

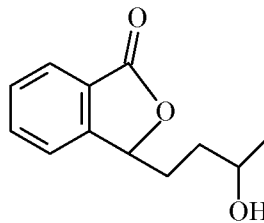
一种丁苯酞的衍生物及其制法和用途

技术领域

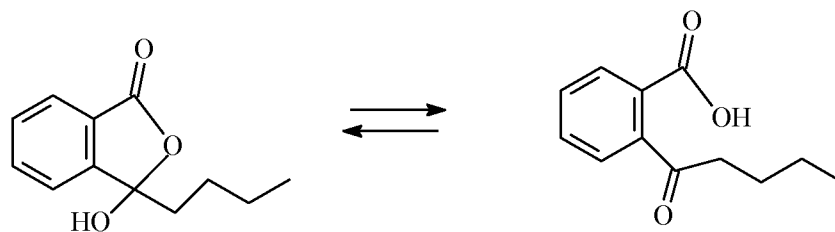
本发明属于化合物的医药领域，涉及(-)-(S)-3-(3'-羟基)-丁基苯酞及其与酸生成的酯，并公开其其制备方法和用途。

背景技术

丁苯酞对急性缺血性脑卒中患者的中枢神经功能的损伤有改善作用，可促进患者功能恢复，在体内主要转化成两种代谢产物 3-3-(3'-羟基)丁基苯酞和 3-羟基-3-丁基苯酞：



3-3-(3'-羟基)丁基苯酞（代谢物I）



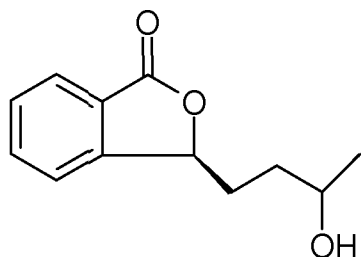
3-羟基-3-丁基苯酞（代谢物II）

广东中科药物研究有限公司与山东绿叶天然药物研究有限公司在 2008 年合成了代谢物I的琥珀酸酯、甘氨酸酯及磷酸酯并阐述了在和预防脑缺血疾病中的应用。专利申请 200410036628.3 中公开了丁基苯酞类同系物 3-(3'-羟基)丁基苯酞、3-羟基-3-丁基苯酞的新用途。通过动物实验证明，二者具有以下几方面的作用：

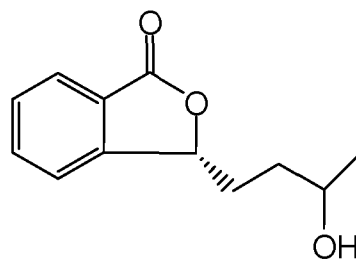
- 1) 明显改善大鼠因脑外伤导致脑缺血引起的神经症状；
- 2) 改善大鼠因脑缺血引起的记忆障碍；
- 3) 减轻大鼠脑缺血引起的脑水肿；

- 4) 降低大鼠因脑缺血引起的脑卒中;
- 5) 改善大鼠因脑缺血引起的能量代谢;
- 6) 增加脑血区脑血流;
- 7) 减小局部脑缺血大鼠脑梗塞面积并减轻神经功能缺失症状;
- 8) 抗血小板聚集和抗血栓;
- 9) 预防和治疗痴呆。

我公司研究人员发现代谢物I具有两种不同的光学异构体, 并通过不对称合成的方法制备了化合物 3-3-(3'-羟基)丁基苯酐 (代谢物I) 的 S 构型和 R 构型, 如下图所示:



S 构型



R 构型

并通过动物试验发现 R 构型并不能影响脑缺血大鼠脑梗塞体积, 不能改善脑缺血的状况, 而 S 构型则具有改善脑缺血症状和减少脑缺血大鼠脑梗塞体积的作用, 同时发现 S 构型的代谢物I (权利要求 1 的化合物) 具有改善睡眠的作用。

由于 S 构型的代谢物I (权利要求 1 的化合物) 为油状液体, 不溶于水, 为了做成注射液的剂型, 我们进一步研究, 使之与酸成酯, 再成盐, 做成可以溶于水的化合物, 以适应制剂的需要。

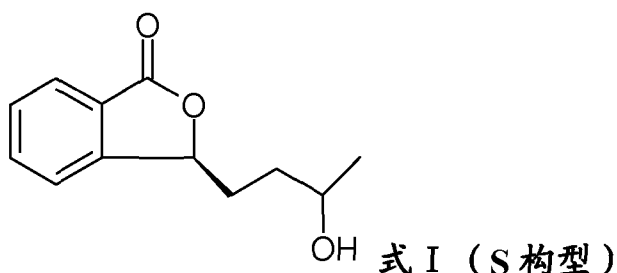
发明内容

本发明的目的是提供一种用于缺血性脑卒中的 3-(3'-羟基)丁基

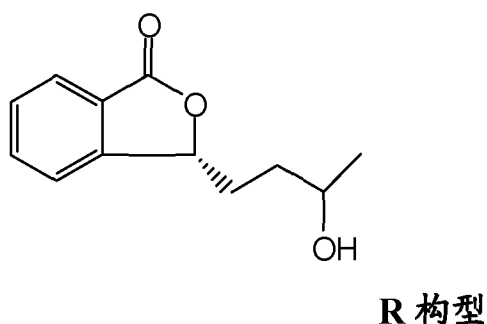
苯酐的衍生物，及其制备方法和用途。

为了实现上述目的，本发明采用了如下的技术方案：

通过不对称合成，制备下图所示式 I 所示的化合物：



同时制备 R 构型化合物，如下图所示：

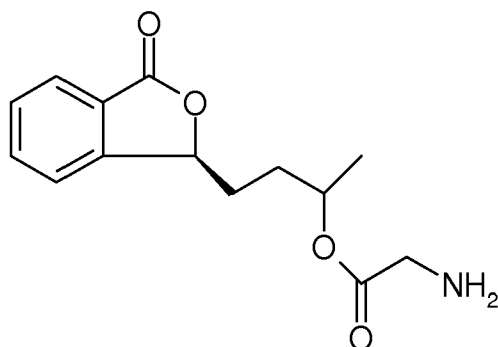


通过动物试验证明，R 构型的化合物没有减小大鼠脑缺血梗塞体积的作用，不能改善脑缺血的症状，也不具备改善睡眠的作用，而 R 构型则具有很好的改善脑缺血症状的作用，并且能够改善动物的睡眠状态。

