



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107174586 B

(45)授权公告日 2020.08.11

(21)申请号 201710092931.2

A61K 31/454(2006.01)

(22)申请日 2017.02.21

A61P 25/00(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107174586 A

(43)申请公布日 2017.09.19

(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 马云保 黄晓燕

耿长安 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.

A61K 31/551(2006.01)

A61K 31/496(2006.01)

A61K 31/404(2006.01)

A61K 31/4045(2006.01)

(56)对比文件

CN 1720225 A,2006.01.11

DAVID L. NELSON等.Structure-Activity Relationships at 5-HT1A Receptors: Binding Profiles and Intrinsic Activity.《Pharmacology Biochemistry & Behavior》.1991,第40卷1041-1051.

COHEN A.等.Oxytocic activity of basic (aminomethyl) derivatives of phenols and related compounds.《Brit.J.Pharmacol.》.1957,第12卷194-208.

美国化学会.Indole.《Registry》.2009,1-3.

审查员 崔传明

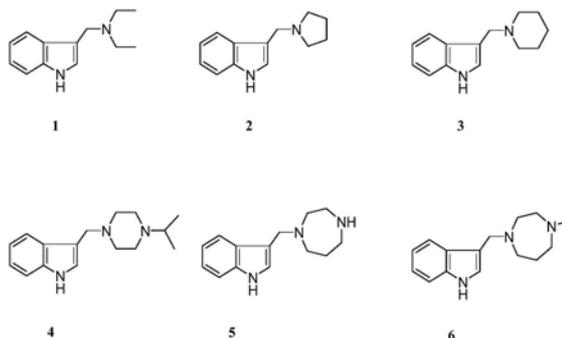
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

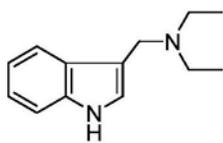
以芦竹碱衍生物为活性成分的药物组合物及其应用

(57)摘要

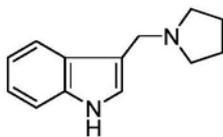
本发明提供芦竹碱衍生物(1-6)为活性成分的药物组合物,以及该类衍生物及其药物组合物用作褪黑素和5-羟色胺受体激动剂,以及其在制备治疗或改善与褪黑素、5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。



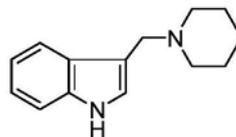
1. 如下结构式所示的芦竹碱衍生物2和6的药物组合物在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用,



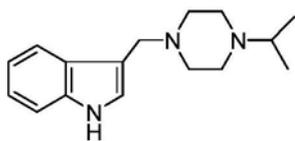
1



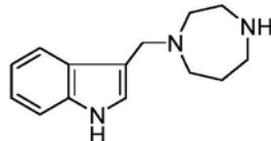
2



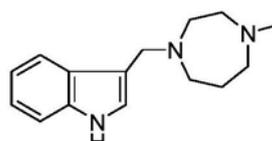
3



4

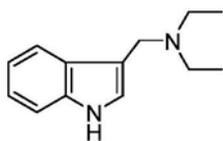


5

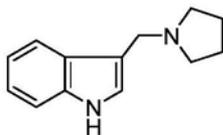


6

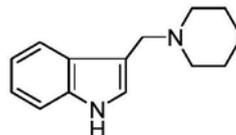
2. 如下结构式所示的芦竹碱衍生物2和6的药物组合物在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用,



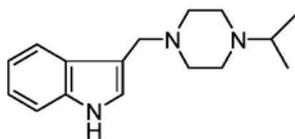
1



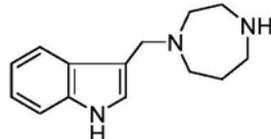
2



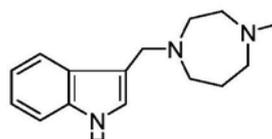
3



4

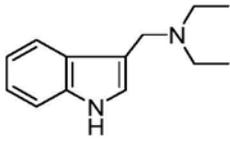


5

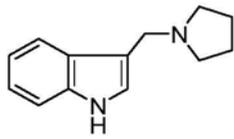


6

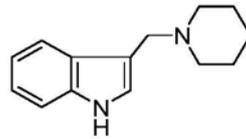
3. 如下结构式所示的芦竹碱衍生物2和6在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用,



