[2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

5-硝基-2-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

4-甲氧基-5-硝基-2-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基苯甲酸；

2-[2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-甲氧基-5-硝基-苯甲酸；

2-[2-(3-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(3,4-二甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]

苯甲酸；

2-[2-联苯-4-基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸；

2-[2-(3-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯

甲酸;

2-(2-苯基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸;

5-硝基-2-(2-苯基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苄腈;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-(2-四唑-1-基-苯基)-胺;

{2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯基}-乙酸;

3-{2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯基}-丙酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-6-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲磺酰基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-氯磺酰基-苯甲酸;

4-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-间苯二甲酸;

3-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-邻苯二甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-三氟甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-咪唑-1-基-苯甲酸;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-(2-四唑-1-

基甲基-苯基)-胺;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-[2-(2-四唑-1-基-乙基)-苯基]-胺;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-[2-(2-四唑-1-基-乙烯基)-苯基]-胺;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3-甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-硝基苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3,5-二硝基-苯甲酸;

3-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-2-甲基苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-甲氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-丙氧基-苯甲酸;

4-丁氧基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-戊氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-己氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-庚氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-辛氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-壬氧基-苯甲酸;

4-癸氧基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-异丙氧基-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-(2-联苯基-4-基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-5-硝基-苯甲酸; 或

2-[2-(3,4-二甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基苯甲酸。

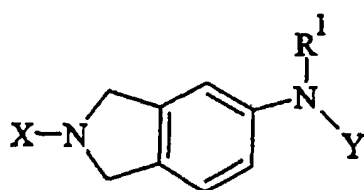
本发明还提供了包含式 I 化合物及可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

本发明还提供了一种治疗老年性痴呆的方法, 该方法包括向患有老年性痴呆疾病的患者给药治疗有效量的式 I 化合物。

本发明还提供了抑制淀粉样蛋白聚集以形成淀粉样沉积的方法, 该方法包括向需要抑制淀粉样蛋白聚集的患者给药淀粉样蛋白聚集抑制量的式 I 化合物。

本发明还提供了使淀粉样沉积物成像的方法, 包括下述步骤:

a. 向患者引入可检测量的经标记的式 I 化合物或其可药用盐:

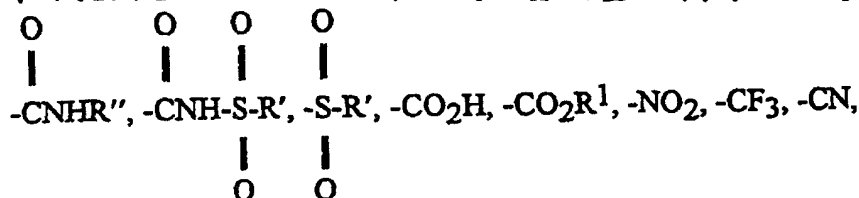


I

其中

X 为苯基或取代的苯基；

Y 为苯基、取代的苯基；其中，取代的苯基可具有 1-5 个取代基，每一个取代基彼此独立地选自 $-OC_1-C_{12}$ 烷基、卤素、 $-C_1-C_6$ 烷基、苯基、



$-\text{NR}^1\text{R}^1$, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{R}^1$, $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^1$,

四唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ -四唑基、咪唑基、 $-(\text{CH}_2)_n$ 咪唑基、 $-\text{CH}=\text{CH}$ -四唑基或 $-\text{CH}=\text{CH}$ -咪唑基；

每一 R^1 独立地为氢或 C_1-C_6 烷基；

每一个 n 独立地为 0-5 (含)；

R'' 为氢、 C_1-C_6 烷基或苯基；和

R' 为氢、 C_1-C_6 烷基、 $-\text{CF}_3$ 或苯基。

b. 使标记的化合物有足够的时间与淀粉样沉积物进行缔合 (associated)；和

c. 检测与淀粉样沉积物缔合的标记的化合物。

在该方法的一个优选实施方案中，患者患有或怀疑患有老年性痴呆。

在该方法的一个优选实施方案中，标记的化合物为放射性标记的化合物。

在该方法的一个优选实施方案中，标记的化合物采用 MRI 进行检测。

发明详述

术语“烷基”是指直链或支链的烃基。烷基的代表性实例为甲基、乙

基、丙基、异丙基、异丁基、丁基、叔丁基、仲丁基、戊基和己基。

优选的烷基为 C_1-C_6 烷基。

术语“烷氧基”是指连接有氧原子的烷基。烷氧基的代表性实例包括甲氧基、乙氧基、叔丁氧基、丙氧基和异丁氧基。

术语“卤素”包括氯、氟、溴和碘。

术语“取代的”是指分子的一个或多个氢原子被另一个原子或原子基团取代。例如，取代基包括卤素、 $-OH$ 、 $-CF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_1-C_6 \text{ 烷基})$ 、 $-N(C_1-C_6 \text{ 烷基})_2$ 、 $C_1-C_6 \text{ 烷基}$ 、 $-OC_1-C_6 \text{ 烷基}$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-CO_2H$ 和 $-CO_2C_1-C_6 \text{ 烷基}$ 。

术语“取代的苯基”是指其中 1-4 个氢原子彼此独立地被一个取代基代替的苯环，优选取代基选自上面列出的那些。其实例包括 3-氯苯基、2,6-二溴苯基、4-硝基苯基、3,4,5-三甲氧基苯基和 3-二乙氨基苯基。

符号“-”是指共价键。

本文中所采用的术语“可药用盐、酯、酰胺和前药”是指本发明化合物的羧酸盐、氨基酸加成盐、酯、酰胺和前药，在合理的药物判断范围内，它们适用于与患者的组织进行接触，无毒、无刺激性、无过敏反应等，具有合理的效益/风险比，对其使用目标是有效的，本发明的化合物在可能时还为两性离子形式。术语“盐”是指本发明化合物相对无毒的无机和有机酸加成盐。这些盐可在化合物的最后分离与纯化期间就地生产，或者分别通过使游离碱形式的纯化后的化合物与适宜的有机或无酸进行反应，再分离形成的盐。代表性的盐包括：氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、乙酸盐、草酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、茶甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖酸盐和十二烷基磺酸盐等。它们可包含基于碱金属和碱土金属的阳离子，如钠、锂、钾、钙、镁等，以及无毒的铵、季铵和胺阳离子，包括但不限于：铵、四甲基铵、四乙基铵、甲基胺、二甲基胺、三甲基胺、三乙基胺、乙胺等（例如参见，Berge S. M.

等, 药用盐 (Pharmaceutical Salts), 药学杂志 (J. Pharm. Sci.), 66: 1-19 (1977), 该文献引入本文作为参考)。

药理学上可接受的实例, 本发明化合物无毒酯包括 C_1 - C_6 烷基酯, 其中, 烷基为直链或支链。可接受的酯还包括 C_5 - C_7 环烷基酯和芳香基烷基酯, 例如但不限于苄基。优选 C_1 - C_4 烷基酯。本发明化合物酯可以根据常规的方法制备。

药理学上可接受的实例, 本发明化合物无毒酰胺包括来自氨、伯 C_1 - C_6 烷基胺和仲 C_1 - C_6 二烷基胺的酰胺, 其中该烷基为直链或支链。在仲胺的情况下, 该胺还可以是含有一个氮原子的 5-或 6-元杂环。优选来自氨、 C_1 - C_3 烷基伯酰胺和 C_1 - C_2 二烷基仲酰胺的酰胺。可以根据常规方法制备本发明化合物的酰胺。

术语“前体药物”指在体内快速转化得到上式的母体化合物的化合物, 例如通过在血液中的水解。在 T. Higuchi 和 V. Stella, 作为新的给药体系的前体药物 (Pro-drugs as Novel Delivery Systems), Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series 和药物设计中的生物可逆的载体 (Bioreversible Carriers in Drug Design), ed. Edward B. Roche, 美国药学会 (American Pharmaceutical Association) 和 Pergamon Press, 1987 中提供了详细的讨论, 本文引用二者作为参考。

此外, 本发明的化合物可以未溶剂化或与药理学上可接受的溶剂如水、乙醇等溶剂化的形式存在。一般而言, 认为在本发明目的方面溶剂化形式等同于未溶剂化形式。

本发明化合物可以由于该化合物中不对称中心的存在而以不同的立体异构体形式存在。考虑该化合物的所有立体异构形式和其混合物, 包括外消旋混合物构成本发明部分。

在本发明成像方法的第一步, 将式 I 的标记化合物以可检测量引入到组织或患者。该化合物一般为药学组合物的部分并采用现有技术中已知的方法给予组织或患者。

在本发明的方法中，可以口服、直肠、不经肠道(静脉内、肌内或皮下)、脑池内、阴道内、腹膜内、膀胱内、局部(散剂、软膏或滴剂)给药，或者作为口腔或鼻喷雾剂。

适于肠胃外注射的组合物可以包括生理学上可接受的无菌水或非水溶液、分散体、悬浮体或乳剂和用于重新构成无菌可注射溶液或分散体的无菌粉剂。适宜的含水和无水载体、释释剂、溶剂或赋形剂的实例包括水、乙醇、多元醇(丙二醇、聚乙二醇、甘油等等)、其适宜的混合物、植物油(如橄榄油)和可注射的有机酯如油酸乙酯。可以保持良好的流动性，例如可以采用包衣如卵磷脂，在分散体的情况下保持所需的颗粒大小和采用表面活性剂。