由于式 I 化合物为油状不溶于水的物质，因此我们使之与酸成酯，所述的酸是指药学上可接受的无机酸或有机酸，无机酸是指硝酸、硫酸或磷酸，所述有机酸除酸根外至少还含有氨基、羟基或羧基中的一种基团、至少含有一个。成酯后的盐可以溶于水，能够制备注射液或冻干粉针的剂型。

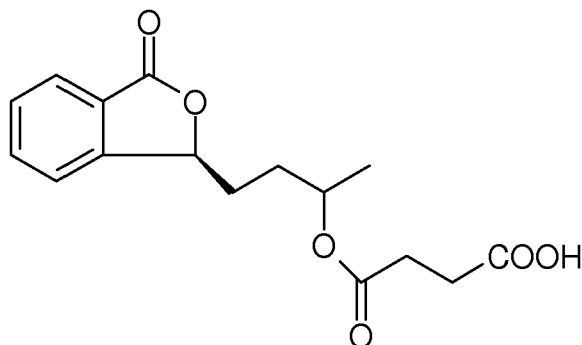
有机酸可以是氨基酸类，具体可以是指甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、精氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、焦谷氨酸、色氨酸或缬氨酸。

其中优选与甘氨酸成的酯，如下图所示：



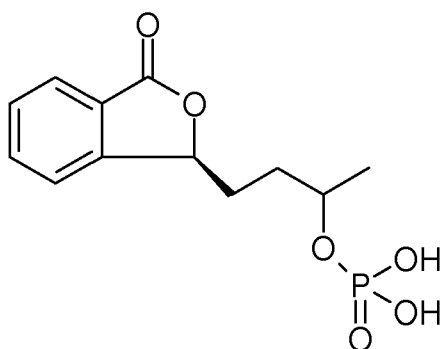
有机酸也可以是二元羧酸，具体可以是指樟脑酸、苹果酸、柠檬酸、马来酸、琥珀酸、草酸、戊二酸、乙二酸或丙二酸。

其中优选与琥珀酸生成的酯，如下图所示：



有机酸还可以是指双羧萘酸、羧基萘酸、龙胆酸、水杨酸、羧基乙酸、扁桃酸、乳酸、4-乙酰胺基苯甲酸或烟酸。

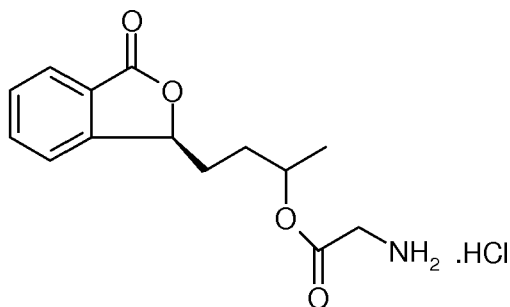
式 I 所示的化合物与无机酸成酯，其中优选磷酸，如下图所示：



以上的酯进一步成盐，则可以制备成溶于水的化合物，可以解决水溶性的问题，用于制备注射剂型。

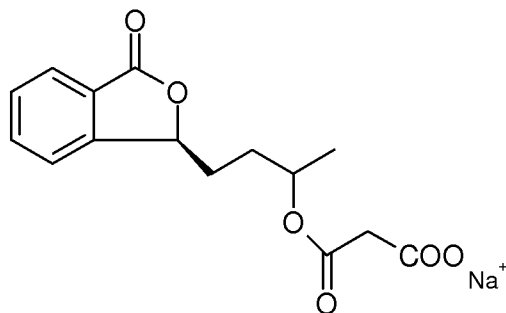
式 I 所示的化合物与甘氨酸生成的酯，优选生成盐酸盐，如下图

所示:



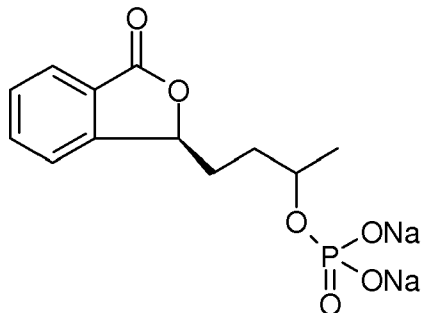
本发明还提供了式 I 所示的化合物二元酸酯的盐,是指和钾、钠、镁、或有机胺成的盐,有机胺根可以是氨丁三醇、二乙醇胺、三乙醇胺、甘氨酸、赖氨酸或精氨酸。

其中优选钠盐,如下图所示式:



式 I 所示的化合物与磷酸生成的酯,也可以与生理上可接受的碱继续成盐,以解决水溶性,是指钠、钾、镁或有机胺盐,有机胺包括赖氨酸、甘氨酸、精氨酸、氨丁三醇、二乙醇胺或三乙醇胺。

式 I 所示的化合物与磷酸生成的酯优选成二钠盐,结构式如下图所示:



本发明还提供了用于治疗缺血性脑卒中的药物组合物,其特征是

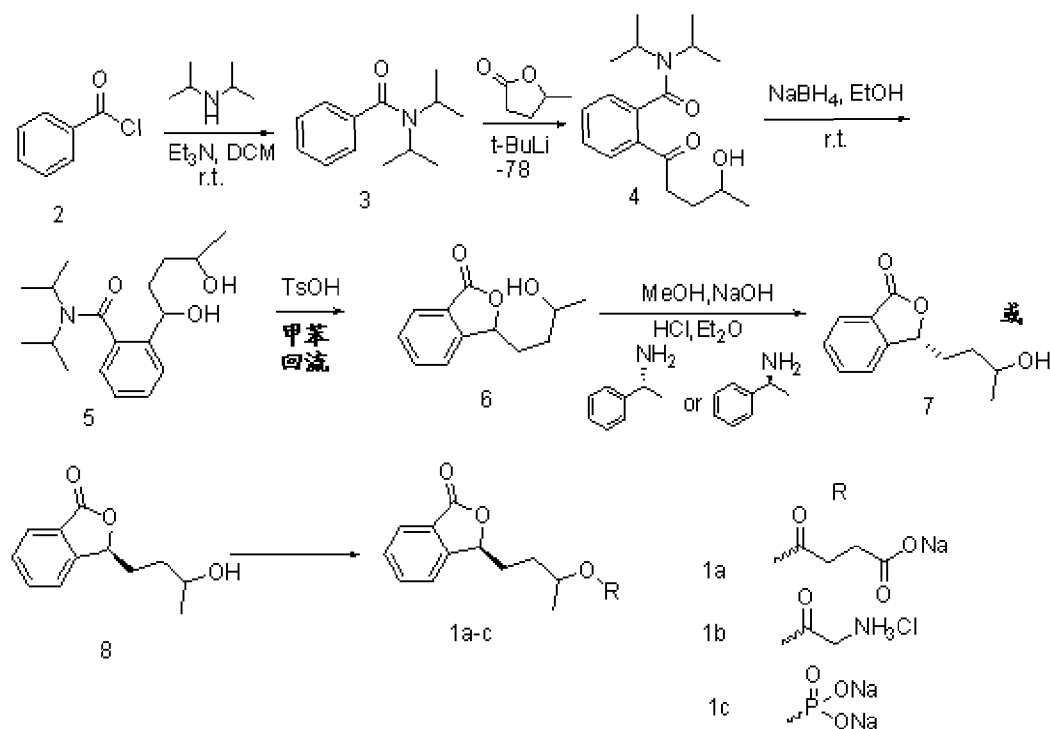
含有治疗有效量的通式 (1) 化合物或其盐和药学上可接受的载体。可以是口服制剂或注射制剂。

肌肉和血管刺激性实验表明, 式 I 所示的化合物与酸生成的酯进一步成盐后注射给药, 未见肌肉和血管刺激性, 可以用于注射制剂。

具体实施例:

实施例 1: 各化合物的制备:

由于本文所述化合物有很强的连贯性, 为了详细、准确、方便地描述各化合物制备方法, 将其以 1 个实施例来表达, 下述的合成路线各化合物下方表明化合物的序号, 为更加简明的阐述, 在下面的制备方法中以序号代替:



上述路线图中 R 为不同基团时得到不同的化合物 1a、1b 和 1c。

(1)、化合物 3 的合成:

二异丙基胺 (1.3 mol) 放在 2000mL 圆底烧瓶中, 加入 1000mL 无水二氯甲烷, 溶解后加入三乙胺 (2.0 mol), 冰浴下滴加化合物 2 (1.0

mol), 滴加完毕, 逐渐升至室温, 搅拌过夜。加入 500mL 二氯甲烷稀释, 分别用 5%稀盐酸 (500mL × 1), 水 (500mL × 1), 饱和食盐水 (500mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 即可得到 202.4 克化合物 3, 粗产率为 99%, MS(m/z): 206.1。

(2)、化合物 4 的合成;

化合物 3 (0.8 mol) 溶于 500mL 干燥四氢呋喃中, -78 度下逐步滴加叔丁基锂 (1.0 mol), 滴加完毕, 加入四甲基乙二胺(1.2 mol), -78 度搅拌 30min。内酯(1.0 mol)滴加到上述混合物中, 逐渐升至室温, 继续反应 5 小时, 加入饱和氯化铵溶液终止反应, 减压蒸馏除去有机溶剂, 用乙酸乙酯萃取, 减压浓缩, 重结晶, 得到 222.4 克化合物 4, 产率为 91%。HNMR (400Hz, CDCl₃): 8.08-8.06 (m, 1H), 8.04-8.02 (m, 1H), 7.63-7.61 (m, 1H), 7.60-7.58 (m, 1H), 3.95-3.93 (m, 2H), 3.40-3.38 (m, 1H), 2.55 (t, J=1.2 Hz, 2H), 1.64-1.62 (m, 2H), 1.25 (d, J=1.5 Hz, 12H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 306.2。

(3)、化合物 5 的合成:

将 220 克化合物 4 (0.7 mol) 溶于 500mL 甲醇中, 冰浴下分批小量加入硼氢化钠 (1.40 mol), 氮气保护下室温搅拌过夜, 反应完毕, 逐滴加入浓盐酸约 20mL 分解过量的硼氢化钠。减压蒸馏除去甲醇, 用二氯甲烷萃取后, 水洗, 盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 重结晶, 得到 204.8 克化合物 5, 产率为 95%, MS(m/z): 308.2。

(4)、化合物 6 的合成:

将化合物 5 (0.60 mol) 溶于 500mL 甲苯中, 加入催化量的对甲苯磺酸 (约 1%), 氮气保护下微沸回流 8 天, 减压蒸馏除去甲苯, 加入二氯甲烷稀释, 用水洗, 盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 过柱, 可得

化 106.4 克化合物 6, 产率为 86%, MS(m/z): 207.2。

(5)、化合物 7 的合成:

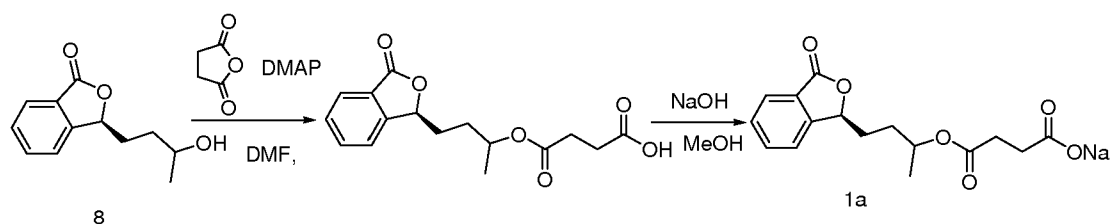
将化合物 6 (0.2 mol) 溶于 200mL 甲醇中, 搅拌下加入氢氧化钠 16 克/40 mL 水溶液, 约 15 分钟内加完, 加热至体系成均一溶液, 然后在室温下继续反应 2 小时。停止反应, 减压蒸馏除去甲醇, 向残余溶液加入适量的蒸馏水稀释, 将体系冷却到 -5℃ 以下, 搅拌下用 5% 的盐酸溶液调节 PH = 3-4, 用乙醚萃取 (100 × 3), 合并乙醚萃取液, 溶液冷却至 -5℃ 以下, 缓慢滴加 0.2 mol 的 (+) - (R) - α -苯乙胺, 保持体系的温度在 -5℃ 以下, 静置 3 小时, 析出大量的结晶, 过滤收集晶体, 晶体用丙酮或者意思乙酯重结晶两次, 结晶浓度为 15 克晶体/100mL 溶剂, 得到 20.3 克晶体。晶体用 10 倍体积的蒸馏水溶解, 加入氢氧化钠调节溶液 PH = 13, 乙醚萃取回收 (+) - (R) - α -苯乙胺, 水相用盐酸调节 PH = 2, 乙醚萃取, 干燥, 浓缩得到 (+) - (R) - 3-(3'-羟基) 丁基苯胺的粗品, 粗品用乙醇重结晶得到 8.7 克化合物 7, 产率为 21%, $[\alpha]_D = +66.80$ (c = 1.02, CH₃OH)。HNMR (400Hz, CDCl₃): 7.91-7.89 (m, 1H), 7.41-7.39 (m, 1H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 5.24 (t, J=1.2 Hz, 1H), 3.40-3.38 (m, 1H), 2.55 (t, J=1.2 Hz, 2H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.45-1.43 (m, 2H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 207.2。

(6)、化合物 8 的合成:

将化合物 6 (0.2 mol) 溶于 200mL 甲醇中, 搅拌下加入氢氧化钠 16 克/40 mL 水溶液, 约 15 分钟内加完, 加热至体系成均一溶液, 然后在室温下继续反应 2 小时。停止反应, 减压蒸馏除去甲醇, 向残余溶液加入适量的蒸馏水稀释, 将体系冷却到 -5℃ 以下, 搅拌下用 5% 的盐酸溶液调节 PH = 3-4, 用乙醚萃取 (100 × 3), 合并乙醚萃取液, 溶液冷却至 -5℃ 以下, 缓慢滴加 0.2 mol 的 (s) - α -苯乙胺, 保持体系的温度在 -5℃ 以下, 静置 3 小时, 析出大量的结晶, 过滤收集晶体,

晶体用丙酮或者意思乙酯重结晶两次,结晶浓度为 15 克晶体/100mL 溶剂,得到 20.3 克晶体。晶体用 10 倍体积的蒸馏水溶解,加入氢氧化钠调节溶液 PH = 13, 乙醚萃取回收 (s) - α - 苯乙胺, 水相用盐酸调节 PH = 2, 乙醚萃取, 干燥, 浓缩得到(S)-3-(3'-羟基)丁基苯肽粗品, 重结晶得到 8.7 克化合物 7, 产率为 21 %, $[\alpha]_D = -66.80$ (c = 1.02, CH₃OH)。HNMR (400Hz, CDCl₃): 7.91-7.89 (m, 1H), 7.41-7.39 (m, 1H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 5.24 (t, J=1.2 Hz, 1H), 3.40-3.38 (m, 1H), 2.55 (t, J=1.2 Hz, 2H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.45-1.43 (m, 2H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 207.2。

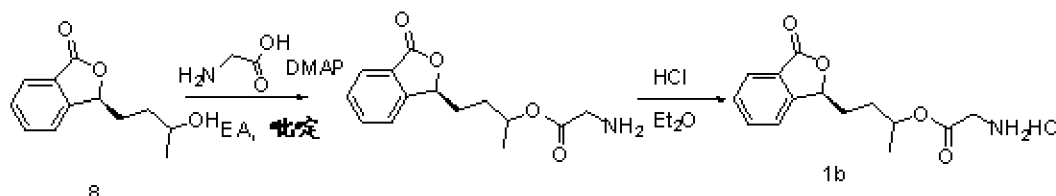
(7)、化合物 1a 的合成:



将 10.0 mmol 化合物 8 和 10.0mmol 丁二酸酐, 10mmol DMAP, 溶于 50mL DMF 中, 加热到 85℃, 反应 6 小时, 停止反应, 将反应液倒入 200 mL 的冰水中, 用 0.1N 的盐酸调节 pH=2~3, 乙酸乙酯萃取(100mL × 3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤三次, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到 (s)-3-(3'-琥珀酸酯)丁基苯肽, 重结晶后得到 2.8 克白色固体粉末, 产率 91 %。HNMR (400Hz, CDCl₃): 7.8-7.78 (m, 1H), 7.65-7.63 (m, 1H), 7.49-7.47 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 1H), 5.50-5.46 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 2.72-2.66 (m, 2H), 2.62-2.56 (m, 2H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.45-1.43 (m, 2H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 307.3。

