



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102670597 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 09

(21) 申请号 201110060538. 8

research, 》. 1997, 第 45 卷 (第 1 期),

(22) 申请日 2011. 03. 14

审查员 陈云华

(73) 专利权人 中国医学科学院基础医学研究所  
地址 100005 北京市东城区东单三条 5 号

(72) 发明人 左萍萍 刘雁勇 杨楠 陈友生  
纪超

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限  
公司 11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

A61K 31/426 (2006. 01)

A61P 25/16 (2006. 01)

(56) 对比文件

Liu J 等. Evaluation of  
dihydropyrimidin-(2H)-one analogues  
and rhodanine derivatives as tyrosinase  
inhibitors. 《Bioorganic & medicinal  
chemistry letters》. 2011, 第 21 卷 (第 8 期),

Xu Y 等. Tyrosine mRNA is expressed in  
human substantia nigra. 《Molecular brain

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁在  
制备治疗帕金森氏病药物中的用途

(57) 摘要

本发明涉及5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)  
罗丹宁在制备治疗帕金森氏病药物中的用途。

1. 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁或其药学上可接受的盐在制备治疗帕金森氏病药物中的用途。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述的药物是5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁或其药学上可接受的盐的片剂、丸剂、膜剂、滴丸、合剂、胶囊剂、颗粒剂或者注射剂。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁或其药学上可接受的盐的药用剂量为5mg/kg体重 - 25mg/kg体重。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁药学上可接受的盐为盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、硫酸盐、偏磷酸盐、硫酸氢盐,亚硫酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、焦磷酸盐、氢碘酸盐、氢氟酸盐,丙酸盐、富马酸盐、草酸盐、枸橼酸盐、乳酸盐或马来酸盐。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁药学上可接受的盐为5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁盐酸盐。

## 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁在制备治疗帕金森氏病药物中的用途

### 技术领域

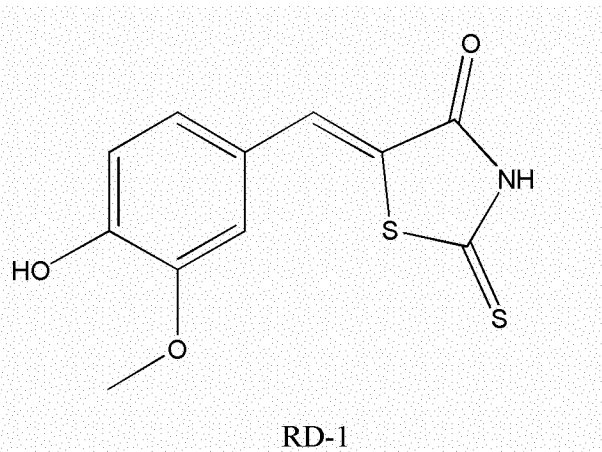
[0001] 本发明涉及 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁在制备治疗帕金森氏病药物中的用途。

### 背景技术

[0002] 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁 (5-(4-Hydroxy-3-methoxybenzylidene)rhodanine) 是一种公知的化合物,分子量:267.32。根据美国专利 5523314 和欧洲专利申请 93306959.3 的披露,该类化合物及其衍生物曾被用于治疗糖尿病或者老年痴呆 (Alzheimer's disease)。

[0003] 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁具有如下化学结构:

[0004]



[0005] 帕金森氏病 (Parkinson's disease, PD) 又称“震颤麻痹”,巴金森氏症或帕金森症。是常见于老年人的慢性进行性运动障碍性疾病,最早系统描述该病的是英国的内科医生詹母·帕金森,当时还不知道该病应该归入哪一类疾病,称该病为“震颤麻痹”。临床表现为静止性震颤、肌肉强直、运动迟缓和姿势反射障碍。据报道,PD 在 60 岁以上的人群中,发病率约为 1.5%,目前美国患病人数有 100 万,我国的患病人数已超过 200 万,仅次于糖尿病、冠心病、脑血管病的患病率。帕金森氏病不仅发病率高,而且在发病 2~8 年后多出现不同程度的致残现象,严重影响患者的生活质量,加上医疗费用,给社会和家庭带来了精神负担和经济负担。

[0006] 帕金森综合症分为以下四类:

[0007] 1、帕金森病

[0008] 2、继发性帕金森综合症:指外伤、中毒、药物、脑血管病、肿瘤、脑炎等原因造成的帕金森综合症

[0009] 3、遗传变性型帕金森综合症

[0010] 4、帕金森叠加综合症

[0011] 多年临床观察结果表明,采取不同的治疗行为,帕金森病患者病情的变化差异十分显著:

[0012] 1. 在发病早期就开始接受合理治疗的患者,绝大多数能够延缓病情的发展,病情相对稳定,生活基本能够自理。

[0013] 2. 虽然治疗,但时常中断的患者,大多不能很好地控制病情,病情会出现反复及不同程度加重。

[0014] 3. 发展到晚期才开始治疗的患者,病情往往已很严重,现有的治疗手段对改善病症也很有限,患者通常会出现明显的残障。

[0015] 补充脑内多巴胺 (DA) 是目前最常用且最有效的治疗帕金森氏病的方法。在 PD 早期,多巴胺 (DA) 单一治疗能推迟运动并发症和运动障碍的发生,尤适用于 60 岁以下的患者。外源性 DA 不能透过血脑屏障 (BBB),用其前体物左旋多巴通过 BBB 进入脑内,经多巴脱羧酶脱羧转变成 DA,从而起到补充脑内 DA 的作用。由于多巴脱羧酶广泛存在于外周各脏器和血管壁,故在药物吸收和传输过程中,大部分左旋多巴已转变成 DA,刺激外周 DA 受体,引起多方面的不良反应,如恶心、呕吐、厌食等消化道症状和血压降低、心律失常等心血管症状。用于治疗帕金森氏病的其它药物还包括多巴脱羧酶抑制剂、多巴胺受体激动剂、B 型单胺氧化酶抑制剂、儿茶酚 - 氧位 - 甲基转移酶抑制剂等,但是这些药物在临床使用过程会引起恶心、呕吐甚至肝损伤等多种不良反应。近年来的研究显示,保护 DA 能神经元,减慢或防止纹状体区 DA 能神经元的进行性变性的神经保护药物的开发将在未来很长时间内成为药物治疗 PD 的研究热点。

[0016] 左旋多巴是多巴胺的代谢前体,可以通过血脑屏障,进入基底节后经脱羧而成多巴胺,起着补充多巴胺神经递质缺乏的作用。虽然震颤也常有减轻,但动作过缓与僵直的改善最为显著。症状较轻的病人可以恢复接近正常的活动,而卧床不起的病人可以下地行动。与周围脱羧酶抑制剂卡比多巴合用,可降低左旋多巴需用的剂量,因为后者的降解代谢被阻滞,减少不良反应(恶心,心悸,面部潮红),使更多的左旋多巴能有效地进入脑部。息宁有不同的卡比多巴/左旋多巴固定比例的剂型:10/100,25/100,25/250,还有一种缓释片 50/200mg 剂型。治疗开始时先用息宁,根据病人的耐受情况,每隔 4~7 天逐步增加剂量,直至产生最大的效果。缓慢而小心地增加剂量,令病人在进餐时或饭后服药,可使不良反应减轻。大多数病人需要每天总量 400~1000mg 的左旋多巴,每 2~5 小时分次服药,每天至少需要 100mg 的卡比多巴来减轻周围的不良反应。应用左旋多巴治疗时,常使剂量受到限制的是不良反应是不自主动作(动作困难),表现为口-面或肢体的舞蹈动作或肌张力障碍。随着治疗时间的延长,这些动作困难出现的阈值也相应降低,即在应用较低剂量时也会出现。息宁缓释片或司立吉林可作为有用的辅助治疗。左旋多巴其他的不良反应包括直立性低血压、幻觉、恶梦以及偶见的中毒性谵妄。幻觉和谵妄最常见于年老且有痴呆的病例。

[0017] 金刚烷胺 100~300mg/天口服,在 50% 早期轻度帕金森综合征病例的治疗中有用,在疾病的后期能加强左旋多巴的作用。隐亭与培高利特均为麦角生物碱,能直接激活基底节内的多巴胺受体。溴隐亭 5~60mg/d 或培高利特 0.1~5.0mg/天口服对疾病各阶段的病例都有用。不过,很少能成功地应用溴隐亭或培高利特作为单独的治疗药物。一些新的多巴胺受体激动剂对 D2 受体具有更高的特异性,例如 pramipexole 与 ropini-rol。司