这些组合物还可以包括助剂如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。可以采用各种抗菌和抗真菌剂如 parabens、氯丁醇、苯酚、山梨酸等来防止微生物的作用。它还可以适宜的包括等渗剂如糖、氯化钠等等。采用延迟吸收剂如单硬脂酸铝和明胶可以产生延时吸收的可注射药剂。

用于口服的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性成分与至少一种惰性的常规赋形剂(或载体)混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或者(a)填充剂和膨胀剂，如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸；(b)粘合剂如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c)湿润剂，如甘油；(d)崩解剂，如琼脂-琼脂、碳酸钙和碳酸钠；(e)溶解阻滞剂如石蜡；(f)吸收加速剂，如季铵化合物；(g)湿润剂如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h)吸附剂如高岭土和皂粘土；和(i)润滑剂，如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂酰硫酸钠或它们的混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下，该剂型还可以包括缓冲剂。

类似类型的固体组合物还可以用作采用赋形剂如乳糖或乳糖如高分子量的聚乙二醇等的软-和硬填充明胶胶囊的填充剂。

可以用包衣和壳如肠包衣和现有技术中已知的其它包衣制备固体剂型如片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒剂。它们可以含有遮光剂并还可以是这样的组合物：以延时的方式在肠道的某一部分释放出活性化合

物。可以用于包埋组合物的实例是聚合物物质和蜂蜡。如果合适的话，该活性化合物还可以是与一种或多种上述赋形剂一起的微囊包束的形式。

用于口服的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除了这些活性化合物以外，该液体剂型可以含有现有技术中常用的惰性稀释剂，如水和其它溶剂、助溶剂和乳化剂，如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苧醇、苯甲酸苧酯、聚乙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油，尤其是棉籽油、野豆油、玉米胚芽油、橄榄油、海狸油和芝麻油、甘油、氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯或者这些物质的混合物等等。

除了这些惰性稀释剂以外，该组合物还可包括助剂如湿润剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

悬浮液除了该活性化合物以外，可以含有助悬剂，如乙氧基化的异硬脂醇、聚氧化乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯，微晶纤维素、间氢氧化铝、皂粘土、琼脂-琼脂和黄芪胶或者这些物质的混合物等等。

直肠给药的组合物优选为可以通过混合本发明混合物与适宜非电离赋形或载体如可可油、聚乙二醇或栓剂蜡等的栓剂，它在常温下为固体但在体温下为液体，因而它在直肠或阴道内溶解并释放出活性成分。

用于局部给予本发明化合物的剂型包括软膏、散剂、喷雾剂和吸入剂。在无菌条件下将该活性成分与生理学上可接受的载体和任何防腐剂、缓冲剂或可能需要的抛射剂混合。本发明的范围内还考虑眼用制剂、眼用软膏、散剂和溶液。

在本发明的优选的实施方案中，将标记化合物以可检测的数量引入到患者，并在经过足够时间使该化合物变成与淀粉状蛋白沉积物缔合之后，在患者体内非侵入性检测该标记化合物。在本发明的另一实施方案中，将式 I 的标记化合物引入到患者，并使该化合物有足够的时间变成与淀粉状蛋白沉积物缔合，然后从患者身上取出组织试样，在患者之外检测组织中的该标记化合物。在本发明的另一实施方案中，从患者身上取出组织试样并将式 I 的标记化合物引入到该组织试样上。在充足的时间使该化合物与淀粉状蛋白沉积物结合后，检测该化合物。

可以通过普遍的或局部给药途径将该标记化合物给予患者。例如，可以通过使该标记化合物被全身转运而将其给予患者。或者，将该标记化合物给予有兴趣的特定的器官或组织。例如，需要在脑部定位和定量淀粉状蛋白沉积物以诊断或跟踪患者阿耳茨海默氏病的进展。

术语“组织”是指患者身体的部分。组织的实例包括脑、心脏、肝脏、血管和动脉。可检测量为由所选择的检测方法检测所需的标记化合物数量。本领域技术人员可以容易地确定用于测定引入到患者身上的标记化合物的数量。例如，可以将增大数量的标记化合物给予患者直到用所选择的检测方法检测到该化合物。将该标记引入到该化合物中以检测该化合物。

术语“患者”是指人或其它动物。本领域技术人员也熟悉确定使化合物与淀粉状蛋白沉积物缔合的足够的时间的量。可以通过以下方法容易地测定所需的时间：将可检测量的式 I 的标记化合物引入到患者身上，然后在给药后的各时间处检测该标记化合物。式 I 的标记化合物为任何具有至少一个作为其结构的一部分的放射性元素的其化合物。

术语“缔合”是指标记化合物和淀粉状蛋白沉积物之间的化学相互作用。缔合的实例包括共价键、离子键、亲水-亲水相互作用、疏水疏水相互作用和配合物。

本领域技术人员熟悉各种检测标记化合物的方法。例如，可以使用磁共振成像(MRI)、正电子发射体层摄影术(PET)或单光子发射计算机体层摄影术(SPECT)检测放射标记的化合物。引入到化合物的标记将取决于所需的检测方法。例如，如果选择 PET 作为检测方法，则该化合物必须具有正电子发射原子如 ^{11}C 或 ^{18}F 。

式 I 化合物中适宜标记的另一实例为诸如 ^{13}C 、 ^{15}N 或 ^{19}F 的原子，可以采用有时还被称为核磁共振(NMR)的磁共振成像(MRI)检测这些原子。此外，可以通过 MRI 采用顺磁性造影剂检测式 I 的标记化合物。可以通过标准合成方法容易地制备具有放射性元素作为其结构一部分的化合物。

另一种检测的实例为电子顺磁性共振(EPR)。在这种情况下，可以使用现有技术中已知的 EPR 探针如硝基氧化物(nitroxides)。

还可以定量进行淀粉状蛋白沉积物成像以可以检测淀粉状蛋白沉

积物的数量。

本发明还提供了一种抑制淀粉状蛋白聚集形成淀粉状蛋白沉积物的方法，它通过给予需要抑制淀粉状蛋白聚集的患者一种淀粉状蛋白抑制量的式 I 化合物。本领域技术人员可以容易地通过简单地给予患者式 I 的化合物，并增大用量直至淀粉状蛋白沉积物的生长减少或停止来测定淀粉状蛋白抑制量。可以采用成像或从患者上抽取组织试样并观察其中的淀粉状蛋白沉积物来评价其生长率。

需要抑制淀粉状蛋白聚集的患者为具有淀粉状蛋白聚集的疾病或病症的患者。这种疾病和病症的实例包括地中海热、默-韦综合症、自发性骨髓瘤、淀粉状蛋白性多神经病、淀粉状蛋白性心肌病、系统性老年淀粉样变性、淀粉状蛋白多神经病、具有淀粉样变性的遗传性小脑出血、阿耳茨海默氏病、唐氏综合症、瘙痒病、克罗伊茨费尔特-雅各布疾病、库鲁病、格-施-沙综合症、甲状腺骨髓癌、分离的心房淀粉状蛋白、渗析患者的淀粉状 β_2 -微球蛋白、包埋体肌炎、肌肉消耗性疾病的 β_2 -淀粉状蛋白沉积物、镰状细胞性贫血、帕金森氏病和朗格罕岛糖尿病 2 型胰岛肿瘤。

本发明还提供了式 I 的标记化合物，其中已用放射性同位素取代该化合物中的一或多个原子。该放射性同位素可以是任意的放射性同位素。但是优选 ^3H 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{11}C 和 ^{18}F 。本领域技术人员熟悉用于往化合物中引入放射性同位素的方法。例如，制备其中的一个碳原子为 ^{11}C 和 ^{14}C 的式 I 的化合物，因为它是一种标记化合物。

可以以大约 0.1-1,000mg 每天的剂量水平将本发明的化合物给予患者。对于体重约为 70kg 的正常成年人，每天大约 0.01-100mg 每公斤体重的剂量足矣。但是可以采用特定的剂量。例如，该剂量取决于许多因素包括患者的需求、所治疗疾病的严重性和所用化合物的药理学活性。本领域技术人员已知具体患者的最佳剂量的测定。