将上述的(s)-3-(3'-琥珀酸酯)丁基苯肽溶于 50mL 的甲醇与 10 %的氢氧化钠溶液 4mL 中, 加热回流 2 小时, 浓缩即得到(s)-3-(3'-琥珀酸酯)丁基苯肽钠盐 (化合物 1a), MS(m/z): 305.3。

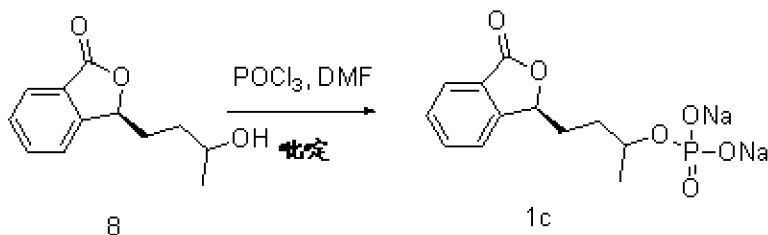
(8)、化合物 1b 的合成:



将 10.0 mmol 化合物 8 溶于 50mL 的乙酸乙酯中, 加入 1.0 毫升吡啶和 10mmol DMAP, 冷却到 0 - 5℃, 搅拌下加入 10.0 mmol 甘氨酸, 保持温度在 0 - 5℃下反应 6 小时, 停止反应, 将反应液倒入 100 mL 的冰水中, 用 0.1N 的盐酸调节 pH=7, 静置分出有机层, 水相用乙酸乙酯萃取(50mL × 3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤三次, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到 (s)-3-(3'-甘氨酸酯)丁基苯肽, 乙醇重结晶后得到 2.3 克白色固体粉末, 产率 87%。HNMR (400Hz, CDCl₃): 7.8-7.78 (m, 1H), 7.65-7.63 (m, 1H), 7.49-7.47 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 1H), 5.50-5.46 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 3.62 (s, 2H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.45-1.43 (m, 2H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 264.3。

将上述的(s)-3-(3'-甘氨酸酯)丁基苯肽溶于 50mL 的丙酮与 10mL 乙醚中, 滴入氯化氢的乙醚的溶液调节 pH = 2, 析出大量白色固体, 过滤, 干燥即得到(s)-3-(3'-甘氨酸酯)丁基苯肽盐酸盐 (化合物 1b) 2.4 克, 产率 80%, MS(m/z): 264.3。

(9)、化合物 1c 的合成:



向 100mL 的 DMF 加入 20.0 毫升吡啶, 冷却到 -10℃, 搅拌下

加入 25.0 mL 三氯氧磷, 搅拌 30min 后分批加入 10.0 mmol 化合物 8, 搅拌 3 小时后停止反应, 将反应液倒入 100 mL 的冰水中, 用 0.1N 的盐酸调节 pH=2, 用乙酸乙酯萃取(50mL × 3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤三次, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂后得到 (S)-3-(3'-磷酸酯)丁基苯肽, 用 20mL 乙醇溶解, 加入 10.6 碳酸钠, 保持 30℃ 下反应 2 小时, 停止反应后加入 100mL 丙酮, 在 5℃ 下静置析晶, 过滤, 真空干燥得到 2.8 克 (S)-3-(3'-磷酸酯)丁基苯肽磷酸二钠盐 (化合物 1c), 为白色固体粉末, 产率 85%。HNMR (400Hz, CDCl₃): 7.91-7.89 (m, 1H), 7.41-7.39 (m, 1H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 5.24 (t, J=1.2 Hz, 1H), 3.40-3.38 (m, 1H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.65-1.63 (m, 2H), 1.21 (d, J=1.6 Hz, 3H); MS(m/z): 331.2。

实施例 2: 注射用(-)-(S)-3-(3'-磷酸酯二钠)丁基苯肽 (实施例 1 中化合物 1c) 冻干粉制备

取制备的 (S)-3-(3'-磷酸酯)丁基苯肽钠盐 (化合物 1c) 10g, 加入 1000ml 注射用水, 溶解, 再加入甘露醇 60g, 充分溶解后, 补加注射用水至 1200ml, 活性炭脱碳后过微孔滤膜, 分装于 7ml 西林瓶中, 每瓶 3ml, 加塞, 冻干, 压盖, 即得。规格: 20mg/瓶。

实施例 3: (S)-3-(3'-磷酸酯二钠)丁基苯肽 (化合物 1c) 胶囊的制备

处方:	(S)- 3-(3'-磷酸)丁基苯肽钠盐	60g
	乳糖	105g
		1000 粒

按处方量准确称取恒重的 (S)-3-(3'-磷酸酯)丁基苯肽钠盐, 过 100 目筛, 加入于 80℃ 烘干并过 80 目筛的处方量乳糖, 混匀, 检测含量, 合格后装入 1 号胶囊即得。

实施 4: (S)-3-(3'-磷酸酯二钠)丁基苯肽 (1c 化合物) 注射液的制备

处方:	(S)- 3-(3'-磷酸酯)丁基苯酞钠盐	50g
	注射用水	4000ml
		1000 支

按处方量准确称取(S)-3-(3'-磷酸酯)丁基苯酞钠盐(化合物 1c)置一容器中,加适量注射用水,在调节 pH 至 6.5-7.2,加注射用水至 4000ml,加入 2g 针用活性炭,煮沸 15min,抽滤脱碳,溶液经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,溶液灌封于玻璃安瓿内,制剂经 115℃ 加压灭菌 30min 即可。

