

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510110883.2

[51] Int. Cl.

C07C 233/47 (2006.01)

C07C 233/01 (2006.01)

C07D 207/16 (2006.01)

C07D 233/64 (2006.01)

C07D 209/20 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 6 月 6 日

[11] 公开号 CN 1974545A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/403 (2006.01)

A61K 31/4164 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

[22] 申请日 2005.11.29

[21] 申请号 200510110883.2

[71] 申请人 上海第二医科大学

地址 200025 上海市卢湾区重庆南路 280 号

[72] 发明人 姚莉韵 陆 阳 陈红专 吴兴军

钮因尧 张建华

[74] 专利代理机构 上海浦一知识产权代理有限公司

代理人 丁纪铁

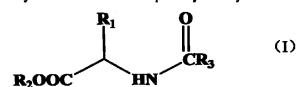
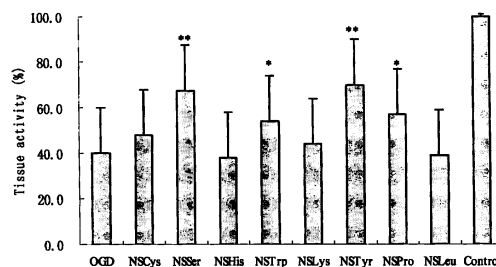
权利要求书 3 页 说明书 17 页 附图 4 页

[54] 发明名称

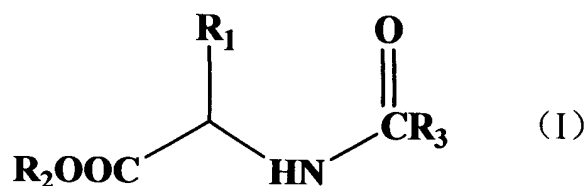
长链脂肪酰胺类化合物及其应用

[57] 摘要

本发明公开了通式 (I) 的长链脂肪酰胺类化合物及其应用, 其中, R_1 表示 H 或可以被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 的直链或带有支链的烷基, 所述取代基选自: 羟基、氨基、巯基、羧基、芳基、酰胺基、烷硫基和具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元杂环基; R_2 表示 H 或 C_{1-4} 的烷基; R_3 表示 C_{11-25} 的饱和或不饱和脂肪烃基。本发明的化合物可作为神经保护剂, 用于治疗脑缺血、脑中风、阿尔茨海默病或帕金森病等神经疾病。



1. 下述通式 (I) 化合物:



其中, R_1 表示 H 或可以被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 的直链或带有支链的烷基, 所述取代基选自: 羟基、氨基、巯基、羧基、芳基、酰胺基、烷硫基和具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元杂环基;

R_2 表示 H 或 C_{1-4} 的烷基;

R_3 表示 C_{11-25} 的饱和或不饱和脂肪烃基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_1 为可以被 1-3 个取代基取代的 C_{1-4} 的直链或带有支链的烷基, 所述取代基选自: 羟基、氨基、巯基、羧基、芳基、酰胺基、烷硫基和具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元杂环基。

3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_2 为 H。

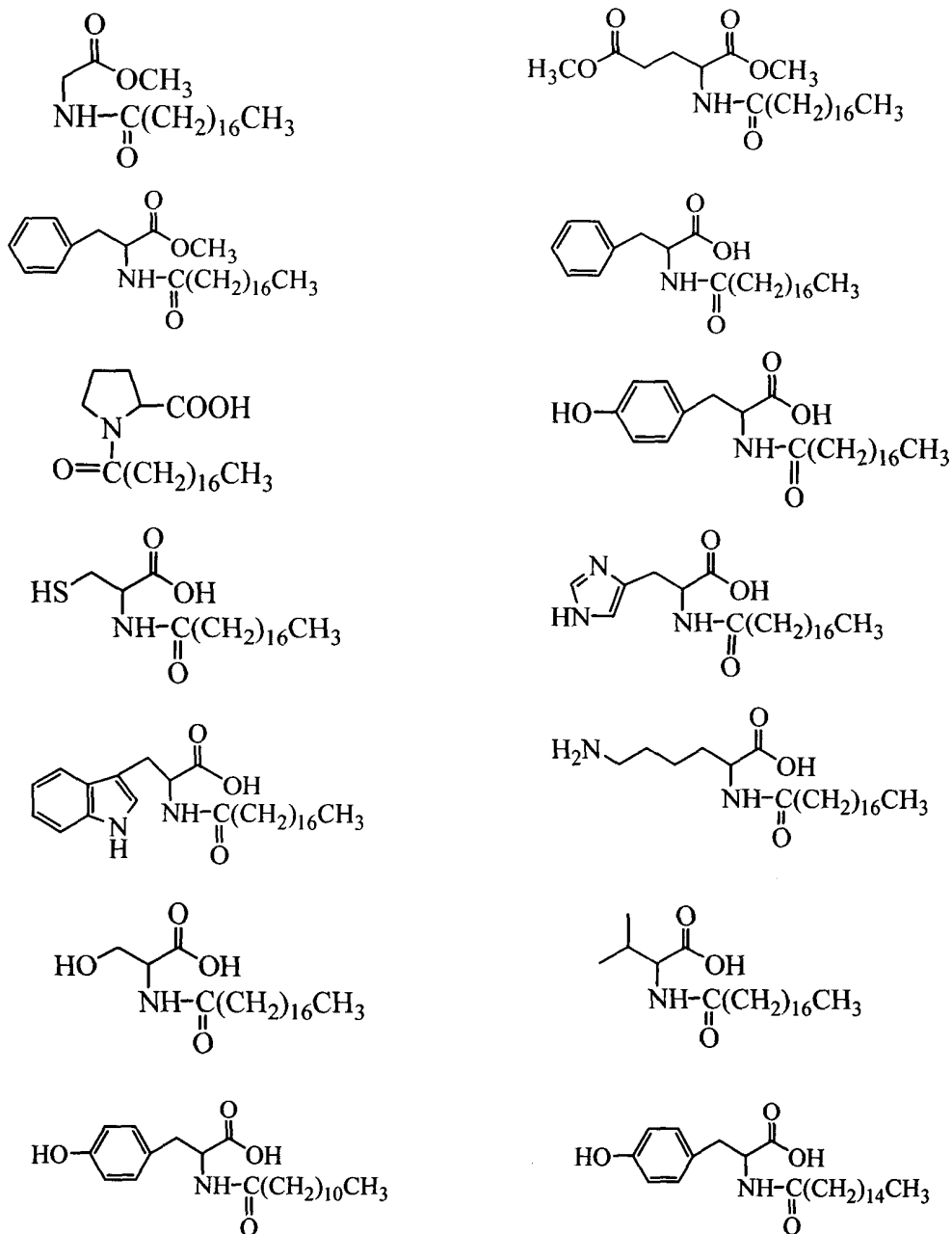
4. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_3 为 C_{17-25} 的直链或带有支链的烷基。

