



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103524515 B

(45) 授权公告日 2016.07.06

(21) 申请号 201210226125.7

(22) 申请日 2012.07.03

(73) 专利权人 浙江海正药业股份有限公司

地址 318000 浙江省台州市椒江区外沙路
46号

(72) 发明人 白骅 赵旭阳 钟金清 龚永祥
朱齐凤 刘晓宇 郑晓鹤 刘礼飞

(51) Int. Cl.

C07D 491/056(2006.01)

C07D 491/113(2006.01)

A61K 31/454(2006.01)

A61K 31/4545(2006.01)

A61K 31/506(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

审查员 黄清昌

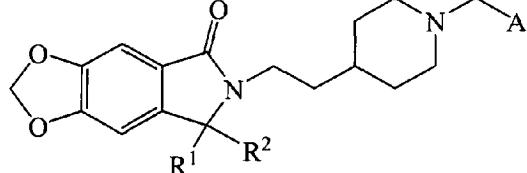
权利要求书6页 说明书33页 附图1页

(54) 发明名称

具有乙酰胆碱酯酶抑制活性的苯并间二氧杂环戊烯衍生物及其制备方法和用途

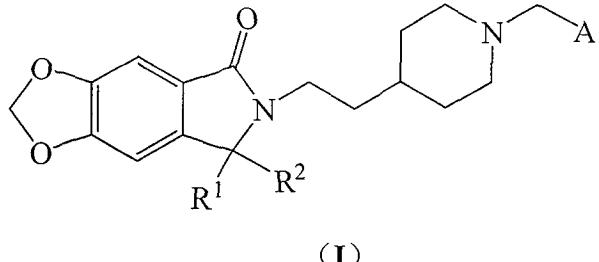
(57) 摘要

本发明提供一类新的苯并间二氧杂环戊烯衍生物以及这类化合物的制备方法。这类由式(I)所表示的化合物或其药学上可接受的盐具有乙酰胆碱酯酶抑制活性,可以用于治疗或者预防阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)。式(I)中的R¹、R²和A的定义见说明书。



(I)

1. 式(I)所表示的化合物,或其药学上可接受的盐:



其中

R¹和R²独立地选自以下基团:氢、甲基或乙基;R¹和R²可以合起来为=0;R¹和R²也可以环合起来形成三元环;

A选自以下基团:苯基、R³取代的苯基、吡啶基、R⁴取代的吡啶基、嘧啶基或R⁵取代的嘧啶基;

R³为1~5个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₂~C₃)烯基、(C₃~C₄)环烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;

R⁴为1~4个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₂~C₃)烯基、(C₃~C₄)环烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;

R⁵为1~3个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₂~C₃)烯基、(C₃~C₄)环烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中,R¹和R²独立地选自氢或甲基;R¹和R²合起来为=0;R¹和R²环合起来形成三元环。

3. 如权利要求2所述的化合物,其中,R¹和R²环合起来形成三元环。

4. 如以上任一项权利要求所述的化合物,其中,A选自苯基、R³取代的苯基、吡啶基、R⁴取代的吡啶基、嘧啶基、R⁵取代的嘧啶基;其中R³为1~5个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;R⁴为1~4个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;R⁵为1~3个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基。

5. 如权利要求4所述的化合物,其中,A选自苯基、R³取代的苯基、吡啶基、嘧啶基;其中R³为1~5个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁~C₃)烷基、(C₁~C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基。

6. 如权利要求5所述的化合物,其中,A选自苯基。

7. 如权利要求5所述的化合物,其中,A选自R³取代的苯基。

8. 如权利要求7所述的化合物,其中,A选自2-氟苯基、3-氟苯基、4-氟苯基或2,6-二氟苯基。

9. 如权利要求5所述的化合物,其中,A选自吡啶基。

10. 如权利要求9所述的化合物,其中,A选自2-吡啶基或3-吡啶基。

11. 如权利要求5所述的化合物,其中,A选自嘧啶基。

12. 如权利要求11所述的化合物,其中,A为嘧啶-2-基。

13. 如权利要求1所述的化合物,其中所述的化合物式(I)选自:

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-)

1)；

6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-2)；

6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-3)；

6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-4)；

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-5)；

6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-6)；

6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-7)；

6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-8)；

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-9)；

6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-10)；

6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-11)；

6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-12)；

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-13)；

6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-14)；

6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-15)；

6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-16)；

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-17)；

6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-18)；

6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-19)；

6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-20)；

6-[2-[1-[(2-氯苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-21);

6-[2-[1-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-22);

6-[2-[1-[(2-甲基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-23);

6-[2-[1-[(2-氰基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-24);

6-[2-[1-[(2,6-二氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-25);

6-[2-[1-[(2-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-26);

6-[2-[1-[(3-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-27);

6-[2-[1-[(4-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-28);

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29);

6-[2-[1-(3-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-30);

6-[2-[1-(4-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-31);

6-[2-[1-(嘧啶-2-基甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-32);

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-33);

6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-34);或

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮磷酸盐(I-35)。

14. 如权利要求1所述的化合物,其中化合物为:

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29)

或其药学上可接受的盐。

15. 如权利要求1所述的化合物,其中化合物为:

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29);

6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-33);或者

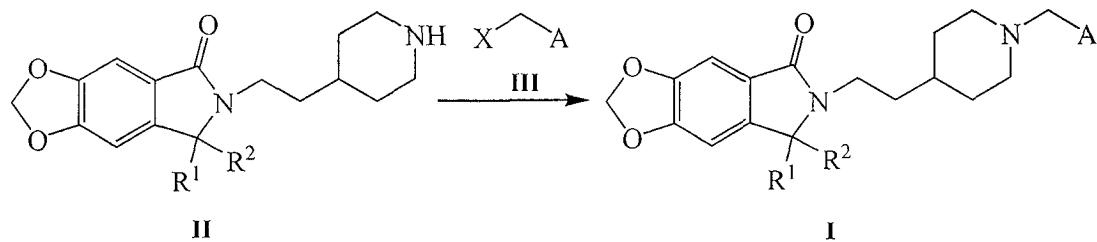
6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮磷酸盐(I-35)。

16. 药物组合物,其中包括有效剂量的权利要求1~15中任一项的式(I)化合物或者它们药学上可接受的盐。

17. 如权利要求1~15中任一项所述的化合物在制备用于治疗或者预防与乙酰胆碱酯酶抑制剂相关的疾病的药物中的应用。

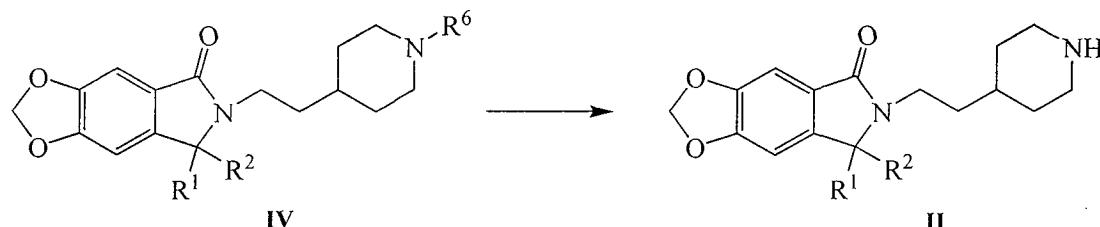
18. 如权利要求1~15中任一项所述的化合物在制备用于治疗或者预防阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)的药物中的应用。

19. 权利要求1所述的式(I)化合物的制备方法,所述方法包括:将式II所示的化合物与式III所示的化合物反应得到:



其中,R¹、R²、A如权利要求1所定义,X为卤素。

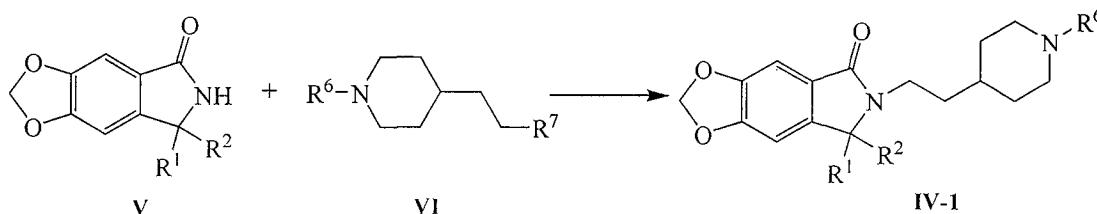
20. 如权利要求19所述的制备方法,其中式(II)化合物通过以下方法进行制备,包括:脱除式IV所示的化合物的氨基保护基:



其中,R¹和R²如权利要求1所定义;R⁶为氨基的保护基。

21. 如权利要求20所述的制备方法,其中R⁶为叔丁氧羰基(Boc)。

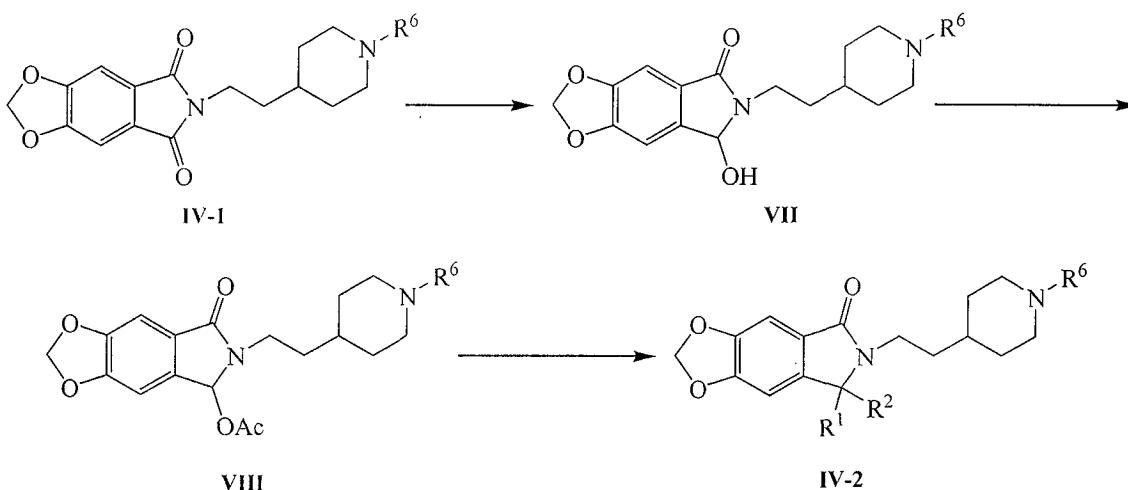
22. 如权利要求20所述的制备方法,其中R¹和R²合起来为=0的式IV化合物,即式IV-1化合物通过以下方法进行制备,包括:将式V所示的化合物与式VI所示的化合物反应得到:



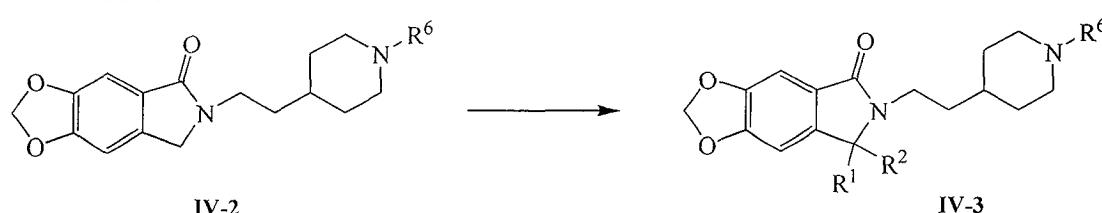
其中,R¹和R²合起来为=0;R⁶为氨基的保护基;R⁷为卤素或对甲苯磺酰基。

23. 如权利要求22所述的制备方法,其中R⁶为叔丁氧羰基(Boc)。

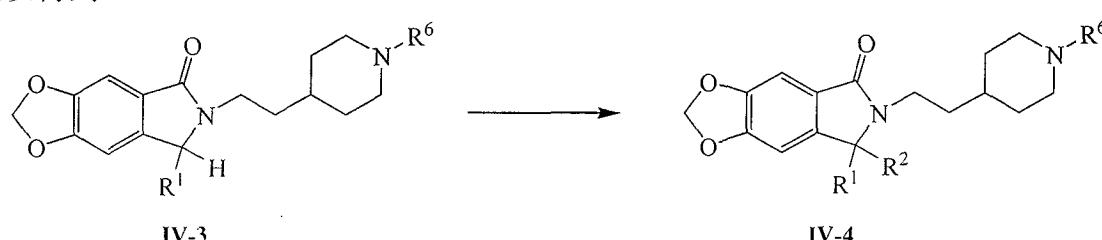
24. 如权利要求20所述的制备方法,其中R¹和R²均为氢的式IV化合物,即IV-2化合物通过以下方法进行制备,包括:将式IV-1所示的化合物先还原成醇,然后将形成的羟基转化成易离去的乙酰氧基,最后通过催化氢解将乙酰氧基脱掉以得到:



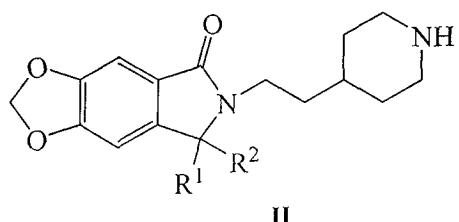
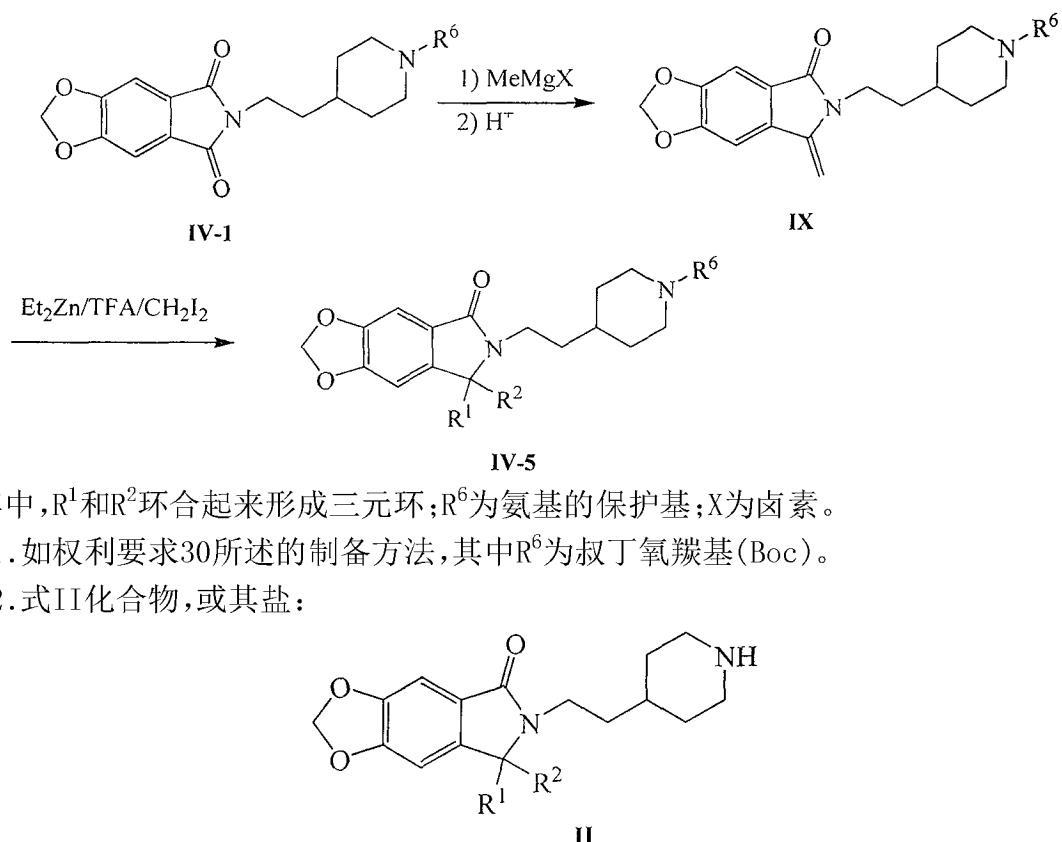
25. 如权利要求24所述的制备方法,其中R⁶为叔丁氧羰基(Boc)。
26. 如权利要求20所述的制备方法,其中R¹为甲基或乙基并且R²为氢的式IV化合物,即IV-3化合物通过以下方法进行制备,包括:对式IV-2所示化合物的5元内酰胺的亚甲基进行单烷基化以得到:



