



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106905300 B

(45)授权公告日 2019.01.22

(21)申请号 201710091808.9

A61K 31/551(2006.01)

(22)申请日 2017.02.21

A61K 31/496(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61P 25/00(2006.01)

申请公布号 CN 106905300 A

A61P 25/28(2006.01)

(43)申请公布日 2017.06.30

审查员 周静

(73)专利权人 中国科学院昆明植物研究所

地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

(72)发明人 陈纪军 尹秀娟 耿长安 马云保

黄晓燕 张雪梅

(74)专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务

所(普通合伙) 53108

代理人 旃习涵

(51)Int.Cl.

C07D 403/06(2006.01)

C07D 209/14(2006.01)

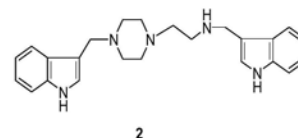
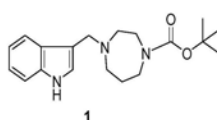
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

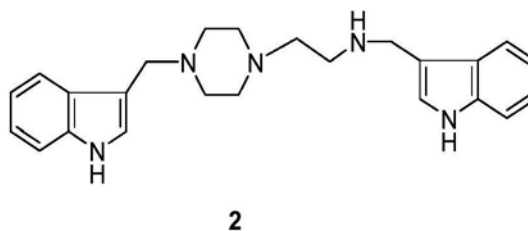
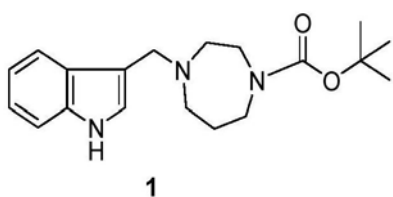
芦竹碱衍生物及其药物组合物和其在制药中的应用

(57)摘要

本发明属于药物技术领域,具体涉及芦竹碱衍生物(1-2),其药物组合物和其制备方法,以及该类衍生物或药物组合物作为褪黑素、5-羟色胺受体激动剂的应用,以及其在制备抗精神疾病药物中的应用,特别是在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。



1. 如下结构式1和2所示的芦竹碱衍生物1-2,



2. 药物组合物, 含有权利要求1所述的芦竹碱衍生物1-2及可药用载体或赋形剂。

3. 制备权利要求1所述的芦竹碱衍生物1-2的方法, 其特征在于芦竹碱与N-叔丁氧羰基高哌嗪, 或者2当量的芦竹碱与2-氨基乙基哌嗪, 于无水甲苯中反应, 110°C回流至反应结束, 减压回收溶剂得粗品, 硅胶柱层析纯化, 二乙胺/甲醇/氯仿, v/v/v, 分别为2/4/94和3/5/92制备得到化合物1-2。