5. 如权利要求 4 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_3 为 C_{17} 的直链烷基。

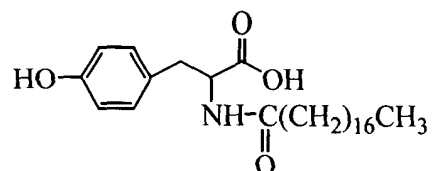
6. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_1 为可以被 1-3 个取代基取代的 C_{1-4} 的直链或带有支链的烷基, 所述取代基选自: 羟基、氨基、巯基、羧基、芳基、酰胺基、烷硫基和具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元

杂环基； R_2 为 H； R_3 为 C_{17} 的饱和直链烷基。

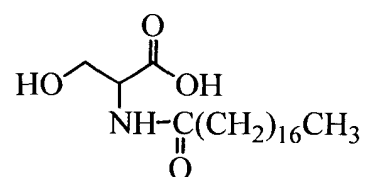
7. 如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，具有如下结构式：



8. 如权利要求 1、6 或 7 所述的化合物，其特征在于，所述化合物为具有如下结构式的 N-硬脂酰酪氨酸。



9. 如权利要求 1、6 或 7 所述的化合物，其特征在于，所述化合物为具有如下结构式的 N-硬脂酰丝氨酸。



10. 一种药物组合物，其特征在于，该组合物包含安全有效量的权利要求 1 所述的化合物和药学上可接受的载体。

11. 权利要求 1 所述的化合物在制备神经保护药物中的应用。

12. 如权利要求11所述的化合物的应用，其特征在于，用于制备治疗脑缺血、脑中风、阿尔茨海默病或帕金森病等神经疾病的药物。

长链脂肪酰胺类化合物及其应用

技术领域

本发明涉及长链脂肪酰胺类化合物及其应用,该化合物可作为神经保护剂,因而有可能被用于治疗脑缺血、脑中风、阿尔茨海默病或帕金森病等神经疾病。

背景技术

神经细胞是中枢神经系统的主体,神经元损伤是许多神经疾病的主要原因,脑卒中、阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 等神经外伤、感染、变性,皆因神经元受到损害,导致部分或全部神经功能丧失。因此,有效地保护神经元是治疗多种神经疾病的一个着眼点。

一般认为,神经保护剂主要通过以下途径发挥作用:阻止钙内流;调节兴奋性氨基酸 (EAAs) 的兴奋毒性;抗氧化及清除自由基;调节微血管炎症反应;阻断细胞凋亡等。基于以上机制的神经保护剂研究是近年来神经精神药物研究的热点之一,但目前尚无特效的神经保护药物用于临床。

在文献研究中注意到:(1)许多中枢的神经活性物质(如:甘氨酸 Glycine、 γ -氨基丁酸 GABA、5-羟色胺 5-HT、组胺 Histamine 等)为伯胺,分别作用于相应的受体;(2)某些内源性的长链脂肪酰胺(如:N-花生四烯酰乙醇胺 AEA、神经节苷脂 GM₁ 等)可能具有神经保护活性。

根据某些内源性神经保护因子如：AEA、GM₁ 的结构特点，可以设想：如果将一些内源性氨基酸与硬脂酸作用，制备为相应的长链脂肪酰胺，其可能具有理想的中枢神经细胞保护活性。因为（1）长链脂肪酰胺脂溶性较强，易透过血脑屏障，适合作为作用于中枢的脑保护药物的候选化合物；（2）此类脂肪酰胺的氨基部分与原伯胺具有结构相似性，可与原伯胺受体有一定的亲和力，能有效地作用于含这些内源性伯胺受体的脑神经细胞。

N-硬脂酰氨基酸（N-stearoyl amino acids, NSAs）是硬脂酸的羧基与氨基酸的 α -氨基结合形成的酰胺类化合物。早在五、六十年代，就有文献报道了其合成方法。近年来，也有其药理活性的研究报道，但目前尚此类化合物用于脑保护的系统研究报道。

（1）NSAs 的合成方法

NSAs 的合成一般先将硬脂酸制成硬脂酰氯，提高酰化反应的活性；氨基酸与盐酸-甲醇反应得氨基酸甲酯，以保护羧基。然后硬脂酰氯与氨基酸甲酯在吡啶溶液中发生酰化反应，生成 N-硬脂酰氨基酸甲酯，再水解得 NSAs（Zeelen, Havinga. *Recl Trav Chim.* 1958, 77, 267-271）。

（2）NSAs 的药理活性研究

抗菌作用：此类化合物具有抗革兰氏阴性菌（金黄色葡萄球菌、黄体小球菌和蜡样芽孢杆菌）、革兰氏阳性菌（大肠埃希杆菌和绿脓假单胞菌）的活性，其中 N-硬脂酰脯氨酸的作用最强，其他化合物的作用活性取决于氨基酸的结构，一般来说，芳香族 NSA > 酸性 NSA > 碱性 NSA（Sivasamy A, Krishnaveni M, Rao PG. *J Am Oil Chim Soc.* 2001, 78(9),

897-902)。

抗病毒作用：此类化合物能作为流感病毒神经氨酸酶（NA）的非 N-乙酰神经氨酸酯类抑制剂，能有效抑制 NA 的活性，且呈剂量依赖性。在一系列 NSAAs 衍生物中，N-羟基十四酰-D-半胱氨酸和 N-十四酰-O-乙酰-D-丝氨酸作用活性最强，其作用机制为非竞争性方式抑制酶的活性。由于该类化合物不仅是病毒 NA 的选择性抑制剂，而且对其它各种病毒的酶均有效（除了对霍乱 V 型及人胎盘病毒的酶不敏感），因此，能作为抗流感病毒药物的先导化合物（Kondoh, Mitsuyo, Furutani, et al. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1997, 61(5), 870-874）。

