

[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 200780006103.7

[51] Int. Cl.

*A61K 31/4188 (2006.01)*  
*A61P 7/02 (2006.01)*  
*A61P 9/10 (2006.01)*  
*C07D 491/107 (2006.01)*

[43] 公开日 2009年3月18日

[11] 公开号 CN 101389332A

[22] 申请日 2007.2.20

[21] 申请号 200780006103.7

[30] 优先权

[32] 2006.2.20 [33] JP [31] 041761/2006

[86] 国际申请 PCT/JP2007/053036 2007.2.20

[87] 国际公布 WO2007/097301 日 2007.8.30

[85] 进入国家阶段日期 2008.8.20

[71] 申请人 株式会社三和化学研究所

地址 日本爱知县

[72] 发明人 钟金淑子 钟森文 日比千寻

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责  
任公司  
代理人 樊卫民 郭国清

权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 4 页

[54] 发明名称

脑卒中中的脑缺血或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂

[57] 摘要

本发明的课题在于提供以与现有治疗药不同的机制显示出有效性、且可以长期服用的脑梗塞、脑出血等脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗药。本发明是以 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺作为有效成分的、脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗药。作为化合物,特别优选光学拆分后的(2S,4S)体的非达司他。

1. 一种脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂,以6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺作为有效成分。

2. 根据权利要求1所述的预防或治疗剂,其中,所述脑卒中为脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血或短暂性脑缺血。

3. 根据权利要求1所述的预防或治疗剂,其中,所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由针对急性期脑梗塞的溶栓疗法引起。

4. 根据权利要求1所述的预防或治疗剂,其中,所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由选自血肿清除术、血肿抽吸术及脑室引流术的外科治疗引起。

5. 根据权利要求1所述的预防或治疗剂,其中,所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由针对颈动脉阻塞或颅内主动脉狭窄/阻塞性病变的颈动脉支架置入术、旁路术或颈动脉内膜剥离术引起。

6. 根据权利要求1~5中任一项所述的预防或治疗剂,其中,所述6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺为(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺,通用名为非达司他。

7. 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺在制造脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂中的应用。

8. 根据权利要求7所述的6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-

咪唑啉]-2-甲酰胺的应用，其中，所述脑卒中为脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血或短暂性脑缺血。

9. 根据权利要求7所述的6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺的应用，其中，所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由针对急性期脑梗塞的溶栓疗法引起。

10. 根据权利要求7所述的6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺的应用，其中，所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由选自血肿清除术、血肿抽吸术及脑室引流术的外科治疗引起。

11. 根据权利要求7所述的6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺的应用，其中，所述脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤由针对颈动脉阻塞或颅内主动脉狭窄/阻塞性病变的颈动脉支架置入术、旁路术或颈动脉内膜剥离术引起。

12. 根据权利要求7~11中任一项所述的应用，其中，所述6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺为(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺，通用名为非达司他。

## 脑卒中中的脑缺血或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂

### 技术领域

本发明涉及 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺的新的药品用途。

### 背景技术

据估计,脑梗塞急性期患者数约为 37 万人,并且由于高血压患者、动脉硬化症患者以及糖尿病患者的增加,该患者数还会进一步增加。在脑梗塞、脑出血等脑卒中的治疗中,重要的是如何抑制与后遗症关系密切的急性期脑损伤。限定脑缺血急性期的组织预后的重要因素是残存血流和缺血时间。脑损伤是由脑血流中断导致的代谢紊乱所引起的,当缺血时间超过一定限度时,血管内皮细胞中发生变化,并且血脑屏障被破坏,从而血浆成分大量流入细胞间隙。一旦成为该状态,即使解除缺血状态脑组织也不能回到原状态,成为不可逆的细胞死亡状态,形成梗塞。如果在可逆状态时利用溶栓剂等进行血运重建而解除缺血状态,有可能防止脑损伤。