27. 如权利要求26所述的制备方法,其中R⁶为叔丁氧羰基(Boc)。
28. 如权利要求20所述的制备方法,其中R¹、R²为甲基或乙基的式IV化合物,即IV-4化合物通过以下方法进行制备,包括:将式IV-3所示化合物的与R¹相连的碳原子进一步进行烷基化以得到:



29. 如权利要求28所述的制备方法,其中R⁶为叔丁氧羰基(Boc)。
30. 如权利要求20所述的制备方法,其中R¹和R²环合起来形成三元环的式IV化合物,即IV-5化合物通过以下方法进行制备,包括:将式IV-1所示的化合物先与甲基格氏试剂反应形成醇,然后醇在酸性条件下脱水成烯,最后将产生的碳碳双键用Et₂Zn/TFA/CH₂I₂转化成三元环以得到:



其中, R¹和R²如权利要求1所定义。

具有乙酰胆碱酯酶抑制活性的苯并间二氧杂环戊烯衍生物及其制备方法和用途

发明领域

[0001] 本发明涉及一类新的苯并间二氧杂环戊烯衍生物,这类化合物具有乙酰胆碱酯酶抑制活性,可以用于治疗或者预防阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)。本发明也涉及到这类化合物的制备方法。

[0002] 发明背景

[0003] 随着老年人口的迅速增长,患有阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)的人数也随之急剧增加。阿尔茨海默氏症又被称为阿尔茨海默型痴呆(Alzheimer type dementia)或阿尔茨海默型老年痴呆(senile dementia of the Alzheimer type)。目前,虽然这种疾病在全球范围内的患病率仍然是未知的,但根据美国阿尔茨海默氏症协会(the Alzheimer's Association)的最新报告,2011年美国大约有540万人患有阿尔茨海默氏症,而到2050年,在美国患有该疾病的人数将增至约1350万左右。因此,研发药效更好且副作用更小的治疗这种疾病的新药实在是当务之急。

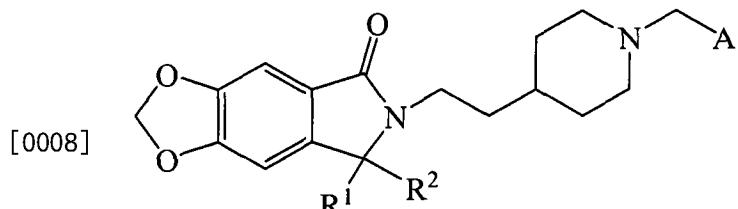
[0004] 阿尔茨海默氏症是最常见的一种老年痴呆,它已经成为美国人的第六大死因,而且是65岁以及65岁以上的美国人的第五大死因。虽然科学家已经对这种疾病进行了广泛而深入的研究,但迄今为止,对造成该疾病的确切原因仍不清楚。阿尔茨海默氏症是一种渐进性的疾病,它不断杀死神经细胞,破坏大脑中的神经连接,致使大脑中的组织被破坏,从而导致患者逐渐失去记忆、意识和判断力,并造成患者出现情绪紊乱和行为障碍。

[0005] 阿尔茨海默氏症是一种不可逆转的疾病,现在尚无任何药物可以预防这种疾病,也没有任何药物可以治愈这种疾病或者延缓这种疾病的进程。目前用于治疗该疾病的药物只能减轻或改善该疾病的症状。这些被美国FDA批准使用的药物共有5个,其中4个是乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase)抑制剂。乙酰胆碱(acetylcholine)是一种神经递质,是一种由神经释放的化学物质,它的作用就是刺激肌肉收缩,而乙酰胆碱酯酶的功能却是催化乙酰胆碱的水解,即分解乙酰胆碱。由于阿尔茨海默氏症伴随着乙酰胆碱活性的衰减,因此抑制乙酰胆碱酯酶就是治疗这种疾病的途径之一。目前,在临床使用的5个治疗阿尔茨海默氏症的药物,其中4个是乙酰胆碱酯酶抑制剂,这些乙酰胆碱酯酶抑制剂包括多奈哌齐(donepezil)、他克林(tacrine)、卡巴拉汀(rivastigmine)和加兰他敏(galantamine),其中多奈哌齐(Sugimoto et al.US4895841 and 5100901; Pathi et al.WO 2007077443; Parthasaradhi et al.WO 2005003092; Dubey et al.WO 2005076749; Gutman et al.WO 2000009483; Sugimoto et al.J.Med.Chem.1995,38,481)是治疗阿尔茨海默氏症的一线药物。然而,多奈哌齐和其它四个药物都只能改善病人的症状,而且就是这种只能改善症状的作用也是短暂的,仅能持续约6-12个月,并且病人对这些药物的响应率也只有50%左右(Alzheimer's Association, 2011 Alzheimer's Disease Facts and Figures, Alzheimer's & Dementia, 2011, 7(2), 208)。本发明提供一类新的乙酰胆碱酯酶抑制剂,这是一类新的苯并间二氧杂环戊烯衍生物,是比多奈哌齐更有效的且副作用更小的治疗阿尔茨海默氏症的药物。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一在于公开了一类新的乙酰胆碱酯酶抑制剂——苯并间二氧杂环戊烯衍生物或其药学上适用的盐。

[0007] 本发明所述的化合物可用式(I)表示:



(I)

[0009] 其中

[0010] R¹和R²独立地选自以下基团:氢、甲基或乙基;R¹和R²可以合起来为=0;R¹和R²也可以环合起来形成三元环;

[0011] A选自以下基团:苯基、R³取代的苯基、吡啶基、R⁴取代的吡啶基、嘧啶基或R⁵取代的嘧啶基;

[0012] R³为1~5个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₂-C₃)烯基、(C₃-C₄)环烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;

[0013] R⁴为1~4个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₂-C₃)烯基、(C₃-C₄)环烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;

[0014] R⁵为1~3个取代基,独立地选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₂-C₃)烯基、(C₃-C₄)环烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;

[0015] 或者其药学上可以接受的盐。

[0016] 其中上述R¹和R²优选氢或甲基、R¹和R²合起来为=0或R¹和R²环合起来形成三元环;更优选的是R¹和R²环合起来形成三元环。

[0017] 其中上述A优选苯基、R³取代的苯基、吡啶基、R⁴取代的吡啶基、嘧啶基、R⁵取代的嘧啶基,其中R³为1~5个取代基,优选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;R⁴为1~4个取代基,优选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基;R⁵为1~3个取代基,优选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基。

[0018] 其中上述A更优选苯基、R³取代的苯基、吡啶基或嘧啶基;其中R³为1~5个取代基,优选自以下基团:卤素、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲基或氰基。

[0019] 最优选的是,A为苯基、2-氟苯基、3-氟苯基、4-氟苯基、2,6-二氟苯基、2-吡啶基、3-吡啶基或嘧啶-2-基。

[0020] 更具体地说,其中所述的化合物式(I)选自:

[0021] 6-[2-(1-苯基-4-哌啶基)乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-1);

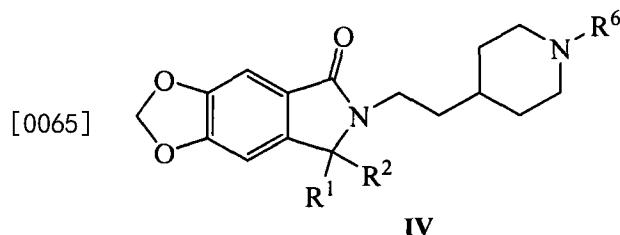
[0022] 6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-2);

- [0023] 6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-3);
- [0024] 6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(I-4);
- [0025] 6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-5);
- [0026] 6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-6);
- [0027] 6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-7);
- [0028] 6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-8);
- [0029] 6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-9);
- [0030] 6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-10);
- [0031] 6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-11);
- [0032] 6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(I-12);
- [0033] 6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-13);
- [0034] 6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-14);
- [0035] 6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-15);
- [0036] 6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(I-16);
- [0037] 6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-17);
- [0038] 6-[2-[1-[(2-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-18);
- [0039] 6-[2-[1-[(3-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-19);
- [0040] 6-[2-[1-[(4-氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-20);
- [0041] 6-[2-[1-[(2-氯苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-21);
- [0042] 6-[2-[1-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并

- [4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-22);
- [0043] 6-[2-[1-[(2-甲基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-23);
- [0044] 6-[2-[1-[(2-氯基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-24);
- [0045] 6-[2-[1-[(2,6-二氟苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-25);
- [0046] 6-[2-[1-[(2-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-26);
- [0047] 6-[2-[1-[(3-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-27);
- [0048] 6-[2-[1-[(4-甲氧基苯基)甲基]-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-28);
- [0049] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29);
- [0050] 6-[2-[1-(3-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-30);
- [0051] 6-[2-[1-(4-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-31);
- [0052] 6-[2-[1-(嘧啶-2-基甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-32);
- [0053] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-33);
- [0054] 6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-34);或
- [0055] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮磷酸盐(I-35)。
- [0056] 在上述化合物中,优选化合物为:
- [0057] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29)
- [0058] 或其药学上可接受的盐。
- [0059] 在上述化合物中,优选所述化合物为:
- [0060] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(I-29);
- [0061] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(I-33);或者
- [0062] 6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮磷酸盐(I-35)。
- [0063] 本发明的另一方面还涉及制备式(I)化合物所使用的中间体式IV和式II化合物,

如下所示：

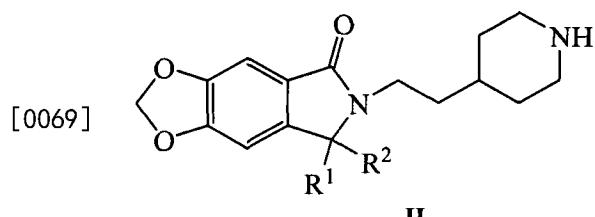
[0064] 式IV表示的化合物：



[0066] 其中

[0067] R¹和R²如上所定义；R⁶为氨基的保护基，优选叔丁氧羰基(Boc)；

[0068] 式II化合物，或其盐：



[0070] 其中，R¹和R²如上所定义。所述的盐是指与酸所形成的盐，其中，所述的酸选自盐酸、硫酸、三氟乙酸等。

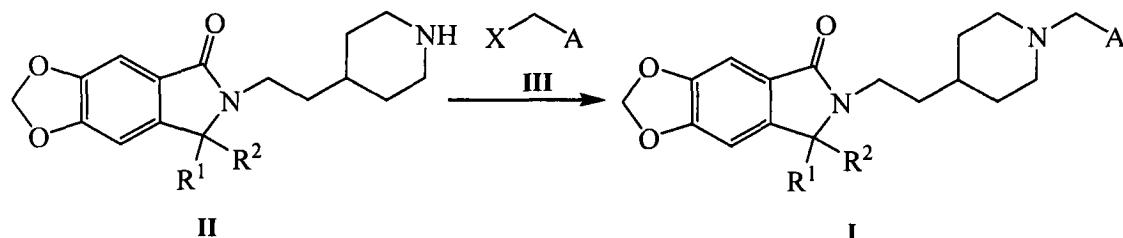
[0071] 本发明的第二方面公开了通式(I)化合物及其药物组合物在制备用于治疗或者预防与乙酰胆碱酯酶抑制剂相关的疾病的药物中的应用。

[0072] 本发明的又一方面在于公开了通式(I)化合物在制备用于治疗阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)的药物中的应用。

[0073] 本发明的另一方面在于药物组合物，其中包括有效量的本发明化合物或者它们药学上可接受的盐。本发明药物组合物中还可以包含与式(I)化合物相容的药学上适用载体。式(I)化合物可以用一般的剂型给药，如口服剂型和注射剂型，包括胶囊剂、片剂、粉剂、扁囊剂、混悬液剂和溶液剂，优选以口服剂型给药，更优选以口服剂型中的片剂和胶囊剂给药。剂型和药用组合物可以用常用的药学上适用的赋形剂和添加剂以及常用的技术制得。所述药学上适用的赋形剂和添加剂包括无毒性的可配伍的填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、矫味剂、增稠剂、着色剂、乳化剂等。

[0074] 本发明的目的之二在于公开所述苯并间二氧杂环戊烯衍生物(式I)的制备方法。所述方法包括：将式II所示的化合物与式III所示的化合物反应得到：

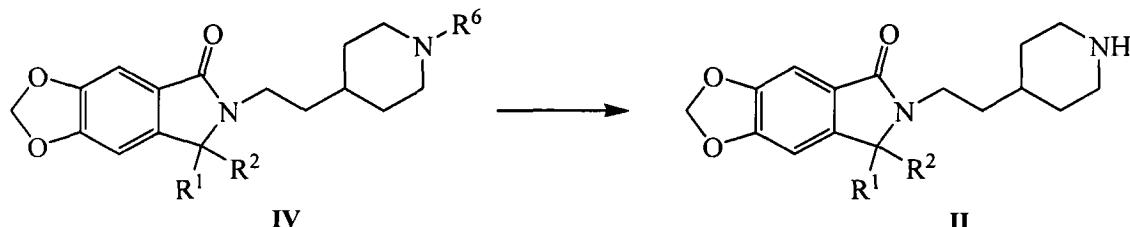
[0075]



[0076] 其中，R¹、R²和A如上所定义；X为卤素。

[0077] 其中式II化合物可以通过以下方法制备得到，所述方法包括：脱除式IV所示的化合物的氨基保护基：

[0078]



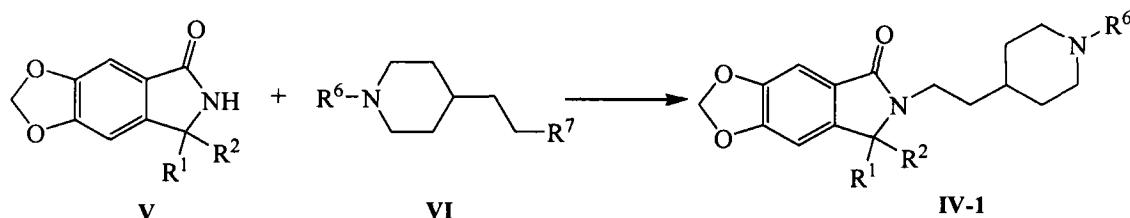
[0079] 其中, R^1 和 R^2 如上所定义; R^6 为氨基的保护基, 优选叔丁氧羰基(Boc)。

[0080] 本发明还提供了化合物式(I)与酸成盐的方法: 即将化合物式(I)与相应的酸(如盐酸、硫酸、磷酸等)充分混合, 经过后处理, 得到相应的盐, 如制备化合物I-33、化合物I-34和化合物I-35。

[0081] 本发明的目的之三在于公开所涉及的中间体(式IV)的制备方法

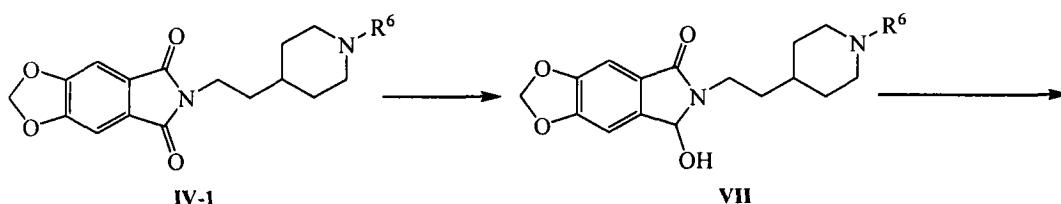
[0082] 本发明的一方面在于提供了以化合物V为原料制备化合物式(IV-1)的方法(如下反应式1所示)。该方法适用于式(IV)化合物中 R^1 和 R^2 合起来为=0时的情况。其中, R^6 为氨基的保护基, 优选叔丁氧羰基(Boc); R^7 为卤素或对甲苯磺酰氧基。

[0083]

