

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

C07C 225/28 (2006.01)

C07C 221/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

专利号 ZL 03813271.0

[45] 授权公告日 2008 年 1 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 100358862C

[22] 申请日 2003.4.11 [21] 申请号 03813271.0
[30] 优先权
[32] 2002.4.12 [33] IT [31] BO2002A000198
[86] 国际申请 PCT/IT2003/000227 2003.4.11
[87] 国际公布 WO2003/087035 英 2003.10.23
[85] 进入国家阶段日期 2004.12.8
[73] 专利权人 生物工程大学精神物质实验室
地址 意大利博洛尼亚
共同专利权人 莱那遗传工程公司
[72] 发明人 V·安德里萨诺 M·巴尔托利尼
M·L·博洛涅西 A·卡瓦利
C·梅尔基奥雷 M·雷卡纳蒂尼
[56] 参考文献
WO9320040A 1993.10.14
JP8193026A 1996.7.30

审查员 张 靖

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公
司

代理人 王 旭

权利要求书 5 页 说明书 47 页 附图 6 页

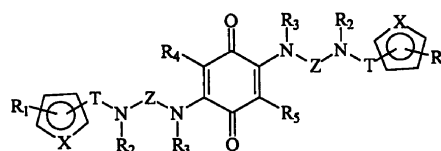
[54] 发明名称

用于治疗阿耳茨海默氏病的 2,5 - 双 - 二胺 -
[1,4] 苯醌衍生物、制备它们的方法和所述
方法的中间体

[57] 摘要

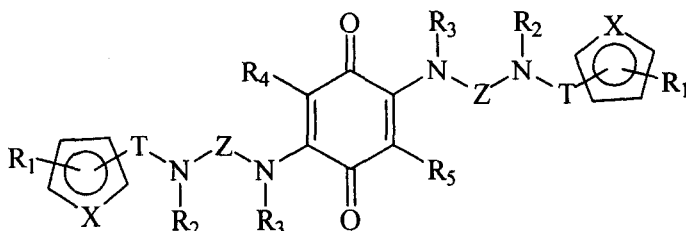
通式(I)的 2,5 - 双 - 二胺 - [1,4] 苯醌衍
生物已经被证明能用于治疗阿耳茨海默氏病,也描
述了制备它们的方法以及在所述方法中使用的中间
体。(I)

(I)



1. 具有通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物:

(I)



其中 R_1 代表选自下组的取代基:

- 氢,
- 卤素,
- NO_2 , 和
- MeO ;

R_2 和 R_3 各自独立地代表氢或存在一至四个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团; R_4 和 R_5 , 各自独立地代表选自下组的取代基:

- 氢,
- 存在一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团,

X 代表选自下组的基团:

- $-\text{HC}=\text{CH}-$,
- $-\text{HC}=\text{N}-$,
- $-\text{S}-$,
- $-\text{O}-$, 和
- $-\text{NH}-$;

T 代表存在一至三个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团;

Z 代表存在二至十二个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团。

2. 根据权利要求1的具有通式(I)的2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物, 其中R₁代表选自下组的取代基:

- 氢,
- 卤素,
- MeO;

R₂和R₃,各自独立地代表氢或存在一至两个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团;R₄和R₅,各自独立地代表选自下组的取代基:

- 氢,
- 存在一至四个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团,

X代表基团-HC=CH-或-O-;

T代表基团-CH₂-;和

Z代表存在二至七个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团。

3. 根据权利要求1的具有通式(I)的2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物, 其中R₃代表氢;R₄和R₅,各自独立地代表选自下组的取代基:

- 氢,
- 存在一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团,

Z代表存在二至七个碳原子的饱和的直链烷基基团。

4. 根据权利要求1至3之一的具有通式(I)的2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物, 其中R₃代表氢;R₄和R₅各自独立地代表存在三至四个碳原子的支链烷基基团,Z代表存在二至七个碳原子的饱和的直链烷基基团。

5. 根据权利要求1至3之一的具有通式(I)的2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物, 其中R₁在相对于T的2位。

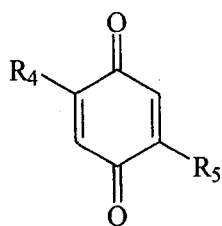
6. 根据权利要求1至2之一的具有通式(I)的2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物, 其中Z代表存在两至七个碳原子的饱和的直链烷基。

7. -2,5-双-{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌。

8. -2,5-双-{3-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-丙基氨基}-[1,4]苯醌。

9. -2,5-双-[6-(苄基-乙基-氨基)-己基氨基]-[1,4]苯醌。

10. -2,5-双-{6-[乙基-(3-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌。
 11. -2,5-双-{6-[乙基-(4-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌。
 12. -2,5-双-{2-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-乙基氨基}-[1,4]苯醌。
 13. -2,5-双-{7-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-庚基氨基}-[1,4]苯醌。
 14. -2,5-双-{6-[(2-甲氧基-苄基)-甲基氨基]-己基氨基}-[1,4]-苯醌。
 15. -2,5-双-{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-3,6-二甲基-[1,4]-苯醌。
 16. -2,5-双-[6-(2-甲氧基-苄基氨基)-己基氨基]-[1,4]-苯醌。
 17. -2,5-双-[6-(乙基-咪喃-2-基甲基-氨基)-己基氨基]-[1,4]苯醌。
 18. -2,5-双-{6-[乙基-(2-硝基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌。
 19. -2,5-双-{6-[乙基-(2-氯-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌。
 20. 药物制剂，其特征在于其包含根据权利要求 1 至 19 之一的具有通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物或其可药用盐，和可药用赋形剂和/或稀释剂。
 21. 制备根据权利要求 1 至 19 之一的具有通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的方法，此方法包括亲核取代阶段，其中在通式 (VIII) 的对苯醌上



(VIII)

用具有通式 (VII) 的第一中间体化合物进行取代



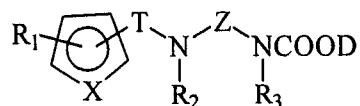
(VII)

以便获得通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物，

其中 R_{1-5} 、X、T 和 Z 如权利要求 1 中所定义。

22. 根据权利要求 21 的方法，且包含水解阶段，其中具有通式 (VI) 的第二中间体化合物：

(VI),

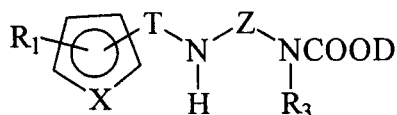


其中 D 代表苄基或另一在碱性环境中基本上稳定的保护性基团，被水解以便获得所述的具有通式 (VII) 的第一中间体化合物，

其中 R_{1-3} 、X、T 和 Z 如权利要求 1 中所定义。

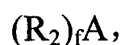
23. 根据权利要求 22 的方法，包含加成阶段，其中使具有通式 (IV) 的第三中间体化合物：

(IV)



在碱的存在下与通式 (V) 的化合物反应，

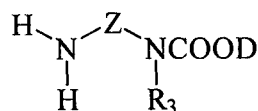
(V)



其中 A 是吸电子基团，且 f 是 1 或 2，以便获得通式 (VI) 的所述第二中间体化合物，

其中 R_{1-3} 、X、T 和 Z 如权利要求 1 中所定义。

24. 根据权利要求 23 的方法，且包含第二加成阶段，其中具有通式 (II) 的保护的(氨基-烷基)-氨基甲酸



(II),

被加成到具有通式 (III) 的化合物上

(III),



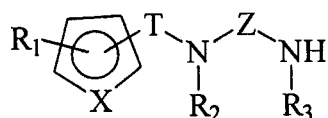
其中 E 代表选自下组的残基：

- =O,
- -Cl,
- -Br, 或
- -I;

以便获得具有通式 (IV) 的所述第三中间体化合物；条件是 E 代表 =O，此方法包含还原阶段，以便获得具有通式 (IV) 的所述第三中间体化合物，

其中 R_1 、 R_3 、 X 、 T 和 Z 如权利要求 1 中所定义。

25. 根据权利要求 21 的具有通式 (VII) 的中间体化合物：



(VII)。

26. 根据权利要求 1-19 之一的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物在生产药物制剂中的应用，其中所述药物制剂用于治疗哺乳动物阿耳茨海默氏病。

27. 根据权利要求 1-19 之一的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物在生产药物制剂中的应用，其中所述药物制剂用于治疗哺乳动物的以 β -淀粉状蛋白的沉积为特征的病状。

28. 根据权利要求 1-19 之一的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物在生产药物制剂中的应用，其中所述药物制剂用于治疗哺乳动物神经系统的变性病状。

用于治疗阿耳茨海默氏病的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌 衍生物、制备它们的方法和所述方法的中间体

技术领域

本发明涉及新的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。本发明也涉及这些化合物作为药物的应用，尤其是用于治疗阿耳茨海默氏病，它们的用于制造治疗阿耳茨海默氏病的药物制剂的应用，包含它们的药物，制备它们的方法以及所述方法的中间体。

本发明还涉及 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物用于生产具有蛋白质 β -淀粉状蛋白 (A β) 抗聚集性质和用于治疗神经系统的变性病状的药物制剂的应用。

背景技术

阿耳茨海默氏病 (AD)是通常与老化相关联的神经变性综合症，其导致患者的认知和行为功能渐进性地恶化。AD引起的大多数的病例目前基本上是未知的。也是因为这一原因，如今仍然没有能够使疾病发展停止的治疗处理，尽管最近有一些药物被投放到市场，目标尤其在于控制认知症状。这些药物 – 他克林 (Cognex®)、多奈哌齐(Aricept®)和利伐斯的明 (Exelon®) – 共有相同的作用机制，其包括抑制乙酰胆碱酯酶 (AChE)。

基于 AChE 抑制的治疗途径是建立在此观察上，即与 AD 相关的神经元变性普遍地发生在由胆碱能神经元支配的大脑区域中。在那些区域(特别是皮质和海马)中胆碱能活性的丧失可能是造成典型的 AD 的认知技能障碍的原因。AChE 是钝化胆碱能神经递质乙酰胆碱 (ACh) 的酶，并且此假说已有陈述，即阻断此酶的功能会拖延受体的兴奋，强化胆碱能传递。上面提及的已知的药物来自称作“胆碱能假说”(Bartus, R. T.; Dean, R. L., 第 3 版; Beer, B.; Lippa, A. S. The cholinergic hypothesis of geriatric

memory dysfunction. Science 1982, 第 217 卷, 第 408-414 页) 的这一假说的应用。然而, 人们不能忽略这种途径的限制, 其基本上是缺乏在此疾病发展上的作用并且存在不合需要的副作用, 其限制剂量并且会诱发患者中断服用上面提及的药物中的一种。

虽然通过抑制 AChE 来强化胆碱能传递是治疗与 AD 相关的认知症状的有效途径, 但是最近已有人提出神经元的丧失和作为结果出现的认知症状是与在特定大脑区域中 β -淀粉状蛋白质的过量产生相关的生物化学事件串联的结果。这种蛋白质趋向于凝聚, 形成细胞外的沉积, 其引发在 AD 患者大脑中发现的典型损害: 老年斑。这些斑的存在在外围组织中产生炎性和氧化类型的响应, 触发有毒事件链, 包括增加 Tau 蛋白的磷酸化, 由于炎性酶的活化和氧合的基团物种的形成。神经变性的发展源于不可能控制这些有害作用的散播。因此必须发现能够在神经变性串联中尽可能逆流地远地作用的药理手段。此外, 重要的是强调除阿耳茨海默氏病外, 以 $A\beta$ 的沉积为特征的还有其它病状。这些病状包括: 唐氏综合症、与“荷兰类型”的淀粉样变相关的遗传脑出血、与慢性炎症相关的淀粉样变性、与多发性骨髓瘤相关的淀粉样变和 B 淋巴血红色细胞的其它体液不调、与 II 型糖尿病相关的淀粉样变、与来自 prions 例如 Creutzfeldt-Jakob's 病相关的淀粉样变、Gertsman-Straussler 综合症、库鲁病和绵羊痒病 (WO 02/00603)。

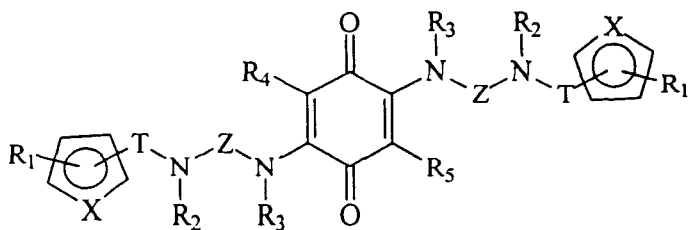
从上面可清楚地看出人们对于制造用于治疗 AD 和用于治疗以 $A\beta$ 的沉积为特征的病状的药物仍然有相当大的需求。

发明内容

因此, 本发明的目的是提供物质, 其能被用来有利地治疗 AD, 与 $A\beta$ 的累积相关的所有其它综合症, 尤其是预防神经系统的变性病状的所述累积。

本发明由具有通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物实现:

(I)



其中 R_1 代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 具有一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团，
- 和
- 具有吸电子诱导效应的取代基；

R_2 和 R_3 ，各自独立地代表氢或存在一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团； R_4 和 R_5 各自独立地代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 存在一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团，
- OMe，和
- SMe；

X 代表选自下组的基团：

- -HC=CH-，
- -HC=N-，
- -S-，
- -O-，和
- -NH-；

T 代表存在一至四个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团；

Z 代表存在二至十三个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团；优选地 R_1 代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 具有吸电子诱导效应的取代基。

优选地，在具有通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物中， R_1 代

表选自下组的取代基：

- 氢，
- 卤素，
- NO₂， 和
- MeO；

R₂ 和 R₃，各自独立地代表氢或存在一至四个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团；R₄ 和 R₅，各自独立地代表选自下组的取代基：

- 氢，
 - 存在一至五个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团，
- X 代表选自由如下构成的组中的基团：

- -HC=CH-
- -HC=N-
- -S-
- -O-， 和
- -NH-；

T 代表存在一至三个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基；

Z 代表存在二至十二个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基。

优选地，在通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物中，R₁ 代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 卤素，
- MeO；

R₂ 和 R₃，各自独立地代表氢或存在一至两个碳原子的饱和或不饱和的、直链或支链烷基基团；R₄ 和 R₅，各自独立地代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 存在一至四个碳原子的饱和的或不饱和的直链或支链烷基基团，
- X 代表基团-HC=CH-或-O-；

T 代表基团-CH₂-； 和

Z 代表存在二至七个碳原子的饱和的或不饱和的直链烷基。

按照尤其优选的实施方案，在通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物中， R_1 代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 卤素，
- MeO；

R_2 代表氢或存在一至两个碳原子的饱和的直链烷基基团； R_3 代表氢； R_4 和 R_5 ，各自独立地代表选自下组的取代基：

- 氢，
- 存在一至两个碳原子的饱和的直链烷基基团，
- 存在三至四个碳原子的支链烷基基团，

X 代表基团-HC=CH-或-O-；

T 代表基团-CH₂-；和

Z 代表存在二至七个碳原子的饱和的直链烷基。

按照本发明的尤其优选地实施方案，在通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物中， R_1 在相对于 T 的 2 位。按照本发明也优选的实施方案是 Z 代表存在两至七个碳原子的饱和的直链烷基，和实施方案其中 X 代表基团-CH=CH-。

甚至更优选的实施方案是，其中 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物选自后附的实施例中举例的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。

通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物能够以不同的立体异构体形式，例如对映异构体和非对映异构体形式存在。本发明涉及对映异构体和非对映异构体或它们的混合物。这些混合物可以通过已知的方法被分离成它们的立体异构均一的成份。

按照本发明，通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物被提供用作药物。

按照本发明，通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物被提供用于治疗哺乳动物的阿耳茨海默氏病。

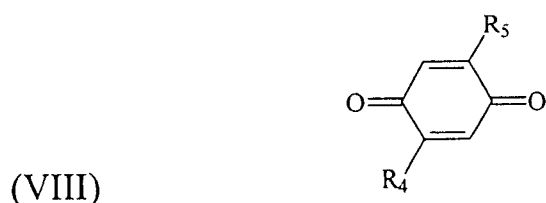
按照本发明，提供治疗哺乳动物阿耳茨海默氏病的方法，包括给予所述哺乳动物有效量的通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。

