



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102727475 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 17

(21) 申请号 201210196734. 2

(22) 申请日 2012. 06. 14

(71) 申请人 合肥博太医药生物技术发展有限公  
司

地址 230088 安徽省合肥市高新区潜水东路  
26 号

(72) 发明人 董磊

(74) 专利代理机构 合肥天明专利事务所 34115  
代理人 金凯

(51) Int. Cl.

A61K 31/203(2006. 01)

A61K 31/11(2006. 01)

A61K 31/07(2006. 01)

A61P 25/28(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 23 页

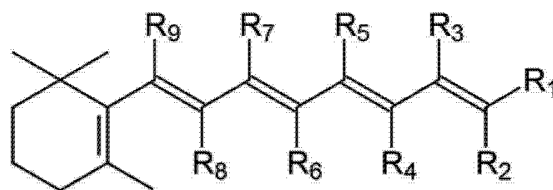
(54) 发明名称

视黄酸及其衍生物在制备防治老年痴呆药物  
中的应用

(57) 摘要

本发明提供了一种通过特异性抑制转录因子 AP-1 活性,抑制老年痴呆发病过程中淀粉样蛋白诱发的炎症反应,从而延缓老年痴呆的发生和发展的,可用于开发防治老年痴呆的药物候选分子视黄酸及其衍生化合物在制备预防及治疗老年痴呆药物中的应用。视黄酸及其衍生化合物可以明显改善 SAM-P/8 小鼠的运动障碍,明显提高 SAM-P/8 小鼠的脑组织 SOD 活性,降低脑组织 MDA 含量,降低脑组织胆碱酯酶活性,增强脑组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP 酶}$  的活性。本发明的应用能够实现动物水平上对老年痴呆发病过程的抑制。同时,本发明所使用的小分子药物易于获取,价格低廉,性质稳定,便于保存和运输。

1. 具有下述结构式(I)的视黄酸及其衍生物在制备防治老年痴呆药物中的应用,



(I)

其中,R1 为 COOH 或 COH 或 CH<sub>2</sub>OH ;R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> 各自为 H 或 C1-C6 烷烃基 ;R<sub>3</sub>, R<sub>7</sub> 各自为 H 或 C1-C6 烷烃基或芳香基或卤素或硝基或烷氧基。

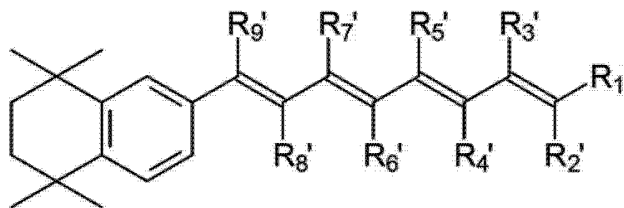
2. 如权利要求 1 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub> 为 COOH ;R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> 均为 H ;R<sub>3</sub> 为 H 或 C1-C6 烷烃基,R<sub>7</sub> 为 H 或 C1-C6 烷烃基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

3. 如权利要求 1 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub> 为 COOH ;R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> 均为 H ;R<sub>3</sub> 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

4. 如权利要求 1 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub> 为 COOH ;R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> 均为 H ;R<sub>3</sub> 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基,R<sub>7</sub> 为未取代或烷基取代苯基。

5. 如权利要求 4 所述的应用,其特征在于 :R<sub>7</sub> 为对甲基苯基。

6. 具有下述结构式(II)的视黄酸衍生物在制备防治老年痴呆药物中的应用,



(II)

其中,R<sub>1</sub>' 为 COOH 或 COH 或 CH<sub>2</sub>OH ;R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub>', R<sub>5</sub>', R<sub>6</sub>', R<sub>8</sub>', R<sub>9</sub>' 各自为 H 或 C1-C6 烷烃基 ;R<sub>3</sub>', R<sub>7</sub>' 各自为 H 或 C1-C6 烷烃基或芳香基或卤素或硝基或烷氧基。

7. 如权利要求 6 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub>' 为 COOH ;R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub>', R<sub>5</sub>', R<sub>6</sub>', R<sub>8</sub>', R<sub>9</sub>' 均为 H ;R<sub>3</sub>' 为 H 或 C1-C6 烷烃基,R<sub>7</sub>' 为 H 或 C1-C6 烷烃基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

8. 如权利要求 6 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub>' 为 COOH ;R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub>', R<sub>5</sub>', R<sub>6</sub>', R<sub>7</sub>', R<sub>8</sub>', R<sub>9</sub>' 均为 H ;R<sub>3</sub>' 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

9. 如权利要求 6 所述的应用,其特征在于 :R<sub>1</sub>' 为 COOH ;R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub>', R<sub>5</sub>', R<sub>6</sub>', R<sub>8</sub>', R<sub>9</sub>' 均为 H ;R<sub>3</sub>' 为 H 或 C1-C6 烷烃基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基,R<sub>7</sub>' 为未取代或烷基取代苯基。

10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的应用,其特征在于 :所述视黄酸及其衍生物按照常规药物制剂的方法制成药学上可接受的剂型。

## 视黄酸及其衍生物在制备防治老年痴呆药物中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,具体涉及视黄酸及其衍生化合物在制备预防及治疗老年痴呆为主要病理特征的疾病药物中的应用。

### 背景技术

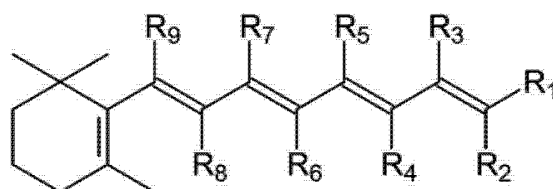
[0002] 老年痴呆(AD)是一组病因未明的原发性进行性发展的致死性神经退行脑变性疾病,多起病于老年期,潜隐起病,病程缓慢且不可逆,临床表现为认知和记忆功能不断恶化,日常生活能力进行性减退,以智能损害为主并有各种神经精神症状和行为障碍。据世界卫生组织统计,我国老年痴呆(AD)病人至少在 400 万以上,因此对老年痴呆(AD)研究十分必要。由于目前报告的新药药物作用的有效性和特异性不够,毒副反应较多,或使用不便,不易吸收或难以透过血脑屏障等,临床用药受到限制,所以尚无公认的、行之有效的防治老年痴呆(AD)药物。老年痴呆的显著性病理生理学变化之一是淀粉样蛋白沉积,引起神经细胞内的应激,诱发脑组织内的炎症反应,引起脑组织损伤和神经细胞凋亡。本发明人经研究发现,转录因子 AP-1 是介导淀粉样变性蛋白诱导的炎症反应的关键因素,而视磺酸及其衍生物可以通过抑制 AP-1 的活性,降低淀粉样蛋白引起的炎症反应,进而延缓老年痴呆的发生。因此,视磺酸及其衍生物是一种具有很大发展前景的,可以用于治疗老年痴呆的候选药物分子。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种通过特异性抑制转录因子 AP-1 活性,抑制老年痴呆发病过程中淀粉样蛋白诱发的炎症反应,从而延缓老年痴呆的发生和发展的,可用于开发防治老年痴呆的药物候选分子视黄酸及其衍生化合物在制备预防及治疗老年痴呆药物中的应用。视黄酸及其衍生化合物可以明显改善 SAM-P/8 小鼠的运动障碍,明显提高 SAM-P/8 小鼠的脑组织 SOD 活性,降低脑组织 MDA 含量,降低脑组织胆碱酯酶活性,增强脑组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP 酶}$  的活性。本发明的应用能够实现动物水平上对老年痴呆发病过程的抑制。

[0004] 本发明的具有下述结构式(I)的视黄酸及其衍生物在制备防治老年痴呆药物中的应用,

[0005]

