



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101810632 A

(43) 申请公布日 2010.08.25

(21) 申请号 201010125333.9

(22) 申请日 2010.03.16

(71) 申请人 云南大学

地址 650091 云南省昆明市翠湖北路2号化
学科学与工程学院自然资源药物化学
重点实验室

(72) 发明人 戴晓畅 肖涵 段玲燕

(74) 专利代理机构 昆明正原专利代理有限责任
公司 53100

代理人 陈左

(51) Int. Cl.

A61K 31/7034 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

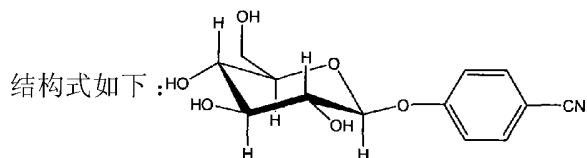
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

4-氰基- β -D-糖苷治疗抑郁症的用途

(57) 摘要

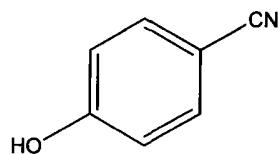
本发明涉及小分子酚型糖苷类化合物 4-氰基- β -D-糖苷用于制备治疗抑郁症药物的用途,代表化合物为 4-氰基- β -D-吡喃葡萄糖苷,其



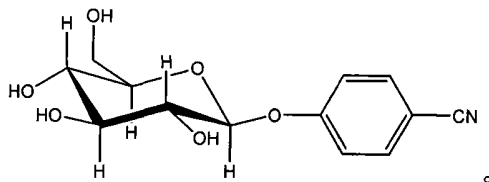
,该化合物在两个抑郁行为模型和一个药理模型上,KM种小鼠单次灌胃给药 45mg/kg 均体现出切实的抗抑郁效果;其抗抑郁效果高于等量豆腐果苷。对小鼠自发活动的测定也表明,该有效剂量点没有体现出干扰受试动物自发活动的效果。

1. 以下式化合物为配体的 4- 氰基 - β -D 糖苷化合物或其可药用盐、酯或溶剂化物, 在制备用于治疗抑郁的药物中的用途:

配体为 : 对氰基苯酚



其中, 糖基部分为任意吡喃糖或者呋喃糖, 代表化合物为 4- 氰基 - β -D- 吡喃葡萄糖苷, 结构式如下:



4- 氰基 - β -D- 糖苷治疗抑郁症的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体而言,本发明涉及小分子酚型糖苷类化合物 4- 氰基 - β -D- 吡喃葡萄糖苷及其可药用盐、酯及其溶剂化物用于制备治疗抑郁症的用途。

背景技术

[0002] 抑郁症 (depression) 是情感性精神障碍 (mood disorders) 的主要类型,是一种以显著而持久的心境低落为主要特征的综合征,临床表现为情绪低落、悲观、睡眠障碍等,严重者常有自伤冲动或自杀念头。

[0003] 现在临床治疗抑郁症的首选药物为选择性 5-HT 再摄取抑制剂 (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs), 如 氟西汀 (fluoxetine)、帕罗西汀 (paroxetine)、舍曲林 (sertraline) 和西酞普兰 (citalopram) 等,其特点是特异性阻断 5-HT 再摄取,而对脑内其他神经递质受体亲和力很低,与一般经典的抗抑郁药相比毒副反应较小;但其起效时间仍较长,且在临床试验中发现,在维持治疗期间使用 SSRIs 的病人 9-57% 抑郁症状复发。参考文献见郑敏玲,黄翔宇,周敏等. 广州市抗抑郁药的用药趋势及发展 [J]. 中国新药杂志. 2003, 12 (3) :224-226.