按照本发明，提供药物制剂，其特征在于它包含通式（I）的 2,5-

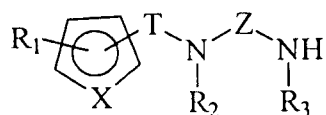
双-二胺-[1,4]苯醌衍生物或它的可药用盐和可药用赋形剂和/或稀释剂。

按照本发明，提供通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物在生产用于治疗哺乳动物阿耳茨海默氏病的药物制剂的应用。

按照本发明，提供用于制备通式 2（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的方法，此方法包括取代阶段，其中在通式（VIII）的对苯醌上



用化合物（VII）进行取代



(VII)

以便获得通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。

按照本发明，也提供根据权利要求 8-20 的化合物。

按照本发明的另一方面，提供通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的应用，其用来生产用于治疗哺乳动物以 β -淀粉状蛋白（ $A\beta$ ）的沉积为特征的病状的药物制剂。

按照本发明，提供用来治疗哺乳动物以 β -淀粉状蛋白（ $A\beta$ ）的沉积为特征的病状的方法，包括给予所述哺乳动物有效量的通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。

按照本发明的另一方面，提供通式（I）的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的应用，其用于生产用于治疗哺乳动物神经系统变性病状的药物制剂。

附图说明

现在将参考附图来描述本发明，它们非限制性地举例说明了具体实施方案的例子，其中：

图 1 是 Lineweaver-Burk 的实验图；

图 2 是描述与通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的浓度有关的图 1 中的图线的梯度函数的实验图；和

图 3 是在浓度不同的通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的存在下，与 $A\beta$ 的原纤维复合的硫黄素的荧光强度（以荧光单元表示）；

图 4A、4B 和 4C 分别是用盐水溶液处理的非转基因小鼠、转基因小鼠 (AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的基底前脑的冠状缝切面；

图 5 是在基底前脑中胆碱能神经元的总数；

图 6 是 Meynert's 橄榄核中胆碱能神经元的总数；

图 7A、7B 和 7C 分别是用盐水溶液处理的非转基因小鼠、转基因小鼠 (AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的脑血管中 APP 的沉积；

图 8A、8B 和 8C 分别是用盐水溶液处理的非转基因小鼠、转基因小鼠 (AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的内嗅(entorhinal)皮质的冠状缝切面；

图 9A、9B 和 9C 分别是非转基因小鼠、转基因小鼠 (AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的基底前脑的冠状缝切面；

图 10A、10B 和 10C 分别是非转基因小鼠、转基因小鼠 (AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的内嗅皮质的冠状缝切面；

图 11A、11B 和 11C 分别是非转基因小鼠(AD11)、转基因小鼠(AD11) 和用通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物处理的转基因小鼠 (AD11) 的海马切面；

图 12、13、14 和 21 是在实验中发现的辨别指数；

图 15 和 16 是在基底前脑中发现的胆碱能神经元的总数；

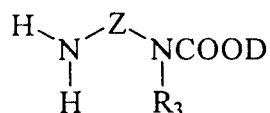
图 17 和 18 是在内嗅皮质中表达磷酸-微管的神经元数目；

图 19 是 APP 的细胞外电荷；和

图 20 是 β -淀粉状蛋白累积的细胞的数目。

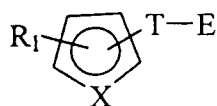
实现本发明的最佳方式

上述通式 (I) 代表的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物的制备, 例如可以从通式 (II) 的保护的(氨基-烷基)-氨基甲酸开始:



(II),

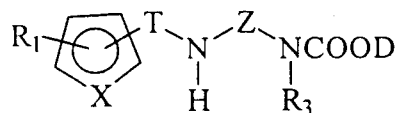
其中 D 代表苄基 (Bn) 或其它在碱性环境中稳定的保护基团。通式 (III) 的化合物被加成到(氨基-烷基)-氨基甲酸 (II) 上



(III),

其中 E 代表 =O、-Cl、-Br 或 -I, 以便获得通式 (IV) 的中间体化合物:

(IV)

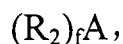


条件是, 当 E 代表 =O 时, 反应在合适的还原剂的存在下发生。

优选地所述还原剂是 NaBH_4 , 反应的实现是在质子有机溶剂例如乙醇中, 在 15°C - 35°C 的温度, 尤其基本上在 25°C , 在分子筛(尤其是 4 \AA) 的存在下。

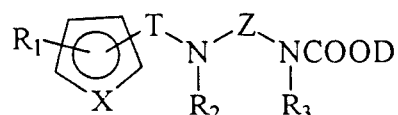
在此时, 使化合物 (IV) 在碱的存在下与通式 (V) 的化合物反应:

(V)



其中 A 是吸电子基团, 且 f 是 1 或 2, 以便获得通式 (VI) 的中间体化合物:

(VI)

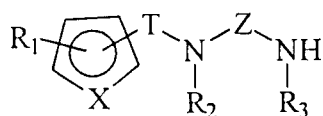


优选地化合物 (V) 是 $(R_2)_2SO_4$, 尤其是 Et_2SO_4 , 反应在反应条件下不变性的惰性有机溶剂中进行, 且在 $80^\circ C-170^\circ C$ 的温度, 尤其基本上在 $111^\circ C$ 。

可以使用的溶剂包括: 醚类, 例如二乙醚或四氢呋喃; 卤代烃类, 例如二氯甲烷、三氯甲烷、四氯甲烷、1, 2-二氯乙烷、三氯乙烷、四氯乙烷、1, 2-二氯乙烯或三氯乙烯; 烃类, 例如苯、二甲苯、甲苯、己烷、环己烷、石油醚、硝基甲烷、二甲基甲酰胺、丙酮或乙腈。也可以使用提及的溶剂的混合物。甲苯是这一反应的尤其优选的溶剂。

在此时, 水解化合物(VI)中的氨基甲酸官能团, 以便获得通式(VII)的化合物:

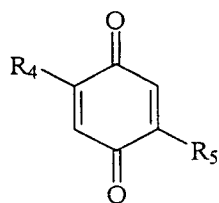
(VII)



水解优选在酸性环境中发生, 并且使用的溶剂是醋酸。按照尤其优选的实施方案, 使用 HBr 来水解。

在此时, 用化合物 (VII) 在通式 (VIII) 的对苯醌上作取代,

(VIII)



以便获得通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物。

出乎意料地, 通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物对于治疗哺乳动物的阿耳茨海默氏病 (AD) 显示相对高的活性。

此外, 出乎意料地, 通式 (I) 的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物对于

抑制酶乙酰胆碱酯酶 (AChE) 显示相对很高的活性。

尤其是, 与相同的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 呈现的与酶丁基胆碱酯酶(BuChE)相关的抑制活性相比, 通式(I)的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物呈现相对远远更高的 AChE 抑制活性。

在这一点上, 重要的是强调 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 优先地与 AChE 而不是 BuChE 结合的能力, 避免 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I)从它的主要目标(即 AChE)转移。过去, 人们假设 BuChE 作为保护 AChE 抵抗错误基底的酶系统。

此外, 通式(I)的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物出乎意料地呈现与由 AChE 诱导的 A β 的聚集有关的抑制活性。

重要的是强调由于 A β 的聚集, 醌官能团提供关于氧化应激的保护性抗氧化活性。关于 A β 聚集的抑制活性和抗氧化活性出乎意料地协同地结合以基本上改善由以 A β 的沉积为特征的病理影响的患者的状况。

尤其重要的是强调相对很高的 AChE 抑制活性, 相对低的 BuChE 抑制活性, 关于 A β 聚集的抑制活性和抗氧化活性出乎意料地协同地结合来基本上改善由 AD 影响的患者的状况。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I)或它们的可药用盐可以作为纯化合物给药, 然而它们优选地以药用处方形式存在。合适的药物处方的非限制性实施列在下面。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I)可以被制成口服、肠胃外或直肠给药或是适于通过吸入或喷射(通过嘴和鼻)的形式。口服或肠胃外给药的形式是优选的。

至于口服给药, 药物制剂例如可以是利用已知方法用从药物观点看可接受的辅料制备的片剂或胶囊形式, 辅料如粘合剂(例如预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或甲基纤维素); 填充剂(例如乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙); 添加剂(例如硬脂酸镁、滑石、二氧化硅); 崩解剂(例如马铃薯淀粉); 和/或润滑剂(例如十二烷基硫酸钠)。片剂可以用已知方法包衣。用于口服给药的液体制剂可以是形式例如糖浆溶液或混悬液, 或者它们可以是干产品形式, 其能够在使用前溶解于水或另一种液体。这些制剂可以用可药用添加剂以已知的方式制备, 可药用添加剂例

如混悬剂(例如山梨醇、纤维素衍生物、可食用的氢化脂肪); 乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯胶); 非水性液体(例如杏仁油、油酯类、乙醇或分级的植物油); 和/或防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、山梨酸或抗坏血酸)。此制剂在合适的情况下也可以包含缓冲盐、着色剂、芳香剂和/或甜味剂。

用于口服给药的制剂可以用已知方式制备, 以便给出活性化合物的控制释放。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 可以按已知方式制成用于通过注射或持续给药的肠胃外给药形式。用于注射的处方可以是单剂量形式, 例如在包含防腐剂的安瓿或多剂量容器中。此组合物可以是混悬剂形式, 在含水或含油液体中, 并且其可以包含处方成分例如分散剂和稳定剂。可选择地, 活性化合物可以是在使用前在合适的液体例如灭菌水中立即溶解的粉末形式。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 可以被制备用于直肠给药如栓剂或灌肠剂, 例如包含用于已知形式的栓剂的辅料例如可可豆脂或其它脂肪。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 也可以按已知方式制成能延长释放的组合物。这些具有延长的释放的组合物可以通过植入(例如皮下或肌内)或通过肌肉内注射给药。所以, 例如, 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 可以与合适的聚合的或疏水的材料(例如乳剂或油)或离子交换树脂或相对溶解性较差的衍生物例如相对溶解性较差的盐配制。

至于鼻内给药, 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 可以被配制为通过(已知的)装置给药, 例如为利用合适的载体的粉末形式。

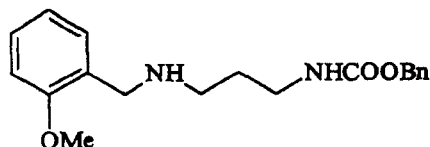
2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 的剂量取决于患者的年龄和症状, 所以有时必须由医生决定精确的剂量。剂量也取决于给药方式和选择的特定的化合物。合适的剂量例如可以是每天按照体重在 0.1mg/Kg 至 400 mg/Kg 之间。

2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物 (I) 可以与一种或多种合适的治疗剂联合给药和以每个已知可用的方式配制。

本发明的进一步的特征从下面的说明中将更清楚地显现, 其涉及单纯用来作为例子而不加以限制的具体实施方案。

实施例 1

此实施例描述了具有结构式：

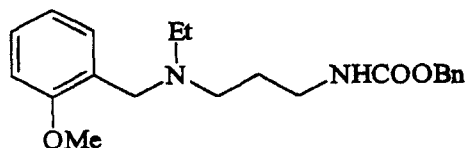


的酸[3-(2-甲氧基-苄氨基)-丙基]-氨基甲酸苄基酯 (IX) 的合成。

向包含分子筛 (4 Å) 的在 50ml 乙醇中的(3-氨基-丙基)氨基甲酸苄基酯酸 (1.04 g, 5 mmol) 的溶液中加入 2-甲氧基苯甲醛 (0.75 g, 5.5 mmol)。在环境温度 (e.t.) 搅动此混合物 20 分钟, 然后当冷时加入 NaBH_4 (0.2 g, 5 mmol)。使其反应 6 小时, 用 HCl 2N 将其小心地酸化, 过滤并蒸发溶剂; 用水再次取残留物并用二乙醚萃取 (3 x 10 ml)。然后用 NaOH 40% 碱化水溶液并用 CHCl_3 萃取 (4 x 20 ml)。脱水和蒸发有机提取物, 在 TLC 上 (洗脱液: $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 9.0:1.0:0.1) 得到 1.5g 为纯澄清油状的化合物 IX。产率 90%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.61-1.79 (m, 2H + 1H 用 D_2O 可替换的), 2.70 (t, 2H), 3.32 (q, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 5.11 (s, 2H), 5.73 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 6.84-6.95 (m, 2H), 7.19-7.40 (m, 7H)。

实施例 2

此实施例描述了具有结构式：



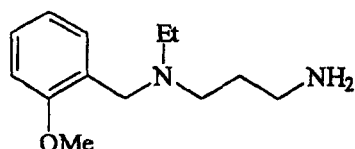
的酸{3-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-丙基}-氨基甲酸苄基酯 (X) 的合成。

向在 70ml 甲苯中的[3-(2-甲氧基-苄基氨基)-丙基]-氨基甲酸苄基酯酸 (1.4g; 4.3mmol) 溶液中加入硫酸二乙酯 (1.24ml; 9.5mmol) 并加热

回流 24 小时。在环境温度下冷却反应混合物并用浓 NaOH (50 ml)中和。在脱水后分离有机相并蒸发得到粗产物，用快速色谱法将其纯化。用石油/MeOH/NH₄OH 4.6:5.0:0.4:0.04 的 CH₂Cl₂/醚洗脱，在 TLC 上获得 1.4g 为纯的澄清油状化合物 X (洗脱液: CHCl₃/MeOH/NH₄OH 9.5:0.5:0.05)。产率 91%；¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.08 (t, 3H), 1.61-1.79 (m, 2H), 2.53-2.75 (m, 4H), 3.32 (q, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 5.11 (s, 2H), 5.73 (s 扩展的, 1H 用 D₂O 可替换的), 6.84-6.95 (m, 2H), 7.19-7.40 (m, 7H)。

实施例 3

此实施例描述了具有结构式:

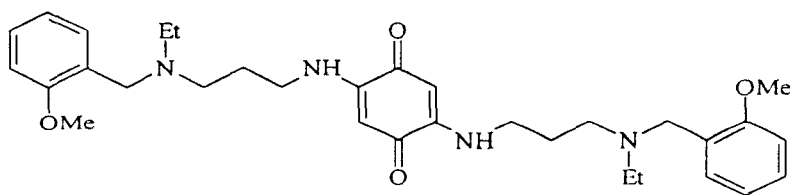


的 N¹-乙基-N¹-(2-甲氧基-苄基)-丙-1,3-二胺 (XI)的合成。

向在 15ml 冰 CH₃COOH 中的{3-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-丙基}-氨基甲酸苄基酯酸(1.4 g; 3.9 mmol)溶液中小心地加入在 CH₃COOH 中的 HBr 的 33%溶液。将其搅动 2 小时，然后用 100ml 二乙基醚沉淀氢溴酸盐。在水中溶解形成的白色固体，用 NaOH 2N 碱化，并用 CHCl₃ 萃取(5x 20 ml)。真空蒸发脱水的有机相，在 TLC 上得到 0.87g 为纯的澄清油状化合物 XI (洗脱液 CHCl₃/MeOH/NH₄OH 9.0:1.0:0.1)；产量；¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.07 (t, 3H), 1.50 (s 扩展的, 2H 用 D₂O 可替换的), 1.57-1.71 (m, 2H), 2.55 (q, 4H), 2.73 (t, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 6.83-6.99 (m, 2H), 7.19-7.44 (m, 2H)。

实施例 4

此实施例描述了具有结构式:

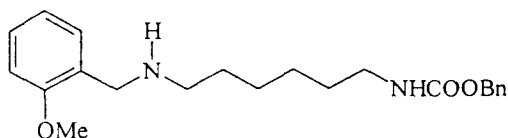


的 2,5-双-{3-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-丙基氨基}-[1,4]苯醌 (XII)的合成。