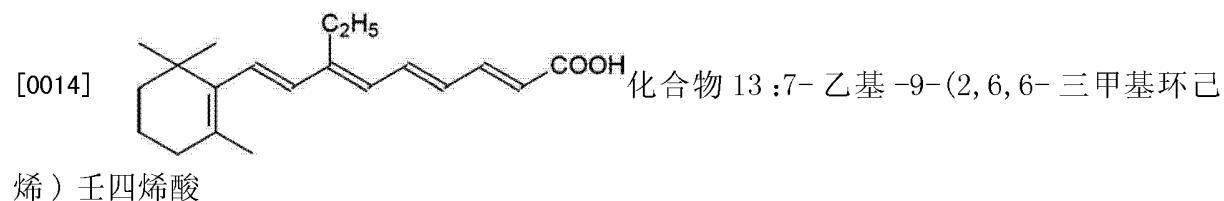
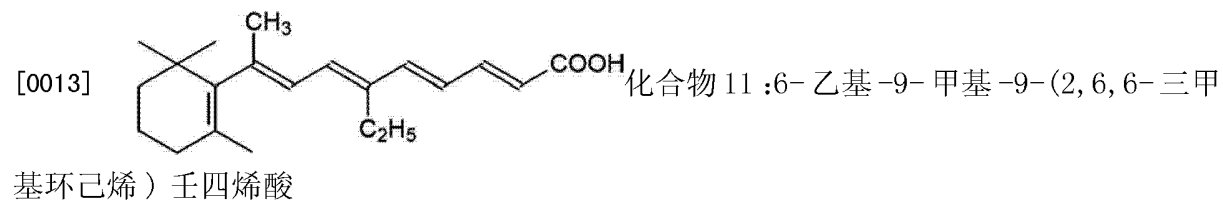
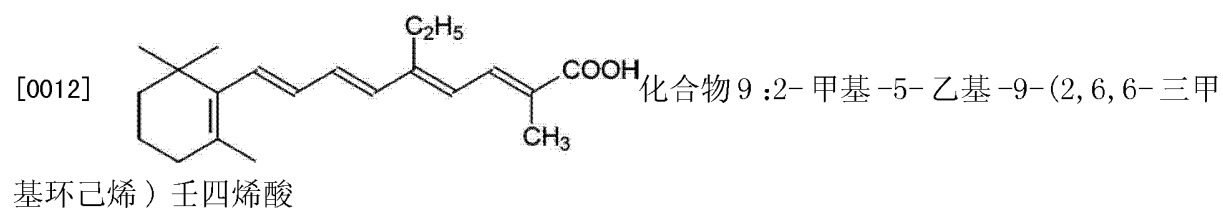
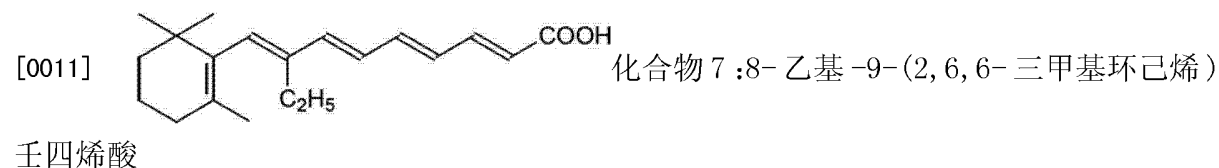
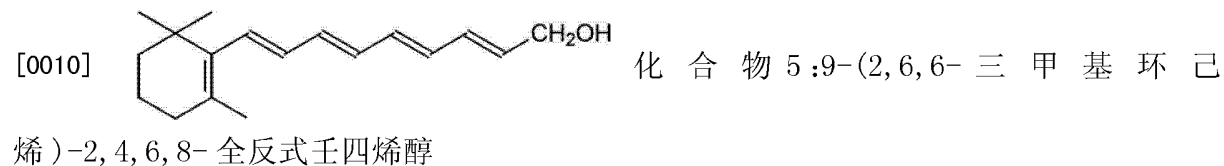
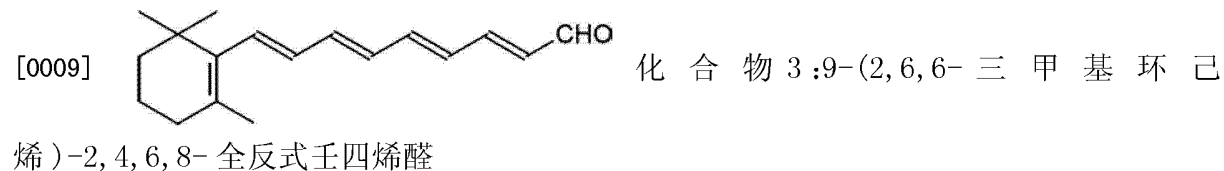
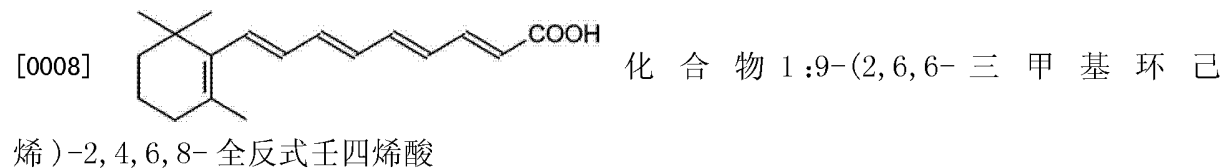


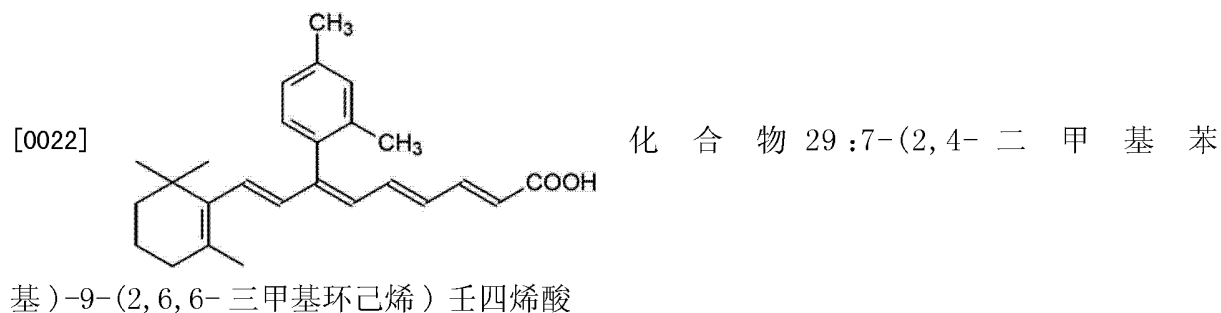
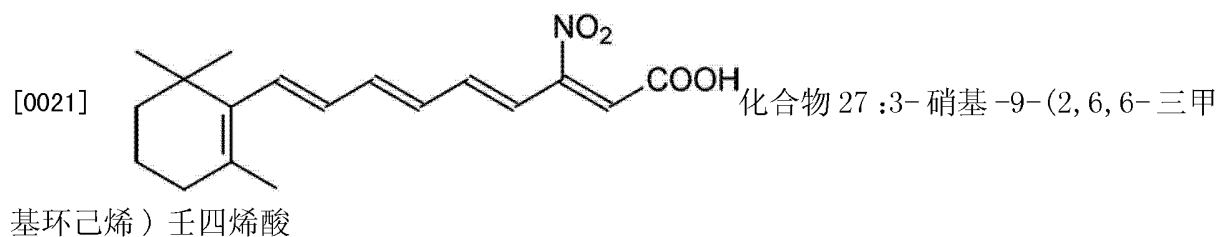
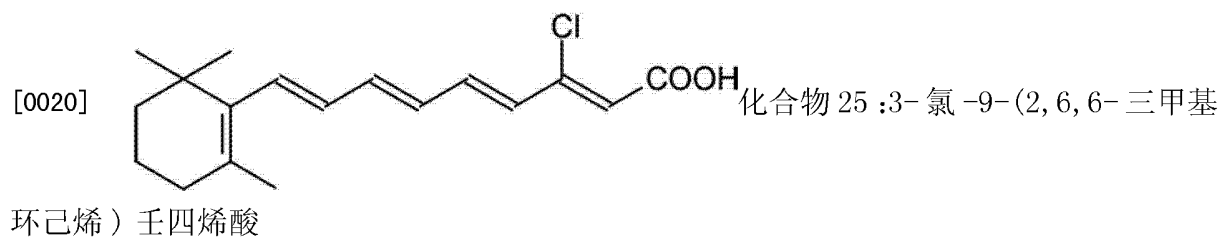
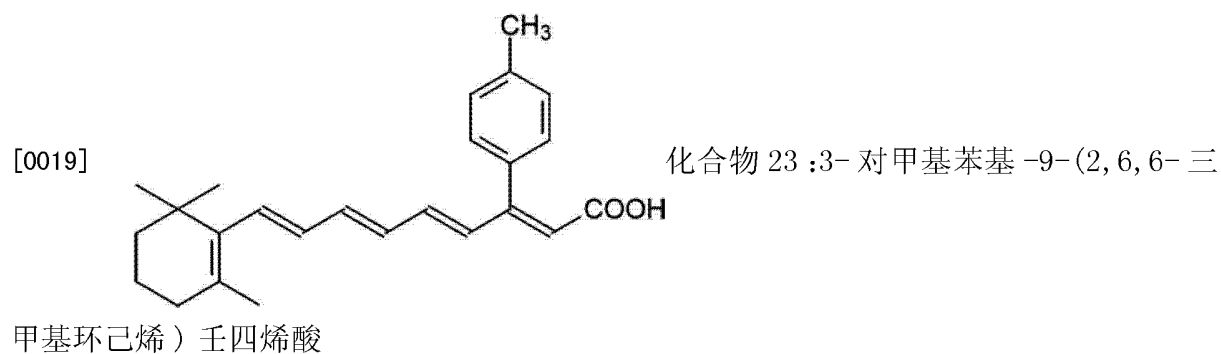
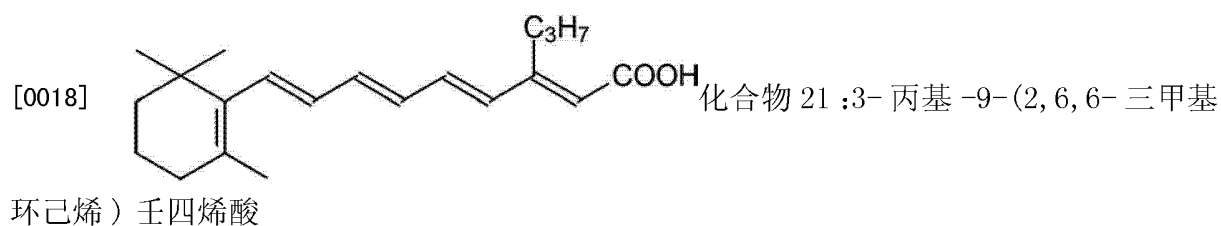
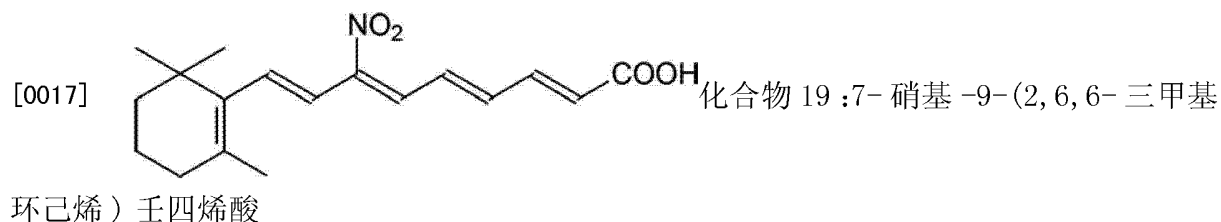
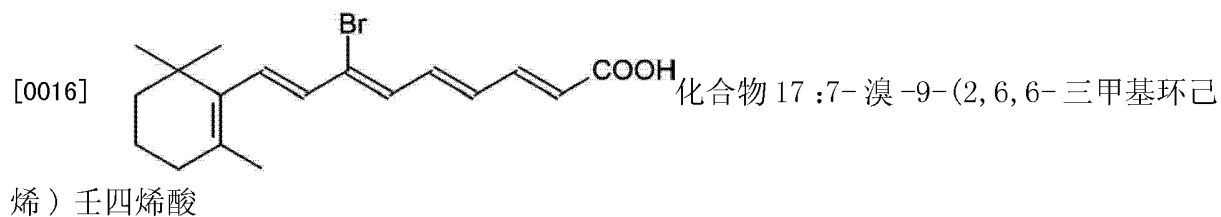
(I)