4. 权利要求1所述的芦竹碱衍生物1-2在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用。

5. 权利要求1所述的芦竹碱衍生物1-2在制备抗精神疾病的药物中的应用。

6. 权利要求1所述的芦竹碱衍生物1-2在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

7. 权利要求2所述的药物组合物在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用。

8. 权利要求2所述的药物组合物在制备抗精神疾病的药物中的应用。

9. 权利要求2所述的药物组合物在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

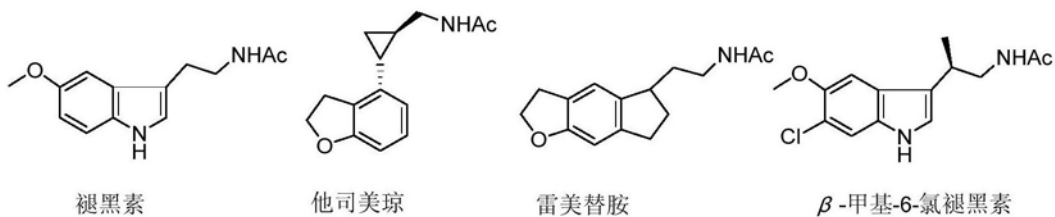
芦竹碱衍生物及其药物组合物和其在制药中的应用

技术领域

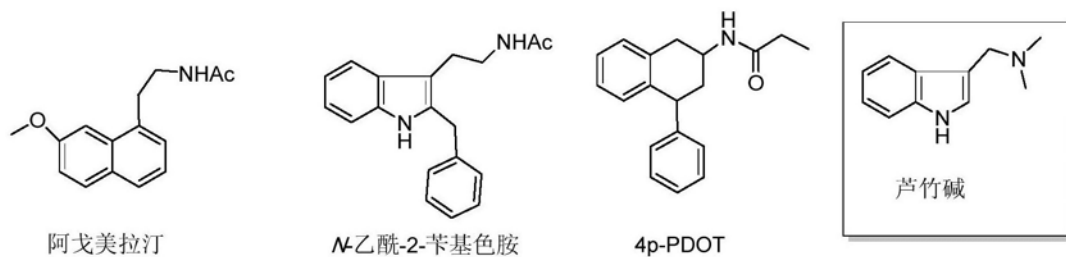
[0001] 本发明属于药物技术领域,具体地,涉及芦竹碱衍生物1-2及其药物组合物,它们的制备方法及其在制备治疗与褪黑素和5-羟色胺受体的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

背景技术

[0002] 褪黑素(Melatonin)受体是松果体分泌的一种神经内分泌激素,由下丘脑交叉上核控制,可以调节昼夜节律,这种节律性波动表现为夜间达到高峰而白昼降至谷值。McCord和Allan于1917年发现牛松果体可以调节环境中Rana pipien蝌蚪皮肤的变化,并确定了褪黑素的结构为N-乙酰基-5-甲氧基色胺。按照褪黑素功能和药理特性,褪黑素分为MT₁,MT₂和MT₃三种亚型,这些受体被视为潜在的药物活性靶标。其中MT₃受体亲和位点主要位于具有排毒属性的、人类同源染色体仓鼠的醌还原酶(QR₂)上。哺乳动物中存在的褪黑素受体亚型MT₁和MT₂已经被克隆,两个受体亚型同属于G-偶联蛋白受体家族,分享一些特定的氨基酸序列,在氨基酸水平显示60%的同源性和独特的药理活性。目前,常见的褪黑素受体激动剂:他司美琼(Tasimelteon, VEC-162)、雷美替胺(Ramelteon, TAK-375)、β-甲基-6-氯褪黑素(LY-156735, TIK-301),阿戈美拉汀(Agomelatine)等;常见的褪黑素受体拮抗剂:N-乙酰-2-苄基色胺(Luzindole),4-Phenyl-2-propionamidotetralin(4-P-PDOT)等,



[0003]



[0004] 随着人们对天然产物研究的深入,越来越多的天然小分子引起药物化学家的兴趣。天然小分子芦竹碱(N,N-二甲基胺甲基吲哚)最初由Orehov和Norkina从亚洲禾本科(Gramineae)芦竹属植物芦竹(Arundo Donax L.)中分离得到,具有与褪黑素受体相似的化学结构和广泛的生物活性:包括收缩血管,抗氧化,神经递质5-HT_{2A}受体的拮抗剂等作用。芦竹碱可以抑制CVB3宿主细胞病变效应(CPE),通过抑制早期CVB3病毒在宿主细胞的复制,作为一种抗CVB3病毒药物[CN 105748474]。芦竹碱或者医药上可接受的盐作为活性成分对人体具有很好的皮肤美白、抗起皱或皮肤保湿效果 [KR 2016020240]。

[0005] 目前,本发明提供的芦竹碱衍生物(1-2)作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂并用