向在 70ml MeOH 中的对苯醌 (0.1 g; 0.92 mmol) 溶液中当冷时加入 N¹-乙基-N¹-(2-甲氧基-苄基)-丙-1,3-二胺 (0.45 g; 2.0 mmol)。在环境温度并避光搅动反应混合物 6 小时, 将其真空干燥得到粗产物, 用快速色谱法将其纯化。用 CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 9.75:0.25:0.025 洗脱, 在 TLC 上获得 0.23g 为纯红色固体的化合物 XII (洗脱液: CHCl₃/MeOH/NH₄OH 9.5:0.5:0.05)。产率 45%; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.11 (t, 6H), 1.72-1.85 (m, 4H), 2.56 (q, 8H), 3.18 (q, 4H), 3.62 (s, 4H), 3.82 (s, 6H), 5.26 (s, 2H), 6.83-6.95 (m, 4H), 7.19-7.43 (m, 4H + 2H 用 D₂O 可替换的); EI-MS: m/z = 548 (M⁺)。

实施例 5

此实施例描述了酸[6-(2-甲氧基-苄基胺-乙基)-氨基甲酸苄基酯 (XIII) 的合成。

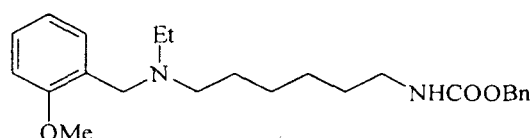


按照在实施例 1 中描述的相同的步骤从酸 (6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (2.50 g, 10 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XIII; 产率 81%; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.22-1.38 (m, 4H), 1.41-1.57 (m, 4H), 1.65 (s 扩展的, 1H 用 D₂O 可替换的), 2.58 (t, 2H), 3.18 (q, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.76 (s 扩展的, 1H 用 D₂O 可替换的), 5.09 (s, 2H), 6.82-6.93 (m, 2H),

7.20-7.40 (m, 7H)。

实施例 6

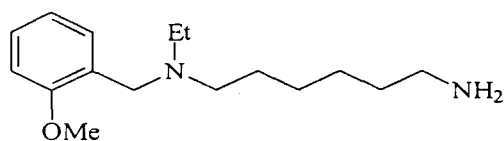
此实施例描述了酸{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯(XIV)的合成:



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤从酸 (6- (2-甲氧基-苄基氨基)-己基)-氨基甲酸苄基酯(2.91 g, 7.85 mmol)获得呈澄清油状化合物 XIV; 产率 76%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.05 (t, 3H), 1.21-1.32 (m, 4H), 1.40-1.57 (m, 4H), 2.41-2.59 (m, 4H), 3.16 (q, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.73 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.08 (s, 2H), 6.82-6.94 (m, 2H), 7.18-7.42 (m, 7H)。

实施例 7

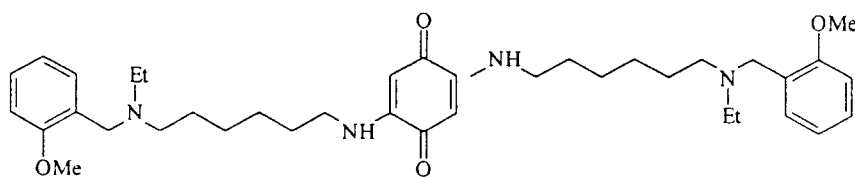
此实施例描述了 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (XV)的合成:



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤从酸{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (2.31 g, 6.01 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XV; 产率 98%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 3H), 1.12-1.48 (m, 8H+2H 用 D_2O 可替换的), 2.41-2.53 (m, 4H), 2.65 (t, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 6.82-6.94 (m, 2H), 7.16-7.42 (m, 2H)。

实施例 8

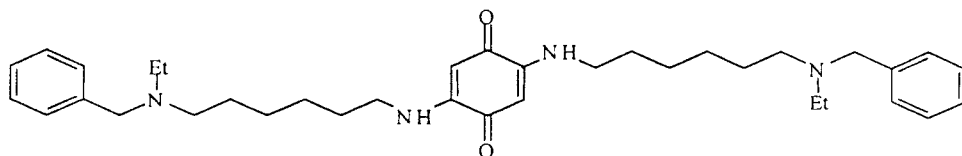
此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌 (XVI)的合成:



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (1.05 g; 4 mmol)和对苯醌(0.2 g; 1.84 mmol)获得呈红色固体的化合物 XVI。产率 17%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 6H), 1.14-1.38 (m, 8H), 1.43-1.53 (m, 4H), 1.57-1.65 (m, 4H), 2.41-2.56 (m, 8H), 3.10 (q, 4H), 3.57 (s, 4H), 3.81 (s, 6H), 5.28 (s, 2H), 6.59 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 6.83-6.95 (m, 4H), 7.21 (t, 2H), 7.39 (d, 2H). EI-MS: $m/z = 632 (\text{M}^+)$ 。

实施例 9

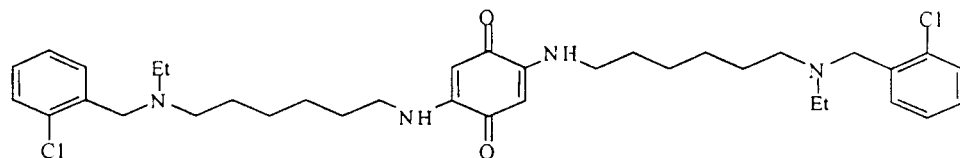
此实施例描述了 2,5-双-[6-(苄基-乙基-氨基)-己基氨基]-[1,4]苯醌 (XVII)的合成:



按照在实施例 8 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -苄基-己-1,6-二胺 (0.47 g; 2 mmol) 和对苯醌(0.1 g; 0.92 mmol)获得呈红色固体形式的化合物 XVII。产率 20%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.05 (t, 6H), 1.14-1.39 (m, 8H), 1.43-1.53 (m, 4H), 1.58-1.65 (m, 4H), 2.41-2.56 (m, 8H), 3.10 (q, 4H), 3.71(s, 4H), 5.28 (s, 2H), 6.44 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 7.10-7.24 (m, 10H). EI-MS: $m/z = 572 (\text{M}^+)$ 。用与那些在实施例 1-4 中描述的相同的步骤利用相应的起始化合物获得 N^1 -乙基- N^1 -苄基-己-1,6-二胺。

实施例 10

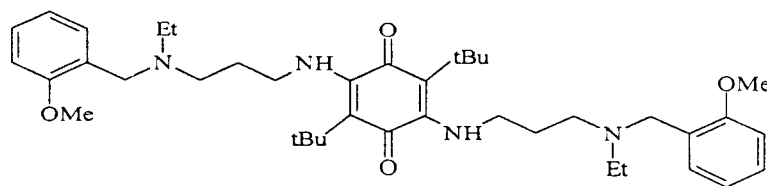
此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(2-氯-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌 (XVIII)的合成:



按照在实施例 8 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(2-氯-苄基)-己-1,6-二胺 (0.54 g; 2 mmol)和对苯醌(0.1 g; 0.92 mmol) 获得呈红色固体的化合物 XVIII。产率 15%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 6H), 1.10-1.35 (m, 8H), 1.43-1.53 (m, 4H), 1.57-1.65 (m, 4H), 2.41-2.56 (m, 8H), 3.08 (q, 4H), 3.46 (s, 4H), 5.28 (s, 2H), 6.59 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 7.05-7.23 (m, 6H), 7.45 (d, 2H). EI-MS: $m/z = 641$ (M^+)。用与那些在实施例 1-4 中描述的相同的步骤利用相应的起始化合物获得 N^1 -乙基- N^1 -(2-氯-苄基)-己-1,6-二胺。

实施例 11

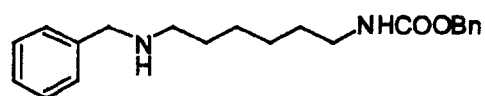
此实施例描述了 2,5-二-叔丁基-3,6-双-{3-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-丙基氨基}-[1,4]苯醌 (XIX)的合成:



按照在实施例 8 中描述的相同的步骤, 从具有结构式 XI 的化合物 (90 mg; 0.40 mmol)和 2,5-二-叔丁基-[1,4]苯醌 (40 mg; 0.18 mmol)获得呈紫红色固体的化合物 XIX。产率 10%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.09 (t, 6H), 1.15 (s, 9H), 1.27 (s, 9H), 1.70-1.83 (m, 4H), 2.52-2.64 (m, 8H), 3.15 (s, 3H), 3.54-3.71 (m, 4H), 3.83 (s, 3H), 6.81-6.96 (m, 4H), 7.18-7.44 (m, 4H). EI-MS: $m/z = 660$ (M^+)。

实施例 12

此实施例描述了具有结构式:

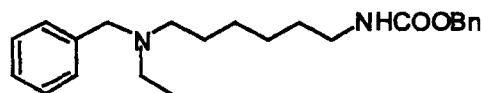


的酸[6-苄基氨基-己基]-氨基甲酸苄基酯 (XX)的合成。

按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从酸(6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯(4.00g, 16mmol)获得呈澄清油状化合物 XX。定量产率; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,22-1,57 (m, 6H + 1H 用 D_2O 可替换的), 1,78-1,97 (m, 2H), 2,75 (t, 2H), 3,18 (q, 2H), 4,05 (s, 2H), 5,01 (t 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5,15 (s, 2H), 7,30-7,45 (m, 8H), 7,57-7,65 (m, 2H)。

实施例 13

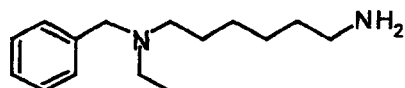
此实施例描述了酸 [6-(乙基-苄基-氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯(XXI)的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤从酸[6-苄基氨基-己基]-氨基甲酸苄基酯 (5.00 g, 14 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXI。产率 30%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,10 (t, 3H), 1,22-1,40 (m, 4H), 2,40-2,62 (m, 4H), 3,16 (q, 2H), 3,58 (s, 2H), 5,05 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5,18 (s, 2H), 7,22-7,40 (m, 10H)。

实施例 14

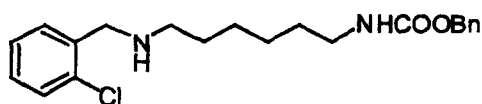
此实施例描述了 N^1 -乙基 - N^1 -苄基-己-1,6-二胺 (XXII)的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸{6-[乙基-苄基-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯(0.9 g; 2.45 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXII。定量产率; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,03 (t, 3H), 1,15 (s 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 1,21-1,58 (m, 8H), 2,37-2,58 (m, 4H), 2,65 (t, 2H), 3,56 (s, 2H), 7,20-7,38 (m, 5H)。

实施例 15

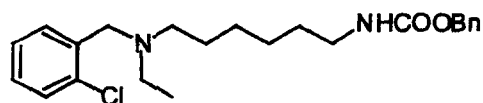
此实施例描述了酸[6-(2-氯-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯(XXIII)的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤从酸(6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯(4.00 g, 16 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXIII。产率 65%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,23-1,60 (m, 8H), 2,41 (br, s 1H 用 D_2O 可替换的), 2,61 (t, 2H), 3,17 (q, 2H), 3,89 (s, 2H), 4,84 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5,12 (s, 2H), 7,18-7,40 (m, 9H)。

实施例 16

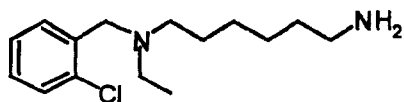
此实施例描述了酸{6-[乙基-(2-氯-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯(XXIV)的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸[6-(2-氯-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯(2.00 g, 5.35 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXIV。产率 40%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,08 (t, 3H), 1,21-1,58 (m, 8H), 2,40-2,62 (m, 4H), 3,15 (q, 2H), 3,63 (s, 2H), 4,82 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5,12 (s, 2H), 7,10-7,41 (m, 8H), 7,57 (d, 1H)。

实施例 17

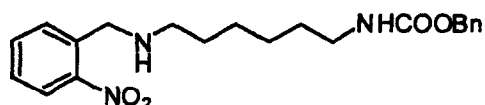
此实施例描述了 N¹-乙基-N¹-(2-氯-苄基)-己-1,6-二胺 (XXV) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤从酸{6-[乙基-(2-氯-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (0.80 g; 1.99 mmol) 获得呈黄色油的化合物 XXV。产率 98%; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1,05 (t, 3H), 1,12-1,54 (m, 8H + 2H 用 D₂O 可替换的), 2,38-2,66 (m, 6H), 3,61 (s, 2H), 7,05-7,37 (m, 3H), 7,53 (d, 1H)。

实施例 18

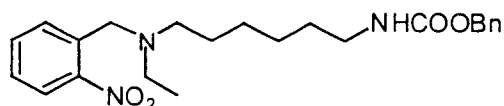
此实施例描述了酸 [6-(2-硝基-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (XXVI) 的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从酸(6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (5.00 g, 20 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXVI。产率 95%; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1,27-1,38 (m, 4H), 1,42-1,60 (m, 4H + 1H 用 D₂O 可替换的), 2,62 (t, 2H), 3,18 (q, 2H), 4,02 (s, 2H), 4,89 (s 扩展的, 1H 用 D₂O 可替换的), 5,12 (s, 2H), 7,24-7,42 (m, 6H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,95 (d, 1H)。

实施例 19

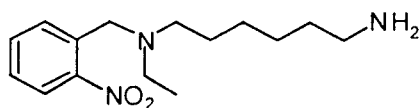
此实施例描述了酸 {6-[乙基-(2-硝基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (XXVII) 的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸 [6-(2-硝基-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (3.00 g, 7.79 mmol) 获得呈绿色油状的化合物 XXVII。产率 40%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1,02 (t, 3H), 1,20-1,57 (m, 8H), 2,37-2,56 (m, 4H), 3,18 (q, 2H), 3,83 (s, 2H), 4,76 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5,12 (s, 2H), 7,29-7,41 (m, 6H), 7,50-7,61 (m, 1H), 7,66-7,72 (m, 1H), 7,79-7,83 (m, 1H)。

实施例 20

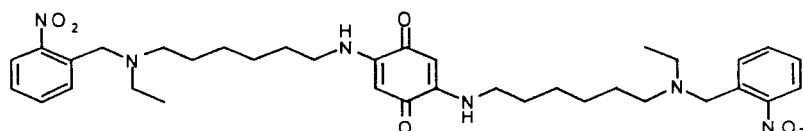
此实施例描述了 N^1 -乙基 - N^1 -(2-硝基-苄基)-己-1,6-二胺 (XXVIII) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸 {6-[乙基-(2-硝基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (0.80 g; 2.00 mmol) 获得呈黄色油状的化合物 XXVIII。产率 98%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.02 (t, 3H), 1,20-1,57 (m, 8H), 2,05 (s 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 2,37-2,56 (m, 4H), 2,73 (t, 2H), 3,83 (s, 2H), 7,32-7,41 (m, 1H), 7,50-7,61 (m, 1H), 7,70-7,76 (m, 1H), 7,79-7,83 (m, 1H)。

实施例 21

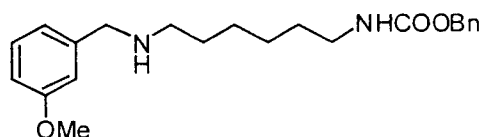
此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(2-硝基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌 (XXIX) 的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(2-硝基-苄基)-己-1,6-二胺 (0.65 g; 2.33 mmol) 和对苯醌 (0.12 g; 1.1 mmol) 获得呈蜡样红色固体的化合物 XXIX。产率 15%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 0,98 (t, 6H), 1,19-1,50 (m, 12H), 1,52-1,72 (m, 4H), 2,35-2,57 (m, 8H), 3,13 (q, 4H), 3,83 (s, 4H), 5,30 (s, 2H), 6,58-6,66 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 7,32-7,41 (m, 2H), 7,48-7,58 (m, 2H), 7,62-7,70 (m, 2H), 7,78-7,82 (m, 2H). MS (ESI $^+$) $m/z = 663$ (M + H) $^+$ 。