立吉林是一种单胺氧化酶 B 抑制剂,能抑制与脑内多巴胺降解有关的两个主要酶中之一,从而使各次左旋多巴剂量的作用有所延长。非选择性单胺氧化酶抑制剂使 A 型与 B 型同功酶都受到阻滞,若与奶酪同用,常可产生高血压危象(奶酪作用);司立吉林 5~10mg/d 口服不会引起高血压危象。虽然司立吉林几乎是没有不良反应,但它可以加强左旋多巴的不良反应如动作困难,精神症状与恶心,可能须将左旋多巴剂量降低。司立吉林作为首用治疗药物可延迟左旋多巴的起用约 1 年左右。司立吉林可能对早期帕金森病病例脑内残余的多巴胺起增强作用,或降低脑内多巴胺氧化代谢,使神经变性过程有所减慢。

[0018] 抗胆碱能药物可用于疾病早期阶段的治疗,在后期可作为左旋多巴的辅助药物。常用的抗胆碱能药物包括苯甲托品、苯海索。具有抗胆碱能作用的抗组胺药物(如苯海拉明 25~200mg/d 口服,奥芬那君 50~200mg/d 口服)对治疗震颤有用。具有抗胆碱能作用的三环类抗抑郁剂(如阿米替林 10~150mg 临睡前口服)往往是左旋多巴有用的辅助药物,且有助于治疗抑郁症。

[0019] 儿茶酚对甲基转移酶(COMT)抑制剂如托卡朋(tolcapone)与 entacapone,能阻滞多巴胺的降解,也可作为左旋多巴有用的辅助药物。心得安 10mg 每日 2 次至 40mg 每日 4 次口服,偶尔对某些病例中出现的动作性震颤或意向性震颤有用。

[0020] 现有技术中未见报道 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁对帕金森氏病有疗效。本发明人发现这种化合物具有很强的抗氧化活性,对神经具有很强的保护作用。

## 发明内容

[0021] 本发明提供一种新的治疗帕金森氏病的治疗方法,该方法包括向帕金森氏病患者使用药物有效量的 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁。具体而言,本发明提供一种 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁的新的药物用途,或者 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁在制备治疗帕金森氏病药物中的用途。所述的药物是 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁的片剂、丸剂、膜剂、滴丸、合剂、胶囊剂、颗粒剂或者注射剂。优选为口服。

[0022] 使用美国专利 5523314 所披露的方法可以获得化合物 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁,该化合物具体记载在说明书实施例 20 当中。

[0023] 本发明所述的“药学上可接受的盐”是指化合物 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁对活的生物实质上无毒的盐化合物。其典型的盐化合物包括但不限于药学上可接受的有机酸,矿物酸、或者药学上可接受的碱金属或者有机碱与化合物 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁反应形成的盐。药学上可接受的矿物酸包括盐酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、亚磷酸等等。优选为盐酸。具体来讲,本发明所述的盐还包括 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁的盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、硫酸盐、偏磷酸盐、硫酸氢盐,亚硫酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、焦磷酸盐、氢碘酸盐、氢氟酸盐,丙酸盐、富马酸盐、草酸盐、枸橼酸盐、乳酸盐、马来酸盐等等。5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁药学上可接受的盐优选为 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁盐酸盐。

[0024] 本发明涉及的化合物 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁及其药学上可接受的盐制成针剂、口服剂,优选口服剂型,该口服剂型包括片剂、胶囊剂以及缓释剂型等等公知的剂型。在制备各类剂型时,根据本领域技术人员公知的技术可将本发明化合物或者药

学上可接受的盐与药学上可接受的载体制成药物组合物。该化合物的口服剂量优选为 5mg/kg 体重 -25mg/kg 体重。

[0025] 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁为一个具有很强抗氧化活性的化合物,具有很强的神经保护作用。

## 具体实施方式

[0026] 实施例 1

[0027] 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁对 6-OHDA 致帕金森病 (PD) 大鼠模型行为学的影响