[0006] 其中, R1 为  $\text{COOH}$  或  $\text{COH}$  或  $\text{CH}_2\text{OH}$ ; R2, R4, R5, R6, R8, R9 各自为 H 或 C1-C6 烷基;

[0007] R3, R7 各自为 H 或 C1-C6 烷基或芳香基或卤素或硝基或烷氧基。此时结构式(I)

所示结构包括但不限于如下化合物：





[0023] 化合物 31 : 7-(2,6-二甲基苯

基)-9-(2,6,6-三甲基环己烯)壬四烯酸

[0024] 化合物 33 : 7-(2,4,6-三甲基苯

基)-9-(2,6,6-三甲基环己烯)壬四烯酸

[0025] 化合物 35 : 3-甲基-7-对甲基苯

基-9-(2,6,6-三甲基环己烯)壬四烯酸

[0026] 化合物 37 : 3-硝基-7-对甲基苯

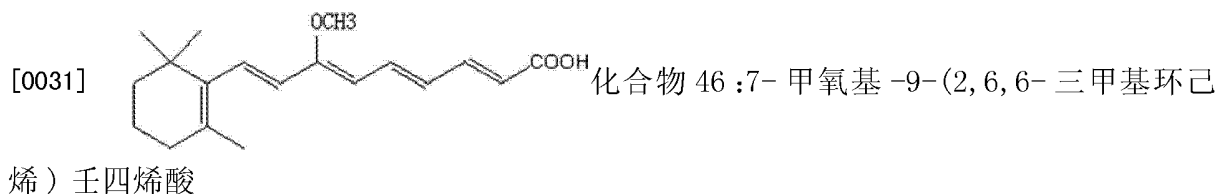
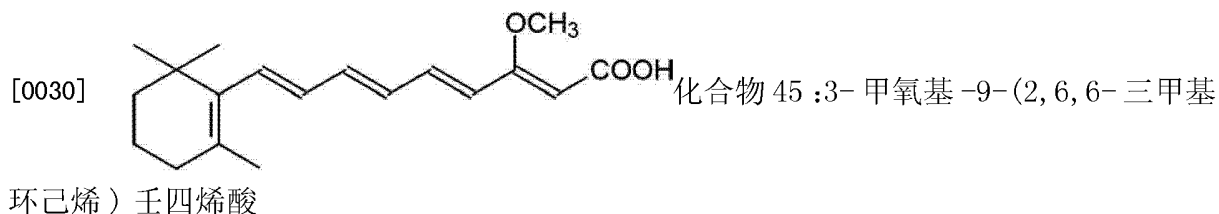
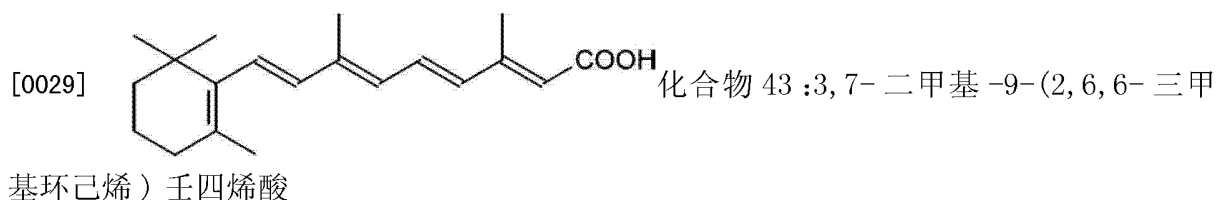
基-9-(2,6,6-三甲基环己烯)壬四烯酸

[0027] 化合物 39 : 3-溴-7-对甲基苯基-9-(2,6,6-三

甲基环己烯)壬四烯酸

[0028] 化合物 41 : 3,7-二对甲基苯基-9-(2,6,6-三

甲基环己烯)壬四烯酸



[0032] 所述 R1 优选为 COOH ; 所述芳香基优选为未取代或烷基取代的苯基。

[0033] 所述烷基取代苯基优选为单或多取代甲基苯基包括对甲基苯基或 2- 甲基苯基或 2, 4- 二甲基苯基或 2, 6- 二甲基苯基或 2, 4, 6- 三甲基苯基等。

[0034] 结构式 (I) 中, 可优选当 R1 为 COOH ; R2, R4, R5, R6, R8, R9 均为 H ; R3 为 H 或 C1-C6 烷基, R7 为 H 或 C1-C6 烷基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

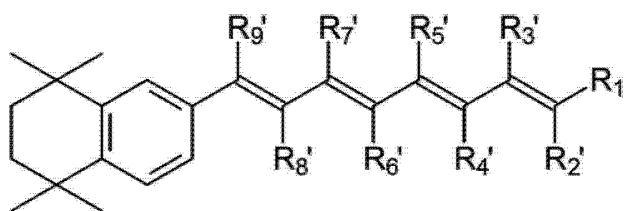
[0035] 结构式 (I) 中, 也可优选当 R1-COOH ; R2, R4, R5, R6, R7, R8, R9 均为 H ; R3 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

[0036] 结构式 (I) 中, 也可优选当 R1 为 COOH ; R2, R4, R5, R6, R8, R9 均为 H ; R3 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基, R7 为未取代或烷基取代苯基。

[0037] 所述烷基取代苯基优选为单或多取代甲基苯基包括对甲基苯基或 2- 甲基苯基或 2, 4- 二甲基苯基或 2, 6- 二甲基苯基或 2, 4, 6- 三甲基苯基等, 最优的烷基取代苯基为对甲基苯基。

[0038] 本发明的具有下述结构式 (II) 的视黄酸衍生物在制备防治老年痴呆药物中的应用,

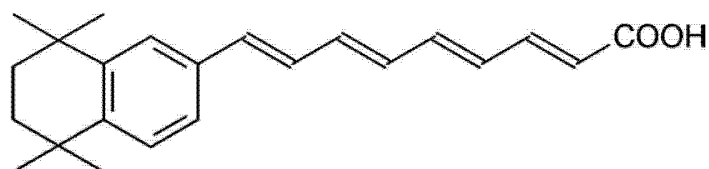
[0039]



(II)

[0040] 其中, R1' 为 COOH 或 COH 或 CH2OH ; R2', R4', R5', R6', R8', R9' 各自为 H 或 C1-C6 烷基 ; R3', R7' 各自为 H 或 C1-C6 烷基或芳香基或卤素或硝基或烷氧基, 此时结构式 (II) 所示结构包括但不限于如下化合物 :

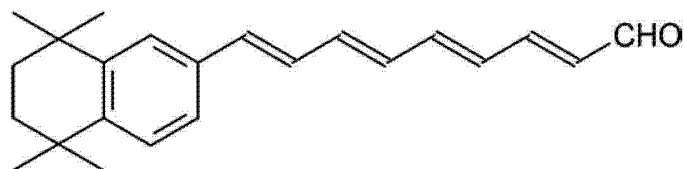
[0041]