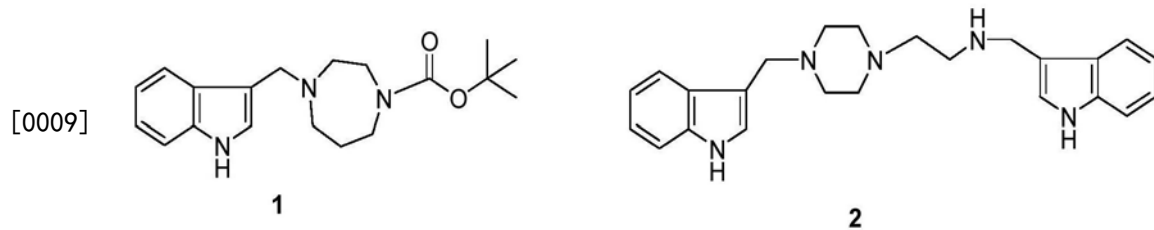
于抗精神疾病有效成分的药物未见报道,其衍生物或其药物组合物作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂在制备或治疗抗精神疾病药物中未见报道。

发明内容

[0006] 本发明旨在提供一种新的具有药用价值的芦竹碱衍生物(1-2),其中含有芦竹碱衍生物(1-2)药用载体或赋形剂的药物组合物,其制备方法,以及该化合物或其药物组合物在制备抗精神疾病的药物中的应用。

[0007] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0008] 如下结构式(1)和(2)所示的芦竹碱衍生物1-2,



[0010] 本发明同时提供了一种药物组合物,含有所述的芦竹碱衍生物 1-2及可药用载体或赋形剂。

[0011] 本发明还提供了制备所述的芦竹碱衍生物1-2的方法,芦竹碱与 N-叔丁氧羰基高哌嗪,或者2当量的芦竹碱与2-氨基乙基哌嗪,于无水甲苯中反应,110℃回流至反应结束,减压回收溶剂得粗品,硅胶柱层析纯化(二乙胺/甲醇/氯仿,v/v/v,分别为2/4/94和3/5/92)制备得到目标化合物1-2。

[0012] 本发明同时还提供了所述的芦竹碱衍生物1-2在制备褪黑素和 5-羟色胺受体激动剂中的应用。

[0013] 所述的芦竹碱衍生物1-2在制备抗精神疾病的药物中的应用。

[0014] 所述的芦竹碱衍生物1-2在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

[0015] 本发明另外还提供了所述的药物组合物在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用。

[0016] 所述的药物组合物在制备抗精神疾病的药物中的应用。

[0017] 所述的药物组合物在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

[0018] 本发明以褪黑素激动活性为指导,初步发现芦竹碱衍生物具有抗精神疾病作用。通过对芦竹碱的结构修饰得到2个衍生物具有较好激动活性。其中化合物2的活性较好的化合物对褪黑素受体MT₁的EC₅₀值为0.39mM;对5-HT_{1A}的EC₅₀值为0.46mM。

[0019] 本发明化合物用作药物时,可以直接使用,或者以药物组合物的形式使用。该药物组合物含有0.1-99%,优选为0.5-90%的本发明化合物,其余为药物学上可接受的,对人和动物无毒和惰性的可药用载体或赋形剂。

[0020] 所述的药用载体或赋形剂是一种或多种固体、半固体和液体稀释剂、填料以及药物制品辅剂。将本发明的药物组合物以单位体重服用量的形式使用。本发明的药物可经注射(静注、肌注)和口服两种形式给药。