实施例 22

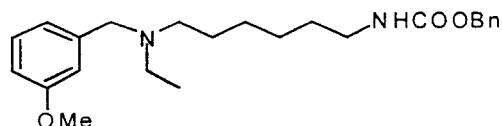
此实施例描述了酸 [6-(3-甲氧基-苄基氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (XXX) 的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从酸 (6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (4.00 g, 16 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXX。产率 76%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.22-1.38 (m, 4H), 1,41-1.62 (m, 4H), 2,58 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 2.62 (t, 2H), 3.18 (q, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.83 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.08 (s, 2H), 6.79-6.95 (m, 3H), 7.20-7.41 (m, 6H)。

实施例 23

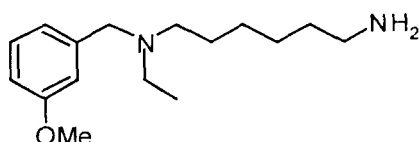
此实施例描述了酸 {6-[乙基-(3-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (XXXI) 的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸 [6-(3-甲氧基-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (2.91 g, 7.85 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXXI。产率 50%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.05 (t, 3H), 1.21-1.38 (m, 4H), 1.40-1.57 (m, 4H), 2.43 (t, 2H), 2.73 (t, 2H), 3.18 (q, 2H), 3.56 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.83 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.09 (s, 2H), 6.79-6.82 (m, 1H), 6.85-6.88 (m, 2H), 7.22 (t, 1H), 7.29-7.42 (m, 5H)。

实施例 24

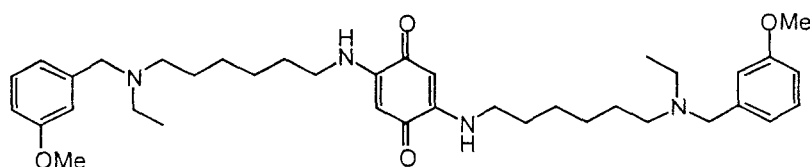
此实施例描述了 N^1 -乙基- N^1 -(3-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (XXXII) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸 {6-[乙基-(3-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (2.31 g; 6.01 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXXII。产率 90%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 3H), 1.22-1.65 (m, 8H + 2H 用 D_2O 可替换的), 2.38-2.58 (m, 4H), 2.65 (t, 2H), 3.58 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 6.72-6.92 (m, 3H), 7.16-7.29 (m, 1H)。

实施例 25

此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(3-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌 (XXXIII) 的合成。

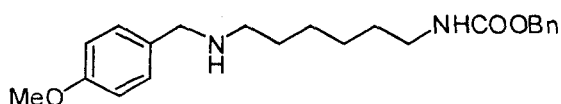


按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(3-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (1.0 g; 4.24 mmol) 和对苯醌 (0.2 g; 1.84 mmol) 获得呈蜡

样红色固体的化合物 XXXIII。产率 15%； $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 6H), 1.24-1.57 (m, 12H), 1.60-1.75 (m, 4H), 2.39-2.60 (m, 8H), 3.09 (q, 4H), 3.57 (s, 4H), 3.81 (s, 6H), 5.32 (s, 2H), 6.63 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 6.76-6.95 (m, 6H), 7.18-7.28 (t, 2H). MS (ESI^+) $m/z = 633$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 。

实施例 26

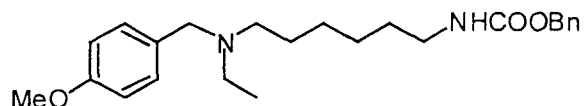
此实施例描述了酸 [6-(4-甲氧基-苄基氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (XXXIV)的合成:



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从酸 (6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (2.50 g, 10 mmol) 获得呈黄色油的化合物 XXXIV。产率 90%； $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.25-1.38 (m, 4H), 1.41-1.57 (m, 4H + 1H 用 D_2O 可替换的), 2.62 (t, 2H), 3.19 (q, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.76 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.12 (s, 2H), 6.82-6.93 (m, 2H), 7.20-7.43 (m, 7H)。

实施例 27

此实施例描述了酸 {6-[乙基-(4-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (XXXV)的合成。

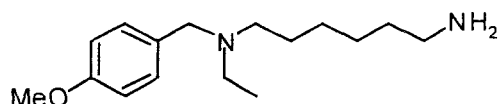


按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸 [6-(2-甲氧基-苄基氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (2.91 g, 7.85 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXXV。产率 40%； $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.07 (t, 3H), 1.23-1.38 (m, 4H), 1.42-1.57 (m, 4H), 2.42 (t, 2H), 2.56 (q, 2H), 3.21 (q, 2H), 3.52 (s, 2H),

3.82 (s, 3H), 4.83 (s 扩展的, 1H 用 D₂O 可替换的), 5.12 (s, 2H), 6.84 (d, 2H), 7.25 (d, 2H), 7.32-7.42 (m, 5H)。

实施例 28

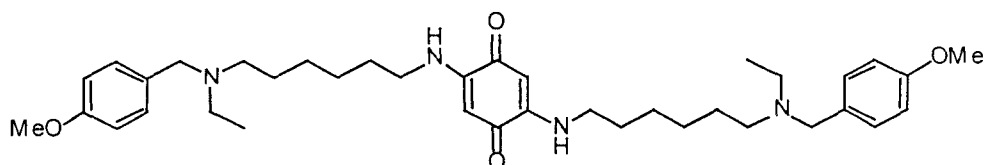
此实施例描述了 N¹-乙基-N¹-(4-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (XXXVI) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸 {6-[乙基-(4-甲氧基-苄基)-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (2.31 g; 6.01 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XXXVI。产量; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.06 (t, 3H), 1.22-1.56 (m, 8H + 2H 用 D₂O 可替换的), 2.38-2.57 (m, 4H), 2.66 (t, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 6.82-6.94 (m, 2H), 7.20-7.31 (m, 2H)。

实施例 29

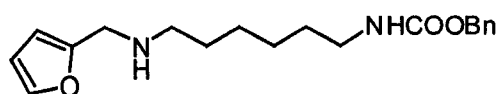
此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(4-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-[1,4]苯醌 (XXXVII) 的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N¹-乙基-N¹-(4-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (1.05 g; 4 mmol) 和对苯醌 (0.2 g; 1.84 mmol) 获得呈蜡样红色固体的化合物 XXXVII。产率 12%; ¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.04 (t, 6H), 1.22-1.56 (m, 12H), 1.58-1.72 (m, 4H), 2.38-2.56 (m, 8H), 3.12 (q, 4H), 3.47 (s, 4H), 3.79 (s, 6H), 5.32 (s, 2H), 6.59 (t 扩展的, 2H 用 D₂O 可替换的), 6.82-6.93 (m, 4H), 7.21-7.30 (m, 4H). MS (ESI⁺) m/z = 633 (M + H)⁺。

实施例 30

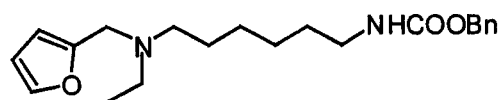
此实施例描述了酸 {6-[(呋喃-2-基甲基)氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (XXXVIII)的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从(6-氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (4.00 g, 16 mmol)获得呈棕色固体的化合物 XXXVIII。产率 72%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.22-1.50 (m, 8H), 1.73-1.98 (m, 2H + 1H 用 D_2O 可替换的), 2.69-2.94 (m, 2H), 3.18 (q, 2H), 4.28 (s, 2H), 4.99-5.18 (m, 2H + 1H 用 D_2O 可替换的), 6.39-6.42 (m, 1H), 6.72-6.79 (m, 1H), 7.28-7.40 (m, 5H), 7.46-7.50 (m, 1H). P.f. = 132-135 °C。

实施例 31

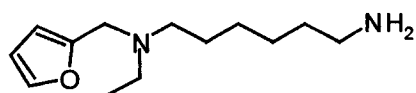
此实施例描述了酸 [6-(乙基-呋喃-2-基甲基-氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (XXXIX)的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸 {6-[(呋喃-2-基甲基)氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (2.70 g, 8.18 mmol)获得呈黄色油的化合物 XXXIX。产率 35%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.15-1.60 (m, 9H), 1.82-1.99 (m, 2H), 2.79-2.88 (m, 2H), 2.99 (q, 2H), 3.21 (q, 2H), 4.22 (s, 2H), 4.96 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.15 (s, 2H), 6.43-6.49 (m, 1H), 6.62-6.68 (m, 1H), 7.32-7.41 (m, 5H), 7.53-7.56 (m, 1H)。

实施例 32

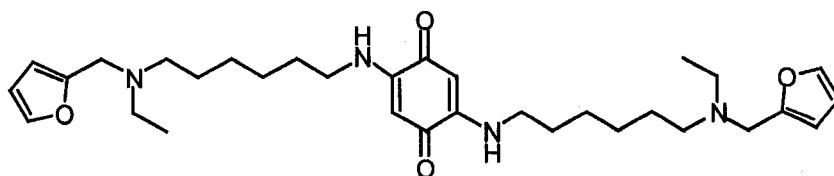
此实施例描述了 N^1 -乙基- N^1 -呋喃-2-基甲基-己-1,6-二胺 (XL)的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤从酸 [6-(乙基-呋喃-2-基甲基-氨基)-己基]-氨基甲酸苄基酯 (1.05 g; 2.92 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XL。产率 85%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.08 (t, 3H), 1.22-1.58 (m, 8H + 2H 用 D_2O 可替换的), 2.38-2.61 (m, 4H), 2.67 (t, 2H), 3.62 (s, 2H), 6.18-6.20 (m, 1H), 6.32-6.38 (m, 1H), 7.38-7.42 (m, 1H)。

实施例 33

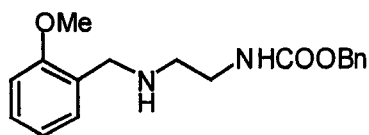
此实施例描述了 2,5-双-[6-(乙基-呋喃-2-基甲基-氨基)-己基氨基]-[1,4]苯醌 (XLI) 的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤从 N^1 -乙基- N^1 -呋喃-2-基甲基-己-1,6-二胺 (0.55 g; 2.45 mmol) 获得呈蜡样红色固体的化合物 XL。产率 16%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.09 (t, 6H), 1.22-1.58 (m, 12H), 1.60-1.73 (m, 4H), 2.43 (t, 4H), 2.57 (q, 4H), 3.18 (q, 4H), 3.63 (s, 4H), 5.32 (s, 2H), 6.18-6.22 (m, 2H), 6.32-6.39 (m, 2H), 6.62 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 7.38-7.41 (m, 2H). MS (ESI^+) $m/z = 553 (\text{M} + \text{H})^+$ 。

实施例 34

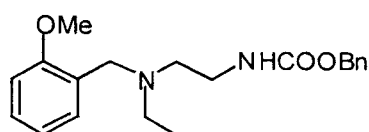
此实施例描述了酸 [2-(2-甲氧基-苄基氨基-乙基)-氨基甲酸苄基酯 (XLII) 的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤从酸 (2-氨基-乙基)-氨基甲酸苄基酯 (5.00 g, 25.8 mmol) 获得呈黄色油的化合物 XLII。产率 80%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.63 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 2.75 (t, 2H), 3.33 (q, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 5.18 (s, 2H), 5.38 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 6.82-6.93 (m, 2H), 7.20-7.41 (m, 7H)。

实施例 35

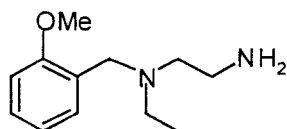
此实施例描述了酸 {2-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-乙基}-氨基甲酸苄基酯 (XLIII) 的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤, 从酸 [2-(2-甲氧基-苄基氨基)-乙基]-氨基甲酸苄基酯 (2.00 g, 19.7 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XLIII。产率 45%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.05 (t, 3H), 2.58 (q, 2H), 2.62 (t, 2H), 3.38 (q, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 5.20 (s, 2H), 5.78 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 6.85-6.99 (m, 2H), 7.23-7.44 (m, 7H)。

实施例 36

此实施例描述了 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-乙-1,2-二胺 (XLIV) 的合成。

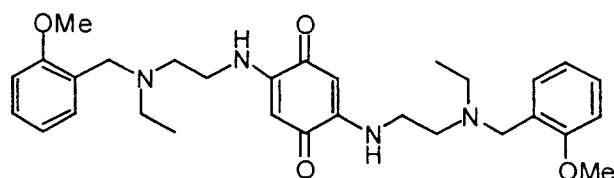


按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸 {2-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-乙基}-氨基甲酸苄基酯 (1.50 g; 4.35 mmol) 获得呈澄清油状化合物 XLIV。产率 98%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.04 (t, 3H), 2.00 (s 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 2.65 (q, 2H), 2.98 (t, 2H), 3.21 (t, 2H), 3.78 (s,

2H), 3.85 (s, 3H), 6.85-7.01 (m, 2H), 7.20-7.42 (m, 2H)。

实施例 37

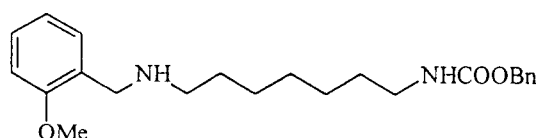
此实施例描述了 2,5-双-{2-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-乙基氨基}-[1,4]苯醌 (XLV)的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-乙-1,2-二胺 (1,40 g; 6.27 mmol) 和对苯醌 (0.34 g; 3.12 mmol) 获得呈黑红色固体的化合物 XLV。产率 10%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CD_3OD) δ : 1.15 (t, 6H), 2.64 (q, 4H), 2.79 (t, 4H), 3.71 (s, 4H), 3.82 (s, 6H), 5.28 (s, 2H), 6.88-6.99 (m, 4H), 7.21-7.38 (m, 4H). MS (ESI^+) $m/z = 521 (\text{M} + \text{H})^+$. Pf: 127-130 °C。

实施例 38

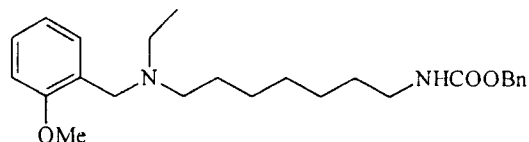
此实施例描述了酸 [7-(2-甲氧基-苄基氨基-庚基)-氨基甲酸苄基酯 (XLVI)的合成。



按照在实施例 1 中描述的相同的步骤, 从酸 (7-氨基-庚基)-氨基甲酸苄基酯 (2,50 g, 9.4 mmol) 获得呈黄色油的化合物 XLVI。产率 90%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.22-1.38 (m, 6H), 1.38-1.64 (m, 4H + 1H 用 D_2O 可替换的), 2.62 (t, 2H), 3.13 (q, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 5.22 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 6.80-6.93 (m, 2H), 7.19-7.40 (m, 7H)。

实施例 39

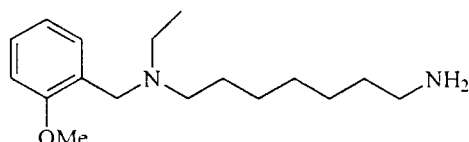
此实施例描述了酸 {7-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-庚基}-氨基甲酸苄基酯 (XLVII)的合成。



按照在实施例 2 中描述的相同的步骤,从酸 [7-(2-甲氧基-苄基氨基)-庚基]-氨基甲酸苄基酯 (3.30 g, 8.0 mmol)获得呈澄清油状化合物 XLVII。产率 35%; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1.12 (t, 3H), 1.25-1.38 (m, 6H), 1.43-1.61 (m, 4H), 2.45-2.61 (m, 4H), 3.20 (q, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 5.02 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 5.19 (s, 2H), 6.84-7.02 (m, 2H), 7.21-7.51 (m, 7H)。