化 合 物 2 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

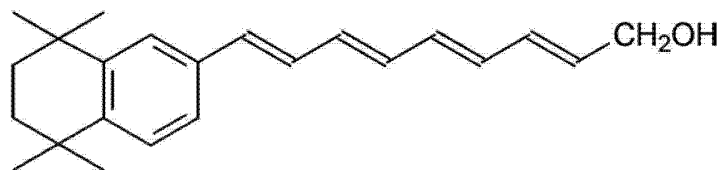
[0042]



化 合 物 4 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬醛

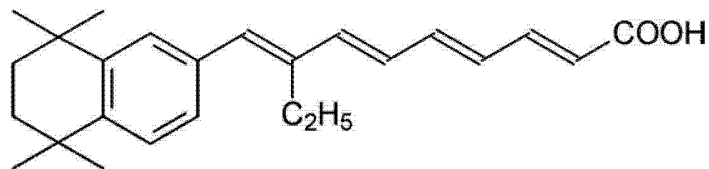
[0043]



化 合 物 6 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬醇

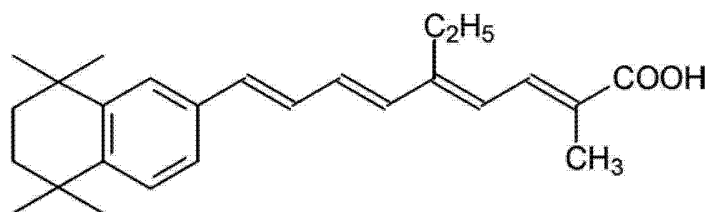
[0044]



化 合 物 8 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-8-乙基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

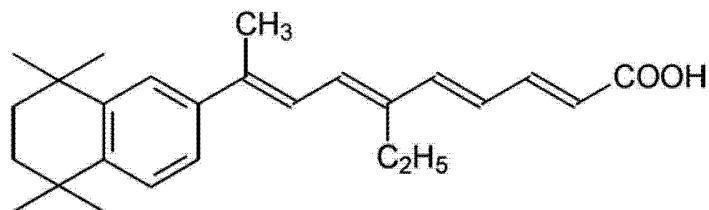
[0045]



化 合 物 10 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-2-甲基-5-乙基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

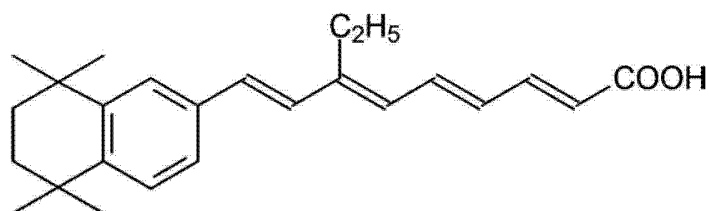
[0046]



化 合 物 12 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-甲基-6-乙基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

[0047]



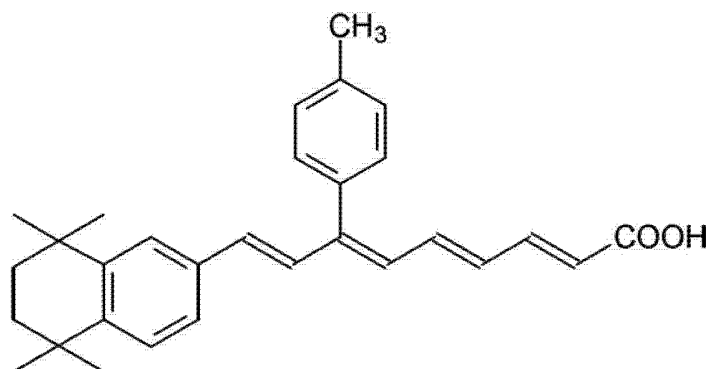
化 合 物 14 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-7-乙基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸



壬酸

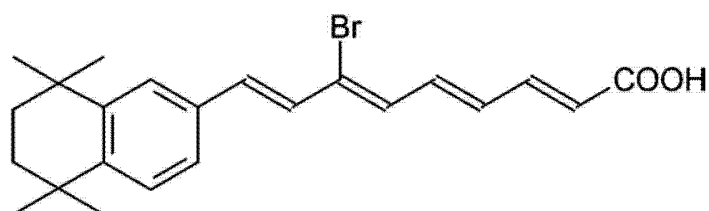
[0048]



化 合 物 1 6 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(5, 5, 8, 8- 四 甲 基 -5, 6, 7, 8- 四 氢 萘 基 -2- 基 )-7- 对 甲 苯 基 -2, 4, 6, 8- 四 烯 壬 酸

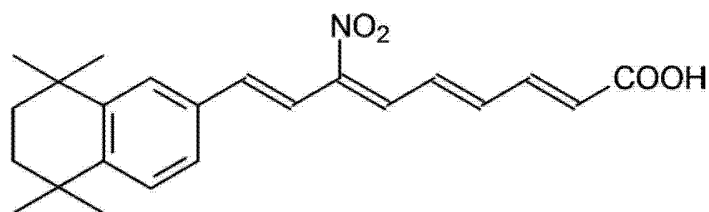
[0049]



化 合 物 1 8 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-7- 溴 -9-(5, 5, 8, 8- 四 甲 基 -5, 6, 7, 8- 四 氢 萘 基 -2- 基 )-2, 4, 6, 8- 四 烯 壬 酸

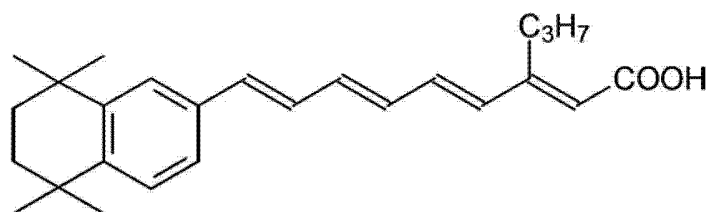
[0050]



化 合 物 2 0 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-7- 硝 基 -9-(5, 5, 8, 8- 四 甲 基 -5, 6, 7, 8- 四 氢 萘 基 -2- 基 )-2, 4, 6, 8- 四 烯 壬 酸

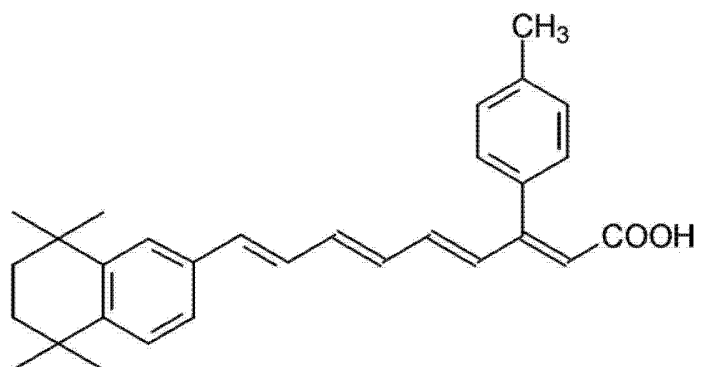
[0051]



化 合 物 2 2 :

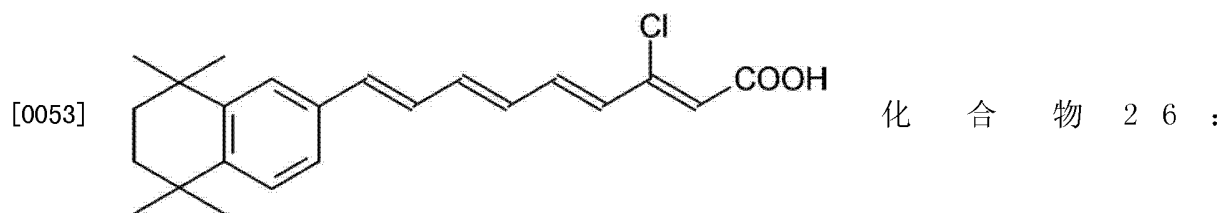
(2E, 4E, 6E, 8E)-3- 丙 基 -9-(5, 5, 8, 8- 四 甲 基 -5, 6, 7, 8- 四 氢 萘 基 -2- 基 )-2, 4, 6, 8- 四 烯 壬 酸

[0052]

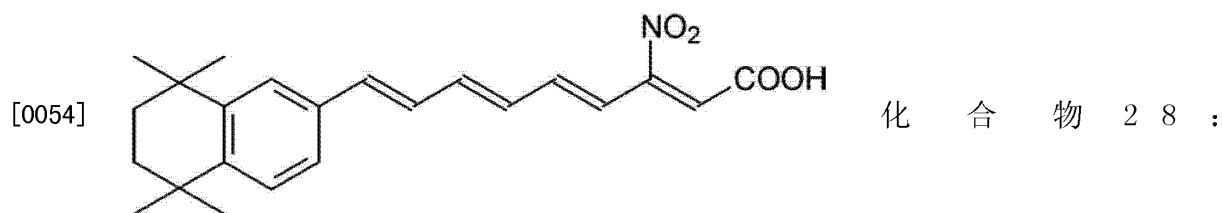


化 合 物 2 4 :