实施例 5: 对局部脑缺血大鼠脑梗塞体积的影响

(1) 实验材料和方法

Wistar 大鼠,体重 250-280g。手术前后单独饲养,室温保持 23-25℃,自有进食和进水。按照 longa 等的方法制备 tMCAO 模型。大鼠用 10%水合氯醛麻醉(350mg/kg,i.p.),体温维持在 37 $\pm$ 0.5℃,仰卧位固定于手术台上。沿颈正中中线切开皮肤,仔细分离右侧颈总动脉(CCA),颈外动脉(ECA),颈内动脉(ICA)。将 ECA 结扎剪断,拉直与 ICA 成一直线。在 ECA 上剪一小口,将一根长 4.0cm,直径 0.26mm 的圆头硅化尼龙绳(用 0.1%多聚赖氨酸包被)由此开口插入 ICA 约 1.85-2.00cm,指大鼠大脑前动脉起始处,阻断大脑中动脉的血流供应。缺血 2 小时后小心抽出尼龙线,结扎 ECA 开口并缝合手术切口,动物放回笼中再灌 24 小时。

(2) 实验分组及给药

大鼠随机分 12 组:模型对照组,注射用水(100ml/kg),实施例 1 中的化合物 7 给药组(25、50、100mg/kg),实施例中的化合物 8 给药组(25、50、100mg/kg),DL-3-(3'-羟基)-丁基苯酞(简称 DL)给药组(25、50、100mg/kg)共 12 组。MCA 阻断造成缺血后 10 分钟时口服给药。

(3) 脑梗塞体积的测定

大鼠再灌注损伤 24 小时后, 即刻断头取脑, 去除嗅束、小脑和低位脑干, 将其冠状切成 6 片(第一至第五片 2mm/片,第六片 4mm), 迅速置于 5ml 含有 1.5ml4%TTC 及 0.1ml1MK₂HPO₄ 的溶液中染色 (37℃, 避光) 20-30 分钟, 其间每隔 5 分钟翻动一次。经 TTC 染色后, 正常组织深染呈红色, 梗死组织呈白色。将每组脑片排列整齐, 拍照保存。求算每片的梗死面积, 并最终叠加换算成梗塞体积。梗塞体积以所占大脑半球的百分率来表示, 以消除脑水肿的影响。

脑梗塞体积 (%) = (手术对侧半球体积-手术侧半球未梗塞部分的体积) / 手术对侧半球的体积 * 100%

(4) 实验结果

缺血 2 小时再灌注 24 小时后, 溶剂对照组的脑梗死体积为 33.8%。假手术组没有任何脑梗塞出现。其他组脑梗死体积结果如表 1 所示:

表 1: 灌胃给药对局部缺血大鼠脑梗塞体积的影响

样品	脑梗塞体积 (25mg/kg 组)	脑梗塞体积 (50mg/kg 组)	脑梗塞体积 (100mg/kg 组)
化合物 7	19.8%	18.9%	18.7.0%
化合物 8	14.6%	13.8%	11.8%
DL	17.2%	16.4%	14.5%
对照组			20.1%

与溶剂对照组比, 化合物 8 和 DL-3-(3'-羟基)-丁基苯酞组口服给药均可以显著缩小脑梗塞体积, 化合物 7 组没有有效的缩小脑梗塞的体积, S 构型的(-)-(S)-3-(3'-羟基)丁基苯酞, 即化合物 8 组优于 DL-3-(3'-羟基)-丁基苯酞, 说明 S 构型的化合物 8 为有效的活性成分, 而 R 构型的化合物 7 没有发现具有减少脑缺血所致脑梗塞体积的作用。

实施例 12：注射给药 1a、1b、1c 对脑梗塞体积的影响**(1) 实验分组及给药**

大鼠取实施例 11 缺血阻断模型。大鼠随机分为 12 组：假手术组，模型对照组，（注射用水，10mg/kg），1a 组（2.5mg/kg、5.0mg/kg、10mg/kg）、1b 组（2.5mg/kg、5.0mg/kg、10mg/kg）、1c 组（2.5mg/kg、5.0mg/kg、10mg/kg）。MCA 阻断造成缺血后 10 分钟时静脉注射给药。

(2) 结果及讨论

脑梗塞体积的测定同实施例 4。缺血 2 小时再灌注 24 小时后，溶剂对照组的脑梗塞体积为 33.6%。而假手术组没有任何脑梗塞出现，与溶剂对照组相比，各组均可以显著缩小脑梗塞体积与溶剂对照组比，所有样品组均可以显著缩小脑梗塞体积，见表 2。

表 2：静注给药 MI 酯的盐对局部缺血大鼠脑梗塞体积的影响

样品	脑梗塞体积 (2.5mg/kg 组)	脑梗塞体积 (5.0mg/kg 组)	脑梗塞体积 (10.0mg/kg 组)
1a	21%	15.4%	11.8%
1b	21.3%	16.0%	12.0%
1c	20.6%	15.8%	11.7%
对照组			33.6%

实施例 13：1a、1b 和 1c 血管刺激性实验**1) 试验设计：**

取 1a、1b 和 1c 溶于注射用水中，分别制成两个浓度组，高浓度组：4.2mg/ml，低浓度组 1.4mg/ml，兔耳缘静脉注射给药，给药量 5ml。

2) 给药方法:

选用健康新西兰兔 8 只, 分别于兔左耳耳缘静脉注射受试药物的高浓度和低浓度, 于右耳耳缘静脉注射等体积氯化钠注射液作对照。8 只兔依次给予受试药的高浓度和低浓度后, 再分别给予 0.9% 氯化钠注射液。每日一次, 连续 3 天。给药前及末次给药后 48 小时和 14 天各称重一次。

3) 一般观察与动物取材:

每天给药前观察并记录动物和血管注射部位的反应, 末次给药后 48 小时, 分别放血处死受试药物的高浓度和低浓度的 2 只新西兰兔, 肉眼观察并记录血管组织的反应后, 从耳根部剪下双兔耳(先剪左耳, 后剪右耳, 并标记), 然后分别剪取一段兔耳标本固定在 10% 中性甲醛溶液中(标本长约 8cm, 宽约 1cm; 远心端切口距第一针眼约 0.5cm 处, 近心端切口距第三针眼约 2cm 处, 挂线端为近心端)。各留下受试药物的高浓度和低浓度 2 只动物继续观察至末次给药后 14 天, 进行病理检查。