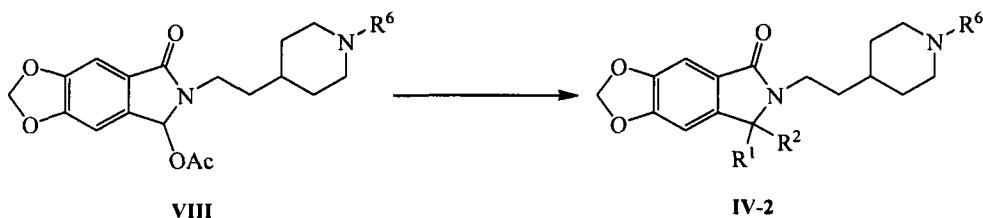


反应式 1

[0084] 本发明的另一方面在于提供了以化合物IV-1为原料, 将式IV-1所示的化合物先还原成醇, 然后将形成的羟基转化成易离去的乙酰氧基, 最后通过催化氢解将乙酰氧基脱掉以得到化合物式(IV-2)的方法(如下反应式2所示)。该方法适用于式(IV)化合物中 R^1 和 R^2 均为氢时的情况。其中, R^6 为氨基的保护基, 优选叔丁氧羰基(Boc)。



[0085]

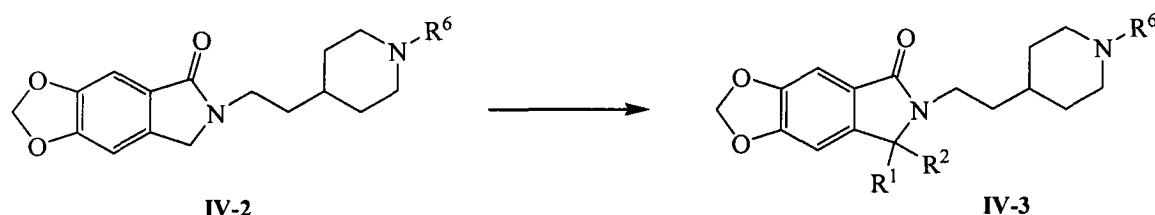


反应式 2

[0086] 本发明的再一方面在于提供了以化合物IV-2为原料, 将式IV-2所示化合物的苄位(即5元内酰胺的CH₂基团)单烷基化以得到化合物式(IV-3)的方法(如下反应式3所示)。该方法适用于式(IV)化合物中 R^1 为甲基或乙基, R^2 为氢时的情况。其中, R^6 为氨基的保护基, 优

选叔丁氧羰基(Boc)。

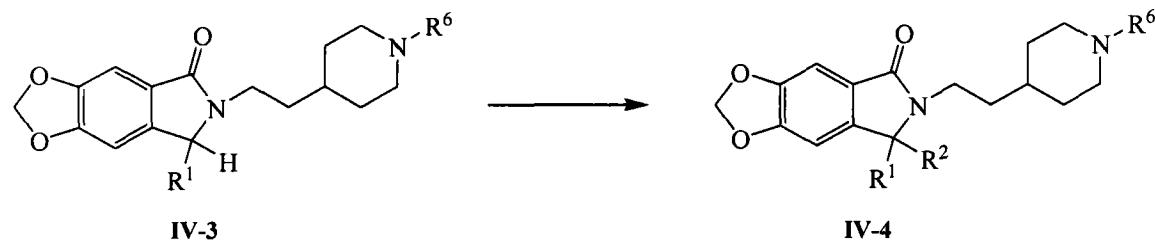
[0087]



反应式 3

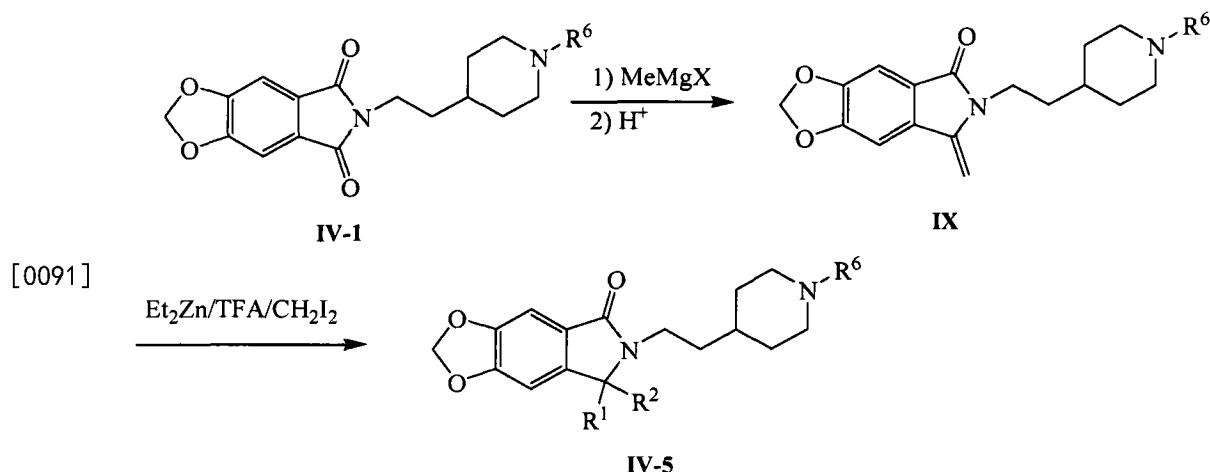
[0088] 本发明的再一方面在于提供了以化合物IV-3为原料,将式IV-3所示化合物的苯位(即与R¹相连的碳原子)烷基化以得到化合物式(IV-4)的方法(如下反应式4所示)。该方法适用于式(IV)化合物中R¹和R²为甲基或乙基时的情况。其中,R⁶为氨基的保护基,优选叔丁氧羰基(Boc)。

[0089]



反应式 4

[0090] 本发明的再一方面在于提供了以化合物IV-1为原料,将式IV-1所示的化合物先与甲基格氏试剂反应形成醇,然后醇在酸性条件下脱水成烯,最后将产生的碳碳双键用Et₂Zn/TFA/CH₂I₂转化成三元环以得到化合物式(IV-5)的方法(如下反应式5所示)。该方法适用于式(IV)化合物中R¹和R²环合起来形成三元环的情况。其中,R⁶为氨基的保护基,优选叔丁氧羰基(Boc);X为卤素。



反应式 5

[0092] 如无特别定义,本发明中所使用的术语具有本领域普遍所接受的含义,进一步地,本发明所使用的部分术语定义如下:

[0093] “卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0094] “烷基”当作一基团时是指直链或者带有支链的饱和脂肪烃基团。 (C_1-C_3) 烷基包括甲基、乙基、正丙基和2-丙基。

[0095] “烯基”作为一基团时是指含有一个碳碳双键的脂肪烃基团，可为直链也可以带有支链。 (C_2-C_3) 烯基包括乙烯基、丙烯基、异丙烯基和烯丙基。

[0096] “环烷基”是指饱和的碳环。 (C_3-C_4) 环烷基包括环丙基和环丁基。

[0097] “烷氧基”是指(烷基-0-)的基团。其中，烷基如上所定义。 (C_1-C_3) 烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基和异丙氧基。

[0098] 此外，术语“药学上可接受的盐”是指上述化合物能保持原有生物活性并且适合于医药用途的某些盐类。式(I)所表示的化合物药学上可接受的盐可以为与合适的酸形成的盐，合适的酸包括无机酸和有机酸，例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、苹果酸、马来酸、扁桃酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸等。特别优选的是盐酸、磷酸或硫酸。

[0099] 我们已经发现，本发明所提供的化合物是高活性的乙酰胆碱酯酶抑制剂，具有显著的改善学习记忆的作用，能够用于治疗阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)。

[0100] 下面通过实施例进一步阐明本发明。实施例给出了式(I)所表示的代表性化合物的制备及相关结构鉴定数据。必须说明，下述实施例是用于说明本发明而不是对本发明的限制。

[0101] 在下列实例中，除非另有指明，所有温度为摄氏温度，除非另有指明，各种起始原料和试剂均来自市售。市售原料和试剂均不经进一步纯化直接使用，除非另有指明。

[0102] 玻璃器皿用烘箱干燥和/或加热干燥。反应用玻璃硅胶-60F254平板(0.25mm) (TLC)上进行跟踪。分析性薄层层析并以适当的溶剂比例(v/v)加以展开。以TLC上起始物质耗尽时为反应终点。

[0103] ^1H NMR图谱是用Bruker仪器(400MHz)测定而得，化学位移用ppm表示。使用四甲基硅烷内标准(0.00ppm)。 ^1H NMR的表示方法：s=单峰，d=双重峰，t=三重峰，m=多重峰，br=变宽的，dd=双重峰的双重峰。若提供偶合常数时，其单位为Hz。

[0104] 质谱是用LC/MS仪测定得到，离子化方式可为ESI或APCI。

[0105] 所有熔点均未经修正。

[0106] 下面的实例仅仅是用来说明所发明的具体化合物的合成方法。但在合成方法上并没有任何限制。在下面未列出的化合物，也可以用与下面同样的合成路线与合成方法，选择适当的起始原材料、在有必要的地方稍加适当的常识性的反应条件调整即可加以制备。

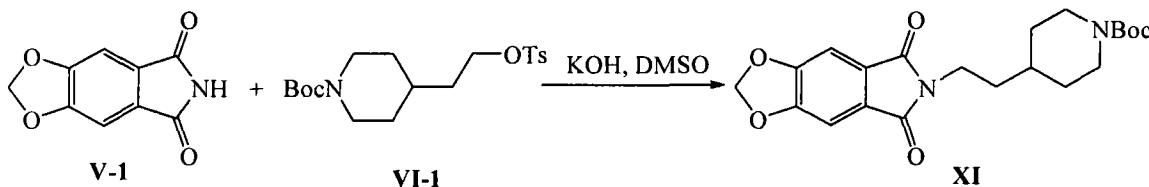
附图说明

[0107] 图1是大鼠口服给予盐酸多奈哌齐、I-33和I-35后的血浆药物浓度—时间曲线(横坐标为时间，单位为h；纵坐标为浓度，单位为 nmol/L)

具体实施方案

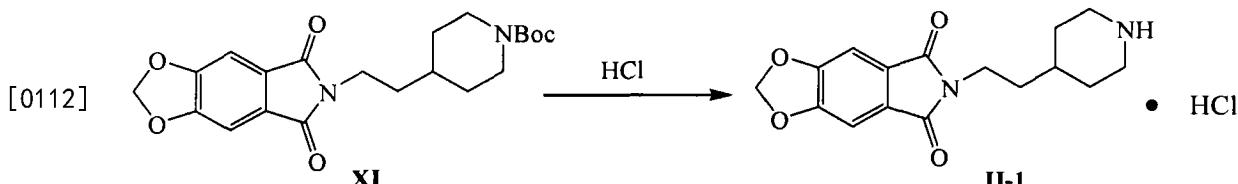
[0108] 实施例1:4-[2-(5,7-二氧代-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物XI)的制备

[0109]



[0110] 向1升反应瓶中,加入52克(0.27摩尔)[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(化合物V-1,参照文献J.Am.Chem.Soc.,1951,73,1371和J.Am.Chem.Soc.,1963,85,473的方法合成得到)和320毫升二甲基亚砜,搅拌,加热至60℃,待固体完全溶解后加入110毫升溶有23.4克(0.42摩尔)氢氧化钾的乙醇溶液,搅拌15分钟,再加入160毫升溶有117克(0.31摩尔)4-[2-(对甲苯磺酰氧基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物VI-1,参照专利WO 2007082731的方法合成得到)的二甲基亚砜溶液,加完后于60℃反应5小时,反应完全,加入500ml乙酸乙酯和300ml水,萃取,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干得约102.2克粗品,柱层析分离,得72克化合物XI,收率65.8%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ0.90–1.00(m,2H),1.36(s,10H),1.46(q,2H,J=7.0Hz),1.66(d,2H,J=11.9Hz),2.62(br s,2H),3.51(t,2H,J=7.0Hz),3.88(d,2H,J=11.5Hz),6.24(s,2H),7.32(s,2H);MS(ESI):m/z 425[M+Na]⁺。

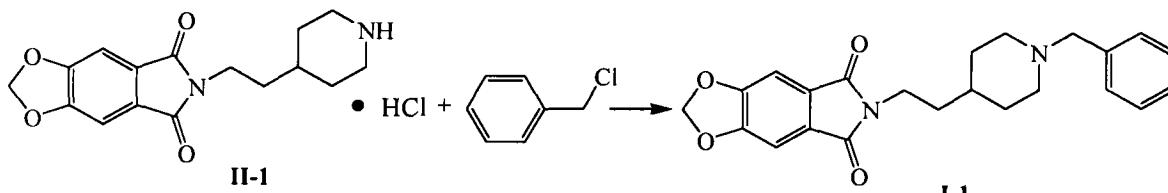
[0111] 实施例2:6-[2-(4-哌啶基)乙基]-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮盐酸盐(化合物II-1)的制备



[0113] 向500毫升反应瓶中加入20克(0.05摩尔)化合物XI,加入400毫升含10%氯化氢的乙酸乙酯溶液,室温反应2小时,过滤,洗涤,烘干得到15.5克化合物II-1,收率92.3%。¹H NMR(D₂O):δ1.40–1.64(m,5H),2.02(d,2H,J=13.4Hz),2.96–3.03(m,2H),3.45–3.50(m,4H),6.12(s,2H),6.79(s,2H);MS(ESI):m/z 303[M-Cl]⁺。

[0114] 实施例3:6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5,7-二酮(化合物I-1)的制备

[0115]

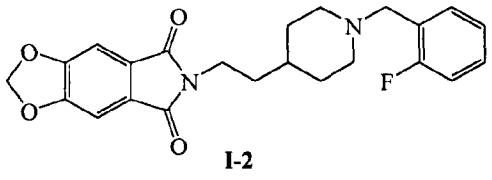
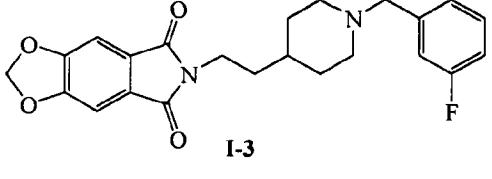
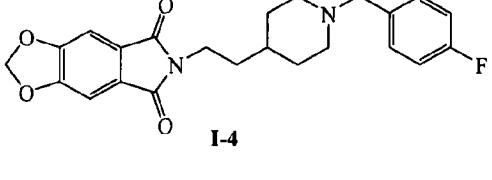


[0116] 向反应瓶中加入5克(0.015摩尔)化合物II-1,1.4克(0.01摩尔)碳酸钾,100毫升乙腈,2.3毫升(0.02摩尔)氯化苄,加热至50℃反应3~4小时,反应完毕,加入200毫升乙酸乙酯和100毫升水,萃取,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,柱层析分离得3.5克化合物I-1,收率60.4%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ1.08–1.17(m,3H),1.48(q,2H,J=6.6Hz),1.67(d,2H,J=10.0Hz),1.85(t,2H,J=10.8Hz),2.75(d,2H,J=11.4Hz),3.41(s,2H),3.53(t,2H,J=7.1Hz),6.27(s,2H),7.22–7.32(m,5H),7.37(s,2H);MS(ESI):m/z 393[M+]

H]⁺。

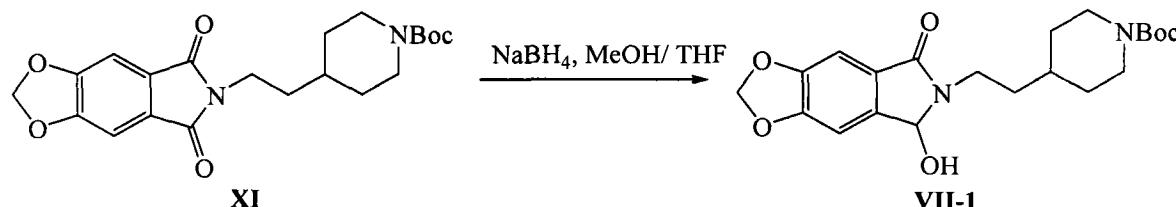
[0117] 以化合物II-1为原料,选用合适的试剂,按实施例3方法制备以下化合物:

[0118]