因此,作为对急性期脑梗塞的治疗,可以进行利用 t-PA(组织型纤溶酶原激活物)或 UK(尿激酶)等药剂的溶栓疗法。但是,即使血运重建成功,也可能引起再灌注损伤而使脑血管损伤恶化。特别是在血管内皮损伤发生的状态下大量施用 t-PA 等时,经常会引起脑出血并发症和脑梗塞恶化,因而还要限制溶栓疗法的实施时间在出现症状后的 3 小时以内。因此存在可接受 t-PA 治疗的患者不过是全脑梗塞患者的 5-10% 等诸多课题。为了进一步普及利用 t-PA 等溶栓疗法的血运重建法,课题是如何减轻由血运重建引起的再灌注损伤。最近,在日本,作为针对脑缺血再灌注损伤的治疗药,消除自由基的依达拉奉(edaravone)以“改善伴随脑梗塞急性期的神经症状、日常生活活动障碍等”为功效

而得到了认可。然而，即使在为该药剂的情况下，使用也大大受到了限制，例如，其应用被限制在出现症状后 24 小时以内、给药周期被限制在 14 天以内等。

另一方面，由于向脑组织供应营养的颈动脉或颅内主动脉产生病变，使脑循环降低、并在狭窄部位形成血栓，对于由该血栓导致灌注区的脑组织坏死的脑梗塞，开始进行外科治疗。具体来说，有针对颈动脉阻塞或颅内主动脉狭窄/阻塞性病变的颈动脉支架置入术、旁路术或颈动脉内膜剥离术等。然而，这些手术虽然有效，但手术产生的组织碎片、微小血栓碎片形成脑栓塞，存在不能完全防止新的脑梗塞后遗症或血栓溶解后的再灌注损伤的课题。

本申请公司发现的(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(通用名：非达司他)作为具有很强的醛糖还原酶(AR)抑制作用、并且即使长期服用也具有较高安全性的化合物而被开发，目前作为糖尿病性神经损伤治疗药的临床试验正在进行之中。

对于含有前述非达司他的乙内酰脲衍生物，在日本特开昭 61-200991 中记载了对糖尿病性神经损伤的应用，在日本特开平 6-135968 中记载了对伴随老化的各种疾病的应用，在日本特开平 7-242547 中记载了对单纯性糖尿病性视网膜病变的应用，在日本特开平 8-231549 中记载了对糖尿病性角膜病变的应用，在 WO2005/072066 中记载了对糖尿病黄斑病变的应用，在 WO2005/079792 中记载了对重症糖尿病视网膜病变的应用。另外，在日本特开平 4-173791 中记载了对循环系统疾病的应用，但是如公开技报 2006-500058 中所报道的，非达司他没有对凝血系统、循环系统的药理作用。即，没有对将非达司他作为脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂的应用进行过报道。

专利文献 1：日本特开昭 61-200991

专利文献 2: 日本特开平 6-135968

专利文献 3: 日本特开平 7-242547

专利文献 4: 日本特开平 8-231549

专利文献 5: WO2005/072066

专利文献 6: WO2005/079792

专利文献 7: 日本特开平 4-173791

非专利文献 1: 公开技报 2006-500058

### 发明内容

如前所述, 对于脑梗塞、脑出血等脑卒中、特别是急性期脑梗塞中脑梗塞区的扩大、脑水肿、神经症状的预防或治疗, 医疗领域强烈需要有效且安全性高的治疗方法。目前, 特别是从内科疗法及外科手术疗法的安全性方面出发, 强烈需要出现可以长期服用的安全性高的药物疗法。本发明考虑到这样的背景, 课题在于提供以与现有治疗药不同的机制显示出有效性、且可以长期服用的脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂。

因此, 本发明人为了阐明(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(通用名: 非达司他)对脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的效果, 利用广泛使用的小鼠大脑中动脉缺血再灌注损伤模型进行评价。其结果证实, 该药对由小鼠大脑中动脉缺血再灌注引起的神经症状、脑梗塞范围扩大有效。即, 本发明是以 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(包括外消旋体)作为有效成分的、脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂。