以第一针眼为界, 远端切一段; 以第三针眼为界, 近端切二段; 制片时血管横切, 常规石蜡制片, 切片厚度约 4-5 μ m, H-E 染色, 然后进行病理组织学检查。

5) 结果判定

根据肉眼观察和病理检查的结果进行综合判断。每天给药前肉眼观察并记录动物血管注射部位的反应, 给药期间肉眼可见受试药物高浓度和低浓度的部分动物给药侧和对照侧兔耳进针部位血管表皮内外侧呈红色, 面积由 0.1cm $\times$ 0.2cm 至 0.2cm $\times$ 1.0cm。在末次给药后 48 小时, 受试药物的高浓度和低浓度的 4 只兔的的双侧兔耳血管轮廓较清晰, 兔耳厚薄均匀, 未见明显改变。末次给药后 14 天剖检受试药物的高浓度和低浓度的 4 只兔, 双侧兔耳血管轮廓较清晰, 兔耳厚薄均匀, 未见明显改变。

受试药物的高浓度和低浓度的 4 只兔于末次给药后 48 小时剖检

和余下受试药物的高浓度和低浓度的 4 只兔在 2 周恢复期结束后剖检。病理组织学检查均未见血管组织有变性或坏死等显著刺激性反应。

实施例 13: 化合物 7、化合物 8 及 DL-3-(3'-羟基)-丁基苯酞对大鼠睡眠作用的影响:

改善睡眠作用试验

样品性状: 本发明中化合物 7、8 及的胶囊制剂, 内容物为棕黄色颗粒。

动物来源: 昆明种小白鼠, 18-22 克, 雄性, 由广东实验动物中心所提供的清洁级动物。实验动物饲养室温度 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 50-70%, 动物饲养料, 由广东实验动物中心提供。

本实验设化合物 7、化合物 8、DL-3-(3'-羟基)-丁基苯酞 (简称 DL) 三组, 分别为 25mg/kg, 另设蒸馏水对照组。

样品处理: 各取样品 25mg 分别加蒸馏水至 20ml, 使成均匀悬液, 供试。

给样途径: 灌胃

实验方法:

戊巴比妥钠阈上剂量催眠试验:

选用体重 18-22g 雄性小鼠 40 只, 随机分为四组, 每组 10 只, 连续给样 30 天, 于第 30 天样品灌胃 15 分钟后, 给各组动物 50mg/kg.b.w 的戊巴比妥钠腹腔注射, 注射量为 0.2ml/20g.b.w, 以小鼠翻正反射消失达 1 分钟以上作为入睡判断标准, 观察给戊巴比妥钠 60 分钟内各组动物的入睡时间和睡眠时间。

结果:

样品对动物体重的影响

组别	动物数 (只)	体重(克)		
		试验初	试验中期	试验末
对照组	20 只	20 ± 1.4	27 ± 1.6	35 ± 2.0
化合物 7 组	20 只	20 ± 1.5	27 ± 1.3	35 ± 1.6
化合物 8 组	20 只	20 ± 1.3	27 ± 1.6	35 ± 2.3
DL 组	20 只	20 ± 1.2	27 ± 1.2	35 ± 2.4

由上表可见, 样品各剂量组动物体重与对照组相比, 均无显著性差异。

阈上剂量的戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的影响

剂量组	动物数(只)	入睡时间(分)	睡眠时间(分)
对照组	10	5.79 ± 2.05	40.96 ± 8.16
化合物 7 组	10	5.78 ± 1.88	41.16 ± 7.80
化合物 8 组	10	3.91 ± 0.99*	53.28 ± 11.12*
DL 组	10	4.68 ± 1.35	45.48 ± 11.23

*P<0.05 与对照组相比(经方差分析)

由上表可见, 化合物 8 ((-)-(S)-3-(3'-羟基)-丁基苯酞) 组样品动物在阈上剂量戊巴比妥钠诱导下的入睡时间和睡眠时间与对照组相比, 有显著性差异。

戊巴比妥钠阈下剂量催眠试验

选用体重 18-22g 雄性小鼠 40 只, 随机分为四组, 每组 10 只, 连续给样 28 天, 于第 28 天样品灌胃 15 分钟后, 给各组动物 30mg/kg.b.w 的戊巴比妥钠腹腔注射, 注射量为 0.2ml/20g.b.w, 以小鼠翻正反射消失达 1 分钟以上作为入睡判断标准观察给戊巴比妥钠

25 分钟内各组动物发生睡眠的动物数。

结果:

阈下剂量的戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠发生率的影响

剂量组	动物数 (只)	入睡动物数 (只)	睡眠发生率 (%)
对照组	10	2	20
化合物 7 组	10	3	30
化合物 8 组	10	8*	80*
DL 组	10	5	50

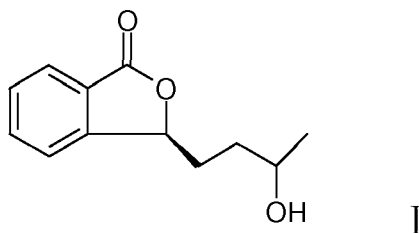
* $P < 0.05$ 与对照组相比 (经卡方检验)

由上表可见, 化合物 8 组和 DL 组在阈下剂量戊巴比妥钠诱导下的入睡动物和睡眠发生率与对照组相比, 均有显著性差。

总结: 经口给予小鼠样品 30 天后, 化合物 8 ((-)-(S)-3-(3'-羟基)-丁基苯酐) 和 DL 组 (3-(3'-羟基)-丁基苯酐) 具有改善睡眠作用, S 构型作用大于消旋的 DL 构型, DL 构型大于 R 构型。