实施例 40

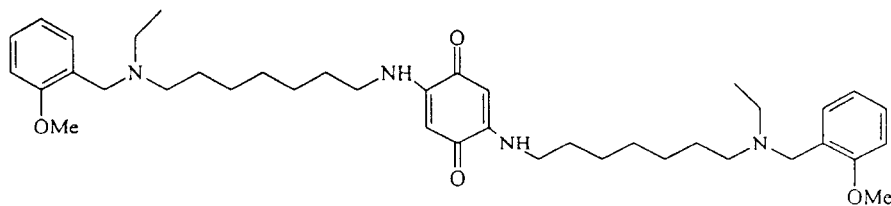
此实施例描述了 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-庚-1,7-二胺 (XLVIII)的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤,从酸 {7-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]庚基}-氨基甲酸苄基酯 (3.30 g, 8.0 mmol)获得呈黄色油的化合物 XLVIII。产量; ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 0.98 (t, 3H), 1.12-1.53 (m, 10H + 2H 用 D_2O 可替换的), 2.35-2.52 (m, 4H), 2.55-2.63 (m, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 6.72-6.80 (m, 1H), 6.83 (t, 1H), 7.14 (t, 1H), 7.38 (d, 1H)。

实施例 41

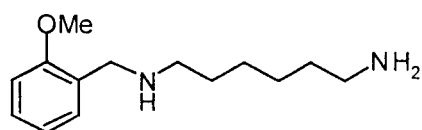
此实施例描述了 2,5-双-{7-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-庚基氨基}-[1,4]苯醌 (IL)的合成:



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤, 从 N^1 -乙基- N^1 -(2-甲氧基-苄基)-庚-1,7-二胺 (0.90 g; 3.23 mmol) 和对苯醌 (0.17 g; 1.57 mmol) 获得呈红色油的化合物 IL。产率 12%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.08 (t, 6H), 1.28-1.42 (m, 12H), 1.45-1.60 (m, 4H), 1.62-1.75 (m, 4H), 2.48 (t, 4H), 2.58 (q, 4H), 3.18 (q, 4H), 3.62 (s, 4H), 3.83 (s, 6H), 5.35 (s, 2H), 6.62 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 6.85-6.90 (m, 2H), 6.97 (t, 2H), 7.22 (t, 2H), 7.43 (d, 2H). MS (ESI^+) $m/z = 661$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 。

实施例 42

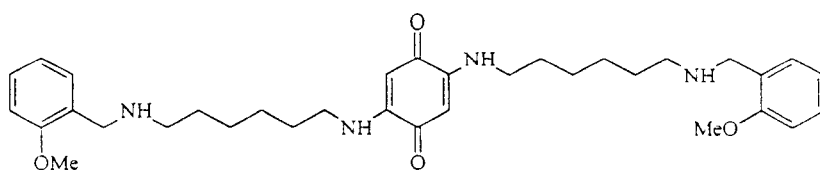
此实施例描述了 N -(2-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (L) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤, 从酸 [6-(2-甲氧基-苄基氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (2.0 g; 5.40 mmol) 获得呈黄色油的化合物 L。产率 65%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.12-1.42 (m, 8H + 3H 用 D_2O 可替换的), 2.38-2.56 (m, 4H), 3.60 (s, 2H), 3.62 (s, 3H), 6.63-6.79 (m, 2H), 7.01-7.15 (m, 2H)。

实施例 43

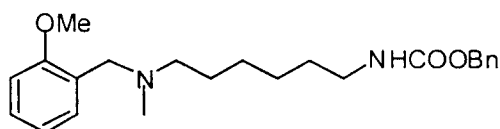
此实施例描述了 2,5-双-[6-(2-甲氧基-苄基氨基)-己基氨基]-[1,4]-苯醌 (LI) 的合成。



按照在实施例4中描述的相同的步骤,从N-(2-甲氧基-苄基)-己-1,6-二胺 (0.70 g; 2.96 mmol) 和对苯醌 (0.15 g; 1.38 mmol) 获得呈红色固体的化合物 LI。产率 18%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱; CDCl_3) δ : 1.28-1.42 (m, 8H), 1.52-1.76 (m, 8H), 2.63 (t, 4H), 3.16 (q, 4H), 3.78-3.85 (m, 10 + 2H 用 D_2O 可替换的), 5.32 (s, 2H), 6.62 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 6.85-6.96 (m, 4H), 7.22-7.35 (m, 4H). MS (ESI⁺) $m/z = 577$ (M + H)⁺. Pf: 205 °C。

实施例 44

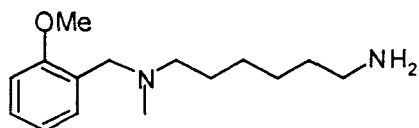
此实施例描述了酸 {6-[(2-甲氧基-苄基)-甲基-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (LII) 的合成。



向在 8ml 水中的酸 [6-(2-甲氧基-苄基氨基-己基)-氨基甲酸苄基酯 (5.0 g; 13.5 mmol) 的混悬液中加入 HCOOH (1.6 ml; 40.5 mmol) 和 HCHO (3.1 ml; 40.5 mmol)。将其回流搅拌 6 小时并在环境温度一夜,然后用 NaOH 40% 碱化水溶液并用 CHCl_3 (3 x 100 ml) 萃取。将收集的且脱水的有机提取物真空干燥,并用快速色谱法纯化获得的残留物。用石油/ $\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (8:2:0.7:0.05) 的 CHCl_3 /醚洗脱,获得 1.6g 呈黄色油的化合物 LII。产率 75%; $^1\text{H NMR}$ (游离碱, CDCl_3) δ : 1,23-1,39 (m, 4H), 1,40-1,63 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,44 (t, 2H), 3,17 (q, 2H), 3,58 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 5,12 (s, 2H), 5,22 (s 扩展的, 1H 用 D_2O 可替换的), 6,82-7,00 (m, 2); 7,20-7,38 (m, 7)。

实施例 45

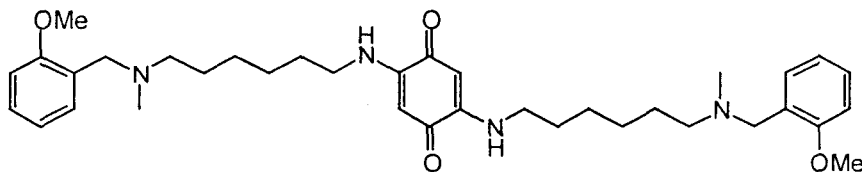
此实施例描述了 N^1 -(2-甲氧基-苄基)- N^1 -甲基-1,6 己二胺 (LIII) 的合成。



按照在实施例 3 中描述的相同的步骤，从酸 {6-[(2-甲氧基-苄基)-甲基-氨基]-己基}-氨基甲酸苄基酯 (1.60 g; 4.20 mmol) 获得呈黄色油的化合物 LIV。定量产率；¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.18-1.56 (m, 8H + 2H 用 D₂O 可替换的), 2.18 (s, 3H), 2.38 (t, 2H), 2.62 (t, 2H), 3.45 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 6.78-6.92 (m, 2H), 7.19 (t, 1H), 7.28-7.31 (m, 1H)。

实施例 46

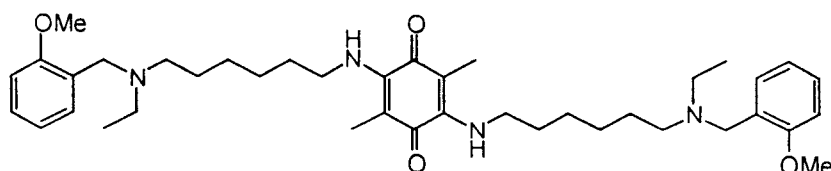
此实施例描述了 2,5-双-{6-[(2-甲氧基-苄基)-甲基氨基]-己基氨基}-[1,4]-苯醌 (LIV) 的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤，从 N¹-(2-甲氧基-苄基)-N¹-甲基-1,6 己二氨 (0.90 g; 3.60 mmol) 和对苯醌 (0.18 g; 1.66 mmol) 获得呈蜡样红色固体的化合物 LIV。产率 10%；¹H NMR (游离碱; CDCl₃) δ: 1.31-1.48 (m, 16H), 2.22 (s, 6H), 2.41 (t, 4H), 3.15 (q, 4H), 3.52 (s, 4H), 3.83 (s, 6H), 5.32 (s, 2H), 6.62 (t 扩展的, 2H 用 D₂O 可替换的), 6.83-6.99 (m, 4H), 7.19-7.38 (m, 4H). MS (ESI⁺) *m/z* = 605 (M + H)⁺。

实施例 47

此实施例描述了 2,5-双-{6-[乙基-(2-甲氧基-苄基)-氨基]-己基氨基}-3,6-二甲基-[1,4]-苯醌 (LV) 的合成。



按照在实施例 4 中描述的相同的步骤，从 N^1 -(2-甲氧基-苄基)- N^1 -乙基-1,6-己二胺 (0.82 g; 3.10 mmol) 和 2,5-二甲基-苯醌 (0.20 g; 1.85 mmol) 获得呈红色油的化合物 LV。产率 10%； ^1H NMR (游离碱; CDCl_3) δ : 1,12 (t, 6H), 1.22-1.43 (m, 8H), 1.45-1.63 (m, 8), 2.11 (s, 6H), 2.48-2.62 (m, 8H), 3.53 (q, 4H), 3.63 (s, 4H), 3.83 (s, 6H), 6.72 (t 扩展的, 2H 用 D_2O 可替换的), 6.83-7.01 (m, 4H), 7.23 (t, 2H), 7.42 (m, 2H). MS (ESI^+) $m/z = 661$ ($\text{M} + \text{H}^+$).

实施例 48

此实施例描述了化合物 XVI 和 XII 的抑制能力和选择性的测定以及与市场上存在的一些药物的这些性质的比较。

利用 Ellman 的分光光度法测定抑制力(IC_{50}) (Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Featherstone, R.M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961, 第 7 卷, 第 88-95 页)。

利用恒定浓度的基质和酶并且用连续地增加来变化抑制剂的浓度来测定 IC_{50} 值。这样在阴离子有色的分子种类 (2-硝基-4-硫代苯甲酸) ($\lambda_{\text{max}} = 412 \text{ nm}$) 的形成的启示的基础上测定酶的活性，其是在硫胆碱—乙酰硫胆碱 (AChE 的底物) 或碳化丁酰胆碱 (BuChE 的底物) 的酶水解产物—和 5,5'-二硫代-二-硝基苯甲酸(Ellman 反应)之间反应后得到的。在 412nm 处吸光度的变化 (即每分钟 2-硝基-4-硫代苯甲酸的吸光度的变化) ($\Delta\text{A}/\text{分钟}$) (酶速度) 取决于底物浓度，并取决于 AChE (来自人红细胞, 两亲型, EC 3.1.1.7) 和 BuChE (来自人血清, EC 3.1.1.8) 的酶活性, 按照 Michaelis Menten 的动力学。

为计算 IC_{50} , 使用恒定浓度的饱和底物, 即其能够产生最大酶速度 (V_{max}) 和固定的酶速率。然后试验了研究中的化合物的五个生长浓度,

能够诱导在 V_{\max} 的 20% 和 1'80% 之间的抑制。接下来获得抑制的图线， V_{\max} 的抑制百分率作为抑制剂的毫微摩尔浓度的小数对数的函数标绘在图上。评价每一条线的线性回归参数和 IC_{50} （能够灭活最大酶活性的 50% 的浓度），其通过内插法在各线上获得。

表 I

抑制剂	$IC_{50(AChE)}$ (nM)	$IC_{50(BuChE)}$ (nM)	选择性 $IC_{50(BuChE)} / IC_{50(AChE)}$
XII	3.19 ± 0.15^a	4490 ± 340^a	1407
XVI	2.39 ± 0.14^a	1440 ± 100^a	602
他克林	250 ± 10	50 ± 2	0.2
多奈哌齐	5.7^b	$\sim 7000^b$	~ 1200

^a 两次独立测量的平均值，重复三次；

^b Sugimoto, H.; Yamanishi, Y.; Iimura, Y.; Kawakami, Y.; 多奈哌齐

盐酸盐 (E2020) 和其它乙酰胆碱酯酶抑制剂. Current Medicinal Chemistry 2000, 第 7 卷, 第 303-339 页。

表 I 显示利用上面描述的方法获得的 IC_{50} 并涉及化合物 XVI、XII、他克林和多奈哌齐。AChE 的 IC_{50} 标示为 $IC_{50(AChE)}$ ，BuChE 的 IC_{50} 标示为 $IC_{50(BuChE)}$ 。选择性被定义为 $IC_{50(AChE)}$ 和 $IC_{50(BuChE)}$ 之间的比率，并且指示抑制剂的优先与 AChE 而不是 BuChE 结合的能力。

化合物 XVI 和 XII 显示相对很好的 $IC_{50(AChE)}$ (表 I)，两次小于他克林 (Cognex[®]) 的 $IC_{50(AChE)}$ ，并且基本上低于多奈哌齐 (Aricept[®]) 的 $IC_{50(AChE)}$ 。

选择性是相对很好的，高于他克林的，并且可以比得上多奈哌齐。

实施例 49

此实施例描述化合物 XVI 的抑制常数 (K_i) 的测定。

抑制剂的动力学评价能够在酶和抑制剂之间的键的性质上提供重要的信息，由 K_i 、 K_i 表达的键或键的位点和键的定量效率实际上描述了在游

离酶（尤其是 AChE，来自人红细胞 EC 3.1.1.7）、抑制剂（尤其是化合物 XVI）和酶-抑制剂复合物之间的平衡状态，代表酶-抑制剂复合物的分离常数。

利用 Lineweaver-Burk 方法（Dixon, M., Webb, E.C., *Enzymes*, 第二版, 第 VIII 章, 第 315 页, Longmans, Green and Co. Ltd, 1964, 伦敦, 英国）实现复合物 AchE-化合物 XVI 的 K_i 的测定。用变化浓度的底物乙酰硫胆碱（111-550 μM ）评价各浓度的化合物 XVI 的酶活性。将酶活性数据标绘在显示化合物 XVI 的每个浓度的图上（图 1），用速度的倒数作为底物浓度倒数的函数。然后将每一浓度的抑制剂获得的线的梯度值标绘在图上（图 2）作为抑制剂的相应浓度的函数。获取线在 X 轴上的截断，不经过零，得到化合物 XVI 的 K_i 值等于 2.6nM。

从带有生长梯度的 Lineweaver-Burk (图 1)线图的分析可以看到，在抑制剂的存在下，其显示 V_{\max} 和 K_i 的变化。这一行为或许指示了混合类型的竞争抑制，其既来自化合物 XVI 与游离酶的重要的相互作用，也来自化合物 XVI 与乙酰化的酶的重要的相互作用。从这些结果看来似乎化合物 XVI 不仅与活性位点也与其它附属位点具有相对强的相互作用，可能由酶的周围位点表示。化合物 XVI 因此是相对强的、可逆的、快速的、混合型竞争性抑制剂，其基本上遵循 Michaelis Menten 的动力学。

实施例 50

用 Ellman 方法（见实施例 48）用重组人 AChE (HuAChE, EC 3.1.1.7) 和在 BuChE（来自人血清, EC 3.1.1.8）上试验下述表中的化合物。

此表也显示了关于在相同实验条件下试验的两种参考化合物—他克林和多奈哌齐—的抑制力的数据，以及化合物 XVI 和 XII 的数据。

化合物	IC ₅₀ (HuAChE) nM*	IC ₅₀ (BuChE) nM*
XLV	61.5±1.3	16800±1100
XII	2.25±0.21	4490±340
XVI	1.55±0.11	1440±100

IL	7.79±0.37	1250±250
LIV	77.8±4.3	5110±410
LI	123±20	3230±150
LV	9.50±0.23	462±2
XVII	73.3±3.2	645±33
XXXVII	51.1±1.0	2420±940
XXXIII	13.8±1.7	2170±70
XXIX	2310±130	36500±8800
XVIII	593±51	45100±1000
XLI	144±3	3510±180
他克林	424±21	50±2
多奈哌齐	23.1±4.8	7420±390

* 两次独立测量的平均值，重复三次。

实施例 51

此实施例描述化合物 XVI 的淀粉状蛋白抗聚集力的测定。

由于 AChE 引起的 A β 的原纤维形成的诱导似乎由酶的周围位点和肽之间的相互作用引起 (Inestrosa, N. C.; Alvarez, A.; Perez, C. A.; Moreno, R. D.; Vicente, M. 等 Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid-beta-peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme. *Neuron* 1996, 第 16 卷, 第 881-891 页), 并且由于化合物 XVI 似乎与此位点结合, 评价化合物 XVI 抑制酶和 A β 之间的相互作用, 并因此阻断 AChE 诱导的原纤维的形成的能力。为此, 使用荧光方法, 它能够突出 AChE (重组人, EC 3.1.1.7) 促进肽 A β (1-40) 的原纤维形成的能力。