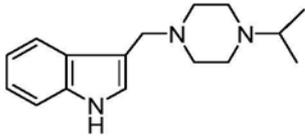
1



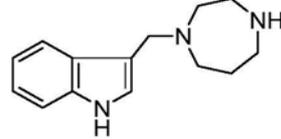
2



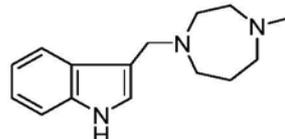
3



4

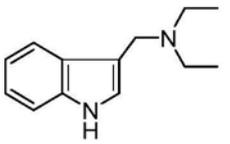


5

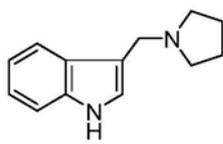


6

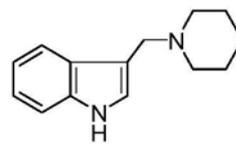
4. 如下结构式所示的的芦竹碱衍生物2和6在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用，



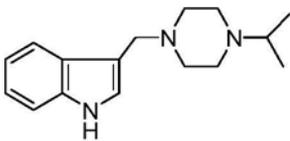
1



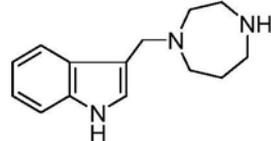
2



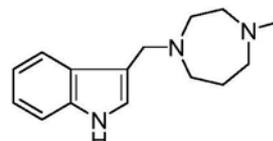
3



4



5



6

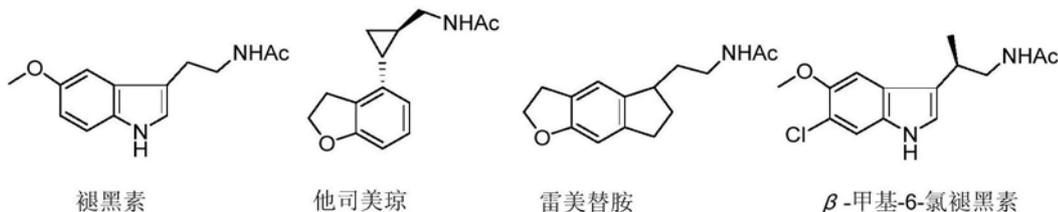
以芦竹碱衍生物为活性成分的药物组合物及其应用

技术领域

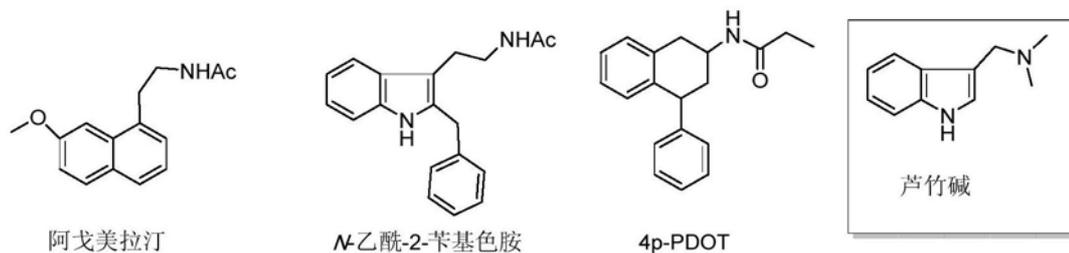
[0001] 本发明属于药物技术领域,具体地说,涉及以结构式1-6所示芦竹碱衍生物为活性成分的药物组合物,它们的制备方法,以及该类衍生物及其药物组合物用作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂,它们在制备治疗或改善与褪黑素和五羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

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)^[11]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Orekhov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,弹性,抗起皱或皮肤保湿效果 [KR 2016020240]。

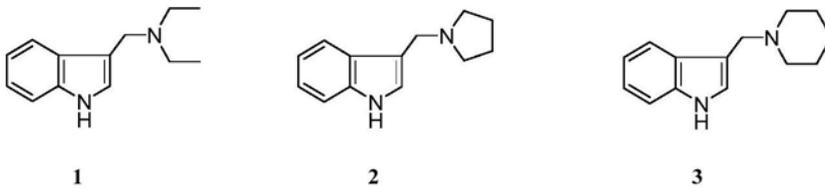
[0005] 目前,本发明提供的芦竹碱衍生物(1-6)作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂并用于抗精神疾病有效成分的药物未见报道,其衍生物或其药物组合物作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂在制备或治疗抗精神疾病药物中未见报道。