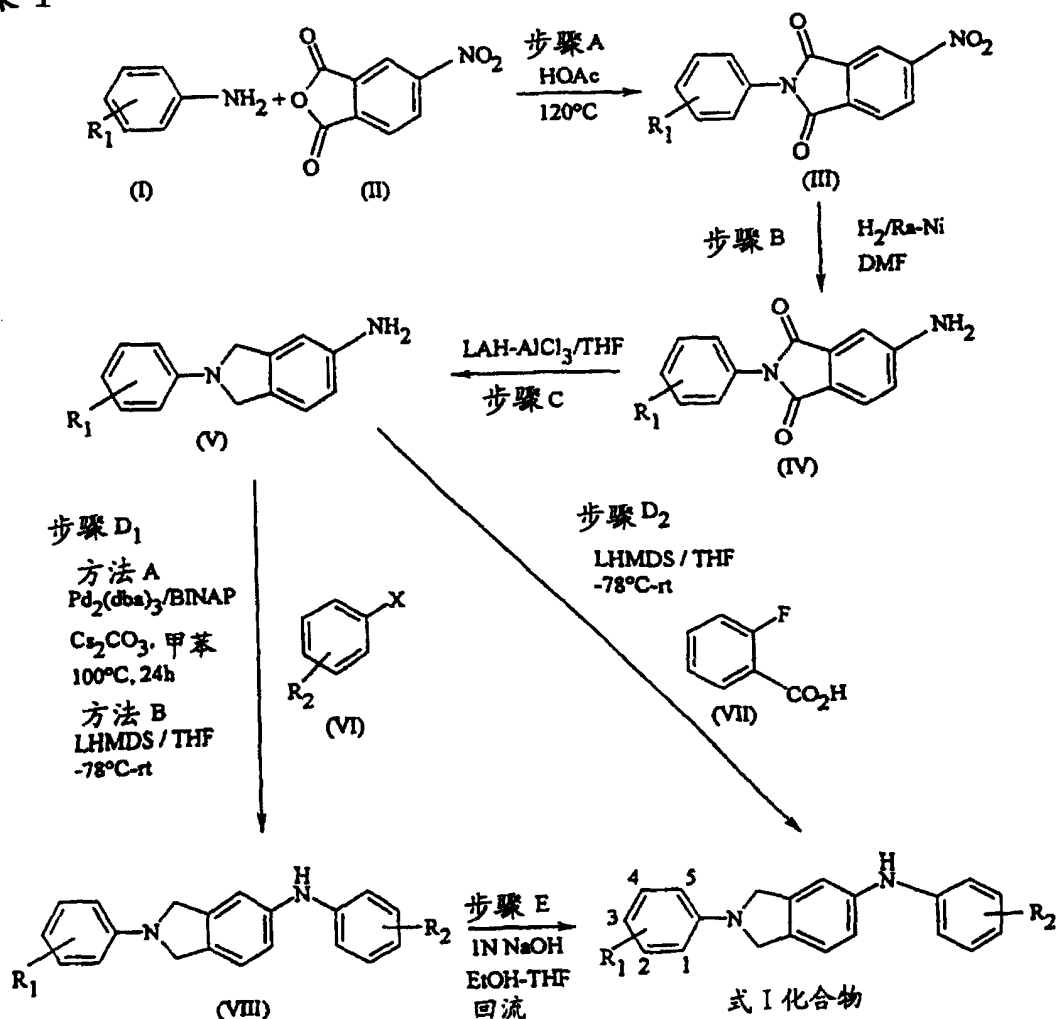
以下所示的实施例意在说明本发明的具体实施方案，而不是意图以任何方式限定说明书，包括权利要求。

实施例

可以通过在方案 1 所列的合成途径制备式 I 的化合物。适宜取代的

苯胺(I)和 5-硝基异苯并呋喃 1,3-二酮(II)或类似取代的呋喃在乙酸中被加热时产生对应的邻苯二甲酰亚胺(III)。(III)的标准氢化条件如 Raney-nickel/DMF, 产生还原的邻苯二甲酰亚胺(IV)。采用标准还原剂如氢化锂铝还原邻苯二甲酰亚胺(IV)产生胺(V)。采用 Buchwald 反应条件(J. F. Hartwig, Angew: Chem. Int. Ed 1998: 37: 2046-2067), 通过在碳酸铯、三(二亚苄基丙酮)-二钯(0)和(S)-(2,2'-二(二-对甲苯基膦酰基)-1,1'-联萘)(BINAP)的存在下使(V)和各种取代的 2-溴苯甲酸甲基酯(VI)反应, 可将(V)转化为(VIII)(方法 A)。此外, 还可以通过在二甲基双(三甲基甲硅烷基)氨基化锂(LHMDS)的存在下使(V)与各种取代的 2-氟苯甲酸甲基酯的反应而得到(VIII)(方法 B)。然后采用标准条件如含水氢氧化钠皂化(VIII)得到期望的式 I 取代的异二氢吲哚。此外, 可以通过在 LHMDS 的存在下使(V)与 2-氟苯甲酸(VII)反应而将(V)直接转化成式 I 的化合物。

方案 I



实施例 1

制备 2-[2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸

步骤 A: 制备 5-硝基-2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)异吲哚-1,3-二酮

将 2,3,4-三甲氧基苯基胺 (91.61 g, 0.50 mol) 和 5-硝基异苯并呋喃-1,3-二酮 (96.56 g, 0.5 mol) 在乙酸 (1000 mL) 中的混合物加热回流 2 小时。冷却后, 滤出沉淀, 用 H₂O (1 L), 1N NaOH (1.5 L) 和 H₂O (1 L) 洗涤。将形成的沉淀用沸腾的 MeOH 研制, 过滤, 随后在真空炉 (67℃) 中干燥 16 小时, 得到一种所需产物的黄色固体 144.0 g (0.40 mol, 80%)。

熔点 (mp) 245-247℃。对 C₁₇H₁₄N₂O₄ 的实验分析: 计算值: C, 56.98; H, 3.94; N, 7.82; 实测值: C, 56.80; H, 4.08; N, 7.80。

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)异吲哚-1,3-二酮

在 Ra-Ni (12 g) 存在下, 在 28-36℃ ($\Delta P = 7.5$ psi) 下, 还原 5-硝基-2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)异吲哚-1,3-二酮 (89.0 g, 0.25 mol) 在 THF (1.25 L), MeOH (1.25 L) 和 DMF (100 mL) 中的样品。将反应混合物过滤, 并将滤液进行真空浓缩, 在真空炉 (67℃) 中干燥 16 小时, 得到所需产物的灰白色固体 81.6 g (0.25 mol, 85%), mp > 280℃。对 C₁₇H₁₆N₂O₅ 的实验分析: 计算值: C, 62.09; H, 4.92; N, 8.52; 实测值: C, 61.71; H, 4.94; N, 8.48。

步骤 C: 制备 2-(2,3,4-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

在 -40℃ 下, 将 AlCl₃ (8.12 g, 60.92 mmol) 的 THF (200 mL) 溶液缓慢地加至 LiAlH₄ (1M/THF, 183 mL, 182.75 mmol) 的 THF (100 mL) 悬浮液中, 将其搅拌 10 分钟。将温度升至 0℃, 再缓慢地滴加入 5-氨基-2-(2,3,4-三甲氧基苯基)-异吲哚-1,3-二酮 (20.0 g, 60.92 mmol)

的 THF (500 mL) 悬浮液。将反应混合物搅拌 3 小时，同时升温至室温。将混合物再冷却至 0℃，小心地加入 25% NaOH (33 mL)，然后加入 H₂O (7.3 mL)。然后，将该混合物在室温下搅拌 2 小时，用硅藻土过滤，浓缩，在 60℃ 的真空炉中干燥 16 小时，得到所需产物的苍白色固体 10.8 g (35.96 mmol, 59%)，mp: 213-215℃。对 C₁₇H₂₀N₂O₃·0.14H₂O 的实验分析：计算值：C, 67.41; H, 6.75; N, 9.25; 实测值：C, 67.03; H, 6.62; N, 8.98。

步骤 D1: 制备 2-[2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸甲酯

在氮气氛围下，将 2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (1.2 g, 4.0 mmol)，2-溴-苯甲酸甲酯 (0.72 g, 3.3 mmol)，碳酸铯 (1.52 g, 4.7 mmol)，三(二亚苺基丙酮)-二钯(0) (91 mg, 0.1 mmol) 和 (S)-(2,2'-二(二对甲苯基膦酰基)-1,1'-联萘 (98%, (S)-tol-BINAP) (102 mg, 0.15 mmol) (L/Pd = 1.5) 在无水甲苯 (30 mL) 中的混合物在 100℃ 下加热 24 小时。冷却后，将反应混合物用乙醚稀释，用硅藻土过滤，充分用乙醚漂洗。将滤液蒸发至干，得到一种褐色残余物。通过快速色谱纯化(硅胶，10% EtOAc/己烷)，得到 1.39 g (3.2 mmol, 80%) 的所需产物，mp 128-129℃。对 C₂₅H₂₆N₂O₅ 的实验分析：计算值：C, 69.11; H, 6.03; N, 6.45; 实测值 C, 69.39; H, 5.99; N, 6.13。

步骤 E: 制备 2-[2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸

将 2-[2-(2,3,4-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸甲酯 (1.30 g, 2.99 mmol) 和 1N NaOH(aq.) (20.0 mL) 在 EtOH (5.0 mL) 和 THF (20 mL) 中的溶液加热回流 16 小时。真空除去溶剂。将残余物用 H₂O 稀释，再用浓 HCl 酸化至 pH 1。过滤收集形成的沉淀，再与沸腾的 MeOH-H₂O (4:1) 研制，在真空炉中干燥 16 小时，得

到实施例 1 的化合物, 为一种褐色固体(0.96 g, 2.28 mmol, 76%), mp 194–195℃. 对 $C_{24}H_{24}N_2O_5$ 的实验分析: 计算值: C, 68.56; H, 5.75; N, 6.66; 实测值: C, 68.19; H, 5.57; N, 6.47.