首先在环境温度, pH = 8.0、0.215 M 的含水磷酸缓冲液中以 100: 1 的摩尔比用酶 (2.3 μ M) 温育 A β (230 μ M)。为评价由 AChE 诱导的原纤维的形成, 将温育的溶液转移入包含硫黄素 T (1.5 μ M) 的由甘氨酸-氢氧化钠构成的 pH=8.5 的 2ml 缓冲液。硫黄素 T 选择性地与 β 构象的 A β

原纤维相互反应，显现特征性的荧光。在 300 秒后，固定 $\lambda_{exc} = 446 \text{ nm}$ 获取此溶液的荧光强度 ($\lambda_{em} = 490 \text{ nm}$)。然后进行 300 秒的荧光扫描以获得荧光信号的稳定值，从中减去对硫黄素 T 的基础荧光的贡献。为获得荧光强度的值，仅涉及硫黄素 T 与淀粉状蛋白原纤维的相互作用，减去在相同的条件下个别地温育的 A β 和 AChE 构成的空白的的影响。

因此，在检查由 AChE 诱导的 β A 的凝聚情况后，在相同的条件下检查化合物 XVI 的抗凝聚力。在上述相同的条件下，将此化合物与 A β 和 AChE 一起温育。化合物 XVI 的浓度在 10 μM 和 250 μM 之间变化。在化合物 XVI 的存在下，与 A β 的原纤维复合的硫黄素的荧光强度的特异性信号减弱，指示淀粉状蛋白抗聚集作用。荧光信号直接与十倍浓度的化合物 XVI 的浓度的对数成比例。能够降低荧光信号 50%的化合物 XVI 的浓度等于 $28.3 \pm 0.3 \mu\text{M}$ (图 3)。

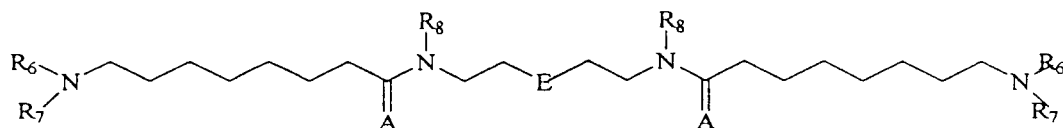
在描述的条件试验的其它抑制化合物（即他克林、多奈哌齐、毒扁豆碱、propidium、十烷双胺）中，只有 propidium 显示与化合物 XVI 的抑制力相同强度的抑制力 ($IC_{50} = 12.6 \pm 0.3 \mu\text{M}$)。在这一点上，重要的是强调 propidium 被描述为 AChE 的非竞争性抑制剂，能够选择性地与酶的周围位点结合 (Taylor, P.; Lappi, S. Interaction of fluorescence probes with acetylcholinesterase. The site and specificity of propidium binding. Biochemistry 1975, 第 14 卷, 第. 1989-1997 页)。化合物 XVI 的抗聚集行为因此证实了此分子能够与 AChE 的周围位点建立结合相互作用，其对 A β 有高亲和性。

实施例 52

按照在前面实施例中描述的相同的方法，试验性地测定浓度为 100 μM 的化合物 XII 对由 AChE %诱导的聚集有大约 90%的抑制。

实施例 53

此实施例描述通式 (I) 代表的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物与具有通式 (LVI) 的已知化合物的 pIC_{50} 之间的比较:



(LVI)

表 2

编号	R ₆	R ₇	R ₈	A	E	pIC ₅₀ (AChE)	pIC ₅₀ (BChE)
1	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	H ₂	S-S	5.14±0.02	5.21±0.03
2	H	H	H	H ₂	S-S	3.30±0.03	3.19±0.02
3	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	H ₂	CH ₂	5.14±0.03	5.06±0.02
4	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	H ₂	(CH ₂) ₂	5.19±0.01	5.86±0.01
5	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	H ₂	(CH ₂) ₃	5.35±0.05	5.43±0.02
6	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	H ₂	(CH ₂) ₄	5.27±0.03	6.01±0.02
7	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	H	O	(CH ₂) ₄	5.73±0.03	4.94±0.03
8	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	H	Me	O	(CH ₂) ₄	6.51±0.02	5.22±0.04
9	2-MeOC ₆ H ₅ CH ₂	Me	Me	O	(CH ₂) ₄	6.77±0.01	4.93±0.04
XII						≈ 8.49	≈ 5.35
XVI						≈ 8.62	≈ 5.84

(具有通式 LVI 的化合物在 Melchiorre 等, Acetylcholinesterase noncovalent inhibitors based on a polyamine backbone for potential use against Alzheimer's disease, J. Med. Chem. 1998, 第 41 卷, 4186-4189 中有描述)。

从表 2 中可以看出, 通式 (I) 代表的 2,5-双-二胺-[1,4]苯醌衍生物与具有通式 (LVI) 的已知化合物相比具有较低的 IC₅₀(AChE) 和较高的选择性。

实施例 54

此实施例描述在动物模型中化合物 XVI 活性的评价。

利用最近实现的动物模型 (Ruberti F 等, J Neurosci 2000, 第 20 卷, 第 2589-2601 页) 进行体内试验, 此模型代表表型强的类似人阿耳茨海默氏

病。特别地，此模型包括表达神经生长因子（NGF）抗体的转基因小鼠，并且因此显示在皮质中的广泛神经元缺失、淀粉状蛋白 β 斑块和细胞内神经原纤维杂乱的形成以及行为异常。

尤其是，为生产抗-NGF 转基因小鼠（AD11），将抗-NGF 单克隆抗体 α D11 的氢和重链的可变区域与不变人区域 κ 和 γ 1 联结，以得到虚构的人/大鼠抗体 α D11，然后被放置在人巨细胞病毒（CMV）的早熟区域的启动子的转录控制下。通过表达轻链（CMV-VK α D11）和表达重链（CMV-VH α D11）的小鼠获得表达功能性抗-NGF 抗体的小鼠（AD11 小鼠）。

用化合物 XVI（在盐水溶液中 7mg/kg）治疗 AD11 小鼠，从年龄 1.5 个月至 2 个月由每天腹腔内注射 15 天。考虑两对照组：用盐水溶液同样杂乱治疗的 AD11 小鼠和相同家系和相同年龄的非转基因小鼠。

如下进行免疫组织化学试验。用化合物 XVI 治疗 AD11 小鼠，用过量的水合氯醛麻醉非转基因小鼠。除去大脑并在在磷酸缓冲液（PBS）中的 4%的多聚甲醛溶液中固定 24 小时，然后在 30%的蔗糖中低温保护。将基底前脑和内嗅皮质的冠状缝切面切成 40 μ m 厚，并收集在包含在 PBS 中的 1%的多聚甲醛的 6-孔板中。下面的初级抗体被用于免疫组织化学分析：抗-胆碱乙酰转移酶（1:500, Chemicon Inc., Temecula, CA）、抗-磷酸化的 Tau 蛋白（克隆 AT8, Innogenetics N.V. Zwijnaarde, 比利时）和淀粉状蛋白的抗-蛋白前体（克隆 2.F2.19B4 Chemicon Inc.）。在用初级抗体温育后，在添加抗山羊 IgG (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA)或抗小鼠 IgG (Dako A/S, Glostrup, Denmark)biotinilated 抗体前洗涤切片。

进行立体分析以测定对胆碱乙酰基转移酶（ChAT）阳性的胆碱能神经元数目。利用由 Michel 和 Cruz-Olive (J Microsc 1988, 第 150 卷, 第 117-146 页) 以及由 Peterson 等 (J Comp Neurol 1999, 第 404 卷, 第 1-20 页)描述的 Cavalieri 方法计算基底前脑的容积,同时利用光学分段法(West MJ, Neurobiol Aging 1993, 第 14 卷, 第 275-285 页 ; Peterson DA 等, J Comp Neurol 1999, 第 404 卷, 第 1-20 页) 获得对 ChAT 阳性的神经元的总数的估计。

为测定 XVI 是否能阻止在基底前脑和在内特核基底核中的 ChAT

阳性神经元的丧失，在神经变性的极早期每天给予 AD11 小鼠此化合物（从 1.5 个月至 2 个月；n=6）。从图 4A-4C 可以看到此治疗能够预防基底前脑中的胆碱能缺乏；从图 5 图中概括的立体学计算能定量相同的结果。此外，XVI 能有效地阻止迈内特核基底核中的胆碱能神经元的丧失，如图 6 图中显示的数据所示。

就其它 AD 标记物来说，检验 XVI 对淀粉状蛋白 β 前体蛋白质 (APP) 的沉积和对 2 个月的 AD11 小鼠的 Tau 蛋白高度磷酸化的影响。在年龄为 2 个月时，在对照小鼠的脑血管中不存在 APP 沉积 (图 7A)，但是在 ADD11 小鼠中是重要的 (图 7B)。在给予 XVI 后相对阻止了脑血管中的 APP 沉积 (图 7C)。从图 7A、7B 和 7C 的比较来看，可以推出在给予化合物 XVI 15 天后，它能显著地减少 APP 的脑血管沉积。为测定化合物 XVI 是否能阻止或恢复皮质中的 Tau 高度磷酸化，在从被治疗的两个月的 AD11 小鼠和单独用介质治疗的小鼠获得的切片进行免疫组织化学试验。然而在细胞体树细胞腔隙中对照小鼠不显示高度磷酸化的 Tau (图 8A)，不治疗或用介质治疗的 AD11 动物在神经原机体中显示强烈的标记 (图 4B)。在给予 XVI 后部分地阻止了 Tau 高度磷酸化 (图 4C)。

对于在 AD 的转基因模型体内进行的试验的结论，可以说的是本发明的化合物呈现与胆碱能功能的恢复 (ChAT 阳性神经元的增加) 和 AD 标记物 (APP 脑血管沉积的减少和微管高度磷酸化的减少) 的减少相一致的活性图线。

实施例 55

此实施例描述化合物 XVI 在动物模型中的体内活性的进一步评价。

给药剂量和方式

以单次给予动物 50 倍浓的剂量将化合物 XVI 溶解在乙醇中，然后在盐水溶液中稀释，用于腹腔注射，或在水中稀释，用于口服给药。

在口服给药后，为试验其有效性，以 7mg/kg/天的剂量给予 15 个月大的 AD11 小鼠化合物 XVI。

为试验化合物 XVI 在治疗 6 和 12 个月大的 AD11 小鼠的认知缺陷和在预防由东莨菪碱诱导的记忆缺失中的功效 (Weiss B, Heller A.

Methodological problems in evaluating the role of cholinergic mechanisms in behavior. *Fed Proc* 28, 135-146, 1969))，使用 15 mg/kg/day 的剂量，给药 15 天。

在年龄为 2 和 6 个月时，与 AChE 和 NGF 的其它抑制剂比较化合物 XVI 在改善 AD11 小鼠的阿耳茨海默表型中的能力。以 7mg/kg 的量给小鼠每日注射化合物 XVI。只有在行为试验的情况下，它们接受口服 15mg/kg/天的剂量。

从年龄为 1.5 个月起，以 (0.1 mg/kg/天和 3.5 mg/kg/天) 的量通过腹腔内注射给药他克林 15 天，同时从年龄为 6 个月起通过腹腔内注射给予加兰他敏相同时间段。此外，从年龄为 2 个月起口服给药 4 个月(3.5 mg/kg/天)。

在所有试验中，对照小鼠是年龄相一致的非转基因小鼠，通过腹腔内注射给予盐水溶液或包含在化合物 XVI 的溶液中存在的相同百分比的乙醇的水的年龄相一致的 AD11 小鼠。

组织学和神经立体学

在治疗结束时，用 8 μ l/gr 的水合氯醛麻醉小鼠。取下大脑并放置在冰冷的有盖培养皿中。在磷酸缓冲液的 4%多聚甲醛中固定脑 24 小时，然后在在磷酸缓冲液中的 30%蔗糖溶液中低温防护。

用滑动的冷冻切片机获得冠状大脑切片。在磷酸缓冲液的 1%多聚甲醛中收集连续切片。

为了评价在形态学改变上的作用，用下面的抗胆碱乙酰基转移酶 (抗-ChAT; Chemicon)、淀粉状蛋白前体蛋白质 APP (Chemicon)、Tau 蛋白的磷酸化的部分 (克隆 AT8; Innogenetics)、 β 淀粉状蛋白 N 末端 (Santa Cruz) 的初级抗体温育切片。

利用光学分段法 (West M.J., *Neurobiol Aging* 14, 275-285, 1993; Peterson D.A.等 *J Comp Neurol* 404, 1-20, 1999; Michel R.P. & Cruz-Orive L.M. *J. Microsc.* 150, 117-136, 1988) 在基底前脑和内嗅皮质上进行神经立体学的定量分析。

按照 Schenk 使用的方法 (Schenk D., *Nature* 400, 173-177, 1999) 计算 APP 的细胞外沉积的密度，其中就内嗅皮质的总面积计算被细胞外沉积

占据的皮质区的百分比。

利用光学分段法定量在海马的尾部中的阳性细胞集群的 β 淀粉状蛋白的数目。

物品识别试验

利用物品识别试验分析化合物 XVI 在拯救 AD11 小鼠行为缺乏中的功效。此分析包括评价在新物品和熟悉的物品之间的识别能力 (Bartus, RT. On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Exp Neurol* 163, 495-529, 2000)。AD11 小鼠显示从旧物品分辨新物品的这一能力的渐进性的降低 (Capsoni, S, Ugolini, G, Comparini, A, Ruberti, F, Berardi, N & Cattaneo, A. Alzheimer-like neurodegeneration in antinerve growth factor transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 6826-6831, 2000)。

在开始试验前, 以 15/mg/kg/天的口服剂量用化合物 XVI 治疗 6 和 12 个月大的小鼠。对照是年龄相一致的非转基因小鼠和用水和相同百分比的乙醇 (2%) 治疗的转基因 AD11 小鼠。

在两个月大非转基因小鼠组中也诱导认知缺陷, 通过皮下给药 0.5mg/kg 的东莨菪碱, 一种毒蕈碱受体拮抗剂 (Weiss B, Heller A. Methodological problems in evaluating the role of cholinergic mechanisms in behavior. *Fed Proc* 28, 135-146, 1969)。在东莨菪碱注射前 20 分钟, 给予第二组动物化合物 XVI (口服, 15mg/kg)。第三组非转基因小鼠由未治疗的非转基因小鼠构成。

在从年龄 2 个月开始直到年龄 6 个月口服给药 3.5mg/kg/天后, 分析加兰他敏拯救 AD11 小鼠行为缺乏的功效。

为进行此试验, 将小鼠放置在树脂玻璃制成的盒子中 (60 cm x 60 cm x 60 cm)。用不透明、可洗涤的材料覆盖盒子的壁和底。在这一试验中使用的盒子和物品也是可洗涤的。在试验之间清洗盒子和物品以停止嗅觉信号的累积。使小鼠在空盒子中接受 3 个 10 分钟持续时间段以使它们开始熟悉装置。在试验期间, 每只小鼠都被放回盒子中并与两个相同的物品接触 (物品 A1 和 A2, 例如 2 个 12 厘米宽的立方体)。此试验测量探查

两个物品中的每一个的总时间。然后将小鼠放回其笼子中。在1分钟、1小时和24小时间隔后，从盒子中拿出物品，并且用它的相同复制品（A3）替换两个中的一个，同时用完全新的物品（物品B）替换另一个。在1分钟、1小时和24小时的延迟后，将小鼠放回盒子中并与相同的物品A3和新物品B接触10分钟。此物品被放置在同前面的物品的相同的位置。此试验再一次测量花费来探查两个物品中的每一个的总时间。探查时间被操作地定义为在不大于离物体2cm的距离，小鼠直接用头注意物品的时间。利用公式 $(N-F / N+F)$ 计算辨别指数，N是花费来探查新物品的时间，F是花费来探查相同的物品的时间。