实施例	结构	¹ H NMR (400MHz) 和 MS (m/z)
4		¹ H NMR(CDCl ₃): δ 1.24-1.32 (m, 3 H), 1.58 (q, 2 H, J = 7.5 Hz), 1.75 (d, 2 H, J = 10.8 Hz), 2.00 (t, 2 H, J = 11.0 Hz), 2.89 (d, 2 H, J = 11.5 Hz), 3.57 (s, 2 H), 3.64 (t, 2 H, J = 7.4 Hz), 6.15 (s, 2 H), 6.99-7.03 (m, 1 H), 7.07-7.11 (m, 1 H), 7.19 (s, 2 H), 7.21-7.23 (m, 1 H), 7.37 (t, 1 H, J = 7.1 Hz); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。
5		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.27-1.34 (m, 3 H), 1.57-1.62 (m, 2 H), 1.74 (d, 2 H, J = 9.4 Hz), 1.93 (t, 2 H, J = 10.7 Hz), 2.84 (d, 2 H, J = 11.3 Hz), 3.46 (s, 2 H), 3.65 (t, 2 H, J = 7.2 Hz), 6.15 (s, 2 H), 6.89-6.94 (m, 1 H), 7.03-7.07 (m, 2 H), 7.19 (s, 2 H), 7.21-7.27 (m, 1 H); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。
6		¹ H NMR (DMSO-d ₆): δ 1.08-1.20 (m, 3 H), 1.48 (q, 2 H, J = 6.7 Hz), 1.67 (d, 2 H, J = 10.2 Hz), 1.84 (t, 2 H, J = 11.0 Hz), 2.74 (d, 2 H, J = 11.4 Hz), 3.39 (s, 2 H), 3.53 (t, 2 H, J = 7.2 Hz), 6.27 (s, 2 H), 7.09-7.14 (m, 2 H), 7.28-7.31 (m, 2 H), 7.37 (s, 2 H); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。

[0119] 实施例7:4-[2-(5-羟基-7-氧化代-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物VII-1)的制备

[0120]

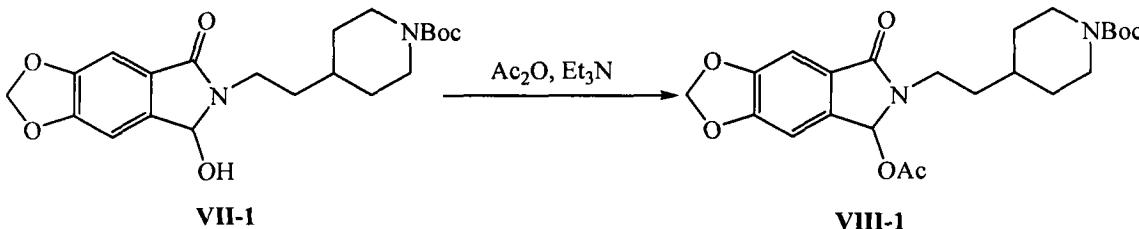


[0121] 向反应瓶中加入92克(0.23摩尔)化合物XI,250毫升甲醇和250毫升四氢呋喃,搅拌,降温至0~10℃,加入10克(0.26摩尔)硼氢化钠,于0~10℃反应20~30分钟,反应完毕,加入100毫升水,反应液减压浓缩(温度45℃)至干,浓缩残留物加入500毫升乙酸乙酯,300毫升水提取洗涤,收集有机层,硫酸钠干燥,浓缩至少量,加入300毫升石油醚,析出固体,过

滤,石油醚洗涤滤饼,烘干,得到64.7克化合物VII-1,收率70%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ0.95-1.04(m,2H),1.39(s,10H),1.51(m,2H),1.70(dd,2H,J=25.0,12.4Hz),2.65(br s,2H),3.23-3.30(m,1H),3.54-3.61(m,1H),3.90(d,2H,J=10.0Hz),5.67(d,1H,J=8.9Hz),6.12(s,1H),6.13(s,1H),6.50(d,1H,J=9.0Hz),7.08(s,1H),7.09(s,1H);MS(ESI):m/z 427[M+Na]⁺。

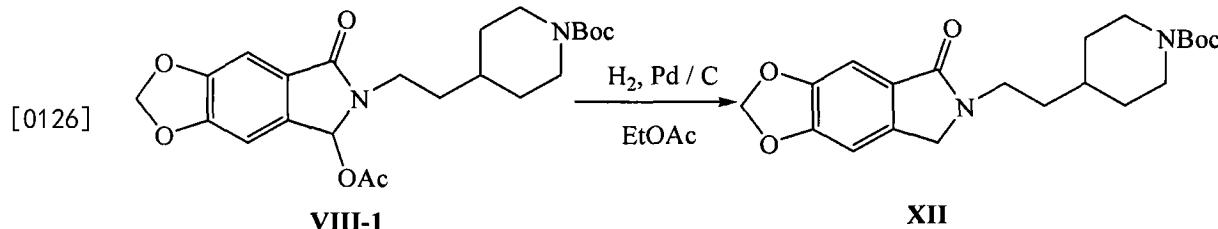
[0122] 实施例8:4-[2-(5-乙酰氧基-7-氧化-5H-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物VIII-1)的制备

[0123]



[0124] 向500毫升反应瓶中,加入55克(0.136摩尔)化合物VII-1,385毫升二氯甲烷,43毫升(0.31摩尔)三乙胺,1.8克(0.015摩尔)4-二甲氨基吡啶,搅拌,加入31毫升(0.33摩尔)乙酸酐,室温反应1小时,加入200毫升水洗涤,收集有机层,加入硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,得约79克化合物VIII-1,未做进一步提纯,直接用于下一步。¹H NMR(DMSO-d₆):δ0.94-1.02(m,2H),1.39(s,10H),1.43-1.54(m,2H),1.67(t,2H,J=9.9Hz),2.14(s,3H),2.65(br s,2H),3.17-3.24(m,1H),3.56-3.64(m,1H),3.90(d,2H,J=10.6Hz),6.16(d,1H,J=0.8Hz),6.18(d,1H,J=0.6Hz),6.90(s,1H),7.14(s,1H),7.16(s,1H);MS(ESI):m/z 469[M+Na]⁺。

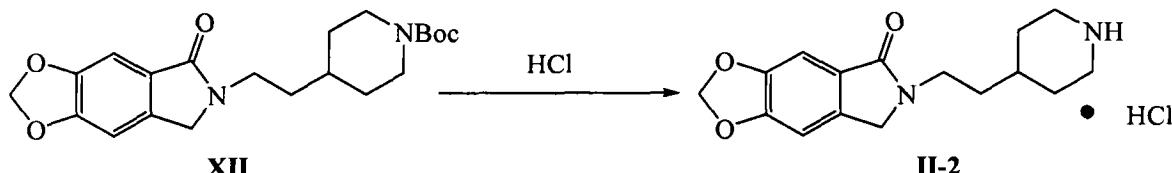
[0125] 实施例9:4-[2-(7-氧化-5H-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物XII)的制备



[0127] 向反应瓶中加入79克化合物VIII-1和400毫升乙酸乙酯,再加入17克含50%水的5%钯炭,于60℃常压氢化7~8小时,反应完全,过滤,滤液减压浓缩至少量,滴加石油醚,冷却析出固体,过滤,得到33克化合物XII,收率(按化合物VII-1计算)约62.5%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ0.94-1.04(m,2H),1.39(s,10H),1.47-1.54(m,2H),1.69(d,2H,J=11.6Hz),2.64(br s,2H),3.50(t,2H,J=7.0Hz),3.90(d,2H,J=11.3Hz),4.32(s,2H),6.12(s,2H),7.08(s,1H),7.11(s,1H);MS(ESI):m/z 411[M+Na]⁺。

[0128] 实施例10:6-[2-(4-哌啶基)乙基]-5H-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮盐酸盐(化合物II-2)的制备

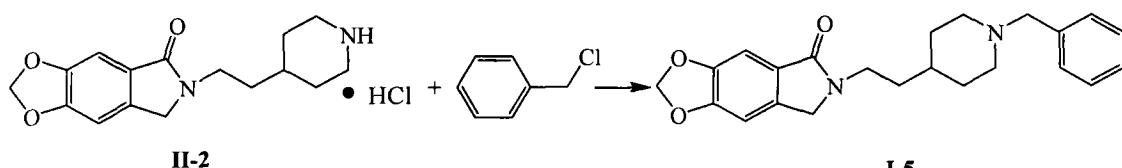
[0129]



[0130] 向反应瓶中加入15克(0.039摩尔)化合物XII,加入300毫升含10%氯化氢的乙酸乙酯溶液,室温反应30分钟,反应完全,减压浓缩至干,用乙醇和乙酸乙酯混合溶液重结晶,得到10.5克化合物II-2,收率84.3%。¹H NMR(D₂O):δ1.38–1.49(m,2H),1.59–1.61(m,3H),1.98(d,2H,J=13.5Hz),2.91–2.98(m,2H),3.42(d,2H,J=12.8Hz),3.49(t,2H,J=7.0Hz),4.13(s,2H),5.97(s,2H),6.72(s,1H),6.76(s,1H);MS(ESI):m/z 289[M-C1]⁺。

[0131] 实施例11:6-[2-(1-苯基-4-哌啶基)乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(化合物I-5)的制备

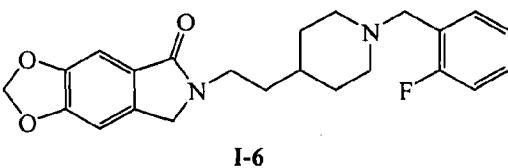
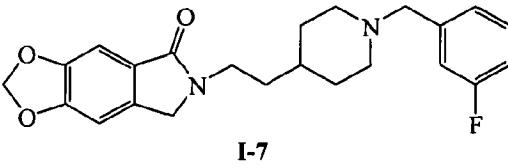
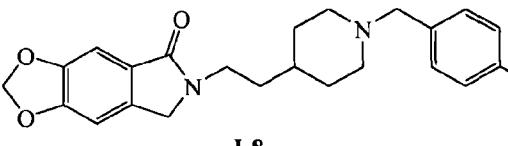
[0132]



[0133] 向反应瓶中加入5克(0.015摩尔)化合物II-2,1.4克(0.01摩尔)碳酸钾,100毫升乙腈,2.3毫升(0.02摩尔)氯化苄,加热至50℃反应3~4小时,反应完全,加入200毫升乙酸乙酯和100毫升水,萃取,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,柱层析分离得到3.1克化合物I-5,收率53.4%。¹H NMR(CDCl₃):δ1.26–1.36(m,3H),1.57(q,2H,J=7.5Hz),1.73(d,2H,J=9.2Hz),1.93(t,2H,J=10.6Hz),2.87(d,2H,J=11.2Hz),3.48(s,2H),3.60(t,2H,J=7.5Hz),4.23(s,2H),6.04(s,2H),6.83(s,1H),7.21(s,1H),7.22–7.26(m,1H),7.29–7.30(m,4H);MS(ESI):m/z 379[M+H]⁺。

[0134] 以化合物II-2为原料,选用合适的试剂,按实施例11方法制备以下化合物:

[0135]

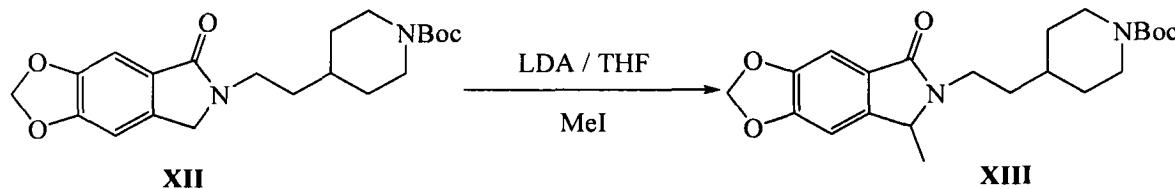
实施例	结构	¹ H NMR (400MHz)和 MS (m/z)
12		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.29-1.34 (m, 3 H), 1.57 (q, 2 H, J = 5.4 Hz), 1.74 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 1.99 (t, 2 H, J = 10.2 Hz), 2.88 (d, 2 H, J = 10.7 Hz), 3.56 (s, 2 H), 3.59 (t, 2 H, J = 7.2 Hz), 4.22 (s, 2 H), 6.03 (s, 2 H), 6.82 (s, 1 H), 7.00 (t, 1 H, J = 9.2 Hz), 7.08 (t, 1 H, J = 7.3 Hz), 7.20-7.22 (m, 2 H), 7.35 (t, 1 H, J = 7.1 Hz); MS (ESI): m/z 397 [M+H] ⁺ 。
13		¹ H NMR (DMSO-d ₆) : δ 1.12-1.17 (m, 3 H), 1.50 (q, 2 H, J = 5.4 Hz), 1.68 (d, 2 H, J = 8.5 Hz), 1.87 (t, 2 H, J = 9.4 Hz), 2.75 (d, 2 H, J = 10.6 Hz), 3.43 (s, 2 H), 3.49 (t, 2 H, J = 7.1 Hz), 4.31 (s, 2 H), 6.12 (s, 2 H), 7.03-7.12 (m, 5 H), 7.32-7.37 (m, 1 H); MS (ESI): m/z 397 [M+H] ⁺ 。
14		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.26-1.32 (m, 3 H), 1.57 (q, 2 H, J = 5.0 Hz), 1.72-1.74 (m, 2 H), 1.92 (t, 2 H, J = 10.6 Hz), 2.83 (d, 2 H, J = 10.9 Hz), 3.43 (s, 2 H), 3.60 (t, 2 H, J = 7.4 Hz), 4.23 (s, 2 H), 6.04 (s, 2 H), 6.83 (s,

[0136]

		1 H), 6.96-7.00 (m, 2 H), 7.21 (s, 1 H), 7.24-7.27 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 397 [M+H] ⁺ 。
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------

[0137] 实施例15:4-[2-(5-甲基-7-氧代-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物XIII)的制备

[0138]

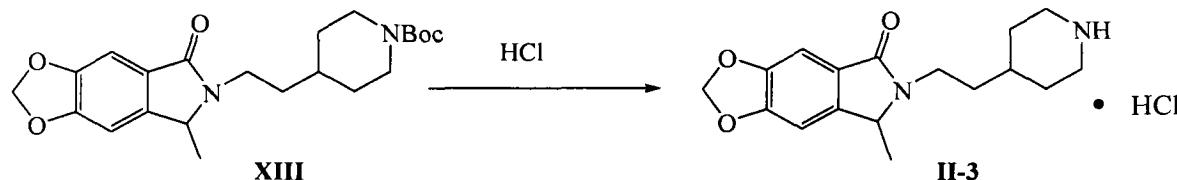


[0139] 向反应瓶中加入30克(0.077摩尔)化合物XII和300毫升四氢呋喃, 氮气保护, 降温

至-10~-15℃,滴加78毫升(0.16摩尔,2摩尔/升)的二异丙基氨基锂的正庚烷溶液,滴加时间约为30分钟,滴完后,保温反应30分钟,滴加入4.8毫升(0.077摩尔)碘甲烷,滴加完毕自然升至室温,反应2小时,加入600毫升乙酸乙酯和300毫升水,萃取,收集有机层,加入硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩至干,柱层析分离,得到14.5克化合物XIII,收率:46.7%。¹H NMR(CDCl₃):δ1.07~1.21(m,2H),1.41(d,3H,J=6.7Hz),1.45(s,10H),1.55(q,2H,J=7.4Hz),1.66~1.69(m,1H),1.80~1.83(m,1H),2.64~2.71(m,2H),3.17~3.24(m,1H),3.92~4.00(m,1H),4.06~4.09(m,2H),4.41(q,1H,J=6.7Hz),6.05(s,2H),6.82(s,1H),7.20(s,1H);MS(ESI):m/z 403[M+H]⁺。

[0140] 实施例16:5-甲基-6-[2-(4-哌啶基)乙基]-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮盐酸盐(化合物II-3)的制备

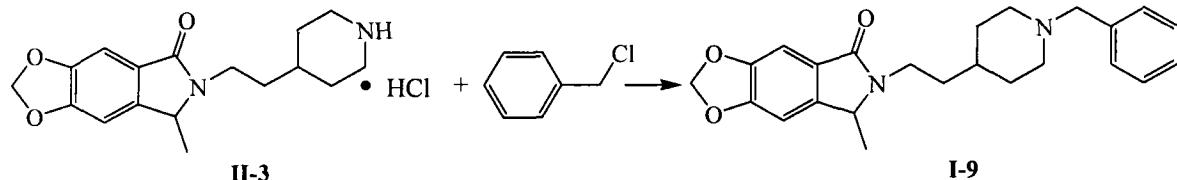
[0141]