具体来说, 作为脑卒中, 可以列举出脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血及短暂性脑缺血。并且, 作为脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤, 可以列举出由针对急性期脑梗塞的溶栓疗法引起的损伤、由选自血肿清除术、血肿抽吸术及脑室引流术的外科治疗引起的损伤、由针对颈动脉阻塞或颅内主动脉狭窄/阻塞性病变的颈动脉支架置入术、旁路术

或颈动脉内膜剥离术引起的损伤。

并且，作为 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺，可以列举光学拆分后的(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(通用名：非达司他)作为优选的化合物。

当以其他方式表现本发明时，使用用于制造脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂的 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺。对此，与前述药剂的发明相同，几个下位概念的发明也成立。

#### 附图说明

图 1 示出了非达司他对脑梗塞范围(治疗效果)的效果。

图 2 示出了非达司他对脑梗塞范围(预防效果)的效果。

图 3 示出了 AR 基因缺陷对脑梗塞范围的效果。

图 4 示出了非达司他对脑梗塞体积(治疗效果)的效果。

图 5 示出了非达司他对脑梗塞体积(预防效果)的效果。

图 6 示出了 AR 基因缺陷对脑梗塞体积的效果。

#### 发明效果

本发明提供脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血及短暂性脑缺血等脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂。特别是当将非达司他作为药物使用时，提供在低用量下显示出显著的效果、可以长期给药且安全性高的药物疗法。

#### 具体实施方式

以下，对本发明进行更加详细地说明。

本发明是以 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(包含外消旋体)作为有效成分的、脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血

再灌注损伤的预防或治疗剂。具体来说，作为脑卒中，可以列举出脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血及短暂性脑缺血。并且，作为脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤，可以列举由针对急性期脑梗塞的溶栓疗法引起的损伤、由选自血肿清除术、血肿抽吸术及脑室引流术的外科治疗引起的损伤、由针对颈动脉阻塞或颅内主动脉狭窄/阻塞性病变的颈动脉支架置入术、旁路术或颈动脉内膜剥离术引起的损伤。本发明的脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗剂，在由于脑卒中而表现的症状中，特别是对脑梗塞部位扩大、脑水肿、核心症状或神经功能缺损有效。

本发明还涉及所有的 AR 抑制剂作为脑卒中中的脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤的预防或治疗药。作为 AR 抑制剂，可以优选列举出乙内酰脲衍生物，例如 6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺。其中，特别优选为光学拆分后的(2S,4S)-6-氟-2',5'-二氧代螺[苯并二氢吡喃-4,4'-咪唑啉]-2-甲酰胺(通用名：非达司他)。另外，作为 AR 抑制剂，可以列举出雷尼司他(AS-3201)、ARI-809、依帕司他、唑泊司他、折那司他、托瑞司他、咪瑞司他、泊那司他、ボクリスタット(Voglistat)、TAT(wp-921)、M-160209、SG-210 及 NZ-314 等。

本发明的视网膜神经或视神经的保护剂根据所选化合物而不同，根据通常的制剂技术，例如，可以作为片剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、液体制剂或糖浆剂口服给药，或者作为滴眼剂、注射剂或栓剂等非口服给药。对于制剂化，在固体制剂的情况下，制剂时可以使用药理学上可接受的赋形剂，例如淀粉、乳糖、精制白糖、葡萄糖、结晶纤维素、羧基纤维素、羧甲基纤维素、羧乙基纤维素、磷酸钙、硬脂酸镁及阿拉伯树胶等，如果需要，可以配合润滑剂、粘合剂、崩解剂、涂膜剂及着色剂等。另外，在液体制剂的情况下，可以使用稳定剂、增溶剂、混悬剂、乳化剂、缓冲剂及保存剂等。给药量根据所选化合物、症状、年龄、给药方法及剂型而不同，但在通常情况下，对于成人在每天 0.1~200mg 的范围内施用本发明化合物，优选将 1~100mg 本发明