然而，在本发明之前，还没有出现本发明的化合物用于脑保护的公开报道。

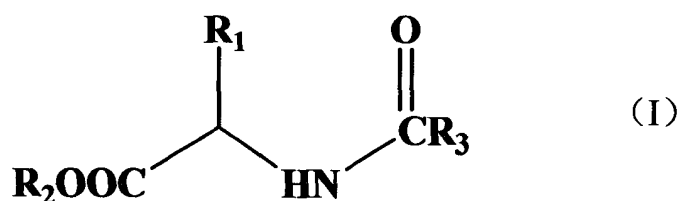
发明内容

本发明要解决的技术问题之一是提供一种长链脂肪酰胺类化合物。

本发明要解决的技术问题之二是提供一种以上述长链脂肪酰胺类化合物为活性成分的药物组合物。

本发明要解决的技术问题之三是提供上述长链脂肪酰胺类化合物在制备神经保护药物中的应用。

本发明提供了用下述通式（I）表示的长链脂肪酰胺类化合物，



其中, R_1 表示 H 或可以被一个或多个取代基取代的 C_{1-6} 的直链或带有支链的烷基, 所述取代基选自: 羟基、氨基、巯基、羧基、芳基、酰胺基、烷硫基和具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元杂环基; R_2 表示 H 或 C_{1-4} 的烷基; R_3 表示 C_{11-25} 的饱和或不饱和脂肪烃基。

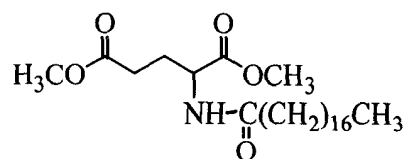
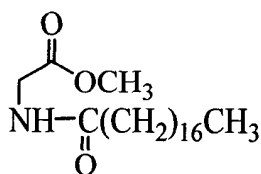
上述 C_{1-6} 的烷基是指具有 1~6 个碳原子的直链或支链烷基。例如: 甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基、己基。优选具有 1~4 个碳原子的直链或支链烷基, 更优选具有 1~2 个碳原子的直链烷基。

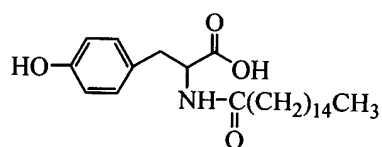
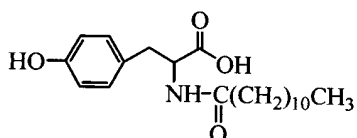
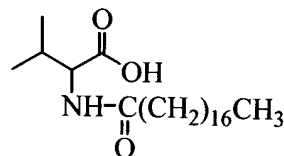
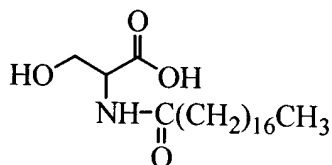
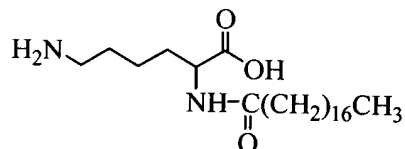
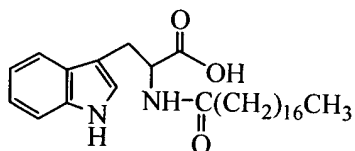
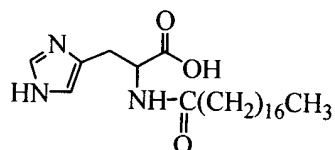
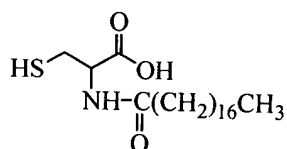
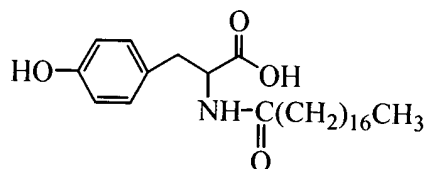
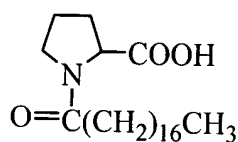
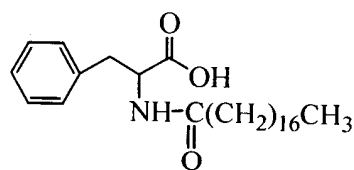
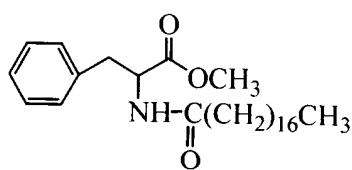
上述取代基中, 羟基包括醇羟基和酚羟基; 具有 1-2 个氮原子的 5 或 7 元杂环基可选自咪唑基、四氢吡咯基和吡啶基。

上述 C_{11-25} 的脂肪烃基是指具有 11~25 个碳原子的饱和或不饱和脂肪烃基, 其中, 饱和脂肪烃基是指直链或带有支链的烷基、环烷基, 如十二烷基、十八烷基、环十二烷基、环十八烷基等, 而不饱和脂肪烃基是指链烯基、炔基或链二烯基, 链烯基如 1-十二烯基、2-十二烯基, 炔基如 1-十八炔基、2-十八炔基, 链二烯基如 1, 3-十八烯基、7, 9-十八烯基等。优选具有 17~25 个碳原子的直链或支链烷基, 特别优选具有 17 个碳原子的直链烷基。

R_2 优选为 H。

以如下化合物为例:



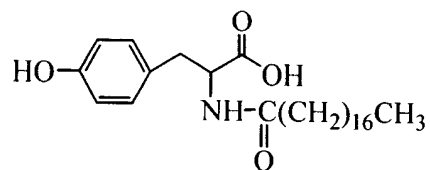


R_1 优选被羟基、芳基、四氢吡咯基和吲哚基取代的具有1~2个碳原子的烷基,更优选 R_1 为被醇羟基、酚羟基、苯基、四氢吡咯基和吲哚基取代的具有1个碳原子的烷基,最优选 R_1 为被酚羟基、醇羟基取代的具有1个碳原子的烷基。

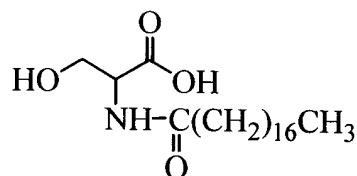
特别优选 R_1 为被酚羟基、醇羟基取代的具有1个碳原子的烷基, R_2 为H, R_3 为17个碳原子的直链烷基。