[0142] 向反应瓶中加入5克(0.012摩尔)化合物XIII和30毫升乙醇,加入100毫升含10%氯化氢的乙酸乙酯溶液,室温反应1~1.5小时,过滤,滤饼以乙酸乙酯洗涤,干燥,得到3.4克化合物II-3,收率81%。¹H NMR(D₂O):δ1.24(d,3H,J=7.0Hz),1.44~1.58(m,5H),1.98(m,2H),2.96(m,2H),3.21~3.25(m,1H),3.44(d,2H,J=12.4Hz),3.64~3.72(m,1H),4.34(q,1H,J=6.6Hz),5.94(s,2H),6.72(s,1H),6.79(s,1H);MS(ESI):m/z 303[M+H]⁺。

[0143] 实施例17:6-[2-(1-苯基-4-哌啶基)乙基]-5-甲基-5H-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7-酮(化合物I-9)的制备

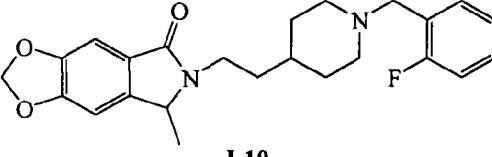
[0144]



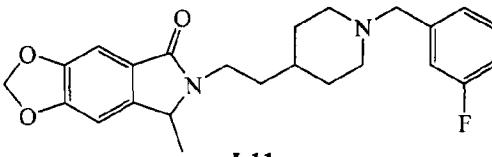
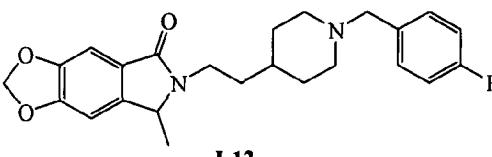
[0145] 向反应瓶中加入2克(0.006摩尔)化合物II-3和40毫升乙腈,搅拌,加入2.4克(0.017摩尔)碳酸钾,1.2毫升(0.0087摩尔)三乙胺,1.5毫升(0.013摩尔)氯化苄,升温至50℃,反应1.5小时,反应完全,加入200毫升乙酸乙酯和100毫升水,萃取,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,柱层析分离得到1.1克化合物I-9,收率47.4%。¹H NMR(CDCl₃):δ1.34~1.42(m,3H),1.46(d,3H,J=6.7Hz),1.59~1.64(m,2H),1.72~1.75(m,1H),1.86~1.89(m,1H),1.97~2.04(m,2H),2.94(t,2H,J=9.1Hz),3.21~3.28(m,1H),3.55(s,2H),3.97~4.05(m,1H),4.46(q,1H,J=6.7Hz),6.09(s,2H),6.87(s,1H),7.26(s,1H),7.29~7.32(m,1H),7.34~7.37(m,4H);MS(ESI):m/z 393[M+H]⁺。

[0146] 以化合物II-3为原料,选用合适的试剂,按实施例17方法制备以下化合物:

[0147]

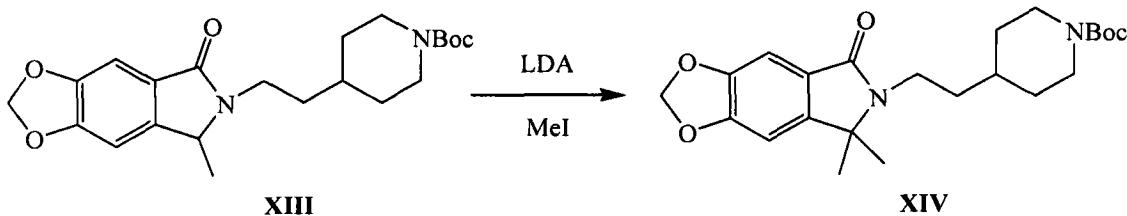
实施例	结构	¹ H NMR (400MHz)和 MS (m/z)
18	 I-10	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.36-1.42 (m, 3 H), 1.46 (d, 3 H, J = 6.7 Hz), 1.58-1.63 (m, 2 H), 1.73-1.76 (m, 1 H), 1.87-1.89 (m, 1 H), 2.05-2.10 (m, 2 H), 2.95 (m, 2 H), 3.20-3.27 (m, 1 H), 3.63 (s, 2 H), 3.98-4.05 (m, 1 H), 4.46 (q, 1 H, J = 6.6 Hz), 6.10 (s, 2 H), 6.87 (s, 1 H), 7.07 (t, 1 H, J = 9.1 Hz), 7.16 (t, 1 H, J = 7.4 Hz), 7.26-7.35 (m, 2 H), 7.43 (t, 1 H, J = 7.1 Hz); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。

[0148]

19	 I-11	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.34-1.42 (m, 3 H), 1.46 (d, 3 H, J = 6.8 Hz), 1.59-1.64 (m, 2 H), 1.72-1.75 (m, 1 H), 1.87-1.89 (m, 1 H), 1.99-2.04 (m, 2 H), 2.92 (t, 2 H, J = 8.9 Hz), 3.21-3.28 (m, 1 H), 3.54 (s, 2 H), 3.97-4.05 (m, 1 H), 4.47 (q, 1 H, J = 6.7 Hz), 6.10 (s, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 6.96-7.01 (m, 1 H), 7.10-7.15 (m, 2 H), 7.26 (s, 1 H), 7.30-7.34 (m, 1 H); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。
20	 I-12	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.32-1.40 (m, 3 H), 1.46 (d, 3 H, J = 6.7 Hz), 1.59-1.64 (m, 2 H), 1.73-1.75 (m, 1 H), 1.86-1.88 (m, 1 H), 1.95-2.00 (m, 2 H), 2.90 (t, 2 H, J = 8.2 Hz), 3.21-3.28 (m, 1 H), 3.50 (s, 2 H), 3.98-4.05 (m, 1 H), 4.47 (q, 1 H, J = 6.7 Hz), 6.10 (s, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 7.02-7.06 (m, 2 H), 7.26 (s, 1 H), 7.31-7.34 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 411 [M+H] ⁺ 。

[0149] 实施例21:4-[2-(7,7-二甲基-5-氧代-[1,3]二氧化杂环戊烯并[4,5-f]异吗啉-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物XIV)的制备

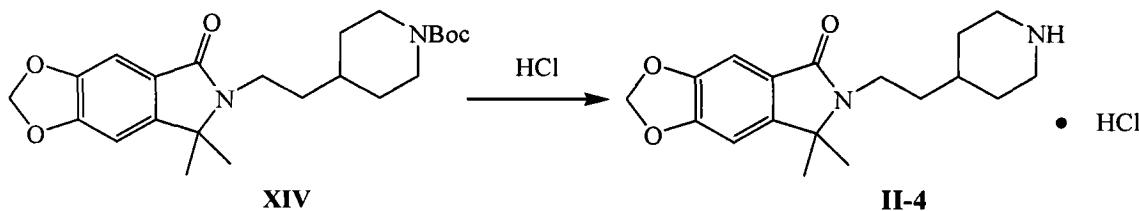
[0150]



[0151] 向反应瓶中加入10克(0.025摩尔)化合物XIII和100毫升四氢呋喃,搅拌,氮气保护,降温至-10~-15℃,滴加48毫升(0.096摩尔,2摩尔/升)的二异丙基氨基锂的正庚烷溶液,滴加时间为30分钟,滴完后,保温反应30分钟,再滴加1.6毫升(0.026摩尔)碘甲烷,滴加完毕自然升至室温,反应1小时,反应完全后,加入300毫升乙酸乙酯,150毫升水提取洗涤,收集有机层,加入硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩至干,柱层析分离,得到5.6克化合物XIV,收率54.2%。MS(ESI):*m/z* 417[M+H]⁺。

[0152] 实施例22:7,7-二甲基-6-[2-(4-哌啶基)乙基]-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮盐酸盐(化合物II-4)的制备

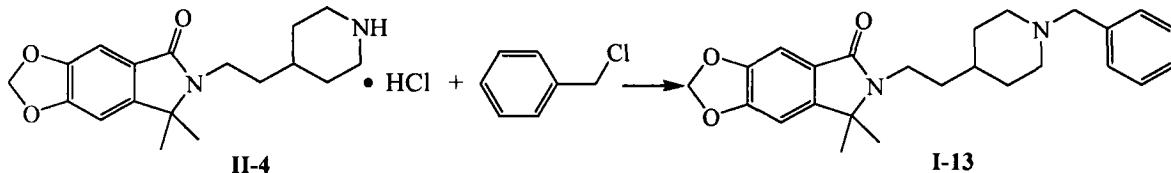
[0153]



[0154] 向反应瓶中加入2克(0.0048摩尔)化合物XIV和10毫升乙醇,再加入50毫升含10%氯化氢的乙酸乙酯溶液,室温反应1~1.5小时,过滤,滤饼以乙酸乙酯洗涤,干燥,得到1.2克化合物II-4,收率71%。¹H NMR(D₂O):δ1.27(s,6H),1.45(m,2H),1.56(q,2H,J=6.9Hz),1.69(br s,1H),2.00(d,2H,J=13.9Hz),3.00(t,2H,J=12.6Hz),3.37(t,2H,J=7.6Hz),3.45(d,2H,J=12.3Hz),5.96(s,2H),6.79(s,1H),6.86(s,1H);MS(ESI):*m/z* 317[M-C1]⁺。

[0155] 实施例23:6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]-7,7-二甲基-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-5-酮(化合物I-13)的制备

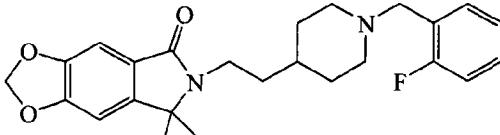
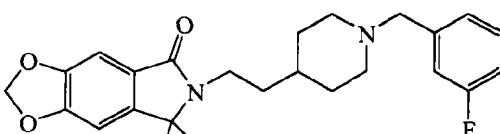
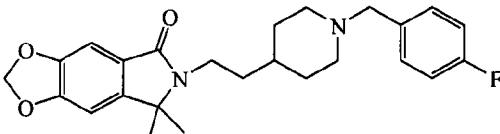
[0156]



[0157] 向反应瓶中加入2.3克(0.0065摩尔)化合物II-4和46毫升乙腈,搅拌,加入6克(0.043摩尔)碳酸钾,1.3毫升(0.0094摩尔)三乙胺,1.7毫升(0.015摩尔)氯化苄,升温至50℃,反应2~3小时,加入200毫升乙酸乙酯,100毫升水,提取洗涤,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,柱层析分离得到1.8克化合物I-13,收率67.7%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ1.18~1.23(m,2H),1.26~1.33(m,1H),1.40(s,6H),1.50~1.56(m,2H),1.70(d,2H,J=11.2Hz),1.89(t,2H,J=10.4Hz),2.77(d,2H,J=11.2Hz),3.35(t,2H,J=7.8Hz),3.42(s,2H),6.12(s,2H),7.05(s,1H),7.21~7.25(m,2H),7.27~7.33(m,4H);MS(ESI):*m/z* 407[M+H]⁺。

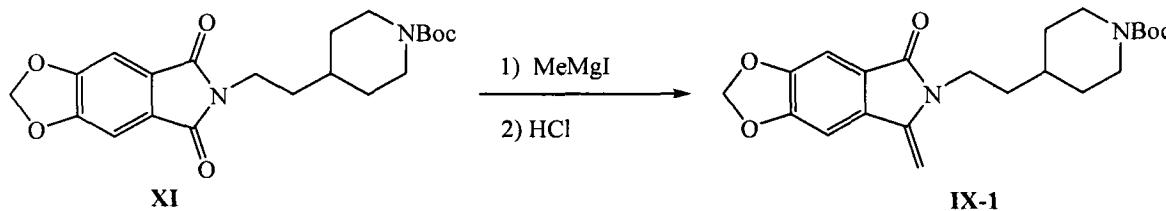
[0158] 以化合物II-4为原料,选用合适的试剂,按实施例23方法制备以下化合物:

[0159]

实施例	结构	¹ H NMR (400MHz)和 MS (m/z)
24	 I-14	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): δ 1.13-1.22 (m, 2 H), 1.23-1.28 (m, 1 H), 1.39 (s, 6 H), 1.48-1.54 (m, 2 H), 1.70 (d, 2 H, <i>J</i> =11.6 Hz), 1.94 (t, 2 H, <i>J</i> =10.9 Hz), 2.78 (d, 2 H, <i>J</i> =11.2 Hz), 3.33 (t, 2 H, <i>J</i> =7.7 Hz), 3.48 (s, 2 H), 6.10 (s, 2 H), 7.03 (s, 1 H), 7.12-7.18 (m, 2 H), 7.24 (s, 1 H), 7.27-7.32 (m, 1 H), 7.39 (t, 1 H, <i>J</i> =7.4 Hz); MS (ESI): m/z 425 [M+H] ⁺ 。
25	 I-15	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): δ 1.15-1.24 (m, 2 H), 1.25-1.31 (m, 1 H), 1.40 (s, 6 H), 1.50-1.55 (m, 2 H), 1.71 (d, 2 H, <i>J</i> =10.8 Hz), 1.91 (t, 2 H, <i>J</i> =11.2 Hz), 2.77 (d, 2 H, <i>J</i> =11.5 Hz), 3.35 (t, 2 H, <i>J</i> =8.2 Hz), 3.45 (s, 2 H), 6.11 (s, 2 H), 7.03-7.14 (m, 4 H), 7.25 (s, 1 H), 7.32-7.38 (m, 1 H); MS (ESI): m/z 425 [M+H] ⁺ 。
26	 I-16	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): δ 1.13-1.22 (m, 2 H), 1.25-1.29 (m, 1 H), 1.41 (s, 6 H), 1.50-1.55 (m, 2 H), 1.70 (d, 2 H, <i>J</i> =11.2 Hz), 1.89 (t, 2 H, <i>J</i> =10.7 Hz), 2.76 (d, 2 H, <i>J</i> =11.2 Hz), 3.35 (t, 2 H, <i>J</i> =7.7 Hz), 3.40 (s, 2 H), 6.12 (s, 2 H), 7.04 (s, 1 H), 7.12 (t, 2 H, <i>J</i> =8.9 Hz), 7.25 (s, 1 H), 7.29-7.33 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 425 [M+H] ⁺ 。

[0160] 实施例27:4-[2-(5-亚甲基-7-氧代-[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物IX-1)的制备

[0161]

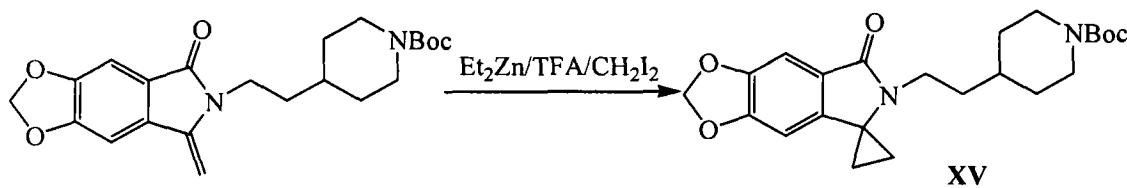


[0162] 将75克(0.19摩尔)化合物XI和500毫升四氢呋喃投于反应瓶中,搅拌,氮气保护,

冷却至0~10℃,将400毫升1.2N甲基碘化镁/乙醚溶液缓慢加至反应瓶中,反应1小时,加入少量水至无气泡产生,滴加浓盐酸,调PH至酸性,反应15分钟,加入500ml乙酸乙酯,300ml水提取洗涤,收集有机层,加入硫酸钠干燥,过滤。滤液浓缩至少量,滴加石油醚,析出固体,过滤,烘干得到47.6克化合物IX-1,收率:63.8%。¹H NMR(DMSO-d₆):δ0.95~1.05(m,2H),1.38(s,10H),1.48(q,2H,J=7.0Hz),1.71(d,2H,J=12.2Hz),2.65(br s,2H),3.70(t,2H,J=7.2Hz),3.90(d,2H,J=11.6Hz),4.95(s,1H),5.34(s,1H),6.17(s,2H),7.15(s,1H),7.53(s,1H);MS(ESI):m/z 423[M+Na]⁺。