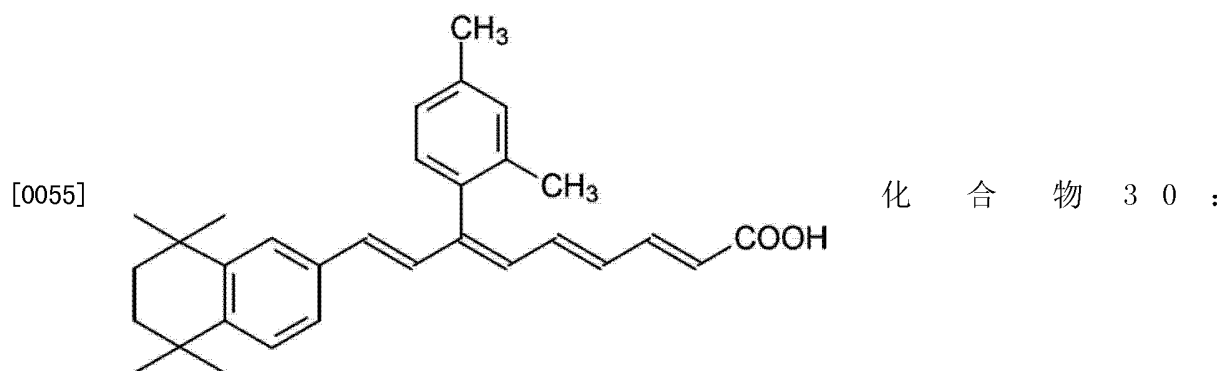
(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(2, 3, 3, 6, 6-五甲基-环己烯-1-基)-3-对甲苯基-2, 4, 6, 8-四烯壬酸



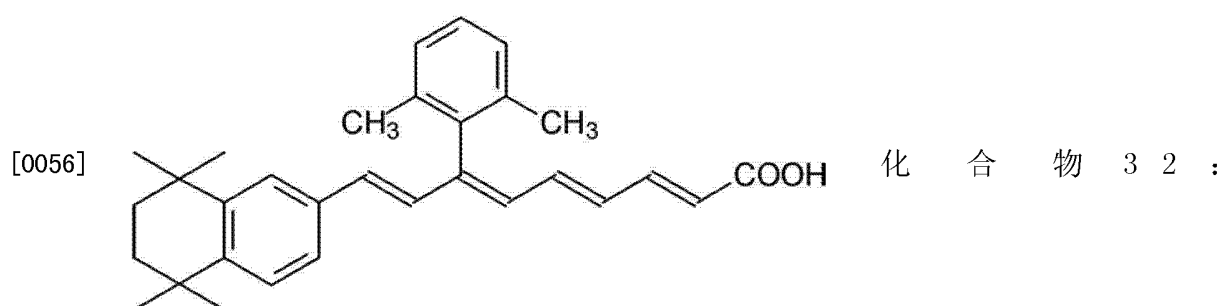
(2E, 4E, 6E, 8E)-3-氯-9-(5, 5, 8, 8-四甲基-5, 6, 7, 8-四氢萘基-2-基)-2, 4, 6, 8-四烯壬酸



(2E, 4E, 6E, 8E)-3-硝基-9-(5, 5, 8, 8-四甲基-5, 6, 7, 8-四氢萘基-2-基)-2, 4, 6, 8-四烯壬酸

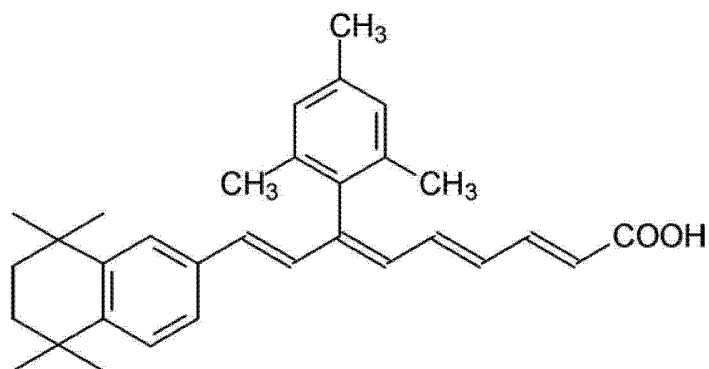


(2E, 4E, 6E, 8E)-7-(2, 4-二甲苯基)-9-(5, 5, 8, 8-四甲基-5, 6, 7, 8-四氢萘基-2-基)-2, 4, 6, 8-四烯壬酸



(2E, 4E, 6E, 8E)-7-(2, 6-二甲苯基)-9-(5, 5, 8, 8-四甲基-5, 6, 7, 8-四氢萘基-2-基)-2, 4, 6, 8-四烯壬酸

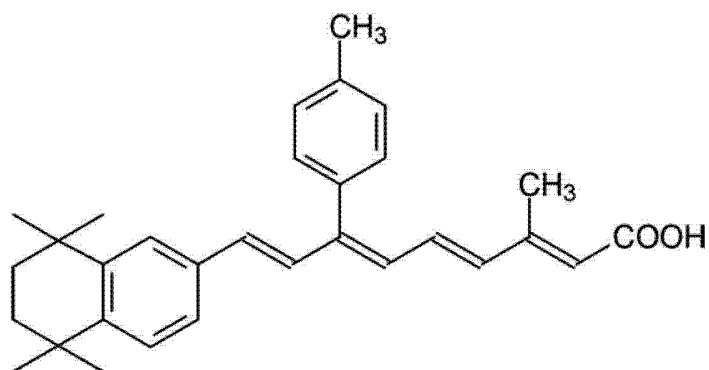
[0057]



化 合 物 3 4 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-7-(2,4,6-三甲苯基)-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

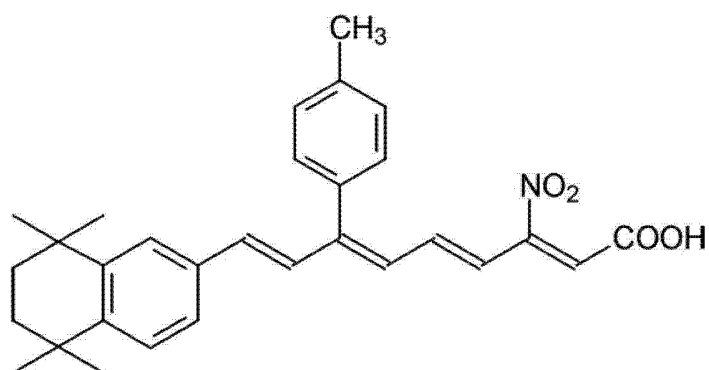
[0058]



化 合 物 3 6 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-3-甲基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-7-对甲苯基-2,4,6,8-四烯壬酸

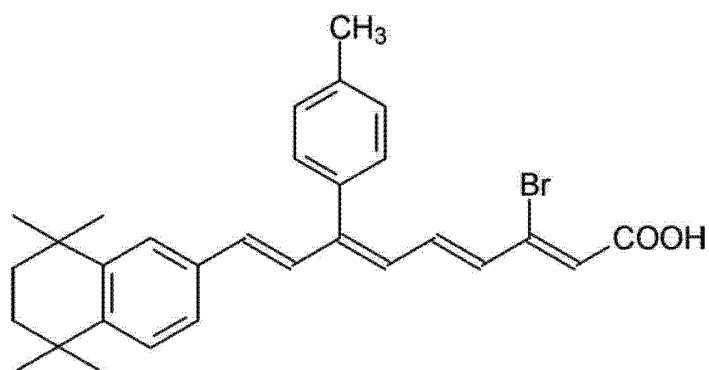
[0059]



化 合 物 3 8 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-3-硝基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-7-对甲苯基-2,4,6,8-四烯壬酸

[0060]

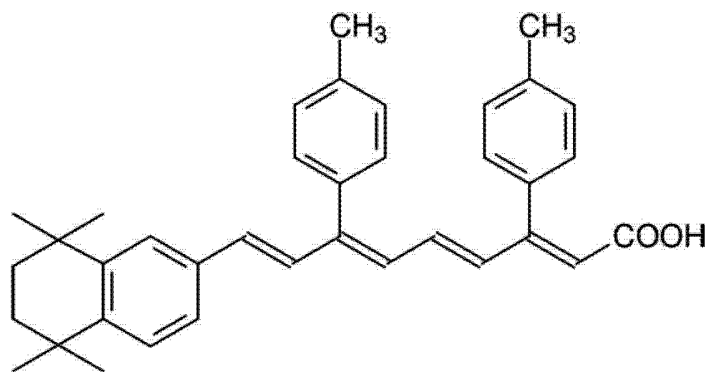


化 合 物 4 0 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-3-溴-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-7-对甲苯基-2,4,6,8-四烯壬酸

基-2,4,6,8-四烯壬酸

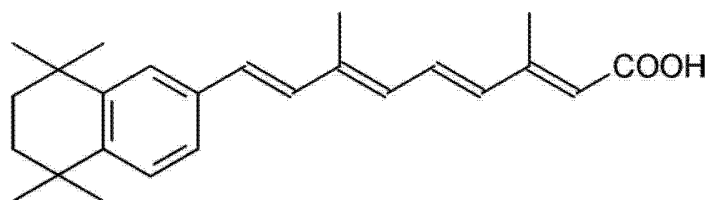
[0061]



