

说明书

3-正丁基异吲哚啉酮在制备预防和治疗脑梗塞的药物中的应用

技术领域:

本发明属于化合物医药领域，具体涉及 3-正丁基异吲哚啉酮和含有 3-正丁基异吲哚啉酮的药用组合物在制备预防和治疗脑梗塞的药物中的应用。

背景技术:

脑梗塞 (cerebral infarction, CI)，又称为缺血性脑卒中，(cerebral ischemic stroke, CIS)，是指局部脑组织因血液循环障碍，缺血、缺氧导致软化坏死。脑梗塞主要是由于供应脑部血液的动脉出现粥样硬化和血栓形成，使官腔狭窄甚至闭塞，导致局灶性急性脑供血不足而发病；也有因异常物体（固体、液体、气体）沿血液循环进入脑动脉或供应脑血液循环的颈部动脉，造成血流阻断或血流量骤减而产生相应支配区域脑组织软化坏死。

脑梗塞是危害人类生命健康的三大杀手之一，紧随心脏病和癌症之后。脑梗塞患者的致残率极高，为 75%，给对病人带来了极大的痛苦的同时也对家庭而言则带来了沉重的经济负担。因此，寻求理想的脑梗塞治疗药物是医药领域里的热点之一。

目前，对于急性缺血性脑梗塞，公认的最有效治疗为溶栓治疗。最常用的制剂为组织型纤溶酶原激活剂 (rt-PA)，但其治疗时有较高的颅内出血概率，而且价格昂贵。很多其他脑保护剂的临床疗效不够理想，而且有较严重的副作用。

上世纪九十年以来，著名神经药理学家冯亦璞经过不懈努力，研究出治疗急性缺血性脑梗塞的一类创新药丁基苯酞，商品名为恩必普。恩必普也成为继青蒿素、双环醇之后中国第三个拥有自主知识产权的化学药物。药效学和药理作用机制研究发现，丁基苯酞是一个既能改善脑血流，又具有阻断脑缺血多个病理环节的脑保护药。它源于天然植物，最早是在南方水芹菜籽的提取物中发

说明书

现, 后经人工化学合成。经过多期临床试验, 有较好疗效, 且安全性高、使用方便、不良反应低。

丁基苯酞为多靶点抗脑缺血药物, 其作用机制有如下几个方面: 1 改善线粒体功能, 提高脑血管内皮 NO 和 PGI₂ 的水平, 抑制谷氨酸释放。2 改善局部脑血流量和脑微循环及脑缺血能量代谢耗竭, 减轻由脑缺血引起的脑水肿症状。3 降低细胞内花生四烯酸含量和钙浓度, 抑制氧自由基和提高抗氧化酶的活性。4 抗血栓形成和抗血小板的聚集, 改善脑缺血记忆障碍, 改善神经功能缺失, 减小脑梗死面积。中国专利 CN1257706 A 公开了丁基苯酞在制备抗血栓形成及抗血小板聚集药物中的应用; 中国专利 CN102008464 A 公开了左旋丁基苯酞在制备预防和治疗脑梗塞的药物中的应用。

虽然丁基苯酞在治疗缺血性脑卒中上有明显效果, 但是由于其性状为油状液体, 不溶于水, 因此只能制成液体制剂溶于油中, 对其制剂类型有非常大的限制。

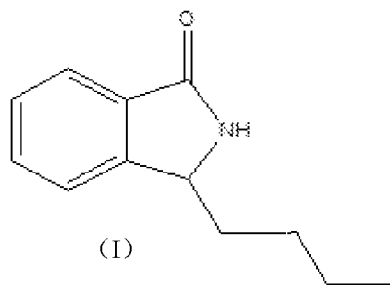
本发明合成出一种与丁基苯酞结构类似的化合物 3-正丁基异吗啉酮, 用 -NH- 替换其中的 -O-, 但不改变其双环结构, 得到白色结晶状固体, 有利于制剂要求。由于该化合物与丁基苯酞的结构与分子量都十分相近, 因此推测其与丁基苯酞有类似的药物作用。而通过药效学研究事实也表明, 3-正丁基异吗啉酮在治疗局部脑缺血引起的脑梗死有明显作用, 与丁基苯酞的治疗效果没有明显统计学差异。因此, 本发明的化合物 3-正丁基异吗啉酮保留了丁基苯酞对脑缺血的治疗作用, 同时也解决了丁基苯酞制剂方面的缺陷, 对临床治疗脑缺血引起的疾病有重要意义。