结论

(a) 口服给药后在年老的AD11小鼠中阻断胆碱能缺乏、tau磷酸化和β-淀粉状蛋白聚集的功效

AD11小鼠的神经变性随年龄恶化，并且15个月大时完全毁坏（blown）。在这一年龄，在AD11小鼠的脑中能够看到下述情况：神经元死亡、胆碱能缺乏（Melchiorre, C, Andrisano, V, Bolognesi, ML, Budriesi, R, Cavalli, A, Cavrini, V, Rosini, M, Tumiatti, V & Recanatini, M. Acetylcholinesterase noncovalent inhibitors based on a polyamine backbone for potential use against Alzheimer's disease. *J Med Chem* 41, 4186-4189, 1998; Selkoe, DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81, 741-766, 2001），存在细胞外β-淀粉状蛋白斑块（Inestrosa, NC, Alvarez A, Perez CA, Moreno RD, Vicente M, Linker C, Casanueva OI, Soto C, Garrido J. Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid-beta-peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme. *Neuron* 16, 881-91, 1996），营养不良的神经炎和由Tau蛋白的高度磷酸化构成的细胞内缠结。

将化合物XVI以口服7 mg/kg/天的剂量口服给予15个月大的AD11小鼠1个月（n=6，n是使用的小鼠的数目）。此治疗决定了在基底前脑中胆碱能神经元数目的改善（图9）。

与用安慰剂治疗的小鼠（图10B）相比较，在用化合物XVI（图10C）治疗的小鼠中高度磷酸化tau的细胞内积累降低。在细胞体树腔隙中包含

磷酸化的微管的细胞的数目大约与年龄相同的非转基因小鼠的相同（图 10A）。

与安慰剂治疗的小鼠（图 11B）相比，化合物 XVI 的给药决定在 AD11 小鼠中 β -淀粉状蛋白斑块数目的减少。虽然斑块的数目没有达到可以在年龄相同的非转基因小鼠中观察到的水平（图 11A），但是斑块的形态学与在安慰剂-治疗的小鼠中观察到的不同：与在用化合物 XVI 治疗的小鼠中相关的细胞的数目（图 11C）低于在安慰剂-治疗的小鼠中的数目（图 11B）。

总之，描述的结论证明了：化合物 XVI 甚至在口服给药后是有活性的，并且化合物 XVI 也能够改善年老的小鼠的神经变性，其中病状是完全毁坏的并且在晚期阶段。

(b) 在 AD11 小鼠中和在用东莨菪碱处理的小鼠中化合物 XVI 对行为缺陷的作用

利用物品识别试验测定化合物 XVI 在治疗 AD11 小鼠行为缺乏中的功效。此测定包括评价在新的和熟悉的物品之间辨别的能力（Bartus, RT. *On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. Exp Neurol* 163, 495-529, 2000）。AD11 小鼠在从那些已经探查过的物品中分辨新物品的能力中显示渐进性的降低（Selkoe, DJ. *Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. Physiol Rev* 81, 741-766, 2001）。

化合物 XVI 的给药（口服 15mg/kg/天）使得年龄为 6 个月（n=10，图 12）和 12 个月（n=8；图 13）的 AD11 小鼠的缺乏改善。

将相同的试验应用于在东莨菪碱给药前 20 分钟用化合物 XVI 治疗的非转基因小鼠。用化合物 XVI 治疗的小鼠不显示任何记忆缺失迹象，并且能够从新物品中分辨出熟悉的物品（图 14）。

总之，在转基因小鼠和通过给予东莨菪碱的非转基因小鼠中，化合物 XVI 能改善由 NGF 丧失决定的认知缺陷。

(c) 与其它 AChE 抑制剂的作用相比，给药化合物 XVI 对 AD11 小鼠的作用

对 AD11 小鼠每天给予化合物 XVI、加兰他敏和他克林。口服（化合物 XVI 和加兰他敏）或通过腹腔内注射给予这些药物（化合物 XVI、加兰他敏和他克林）。从年龄 1.5 个月起直到年龄 2 个月给药这些药物。用化合物 XVI 和加兰他敏治疗阻止了基底前脑中胆碱能神经元的数目的降低，而他克林恶化了胆碱能缺乏（图 15）。

从年龄 6 个月起，化合物 XVI、加兰他敏和 caproctamine 也被给予 AD11 小鼠 15 天。然而，化合物 XVI 和加兰他敏能够拯救基底前脑中的胆碱能缺乏，而 Caproctamine 对于胆碱能神经元的数目没有作用（图 16）。

在用化合物 XVI 治疗 15 天后，从年龄为 1.5 个月或年龄为 6 个月起始，化合物 XVI 减少了用抗磷酸-tau 抗体标记的神经元的数目（图 17 和 18）。加兰他敏（图 17 和 18）和 Caproctamine（图 18）是无效的。

在 6 个月大的 AD11 小鼠中，给予化合物 XVI 和加兰他敏降低了 APP 的细胞外沉积，而 Caproctamine 是无效的（图 19）。

用化合物 XVI 治疗，于年龄为 6 个月时起始，能够降低在 AD11 小鼠海马中累积 β -淀粉状蛋白的细胞的数目。利用加兰他敏获得了相同的结果，而 Caproctamine 是无效的。

从年龄为 6 个月起给予化合物 XVI 2 个星期决定了行为缺乏的显著的改善，用加兰他敏也同样发生（图 21）。

总之，化合物 XVI 与加兰他敏是同样有效的，但是在复原与 tau 高度磷酸化相关的神经变性方面优于它。Caproctamine 在抗阿尔茨海默神经变性的所有方面是无效的。也记录在附图中，标记“*”的数据表示 $P < 0.05$ 。

实施例 56

在合适的试验修改后，应用 Randox Laboratories[®] Ltd (UK) 的试剂盒（总抗氧化状况）[Rice-Evans C. and Miller N.J. Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods Enzymol.* 234 (1994) 279-293]，试验 XVI 的抗氧化力，表示为捕获氧自由基的能力。

被用来评价中和自由基的能力的方法是比色法。它基于过氧化物酶化合物的反应性，在具有生理 pH 值在含水缓冲液中的过氧化氢（250 μM ）的存在下，**methmyoglobin** (6.1 μM) (HXFe^{3+}) 刺激氧自由基的形成，其以

ferrimyoglobin ($\cdot X-[Fe^{4+}=O]$) 的形式复合。Ferrimyoglobin 从阳离子 (ABTS[®]) (2,2'-连氮基-二-[3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐]) (610 μM) 减去电子, 回复成 methmyoglobin, 并且将 ABTS[®] 转化成有色的游离基, 在 600nm 可探测。

通过在溶液中存在的抗氧化剂的对游离氧的捕获, 减少了有色物种的形成以及在固定的时间 600nm 的相应的吸收。

作为对照抗氧化剂, 以取决于浓度的方式能够抑制显色反应, 使用维生素 E 的水溶性衍生物, Trolox (6-羟基-2,5,7,8-四甲基色原烷-2-羧酸)。

空白由在 37°C 温育的磷酸缓冲液 (80 mM, pH 7.4) methmyoglobin 和 ABTS[®] 构成, 对照附加包含 Trolox, 而样品附加包含化合物 XVI。基质 H₂O₂ 被加入到每一试验中, 并且在固定的时间在 600nm 处读吸光度 (t_0 和 3 分钟后)。空白的颜色损失百分比可以被用作试验的样品的抗氧化活性的指示。

$$\text{抑制百分率} = \frac{\Delta \text{Abs}_{\text{空白}} - \Delta \text{Abs}_{\text{试验}}}{\Delta \text{Abs}_{\text{空白}}} \times 100$$

获得如下数据:

	浓度 [μM]	抑制百分率*
Trolox	27	57.6 \pm 0.9
XVI	170	44.1 \pm 3.7

* 两次独立测量的平均值, 重复三次

显示的方法的修改涉及在包含化合物 XVI 的样品中添加人血清白蛋白 (25 μM) 以协助其溶解以及它的各个空白。

在描述的系统, 化合物 XVI 被证明有抗氧化活性 (捕获自由基), 因为它能抑制有色基团物种的形成。化合物 XVI 的抗氧化力大约低于 Trolox 6 倍。然而, 必须强调的是化合物 XVI 是以氧化的醌型试验的, 其在体内与酶还原系统接触, 能被转化成更有活性的氢醌还原型。