附图说明

[0021] 图1为本发明芦竹碱衍生物(1-2)结构示意图。

具体实施方式

[0022] 为了更好地理解本发明的实质性内容,下面用本发明的实施例来说明本发明芦竹碱衍生物(1-2)的制备方法和药理作用结果,但不以此来限定本发明。

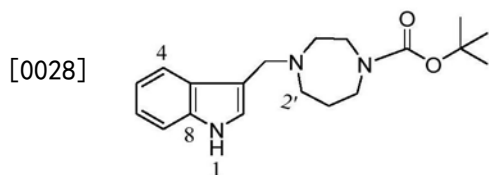
[0023] HRESIMS在LCMS-IT-TOF质谱仪(Shimadzu,Kyoto,Japan)上测定,核磁共振谱(^1H 和 ^{13}C NMR)由Bruker AM 400($^1\text{H}/^{13}\text{C}$,400 M Hz/100M Hz)核磁共振波谱仪(Bruker, Bremerhaven,Germany)测定,以TMS(四甲基硅烷)为内标。柱色谱硅胶(200~300目)和薄层色谱硅胶GF254均为青岛美高集团有限公司生产。反应试剂购自Alfa Aesar、百灵威和Acros公司。

[0024] 化合物制备实施例1

[0025] 芦竹碱(2mmol)与N-叔丁氧羰基-高哌嗪(2mmol)溶于10 mL无水甲苯中,110°C回流条件至反应结束,减压回收溶剂,制备得到粗产品,硅胶柱层析(二乙胺/甲醇/氯仿=2/4/94)纯化得到目标化合物(1)。

[0026] 化合物1结构确定数据:

[0027] N-叔丁氧羰基-N-高哌嗪基-3-吲哚甲胺 (N-tert-Butyloxycarbonyl-N-homopiperazinyl-3-indolylmethylamine,



1): 黄色粉末, 收率 82%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 8.91 (s, 1H, NH), 7.76-7.03 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.83 (s, 2H, CH_2N), 3.55-3.43 (m, 4H, H-2', 4'), 2.72-2.66 (m, 4H, H-6', 7'),

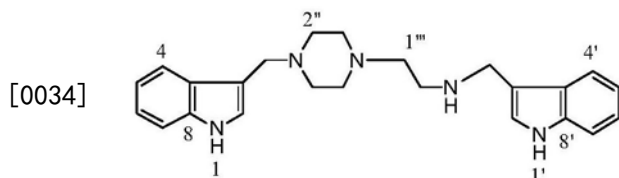
[0029] 1.85-1.82 (m, 2H, H-3'), 1.49 (s, 9H, Me-Boc). ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ : 155.7 (s, C-8), 136.4 (s, C-8), 127.9 (s, C-9), 123.8 (d, C-2), 121.8 (d, C-6), 119.5 (d, C-5), 119.3 (d, C-4), 112.8 (s, C-3), 111.2 (d, C-7), 79.4 (s, C-Boc), 55.77 (t, C-7'), 54.7 (t, C-2'), 53.5 (t, CHN), 46.8 (t, C-6'), 46.2 (t, C-4'), 28.6 (s, C-Me-Boc), 27.9 (t, C-3'). ESIMS: m/z 330 $[\text{M}+\text{H}]^+$, HRESIMS: $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 测定值330.1284, 计算值为330.2176.

[0030] 化合物制备实施例2

[0031] 芦竹碱(4mmol), 与2-氨基乙基哌嗪(2mmol)溶于10mL无水甲苯中,,110°C回流条件至反应结束,减压回收溶剂,制备得到粗产品,硅胶柱层析(二乙胺/甲醇/氯仿=3/5/92)纯化得到目标化合物(2)。

[0032] 化合物2结构确定数据:

[0033] N-(N-3-吲哚甲基氨基乙基)-N-哌嗪基-3-吲哚甲胺 [N-[N-(3-indolylmethyl)-aminoethyl]-N-Piperazinyl-3-indolylmethyla