[0028] 实验目的:本实验通过向 SD 大鼠单侧纹状体内注射 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 制备帕金森病大鼠模型。使用剂量分别为 35mg/kg 体重、70mg/kg 体重的 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁进行治疗,与阳性药组(左旋多巴 10mg/kg+苄丝肼 2.5mg/kg)及假手术组比较,观察药物干预的行为学变化,以评价对抗 PD 的大作用效果。

[0029] 一、材料及方法

[0030] 1. 材料

[0031] 1.1 受试品:5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基)罗丹宁,为黄色粉末。以 1% CMC(羧甲基纤维素钠)水助溶制成悬浮液。

[0032] 1.2 试剂:6-羟基多巴胺 (6-OHDA),Sigma 公司产品,货号 H116,批号 115K4613;阿扑吗啡 (Apomorphine, APO),Sigma 公司产品,货号 A4393,批号 085K1223。

[0033] 1.3 动物:SD 大鼠,雄性,体重大于 180g,由北京维通利化动物公司提供。

[0034] 2. 方法

[0035] 2.1 大鼠帕金森病 (PD) 模型的建立

[0036] 成年雄性健康 SD 大鼠购入后随机分为正常对照组、假手术组及模型组。筛模组腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (50mg/kg 体重) 麻醉后,严格按照颅平位(前囟与后囟水平高度相差 0.1mm 以下,颅骨矢状缝两侧旁开 4mm 处水平高度相差 0.1mm 以下)固定于大鼠脑立体定向仪上。剪开头皮,剥离骨膜后,根据大鼠体重和头颅大小在规定范围内确定具体坐标并标记,用牙科钻小心钻透颅骨。根据 Paxinos Watson 图谱,确定右侧纹状体 (CPU) 坐标,行两点注射 (AP:0.5mm, ML:-2.5mm, VD:-5mm; AP:-0.5mm, ML:-4.2mm, VD:-5mm) 按确定坐标将微量注射器缓慢进针到规定深度。向 CPU 两点各注射 6-OHDA 15  $\mu$ g, 2  $\mu$ l (溶于质量分数为 0.1% 抗坏血酸的生理盐水),注射速度为 1  $\mu$ l/分钟,留针 10 分钟,缓慢退针 3 分钟 (1mm/分钟)。假手术组用上述相同方法向两点分别注射同体积的含 0.1% 抗坏血酸的生理盐水。术后,手术各组大鼠肌肉注射青霉素,以防治感染。

[0037] 2.2 大鼠帕金森病 (PD) 模型的筛选

[0038] 术后第 4 周开始对大鼠 6-OHDA PD 模型进行旋转实验筛选, APO 颈部皮下注射 (1mg/kg 体重),观察其 30 分钟行为变化,若大鼠恒定转向健侧,且旋转圈数 > 100r/30 分钟,每分钟最大旋转次数大于等于 7r/分钟,表示毁损稳定,则视为成功帕金森病 (PD) 大鼠模型。

[0039] 2.3 试验分组

[0040] 筛选成功的模型进行随机分为模型组 (n = 10 只), 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲

基) 罗丹宁剂量组 1(n = 11 只), 5-(4- 羟基 -3- 甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁剂量组 2(n = 11 只), 阳性药组 (n = 10 只), 假手术组 (n = 13 只), 正常对照组 (n = 12 只)。

#### [0041] 2.4 药物干预

[0042] 分组后第 1 天开始给药治疗。5-(4- 羟基 -3- 甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁剂量组 1(70mg/kg)、5-(4- 羟基 -3- 甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁剂量组 2(35mg/kg), 阳性药组 (左旋多巴 10mg/kg+ 苄丝肼 2.5mg/kg 体重) 每天分别灌胃 1 次, 正常对照组、模型组及假手术组给予相应体积的 1% CMC 水, 连续 2 周。

#### [0043] 2.5 行为学评价

[0044] 连续给药 2 周后开始行为学检测。

##### [0045] 2.5.1 阿扑吗啡诱导旋转试验

[0046] 用阿扑吗啡 (Apomorphine, APO) 行大鼠 (包括模型组、给药组、假手术组) 颈部皮下注射 (1mg/kg 体重), 观察并记录其在 30 分钟内转向健侧的圈数及每分钟平均转数。