实施例 2

制备 5-硝基-2-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

在氮气氛围下, 将 2-(2,3,4-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺(1.81 g, 6.03 mmol), 2-溴-5-硝基-苯甲酸甲酯(1.49 g, 6.02 mmol), 碳酸铯(2.75 g, 8.44 mmol), 三(二亚苄基丙酮二钯(0))(166 mg, 0.18 mmol)和(S)-(2,2'-二(二对甲苯基膦酰基)-1,1'-联萘(98%, (S)-tol-BINAP)(184 g, 0.27 mmol) (L/Pd = 1.5) 在无水甲苯(30 mL)中的混合物在 100℃ 下加热 48 小时. 将反应混合物用乙醚稀释, 用硅藻土过滤, 充分用乙醚漂洗. 将滤液蒸发至干, 得到一种褐色残余物(6.3 g). 将形成的残余物溶解于 EtOH(10 mL)和 THF(20 mL)中, 加入 5N NaOH(aq.) (40 mL), 将混合物回流 16 小时. 真空除去溶剂. 将残余物用浓 HCl 酸化至 pH 3. 过滤收集形成的沉淀, 再与沸腾的 MeOH-H₂O(4:1)研制, 在真空炉中干燥 16 小时, 得到实施例 2 的化合物, 为一种黄色固体(1.8 g, 3.87 mmol, 64%). mp > 220℃. 对 $C_{24}H_{23}N_3O_7 \cdot 0.71H_2O$ 的实验分析: 计算值: C, 60.27; H, 5.15; N, 8.79; 实测值: C, 59.88; H, 4.90; N, 8.42.

实施例 3

制备 4-甲氧基-5-硝基-2-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

向冷却(-78℃)下的 2-(2,3,4-三甲氧基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺(535 mg, 1.78 mmol)的 THF(15 mL)溶液中滴加入 LHMDs(3.56 mL, 1 M 在 THF 中, 3.56 mmol). 将反应混合物在-78℃ 下搅拌 10 分钟. 再滴加入 2-氟-4-甲氧基-5-硝基-苯甲酸甲酯(408 g,

1.78 mmol)的 THF (10 mL)溶液。将该溶液在 -78°C 下搅拌 30 分钟。再将反应混合物逐渐升温至室温,再在氮气氛下搅拌 2 小时。将反应混合物用 EtOAc 稀释,再用 5N HCl 酸化(pH 3)。将有机层用干燥(Na_2SO_4),过滤和真空浓缩,得到一种褐色残余物。向该残余物的 EtOH (20 mL)和 THF (40 mL)溶液中,加入 5N NaOH(aq., 50 mL),再将混合物回流 16 小时。除去溶剂,将残余物用浓 HCl 酸化(pH 3)。过滤收集形成的沉淀,再与沸腾的 MeOH- H_2O (2:1)研制,在真空炉中干燥 16 小时,得到实施例 3 的化合物,为一种苍白色固体(550 g, 1.11 mmol, 62%). $\text{mp} > 200^{\circ}\text{C}$ 。对 $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_8 \cdot 0.42 \text{H}_2\text{O}$ 的实验分析:计算值: C, 59.09; H, 5.18; N, 8.35; 实测值: C, 59.30; H, 4.80; N, 8.24。

实施例 4

制备 2-[2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

步骤 A: 制备 2-(3,4-二氯苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 1 步骤 A 所述的过程,由 3,4-二氯苯基胺(48.6 g, 0.3 mol)和 5-硝基-异苯并呋喃-1,3-二酮(57.9 g, 0.3 mol)在乙酸(50 mL)中制备标题化合物,获得所需产物的黄色固体 72.6 g (0.22 mol, 72%), $\text{mp} 210-211^{\circ}\text{C}$ 。对 $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2$ 的实验分析:计算值: C, 49.88; H, 1.79; N, 8.31; 实测值: C, 49.71; H, 1.87; N, 8.34。

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(3,4-二氯苯基)-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 1 步骤 B 所述的过程,由 2-(3,4-二氯苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮(106.9 g, 0.32 mol), Ra-Ni (5 g)在 THF (0.8 L)中在 $20-76^{\circ}\text{C}$ (AP = 9.5 psi)下制备标题化合物,获得所需产物的黄色固体 80.0 g (0.26 mol, 81%), $\text{mp} 255-257^{\circ}\text{C}$ 。对 $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2$ 的实验分析:计算值: C, 54.74; H, 2.63; N, 9.12; 实测值: C, 54.59; H, 2.65; N, 9.57。

步骤 D1 : 制备 2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

采用实施例 1 步骤 C 所述的过程, 由 5-氨基-2-(3, 4-二氯苯基)-异吲哚-1, 3-二酮 (15.0 g, 0.049 mol), AlCl_3 (6.51 g, 0.049 mol), LiAlH_4 (5.56 g, 0.147 mol) 在 THF (1000 mL) 中制备标题化合物, 获得所需产物的黄褐色固体, 12.23 g (0.044 mol, 90%), mp 207-209 °C. 对 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2$ 的实验分析: 计算值: C, 60.23; H, 4.33; N, 10.03; 实测值: C, 59.91; H, 4.36; N, 9.90.

步骤 C: 制备 2-[2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基] 苯甲酸

采用实施例 2 所述的过程, 由 2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (4.04 g, 14.47 mmol), 2-溴-苯甲酸甲酯 (2.59 g, 12.06 mmol), 碳酸铯 (5.50 g, 16.88 mmol), 三(二亚苄基丙酮)-二钯(0) (331 mg, 0.36 mmol) 和 (S)-(2, 2'-二(二-对甲苯基膦酰基)-1, 1'-联萘 (98%, (S)-tol-BINAP) (368 g, 0.54 mmol) ($\text{L/Pd} = 1.5$) 在无水甲苯 (80 mL) 和 5N NaOH(aq.) (100 mL) 在 EtOH (20 mL) 和 THF (40 mL) 中制备标题化合物, 得到所需产物的褐色固体, 3.11 g (7.79 mmol, 54%), mp > 210 °C. 对 $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$ 的实验分析: 计算值: C, 63.17; H, 4.04; N, 7.02; Cl, 17.76; 实测值: C, 63.31, H, 3.94; N, 6.73; Cl, 17.75.

实施例 5

制备 2-[2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸

采用实施例 2 所述的过程, 由 2-(3, 4-二氯苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (3.00 g, 10.75 mmol), 2-溴-5-硝基苯甲酸甲酯 (2.67 g, 10.75 mmol), 碳酸铯 (4.90 g, 15.04 mmol), 三(二亚苄基丙酮)-二钯(0) (295 mg, 0.32 mmol) 和 (S)-(2, 2'-二(二-对甲苯基膦酰基)-1, 1'-联萘 (98%, (S)-tol-BINAP) (328 g, 0.48 mmol) ($\text{L/Pd} = 1.5$) 在无水甲苯 (80 mL) 中和 5N NaOH(aq.) (100 mL) 在 EtOH (40 mL)

和 THF (100 mL) 中制备标题化合物, 得到所需产物的褐色固体, 3.64 g (8.19 mmol, 76%), mp > 222°C. 对 $C_{21}H_{15}N_3O_4Cl_2 \cdot 0.1H_2O \cdot 0.25MeOH$ 的实验分析: 计算值: C, 56.21; H, 3.60; N, 9.25; 实测值: C, 56.54; H, 3.74; N, 8.86.

实施例 6

制备 2-[2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-甲氧基-5-硝基-苯甲酸

采用实施例 3 所述的过程, 由 2-(3,4-二氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (801 mg, 2.87 mmol), LHDMS (5.74 mL, 1 M 的 THF 溶液, 5.74 mmol), 2-氯-4-甲氧基-5-硝基-苯甲酸甲酯 (658 g, 2.87 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液和 5N NaOH (aq., 100 mL) 的 EtOH (20 mL) 和 THF (40 mL) 溶液制备标题化合物, 得到所需产物的褐色固体, 1.07 g (2.26 mmol, 79%), mp > 230°C. 对 $C_{22}H_{17}N_3O_5Cl_2$ 的实验分析: 计算值: C, 55.71; H, 3.61; N, 8.86; 实测值: C, 55.43; H, 3.57; N, 8.80.

实施例 7

制备 2-[2-(3-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

步骤 A: 制备 2-(3-氯苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮

将 3-氯苯胺 (31.89 g, 0.25 mol) 和 5-硝基-异苯并呋喃-1,3-二酮 (48.28 g, 0.250 mol) 在乙酸 (800 mL) 中的混合物加热回流 4.5 小时 (130-140°C). 冷却后, 滤出沉淀, 用水 (650 mL), 1N NaOH (330 mL) 和水 (500 mL) 洗涤, 得到一种白色固体状的产物, 61.01g (0.202 mol, 81%), mp 210-212°C. 对 $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$ 的实验分析: 计算值: C, 55.56; H, 2.33; N, 9.26; 实测值: C, 55.78; H, 1.69; N, 9.15.