[0163] 实施例28:4-[2-(5-氧代螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-6-基)乙基]哌啶-1-羧酸叔丁酯(化合物XV)的制备

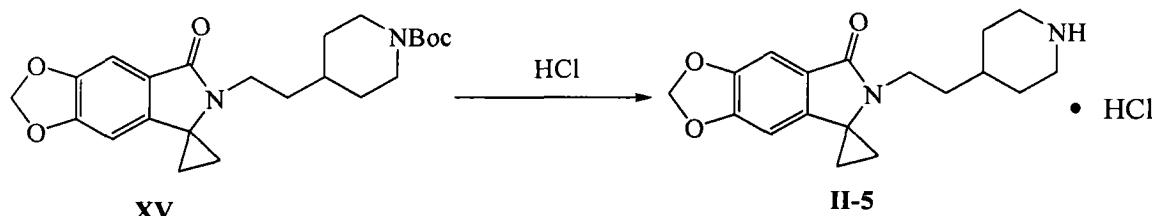
[0164]



[0165] 在反应瓶中加入300毫升二氯甲烷和300毫升(1N)二乙基锌的己烷溶液,氮气保护,降温至0~10℃,搅拌,滴加200毫升含23.1毫升(0.31摩尔)三氟乙酸的二氯甲烷溶液,滴加时间约20分钟,滴完后反应20分钟,滴加200毫升含24毫升(0.3摩尔)二碘甲烷的二氯甲烷溶液,滴完后反应20分钟,再滴加300毫升溶有60克(0.15摩尔)化合物IX-1的二氯甲烷溶液,滴完后升至30℃反应3~4小时,反应完全,加入500ml水,以1N盐酸调至中性,分层,收集有机层,加入硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩至干得化合物XV,直接投入下一步反应。¹H NMR(CDCl₃):δ1.08~1.19(m,2H),1.28(dd,2H,J=6.2,7.4Hz),1.45(s,9H),1.48~1.57(m,5H),1.72(d,2H,J=12.7Hz),2.69(t,2H,J=11.6Hz),3.20(t,2H,J=7.6Hz),4.07(d,2H,J=13.1Hz),6.03(s,2H),6.43(s,1H),7.23(s,1H);MS(ESI):m/z 437[M+Na]⁺。

[0166] 实施例29:6-[2-(4-哌啶)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(化合物II-5)的制备

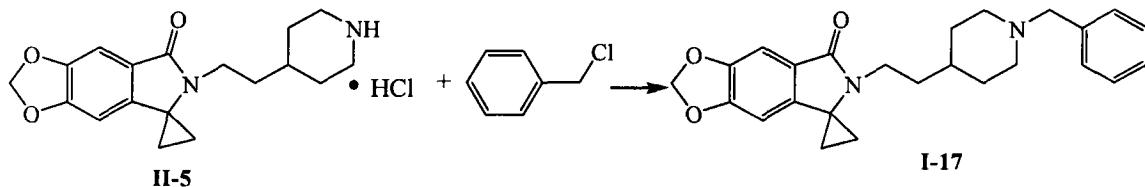
[0167]



[0168] 向反应瓶中加入上步化合物XV的全量,750毫升乙醇,加热至全溶,加入36毫升浓盐酸,保持50~55℃左右反应5小时,减压浓缩至约余200ml,滴加900ml乙酸乙酯,冷却过滤,滤饼洗涤烘干,得到24.3克化合物II-5,收率(按化合物IX-1计算):46.2%。¹H NMR(D₂O):δ1.06(t,2H,J=6.7Hz),1.32~1.46(m,6H),1.60(m,1H),1.91(d,2H,J=13.5Hz),2.91~3.03(m,4H),3.39(d,2H,J=12.8Hz),5.90(s,2H),6.18(s,1H),6.68(s,1H);MS(ESI):m/z 315[M-Cl]⁺。

[0169] 实施例30:6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮(化合物I-17)的制备

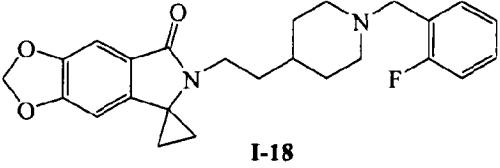
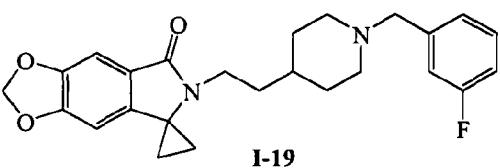
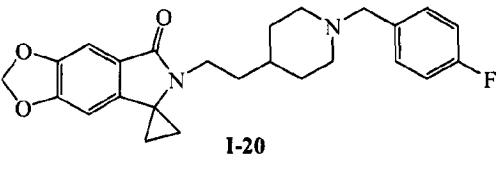
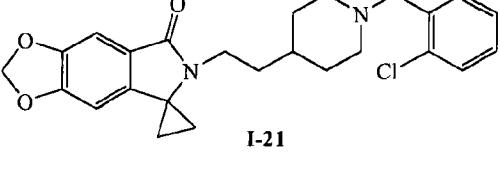
[0170]



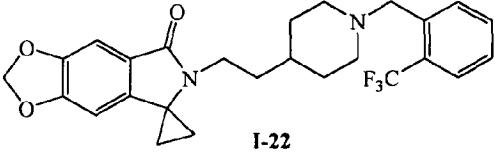
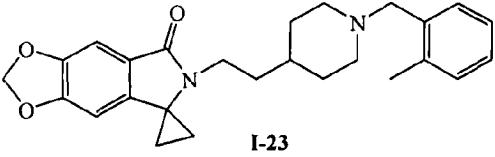
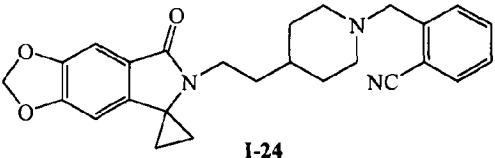
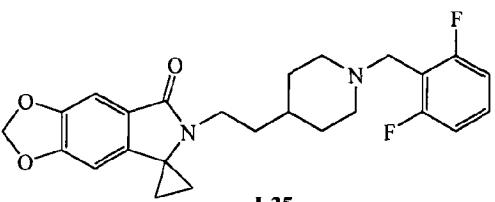
[0171] 向反应瓶中加入2克(0.006摩尔)化合物II-5,40毫升乙腈,搅拌,加入1.2克(0.008摩尔)碳酸钾,1毫升(0.007摩尔)三乙胺,2毫升(0.017摩尔)氯化苄,升温至60℃,反应2.5小时,反应完全,加入200毫升乙酸乙酯,100毫升水,萃取洗涤,收集有机层,硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩至干,柱层析分离得到1.5克化合物I-17,收率65.2%。¹H NMR(CDCl₃):δ 1.24–1.33(m,5H),1.49–1.57(m,4H),1.72(d,2H,J=9.6Hz),1.96(t,2H,J=10.8Hz),2.87(d,2H,J=11.4Hz),3.19(t,2H,J=7.8Hz),3.49(s,2H),6.03(s,2H),6.42(s,1H),7.22–7.25(m,2H),7.28–7.32(m,4H);MS(ESI):m/z 405[M+H]⁺。

[0172] 以化合物II-5为原料,选用合适的试剂,按实施例30方法制备以下化合物:

[0173]

实施例	结构	¹ H NMR (400MHz)和 MS (m/z)
31	 I-18	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.23-1.31 (m, 5 H), 1.48-1.55 (m, 4 H), 1.72 (d, 2 H, J = 9.2 Hz), 2.02 (t, 2 H, J = 10.3 Hz), 2.88 (d, 2 H, J = 11.2 Hz), 3.18 (t, 2 H, J = 7.9 Hz), 3.56 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.41 (s, 1 H), 6.99-7.03 (m, 1 H), 7.07-7.11 (m, 1 H), 7.19-7.25 (m, 2 H), 7.35-7.39 (m, 1 H); MS (ESI): m/z 423 [M+H] ⁺ 。
32	 I-19	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.24-1.32 (m, 5 H), 1.49-1.56 (m, 4 H), 1.71 (d, 2 H, J = 10.2 Hz), 1.95 (t, 2 H, J = 10.7 Hz), 2.83 (d, 2 H, J = 11.2 Hz), 3.19 (t, 2 H, J = 7.7 Hz), 3.45 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.41 (s, 1 H), 6.89-6.93 (m, 1 H), 7.03-7.07 (m, 2 H), 7.21-7.27 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 423 [M+H] ⁺ 。
33	 I-20	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.24-1.32 (m, 5 H), 1.49-1.56 (m, 4 H), 1.72 (d, 2 H, J = 10.2 Hz), 1.94 (t, 2 H, J = 10.7 Hz), 2.84 (d, 2 H, J = 11.4 Hz), 3.18 (t, 2 H, J = 7.9 Hz), 3.44 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.42 (s, 1 H), 6.95-7.01 (m, 2 H), 7.24 (s, 1 H), 7.25-7.28 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 423 [M+H] ⁺ 。
34	 I-21	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.26-1.36 (m, 5 H), 1.52-1.59 (m, 4 H), 1.75 (d, 2 H, J = 9.9 Hz), 2.09 (t, 2 H, J = 10.3 Hz), 2.91 (d, 2 H, J = 11.2 Hz), 3.21 (t, 2 H, J = 7.9 Hz), 3.61 (s, 2 H), 6.05 (s, 2 H), 6.44 (s, 1 H), 7.16-7.21 (m, 1 H), 7.23-7.29 (m, 2 H), 7.35 (dd, 1 H, J = 7.8, 1.1 Hz), 7.50 (d, 1 H, J = 7.1 Hz); MS

[0174]

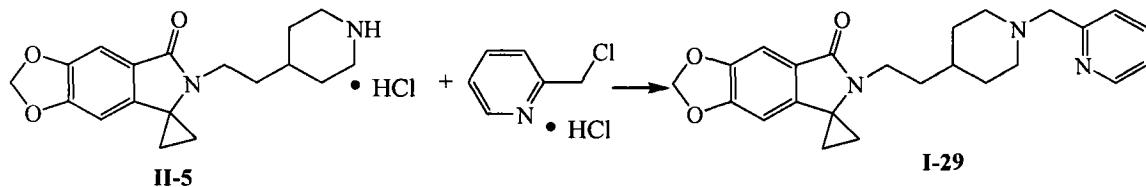
		(ESI): m/z 439 [M+H] ⁺ 。
35		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.24-1.34 (m, 5 H), 1.50-1.58 (m, 4 H), 1.72 (d, 2 H, J = 10.2 Hz), 2.04 (t, 2 H, J = 10.8 Hz), 2.83 (d, 2 H, J = 11.3 Hz), 3.19 (t, 2 H, J = 7.9 Hz), 3.62 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.42 (s, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 7.30 (t, 1 H, J = 7.6 Hz), 7.50 (t, 1 H, J = 7.5 Hz), 7.60 (d, 1 H, J = 7.9 Hz), 7.80 (d, 1 H, J = 7.7 Hz); MS (ESI): m/z 473 [M+H] ⁺ 。
36		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.26-1.37 (m, 5 H), 1.51-1.58 (m, 4 H), 1.71 (d, 2 H, J = 11.8 Hz), 1.99 (t, 2 H, J = 11.0 Hz), 2.37 (s, 3 H), 2.87 (d, 2 H, J = 11.0 Hz), 3.21 (t, 2 H, J = 7.6 Hz), 3.43 (s, 2 H), 6.04 (s, 2 H), 6.44 (s, 1 H), 7.16 (s, 3 H), 7.26-7.29 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 419 [M+H] ⁺ 。
37		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.25-1.33 (m, 5 H), 1.49-1.57 (m, 4 H), 1.72 (d, 2 H, J = 10.7 Hz), 2.09 (t, 2 H, J = 10.8 Hz), 2.85 (d, 2 H, J = 11.1 Hz), 3.19 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 3.67 (s, 2 H), 6.03 (s, 2 H), 6.42 (s, 1 H), 7.23 (s, 1 H), 7.31-7.35 (m, 1 H), 7.52-7.55 (m, 2 H), 7.62 (d, 1 H, J = 7.7 Hz); MS (ESI): m/z 430 [M+H] ⁺ 。
38		¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.24-1.27 (m, 5 H), 1.49-1.51 (m, 4 H), 1.71 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 2.04 (t, 2 H, J = 10.4 Hz), 2.91 (d, 2 H, J = 10.4 Hz), 3.17 (t, 2 H, J = 7.8 Hz), 3.68 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H), 6.41 (s, 1 H), 6.87 (t, 2 H, J = 7.5 Hz), 7.22 (m, 2 H); MS (ESI): m/z 441 [M+H] ⁺ 。

[0175]

39	 I-26	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆) : δ 1.14-1.24 (m, 3 H), 1.33 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.2 Hz), 1.40 (q, 2 H, <i>J</i> = 6.5 Hz), 1.57 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.7 Hz), 1.66 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.2 Hz), 1.86 (t, 2 H, <i>J</i> = 10.8 Hz), 2.76 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.1 Hz), 3.13 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.6 Hz), 3.37 (s, 2 H), 3.73 (s, 3 H), 6.11 (s, 2 H), 6.79-6.81 (m, 1 H), 6.84-6.86 (m, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 7.21 (t, 1 H, <i>J</i> = 7.9 Hz); MS (ESI): m/z 435 [M+H] ⁺ 。
40	 I-27	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆) : δ 1.12-1.20 (m, 3 H), 1.33 (t, 2 H, <i>J</i> = 6.4 Hz), 1.40 (q, 2 H, <i>J</i> = 6.4 Hz), 1.57 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.7 Hz), 1.66 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.0 Hz), 1.90 (t, 2 H, <i>J</i> = 10.4 Hz), 2.78 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.3 Hz), 3.13 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.7 Hz), 3.41 (s, 2 H), 3.76 (s, 3 H), 6.10 (s, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 6.91 (d, 1 H, <i>J</i> = 7.4 Hz), 6.95 (s, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 7.21 (t, 1 H, <i>J</i> = 7.3 Hz), 7.29 (d, 1 H, <i>J</i> = 7.4 Hz); MS (ESI): m/z 435 [M+H] ⁺ 。
41	 I-28	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆) : δ 1.13-1.16 (m, 2 H), 1.23 (br s, 1 H), 1.39 (t, 2 H, <i>J</i> = 6.9 Hz), 1.38 (q, 2 H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 1.57 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.5 Hz), 1.65 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.4 Hz), 1.83 (t, 2 H, <i>J</i> = 11.0 Hz), 2.74 (d, 2 H, <i>J</i> = 11.1 Hz), 3.12 (t, 2 H, <i>J</i> = 7.6 Hz), 3.34 (s, 2 H), 3.73 (s, 3 H), 6.10 (s, 2 H), 6.86 (d, 2 H, <i>J</i> = 8.5 Hz), 6.88 (s, 1 H), 7.10 (s, 1 H), 7.17 (d, 2 H, <i>J</i> = 8.4 Hz); MS (ESI): m/z 435 [M+H] ⁺ 。

[0176] 实施例42:6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异𫫇唑-7,1'-环丙烷]-5-酮(化合物I-29)的制备

[0177]



[0178] 向反应瓶中加入24.3克(0.069摩尔)化合物II-5,36.5克(0.26摩尔)碳酸钾,243毫升乙醇,6.1毫升(0.044摩尔)三乙胺,升温至50℃左右,加入31.5克(0.049摩尔)2-氯甲基吡啶盐酸盐,保持50℃左右反应5小时,反应完全,加入750ml水,析出固体,过滤,滤饼水洗,烘干得17.8g化合物I-29,收率:63.4%。¹H NMR(CDCl₃): δ 1.26(dd, 2H, J=6.1, 7.6Hz), 1.35(br s, 3H), 1.49-1.57(m, 4H), 1.72(d, 2H, J=8.6Hz), 2.08(t, 2H, J=10.4Hz), 2.89(d, 2H, J=10.7Hz), 3.19(t, 2H, J=7.9Hz), 3.64(s, 2H), 6.03(s, 2H), 6.42(s, 1H), 7.15(dd, 1H, J=5.2, 6.7Hz), 7.24(s, 1H), 7.41(d, 1H, J=7.7Hz), 7.64(td, 1H, J=7.6, 1.8Hz), 8.55(d, 1H, J=4.2Hz); MS(ESI): m/z 406[M+H]⁺。