化合物每天 1 次或分多次进行连续多天给药。以上的说明，特别是在使用非达司他的情况下最优选。

## 实施例

### 1. 试验方法

作为评价体系，使用小鼠急性期脑梗塞模型，即小鼠大脑中动脉阻塞模型。实验由以下 3 个实验构成：评价非达司他的治疗效果的实验 1(对照组和非达司他给药组)、评价非达司他的预防效果的实验 2(对照组和非达司他给药组)以及评价 AR 的作用的实验 3(野生型小鼠组和 AR 基因缺陷小鼠组)。

使用小鼠(C57BL/6J 品系，体重 22-28g)在气体麻醉下，通过线栓法进行 2 小时右侧大脑中动脉阻塞(MCAO)。其后解除麻醉，在 32℃下，使小鼠处于重症监护系统(ThermoCare Inc)中 4-6 小时。使用神经症状、脑梗塞范围及脑梗塞体积作为评价项目。

根据再灌注 22 小时后、0：无神经学上的缺陷(正常)、1：对侧前爪的伸展(轻度)、2：对侧性旋转行为(中度)、3：丧失步行及直立反射(重度)的 4 个得分进行评价。

脑梗塞范围及脑梗塞体积的评价如下进行。即，对神经症状进行评价后，立即取出小鼠的脑，切为 6 个厚 2mm 的冠状切片。为了表现出梗塞部位，于暗室中使用 2%氯化三苯基四氮唑(TTC)染色 15 分钟，然后在 10%福尔马林缓冲液中固定一晚。对各脑切片的后部表面进行拍照，使用数码分析系统(NeuroLucida, MicoBrightfield Inc.)进行分析。通过间接法计算脑梗塞范围、脑梗塞体积(%)。

另外，在评价治疗效果的实验 1 中，在再灌注 15 分钟前施用 2mg/kg 非达司他，在评价预防效果的实验 2 中，在阻塞 30 分钟前施用 10mg/kg 非达司他，对照组仅施用溶剂，均为强制胃内给药。

## 2. 结果

### (1)对神经症状的效果

实验 1、2 的结果如表 1、2 所示。非达司他对缺血再灌注后可见的神经症状恶化显示出显著的效果。并且，实验 3 的结果如表 3 所示。在 AR 基因缺陷小鼠中也显示出了显著的效果。非达司他的效果与 AR 基因缺陷的效果为相同程度。

[表 1]

神经症状

神经得分的分布

神经得分	0	1	2	3	(死亡)	Mean±SEM
载体(n=9)	0	1	7	1	(n=2)	2.00±0.17
非达司他(n=9)	0	7	2	0	(n=2)	1.22±0.15*

\*P<0.02(曼-惠特尼检验(Mann Whitney test))

[表 2]

神经症状

神经得分的分布

神经得分	0	1	2	3	Mean±SEM
载体(n=9)	0	2	7	0	1.77±0.14
非达司他(n=9)	0	7	2	0	1.22±0.14*

\*P=0.05(曼-惠特尼检验)

[表 3]

神经症状

神经得分的分布

神经得分	0	1	2	3	Mean±SEM
AR <sup>+/+</sup> (n=7)	0	0	4	3	2.43±0.20
AR <sup>-/-</sup> (n=8)	0	5	3	0	1.38±0.18*

\*P<0.01(曼-惠特尼检验)

## (2)对脑梗塞范围及脑梗塞体积的效果

实验 1、2 的结果为，非达司他显著抑制了缺血再灌注后可见的脑梗塞范围(图 1、2：均为脑切片 No3、4)。并且，在实验 3 的 AR 基因缺陷小鼠中也显示出了显著的效果(图 3：脑切片 No3、4)。非达司他与 AR 基因缺陷的效果大致为相同程度。另外，在脑梗塞体积方面也得到了相同的结果(图 4、5、6)。