发明内容

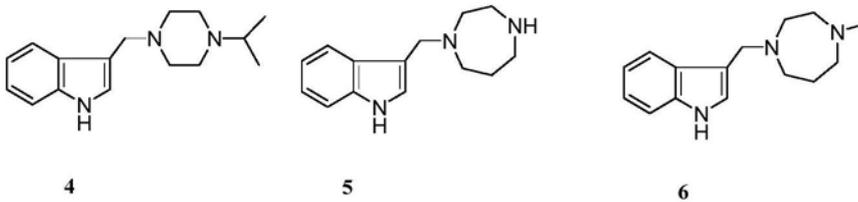
[0006] 本发明旨在提供一种新的具有药用价值的芦竹碱衍生物(1-6)为活性成分的药物组合物,其制备方法,以及该类衍生物及其药物组合物作为褪黑素和5-羟色胺受体激动剂,以及其在制备治疗或改善与褪黑素和5-羟色胺受体相关的中枢神经系统疾病的药物中的应用。

[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] 药物组合物,含有如下结构式所示的的芦竹碱衍生物1-6,以及可药用载体或赋形剂。



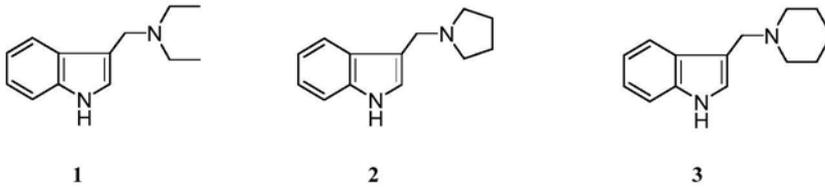
[0009]



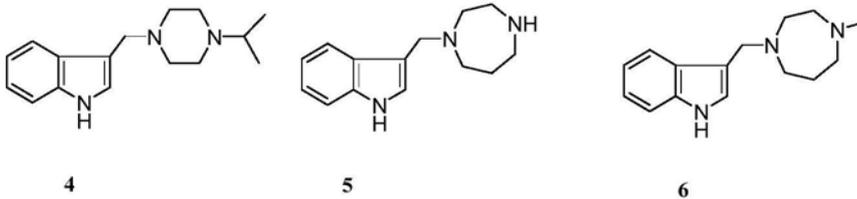
[0010] 本发明同时提供了制备所述的药物组合物中芦竹碱衍生物1-6的方法,芦竹碱分别与乙胺、吡咯、哌啶、N-异丙基哌嗪、N-甲基高哌嗪、高哌嗪,于无水甲苯中反应,110℃回流至反应结束,减压回收溶剂,制备得到粗产品,硅胶柱层析纯化(二乙胺/甲醇/氯仿,v/v/v,2/4/94~3/5/92)制备得到目标化合物1-6。

[0011] 本发明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,以及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。

[0012] 本发明另外还提供了如下结构式所示的的芦竹碱衍生物1-6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,以及芦竹碱衍生物1-6在制备抗精神疾病药物中的应用,以及芦竹碱衍生物1-6在制备褪黑素和5-羟色胺受体激动剂中的应用。



[0013]



[0014] 以褪黑素和5-羟色胺受体激动活性为指导发现芦竹碱衍生物1-6具有抗精神疾病作用。本发明通过对芦竹碱的结构修饰得到6个衍生物具有较好激动活性,其中化合物2和6的活性较好,对褪黑素受体MT₁的EC₅₀值分别为0.51和0.50mM;对5-HT_{1A}的EC₅₀值分别为0.28和0.23 mM。

[0015] 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。

[0016] 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料。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:

[0017] 图1为本发明芦竹碱衍生物(1-6)结构示意图。

具体实施方式

[0018] 为了更好地理解本发明的实质性内容,用本发明的实施例来说明本发明芦竹碱衍生物(1-6)的制备方法和药理作用结果,但不以此来限定本发明。

[0019] 下面实施例中,高分辨电喷雾电离质谱(HRESIMS)在LCMS-IT-TOF质谱仪(Shimadzu,Kyoto,Japan)上测定,核磁共振谱(¹H和¹³C NMR)由Bruker AM 400(¹H/¹³C, 400MHz/100MHz)核磁共振仪(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。