本发明的优选化合物为:

(1) N-硬脂酰酪氨酸



(2) N-硬脂酰丝氨酸



通式(I)长链脂肪酰胺类化合物可与有机酸和无机酸形成可药用酸加成盐。通式(I)化合物的药理上容许的酯衍生物、醚衍生物、氨基甲酰基的N-烷基衍生物及其可药用酸加成盐可通过本领域已知的方法制得。

本发明还提供一种药物组合物，其包含治疗有效量的上述通式(I)的长链脂肪酰胺类化合物，以及含有一种或多种药学上可接受的载体。

上述可接受的载体是无毒的、能辅助施用并且对通式为(I)的化合物的治疗益处没有不利影响。此类载体可以是本领域的技术人员通常能得到的任何固体赋形剂、液体赋形剂、半固体赋形剂或者在气雾剂组合物中可以是气体赋形剂。固体药物赋形剂包括淀粉、纤维素、滑石、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸镁、硬脂酸钠、甘油硬脂酰酯、氯化钠、无水脱脂乳等。液体和半固体赋形剂可以选自甘油、丙二醇、水、乙醇和各种油，包括那些源于石油、动物、植物或人工合成的油，例如，花生油、豆油、矿物油、芝麻油等、优选的液体载体，特别是用于可注射溶液的，包括水、盐水、葡萄糖水溶液和甘醇。另外还可以在组合物中加入其它辅剂如香味剂、甜味剂等。

本发明的化合物以治疗上的有效量施用，其施用方式可以是口服、全身施用（例如，透过皮肤的、鼻吸入的或者用栓剂）或肠胃外施用（例如，

肌肉内、静脉内或皮下)。优选的施用方式是口服，它可根据疾病程度调节。

本发明的化合物的实际施用量（即活性组分）依赖于许多因素，如待治疗疾病的严重性、治疗对象的年龄和相对健康程度、所使用的化合物的效能、施用途径和形式，以及其他因素。具有本发明通式(I)的化合物在治疗上的有效量可以是大约每天 0.05-50 mg/kg 受体体重；优选约 0.5-10mg/kg/day。因此，要给 70kg 体重的人施用，剂量范围最优选约为每天 35-700 毫克。可以一次或多次施用。

本发明药物组合物的各种剂型可以按照药学领域的常规方法制备。例如使该化合物（活性成分）与一种或者多种载体混合，然后将其制成所需的剂型，如片剂、药丸、胶囊、半固体、粉末、缓释剂型、溶液、混悬液、配剂、气雾剂等等。

剂型中化合物的量可以在本领域技术人员所用的全部范围内变动。通常，按重量百分比(wt%)记，剂型中含有占总剂型约 1-99wt%的具有通式(I)的化合物，并且还有一种或多种合适的药物赋形剂作为平衡物。优选的，化合物以大约 20-70wt%的比例存在。

本发明还提供上述长链脂肪酰胺类化合物在制备治疗脑缺血、脑中风、阿尔茨海默病或帕金森病等神经疾病的药物中的应用。

通过本发明的长链脂肪酰胺类化合物对体外孵育的大鼠脑片 OGD 损伤的作用研究，以及利用该化合物对沙土鼠短暂全脑缺血神经元保护作用的研究，实验结果证实本发明的长链脂肪酰胺类化合物具有中枢神经细胞保护活性，可用于制备特效的神经保护药物，以治疗或预防脑缺血、脑中

风、阿尔茨海默病或帕金森病等神经疾病。

附图说明

图1是本发明的N-硬脂酰氨基酸甲酯化合物预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用统计柱状图；

图2是本发明的不同构型的 N-硬脂酰氨基酸化合物（即 L-或 DL-）预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用统计柱状图；

图3是本发明的N-硬脂酰氨基酸化合物预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用统计柱状图；

图4是本发明的三种不同的脂肪酰酪氨酸（NSTyr、NPTyr、NLTyr）预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用统计柱状图；

图5是本发明的化合物 N-硬脂酰酪氨酸、N-硬脂酰丝氨酸对沙土鼠短暂全脑缺血海马 CA1 区锥体细胞层存活率的影响；

图6是图5的统计柱状图；

图7是本发明的脑片 OGD 损伤孵育过程示意图。

具体实施方式

实施例1 长链脂肪酰胺类化合物的合成。

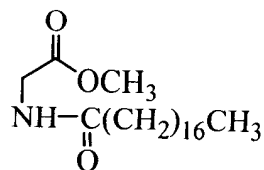
（1）氨基酸的保护——羧基甲酯化

氨基酸与盐酸-甲醇反应得氨基酸甲酯。硬脂酸与二氯亚砷加热回流即得硬脂酰氯。

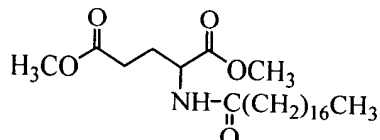
氨基酸甲酯溶于吡啶中，滴加上述硬脂酰氯，搅拌反应过夜。经萃取、重结晶等，制得硬脂酰氨基酸甲酯。然后碱性条件下水解，得硬脂酰氨基酸。

所合成化合物的结构:

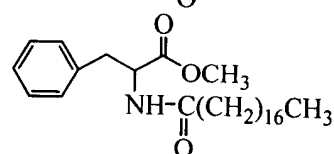
1. N-硬脂酰甘氨酸甲酯 (NSGlyE)



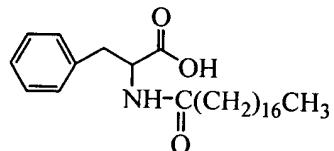
2. N-硬脂酰谷氨酸甲酯 (NSGluE)



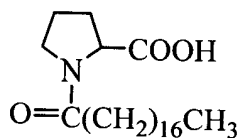
3. N-硬脂酰苯丙氨酸甲酯 (NSPheE)



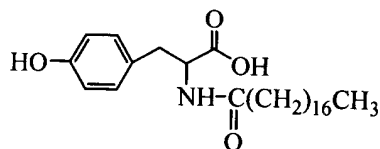
4. N-硬脂酰苯丙氨酸 (NSPhe、DL-NSPhe)



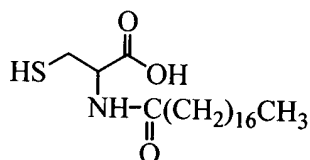
5. N-硬脂酰脯氨酸 (NSPro)