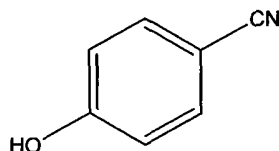
[0004] 随着抗抑郁西药副作用的显现及近年来人们“回归自然”理念的形成,研究者们愈来愈重视从天然植物中寻找、研制和开发治疗抑郁症的理想药物。参考文献见袁长春,袁花. 抗焦虑与抗抑郁的天然药物研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 药物研究篇. 2009, 22-25。目前国外研究较多的是金丝桃素 - 贯叶连翘提取物;国内研究者也证明许多复方、单方、植物有效成分对抑郁有治疗作用。但总的说来,目前临床应用的药物在药效、副反应控制、成瘾性控制方面仍未能达到满意效果,需要进行进一步的研发和改进。

发明内容

[0005] 本发明提供一种以下式化合物为配体的 4- 氰基 - β -D 糖苷化合物或其可药用盐、酯或溶剂化物,在制备用于治疗抑郁的药物中的用途:

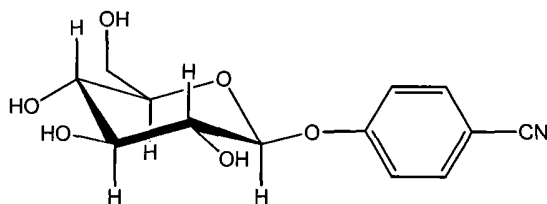
[0006] 配体为:对氰基苯酚

[0007]



[0008] 其中,糖基部分为任意吡喃糖或者呋喃糖,代表化合物为 4- 氰基 - β -D- 吡喃葡萄糖苷,自编号为 XH002,化学结构式如下:

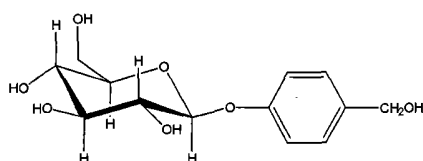
[0009]



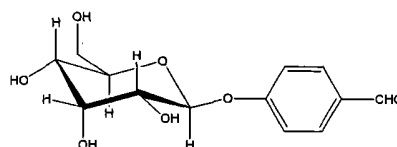
[0010] 该化合物为白色至米色粒状结晶,无特殊气味。水、乙醇、二甲亚砜中完全溶解,甲醇中部分溶解。乙醚中不溶。上述化合物 4- 氰基 - β -D- 糖苷是以小分子酚性糖苷天麻素和豆腐果苷为母体衍生而得的结构类似物。

[0011] 豆腐果苷 (helacid, 对甲醛基苯 -O- β -D- 阿洛吡喃糖苷) 化学结构与天麻苷 (gastrodin, 对羟甲基苯 -O- β -D- 吡喃葡萄糖苷) 相似 (其结构式见下图)。该二化合物有类似的化学结构,都为 β - 型吡喃糖苷,区别在于糖基和官能团的不同。

[0012]



天麻素 (Gastrodin)



豆腐果苷 (Helicid)

[0013] 关于天麻素和豆腐果苷抗抑郁作用的研究结果显示,该二化合物在小鼠抗抑郁模型中体现了温和恒定的抗抑郁作用;安全有效,连续服用未发现中毒或其它副反应。其缺点是起效缓慢、作用强度较弱、给药量较大、生物利用度较低等。参考文献见杨蓉,肖涵,戴晓畅. 豆腐果苷抗抑郁作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2007 :23 (6) :22-23.、段玲燕,肖涵,袁燕等. 豆腐果苷抗抑郁作用的初步研究 [J]. 中国实用医药. 2008, 10 (3) :107-108.、谢笑天,李海燕,王强,郑萍. 天麻化学成分研究概况 [J]. 云南师范大学学报. 2004, 23 (3) : 22-25. 和段玲燕. 以豆腐果苷为代表的小分子酚性单糖苷化合物抗抑郁活性筛选研究 [D]. 云南大学. 2008.