化 合 物 4 2 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-3,7-二对甲基基-2,4,6,8-四烯壬酸

[0062]



化 合 物 4 4 :

(2E, 4E, 6E, 8E)-3,7-二甲基-9-(5,5,8,8-四甲基-5,6,7,8-四氢萘基-2-基)-2,4,6,8-四烯壬酸

[0063] 所述 R1' 优选为 COOH;所述芳香基优选为未取代或烷基取代的苯基;

[0064] 所述烷基取代苯基优选为单或多取代甲基苯基包括对甲基苯基或 2-甲基苯基或 2,4-二甲基苯基或 2,6-二甲基苯基或 2,4,6-三甲基苯基等。

[0065] 结构式(II)中,优选的,当 R1' 为 COOH;R2', R4', R5', R6', R8', R9' 均为 H;R3' 为 H 或 C1-C6 烷基, R7' 为 H 或 C1-C6 烷基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

[0066] 结构式(II)中,也可优选当 R1' 为 COOH;R2', R4', R5', R6', R7', R8', R9' 均为 H;R3' 为未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基。

[0067] 结构式(II)中,也可优选 R1' 为 COOH;R2', R4', R5', R6', R8', R9' 均为 H;R3' 为 H 或 C1-C6 烷基或未取代苯基或烷基取代苯基或卤素或硝基或烷氧基, R7' 为未取代或烷基取代苯基。

[0068] 所述烷基取代苯基优选为单或多取代甲基苯基包括对甲基苯基或 2-甲基苯基或 2,4-二甲基苯基或 2,6-二甲基苯基或 2,4,6-三甲基苯基等,最优选的烷基取代苯基为对甲基苯基。

[0069] 本发明的视黄酸及其衍生物可按照常规药物制剂的方法制成药学上可接受的各种剂型,然后按照药物剂型采用不同的给药方式。

[0070] 本发明所述的化合物结构参考文献(Nature, 372:107-110, 1994.)报道,可由专业的化合物合成服务机构提供,本发明使用的化合物来自上海药明康德新药开发有限公司。

[0071] 本发明的视黄酸及其衍生物化合物可以通过口腔,静脉,鼻腔,直肠或其他任何可以输送有效剂量的活性物质的方式给药。合适的剂量是那些能得到所需要的最终量的剂量。而防治不同的疾病也可能需要不同的剂量。

[0072] 具有常规技术的研究人员将能够确定本项发明所提供的试剂的最有效的给药剂

量和时间考虑给药方式,药物代谢,以及其他一些药代动力学参数例如药物分布,清除率等。

[0073] 活性的试剂可以通过一个药物载体或者稀释液给药。这项发明所提供的试剂还可以和其他试剂例如化疗或者免疫激活药物或者防治药物联合给药。对这项发明适用的药物载体或者稀释液的实例包括任何溶有水溶性有机载体的生理缓冲液,例如环糊精磷酸盐缓冲液以及 pH7.0 到 7.4 的含有合适的水溶性有机载体其它缓冲液。合适的水溶性有机载体包括但是不限于环糊精,玉米油,DMSO,胶囊等。

[0074] 本发明通过体内对老年痴呆模型进行例证。此处的动物包括但是不限于:小鼠,大鼠,驯养动物包括但是不限于猫,狗,以及其它一些动物例如但是不限于牛,羊,猪,马,灵长类动物例如但是不限于猴子和人。小鼠老年痴呆模型的体内检测是被广泛认可和接受的体内药物活性检测的模型,同时也可以为其它生物例如人,但是不仅限于人提供参考。

[0075] 本发明提供了一种视黄酸及其衍生化合物在制备预防防治老年痴呆疾病药物中的应用,通过给予视黄酸及其衍生化合物以及其制剂来抑制和阻断老年痴呆的发作。同时,本发明所使用的小分子药物易于获取,价格低廉,性质稳定,便于保存和运输。

## 具体实施方式

[0076] 下面的例子用以解释本发明,但是该相关技术领域的技术人员应当理解,其不应被视作对本发明实质精神的限制。

### [0077] 【动物实验例】

[0078] 视黄酸及其衍生化合物的口服液体制剂对老年痴呆动物模型(SAM-P/8)的治疗。

[0079] 1、实验动物:为7月龄日本快速老化痴呆小白鼠 SAM-P/8,体重 25-30g,雄性。7月龄雄性昆明种小鼠,体重 30-35g,2月龄昆明种小鼠,体重 25-30g。

[0080] 2、实验药物:分别将化合物用玉米油溶解,配成 2.0mg/ml 溶液备用。实验中使用的化合物编号和结构如上述中所示。

[0081] 3、主要试剂:

[0082] (1) SOD 测定试剂盒;

[0083] (2) 胆碱酯酶(CHE)测定试剂盒;

[0084] (3) 丙二醛(MDA)测定试剂盒;

[0085] (4) ATP 酶试剂盒;

[0086] 4、实验方法:

[0087] (1) 分组方法:取 376 只 7 月龄雄性日本快速老化痴呆小白鼠 SAM-P/8,将动物随机分成 47 组,每组 8 只,即老年痴呆模型组、分别用化合物治疗的治疗组。随机抽取 7 月龄雄性昆明种小鼠 8 只,为老年对照组。随机抽取 2 月龄雄性昆明种小鼠 8 只为青年对照组。

[0088] (2) 给药方法:治疗组用相应的药物灌胃给药,老年痴呆模型组、老年对照组和青年对照组灌等容量蒸馏水,各组每日灌药一次,连续灌药 30 日后处死动物。

[0089] (3) 观测的指标:

[0090] ①、处死动物前先进行行为学测试,采用爬杆法,标准分为 0 级:一步一步向下爬,1 级:向下滑行,2 级:不能抓住棒,3 级:翻正反射消失,小鼠的正常值为 0—0.3。

[0091] 行为学测试完毕后,将各组小鼠颈动脉取血 1.0ml,肝素抗凝,然后断头取脑,生理

盐水冲洗,沿矢状缝切开,左半球称重后加 9 倍生理盐水制备匀浆,右半球石蜡包埋,留作病理。

[0092] ②、SOD 测定 :取 1% 脑组织匀浆 50 μ l 加入相关试剂,用旋窝混匀器充分混匀,置 37℃ 恒温水浴 40 分钟,然后加入显色剂 2ml 混匀,然后导入 1cm 光径比色杯中,在波长 550nm 处比色,读 OD 值。

[0093] ③、MDA 测定 :取 10% 脑组织匀浆 0. 2ml,加入相关试剂,混匀,95℃ 水浴 40 分钟,取出后 3500-4000 转 / 分,离心 10 分钟,蒸馏水调零,523nm 处比色,读 OD 值。

[0094] ④、胆碱酯酶 (CHE) 测定 :取 10% 脑组织匀浆 0. 05ml 加 8 μ l/ml 乙酰胆碱应用液 0. 25ml,加缓冲液 0. 5ml 混匀,37℃ 水浴 20 分钟,加相关试剂混匀,3000-3500 转 / 分,离心 10 分钟,取上清,于 520nm 处 1cm 光径比色,空白管调零,读 OD 值。

[0095] ⑤、ATP 酶的测定 :取 2% 脑组织匀浆 100 μ l,加入相关试剂混匀,离心 3000-4000 转 / 分,10 分钟,取上清液 100 μ l 做定磷测试。各管取上清液 100 μ l,加定磷剂 2000 μ l,45℃ 水浴 20 分钟,蒸馏水调零,660nm 处测吸光度 OD 值。

[0096] 实验结果 :

[0097] 表 1 :视黄酸及其衍生化合物的口服液体制剂对 SAM-P/8 小鼠行为学的影响

[0098]

组别	例数(只)	行为学分值
模型对照组	8	2. 1397±0. 5443
老年对照组	8	0. 5000±0. 4728
青年对照组	8	0. 2500±0. 4678
化合物 1 治疗组	8	1. 1488±0. 5362
化合物 2 治疗组	8	1. 2682±0. 4940
化合物 3 治疗组	8	1. 2192±0. 7026
化合物 4 治疗组	8	1. 1834±0. 6419
化合物 5 治疗组	8	1. 3886±0. 3953
化合物 6 治疗组	8	1. 3177±0. 6988
化合物 7 治疗组	8	1. 1675±0. 5793
化合物 8 治疗组	8	1. 2966±0. 8178
化合物 9 治疗组	8	1. 3485±0. 5028
化合物 10 治疗组	8	1. 2733±0. 8125