[0179] 以化合物II-5为原料,选用合适的试剂,按实施例42方法制备以下化合物:

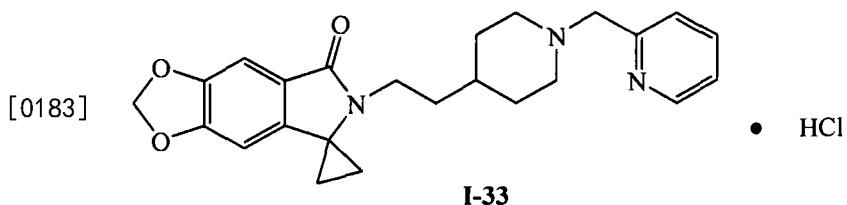
[0180]

实施例	结构	¹ H NMR (400MHz)和 MS (m/z)
43	 I-30	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.25-1.36(m, 5 H), 1.50-1.56(m, 4 H), 1.73(d, 2 H, J=11.8 Hz), 1.99(t, 2 H, J=10.6 Hz), 2.84(d, 2 H, J=11.3 Hz), 3.19(t, 2 H, J=7.7 Hz), 3.49(s, 2 H), 6.03(s, 2 H), 6.43(s, 1 H), 7.23-7.29(m, 2 H), 7.67(d, 1 H, J=7.7 Hz), 8.50(d, 1 H, J=4.7 Hz), 8.52(s, 1 H); MS (ESI): m/z 406 [M+H] ⁺ 。
44	 I-31	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.25-1.34(m, 5 H), 1.50-1.57(m, 4 H), 1.73(d, 2 H, J=9.9 Hz), 1.99(t, 2 H, J=11.2 Hz), 2.82(d, 2 H, J=11.6 Hz), 3.19(t, 2 H, J=7.8 Hz), 3.47(s, 2 H), 6.03(s, 2 H), 6.43(s, 1 H), 7.24(s, 1 H), 7.26(d, 2 H, J=5.9 Hz), 8.53(d, 2 H, J=6.0 Hz); MS (ESI): m/z 406 [M+H] ⁺ 。

[0181]

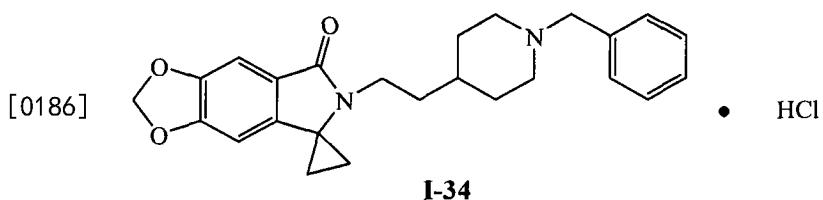
45	 I-32	¹ H NMR (CDCl ₃): δ 1.27 (t, 2 H, J = 6.4 Hz), 1.32-1.40 (m, 3 H), 1.43-1.57 (m, 4 H), 1.72 (d, 2 H, J = 10.0 Hz), 2.12 (t, 2 H, J = 10.9 Hz), 2.95 (d, 2 H, J = 11.4 Hz), 3.19 (t, 2 H, J = 7.9 Hz), 3.79 (s, 2 H), 6.03 (s, 2 H), 6.42 (s, 1 H), 7.19 (t, 1 H, J = 4.9 Hz), 7.24 (s, 1 H), 8.73 (d, 2 H, J = 4.9 Hz); MS (ESI): m/z 407 [M+H] ⁺ .
----	----------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0182] 实施例46:6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(化合物I-33)的制备



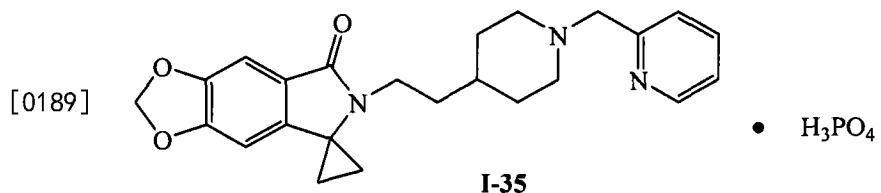
[0184] 向反应瓶中加入5克(0.012摩尔)化合物I-29和25毫升乙醇,50℃加热搅拌至全部溶解,加入1毫升(0.012摩尔)浓盐酸,加入1g活性炭脱色20分钟,过滤,将滤液冷却至室温,滴加50ml异丙醚,析出固体,搅拌1小时,过滤,少量异丙醚洗涤滤饼,烘干得到5g化合物I-33,收率:91.7%。可用乙醇/异丙醚再次精制,收率约90%。¹H NMR(D₂O):δ1.14(t,2H,J=7.0Hz),1.38-1.70(m,7H),1.96(d,2H,J=13.3Hz),2.99-3.14(m,4H),3.50(d,2H,J=11.0Hz),4.37(s,2H),5.93(s,2H),6.28(s,1H),6.75(s,1H),7.47(dd,1H,J=5.6,7.5Hz),7.55(d,1H,J=7.8Hz),7.91(td,1H,J=7.8,1.7Hz),8.58(d,1H,J=4.4Hz);MS(ESI):m/z 406[M-C1]⁺。

[0185] 实施例47:6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(化合物I-34)的制备



[0187] 以6-[2-(1-苄基-4-哌啶基)乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮盐酸盐(化合物I-17)为原料按实施例46的方法制备化合物I-34。¹H NMR(CDCl₃):¹H NMR(CDCl₃):δ1.27(dd,2H,J=6.2,7.5Hz),1.48-1.66(m,5H),1.95-2.10(m,4H),2.62(dd,2H,J=4.6,12.4,22.2Hz),3.25(t,2H,J=6.7Hz),3.43(d,2H,J=11.3Hz),4.11(d,2H,J=5.0Hz),6.04(s,2H),6.43(s,1H),7.21(s,1H),7.41-7.46(m,3H),7.62(dd,2H,J=2.3,5.9Hz),12.31(brs,1H);MS(ESI):m/z 405[M-C1]⁺。

[0188] 实施例48:6-[2-[1-(2-吡啶甲基)-4-哌啶基]乙基]螺环[[1,3]二氧杂环戊烯并[4,5-f]异吲哚-7,1'-环丙烷]-5-酮磷酸盐(化合物I-35)的制备



[0190] 向反应瓶中加入2克(0.0049摩尔)化合物I-29和40毫升乙醇,60℃加热搅拌至全部溶解,加入0.57克(0.0049摩尔)85%磷酸,搅拌析出固体,滴加40毫升乙酸乙酯,冷却至室温,搅拌1小时,过滤,少量乙酸乙酯洗涤滤饼,烘干得到2.1g化合物I-35,收率:84.7%。¹H NMR(D₂O):δ1.10(t,2H,J=7.2Hz),1.33-1.64(m,7H),1.92(d,2H,J=13.4Hz),2.95-3.09(m,4H),3.46(d,2H,J=10.7Hz),4.34(s,2H),5.89(s,2H),6.20(s,1H),6.69(s,1H),7.45(dd,1H,J=5.2,7.4Hz),7.53(d,1H,J=7.8Hz),7.88(td,1H,J=7.7,1.2Hz),8.54(d,1H,J=4.6Hz)。

[0191] 本发明化合物的药效学筛选,按下列方式进行

[0192] 一.体外药效学筛选

[0193] 本实验采用改良的Ellman法(Alvin V. et al. JWS-USC-75-IX Improves Information Processing and Cognitive Function in Animal Models[J]. Journal of Pharmacology and experimental therapeutics, 2010, 336(3):751)检测式(I)系列化合物对乙酰胆碱酯酶抑制作用,以筛选出具有活性的AChEIs,通过式(I)系列化合物对酶抑制IC50值来评价活性。实验结果见表1:

[0194] 表1 化合物(I)对乙酰胆碱酯酶抑制活性数据

[0195]

化合物	IC50(nM)	化合物	IC50(nM)
DPH	94	I-18	154
I-1	86	I-19	376
I-2	80	I-20	706
I-3	269	I-21	653
I-4	167	I-22	>2000
I-5	502	I-23	959
I-6	483	I-24	>2000
I-7	486	I-25	249
I-8	658	I-26	>2000
I-9	601	I-27	>2000
I-10	239	I-28	>2000
I-11	889	I-29	903
I-12	>2000	I-30	>2000
I-13	>2000	I-31	>2000
I-14	>2000	I-32	>2000
I-15	>2000	I-33	950
I-16	>2000	I-34	197
I-17	202	I-35	601

[0196] 体外药效筛选实验,以盐酸多奈哌齐(DPH)作为阳性药,结果显示化合物I-1和I-2在酶学水平上药效略好于阳性药;I-3、I-4、I-10、I-17、I-18、I-25、I-34药效略差于阳性药;I-5、I-6、I-7、I-8、I-9、I-11、I-19、I-20、I-21、I-23、I-29、I-33、I-35次之;I-12、I-13、I-14、I-15、I-16、I-22、I-24、I-26、I-27、I-28、I-30、I-31、I-32活性较弱。

[0197] 二.体内药效学筛选

[0198] (一)式(I)系列化合物对东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的改善

[0199] 东莨菪碱是中枢M胆碱受体竞争性拮抗剂,可阻断M1和M2受体,造成记忆障碍,成为老年痴呆模型。以盐酸多奈哌齐(DPH)作为阳性药,对式(I)系列化合物进行药效筛选。给药3-5天后,动物进行Morris水迷宫行为测试。

[0200] 实验材料:

[0201] 1.实验动物:雄性c57小鼠,22±2g,动物饲养于明暗交替(10h/14h)清洁级动物房内,自由饮水进食,适应性喂养一周后开始进行实验;

[0202] 2.实验器材:Morris水迷宫;

[0203] 3.实验药物:东莨菪碱,盐酸多奈哌齐(DPH),式(I)系列化合物

[0204] 实验方法:

[0205] 1.动物分组及给药方案:

[0206] 动物按体重随机分组,每组15只。分别为正常组、东莨菪碱组、盐酸多奈哌齐组(DPH)、式(I)系列化合物组,每天灌胃给药(10ml/kg),正常组及模型组给予等体积的溶媒。

[0207] 2.Morris水迷宫实验

[0208] 2.1实验方法与步骤

[0209] Morris水迷宫由圆形水池、图像自动采集和处理系统组成。动物入水后启动监测装置,记录动物运动轨迹,实验完毕自动分析报告相关参数。

[0210] Morris水迷宫圆柱形水池其内部被分为4个大小相等的象限,在第I象限中央放置一平台,此平台位置在整个行为学测试中保持不变。实验前一天放入适量水,使平台没于水下1cm。实验前加入食用白色素(2g/L),使水池内水成乳白色(实验期间水池内的水每天更换一次)。实验训练阶段连续进行5d,每天训练2次。训练时,训练前30min腹腔注射东莨菪碱(1mg/kg),将小鼠面向池壁从第III象限放入水池,记录小鼠从入水到找到水下隐蔽平台并站立于其上所需时间,作为潜伏期,用秒(s)表示,小鼠找到平台后,让其在平台上站立10s。若入水后60s小鼠未能找到平台,则逃避潜伏期记为60s,并将其轻轻从水中拖上平台,并停留10s。

[0211] 2.2实验项目

[0212] 1.定位航行实验(place navigation):用于测量小鼠对水迷宫学习和记忆的获取能力。实验观察和记录小鼠寻找并爬上平台的路线图及所需时间,即记录其潜伏期。

[0213] 2.空间搜索实验(spatial probe test):用于测量小鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的保持能力。定位航行实验结束后,撤去平台,从同一个入水点放入水中,测其第一次到达原平台位置的时间、穿越原平台的次数。

[0214] 2.3脑组织生化指标测定:

[0215] 行为学测试结束后,将小鼠断头处死,取大脑组织(在冰盘上操作),用预冷的生理盐水制成10%的组织匀浆,离心(3000rpm,10min),上清液按试剂盒进行丙二醛(MDA)测定。

[0216] 实验结果:

[0217] (1) I-17、I-18和I-19对东莨菪碱所致老年痴呆模型小鼠的治疗作用

[0218] 本实验分为正常组、东莨菪碱(1mg/kg)组、盐酸多奈哌齐(DPH)(5mg/kg)组、I-17(5mg/kg)组、I-18(5mg/kg)组和I-19(5mg/kg)组。Morris水迷宫实验结果见表2:

[0219] 表2 I-17、I-18和I-19的Morris水迷宫实验结果($\bar{x} \pm SD$)

[0220]

Group	n	潜伏期 (s)					站台穿越数
		day1	day2	day3	day4	day5	
正常	15	59.0±3.7	57.0±8.6	52.0±12.1	44.5±9.7	47.7±16.9	1.8±3.2
模型	15	58.3±6.7	60±0	55.1±13.6	59.6±1.5	57.1±7.8	0.5±0.6
DPH	15	60±0	60±0	51.3±15.6	60±0	57.7±6.6	1.3±1.5*
I-17	15	56.8±8.6	60±0	48.7±15.7	56.7±8.1	47.2±13.4*	1.8±2.5*
I-18	15	60±0	60±0	53.1±10.4	56.9±8.2	56.8±8.6	0.5±0.6
I-19	15	60±0	60±0	55.2±11.8	57.3±10.4	53.9±12.4	0.8±1.4

[0221] *P<0.05,与模型组比较。

[0222] 结果显示,与模型组相比,I-17显著减少动物上台潜伏期,同时提高动物穿越平台次数,可以改善东莨菪碱所致动物学习记忆障碍,好于盐酸多奈哌齐组。I-18和I-19可以减少动物上台潜伏期,同时提高动物穿越平台次数,有改善东莨菪碱所致动物学习记忆障碍的作用。

[0223] (2) I-3和I-18对东莨菪碱所致老年痴呆模型小鼠的治疗作用

[0224] 本实验分为正常组、东莨菪碱(1mg/kg)组、盐酸多奈哌齐(DPH)(5mg/kg)组、I-3(10mg/kg)组、I-3(5mg/kg)组、I-18(10mg/kg)组和I-18(5mg/kg)组。Morris水迷宫实验结果见表3:

[0225] 表3 I-3和I-18的Morris水迷宫实验结果($\bar{x} \pm SD$)

[0226]

Group	n	潜伏期(s)					站台穿越次数
		day1	day2	day3	day4	day5	
正常	15	55.3±9.0	49.3±12.4	35.1±11.1	18.6±14.6	22.7±14.0	3.1±1.8
模型	14	59.9±0.3	58.2±6.8	59.4±2.3	49.7±13.3	48.0±13.5	1.4±1.2
DPH	15	57.1±7.7	59.5±2.1	58.2±7.1	42.9±19.2	45.5±17.4	1.8±1.1
I-3 (10 mg/kg)	15	59.3±2.6	56.3±9.7	55.5±9.5	49.4±15.7	45.0±15.0	1.1±1.1
I-3 (5 mg/kg)	13	56.5±8.5	56.5±8.6	60±0	43.9±15.4	34.0±19.5*	1.9±1.5
I-18 (10 mg/kg)	14	56.0±9.9	52.4±12.4	60±0	48.8±15.4	49.2±15.9	1.5±1.2
I-18 (5 mg/kg)	15	55.0±10.3	55.9±9.0	60±0	51.8±15.6	35.6±15.4	1.5±1.7

[0227] *P<0.05,与模型组比较

[0228] 结果显示,在Morris水迷宫实验中,各组潜伏期均有随时间而下降的趋势,其中I-3组比模型组下降明显,接近或好于盐酸多奈哌齐组,化合物I-3可能有改善东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的作用。

[0229] (3) I-14、I-15、I-23和I-29对东莨菪碱所致老年痴呆模型小鼠的治疗作用

[0241]