[0014] 本发明以天麻素和豆腐果苷为参照,对其化学结构进行修饰,并对该类类似物的神经药理活性进行筛选,得到了具有更好抗抑郁活性的结构类似物 XH002。

[0015] 本发明的目的是提供经过结构优化的小分子酚性糖苷化合物 4- 氰基 - β -D- 糖苷用于制备治疗抑郁症疾病的药物的用途。

[0016] 经本发明人研究表明,上述化合物用于治疗抑郁症效果较好。

[0017] 化合物 4- 氰基 - β -D- 葡萄糖苷 (XH002) 在两个抑郁行为模型和一个药理模型上,单次灌胃给药 45mg/Kg 均体现出切实的抗抑郁效果;其抗抑郁效果高于等量豆腐果苷。对小鼠自发活动的测定也表明,该有效剂量点没有体现出干扰受试动物自发活动的效果。综上所述, XH002 可能成为有效的抗抑郁前药。

[0018] 目前,没有查到该化合物应用于抗抑郁治疗研究的报告。

附图说明

图 1 是本发明中小鼠悬尾实验能体现抗抑郁活性的实验结果图。

图 2 是本发明中小鼠强迫游泳实验能体现抗抑郁活性的实验结果图。

图 3 是本发明中小鼠开野实验的实验结果图。

具体实施方式

[0019] 具体药理实验如下：

[0020] 一．受试药物

[0021] 名称：4- 氰基 - β -D- 吡喃葡萄糖苷。

[0022] 受试化合物，由本研究自行合成提供，于受试前以混悬剂研磨混悬。

[0023] 二．造模及对照药物

[0024] 利血平注射液 (Reserpine Injection, RES), 广东邦民制药厂有限公司, 批号：060410；

[0025] 盐酸丙米嗪 (Imipromine hydrochloride, IMI), Sigma 公司产品, 货号 (Lot)：105K1319；

[0026] 天麻素 (Gastrodine, GAS), 昆明制药厂, 批号 200610036；

[0027] 豆腐果苷 (Helicid, HEL), 云南玉溪万方天然药物有限公司产品, 批号：040701；

[0028] 混悬剂：0.02% 羧甲基纤维素钠水溶液 (CMC-Na)；

[0029] 空白溶剂为混悬剂。阳性对照药物丙咪嗪浓度均为 7.5mg/Kg, 糖苷类药物浓度均为 45mg/Kg, 利血平注射液给药浓度为 5mg/Kg。给药体积均为 20mL/Kg BW。

[0030] 三．实验动物

[0031] KM (昆明种) 小鼠, 普通级, δ , 体重 18 ~ 22g, 由昆明医学院实验动物中心 (昆明医学院, 赵家堆, 昆明) 提供, 许可证号：SCXK (滇) 2008-2011。

[0032] 小鼠分笼饲养, 每笼 10 只, 除实验造模特殊要求外均自由饮水、进食, 饲养室温 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $60 \pm 10\%$, 保持 12h/12h 昼夜节律。

[0033] 每次实验小鼠均在适应实验室环境七天后用于实验, 禁食不禁水 18h 后随机分为空白对照组、阳性对照组和待测组, 每组至少 10 只动物。

[0034] 四．数据统计处理

[0035] 采用 SPSS 13.0 统计软件包作为统计工具, 观测结果采用 χ^2 检验 (Chi-Square) 比较其组间差异；其余全部数据采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 其中方差齐性者采用 Dunnett 法, 方差不齐者采用 Dunnett's T3 法检验组间差异的显著性。数据结果以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义, 记为“*”; $P < 0.01$ 为有极显著意义, 记为“**”。

[0036] 五．药物评价模型

[0037] 采用两个行为模型——小鼠悬尾模型 (tail suspension test in mice, TST) 和小鼠强迫游泳模型 (forced swimming test in mice, FST); 一个药理学模型——利血平拮抗 (reserpine reversal, RR) 对化合物 XH002 的抗抑郁效果进行验证。采用旷野模型进行了 XH002 对动物体中枢神经不良反应进行测试。实验在早晨 8 点半至中午 2 点之间进行, 每只动物只用一次。具体操作方法见下。

[0038] A 小鼠悬尾实验 (Tail suspension test in mice, TST)

[0039] 参考资料见 Stery L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressant activity in mice[J]. Psychopharmacology, 1985, 85: 367-370。