化合物 11 治疗组	8	$1.3022 \pm 0.7074$
化合物 12 治疗组	8	$1.3288 \pm 0.4215$
化合物 13 治疗组	8	$1.1751 \pm 0.6960$
化合物 14 治疗组	8	$1.3122 \pm 0.4699$
化合物 15 治疗组	8	$1.2831 \pm 0.5088$
化合物 16 治疗组	8	$1.2092 \pm 0.3495$
化合物 17 治疗组	8	$1.2012 \pm 0.5800$
化合物 18 治疗组	8	$1.2468 \pm 0.7132$
化合物 19 治疗组	8	$1.2252 \pm 0.5309$
化合物 20 治疗组	8	$1.2188 \pm 0.4944$
化合物 21 治疗组	8	$1.1828 \pm 0.5856$
化合物 22 治疗组	8	$1.3514 \pm 0.8082$
化合物 23 治疗组	8	$1.2487 \pm 0.5494$
化合物 24 治疗组	8	$1.2484 \pm 0.4746$
化合物 25 治疗组	8	$1.1553 \pm 0.4617$
化合物 26 治疗组	8	$1.3629 \pm 0.5783$
化合物 27 治疗组	8	$1.3439 \pm 0.5097$
化合物 28 治疗组	8	$1.2128 \pm 0.6945$
化合物 29 治疗组	8	$1.3135 \pm 0.6175$
化合物 30 治疗组	8	$1.3310 \pm 0.3773$
化合物 31 治疗组	8	$1.2536 \pm 0.6949$
化合物 32 治疗组	8	$1.3614 \pm 0.5423$
化合物 33 治疗组	8	$1.3145 \pm 0.7824$
化合物 34 治疗组	8	$1.1484 \pm 0.4552$

化合物 35 治疗组	8	1.3257±0.7548
化合物 36 治疗组	8	1.2566±0.6743
化合物 37 治疗组	8	1.1942±0.3694
化合物 38 治疗组	8	1.2074±0.6954
化合物 39 治疗组	8	1.2244±0.4437
化合物 40 治疗组	8	1.3663±0.4839
化合物 41 治疗组	8	1.2313±0.3452
化合物 42 治疗组	8	1.3232±0.5641
化合物 43 治疗组	8	1.3674±0.6732
化合物 44 治疗组	8	1.1486±0.4905
化合物 45 治疗组	8	1.1584±0.4552
化合物 46 治疗组	8	1.3323±0.3752

[0099]

[0100]

[0101] 数据均以平均值 ± 标准差的形式加以显示,显著性差异通过 ANOVA 检验加以确定。从表 1 可看出,模型对照组与青年组相比,存在着明显的协调运动障碍,具有显著性差异( $P<0.01$ ),本发明与模型对照组相比,协调运动功能明显改善,具有显著性差异( $P<0.05$ )。

[0102] 表 2:视黄酸及其衍生化合物的口服液体剂对 SAM-P/8 小鼠脑组织 SOD 水平的影响

[0103]

组别	例数(只)	SOD (Nu/ml)
模型对照组	8	204.3639±24.7884
老年对照组	8	200.7885±21.0479
青年对照组	8	228.3011±23.4322
化合物 1 治疗组	8	239.0185±27.1578
化合物 2 治疗组	8	238.0249±25.0558



化合物 3 治疗组	8	$235.7177 \pm 27.0692$
化合物 4 治疗组	8	$237.1872 \pm 22.3882$
化合物 5 治疗组	8	$237.4883 \pm 24.7597$
化合物 6 治疗组	8	$235.1522 \pm 24.4475$
化合物 7 治疗组	8	$236.3348 \pm 25.7055$
化合物 8 治疗组	8	$239.7240 \pm 27.5597$
化合物 9 治疗组	8	$235.4961 \pm 27.9715$
化合物 10 治疗组	8	$235.7548 \pm 23.3026$
化合物 11 治疗组	8	$239.7173 \pm 25.2109$
化合物 12 治疗组	8	$237.2475 \pm 24.1269$
化合物 13 治疗组	8	$235.2748 \pm 22.2281$
化合物 14 治疗组	8	$236.0862 \pm 23.1317$
化合物 15 治疗组	8	$239.0942 \pm 23.8181$
化合物 16 治疗组	8	$235.5262 \pm 21.3240$
化合物 17 治疗组	8	$237.6951 \pm 22.1795$
化合物 18 治疗组	8	$234.7755 \pm 23.9273$
化合物 19 治疗组	8	$235.7911 \pm 26.0185$
化合物 20 治疗组	8	$234.3032 \pm 21.4635$
化合物 21 治疗组	8	$236.2181 \pm 23.4336$
化合物 22 治疗组	8	$238.8136 \pm 22.9527$
化合物 23 治疗组	8	$238.8591 \pm 24.4784$
化合物 24 治疗组	8	$238.4204 \pm 21.2383$
化合物 25 治疗组	8	$235.6401 \pm 23.6257$
化合物 26 治疗组	8	$236.9161 \pm 27.4711$

化合物 27 治疗组	8	237.5521 $\pm$ 25.0807
化合物 28 治疗组	8	235.1617 $\pm$ 27.1187
化合物 29 治疗组	8	236.0697 $\pm$ 22.4149
化合物 30 治疗组	8	239.9082 $\pm$ 24.7249
化合物 31 治疗组	8	235.5821 $\pm$ 24.5575
化合物 32 治疗组	8	236.1662 $\pm$ 26.0239
化合物 33 治疗组	8	239.0026 $\pm$ 27.6502
化合物 34 治疗组	8	237.8047 $\pm$ 28.9002
化合物 35 治疗组	8	235.0584 $\pm$ 23.5027
化合物 36 治疗组	8	236.3382 $\pm$ 25.5434
化合物 37 治疗组	8	239.2409 $\pm$ 24.4579
化合物 38 治疗组	8	235.7842 $\pm$ 22.6534
化合物 39 治疗组	8	237.9231 $\pm$ 23.5629
化合物 40 治疗组	8	234.6851 $\pm$ 24.0251
化合物 41 治疗组	8	236.1564 $\pm$ 21.4553
化合物 42 治疗组	8	234.8017 $\pm$ 22.4642
化合物 43 治疗组	8	236.2506 $\pm$ 24.0236
化合物 44 治疗组	8	239.2094 $\pm$ 26.4526
化合物 45 治疗组	8	235.6831 $\pm$ 24.5673
化合物 46 治疗组	8	236.1763 $\pm$ 26.0229

[0104]

[0105]

[0106] 数据均以平均值  $\pm$  标准差的形式加以显示,显著性差异通过 ANOVA 检验加以确定。从表 2 可以看出,本发明组脑组织 SOD 水平明显升高,与模型对照组相比具有显著性差异。

[0107] 表 3:视黄酸及其衍生化合物的口服液体制剂对 SAM-P/8 小鼠脑组织 MDA 水平的影响

[0108]

组别	例数(只)	SOD (Nu/ml)
模型对照组	8	95.2302±9.8932
老年对照组	8	81.6182±8.4055
青年对照组	8	17.8492±5.3441
化合物 1 治疗组	8	33.9502±7.5642
化合物 2 治疗组	8	34.7642±8.7854
化合物 3 治疗组	8	36.1643±5.6748
化合物 4 治疗组	8	32.6596±4.4362
化合物 5 治疗组	8	35.5697±5.6755
化合物 6 治疗组	8	34.6302±8.4653
化合物 7 治疗组	8	33.6406±6.7615
化合物 8 治疗组	8	35.5462±6.7689
化合物 9 治疗组	8	34.5023±5.6594
化合物 10 治疗组	8	33.9762±8.4509
化合物 11 治疗组	8	32.5805±7.4873
化合物 12 治疗组	8	36.6812±4.6478
化合物 13 治疗组	8	33.5506±8.6075
化合物 14 治疗组	8	35.3965±10.4754
化合物 15 治疗组	8	36.6566±8.4076
化合物 16 治疗组	8	31.9652±6.4885
化合物 17 治疗组	8	34.6062±6.6483
化合物 18 治疗组	8	36.5878±8.6795
化合物 19 治疗组	8	34.7665±11.6754

[0109]

化合物 20 治疗组	8	$36.6896 \pm 8.4076$
化合物 21 治疗组	8	$35.9652 \pm 7.0391$
化合物 22 治疗组	8	$34.6062 \pm 4.8372$
化合物 23 治疗组	8	$33.9502 \pm 9.8932$
化合物 24 治疗组	8	$34.7642 \pm 8.4055$
化合物 25 治疗组	8	$36.1643 \pm 5.3441$
化合物 26 治疗组	8	$32.6596 \pm 7.5645$
化合物 27 治疗组	8	$35.5697 \pm 8.7854$
化合物 28 治疗组	8	$34.6302 \pm 5.6748$
化合物 29 治疗组	8	$33.6406 \pm 4.4362$
化合物 30 治疗组	8	$35.5462 \pm 5.6755$
化合物 31 治疗组	8	$34.5023 \pm 8.4653$
化合物 32 治疗组	8	$33.9762 \pm 6.7615$
化合物 33 治疗组	8	$32.5805 \pm 6.7689$
化合物 34 治疗组	8	$36.6812 \pm 5.6593$
化合物 35 治疗组	8	$33.5506 \pm 8.4509$
化合物 36 治疗组	8	$35.3965 \pm 7.4873$
化合物 37 治疗组	8	$36.6566 \pm 4.6478$
化合物 38 治疗组	8	$31.9652 \pm 8.6075$
化合物 39 治疗组	8	$34.6062 \pm 10.4754$
化合物 40 治疗组	8	$36.5878 \pm 8.4076$
化合物 41 治疗组	8	$34.7665 \pm 6.4885$
化合物 42 治疗组	8	$36.6896 \pm 6.6483$
化合物 43 治疗组	8	$35.9652 \pm 8.6795$