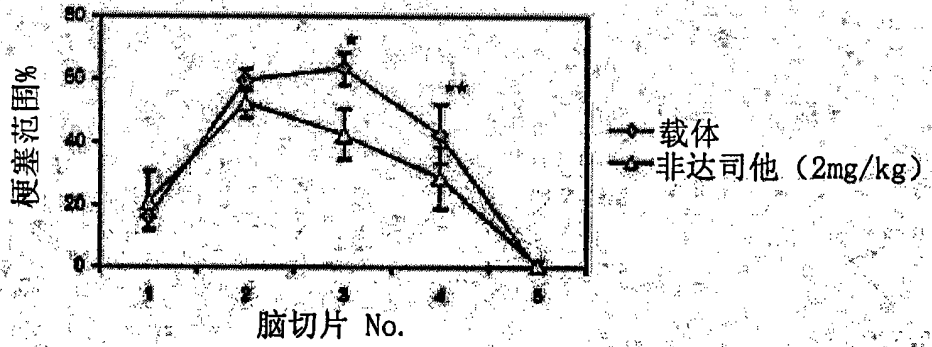
## 3. 讨论

在小鼠大脑中动脉阻塞模型中，确认了非达司他对脑缺血再灌注后可见的神经症状、脑梗塞范围及脑梗塞体积的有效性。因此，显示出非达司他作为脑梗塞、脑出血、蛛网膜下腔出血及短暂性脑缺血等脑卒中、特别是由急性期脑梗塞中的脑血栓或脑梗塞引起的神经症状恶化及脑梗塞区域扩大的预防或治疗剂的可能性。

并且，该缺血再灌注模型是与急性期脑梗塞中的溶栓疗法相似的病例状态，在作为利用溶栓疗法药剂的血运重建而引起的再灌注损伤的脑梗塞恶化的预防和治疗方面，非达司他明确地显示出了有效性。

另外，在 AR 基因缺陷小鼠中，也可见与施用非达司他相等同的、对神经症状恶化、脑梗塞范围及脑梗塞体积扩大的抑制效果。由该实验结果可知，这些效果是通过抑制 AR 而产生的效果。即表明，其他的 AR 抑制剂在预防或治疗脑缺血损伤或脑缺血再灌注损伤方面也显示出有效性。

### 脑梗塞范围

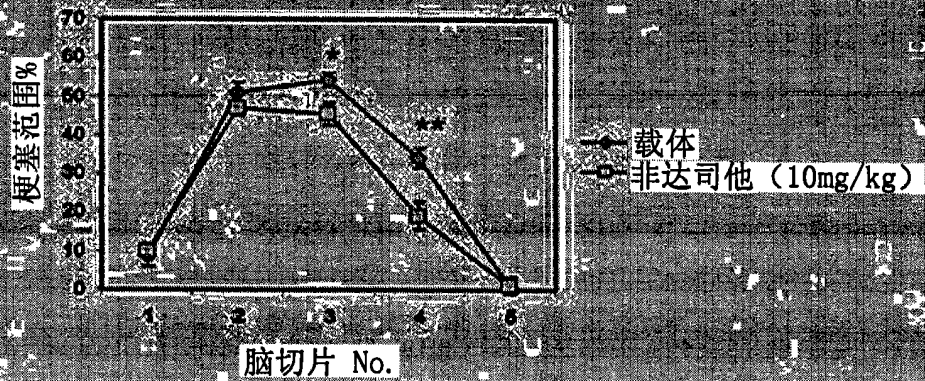


脑切片	No	1	2	3	4	5
载体	n=9	15.8 ± 2.8	59.1 ± 2.6	62.7 ± 3.4	42.4 ± 6.2	0.1 ± 0.6
2 mg/kg	n=9	20.1 ± 8.2	53.8 ± 3.0	49.1 ± 5.3*	23.9 ± 6.6**	-0.2 ± 0.4