Group	n	潜伏期 (s)					站台穿越次数
		day1	day2	day3	day4	day5	
正常	15	55.7±6.2	45.0±18.8	44.6±15.0	35.9±16.8	28.0±16.6	2.60±2.10
模型	15	58.4±5.5	59.7±1.3	55.3±8.3	52.8±10.3	50.6±16.0	1.33±1.23
DPH	15	58.8±4.8	60±0	54.4±8.4	47.0±14.7	48.1±14.4	1.40±1.40
I-9 (10 mg/kg)	15	58.3±6.5	56.6±9.1	56.5±6.3	51.1±11.6	49.2±16.9	1.80±1.74
I-9 (5 mg/kg)	15	58.9±4.0	60±0	51.2±11.0	53.4±11.8	51.1±11.5	1.27±1.44
I-17(10 mg/kg)	15	59.9±0.3	58.1±6.2	51.1±12.0	42.1±15.5*	39.3±16.7*	2.60±1.96
I-17(5 mg/kg)	15	57.3±6.7	56.3±9.1	52.5±10.4	46.4±16.6	43.7±11.8	2.00±1.41

[0242] *P<0.05, 与模型组比较

[0243] 结果显示,与模型组相比,在Morris水迷宫定位航行实验中,各组动物上台潜伏期都有随时间而下降的趋势,其中I-17(10mg/kg)组比盐酸多奈哌齐组效果好,下降趋势明显;在Morris水迷宫空间探索实验中,I-9(10mg/kg)组、I-17(10mg/kg)组和I-17(5mg/kg)组穿越平台的次数比盐酸多奈哌齐组多。在Morris水迷宫实验中,无论是上台潜伏期还是穿越平台次数,I-17(10mg/kg)组都比盐酸多奈哌齐组效果好。化合物I-17有改善东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的作用。

[0244] (二)化合物I-29的盐酸盐(I-33)对侧脑室注射Aβ1-42所致大鼠学习记忆障碍的改善

[0245] 侧脑室注射Aβ1-42后引起学习记忆障碍模型是最常用的评价化合物是否有改善学习记忆作用的动物模型。该动物模型显著破坏了动物的学习能力和记忆功能,而且影响记忆的机制比较清楚,结果易重复,无明显非特异性作用。本研究采用Morris水迷宫实验和侧脑室注射Aβ1-42引起的学习记忆障碍模型,评价了I-33在不同浓度(0.7mg/Kg、3.5mg/Kg、7mg/Kg)对大鼠学习记忆的改善作用。

[0246] 实验材料与分组

[0247] 1. 实验动物:SD,雄性(220±20g),动物饲养于明暗交替(12h:12h)清洁级动物房中,自由进食饮水。动物在动物房中适应环境3天后开始进行实验。Aβ1-42按照说明书方法配制成2μg/μl。

[0248] 2. 实验分组:

[0249] (1)正常组:侧脑室注射生理盐水

[0250] (2)侧脑室注射Aβ1-42模型组:侧脑室注射Aβ1-42

[0251] (3)盐酸多奈哌齐对照组:盐酸多奈哌齐(DPH)(3mg/Kg)+侧脑室注射Aβ1-42

[0252] (4)I-33(低浓度组):I-33(0.7mg/Kg)+侧脑室注射Aβ1-42

[0253] (5)I-33(中浓度组):I-33(3.5mg/Kg)+侧脑室注射Aβ1-42

[0254] (6)I-33(高浓度组):I-33(7mg/Kg)+侧脑室注射Aβ1-42

[0255] 3. 实验仪器:大鼠Morris水迷宫装置,脑立体定位仪。

[0256] 4. 实验试剂:Aβ1-42,盐酸多奈哌齐(DPH),I-33。

[0257] 实验方法:

[0258] 将SD大鼠随机分成正常对照组、侧脑室注射Aβ1-42模型组、阳性对照组(盐酸多奈

哌齐3mg/Kg)和待测药I-33组(0.7mg/kg、3.5mg/Kg和7mg/kg组);正常对照组侧脑室注射生理盐水5μl/只,其余各组侧脑室注射Aβ1-425μl/只。术后大鼠均恢复一周再进行后续实验。正常对照组及侧脑室注射Aβ1-42模型组每天早上固定时间灌胃给予相应的溶剂;I-33组和盐酸多奈哌齐对照组分别按体重给与相应剂量的药物,共给药8天。第5天开始进行水迷宫实验训练,第9天进行正式水迷宫测试。

[0259] 实验结果:见表7

[0260] (1)各组大鼠游泳速度没有明显统计学差异,说明大鼠的状态相同。

[0261] (2)大鼠侧脑室注射Aβ1-42(10μg/只)后,第一次到达平台的时间(潜伏期)显著延长。盐酸多奈哌齐(DPH)(3mg/Kg)可对抗Aβ1-42的作用,明显缩短第一次到达平台的时间。所测试的I-33不同剂量均能显著缩短大鼠第一次到达平台的时间(潜伏期)。

[0262] (3)大鼠侧脑室注射Aβ1-42(10μg/只)后,穿越平台的次数明显减少。盐酸多奈哌齐(DPH)(3mg/Kg)可对抗Aβ1-42的作用,明显增加穿越平台的次数。所测试的I-33不同剂量均能显著增加穿越平台的次数。

[0263] 表7 I-33对侧脑室注射Aβ1-42所致大鼠学习记忆障碍的改善($\bar{x} \pm SD$)

[0264]

Group	游泳速度	第一次到达平台时间 (潜伏期)	经过平台次数
正常	32.95±1.56	20.03±4.16*	3.23±0.50*
A β 组	31.25±2.00	50.10±7.96	1.58±0.36
DPH+A β 组	30.07±2.48	23.94±4.84*	3.22±0.55*
I-33 低浓度+A β 组	27.27±3.63	21.37±3.64*	3.00±0.33*
I-33 中浓度+A β 组	32.13±2.06	18.10±6.54*	3.40±0.43*
I-33 高浓度+A β 组	34.07±2.93	14.87±3.62*	3.20±0.36*

[0265] *P<0.05,与Aβ组比较。

[0266] 结果显示,在Morris水迷宫中,I-33各剂量组均可以显著改善侧脑室注射Aβ1-42所致大鼠学习记忆障碍,并有剂量依赖性。

[0267] 急性毒性试验

[0268] 参照《化学药物急性毒性试验技术指导原则》,将本发明具有代表性的化合物I-29的盐酸盐(I-33)和化合物I-17的盐酸盐(I-34)对小白鼠进行初步的急性毒性实验。

[0269] 实验方法:

[0270] 首先进行预试验,确定每个化合物正好0%死亡率和100%死亡率的浓度,然后开始正式试验。按体重将动物分组,在0%~100%区间内,分别给予不同剂量的药物。给药体积:10ml/kg。给药方式:分别为静脉注射或灌胃。

[0271] (一)盐酸多奈哌齐的急毒试验

[0272] 1. 静脉注射:将动物分成6组,每组5只;6组所用的剂量分别为:4.00mg/kg,3.60mg/kg,3.24mg/kg,2.92mg/kg,2.62mg/kg和2.36mg/kg。每只尾静脉注射一次,观察1W。

[0273] 2. 灌胃:将动物分成6组,每组5只;6组所用的剂量分别为:64.80mg/kg,58.32mg/kg,42.51mg/kg,38.27mg/kg,34.44mg/kg和30.99mg/kg。给药前禁食12h。每只灌胃一次,观察1W。

[0274] (二)I-33的急毒试验

[0275] 1. 静脉注射: 将动物分成6组, 每组5只; 6组所用的剂量分别为: 50.00mg/kg, 40.00mg/kg, 32.00mg/kg, 25.60mg/kg, 20.48mg/kg和16.18mg/kg。每只尾静脉注射一次, 观察1W。

[0276] 2. 灌胃: 将动物分成6组, 每组5只; 6组所用的剂量分别为: 500.00mg/kg, 450.00mg/kg, 295.25mg/kg, 265.72mg/kg, 239.15mg/kg和215.23mg/kg。给药前禁食12h。每只灌胃一次, 观察1W。

[0277] (三) I-34的急毒试验

[0278] 1. 静脉注射: 将动物分成5组, 每组5只; 5组所用的剂量分别为: 25.60mg/kg, 23.04mg/kg, 20.25mg/kg, 18.23mg/kg和16.40mg/kg。每只尾静脉注射一次, 观察1W。

[0279] 2. 灌胃: 将动物分成5组, 每组5只; 5组所用的剂量分别为: 300.00mg/kg, 240.00mg/kg, 192.00mg/kg, 153.60mg/kg和122.88mg/kg。给药前禁食12h。每只灌胃一次, 观察1W。

[0280] 观察指标:

[0281] 观察动物给药后的毒性反应及死亡情况, 统计死亡率, 结果经LD50数据处理软件分析。

[0282] 实验结果: 见表8。

[0283] 表8 I-33和I-34的急性毒性实验结果

[0284]

化合物	给药方式	剂量(mg/kg)	动物数(只)	死亡数(只)	死亡率(%)	半数致死量LD50(mg/kg)	95%可信限LD50 (mg/kg)
盐酸多奈哌齐	静脉注射	4.00	5	5	100	3.07	$3.02 \leqslant LD50 \leqslant 3.13$
		3.60	5	4	60		
		3.24	5	3	60		
		2.92	5	2	40		
		2.62	5	1	20		
		2.36	5	0	0		
	灌胃	64.80	5	5	100	42.52	$30.13 \leqslant LD50 \leqslant 60.00$
		58.32	5	4	80		
		42.51	5	3	60		
		38.27	5	2	40		
		34.44	5	1	40		
		30.99	5	0	0		
I-33	静脉注射	50.00	5	5	100	31.30	$8.77 \leqslant LD50 \leqslant 111.69$
		40.00	5	4	80		
		32.00	5	3	60		
		25.60	5	1	20		
		20.48	5	0	0		
		16.18	5	0	0		
	灌胃	500.00	5	5	100	303.13	$176.25 \leqslant LD50 \leqslant 521.34$
		450.00	5	4	80		
		295.25	5	3	60		
		265.72	5	2	40		
		239.15	5	1	0		
		215.23	5	0	0		
I-34	静脉注射	25.60	5	5	100	20.14	$8.06 \leqslant LD50 \leqslant 50.51$
		23.04	5	4	80		
		20.25	5	3	60		
		18.23	5	1	20		
		16.40	5	0	0		

[0285]

	灌胃	300.00	5	5	100	171.20	$96.23 \leqslant LD50 \leqslant 304.59$
		240.00	5	4	80		
		192.00	5	3	60		
		153.60	5	2	40		
		122.88	5	0	0		

[0286] 初步实验结果显示, I-33的口服和静脉给药半数致死量分别为盐酸多奈哌齐的口服或静脉给药半数致死量的8~10倍,I-34的口服和静脉给药半数致死量分别为盐酸多奈哌齐的口服或静脉给药半数致死量的4~7倍,I-33和I-34均显示比盐酸多奈哌齐更小的毒

性,有更好的安全性。

[0287] 药代动力学研究

[0288] 参照《临床前药代动力学研究指导原则》,我们又对本发明的代表性化合物I-29的盐酸盐(I-33)和其磷酸盐(I-35)进行了口服大鼠血浆药代动力学研究。

[0289] 实验方法及结果:口服给予大鼠不同药物,分别是为盐酸多奈哌齐给药组、I-35给药组和I-33给药组给药剂量为5mg/kg,给药容积为10mL/kg。分别在给药后0.083,0.167,0.333,0.666,1.0,2.0,3.0,4.0,6.0,8.0,12,24,36,48,72和96h经大鼠眼球后静脉丛采静脉血,每个时间点6只大鼠。在相应时间点取全血0.3mL,肝素抗凝,4000rpm离心10min,分离血浆,取大鼠血浆样品50μL,加入100μL的乙腈(含0.1%的甲酸),涡流混合1min,离心(12000rpm)10min,取上清液,用液相质谱联用仪测定分析,记录峰面积,以此计算血药浓度,绘制药时曲线。同时用中国药理学会DAS 2.0药动学软件自动拟合,其相关药动学参数见表9和图1:

[0290] 表9 I-33和I-35口服大鼠血浆药代动力学实验结果

[0291]

参数	盐酸多奈哌齐 (5 mg/kg)	I-33 (5 mg/kg)	I-35 (5 mg/kg)
AUC(0-t)	1370.709±311.367	4933.099±1397.72	5165.211±441.415
AUC(0-∞)	1415.126±337.151	4990.306±1423.91	5222.684±433.165
MRT(0-t)	2.734±0.251	2.212±0.389	2.343±0.206
MRT(0-∞)	3.119±0.404	2.352±0.373	2.483±0.265
t _{1/2z}	2.473±0.449	2.085±0.392	1.965±0.296
T _{max}	0.389±0.136	0.305±0.068	0.555±0.172
C _{max}	638.5±127.792	2463.333±385.73	2111.667±331.748

[0292] 实验结果显示,与盐酸多奈哌齐相比,等剂量下,I-33和I-35的吸收程度(AUC)和达峰浓度(C_{max})显著高于盐酸多奈哌齐的吸收程度(AUC)和达峰浓度(C_{max})。

[0293] 综上所述,在本发明所提供的化合物中,I-1、I-2、I-4和I-17或其盐酸盐(I-34)具有和多奈哌齐盐酸盐相当的乙酰胆碱酯酶抑制活性;而与盐酸多奈哌齐相比,I-17和I-29或其盐酸盐(I-33)在Morris水迷宫实验中,表现出了更强的改善学习记忆的作用,展示了更好的体内药效;尤其引人注目的是I-29或其盐酸盐(I-33),虽然该化合物体外的乙酰胆碱酯酶抑制活性较弱,只有盐酸多奈哌齐的10%左右,但却具有比盐酸多奈哌齐更好的体内药效,而且抗氧化的效果也比盐酸多奈哌齐更强,这说明I-29除了作用于乙酰胆碱酯酶以外,可能还通过别的途径也产生了改善学习记忆的作用;另一十分令人鼓舞的实验结果是:在对小白鼠进行的初步的急性毒性实验中,I-29盐酸盐(I-33)所表现出来的毒性小到约为盐酸多奈哌齐毒性的十分之一,这就更使得该化合物具有巨大的使用潜力,而且可以大大减小病人由于现有药物的毒副作用所带来的痛苦。这预示着I-29无限美好的前景。

[0294] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

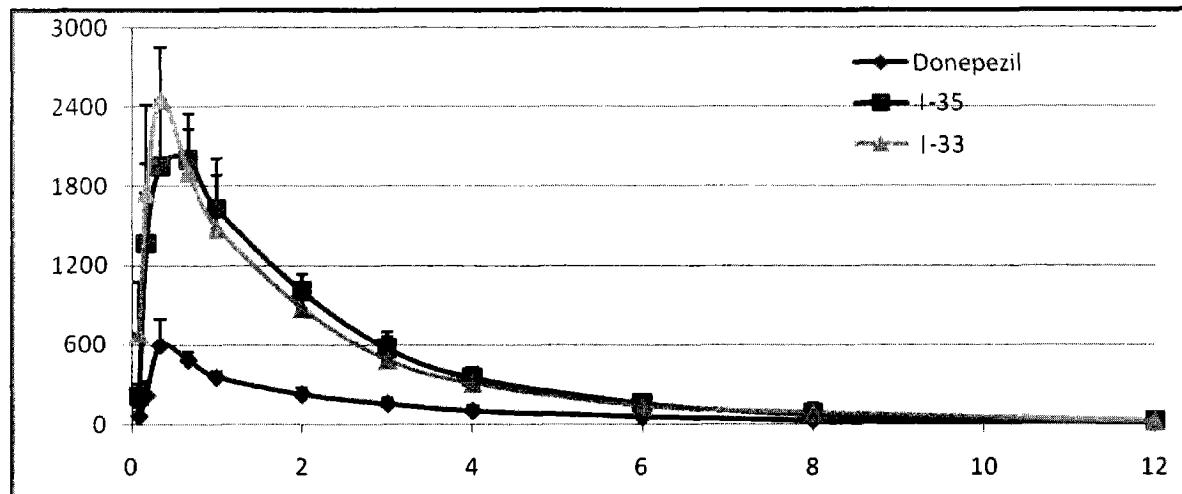


图1