发明内容:

为克服现有技术中对丁基苯酞应用的研究的不足, 本发明提供了一种涉及如

说明书

通式 I 所示化合物 3-正丁基异吲哚啉酮在制备预防或治疗脑梗塞上的应用,并通过药效学实验证明其在预防或者治疗脑缺血方面与丁基苯酞无统计学差异。同时由于其具有晶型固体结构,在制剂方面有广大的选择空间,解决了丁基苯酞在制剂方面的限制,对工业化生产和降低用药成本具有非常重大的意义。



本发明上述目的通过以下技术方案予以实现:

本发明具体涉及了含有 3-正丁基异吲哚啉酮的用于治疗由局部缺血引起的脑梗死的药物或药用组合物的用途。

本发明研究发现, 3-正丁基异吲哚啉酮在治疗缺血性脑卒中方面与正丁基苯酞相比, 并无统计学差异。

本发明用线栓法大鼠脑中动脉栓塞 (MCAO) 模型来观察 3-正丁基异吲哚啉酮的抗脑缺血作用。MCAO 模型分为 3 组, 分别为: 1) 阴性对照组, 植物油 3ml/kg; 2) 3-正丁基异吲哚啉酮, 30mg/kg; 3) 正丁基苯酞阳性对照组, 30mg/kg。这 3 组的给药方式都为腹腔注射。选用体重为 250g 左右的雄性 SD 大鼠, 缺血 15min 后给药。栓塞 2h、再灌注 24h 后, 取脑切片进行 TTC 染色。染色结果用 image J 软件处理并计算梗死面积, 所有组之间进行比较。结果表明, 空白组的平均梗死面积为 24.430%, 3-正丁基异吲哚啉酮组的平均梗死面积为 14.365%, 丁基苯酞组的平均梗死面积为 14.402%。统计结果表明, 3-正丁基异吲哚啉酮对脑缺血的治疗效果与丁基苯酞没有显著的统计学差异。

本发明结果不仅证实 3-正丁基异吲哚啉酮有很好的脑缺血治疗作用, 而且,

说明书

由于其具有晶型的固体结构，较之于丁基苯酞的油状液体结构，在制剂领域有很大的选择余地，对改变给药方式提供新的可能，有利于降低制药成本，提高用药效率，因此，3-正丁基异吲哚啉酮具有广阔的应用前景。

本发明涉及含有作为活性成分的本发明化合物和药学可接受的赋形剂或辅料的药用组合物。通常本发明药用组合物含有 0.1-95%重量的本发明化合物。

本发明的化合物的药用组合物可根据本领域公知的方法制备。用于此目的时，如果需要，可将本发明化合物和一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅料结合，制成可作为人药或兽药使用的适当的施用形式或剂量形式。

本发明的化合物由于是晶体形态，在制剂方面，可以将该化合物或含该化合物的药用组合物制成液体剂型、气体剂型、半固体剂型和固体剂型。如液体剂型可以是真溶液类、乳剂剂型、混悬剂型、微粒剂型、胶体剂型等；气体制剂可以是气雾剂、喷雾剂、粉雾剂；半固体制剂可以是服膏剂、外用膏剂、糊剂等；固体剂型可以为片剂、胶囊剂、滴丸、丸剂、粉剂、栓剂、颗粒剂、冻干粉针剂等。

本发明化合物或含该化合物的药用组合物可以单位剂量形式给药，给药途径可以是肠道或非肠道，如口服、肌肉、皮下、鼻腔、口腔黏膜、皮肤、腹膜、直肠等。

本发明化合物或含该化合物的药用组合物的给药途径可以是注射给药，包括静脉注射、肌肉注射、皮下注射、皮内注射及穴位注射等。

本发明化合物或含该化合物的药用组合物既可以制成普通制剂，也可以制成缓控释与靶向制剂及各种微粒给药系统。

为了将单位给药剂型制成片剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、

说明书

蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等；湿润剂与粘合剂，如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等；崩解抑制剂，例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等；吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；润滑剂，例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片，例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片，或双层片和多层片。

例如为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、高岭土、滑石粉等；粘合剂，如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等；崩解剂，如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。