[0040] 每组小鼠至少 10 只。受试药单次给药, 小鼠按体重随机分组后, 禁食 16h, 于开始记录前 1h, 各组分别灌胃相应浓度的混悬溶剂或受试药混悬液, 溶剂为 0.02% CMC-Na; 阳性对照药 IMI 均于开始观察前 30min 单次腹腔注射给药, 溶剂为 20℃ 蒸馏水。阳性对照药物浓度丙咪嗪均为 7.5mg/Kg, 糖苷类药物浓度均为 45mg/Kg。给药体积均为 20mg/Kg BW。

[0041] 实验时, 使用医用胶布将小鼠尾在距尾尖约 2cm 处粘在自制悬尾箱的水平横杆上, 使动物成倒挂状态, 其头部离桌面约 5cm, 背向观测者以降低外界影响 (见附图 2)。实验观察 6min, 记录并比较各组小鼠在后 5min 内的累计不动时间。当小鼠处于四肢无力, 自然下垂, 停止活动 2 秒以上视为行为绝望状态计量。同时观测小鼠行为是否有异常表现 (例如身体不正常蜷缩、痉挛、嘶叫等)。

[0042] B 小鼠强迫游泳实验 (forced swimming test in mice, FST)

[0043] 参考资料见 Stery L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressant activity in mice[J]. Psychopharmacology, 1985, 85: 367-370。

[0044] 实验时将小鼠置于高 30cm, 直径 18cm, 水深 10cm 的玻璃水缸中, 水温 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 观察小鼠 6min, 记录后 4min 内的累计不动时间。

[0045] 实验中, 各组小鼠以黑色卡纸隔开互相视线以避免干扰, 实验完毕后以热油汀烘干小鼠后回笼。

[0046] 每组小鼠至少 10 只。受试药单次给药, 小鼠按体重随机分组后, 禁食 16h, 于开始记录前 1h, 各组分别灌胃相应浓度的受试药或混悬溶剂, 溶剂为 0.02% CMC-Na; 阳性对照药 IMI 均于开始观察前 30min 单次腹腔注射给药, 溶剂为 20℃ 蒸馏水。阳性对照药物浓度丙咪嗪均为 7.5mg/Kg, 糖苷类药物浓度均为 45mg/Kg。给药体积均为 20mg/Kg BW。

[0047] C 利血平拮抗 (reserpine reversal, RR)

[0048] 参考资料见 Davood F, Nazanin M. Antidepressant-like effect of harmaline and other carboline in the mouse forced swim test[J]. European Neuropsychopharmacology. 2006, 16: 324-328. 和 Shuji I, Mizuho T, Tetsuaki A. Immunohistochemical study of the serotonergic neuronal system in an animal model of the mood disorder[J]. Experimental Neurology, 2006, 201: 60-65.

[0049] 动物按体重随机分组后不禁食水, 各组按相应浓度分别灌胃给予受试药或蒸馏水, 给药前用 2202 型数字温度计探头插入动物肛门内 2cm 处测肛温 3 次, 其均数作为基础体温 (T_0)。小鼠末次给药后 1h 腹腔注射 (ip.) 5mg/kg BW 利血平, 此后每小时测定 1 次肛温, 共计 4h (T_{1h} 、 T_{2h} 、 T_{3h} 和 T_{4h})。观察比较各时间点给药组与对照组肛温变化的差异。阳性对照 (IMI) 组动物于实验前 30min 腹腔注射给药。

[0050] 在腹腔注射利血平后 1h 起, 测肛温前检查小鼠眼睑下垂, 以眼睑状态为准进行评分^[44]: 全闭眼, 4 分; 闭眼 3/4, 3 分; 闭眼 1/2, 2 分; 闭眼 1/4, 1 分; 全睁眼, 0 分。统计采用卡方检验。

[0051] 在检查小鼠眼睑下垂的同时, 观测小鼠的运动不能, 将小鼠放在直径为 7.5cm

的圆形白纸的中央观察 15s, 比较给药组与对照组中仍然呆在圈内的动物的个数 (akinesian), 计算对抗运动 (anti-akinesia) 百分率, 其计算公式如下:

[0052]

$$\text{对抗百分率} = \left(1 - \frac{\text{运动不能只数}}{\text{动物总数}} \right) \times 100\%$$

[0053] D 开野实验 (open field test, OFT)

[0054] 参 考 资 料 见 Davood F, Nazanin M. Antidepressant-like effect of harmaline and other carbolines in the mouse forced swim test[J]. European Neuropsychopharmacology. 2006, 16: 324-328. 和 Shuji I, Mizuho T, Tetsuaki A. Immunohistochemical study of the serotonergic neuronal system in an animal model of the mood disorder[J]. Experimental Neurology, 2006, 201: 60-65.

[0055] 自主活动实验属于行为学实验, 是通过观察固定时间内实验动物在不受外界干扰情况下的活动情况, 从而检测实验动物行为正常与否的有效方法。

[0056] 本实验使用的小鼠自主活动测量箱为长 40cm, 宽 40cm, 高 25cm 的无上盖正方塑胶箱, 下底面划分为面积相等的 25 格。

[0057] 将单只小鼠放入自主活动测量箱, 适应 1min 后, 记录 5min 内小鼠由底面中心开始在方格中的穿越格数 (locomotions, LOC0), 作为自主活动性的指标; 每只小鼠实验完毕后, 都迅速清除排泄物, 并用分析纯醋酸的 1% 水溶液擦拭开野框底面, 以免嗅迹对下一只小鼠的行为产生干扰。

[0058] 六、实验结果

[0059] 1. 小鼠悬尾实验

[0060] 与空白对照组小鼠相比, IMI (阳性药物) 和豆腐果苷组小鼠悬尾不动时间显著缩短 ($P < 0.05$), 说明模型成功。

[0061] 对于 KM 种, 给药组 (XH002) 小鼠较空白对照组小鼠悬尾不动时间显著缩短 ($P < 0.05$)。这说明, 在 TST 模型检测中, XH002 体现了类抗抑郁活性。KM 种小鼠实验结果见附图 1。

[0062] 2. 小鼠强迫游泳实验

[0063] 与空白对照组小鼠相比, IMI (阳性药物) 和给药组小鼠游泳不动时间显著缩短 ($P < 0.01$), 说明模型成功。

[0064] 对于 KM 种小鼠和 ICR 小鼠, 给药组 (XH002) 小鼠较空白对照组小鼠悬尾不动时间显著缩短 ($P < 0.05$)。这说明, 在 FST 模型检测中, XH002 在不同种属小鼠中均能体现抗抑郁活性。KM 种小鼠实验结果见附图 2。

[0065] 3 利血平拮抗实验

[0066] 对单次给药 XH002 的 KM 种小鼠进行了利血平拮抗实验, 以研究 XH002 的抗抑郁机理。KM 种小鼠实验结果见表 1~表 2:

[0067] 表 1. KM 种小鼠给予 XH002、IMI 对 RES 诱导的体温下降的影响

[0068]

Group	n	Dose (mg/kg)	T _{1h} (°C)	T _{2h} (°C)	T _{3h} (°C)	T _{4h} (°C)
Control	10	5	35.78±0.41	34.08±1.77	34.04±0.80	31.89±0.79
IMI	10	7.5	35.96±0.58	35.37±0.66*	34.95±0.81*	32.74±0.60*
XH002	10	45	34.09±0.81**	33.71±0.81	32.01±1.36**	30.78±0.64***

[0069] 研究结果表明（见表1），IMI 腹腔注射2小时后，给药组KM小鼠受RES诱导的体温速率显著低于空白组KM小鼠（ $P < 0.05$ ），说明模型正常。

[0070] 糖苷类似物XH002给药后，该组KM小鼠受RES诱导的体温速率显著低于空白组小鼠（ $P < 0.05$ ），说明XH002在该指标具有较好的抗抑郁活性。

[0071] 表2KM种小鼠单次给予不同剂量受试化合物对利血平引起的眼睑下垂的影响
[0072]