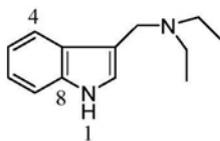
[0020] 化合物制备实施例1:

[0021] 芦竹碱(2mmol)分别与乙胺、吡咯、哌啶、N-异丙基哌嗪、N-甲基高哌嗪及高哌嗪(2~10mmol)溶于10mL无水甲苯,110℃回流至反应结束,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,v/v/v,2/4/94~3/5/92)纯化得到目标化合物(1-6):

[0022] 化合物1-6结构确定数据:

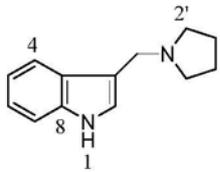
[0023] N,N-二乙基-3-吲哚甲胺(N,N-Diethyl-3-indolylmethanamine,1):白色粉末,收

率97%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ_H: 8.93 (s, 1H, NH), 7.78-7.00 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.87 (s, 2H, -CH₂N), 2.69-2.65 (m, 4H,



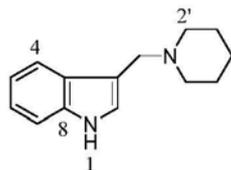
H-CH₂CH₃), 1.18-1.15 (m, 6H, H-CH₂CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 136.0 (s, C-8), 128.0 (s, C-9), 123.8 (d, C-2), 121.5 (d, C-6), 119.1 (d, C-5), 119.1 (d, C-4), 112.5 (s, C-3), 111.1 (d, C-7), 47.6 (t, CH₂N), 46.4 (t, C-Et-CH₂), 11.6 (q, C-Et-CH₃). ESIMS: *m/z* 203 [M + H]⁺, HRESIMS: C₁₃H₁₈N₂ [M + H]⁺ 测定值 203.1508, 计算值为 203.1543.

[0024] N-吡咯基吲哚甲胺 (N-Pyrrolyl-3-indolylmethylamine, 2): 白色粉末, 收率96%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ_H: 9.27 (s, 1H, NH), 7.75-7.00 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.91 (s, 2H, CH₂N), 2.68 (m, 4H, H-2', 5'),



1.85-1.80 (m, 4H, H-3', 4'). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 136.1 (s, C-8), 127.8 (s, C-9), 123.9 (d, C-2), 121.6 (d, C-6), 119.2 (d, C-5), 118.95 (d, C-4), 112.9 (s, C-3), 111.2 (d, C-7), 54.1 (t, CH₂N), 50.3 (t, C-2', 5'), 23.5 (t, C-3', 4'). ESIMS: *m/z* 201 [M + H]⁺, HRESIMS: C₁₃H₁₆N₂ [M + H]⁺ 测定值 201.1258, 计算值为 201.1386.

3.73 (s, 2H, CH₂N), H-4'). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 121.8 (d, C-6), 53.9 (t, C-2', 6'), 53.9 (t, C-2', 6'), 53.9 (t, C-2', 6'). ESIMS: *m/z* 201 [M + H]⁺, HRESIMS: C₁₃H₁₆N₂ [M + H]⁺ 测定值 201.1258, 计算值为 201.1386.

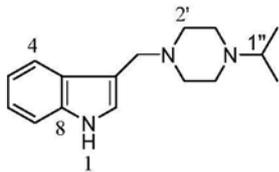


N-哌啶基吲哚甲胺 (N-Piperidyl-3-indolylmethylamine, 3): 白色粉末, 收率97%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_H: 8.62 (s, 1H, NH), 7.75-7.08 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 2.50 (m, 4H, H-2', 6'), 1.60-1.57 (m, 4H, H-3', 5'), 1.42 (m, 2H, H-4'). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 136.1 (s, C-8), 128.3 (s, C-9), 124.0 (d, C-2), 119.4 (d, C-5), 119.3 (d, C-4), 112.4 (s, C-3), 111.1 (d, C-7), 54.4 (t, CH₂N), 26.0 (t, C-3', 5'), 24.4 (t, C-4'). ESIMS: *m/z* 215 [M + H]⁺, C₁₄H₁₈N₂ [M + H]⁺ 测定值 215.1377, 计算值为 215.1543.