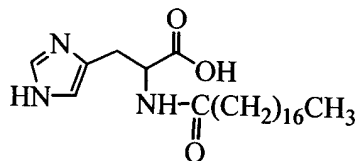
6. N-硬脂酰酪氨酸 (NSTyr)



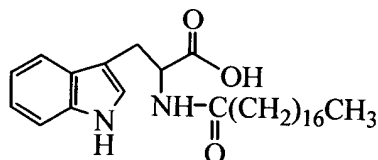
7. N-硬脂酰半胱氨酸 (NSCys)



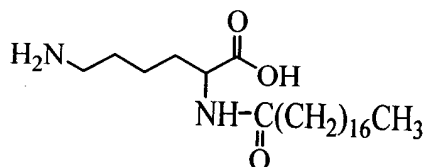
8. N-硬脂酰组氨酸 (NSHis)



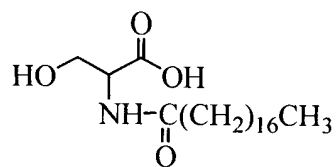
9. N-硬脂酰色氨酸 (NSTrp)



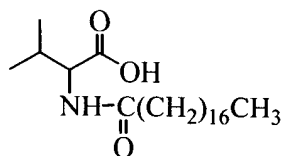
10. N-硬脂酰赖氨酸 (NSLys)



11. N-硬脂酰丝氨酸 (NESer)



12. N-硬脂酰亮氨酸 (NSLeu)



化合物 6:

白色固体, mp, 106~108℃。¹H NMR (500MHz, CDCl₃, TMS) δppm: 7.0 (2H, d, J=10.2Hz, 苯环上的 H); 6.7 (2H, d, J=10.5Hz, 苯环上的 H); 5.9 (1H, s, -NH-); 4.8 (1H, m, -CH-NH-); 3.1 (2H, m, -CH₂-), 2.17 (2H, t, -CH₂-CONH-); 1.4 (2H, m, -CH₂-); 1.26 (28H, m, -(CH₂)_n-); 0.88 (3H, t, -CH₃)。 ¹³C NMR (500MHz, CDCl₃) δppm: 174.1 (-CONH-); 173.9 (-COOH); 155.3 (苯环上连-OH 的 C); 130.5、130.3、127.6、121.8 和 115.8 (苯环上另 5 个 C); 53.4 (-CH-NH-); 36.8 (-CH₂-CONH-); 36.6 (-CH₂-CHNH-); 32.0 (-CH₂-); 31.6~22.6 (14× -CH₂-); 14.0 (-CH₃-)。

以上数据证实该化合物为 N-硬脂酰酪氨酸。

化合物 11:

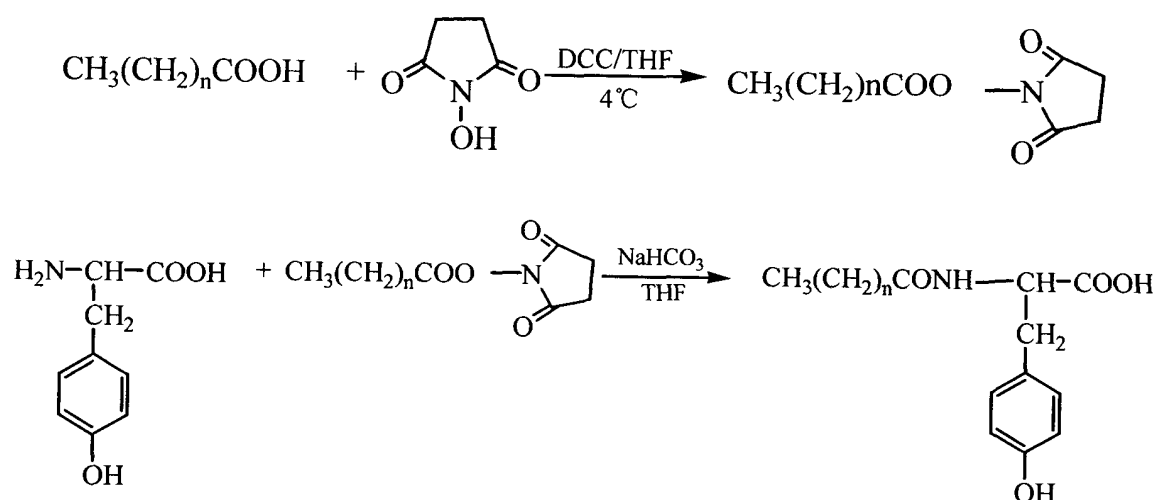
白色粉末, mp, 100~102℃。 ¹H NMR (300MHz, CD₃OD, TMS) δppm: 4.48 (1H, t, -CH-NH-); 3.8 (2H, m, -CH₂OH); 2.26 (2H, t, -CH₂-CONH-); 1.62 (2H, m, -CH₂-); 1.28 (28H, m, -(CH₂)_n-); 0.89 (3H, t, -CH₃)。 ¹³C NMR (500MHz, CD₃OD) δppm: 176.7 (-CONH-); 173.8 (-COOH); 63.3 (-CH₂OH); 56.3 (-CH-NH-); 37.2 (-CH₂-CONH-); 33.3 (-CH₂-); 31.1~24.0 (14× -CH₂-); 14.7 (-CH₃-)。

以上数据证实该化合物为 N-硬脂酰丝氨酸。

实施例 2

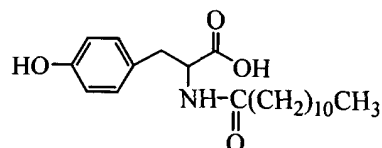
长链脂肪酰胺类化合物的结构修饰。

长链脂肪酸的改变[合成方法(2)]:

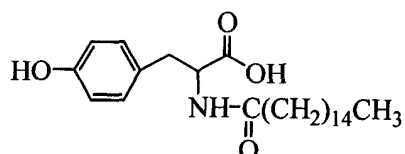


合成化合物的结构:

13. N-月桂酰酪氨酸 (NL_{Tyr})



14. N-软脂酰酪氨酸 (NP_{Tyr})



实施例 3

化合物对体外孵育的大鼠脑片 OGD (缺氧缺糖) 损伤的保护作用。

1. 脑片的制备

实验前, 将正常脑脊液 (*n*ACSF) 分为两份, 分别在室温 (25℃) 下和冰浴 (0℃) 中通入混合氧气 1 小时, 使其饱和备用。大鼠断头, 迅速取出全脑, 随后浸入冰 *n*ACSF 中, 1 分钟后取出, 沿冠状面切去并修平端脑和脑干端, 502 胶水粘贴在振动切片机托架上, 用冰 *n*ACSF 浸浴整

个脑组织，混合氧气持续通入。快速切取 400 μ m 厚脑片，用表面抛光的粗口管将脑片移至内置尼龙网罩的小烧杯里，将其浸在混合氧气饱和的 *n*ACSF 内，室温下恢复孵育 90 分钟。

2. 脑片 OGD 损伤实验

随机取完成孵育的脑片，将其移入 37℃ 混合氧气饱和的 *n*ACSF 中再孵育 30min，再随机分为：①对照组：37℃ 的 *n*ACSF 中继续孵育。②损伤组：脑片在混合氮气饱和的 *gf*ACSF 中孵育 10min（OGD 损伤孵育），再恢复 *n*ACSF 正常孵育 2h。③药物组：在损伤前 30min，损伤时和正常孵育 2h 期间孵育液中分别加入所合成的长链脂肪酰胺类化合物（10 μ mol/L）。孵育结束后，所有脑片行 TTC（2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑）染色。

脑片 OGD 损伤孵育过程如图 7 所示。

脑片孵育结束随后浸入含 2%TTC 的 *n*ACSF 中，在 37℃ 水浴箱内避光染色，期间轻轻摇动，以防止脑片之间相互粘贴而影响染色。30 分钟后取出脑片，用生理盐水漂洗两次，滤纸吸去表面水分，称重湿重，以 1g: 20ml 比例加入抽提液（乙醇: DMSO=1: 1），抽提 24 小时，期间摇动数次，以保证所有脑片抽提完全。抽提结束后，按脑片 200 μ l/孔的比例将抽提液加至 96 孔板上，酶标仪测定各孔在 490nm 波长处的吸光度（A

值)。按以下公式计算:

$$\text{组织损伤百分率} = (1 - A_{490 \text{ 损伤}} / A_{490 \text{ 对照}}) \times 100\%$$

3. 本发明的化合物预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用实验结果

(1) N-硬脂酰氨基酸甲酯预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用

皮层脑片 OGD 损伤 10min 后恢复正常孵育 2 小时, 脑片 TTC 染色程度降低, 组织活性百分率(%)为 52.3 ± 0.79 。预先给予 NSGluE、NSGlyE、NSPheE ($10 \mu\text{mol/L}$) 与脑片孵育, 不能明显提高脑片损伤后的组织活性(见图 1), 说明 N-硬脂酰氨基酸甲酯对 OGD 损伤的脑片无明显保护作用。在图 1 中, 横坐标代表所加入的本发明的 N-硬脂酰氨基酸甲酯化合物, 纵坐标指所测得的组织活性。

(2) N-硬脂酰氨基酸(L-或 DL-)预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用

皮层脑片 OGD 损伤 10min 后恢复正常孵育 2 小时, 脑片 TTC 染色程度降低, 组织活性(%)为 38.3 ± 5.3 。预先给予 NSPhe(L, 左旋型)、NSPhe(DL, 外消旋型)($10 \mu\text{mol/L}$) 与脑片孵育, 结果显示 NSPhe(L)、NSPhe(DL) 均能提高脑片损伤后的组织活性, $P < 0.05$ (见图 2), 说明氨基酸的构型对化合物活性无影响。在图 2 中, 横坐标代表所加入的本发明的 N-硬脂酰氨基酸不同构型的化合物, 纵坐标指所测得的组织活性, “*” 指 $p < 0.05$ 。

(3) 八种 N-硬脂酰氨基酸对体外孵育的大鼠皮层脑片 OGD 损伤的影响

皮层脑片 OGD 损伤 10min 后恢复正常孵育 2 小时, 脑片 TTC 染色

程度降低,组织活性(%)为 40.2 ± 6.3 。预先给予 NSCys、NSSer、NSHis、NSTrp、NSLys、NSTyr、NSPro、NSLeu ($10 \mu\text{mol/L}$) 与脑片孵育,其中 NSTrp、NSPro 能提高脑片损伤后的组织活性, $p < 0.05$; NSSer、NSTry 能显著提高脑片损伤后的组织活性, $p < 0.01$ (见图 3), 说明化合物 NSTyr、NSSer 对 OGD 损伤的脑片的保护作用最明显。在图 3 中, 横坐标代表所加入的本发明的 N-硬脂酰氨基酸化合物, 纵坐标指所测得的组织活性, “*” 指 $p < 0.05$, “**” 指 $p < 0.01$ 。

(4) 三种不同的脂肪酰酪氨酸 (NSTyr、NPTyr、NLtyr) 预处理对皮层脑片 OGD 损伤的保护作用

预先给予 NSTyr、NPTyr、NLtyr ($10 \mu\text{mol/L}$) 与脑片孵育, 其中只有 NSTry 能明显提高脑片损伤后的组织活性, $p < 0.01$ (见图 4), 说明硬脂酸结构是长链脂肪酸中的优选结构。在图 4 中, 横坐标代表所加入的三种不同的脂肪酰酪氨酸 (NSTyr、NPTyr、NLtyr), 纵坐标指所测得的组织活性, “**” 指 $p < 0.01$ 。

实施例 4

化合物 NSTyr、NSSer 对沙土鼠短暂全脑缺血神经元的保护作用。

1. 实验方法:

(1) 动物分组

随机分为: 假手术组 (sham 组), 缺血再灌注组 (Isc/R 组), 给药组 (1mg/kg 、 3mg/kg)。(每组 3 只)

(2) 模型制作

采用沙土鼠前脑缺血再灌注损伤模型。将沙土鼠 ip10%水合氯醛溶

(350mg/kg) 麻醉，俯卧位固定。分别在正中矢状线两侧 2mm、前卤后 2mm 处钻孔，经两孔插入电极用于监测脑电图。Isc/R 组游离双侧颈动脉，予以微动脉夹分别夹闭 5min，松开微动脉夹恢复脑血流。sham 组仅游离暴露双侧颈动脉，不予微动脉夹夹闭。给药组在术前三天、夹闭双侧颈动脉前 30min 以及术后 4 天分别按 1mg/kg、3mg/kg 剂量 ip 受试药物 SATyr。