[0035] mine, 2]: 白色粉末, 收率70%。¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) δ_H: 8.72 (s, 2H, NH), 7.72–7.01 (m, 10H, H-2, 2', 4, 4', 5, 5', 6, 6', 7, 7'), 3.98 (s, 2H, CH₂N), 3.72 (s, 2H, CH₂CH₂NHCH₂), 3.45 (s, 1H, CH₂CH₂NHCH₂), 2.79–2.77 (m, 2H, CH₂CH₂NHCH₂), 2.69–2.68 (m, 2H, CH₂CH₂NHCH₂), 2.52–2.42 (m, 4H, H-3', 5'), 2.20–2.18 (m, 4H, H-2', 6')。 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 136.4 (s, C-8, 8'), 128.1 (s, C-9), 127.0 (s, C-9'), 124.1 (d, C-2), 122.8 (d, C-2'), 122.0 (d, C-6), 121.8 (d, C-6'), 119.4 (d, C-5), 119.4 (d, C-5'), 118.7 (d, C-4, 4'), 114.5 (s, C-3), 111.9 (s, C-3'), 111.3 (d, C-7), 111.1 (d, C-7'), 57.5 (t, C-3'', 5''), 53.2 (t, CH₂N), 53.2 (t, CH₂CH₂NHCH₂), 52.9 (t, C-2'', 6''), 45.7 (t, CH₂CH₂NHCH₂), 44.7 (t, CH₂CH₂NHCH₂)。 ESIMS: m/z 388 [M+H]⁺, HRESIMS: C₂₄H₂₉N₅ [M+ H]⁺ 测量值388.2477, 计算值为388.2496。

[0036] 下面的褪黑素、5-羟色胺受体激动活性药理作用试验例用来说明本发明的芦竹碱衍生物的药理作用结果:

[0037] 试验例1:

[0038] 本发明上述的化合物制备实施例制备得到的芦竹碱衍生物(1-2) 在人体肾上皮细胞MT₁-HEK293和5-HT_{1A}-HEK293细胞模型上, 其对受体的激动活性的测试。

[0039] 1材料和方法

[0040] 1.1材料与仪器:

[0041] 活性筛选使用的MT₁和5-HT_{1A}细胞株分别对应人体肾上皮细胞MT₁-HEK293和5-HT_{1A}-HEK293, 含有10%胎牛血清的细胞培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM), 10%FBS, HBSS购自GIBCO; 褪黑素 (CAS:73-31-4) 购自Damas-beta公司 (Basel, 瑞士); 阳性对照药物阿戈美拉汀 (CAS:138112-76-2) 和5-羟色胺 (CAS:50-67-9) 分别购自于萨恩化学技术(上海)有限公司和云南泽浩商贸有限公司; 免洗钙8试剂盒 (Wash Free Fluorimetric Calcium Assay Kit, HD03-0010, HDB Biosciences Co.Ltd, 上海, 中国)。CO₂恒温培养箱 Thermo Forma 3310 (美国); 倒置生物显微镜XD-101型 (南京); Flexstation 3台式多功能酶标仪 (Molecular Devices, 加利福尼亚, 美国)。

[0042] 1.2实验过程

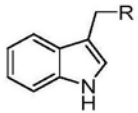

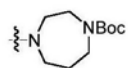
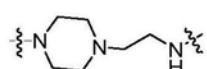
[0043] 制备得到不同类型的芦竹碱衍生物, 以阿戈美拉汀或者5-羟色胺为阳性对照, 对所合成衍生物进行MT₁和5-HT_{1A}受体激动活性测定。利用GraphPad Software公司开发的基础生物统计及绘图综合软件GraphPad Prism 5.0进行EC₅₀计算^[17-19]。采用Dulbecco's改良的Eagle培养基, 将细胞以4×10⁴/孔的密度, 铺在Matrigel包被的96孔黑壁透底板中, 于CO₂浓度为5%的37℃恒温培养箱中培养24h。吸取上清液然后, 弃去原培养基, 加入新鲜配置的染液100μl/孔, 37℃避光60min。准备待测样品: 配制不同浓度的待测样品, 测试样品置入另一个透底板中。上述两块96孔板同时放入Flex Station 3台式多功能酶标仪中。实验数据由Flex Station 3 台式多功能酶标仪读取, MT₁和5-HT_{1A}受体激动活性用化合物对 MT₁和5-HT_{1A}受体激动率和半数有效浓度表达 (EC₅₀), EC₅₀—药物对相应症状产生50%最大效应时