例如为了将给药单元制成胶囊，将有效成分本发明化合物与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。也可将有效成分本发明化合物制成微囊剂，混悬于水性介质中形成混悬剂，亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。

例如，将本发明化合物制成注射用制剂，如溶液剂、混悬剂溶液剂、乳剂、冻干粉针剂，这种制剂可以是含水或非水的，可含一种和/或多种药效学上可接受的载体、稀释剂、粘合剂、润滑剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂。如稀释剂可选自水、乙醇、聚乙二醇、1,3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的

说明书

异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH 调节剂等。这些辅料是本领域常用的。

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

为达到用药目的，增强治疗效果，本发明的药物或药物组合物可用任何公知的给药方法给药。

本发明化合物药物组合物的给药剂量取决于许多因素，例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者或动物的性别、年龄、体重、性格及个体反应，给药途径、给药次数、治疗目的，因此本发明的治疗剂量可以有大范围的变化。一般来讲，本发明中药学成分的使用剂量是本领域技术人员公知的。可以根据本发明化合物组合物中最后的制剂中所含有的实际药物数量，加以适当的调整，以达到其治疗有效量的要求，完成本发明的预防或治疗目的。本发明化合物的每天的合适剂量范围优选为 0.1-100mg/kg 体重，更优选为 0.1-100mg/天/人。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个，例如二、三或四个剂量形式给药这受限于给药医生的临床经验以及包括运用其它治疗手段的给药方案。

每一种治疗所需总剂量可分成多次或按一次剂量给药。本发明的化合物或组合物可单独服用，或与其他治疗药物或对症药物合并使用并调整剂量。

以下结合实例对本发明作详述，但不作为对本发明的限定。

附图说明

图 1 空白对照组大鼠 MCAO 模型缺血 2h 再灌 24h 后的脑切片染色结果数码相片

图 2 3-正丁基异吲哚啉酮组大鼠 MCAO 模型缺血 2h 再灌 24h 后的脑切片

说明书

染色结果数码相片

图 3 丁基苯酞阳性对照组大鼠 MCAO 模型缺血 2h 再灌 24h 后的脑切片染色结果数码相片

图 4 空白对照组、3-正丁基异吲哚啉酮组、丁苯酞组对大鼠 MCAO 模型缺血 2h 再灌 24h 后的行为学评分柱状图

图 5 空白对照组、3-正丁基异吲哚啉酮组、丁苯酞组对大鼠 MCAO 模型缺血 2h 再灌 24h 后的脑梗死面积百分率柱状图

具体实施方式

实施例 1 3-正丁基异吲哚啉酮片剂的制备

【处方】

3-正丁基异吲哚啉酮	20g
淀粉	20g
乙醇（50%）	适量
羧甲基淀粉钠	3g
硬脂酸镁	0.3g
200 片量	

按处方量准确称取恒重的 3-正丁基异吲哚啉酮，研成粉末后过 100 目筛，备用。准确称取恒重的淀粉，过 100 目筛。将过筛后的 3-正丁基异吲哚啉酮、淀粉混合均匀，加入适量 50%乙醇，制软材，通过 18 目尼龙筛制粒，60-70℃干燥，用 18 目筛整粒，然后加入羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁，混匀。Φ 8mm 冲模压片即得。

实施例 2 3-正丁基异吲哚啉酮硬胶囊的制备

【处方】

说明书

3-正丁基异吲哚啉酮	20g
淀粉	20g
乙醇（50%）	适量
羧甲基淀粉钠	3g
硬脂酸镁	0.3g

200 粒

湿法制粒方法同实施例 1。按处方量准确称取恒重的 3-正丁基异吲哚啉酮，研成粉末后过 100 目筛，备用。准确称取恒重的淀粉，过 100 目筛。将过筛后的 3-正丁基异吲哚啉酮、淀粉混合均匀，加入适量 50%乙醇，制软材，通过 18 目尼龙筛制粒，60-70℃干燥，用 18 目筛整粒，检测含量，合格后装入 1 号胶囊即得。

实施例 3 3-正丁基异吲哚啉酮软胶囊的制备

取制备的 3-正丁基异吲哚啉酮 1g，植物油 10g，聚甘油酸酯 1g，混合后，置球磨机中混匀，制得软胶囊内容物。以明胶：甘油：水：遮光剂=1:0.4: 0.8:0.01 为囊材，采用模压法制备软胶囊，软胶囊经冷风固化、干燥，用适当的溶剂洗、终干，制得软胶囊 100 粒。