(3) 组织学观察

神经元计数：沙土鼠短暂前脑缺血恢复再灌 4 天后，10%水合氯醛溶液 (350mg/kg) ip 麻醉，开胸，经升主动脉 4%多聚甲醛灌注固定。取视交叉后 1~4mm 脑块进行石蜡包埋，进行冠状面切片，取齿状回与海马固定、脱水、包埋，切片厚 10 μ m。切片经 HE 和 Nissel 染色，在 200 倍光镜下计数海马 CA1 中段 100 单位长度内存活神经元数目。

2. 实验结果如图 5 所示，给药组的海马 CA1 中段 100 单位长度内存活神经元数目明显多于缺血再灌注组的存活神经元数目，且统计柱状图 6 表明，本发明的化合物 NSTyr、NSSer 确实对沙土鼠短暂全脑缺血神经元具有明显的保护作用，图 6 中，“*” 指 $p<0.05$ 。

实施例 5

本发明的药物组合物片剂制备：

采用亲水型辅料（羟丙基纤维素和玉米淀粉），在活性成分中加入适当的稀释剂，再通过混合粉碎法的微粉化处理，使药物表面覆盖了一层亲水性辅料，使微粒均匀分散，改善了其溶解特性，有助于提高药物的生物利用度。然后将混合物压片，每片重 100mg，活性成分含量为 70mg。一个具体的配方如下：