Group	n	1h	n	2h	n	3h	n	4h
		Ptosis (point)		Ptosis (point)		Ptosis (point)		ptosis (point)
Control	10	3.00±0.82	10	4.00	10	4.00	10	3.80±0.42
IMI	10	1.50±1.27**	9	2.90±0.74***	8	3.56±0.88*	8	4.00
XH002	10	3.33±0.87	10	3.78±0.44	10	3.80±0.42	10	4.00

[0073] 研究结果表明（见表2），IMI 腹腔注射后，给药组小鼠受RES诱导的眼睑下垂程度显著低于空白组小鼠（ $P < 0.05$ ），说明模型正常。

[0074] 化合物XH002无明显抗眼睑下垂的现象，说明化合物XH002的抗抑郁机理可能是对小鼠的 β -肾上腺素能产生药效作用。

[0075] 4. 小鼠自主活动实验—开野实验

[0076] 对XH002进行了KM种和ICR种小鼠的开野实验研究，以确定该化合物是否具有中枢兴奋或者中枢抑制作用，实验结果表明，单次灌胃给予XH002对小鼠自发活动没有产生影响。实验结果见图3。

[0077] 七、结论

[0078] 1. XH002在单次灌胃给药情况下，在悬尾和强迫游泳两个行为学模型中内均体现出较好的抗抑郁活性，抗抑郁效果优于母体药物豆腐果苷；

[0079] 2. 在同等剂量下进行开野实验结果表明，XH002没有体现出中枢兴奋或者中枢抑制作用，说明其抗抑郁效果确实，不良反应较母体化合物豆腐果苷低。

[0080] 由此说明，该化合物可以制备成用于抗抑郁治疗的各种剂型的药物。

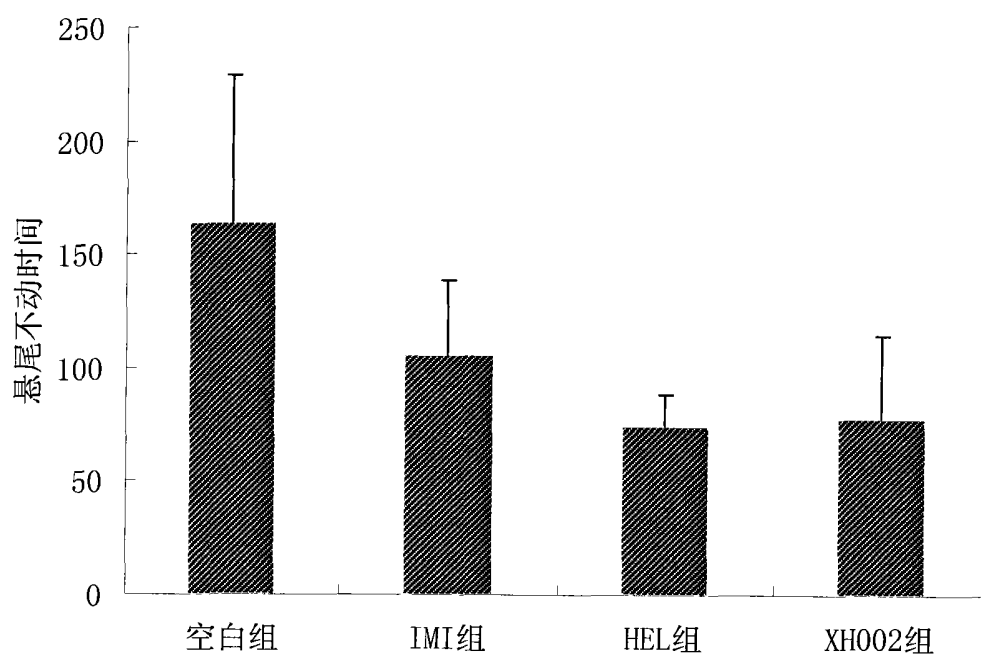


图 1

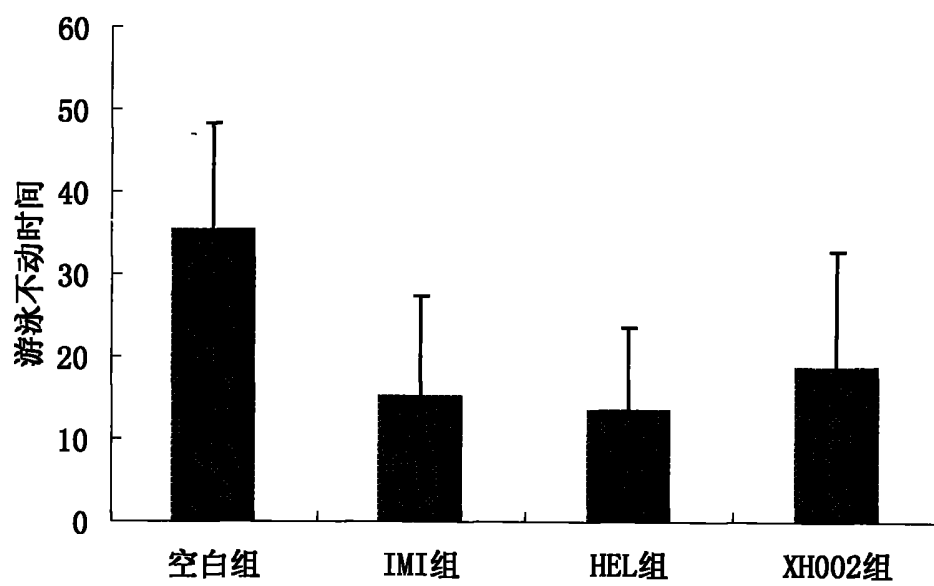


图 2

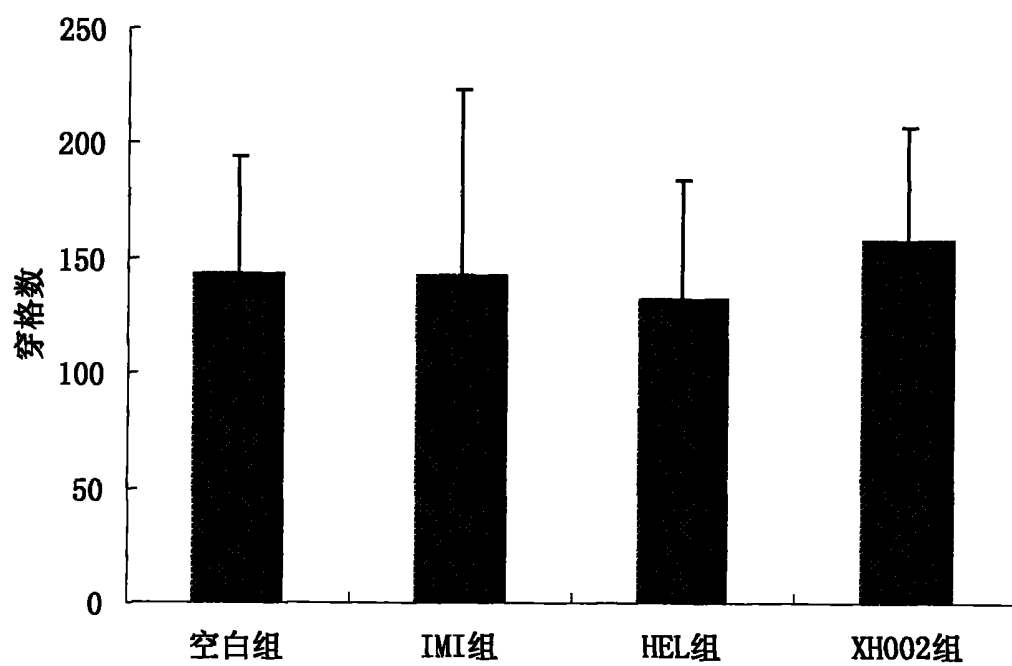


图 3