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(3-氯苯基)-异吲哚-1,3-二酮

由 2-(3-氯-苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮 (60.94 g, 0.20 mol)

的 DMF (1.2 L) 溶液制备, 并在 Ra-Ni (60 g) 存在下, 在 $22-28^{\circ}\text{C}$ ($AP = 6.0 \text{ psi}$) 下还原, 制备标题化合物。将反应混合物过滤, 并将滤液进行真空浓缩, 然后在 60°C 下的真空炉中干燥 18 小时, 获得所需产物的绿色固体 54.31g (0.20 mol, 99%), mp $203-205^{\circ}\text{C}$ 。对 $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$ 的实验分析: 计算值: C, 61.66; H, 3.33; N, 10.27; 实测值: C, 61.27; H, 3.40; N, 9.98。

步骤 C: 制备 2-(3-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

在 -40°C 下, 将 AlCl_3 (4.89 g, 0.037 mol) 的 THF (200 mL) 溶液缓慢地加至 LiAlH_4 (4.17g, 0.110 mol) 的 THF (150 mL) 悬浮液中, 将其搅拌 10 分钟。将温度升至室温, 再搅拌 10 分钟。滴加入 5-氨基-2-(3-氯苯基)-异吲哚-1,3-二酮 (10 g, 0.037 mol) 的 THF (300 mL) 溶液。将反应物搅拌 3 小时, 同时将溶液升温至室温。再将反应物冷却至 0°C , 并先用 30% NaOH (20 mL), 再用 H_2O (40 mL) 使反应停止。将溶液用硅藻土过滤, 浓缩和在 60°C 的真空炉中干燥 16 小时, 得到所需产物, 为一种浅褐色固体, 5.24 g (0.021 mol, 58%), mp $178-186^{\circ}\text{C}$ 。对 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2 \cdot 0.11 \text{ mol H}_2\text{O}$ 的实验分析: C, 68.16; H, 5.40; N, 11.36; 实测值: C, 68.33; H, 5.46; N, 10.96。

步骤 D2: 制备 2-[2-(3-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

在 -78°C 下, 向 THF (100 mL) 中的 2-(3-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (3 g, 0.012 mol) 中滴加入 LHDMS (36.78 mL, 1 M 的 THF 溶液, 36.78 mmol), 并在 -78°C 下搅拌 10 分钟。滴加入 2-氯苯甲酸 (1.72 g, 0.012 mol) 的 THF (100 mL) 溶液, 将溶液在 -78°C 下搅拌 1 小时, 然后使其逐渐升温至室温, 并搅拌 16 小时。将反应混合物浓缩, 用 3M HCl (100 mL) 酸化, 然后用 CH_2Cl_2 (3 x 150 mL) 萃取。将有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤和真空浓缩, 获得一种褐色固体。将产物溶解于 MeOH (25 mL) 中, 并在室温下搅拌 10 分钟。中入水以沉淀出残

余物。将产物过滤，并用 1:4 MeOH: H₂O (400 mL) 洗涤，得到所需产物的褐色固体，1.02 g (2.80 mmol, 23%)，mp 209–212 °C。对 C₂₂H₁₇N₃O₅Cl₂·0.29mol H₂O 的实验分析：C, 68.16; H, 4.79; N, 7.57; 实测值：C, 67.76; H, 4.56; N, 7.83。

实施例 8

制备 2-[2-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

步骤 A: 制备 2-(4-氯苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 1 步骤 A 的过程，由 4-氯苯基胺 (19.14 g, 0.150 mol) 和 5-硝基-异苯并呋喃-1,3-二酮 (28.97 g, 0.150 mol) 在乙酸 (300 mL) 中制备标题化合物，获得所需产物的橙色固体，42.49 g (0.140 mol, 94%)，mp 198–200 °C。对 C₁₄H₆N₂O₄Cl₂ 的实验分析：计算值：C, 55.56; H, 2.33; N, 9.26; 实测值：C, 55.52; H, 1.74; N, 8.90。

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(4-氯苯基)-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 1 步骤 B 的过程，由 2-(4-氯苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮 (41.68 g, 0.138 mol)，Ra-Ni (40 g) DMF (1.0 L)，在 20–27 °C (AP = 28.5 psi) 制备标题化合物，获得所需产物的绿色固体，40.13 g (0.147 mol, 107%)，mp 0.228–230 °C。对 C₁₄H₈N₂O₂Cl₂·0.34 mol H₂O 的实验分析：C, 60.31; H, 3.50; N, 10.05; 实测值：C, 59.92; H, 4.05; N, 11.01。

步骤 C: 制备 2-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

采用实施例 1 步骤 C 的过程，由 5-氨基-2-(4-氯苯基)-异吲哚-1,3-二酮 (10.0 g, 0.037 mol)，AlCl₃ (4.89 g, 0.037 mol)，LiAlH₄ (4.17 g, 0.110 mol) 在 THF (650 mL) 中制备标题化合物，获得所需产物的褐色固体，6.39 g (0.026 mol, 71%)，mp 204–210 °C。对 C₁₄H₁₂N₂Cl₂ 的实验分析：计算值：C, 68.72; H, 5.35; N, 11.45; 实测值：C, 68.54; H, 5.39; N, 11.16。

步骤 D2: 制备 2-[2-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

采用实施例 1 步骤 D2 的过程, 由 2-(4-氯苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (3 g, 0.012 mol), LHDMS (36.78 mL, 1 M 的 THF 溶液, 36.78 mmol), 2-氯苯甲酸 (1.72 g, 0.012 mol) 在 THF (200 mL) 中制备标题化合物, 获得所需产物的褐色固体 1.26 g (0.003 mol, 28%), mp 210-212℃. 对 $C_{22}H_{17}N_3O_5Cl_2 \cdot 0.11 \text{ mol } H_2O$ 的实验分析: C, 68.76; H, 4.73; N, 7.64; 实测值: C, 68.39; H, 4.47; N, 7.76.

实施例 9

制备 2-[2-(3,4-二甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

步骤 A: 制备 2-(3,4-二甲基苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 7 步骤 A 的过程, 由 3,4-二甲基苯胺 (30.30 g, 0.250 mol) 和 5-硝基异苯并呋喃-1,3-二酮 (48.28 g, 0.250 mol) 在乙酸 (500 mL) 中制备标题化合物, 获得所需产物的黄色固体, 63.37 g (0.234 mol, 94%), mp 173-174℃. 对 $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$ 的实验分析: 计算值: C, 64.86; H, 4.08; N, 9.45; 实测值: C, 64.87; H, 3.74; N, 9.39.

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(3,4-二甲基苯基)-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 7 步骤 B 的过程, 由 2-(3,4-二甲基苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮 (63.37 g, 0.213 mol), Ra-Ni (50 g) DMF (1.0 L), MeOH (500 mL), 在 22-32℃ ($\Delta P = 4.8 \text{ psi}$) 下制备标题化合物, 获得所需产物的褐色固体, 57.67 g (0.217 mol, 100%), mp 215-218℃. 对 $C_{14}H_{18}N_2O_2Cl_2 \cdot 0.06 \text{ mol } H_2O$ 的实验分析: C, 71.87; H, 5.32; N, 10.48; 实测值: C, 71.49; H, 5.17; N, 10.49.

步骤 C: 制备 2-(3,4-二甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

采用实施例 7 步骤 C 的过程, 由 5-氨基-2-(3,4-二甲基苯基)-异吲哚-1,3-二酮 (7.5 g, 0.028 mol), AlCl_3 (3.75 g, 0.028 mol), LiAlH_4 (3.19 g, 0.084 mol) 在 THF (725 mL) 中制备标题化合物, 获得所需产物的浅褐色固体, 4.69 g (0.020 mol, 70%), mp 152-155 °C. 对 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2 \cdot 0.09 \text{ mol H}_2\text{O}$ 的实验分析: C, 80.09; H, 7.64; N, 11.67; 实测值: C, 79.72; H, 7.45; N, 11.49.

步骤 D2: 制备 2-[2-(3,4-二甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

采用实施例 7 步骤 D2 的过程, 由 2-(3,4-二甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺 (4 g, 0.017 mol), LHDMS (50.34 mL, 1 M 的 THF 溶液, 50.34 mmol), 2-氟-苯甲酸 (2.35 g, 0.017 mol) 在 THF (200 mL) 中制备标题化合物, 获得所需产物的褐色固体, 2.95 g (0.008 mol, 49%), mp 198-202 °C. 对 $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{Cl}_2 \cdot 0.52 \text{ mol H}_2\text{O}$ 的实验分析: C, 75.11; H, 6.31; N, 7.62; 实测值: C, 74.73; H, 6.02; N, 7.75.

实施例 10

制备 2-[2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

步骤 A: 制备 2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 7 步骤 A 的过程, 由 5-氨基-2-氯三氟甲苯 (48.89 g, 0.250 mol) 和 5-硝基异苯并呋喃-1,3-二酮 (48.28 g, 0.250 mol) 在乙酸 (500 mL) 中制备标题化合物, 获得所需的灰白色固体, 84.4 g (0.222 mol, 90%), mp 165-168 °C. 对 $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2$ 的实验分析: 计算值: C, 48.61; H, 1.63; N, 7.56; 实测值: C, 48.50; H, 1.29; N, 7.37.