N-异丙基-N-

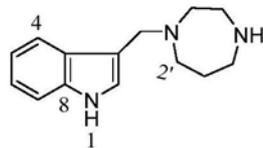
哌嗪基吲哚甲胺 (N-Isopropyl-N-

Piperazinyl-3-indolylmethylamine, 4): 白色粉末, 收率93%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ_H: 9.57 (s, 1H, NH), 7.73-6.94 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.78 (s, 2H, CH₂N), 2.69-2.60 (m, 9H, H-1'', 2', 3', 5', 6'), 1.05 (d, 6H, Me). ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ: 136.2 (s, C-8), 128.3 (s, C-9), 124.4 (d, C-2), 121.7 (d, C-6), 119.3 (d, C-5), 119.3 (d, C-4), 111.3 (s, C-3), 111.2 (d, C-7), 54.5 (d, C-1''), 53.1 (t, CH₂N), 53.1 (t, C-3', 5'), 48.7 (t, C-2', 6'), 18.7 (q,

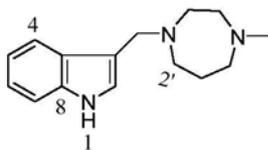


C-Me). ESIMS: *m/z* 258 [M + H]⁺, HRESIMS: C₁₆H₂₃N₃ [M + H]⁺ 测定值 258.1862, 计算值为 258.1965.

N-高哌嗪基-3-吲哚甲胺 (N-Homopiperazinyl-3-indolylmethylamine, 5): 黄色无定型粉末, 收率76%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_H: 8.92 (s, 1H, NH), 7.71-6.98 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.84 (s, 2H, CH₂N), 2.98-2.70 (m, 8H, H-2', 4', 6', 7'), 2.17 (s, 1H, NH), 1.82-1.76 (m, 2H, H-3'), 1.05 (d, 6H, Me). ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ: 136.2 (s, C-8), 128.1 (s, C-9), 123.8 (d, C-2), 121.7 (d, C-6), 119.3 (d, C-5), 119.2 (d, C-4), 112.8 (s, C-3), 49.4 (t, C-6'), 46.5 (t, C-4'). ESIMS: *m/z* 230 [M + H]⁺, HRESIMS: C₁₄H₁₉N₃ [M + H]⁺ 测定值 230.1578, 计算值为 230.1652.



N-甲基-N-高哌嗪基-3-吲哚甲胺 (N-Methyl-N-homopiperazinyl-3-indolylmethylamine, 6): 黄色无定型粉末, 收率80%。¹H NMR (400MHz,



CDCl₃) δ_H: 10.05 (s, 1H, NH), 7.80-7.02 (m, 5H, H-2, 4, 5, 6, 7), 3.89 (s,

2H, CH₂N), 2.89-2.85 (m, 4H, H-2', 4'), 2.75-2.69 (m, 4H, H-6', 7'), 2.40 (s, 3H, NMe), 1.89-1.85 (m, 2H, H-3'). ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ: 136.4 (s, C-8), 128.1 (s, C-9), 124.3

(d,C-2), 121.6 (d,C-6), 119.4 (d,C-5), 119.1 (d,C-4), 112.6 (s,C-3), 111.3 (d,C-7), 57.5 (t,C-6'), 56.8 (t,C-7'), 54.3 (t,C-4'), 54.0 (t,C-2'), 53.6 (t,CH₂N), 46.9 (q,NMe), 27.0 (t,C-3'). ESIMS: m/z 244 [M+H]⁺, HRESIMS: C₁₅H₂₁N₃ [M+H]⁺测定值244.1742, 计算值为244.1808.