实施例 4 3-正丁基异吲哚啉酮冻干粉的制备

取制备的 3-正丁基异吲哚啉酮 1g，加入 800ml 注射用水，溶解后加入甘露醇 6g，充分溶解后，补加注射用水至 1000ml，活性炭脱碳后过微孔滤膜，分装于 7ml 西林瓶中，每瓶 4ml，加塞，冻干，压盖，即得。规格 4mg/瓶。

实施例 5 3-正丁基异吲哚啉酮注射剂的制备

取制备的 3-正丁基异吲哚啉酮 1g 以及氯化钠 9g，加注射用水约 900ml，调节 PH 至 6.5-7.2，加入 3g 针用碳，搅匀，煮沸 15min，溶液趁热用滤纸过滤除

说明书

碳，然后经 0.22 μ m 微孔滤膜精滤。加注射用水至 1000ml，检查滤液澄明度，合格后分装于 5ml 安瓿瓶中，熔封，110℃加压灭菌 30min 即可。

实施例 6 3-正丁基异吲哚啉酮对大脑中动脉栓塞（MCAO）大鼠脑梗塞体积的影响

（1）线栓法大鼠中动脉栓塞模型（MCAO）制备

选取体重为 250—270g 的雄性 SD 大鼠。室温保持 25℃左右，术前 12h 禁食，自由进水。按照 longa 等方法制造 MCAO 模型。用 10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠，剂量为 350mg/kg。仰卧固定在鼠板上，白炽灯照射，使大鼠体温保持 37 $\pm$ 0.5℃。剪去颈正中的鼠毛，消毒后切开皮肤，仔细分离出右侧颈总动脉（CCA），颈外动脉（ECA）及颈内动脉（ICA）。将 ECA 剪断后，残端拉直与 ICA 呈一直线后，插入栓线。进线深度约为 19.0 $\pm$ 0.5mm。2h 后小心抽出部分栓线，实现再灌注，结扎缝合好后放回鼠笼中，再灌 24h 后取脑切片染色。

（3）实验分组及给药

设计将大鼠分 3 组，每组 10 只，分别为：1）空白对照组，植物油 3ml/kg；2）3-正丁基异吲哚啉酮组，30mg/kg；3）正丁基苯酞阳性对照组，30mg/kg。全部组给药方式都为腹腔注射，造模 15min 后给药。

（4）神经行为学评分

参照 Zea Longa 评定，对动物造模 2h 及再灌注 24h 后处死前进行行为学观察。抓住鼠尾将动物提起离地约 1 尺，观察其左前肢状况；将大鼠置于平坦地面，分别从左右两侧推动双肩，比较两侧抗力有无差异；大鼠置于平坦地面，让它自由活动，观察行走情况。采用 4 级评分法（0-5 分），分数越高，说明神经行为损伤越严重。

1. 行为完全正常者，记 0 分；

说明书

2. 提起鼠尾离开地面，手术对侧前肢内旋、内收者，记 1 分；
3. 大鼠至地面，用手挤压两侧检查其抗力，手术对侧抗力下降者，记 2 分；
4. 大鼠至地面，观察其行走，围绕手术对侧转圈者，记 3 分；
5. 损伤极其严重，已无法自主活动者，记 4 分。

分数越高说明脑损伤越严重，损伤太轻或太重都不能入选为正式试验模型。模型入选标准为造模 2h 后拔线前神经行为学评分为 3 分，即可见到明显转圈。

MCAO 大鼠模型再灌注 24h 后，对大鼠进行神经行为学的评分，并做好详细记录。

（4）脑梗塞面积测定与计算

再灌注 24h 后，大鼠处死后取脑，置于培养皿中。迅速将取出的脑组织置于 -20℃ 冰箱，20min 后取出。切除嗅球、小脑和低位脑干后，大约每间隔 2mm 切一刀，一共切五刀，切成 6 个大脑连续冠状粗切片。往培养皿中加入 2% 的 TTC 染液，使液面淹没过脑切片。37℃ 恒温、避光孵育 25-30min，期间每隔 5min 将脑片翻动一次。TTC 染色后的脑片，正常组织呈红色，缺血区域呈白色。染完色后，用注射器移出 TTC 溶液，加入淹没脑切片的量的福尔马林溶液，避光放置。24h 后，将已经固化的脑切片取出，置于蓝色背景下，排列整齐拍照保存。用图像分析系统软件(image J)处理图像，分别计算出梗死面积与脑切片总面积，计算脑梗死百分率，具体公式为：脑梗塞百分率 (%) = (梗死面积/脑切片总面积) × 100%。因每片厚度一样都为 2cm，所以梗死面积一定程度可以代表梗死体积。