权 利 要 求

1、一种具有预防和治疗脑血管缺血性疾病的化合物，如下图所示：

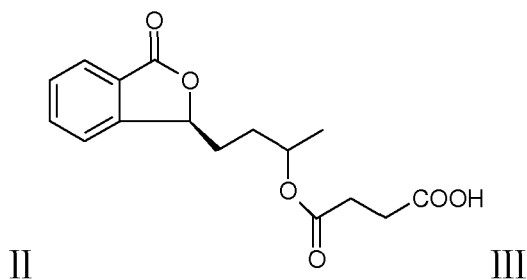
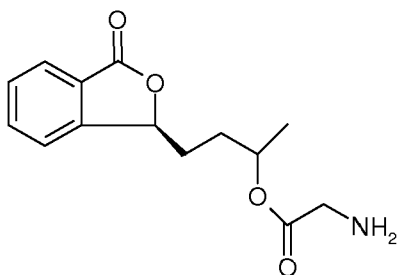


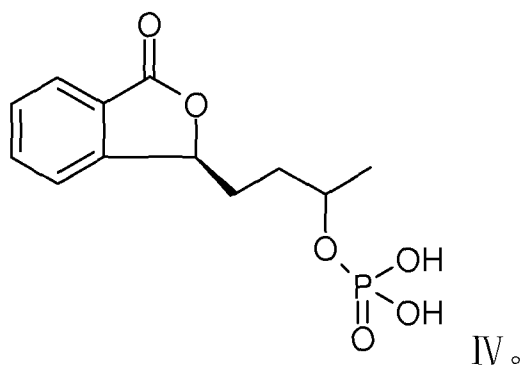
化学名为：(-)-(S)-3-(3'-羟基)-丁基苯酞。

2、如权利要求 1 所述的化合物与酸反应所得的酯，酸选自药学上可接受的无机酸或有机酸。

3、根据权利要求 2 所述的酯，其中无机酸选自硝酸、硫酸或磷酸；有机酸选自氨基酸：甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、精氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、焦谷氨酸、色氨酸或缬氨酸；二元酸：樟脑酸、苹果酸、柠檬酸、马来酸、琥珀酸、草酸、戊二酸、乙二酸、乳酸或丙二酸；双羧基酸、羟基羧酸、龙胆酸、水杨酸、羟基乙酸、扁桃酸、乳酸、4-乙酰胺基苯甲酸或烟酸。

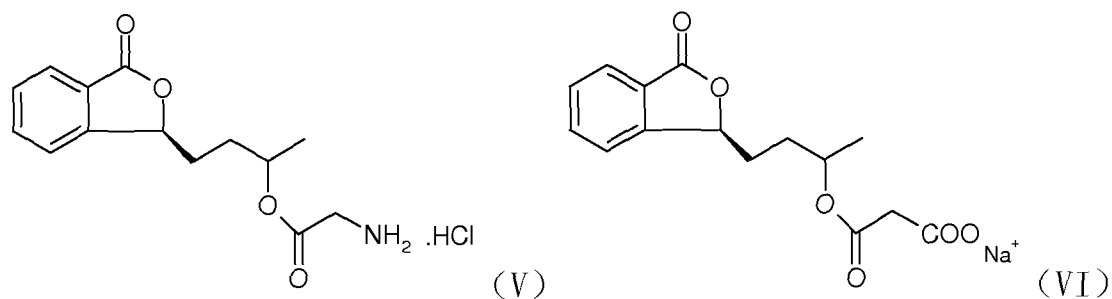
4、根据权利要求 2 所述的酯，其中酸为甘氨酸、琥珀酸、磷酸，如下图所示：

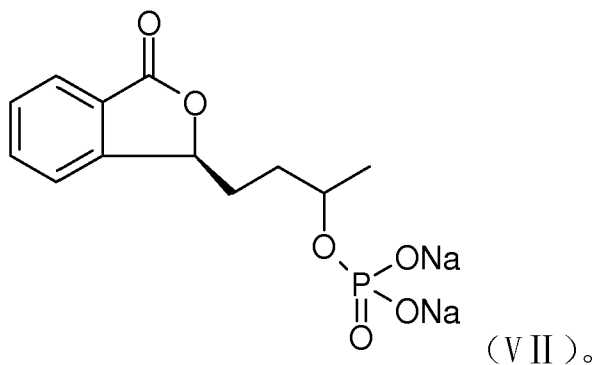




5、根据权利要求 2-4 中任一项所述的酯，其为盐的形式，其通过使式 I 化合物与氨基酸反应得到的酯再与硫酸、磷酸、磺酸或盐酸反应而得到；或者通过使式 I 化合物与二元酸反应得到的酯再与钠、钾、镁、氨丁三醇、二乙醇胺、三乙醇胺、甘氨酸、赖氨酸或精氨酸反应而得到；或者通过使式 I 化合物与磷酸反应得到的酯再与钠、钾、镁、赖氨酸、甘氨酸、精氨酸、氨丁三醇、二乙醇胺或三乙醇胺反应而得到。

6、根据权利要求 5 所述的盐形式的酯，如下图所示：





- 7、权利要求 1 所述化合物在制备治疗脑缺血性疾病药物中的应用。
- 8、权利要求 1 所述化合物在制备改善睡眠药物中的应用。
- 9、权利要求 2-10 所述化合物在制备治疗脑缺血性疾病及改善睡眠药物中的应用。
- 10、权利要求 4-10 所述化合物在制备治疗缺血性疾病及改善睡眠药物中的应用。
- 11、一种药物组合物，其包含有效量的权利要求 1 的化合物或权利要求 2-6 中任一项的酯，以及药学上可接受的载体。