的浓度。EC₅₀值用Graph Pad Prism 5软件计算得到；激动率 = $\Delta \delta_a / \Delta \delta_c \times 100\%$ (a: 测试样品; c: 阳性对照), 阳性对照分别为5-羟色胺和褪黑素。

[0044] 2. 结果: 浓度为1.00mM, 芦竹碱及其衍生物(1-2)的激动活性如表(1)所示:

[0045] 表1芦竹碱及其衍生物(1-2)的激动活性数据

[0046]

化合物	R	激动率 (%) ^b	
		MT ₁	5-HT _{1A}
阿戈美拉汀	-	100±7.83	-
5羟色胺	-	-	100±3.43
 芦竹碱		182.12±6.71	136.45±6.96
1		78.50±3.02	270.0±23.32
2		220.97±7.64	467.55±3.12

[0048] 注:^a所有测试化合物浓度约为1mM,阿戈美拉汀测试浓度1.11μM,5-羟色胺测试浓度6.67 μM.^b \bar{x} 为三次测定的平均值,激动活性表达为 $\bar{x} \pm SD$ (n = 3).

[0049] 3. 结论: 实验结果显示, 芦竹碱衍生物在细胞MT₁-HEK293和 5-HT_{1A}-HEK293细胞中, 具有较好的激动活性。

[0050] 制剂实施例1:

[0051] 按制备实施例1的方法制备得到的得芦竹碱衍生物1-2, 分别或混合用少量的DMSO溶解后, 按常规加注射用水, 精滤, 灌封灭菌制成注射液。

[0052] 制剂实施例2:

[0053] 按制备实施例1的方法先制备得到芦竹碱衍生物1-2, 分别或混合用少量的DMSO溶解后, 将其溶于无菌注射用水中, 搅拌使溶解, 用无菌抽滤漏斗过滤, 再无菌精滤, 分装于安瓿中, 低温冷冻干燥后无菌熔封得粉针剂。

[0054] 制剂实施例3:

[0055] 按制备实施例1的方法先制备得到芦竹碱衍生物1-2, 分别或混合按其与其与赋形剂重量比为9:1的比例加入赋形剂, 制成粉剂。

[0056] 制剂实施例4:

[0057] 按制备实施例1的方法先制备得到得到芦竹碱衍生物1-2, 分别或混合按其与其与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂, 制粒压片。

[0058] 制剂实施例5:

[0059] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物1-2, 分别或混合按常规口服液制法制成口服液。

[0060] 制剂实施例6:

[0061] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物1-2,分别或混合按其与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成胶囊。

[0062] 制剂实施例7:

[0063] 按制备实施例1的方法先制得芦竹碱衍生物1-2,分别或混合按其与赋形剂重量比为3:1的比例加入赋形剂,制成胶囊。

[0064] 制剂实施例8:

[0065] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物,按其与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成颗粒剂。

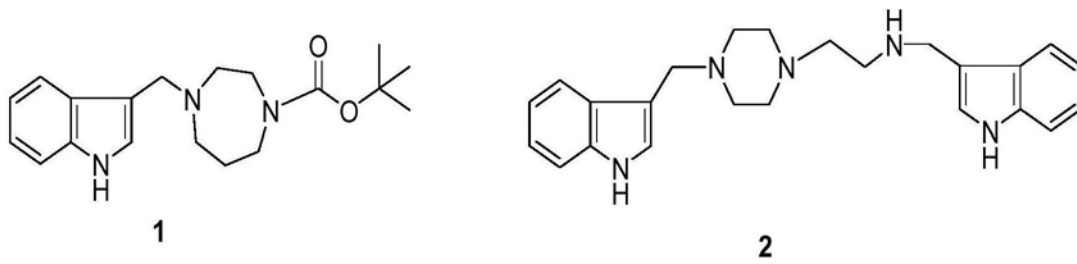


图1