[0025] 下面以褪黑素和5-羟色胺受体激动活性药理作用试验说明本发明的芦竹碱衍生物的药理作用结果:

[0026] 试验例1:

[0027] 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(1-6)在人体肾上皮细胞MT₁-HEK293和5-HT_{1A}-HEK293细胞模型上,测定其对受体的激动活性。

[0028] 1激动活性实验部分

[0029] 1.1材料和仪器

[0030] 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 Fluo-8 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)。

[0031] 1.2实验过程

[0032] 制备得到不同骨架有机酸托品酯,在人体肾上皮细胞MT₁-HEK293和5-HT_{1A}-HEK293细胞模型上,以阿戈美拉汀和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。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。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,具体试验方法参考文献^[17-19]。采用Dulbecco's改良的Eagle培养基,将细胞以4×10⁴/孔的密度,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。两块板同时放入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,EC₅₀值通过Graph Pad Prism 5软件计算得到;激动率=Δδ_a/Δδ_c×100%(a:测试样品;c:阳性对照)。

[0033] 2.结果:浓度为1.00mM,芦竹碱及其衍生物(1-6)的激动活性如表(1)所示:

[0034] 表1 芦竹碱衍生物对MT₁和5-HT_{1A}受体的激动活性^a

	化合物	R	激动率 (%) ^b	
			MT ₁	5-HT _{1A}
	阿戈美拉汀	-	100±7.83	-
	五羟色胺	-	-	100±3.43
	芦竹碱		182.12±6.71	136.45±6.96
[0035]	1		184.19±5.0	275.40±9.65
	2		193.66±15.02	357.35±17.47
	3		34.32±20.16	220.93±2.88
	4		127.11±9.31	243.78±11.46
	5		175.23±7.63	237.02±15.38
[0036]	6		204.10±11.72	486.60±17.62

[0037] 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6.67μM. ^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).

[0038] 表2 衍生物2和6半数有效浓度(EC₅₀,mM)

化合物	EC ₅₀ (mM)	
	MT ₁ ^b	5-HT _{1A}
芦竹碱	1.36	0.47
2	0.51	0.28
6	0.50	0.23

[0040] 注:化合物1-6测试浓度范围为0.02~1.52μM; \bar{x} 为三次测定的平均值,EC₅₀表达为 $\bar{x} \pm SD$ (n=3)。

[0041] 3. 结论:实验结果显示,已测定的芦竹碱衍生物对MT₁和5-HT_{1A}受体具有较强的激动活性,具有与褪黑素和受体相关的潜在的调节或治疗作用。

[0042] 制剂实施例1:

[0043] 按制备实施例1的方法制备得到的得芦竹碱衍生物1-6,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。

[0044] 制剂实施例2:

[0045] 按制备实施例1的方法先制备得到芦竹碱衍生物1-6,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。

[0046] 制剂实施例3:

[0047] 按制备实施例1的方法先制备得到芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按其于赋形剂重量比为9:1的比例加入赋形剂,制成粉剂。

[0048] 制剂实施例4:

[0049] 按制备实施例1的方法先制备得到芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按其于赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0050] 制剂实施例5:

[0051] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按常规口服液制法制成口服液。

[0052] 制剂实施例6:

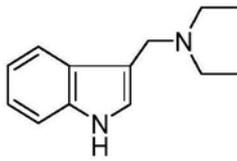
[0053] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按其于赋形剂重量比为5:1 的比例加入赋形剂,制成胶囊。

[0054] 制剂实施例7:

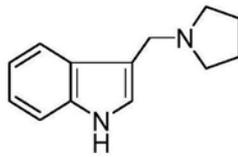
[0055] 按制备实施例1的方法先制得芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按其于赋形剂重量比为3:1的比例加入赋形剂,制成胶囊。

[0056] 制剂实施例8:

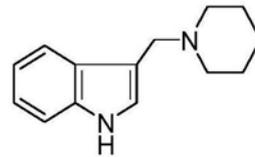
[0057] 按制备实施例1的方法先制备得到的芦竹碱衍生物1-6,分别或混合,按其于赋形剂重量比为5:1 的比例加入赋形剂,制成颗粒剂。



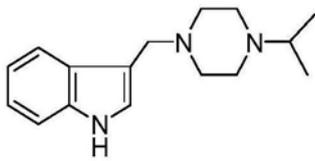
1



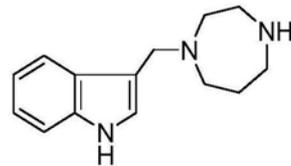
2



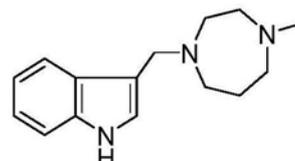
3



4



5



6

图1