##### [0047] 2.5.2 平衡杆试验

[0048] 平衡杆长 105cm× 宽 4cm× 高 3cm, 木杆离地 80cm, 两端由木架支撑。木杆的一端为起始区, 长 20cm, 另一段为终点区, 终点区后接一个大鼠笼, 木杆下有 1m<sup>2</sup>, 厚 12cm 垫子防止大鼠摔伤。实验时, 将大鼠放在起始区面对鼠笼方向, 同时开始计时, 记录大鼠走过起始区的时间 (潜伏期) 和大鼠走过整个平衡杆的时间, 潜伏期最大允许时间为 1 分钟, 走过横杆最大允许时间为 2 分钟。大鼠先训练 3 次, 然后开始正式实验。

#### [0049] 2.6 统计学方法

[0050] 本实验结果用  $\bar{X} \pm SD$  表示, 用 SPSS 软件的单因素方差分析进行统计学分析。

#### [0051] 二、结果

[0052] 1、阿扑吗啡诱导旋转实验: 与模型组相比, 5-(4- 羟基 -3- 甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁剂量组 1 能显著降低阿扑吗啡诱导的转次数有减少趋势, 但 35mg/kg 剂量组 2 却略有增高。(见表 1)。

[0053] 2、平衡杆实验: 5-(4- 羟基 -3- 甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁在 70mg/kg 剂量组 1、35mg/kg 剂量组 2 剂量下连续给药 14 天, 缩短 6-OHDA 致 PD 大鼠模型过杆的潜伏期, 过杆时间显著减少 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), (见表 2, 3)。

[0054] 表 1 阿扑吗啡诱导大鼠旋转实验结果

组别	剂量	n	旋转次数/30min
假手术组	CMC 水	13	0
模型组	CMC 水	10	139.5±62.9 <sup>###</sup>
[0055] 阳性药组	Levodopa10 mg/kg 苄丝肼 2.5 mg/kg	10	123.5±53.2*
剂量组 2	35 mg/kg	11	140.5±62.4*
剂量组 1	70 mg/kg	11	127.7±42.8*

[0056] <sup>###</sup>P < 0.001, 与假手术组比较 ; 与模型组比较, \*P < 0.05

[0057] 表 2 各组大鼠平衡杆潜伏期实验结果

组别	剂量(mg/kg)	n	潜伏期 (s)
正常对照组	CMC 水	12	1.63±1.16**
假手术组	CMC 水	13	8.83± 15.94
[0058] 模型组	CMC 水	10	10.35±9.96
阳性药组	Levodopa10 mg/kg 苄丝肼 2.5 mg/kg	10	2.60±1.91*
剂量组 2	35	11	3.85±5.67
剂量组 1	70	11	6.99±17.61

[0059] 与模型组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01。

[0060] 表 3 各组大鼠平衡杆过杆实验结果分析

组别	剂量(mg/kg)	n	过杆时间 (s)
[0061] 正常对照 组	CMC 水	12	15.51±10.71**
假手术组	CMC 水	13	28.66±29.18
模 型 组	CMC 水	10	55.28±36.02



	阳性药组	Levodopa10 mg/kg 苄丝肼 2.5 mg/kg	10	16.57±8.88**
[0062]	剂量组 2	35	11	22.25±32.70*
	剂量组 1	70	11	16.12±9.17**

[0063] 与模型组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01。

[0064] 本实施例采用单侧纹状体内注射 6-OHDA 致 PD 模型。并进行了 2 种动物行为学检测。结果表明：

[0065] 1. 阿朴吗啡实验：由于患侧黑质纹状体通路损伤导致动物模型向健侧旋转运动明显增加 (P < 0.001)。经 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁灌胃治疗 14 天后, 其旋转次数有减少趋势。

[0066] 2. 平衡杆实验：模型鼠的运动始动性及运动平衡能力均明显比假手术差 (P < 0.05, P < 0.01)。经 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁两个剂量灌胃 14 天后, 上述表现均有改善 (P < 0.05), 其中剂量组 1 对运动平衡能力的作用效果最佳 (P < 0.01)。阳性药也有明显改善作用 (P < 0.01)。

[0067] 5-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基) 罗丹宁经连续灌胃给药 14 天后, 可以显著改善 6-OHDA 致 PD 模型大鼠运行协调性, 具有较好的抗帕金森作用。