步骤 B: 制备 5-氨基-2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-异吲哚-1,3-二酮

采用实施例 7 步骤 B 的过程, 由 2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-5-硝基-异吲哚-1,3-二酮(55.88 g, 0.150 mol), Ra-Ni(11.5 g) DMF(1.0 L)在 27℃ ($\Delta P = 4.5$ psi)下制备标题化合物, 获得所需产物的黄色固体, 56.60 g(0.166 mol, >100%), mp 198-201℃. 对 $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2 \cdot 0.42$ mol H_2O 的实验分析: C, 51.73; H, 2.56; N, 8.04; 实测值: C, 52.12; H, 2.70; N, 7.62.

步骤 C: 制备 2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺

采用实施例 7 步骤 C 的过程, 由 5-氨基-2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-异吲哚-1,3-二酮(7.5 g, 0.022 mol), $AlCl_3$ (2.94 g, 0.022 mol), $LiAlH_4$ (2.51 g, 0.066 mol)在 THF(700 mL)中制备标题化合物, 获得所需产物的黄色固体, 5.78 g(0.018 mol, 84%), mp 148-151℃. 对 $C_{14}H_{12}N_2Cl_2 \cdot 0.26$ mol H_2O 的实验分析: C, 56.76; H, 3.98; N, 8.83; 实测值: C, 56.42; H, 3.79; N, 8.43.

步骤 D2: 制备 2-[2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸

采用实施例 7 步骤 D2 的过程, 由 2-(4-氯-3-三氟甲基苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺](1.75 g, 0.006 mol), LHDMS(16.80 mL, 1 M 的 THF 溶液, 16.80 mmol), 2-氯-苯甲酸(0.79 g, 0.006 mol)在 THF(200 mL)中制备标题化合物, 获得所需产物的褐色固体, 0.690 g(0.002 mol, 28%), mp 229-233℃. 对 $C_{22}H_{17}N_3O_5Cl_2 \cdot 0.47$ mol H_2O 的实验分析: C, 59.88; H, 3.87; N, 6.35; 实测值: C, 59.48; H, 3.81; N, 6.60.

实施例 11

制备 2-[2-(3-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸

步骤 D2: 制备 2-[2-(3-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基基]-5-硝基-苯甲酸

在-78℃下,向来自实施例7步骤C的2-(3-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-胺(2 g, 0.008 mol)的THF(100 mL)溶液中滴加入LHDMS(24.51 mL, 1 M的THF溶液, 24.15 mmol),并在-78℃下搅拌10分钟。滴加入2-氯-5-硝基-苯甲酸(1.51 g, 0.008 mol)的THF(100 mL)溶液,将溶液在-78℃下搅拌1小时,逐渐升温至室温,再搅拌16小时。将反应物浓缩,再用3M HCl(100 mL)酸化。滤出形成的固体,用10% HCl酸化,然后真空干燥,获得一种褐色固体。将产物用MeOH和水进行重结晶,得到所需产物的褐色固体,0.250 g(0.0006 mmol, 7.5%), mp: 在130℃下发生颜色变化,不会熔化 > 260℃。对 $C_{21}H_{16}N_3O_4Cl \cdot 0.24 \text{ mol } H_2O$ 的实验分析: C, 60.90; H, 4.01; N, 10.15。实测值: C, 60.91; H, 4.01; N, 9.75。

在上述实施例所述的一般方法制备下述化合物。

实施例 12

2-[2-(3,4-二甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 280℃。对 $C_{23}H_{21}N_3O_4$ 的实验分析: 计算值: C, 68.26; H, 5.27; N, 10.38; 实测值: C, 67.87; H, 5.17; N, 10.29。

实施例 13

2-(2-苯基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸. mp 220-224℃。对 $C_{21}H_{18}N_2O_4$ 的实验分析: 计算值: C, 75.97; H, 5.52; N, 8.44; 实测值: C, 75.59; H, 5.70; N, 8.40。

实施例 14

2-[2-(3-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 260℃。对 $C_{21}H_{16}ClN_3$ 的实验分析: 计算值: C, 60.90; H,

4.01; N, 10.15; 实测值: C, 60.91; H, 4.01; N, 9.75.

实施例 15

2-[2-(4-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 275℃, MS 410(MH⁺).

实施例 16

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基]-[2-(1H-四唑-5-基)-苯基]-胺按照实施例 4 所述合成, 采用四唑氟中间体, 其是由商购的 2-氟苯甲腈和叠氮化钠采用标准反应条件制得. mp 203-208℃, MS 423(M⁺).

实施例 17

5-氨基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸是由来自实施例 5 的硝基衍生物与氢气在雷内镍存在下反应制备的, mp 242-244℃. 对 C₂₁H₁₇Cl₂N₃ 的实验分析: 计算值: C, 60.08; H, 4.43; N, 9.79; 实测值: C, 60.44; H, 4.22; N, 9.40.

实施例 18

5-硝基-2-(2-苯基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸. mp > 265℃. 对 C₂₁H₁₇N₃O₄ 的实验分析: 计算值: C, 67.19; H, 4.56; N, 11.19; 实测值: C, 66.98; H, 4.30; N, 10.86.

实施例 19

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 260℃. 对 C₂₂H₁₅ClF₃ 的实验分析: 计算值: C, 51.55; H, 3.71; N, 8.20; 实测值: C, 51.15; H, 3.41; N, 8.17.

实施例 20

2-[2-(3-氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 265℃, MS 392(M').

实施例 21

2-[2-(3-甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸. mp > 290℃. 对 $C_{22}H_{19}N_3O_5$ 的实验分析: 计算值: C, 64.52; H, 4.91; N, 10.12; 实测值: C, 64.84; H, 4.90; N, 9.72.

实施例 22

2-[2-(3-氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸. MS 349(M'). 对 $C_{21}H_{17}FN_2$ 的实验分析: 计算值: C, 70.79; H, 5.06; N, 7.86; 实测值: C, 70.41; H, 4.80; N, 7.68.

实施例 23

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-氟-苯甲酸. mp 230-236℃, MS 417(M').

实施例 24

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-烟酸. mp 213-225℃. $C_{20}H_{15}Cl_2N_3$ 实验分析: 计算值: C, 59.80; H, 3.80; N, 10.46; 实测值: C, 59.41; H, 3.82; N, 10.21.

实施例 25

2-[2-(3,4,5-三甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苄腈. mp 129-131℃. $C_{24}H_{23}N_3O_3$ 实验分析: 计算值: C: 71.80; H, 5.77; N, 10.47; 实测值: C, 72.09; H, 5.64; N, 10.23.

实施例 26

2-[2-(3-甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲

酸。mp 206-211℃。

通式 I 的本发明的化合物也可采用组合工艺过程制备。该过程可以少量地迅速合成用于实验目的的多种由通式 I 包括的类似物，然后，大多数有效的化合物可通过常规方法大量合成。例如，对于通式 II 的化合物来说，一种典型的组合合成工艺过程是使卤代的苯甲酸酯与胺异吲哚进行反应，形成相应的芳基氨基异吲哚，随后将其皂化成通式 I 的羧酸(例如，其中 y 为苯甲酸部分)。该反应按照下述在 0.15 mmol 的规模下进行。将卤代的苯甲酸酯反应物(0.18 M)的甲苯溶液放置在 2 个微量反应瓶中。将氨基异吲哚反应物溶解于无水甲苯中得到 0.15M 的溶液。采用 Distriman 移液管向每个微量反应瓶中加入 1 mL(0.15 mmol, 1 当量)的卤代苯甲酸酯溶液，这些反应瓶中包含 1 mL(0.18 mmol, 1.2 当量)的氨基异吲哚反应物。通过在甲苯中溶解 0.025 M 的 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (二钯-三二亚苄基丙酮)和 0.075 M 的 BINAP(2, 2'-二(二苯基膦酰基)-1, 1'-联萘)制得催化剂溶液，向每个反应瓶中加入 0.25 mL 的催化剂溶液。再向每个反应瓶中加入一种碱，通常另入碳酸铯(68 mg, 0.21 mmol, 1.40 当量)，将反应瓶盖盖，放置在摇动烘箱中，并在 100℃ 下加热 48 小时。然后，将反应混合物冷却，通过蒸发除去反应溶剂。将固体残余物悬于 400 μL 的乙酸乙酯中，过滤除去所有的催化剂。将滤液经蒸发浓缩至干，得到通式 I 的化合物，其中，苯甲酸部分被酯化(如苄基或甲基酯)。将酯溶解于 500 μL 的 THF/乙醇(1:1 v/v)中，向其中加入 300 μL 的 5 M 氢氧化钠。将溶液在 60℃ 下摇动 5 小时，然后冷却并通过蒸出溶剂而浓缩至干，得到所需的通式 I 的化合物。

按照如上所述的过程也可制备下述化合物：

2-(2-苯基-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸；

5-硝基-2-(2-苯基-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸；

2-[2-(3, 4-二氯-苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苄腈；

[2-(3, 4-二氯-苯基)-2, 3-二氢-1H-异吲哚-5-基-](2-四唑-1-

基-苯基)-胺;