\* P < 0.04      \*\* P < 0.05

图1

### 脑梗塞范围

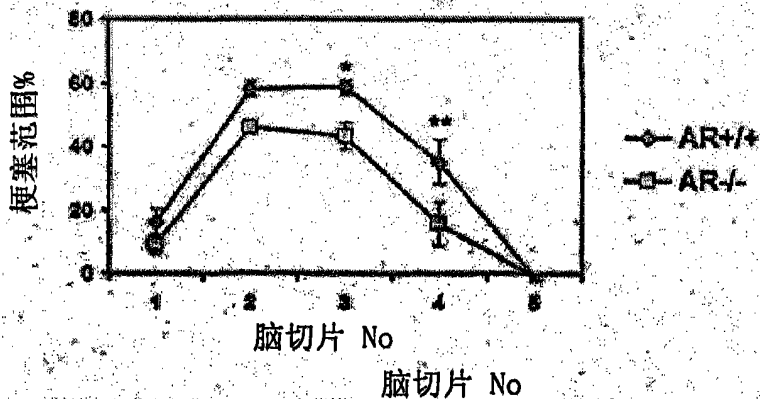


脑切片	No	1	2	3	4	5
载体	n=9	8.74 ± 2.88	50.8 ± 2.54	54.12 ± 1.88	34.05 ± 2.45	1.15 ± 2.01
10 mg/kg	n=9	9.73 ± 1.89	46.93 ± 1.86	45.55 ± 2.88*	19.15 ± 3.54**	0.95 ± 2.21

\* P < 0.03      \*\* P < 0.005

图2

### 脑梗塞范围



脑切片 No	1	2	3	4	5
AR+/+ n=7	16.20 ± 3.82	67.81 ± 2.25	68.72 ± 2.11	35.02 ± 7.14	-1.07 ± 1.10
AR-/- n=8	8.02 ± 3.01	46.01 ± 2.22*	43.29 ± 4.02**	15.58 ± 6.81	-1.02 ± 0.71