化合物 44 治疗组	8	34.6062±11.6754
化合物 45 治疗组	8	36.5822±5.5583
化合物 46 治疗组	8	33.5606±8.3529

[0110] 数据均以平均值 ± 标准差的形式加以显示,显著性差异通过 ANOVA 检验加以确定。从表 3 可以看出,本发明组脑组织 MDA 水平明显降低,与模型对照组相比具有显著性差异 ( $P<0.01$ )。

[0111] 表 4:视黄酸及其衍生化合物的口服液体剂对 SAM-P/8 小鼠 CHE 水平的影响

[0112]

组别	例数(只)	SOD (Nu/ml)
模型对照组	8	67.3064±9.2085
老年对照组	8	58.0975±6.8819
青年对照组	8	56.3092±8.5184
化合物 1 治疗组	8	45.9028±5.1937
化合物 2 治疗组	8	45.4337±4.3591
化合物 3 治疗组	8	44.2408±2.9842
化合物 4 治疗组	8	47.0445±7.9765
化合物 5 治疗组	8	45.4058±2.1292
化合物 6 治疗组	8	42.0725±9.1091
化合物 7 治疗组	8	46.2704±6.6734
化合物 8 治疗组	8	45.4235±8.3396
化合物 9 治疗组	8	43.2703±7.4462
化合物 10 治疗组	8	45.2537±2.1422
化合物 11 治疗组	8	45.1182±9.3131
化合物 12 治疗组	8	41.6132±3.0763
化合物 13 治疗组	8	44.8548±8.8929
化合物 14 治疗组	8	43.8234±7.8942

化合物 15 治疗组	8	45.3072±3.3109
化合物 16 治疗组	8	40.6427±8.2676
化合物 17 治疗组	8	42.3504±1.3834
化合物 18 治疗组	8	45.5523±5.6672
化合物 19 治疗组	8	41.7804±2.4061
化合物 20 治疗组	8	43.4105±1.4212
化合物 21 治疗组	8	44.8042±1.0931
化合物 22 治疗组	8	41.1509±7.0149
化合物 23 治疗组	8	46.4347±9.4955
化合物 24 治疗组	8	45.4536±7.0796
化合物 25 治疗组	8	44.5923±8.4492
化合物 26 治疗组	8	46.9193±5.0925
化合物 27 治疗组	8	45.4626±4.6273
化合物 28 治疗组	8	42.2827±3.2042
化合物 29 治疗组	8	46.5959±7.7012
化合物 30 治疗组	8	45.2066±2.1754
化合物 31 治疗组	8	43.3294±9.5262
化合物 32 治疗组	8	44.9255±7.0413
化合物 33 治疗组	8	45.4272±8.3415
化合物 34 治疗组	8	40.9297±7.5404
化合物 35 治疗组	8	44.5816±2.4041
化合物 36 治疗组	8	43.2774±9.5624
化合物 37 治疗组	8	45.4853±3.2154
化合物 38 治疗组	8	40.4955±9.2253

化合物 39 治疗组	8	42.6485±7.9542
化合物 40 治疗组	8	45.2909±3.4615
化合物 41 治疗组	8	41.8485±8.3497
化合物 42 治疗组	8	43.0453±1.5478
化合物 43 治疗组	8	44.6983±5.7685
化合物 44 治疗组	8	40.6628±2.5456
化合物 45 治疗组	8	42.3837±3.2232
化合物 46 治疗组	8	46.56593±7.7120

[0113]

[0114] 数据均以平均值 ± 标准差的形式加以显示,显著性差异通过 ANOVA 检验加以确定。从表 4 可以看出,本发明组脑组织的胆碱酯酶(CHE)活性均明显降低,与模型对照组比较具有显著性差异(P<0.01)。

[0115] 表 5:视黄酸及其衍生化合物的口服液体制剂对 SAM-P/8 小鼠脑组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$  酶活力的影响

[0116]

组 别	例数 (只)	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力 $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{prot}/\text{h}$	$\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力 $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{prot}/\text{h}$
模型对照组	8	4.2368±0.8737	3.9848±0.5613
老年对照组	8	4.6284±0.6898	3.9553±0.7879
青年对照组	8	4.9812±0.8293	4.8363±0.9072
化合物 1 治疗组	8	5.8391±0.4581	5.6799±0.7063

[0117]

化合物 2 治疗组	8	$6.1607 \pm 0.8319$	$6.0357 \pm 0.8314$
化合物 3 治疗组	8	$5.9325 \pm 0.4879$	$5.9707 \pm 0.8995$
化合物 4 治疗组	8	$5.5345 \pm 0.7843$	$5.5678 \pm 0.7234$
化合物 5 治疗组	8	$6.2863 \pm 0.8673$	$5.4454 \pm 0.9916$
化合物 6 治疗组	8	$6.1506 \pm 0.9484$	$6.3124 \pm 0.8176$
化合物 7 治疗组	8	$5.7627 \pm 0.4348$	$5.9644 \pm 0.5245$
化合物 8 治疗组	8	$5.7505 \pm 0.7177$	$5.5451 \pm 0.6152$
化合物 9 治疗组	8	$5.8526 \pm 0.4319$	$6.0037 \pm 0.8104$
化合物 10 治疗组	8	$5.8535 \pm 0.3981$	$5.1675 \pm 0.6455$
化合物 11 治疗组	8	$5.7444 \pm 0.8876$	$5.8166 \pm 0.8955$
化合物 12 治疗组	8	$5.9279 \pm 0.4423$	$5.6882 \pm 0.8655$
化合物 13 治疗组	8	$5.5828 \pm 0.5332$	$6.0498 \pm 0.7189$
化合物 14 治疗组	8	$5.9364 \pm 0.4406$	$5.6583 \pm 0.8729$
化合物 15 治疗组	8	$5.7034 \pm 0.5283$	$5.4522 \pm 0.7702$
化合物 16 治疗组	8	$5.8693 \pm 0.4218$	$5.7976 \pm 0.8944$
化合物 17 治疗组	8	$5.5631 \pm 0.5541$	$5.6361 \pm 0.7722$
化合物 18 治疗组	8	$5.7416 \pm 0.5061$	$5.7296 \pm 0.7993$
化合物 19 治疗组	8	$5.9875 \pm 0.6407$	$6.0313 \pm 0.7897$
化合物 20 治疗组	8	$5.7383 \pm 0.7664$	$5.8705 \pm 0.8553$
化合物 21 治疗组	8	$5.7341 \pm 0.8014$	$5.0529 \pm 0.7733$
化合物 22 治疗组	8	$5.0038 \pm 0.9153$	$5.8327 \pm 0.8682$
化合物 23 治疗组	8	$5.4065 \pm 0.5214$	$5.8556 \pm 0.8625$
化合物 24 治疗组	8	$6.0549 \pm 0.8233$	$6.1097 \pm 0.8945$
化合物 25 治疗组	8	$6.0728 \pm 0.8906$	$5.8217 \pm 0.6469$
化合物 26 治疗组	8	$5.8741 \pm 0.9634$	$5.5553 \pm 0.8309$
化合物 27 治疗组	8	$6.1299 \pm 0.4578$	$5.2179 \pm 0.8686$
化合物 28 治疗组	8	$5.8905 \pm 0.7969$	$6.0376 \pm 0.6326$
化合物 29 治疗组	8	$5.6839 \pm 0.5012$	$6.1242 \pm 0.9276$
化合物 30 治疗组	8	$6.3155 \pm 0.4344$	$5.7541 \pm 0.8494$
化合物 31 治疗组	8	$6.1866 \pm 0.8257$	$6.1399 \pm 0.4974$
化合物 32 治疗组	8	$5.8438 \pm 0.4821$	$5.2976 \pm 0.9793$
化合物 33 治疗组	8	$5.7299 \pm 0.5842$	$5.8742 \pm 0.8146$
化合物 34 治疗组	8	$5.9125 \pm 0.3769$	$5.6449 \pm 0.6866$



[0118]

化合物 35 治疗组	8	5.7437±0.5394	5.8802±0.8673
化合物 36 治疗组	8	5.9444±0.4927	5.7074±0.8627
化合物 37 治疗组	8	5.8133±0.5447	5.3392±0.6975
化合物 38 治疗组	8	5.6926±0.4929	5.5602±0.8865
化合物 39 治疗组	8	5.7699±0.6667	5.5208±0.7545
化合物 40 治疗组	8	5.6119±0.7537	5.7083±0.9365
化合物 41 治疗组	8	5.9627±0.8341	6.0107±0.7939
化合物 42 治疗组	8	5.1368±0.8737	5.1480±0.5301
化合物 43 治疗组	8	5.9284±1.0898	6.0553±0.8791
化合物 44 治疗组	8	6.0812±0.8293	6.1363±0.9072
化合物 45 治疗组	8	5.7134±0.5382	5.4532±0.7582
化合物 46 治疗组	8	5.7865±0.4321	5.7867±0.879

[0119] 数据均以平均值 ± 标准差的形式加以显示,显著性差异通过 ANOVA 检验加以确定。从表 5 可以看出,本发明组脑组织 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活力水平明显上升,与模型对照组相比,具有显著性差异(P<0.01)。