（5）实验结果

神经行为学评分结果显示，溶剂对照组神经行为学评分没有出现 0 分的情况，2 分或者 3 分占绝大多数。部分鼠提尾时左前肢内收，受到推挤时手术对侧的抵

说明书

抗力降低, 这种情况评分为 2 分。有些鼠出现转圈现象, 评分为 3 分。也有大鼠症状比较重, 瘫倒在地行动困难, 评分为 4 分。实验数据用统计学软件 SPSS17.0 进线处理, 用单因素方差分析法 (ANOVA) 检验各组间神经行为学的差异, 表明 3-正丁基异吲哚啉酮组对神经行为的缓解作用相比空白组有非常显著的差异 ($P=0.003<0.01$), 相比丁基苯酞组无显著差异 ($P=0.384>0.05$), 丁基苯酞组对神经行为缓解作用相比空白组有显著差异 ($P=0.031<0.05$)。从神经行为学评分结果可以得出结论, 3-正丁基异吲哚啉酮与丁基苯酞对大鼠局部脑缺血造成的症状有一定的减缓作用, 而 3-正丁基异吲哚啉酮的减缓作用甚至略大于丁基苯酞。这与后面的脑切片染色实验结果是一致的, 表明药物对神经行为的改善作用于缩小梗死面积的作用呈平行相关。

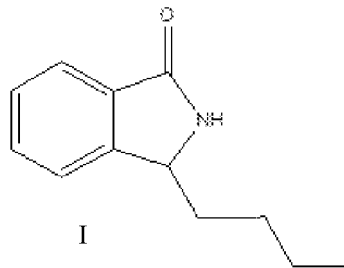
3-正丁基异吲哚啉酮对 MCAO 大鼠脑梗塞体积的影响, 实验结果图片附图所示。

所有组大鼠脑切片由 image J 统计出的梗死面积与切片总面积, 计算梗死率。3 缩小梗死区域的作用非常明显, 甚至比丁基苯酞组阳性对照组要略好, 相比于溶剂对照组, 梗死体积缩小 41.199%, 效果非常明显。用单因素方差分析法 (ANOVA) 比较 3 组对减少 MCAO 大鼠脑梗死区域的作用大小, 表明, 3-正丁基异吲哚啉酮组缩减梗死区域面积的作用与空白组相比有非常显著的统计学差异 ($P<0.001$), 与丁基苯酞组相比差异无统计学意义 ($P=0.989$), 丁基苯酞组与空白组相比也有显著的统计学差异 ($P<0.01$)。

以上结果说明, 3-正丁基异吲哚啉酮对缺血性脑梗死有一定的治疗作用, 对临床上脑梗死的治疗有很大意义。

权 利 要 求 书

1. 一种如通式I所示的 3-正丁基异吲哚啉酮在制备预防或治疗脑梗塞的药物的应用。



2. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征是: 3-正丁基异吲哚啉酮为 (±)-3-正丁基异吲哚啉酮、(+)-3-正丁基异吲哚啉酮或 (-)-3-正丁基异吲哚啉酮。
3. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征是,所述的脑梗塞是局部缺血导致的。
4. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征是,该化合物的有效治疗剂量为: 0.1-100mg/kg/天。
5. 一种药用组合物,其特征是,包含有效治疗量的如通式 I 所示 3-正丁基异吲哚啉酮及药用载体或赋形剂。
6. 根据权利要求 5 所述的药用组合物,其特征是,所述的药用组合包括片剂、胶囊剂、注射剂、颗粒剂、丸剂、散剂、缓释制剂、控释制剂及各种微粒给药系统。
7. 根据权利要求 5 所述的药用组合物,其特征是,所述的药用组合物用于制备预防或治疗由局部脑缺血导致的脑梗塞的药物中的应用。