\*P<0.003    \*\*P<0.007    P=0.07

图3

### 脑梗塞体积

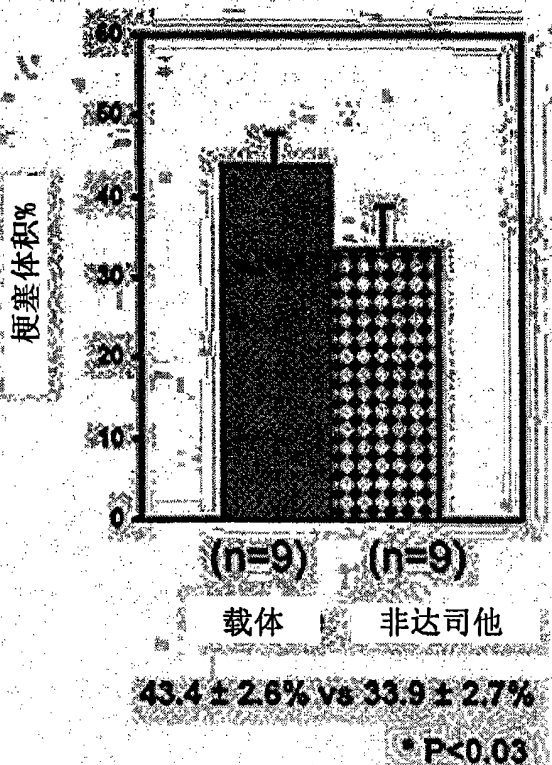


图4

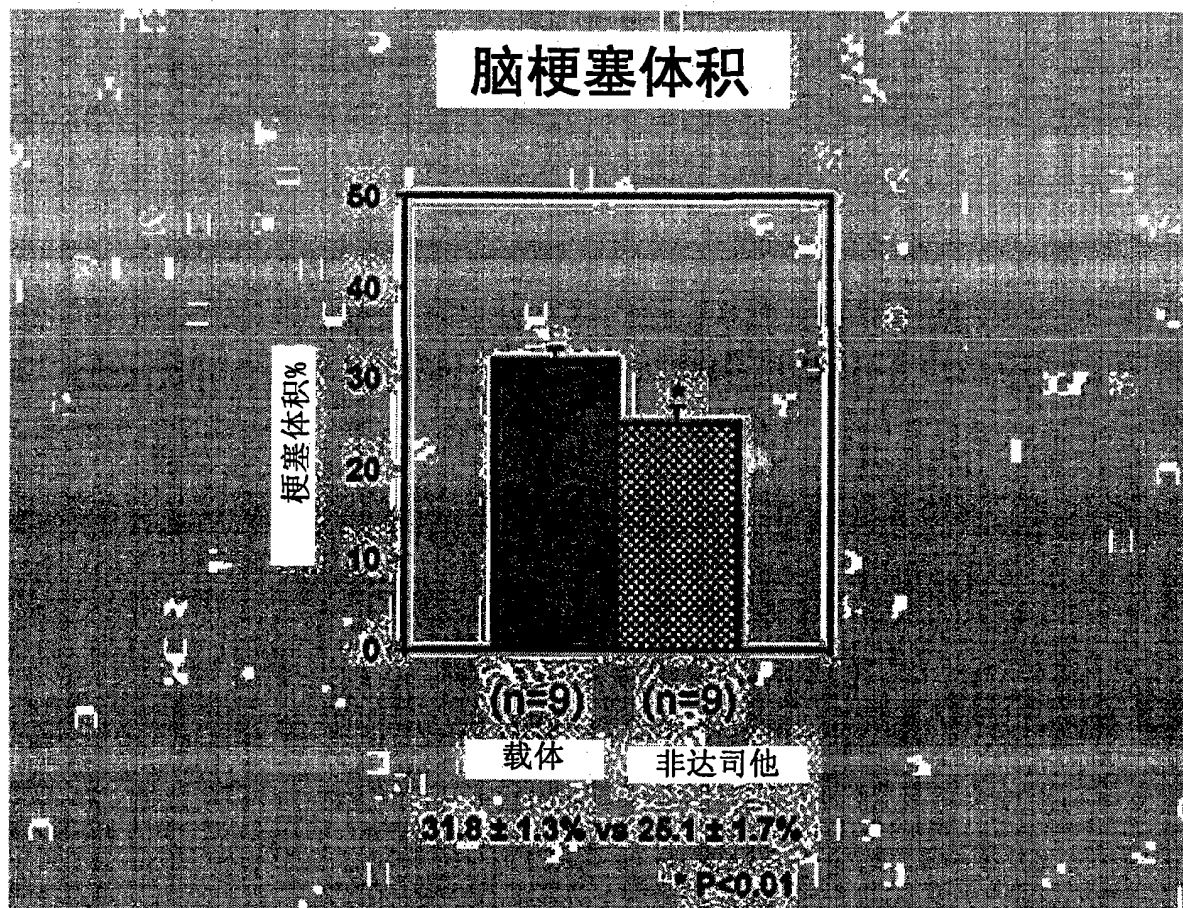


图5

### 脑梗塞体积

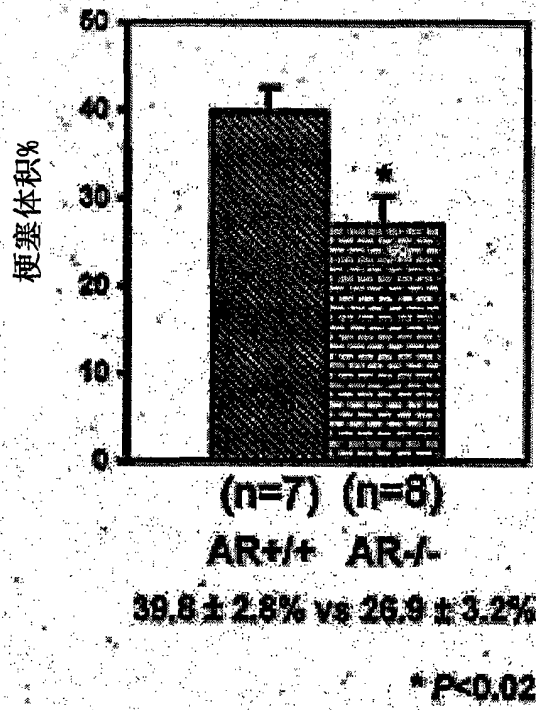


图6