N-硬脂酰酪氨酸	70mg
玉米淀粉	20mg
滑石粉	5mg
羟丙基纤维素	5mg

实施例 6

本发明的药物组合物胶囊剂制备：

将活性成分与助剂混合，过筛，在合适的容器中均匀混合，把得到的混合物装入硬明胶胶囊，每个胶囊重 200mg，活性成分含量为 10mg。一个具体的配方如下：

N-硬脂酰丝氨酸	10mg
乳糖	188mg
硬脂酸镁	2mg

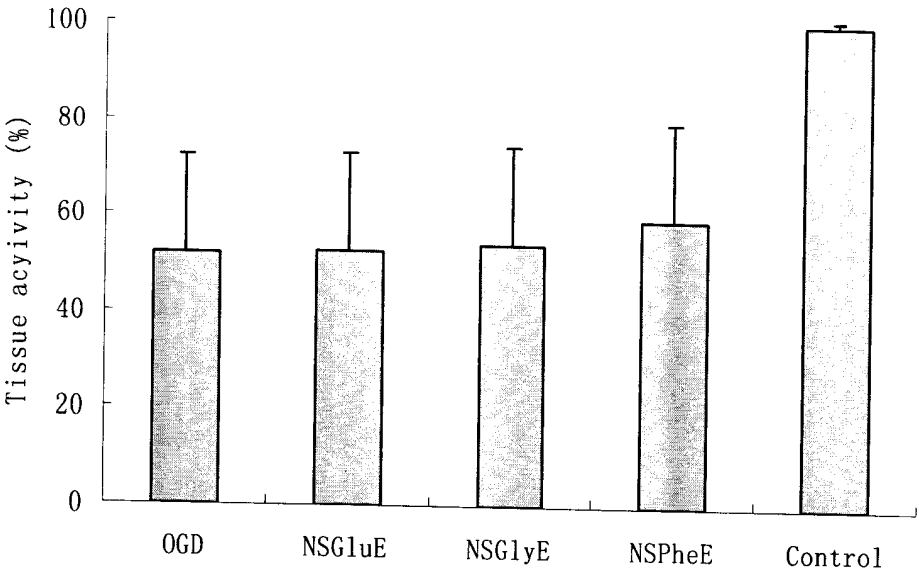


图 1

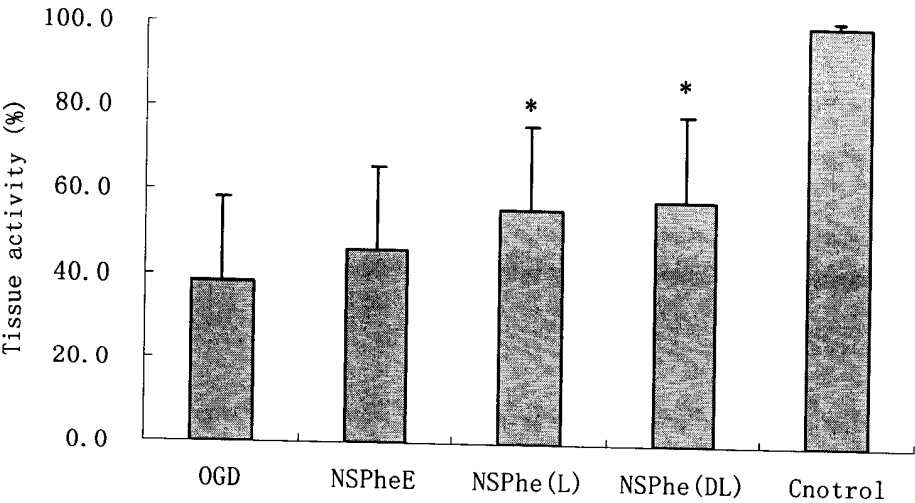


图 2

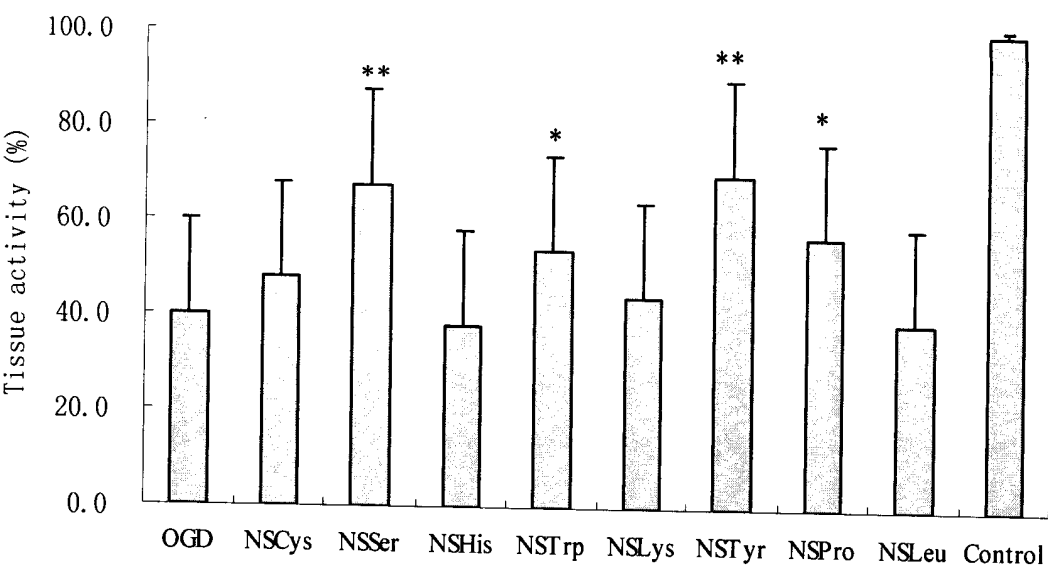


图 3

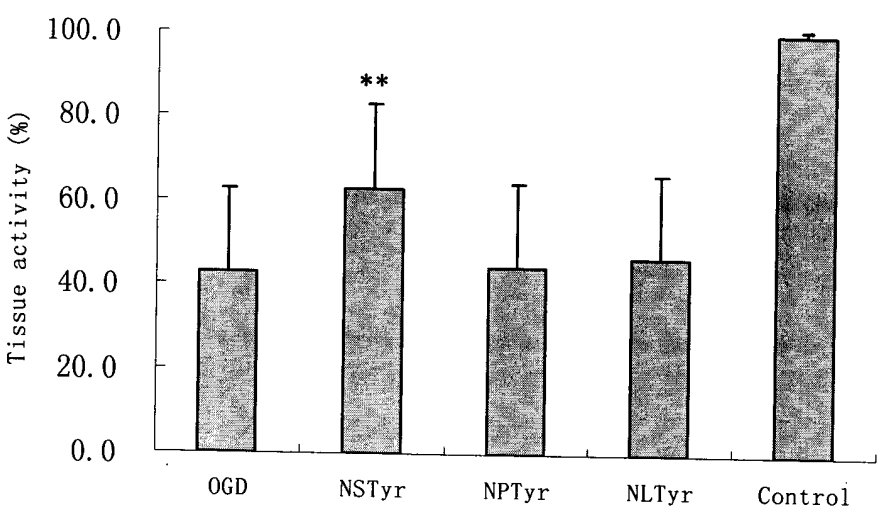


图 4

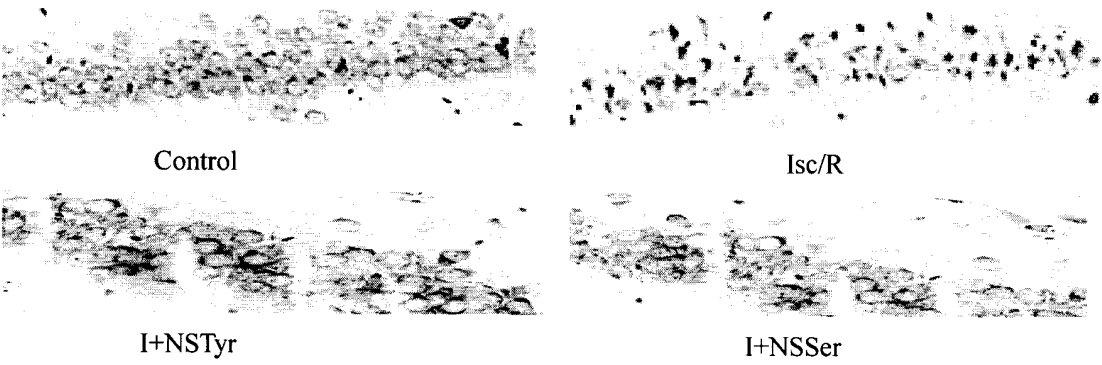


图 5

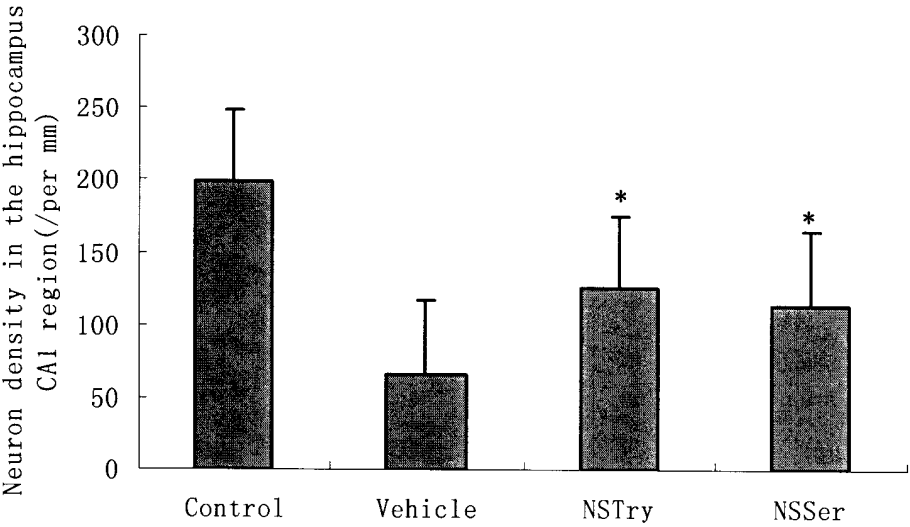


图 6

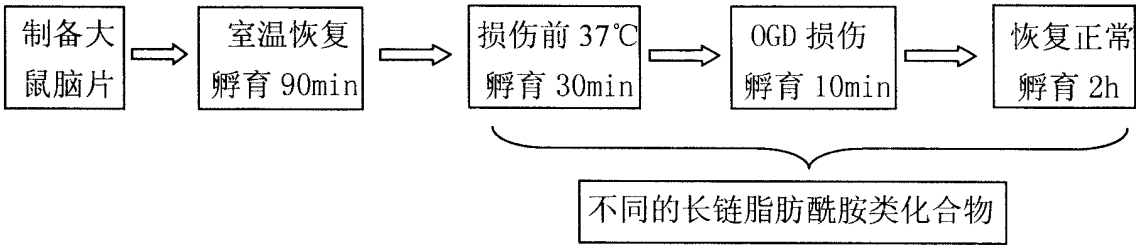


图 7