{2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯基}乙酸;

3-{2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯基}-丙酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-6-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲磺酰基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-氯磺酰基-苯甲酸;

4-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-间苯二甲酸;

3-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-邻苯二甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-三氟甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-咪唑-1-基-苯甲酸;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-]-(2-四唑-1-基-甲基-苯基)-胺;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-]-[2-(2-四唑-1-基-乙基)-苯基]-胺;

[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基-]-[2-(2-四唑-1-基-乙烯基)-苯基]-胺;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3-甲基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3,5-二硝基-苯甲酸;

3-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-2-甲基苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-甲氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-丙氧基-苯甲酸;

4-丁氧基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-戊氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-己氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-庚氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-辛氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-壬氧基-苯甲酸;

4-癸氧基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-4-异

丙氧基-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-(2-联苯-4-基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-硝基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲氧基-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-3-硝基-苯甲酸;

3-硝基-2-{2-[(4aS,8aR)-4-(八氢-异喹啉-2-基)-苯基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基}-苯甲酸;

2-{2-[(4aS,8aR)-4-(八氢-异喹啉-2-基)-苯基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基}-苯甲酸;

4-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-烟酸;

2-[2-(4-二丁基氨基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯甲酸;

2-[2-(3-二丁基氨基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3-溴-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(2-氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

5-二丁基氨基-2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-5-甲氧基-苯甲酸;

4-[2-(3,4-二氯-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-间苯

二甲酸;

2-(2-联苯-4-基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基)-苯甲酸;

2-[2-(3,4-二甲氧基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-
苯甲酸;

2-[2-(3,4-二羟基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯
甲酸;

2-[2-(3,4-二氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲
酸;

2-[2-(3-氟-4-甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]苯
甲酸;

2-[2-(3,4,5-三羟基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-
苯甲酸;

2-[2-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨
基]-苯甲酸;

2-[2-(3,5-二氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲
酸;

2-[2-(2,4-二氟-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨基]-苯甲
酸; 或

2-[2-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基氨
基]-苯甲酸。

已在淀粉状蛋白研究的普通技术人员所常规采用的体内和体外测定标准中评估了式 I 化合物,其目的是评估该化合物在防止淀粉状蛋白形成及其聚集中的用途以及确定其治疗与淀粉状蛋白有关的疾病如阿耳茨海默氏病中的潜在用途。以下的测定为良好建立的作为临床应用预测。

生物学实施例

淀粉状蛋白测定

BASSR(β -淀粉状蛋白自播种 (self-seeding) 放射测定)

测定自播种淀粉状蛋白原纤维生长抑制剂

材料:

储备液:

测定缓冲剂-50mM 磷酸钠, pH 7.5, 100 mM NaCl, 0.02% NaN₃, 1M 尿素(过滤并在 4℃ 下贮存).

在贮存 1 周以后, 在去离子 H₂O 中的可溶 A β (1-40) 肽 (Bachem, Torrance, CA)-2.2 mg/mL (在-20℃ 下等分试样贮存, 融化时保持在冰上) 将自播种. 一般应将该溶液贮存直至在该测定中没有观察到迟滞期.

在 100% 乙腈-0.1% 三氟乙酸 (TFA)-1% β -氢硫基乙醇中的 ¹²⁵I-标记的 A β (1-40)-150K-350K cpm/ μ L (-20℃ 下等分试样贮存).

可以根据 H. LeVine, III 在 Neurobiol. Aging, 16: 755 (1995) 中提出的方法制备 ¹²⁵I-标记的 A β (1-40), 本文引用其作为参考, 或者这种反应剂可以从 Amersham, Arlington Heights, Illinois 购得.

最终测定条件: 每一测定在测定缓冲剂的去离子水中的 30 μ M 可溶 A β (1-40)+ 20-50Kcpm ¹²⁵I-标记的 A β (1-40). 将用于测试的化合物溶于二甲基亚砷 (DMSO), 一般 5-50 mM 贮存物, 使得在测定中的 DMSO 的最终浓度为 < 1% v/v.

测定: 用于 50 个测定 (在冰上) 的反应混合物包括 0.1-0.2 μ L 的 ¹²⁵I-标记的 A¹²⁵I-标记的 A β (1-40)+1 μ L 可溶 A β (1-40)+13.5 μ L 测定缓冲剂每一测定. 以下为足以用于 50 测定孔的反应混合物成分数量.

干燥过的 5-10 μL ^{125}I -标记的 $\text{A}\beta$ (1-40)

675 μL 测定缓冲剂

50 μL 可溶 $\text{A}\beta$ (1-40)

测定方法

1) 通过混合组分并在冰上贮存而制备反应混合物。

2) 移取 14.5 μL 的反应混合物至处在冰上的聚丙烯 U 底 96-孔微滴平皿 (Costar 3794) 的 50 孔中的每一孔。

3) 将 1.7 μL 的欲测试的稀释化合物到每一八柱孔中, 包括溶剂对照。

在测定缓冲剂中从 1 mM 连续 3 倍稀释 (最终 100 μM)-尿素=7 稀释物+零。因此每个 96-孔平皿可以容纳 11 份试样+1 刚果红对照 (在 2-重步骤中最终 0.039-5 μM)。

4) 用铝薄膜 (Beckman 538619) 密封该平皿并在冰上培养 10 分钟。

5) 升高温度至 37 $^{\circ}\text{C}$ 并培养 3-5 小时 (取决于肽的批量)。

6) 除去铝薄膜并加入 200 μL /孔的冰冷测定缓冲剂和尿素, 通过 96-孔平皿上的 0.2 μm 孔大小的 GVWP 过滤器 (Millipore MAGV N22, Bedford, MA) 上的真空过滤收集放射标记的纤维。采用本领域技术人员已知的标准方法测定过滤器的放射性。

BASST (β -淀粉状蛋白自播种, 硫黄素 T (Thioflavin T))

测定自播种淀粉状蛋白原纤维生长抑制剂

方法:

材料:

储备液:

测定缓冲剂-50mM 磷酸钠, pH 7.5, 100 mM NaCl, 0.02% NaN₃, 1M 尿素(过滤并在 4℃下贮存).

在贮存 1 周以后, 在去离子 H₂O 中的可溶 Aβ (1-40) 肽-2.2 mg/mL (在-20℃下等分试样贮存, 融化时保持在冰上)将自播种。一般应将该溶液贮存直至在该测定中没有观察到迟滞期。

最终测定条件: 在测定缓冲剂的去离子水中的 30μM 可溶 Aβ (1-40)。将欲测试的化合物溶于 DMSO, 一般 5-5mM 贮存物, 使得在该测定中 DMSO 的最终浓度为<1%v/v。

测定: 用于 50 个测定(在冰上)的反应混合物包括 1μL 可溶 Aβ (1-40)+13.5μL 测定缓冲剂每一测定。以下为用于 50 个测定孔的每一孔的反应混合物成分数量。

50 μL 可溶 Aβ (1-40)

675μL 测定缓冲剂

测定方法

- 1) 通过混合组分并在冰上贮存而制备反应混合物。
- 2) 移取 14.5μL 的反应混合物至处在冰上的聚丙烯 U 底 96-孔微滴平皿(Corning 25881-96)的 50 孔中的每一孔。
- 3) 将 1.7μL 的欲测试的稀释化合物到每一八柱孔中, 包括溶剂对照。在测定缓冲剂中从 1 mM 连续 3 倍稀释(最终 100 μM)-尿素=7 稀释物+零。因此每个 96-孔平皿可以容纳 11 份试样+1 刚果红对照(在 2-重步骤中最终 0.039-5 μM)。
- 4) 用铝薄膜熔封该平皿并在冰上培养 10 分钟。
- 5) 升高温度至 37℃并培养 3-5 小时(取决于肽的批量)。
- 6) 除去铝薄膜并加入 250 μL/孔的在 50mM 甘氨酸-NaOH, pH 8.55μM 中的硫黄素(ThT) [T-3516, Sigma-Aldrich], 5 分钟内读取

平皿阅读器上的荧光(ex = 440 nm/20 nm; em = 485 nm/20 nm)。

BAPA(β -淀粉状蛋白肽聚集)

该测定用于提供测定化合物对 β 淀粉状蛋白肽的聚集行为的抑制作用。

该测定的目的在于提供采用基于过滤的末端测定来测定 β 淀粉状蛋白聚集体的更高容量的方法。在该测定中，六氟异丙醇(HFIP)用于分解最初的淀粉状蛋白肽至单体状态并采用 33pM 的浓度，这种高浓度足以使在 PH6.0 下的聚集在数小时后发生。

方法:

6-淀粉状蛋白肽聚集, pH 6.0(BAPA)