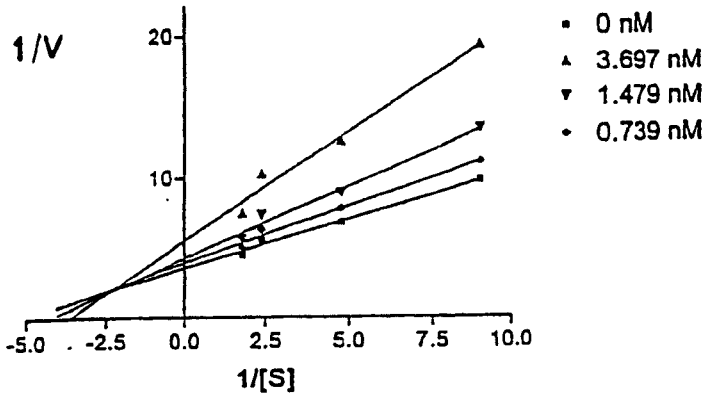


图 1

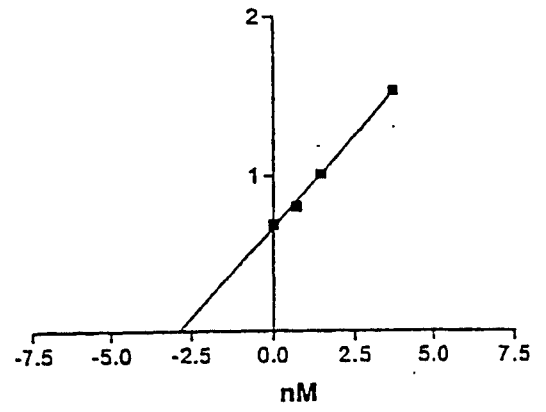


图 2

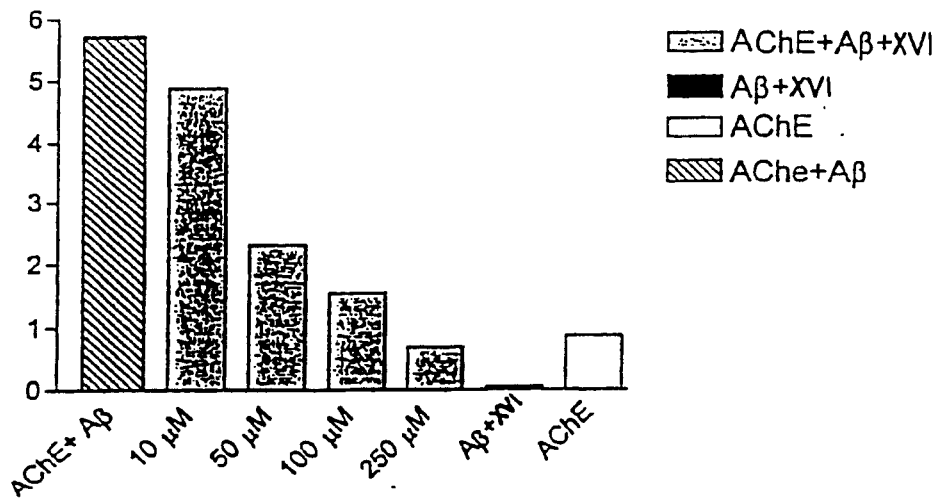


图 3

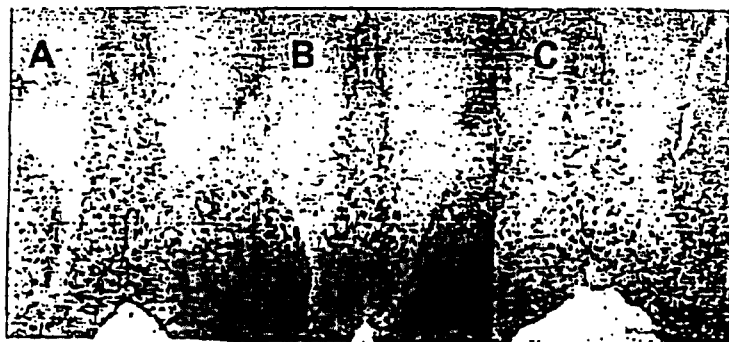


图 4

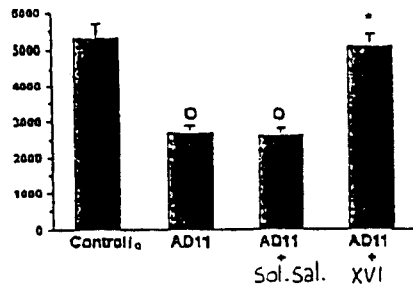


图 5

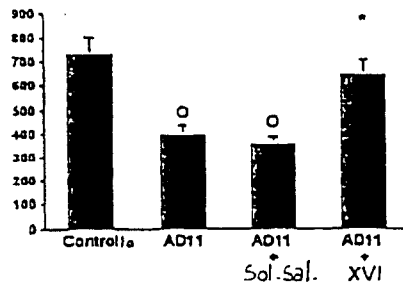


图 6

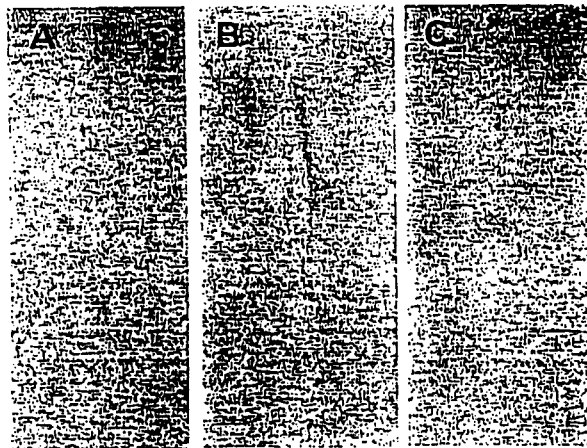


图 7

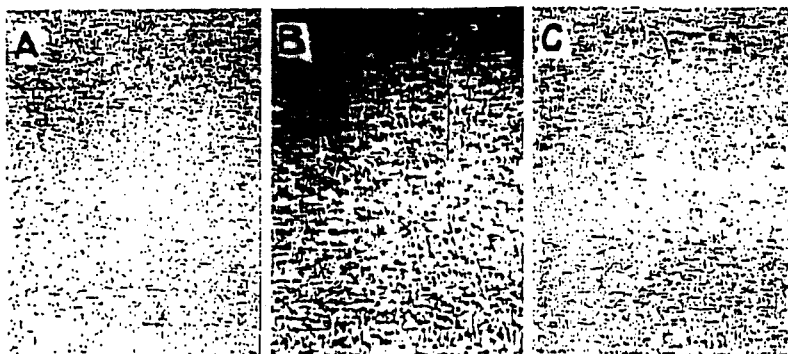


图 8

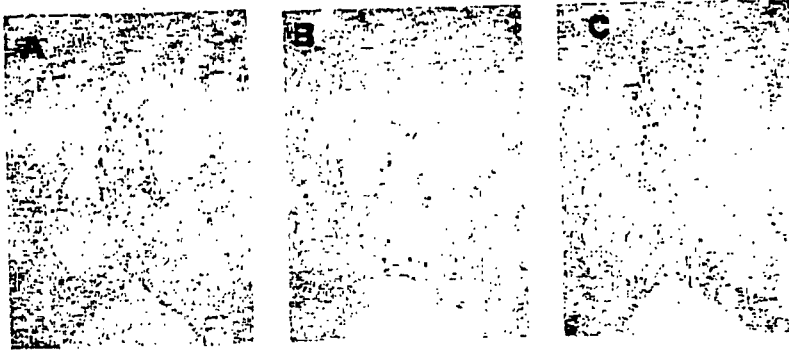


图 9

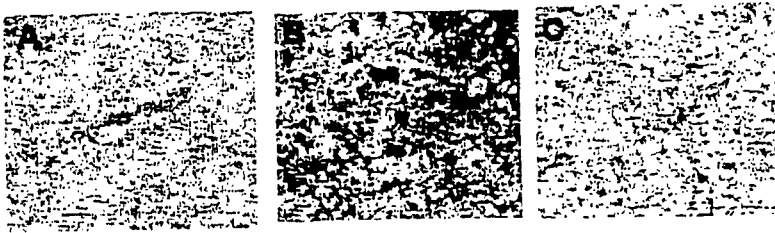


图 10



图 11

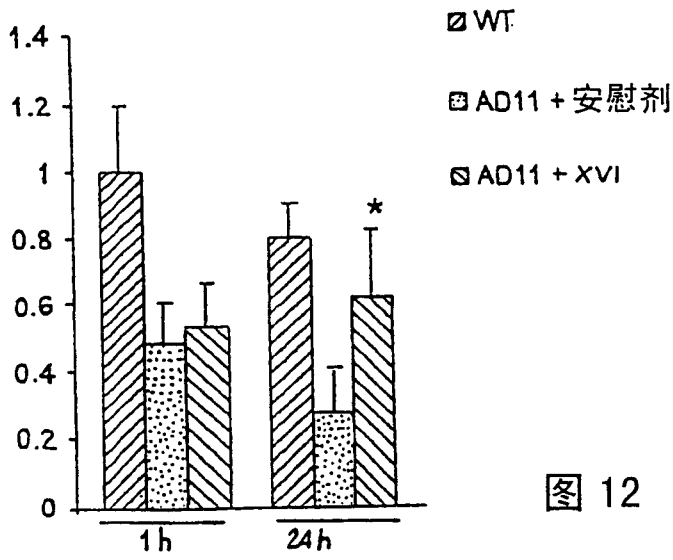


图 12

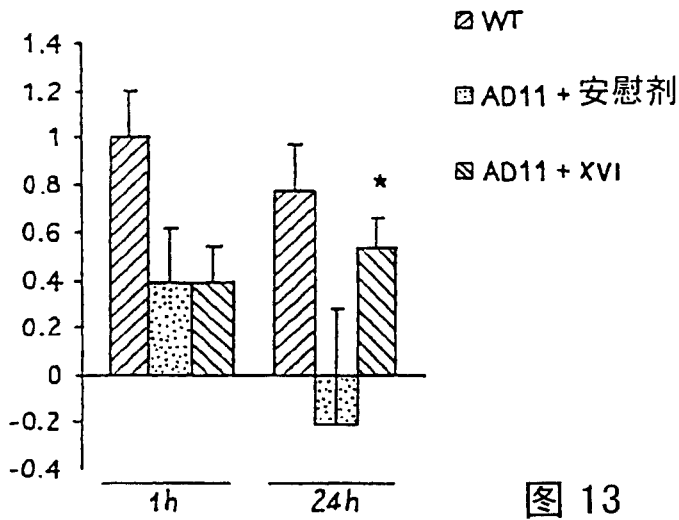


图 13

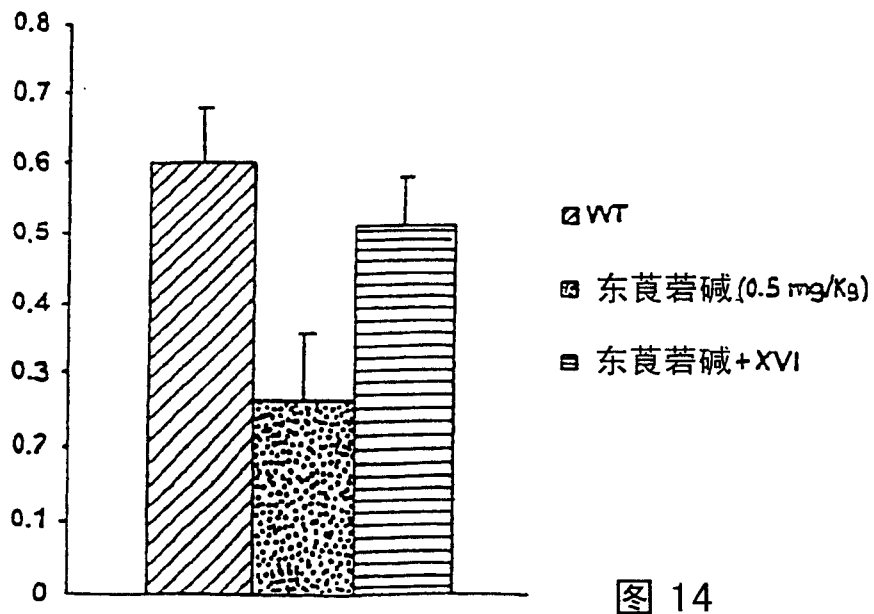


图 14

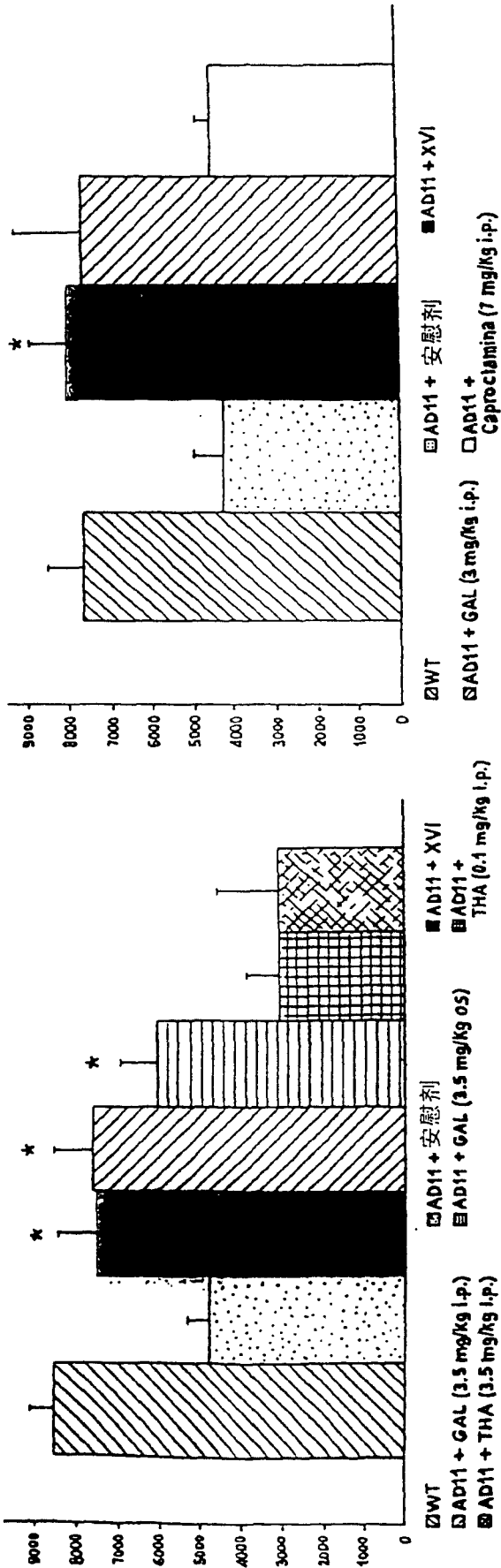


图 15

图 16

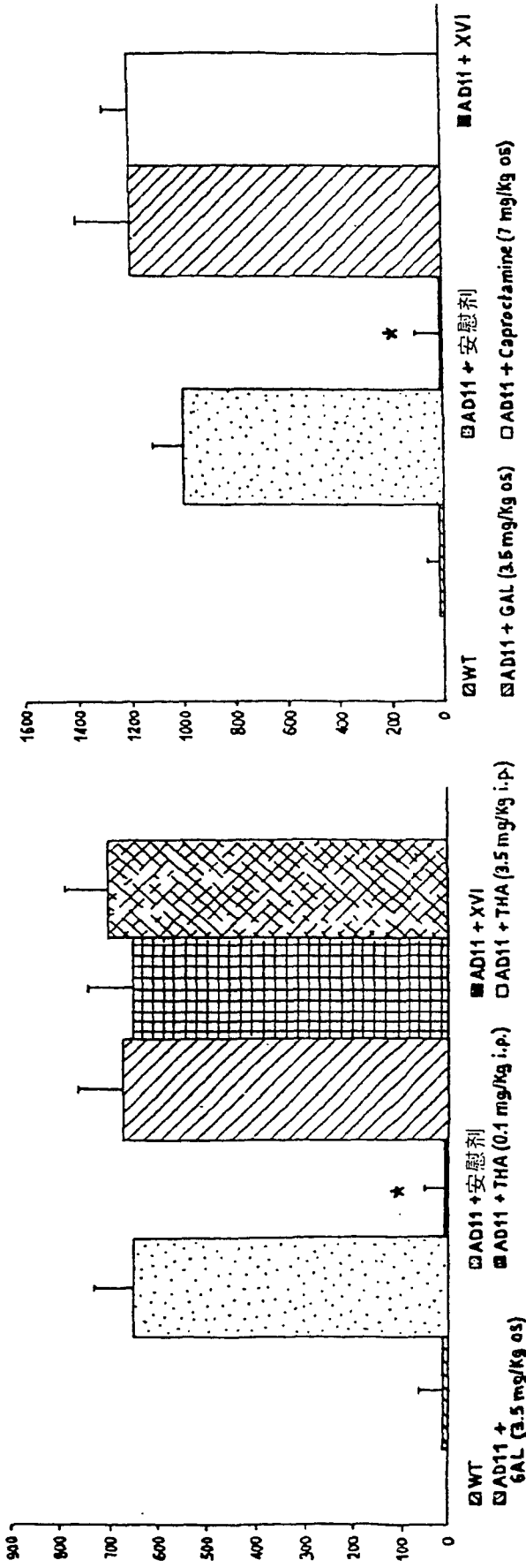
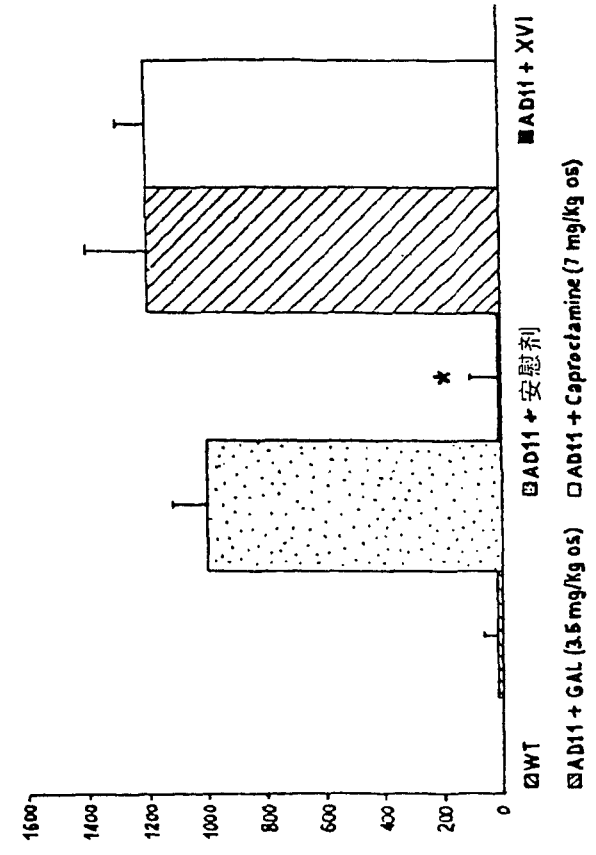


图 17

图 18



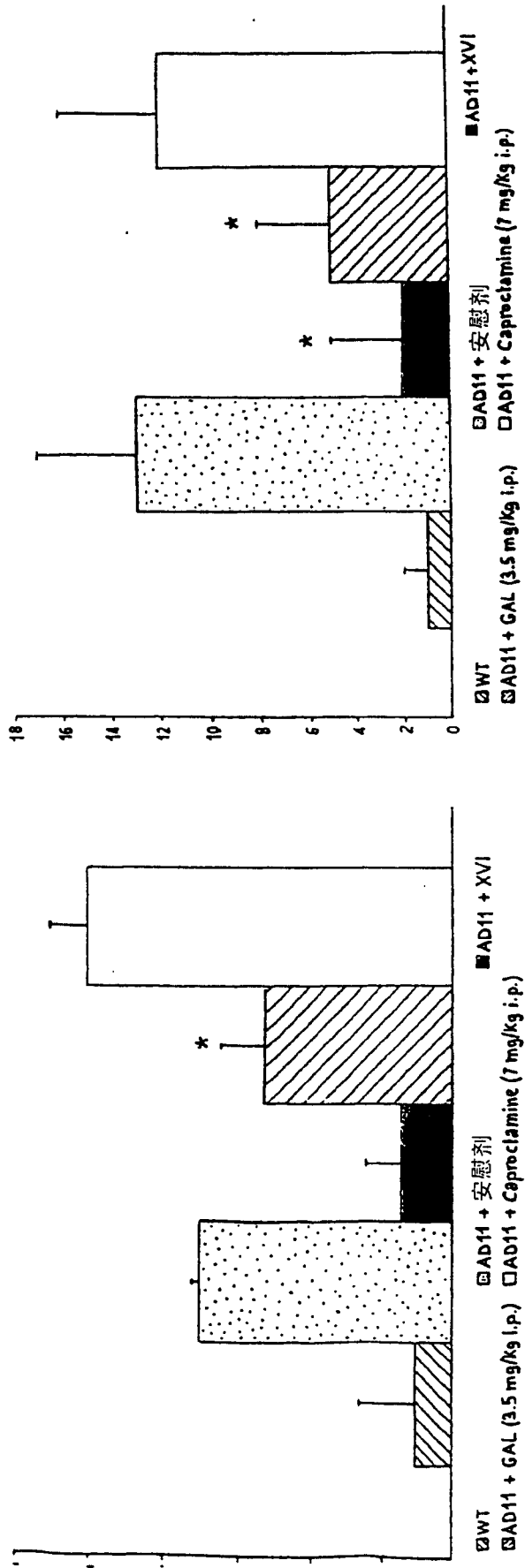


图 19

图 20

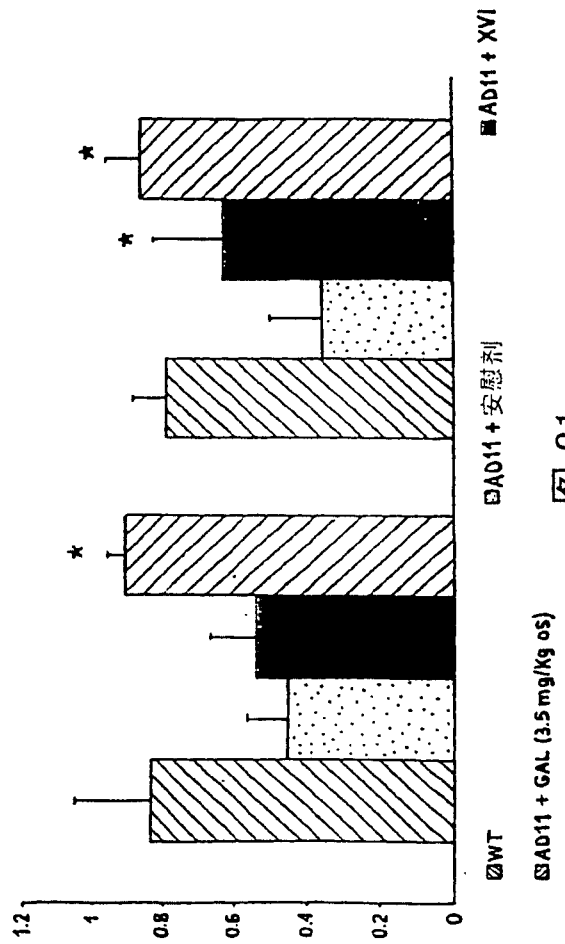


图 21