在 96-孔平皿(Costar 3794)中, 加入 25 μ l 50 mM 磷酸盐缓冲剂, 在 20% HFIP 中的 pH 6.0, 10 μ L 0.5 mg/mL 的 A β (1-40) 肽+ 0.1 μ L/ 测定放射碘处理的 ^{125} I A β (1-40) [^{125} I A β (1-40)] 和 1 μ L 起始于 50 mM 的受试化合物和浓度 < 1 的 DMSO。然后在室温下培养 2-4 小时。用 200 μ l 50mM 的磷酸盐缓冲剂, PH 6.0 终止反应并通过 0.2 μ m 96-孔过滤平皿 (Millipore MAGU N22) 过滤。用 100 μ l 的相同磷酸盐缓冲剂洗涤该过滤平皿。在用 Meltilex(1450-441) 浸渗该过滤器后和校正背景后在 Microbeta 计数器上检测聚集

BATYM 测定

方法:

所需的A β (1-42) (加利福尼亚肽)从它的六氟异丙醇(HFIP)储备液中干燥得到。将A β (1-42)溶于二甲基亚砜(DMSO)然后与磷酸盐缓冲盐水 (PBS) (pH 7.4) 混合。通过 0.2 μ M Omnipore 膜注射过滤器 (Millipore, Bedford, MA) 过滤该混合的A β (1-42)溶液。将在DMSO中的受试化合物(50倍浓缩)置于96-孔平皿中的每一孔(0.5 μ L/孔)。将A β (1-42)溶液加到每一孔(24.5 μ L/孔)。在1,000 g下将该平皿离心5分钟并在37 $^{\circ}$ C培养1天(A β 1-42; 最终浓度100 M)。

培养后, 将在甘氨酸-NaOH 缓冲剂(pH 8.5, 50 mM)中的硫黄素 T (ThT) (30 μ M)溶液加到每孔(250 μ L/孔), 采用荧光平皿阅读器测定荧光 (ex. 440/20 nm; em 485/20 nm)。用下式计算抑制活性作为荧光的减少。

抑制作用 (%) = $\{ (F(A\beta) - F(A\beta + \text{化合物})) / \{ F(A\beta) - F(\text{溶剂} + \text{化合物}) \} \} \times 100$

通过采用以下方程式的曲线匹配程序计算 IC₅₀ (导致 50%聚集抑制作用所需的受试化合物浓度)。数据来自三重实验中的两组不同实验。

抑制作用 (x) = $100 - 100 / \{ 1 + (x / IC_{50})^n \}$,

x = 受试化合物的浓度

IC₅₀ = (M),

n = Hill 系数。

在前面的测定中, 式 I 的代表性化合物已表现出约为 1 μ M 至大于 100 μ M 范围的抑制活性(IC₅₀)。这些对本发明的具体代表性化合物的测定的结果如以下表 1 所示。

表 1

淀粉状蛋白抑制活性

实施例 号	BASSR IC ₅₀ μM	BASST IC ₅₀ μM	BATYM IC ₅₀ μM	BAPA IC ₅₀ μM
1	5, 6, 10, 5 (P) 30,20 (Q) >100,15 (R)	2, 1.6 (P) 3, 3 (Q) 15, 15 (R)	11.3 (P) 46.4 (Q) 59.7 (R)	72
2	30, 7.5, 10	2, 2, 2	14.1	
3	15, 6.2, 3.1, 4, 6, 4.5, 10, 12	3, 2.1	17.4	64
4	12, 11, 11 (P) 15, 15, 15, (Q)	2, 2, 2 (P) 2 (Q)	26.1 (P) 22.2 (Q)	101 (P) >100, 93 (Q)
5	5, 4.1, 3	3, 3, 3	11.4	
6	7, 7, 12 (P) 4, 5 (Q)	1 (P) 1.5 (Q)	13.5 (P) 14.6 (Q)	14
7	90, 80, >100	1.1	37.3	28
8	>100, >100	1	33.4	19
9	>100 (ppt), >100	1.5	32.9	13
10	100, 58, 55, 70	3	34.6	16
11	2.5, 3.8, 5.2, 1.2 (P)	0.8, 1	12.6	>100
12	>100 (ppt)	1.1	11.7	5
13	>100 (P) >100 (Q) >100 (R) 52 (S) 60 (T)	1 (P) 8 (Q) 30 (R) 4 (S) 2 (T)	90.2, 60 (P) >100 (Q) >100 (R) 79.7 (S) 83 (T)	4, 21 (P) 32 (Q) 11 (R)
14	2.5, 1.2, 3.8, 5.2	0.8, 1.0	12.6	>100
15	>100, >100	0.6	32.5	>100
16	>100, >100 (ppt)	1.8	29.5	86
17	20 (ppt), 80	1.5	20	40

表 1 (续)

实施例 号	BASSR IC ₅₀ μM	BASST IC ₅₀ μM	BATYM IC ₅₀ μM	BAPA IC ₅₀ μM
18	7 (ppt), 4, 5	0.9, 1.0, 0.6	16.6	97
19	1.1 (v-形) 1 (v-形) 1 (v-形)	1.0	12.8	>10
20	>100	2	11.5	>60
21	7, 2.2, 2.0	0.7	9.64	>60
22	10, 3, 3, 6.5, 8	6, 2	84	>60
23	>100, 50, 70	3, 2, 2	34.1	62
24	5, 18, 18	0.8, 0.3, 0.3		
25	>100 (ppt), >100, >100	15	>100	25
26	>100 (ppt)	10	64.9	>60

特定数值后的括号内字母表示受试化合物的批量。例如，10(P)表示受试化合物来自批量P。如果没有指定批量，则该化合物的批量为批量P。P、Q、R、S和T为该化合物的不同批量。

本发明的化合物还在常用于评估药剂治疗与淀粉状蛋白聚集相关的疾病，特别是阿耳茨海默氏病和其它淀粉样变性的体内标准测定中表现出良好的活性。在一种测定中，通过皮下注射硝酸银、Freund's完全佐剂和静脉内注射淀粉状蛋白增强因子而将淀粉状蛋白引到小鼠的脾上。每天给予硝酸银，经过11天。从第1天起至第11天每天给予小鼠受试化合物。在第12天将动物处死并除去脾脏，组织分离，用刚果红染色并用显微镜定量被双折射的刚果红染色的淀粉状蛋白所占据的脾脏百分区域。

另一种已评估本发明化合物的体内测定采用转基因小鼠。该小鼠携带人 β -淀粉状蛋白前体蛋白转基因和启动子，如Hsiao等人所述，“转基因小鼠中的相关的记忆缺陷，A β 升高，和淀粉状蛋白斑，”Science 1966；274：99-102。这些转基因小鼠在约9月龄时产生 β -淀粉状蛋白沉积物。到15个月时，扩散和紧凑的衰老斑丰富，主要存在于新皮质、嗅球和海马。让8月龄的小鼠口服发明化合物(刚好就在发生淀粉状蛋白沉积之前)，并持续数个月(直至约14-18个月)。处死动物并除去脑。组织学和生物化学定量脑中淀粉状蛋白的数量。

以上的数据表明代表性的本发明化合物在用于测定蛋白聚集抑制作用的标准测定中具有活性。该化合物表现出优良的特异性，如在BASST测定和BATYM以及BAPA测定中所示。因此这些化合物用于临床上抑制淀粉状蛋白的聚集和成像淀粉状蛋白沉积物以用于诊断。该化合物将以药物制剂的形式使用，以下的实施例例举了典型的组合物。

实施例 27

片剂

成分	数量
实施例 1 的化合物	50mg
乳糖	80mg
玉米淀粉(用于混合)	10mg
玉米淀粉(用于粘合)	8mg
硬脂酸镁(1%)	2mg
	150mg

将实施例 1 的化合物与乳糖和玉米淀粉(用于混合)混合,并混合均匀至散剂。将玉米淀粉(用于粘合)悬浮在 6 mL 水中并搅拌加热形成糊剂。将该相加到该混合的散剂中并将该混合物制粒。将湿颗粒通过 8 号硬筛并在 50℃ 下干燥。用硬脂酸镁润滑该混合物并压制成片剂。以 1-4 颗每天的速率将该片剂给予患者以预防淀粉状蛋白的聚集和治疗阿耳茨海默氏病。

实施例 28

胃肠道外溶液

在 700ml 的丙二醇和 200ml 的注射用水溶液中加入 20.0g 的 9 号化合物。搅拌该混合物并用盐酸将 PH 调节至 5.5。用注射用水将体积调节至 1000ml。消毒该溶液,将其装填至 5.0ml 的安瓿中,每个安瓿含有 2.0 ml (40mg 的 8 号化合物)并在氮下封口。将该溶液注射给予患有甲状腺髓癌和需要治疗的患者。

实施例 29

贴剂

将 10 毫克的 2-{4-[3-(3,4-二氯-苯基)丙基]苯基氨基}苯甲酸与 1ml 丙二醇和 2μg 含有树脂交联剂的基于丙烯酸的聚合物粘合剂混合。

将该混合物用于非渗透性衬垫(30 cm²),并将其用于患者的上背以持续释放治疗淀粉状蛋白多神经病。

现在以如此完整、清楚、简明和确切的术语描述本发明及其制造与使用它的方式与方法以使任何属于本领域的技术人员制造和使用本发明。应该认识到,以上描述了本发明的优选实施方案,而在不背离权利要求所述的本发明的精神和范围的情况下可对本发明进行改动。为了特别指出和清楚地要求保护认为是本发明的主题,以下的权利要求概括了本说明书。