



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 93100697.X

[51] Int.Cl⁵

A61K 31/55

[43] 公开日 1993 年 7 月 28 日

[22] 申请日 93.1.20

[30] 优先权

[32] 92.1.21 [33] US [31] 823,495

[71] 申请人 麦克公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 P·马罗加

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 孟八一 卢新华

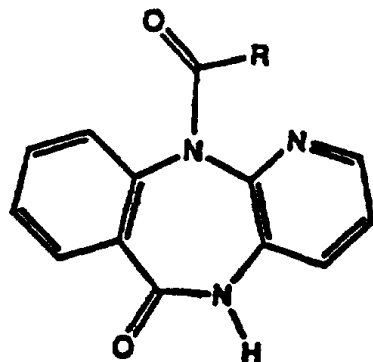
说明书页数: 16

附图页数:

[54] 发明名称 在轴性近视的治疗中使用 M₁ 选择性
抗毒蕈碱的吡啶苯并二氮杂酮的方法

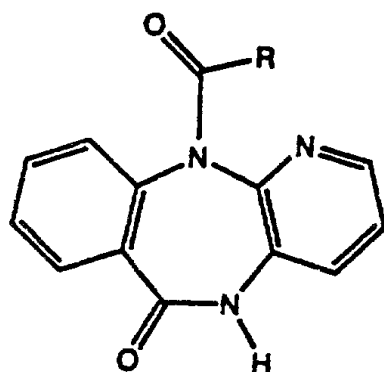
[57] 摘要

通过在眼部施药的途径, 其式所代表的吡啶苯并二氮杂酮(其中 R 为被 C₁₋₅ 烷基取代的嘧啶)用于预防动物眼睛视轴长度的不正常增加, 因而也即防止轴性近视的进一步发展。这类化合物的药理学特性为: 它们有选择地拮抗乙酰胆碱与 M₁-型毒蕈碱受体的结合。



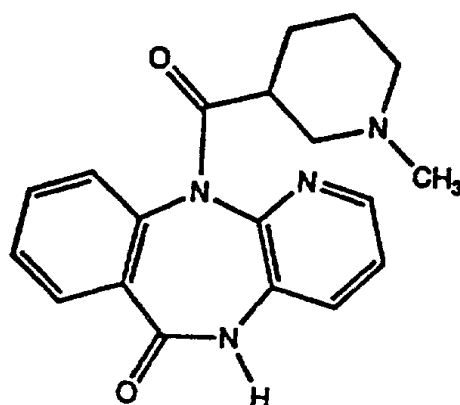
(BJ)第1456号

1、一种防止动物眼睛视轴长度不正常增加的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物

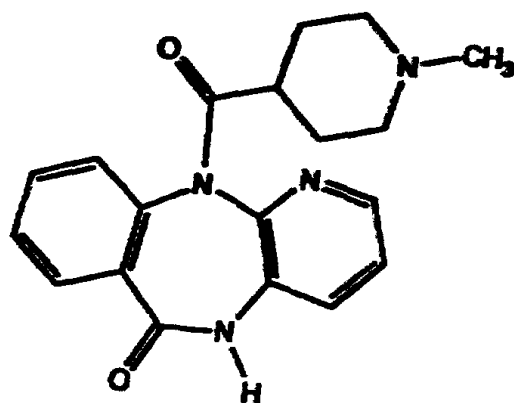


其中R为被C₁₋₅烷基取代的哌啶。

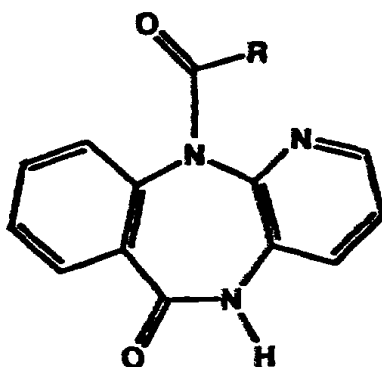
2、一种防止动物眼睛视轴长度不正常增加的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物



3、一种防止动物眼睛视轴长度不正常增加的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物

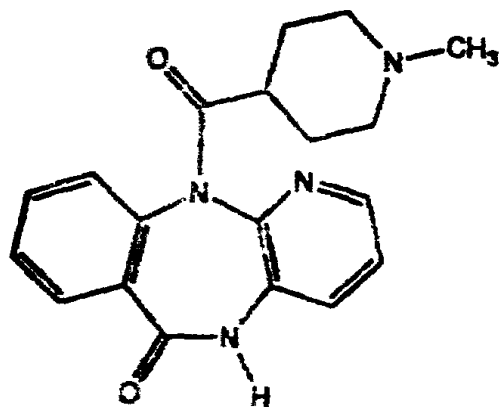


4、一种防止动物眼睛轴性近视进一步发展的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物

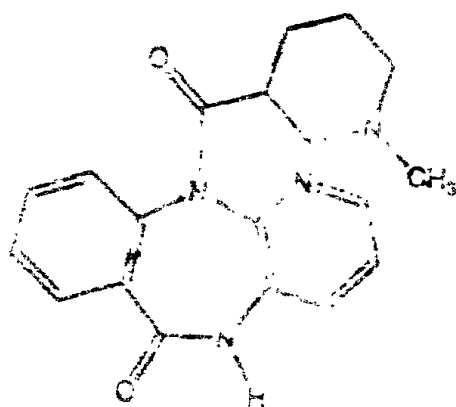


其中R为被C₁₋₅烷基取代的哌啶。

5、一种防止动物眼睛轴性近视进一步发展的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物



6、一种防止动物眼睛轴性近视进一步发展的方法， 该方法包括在所说的动物的眼部施以药理学上有效量的下式化合物



在轴性近视的治疗中使用M₁-
选择性抗毒蕈碱的吡啶苯并二氮革酮的方法

本发明一般涉及控制眼病的发展，特别涉及眼的治疗以预防和/或阻止近视的发展。

近视折磨着世界上约25%的人口，尤其是折磨着一视种族、地理分布和教育水平而定—世界上15—75%的青年人。所有近视眼中大约有一半属于轴性近视，即眼沿着视轴伸长。

人刚出生时眼睛的大小约为成年人的三分之二，主要是沿视轴即长轴方向上较短。其结果是儿童多为远视。在儿童期，由于眼睛在长大，有一种补偿机制控制着角膜和晶体结构变化，以因应儿童生长期中眼睛长度的增长。这一过程通常十分完美，以致在一定距离上做精确观察时无需进行矫正，然而，一旦调节机制出了毛病，眼睛则倾向于沿长轴方向伸长。结果，远处的物象聚焦在视网膜平面的前方，对患者来说，结果就是轴性近视。

近视并非眼睛的轻度发育不良。在其病理状态下，由于视网膜伸展变性，巩膜不断生长，导致永久性失明。对这种情况进行手术治疗是困难的，而且常常是不成功的。

即使是在不那么严重的情况下，近视在儿童发育期的关键阶段对孩子的形象本身也有影响。戴眼镜的孩子，不论公正与否，被认为是书呆子，内向，不善运动(Curtin, 1985)。由于有这样一些童

年的记忆，患有近视的父母常常特别热切地向医生询问有关的治疗方法，以求在他(她)的孩子被诊断为近视后阻止其进一步发展。

而且，对近视的光学矫正既不能十全十美，又并非没有危险。在美国约有二千四百万人配戴隐形眼镜，预期在未来的五年中这个数目将会翻一番。不管隐形眼镜配得多么合适，戴得如何小心，配戴这种眼镜会引发从变应性反应到因角膜溃烂导致的永久性失明等各种并发症。后一种情况是如此严重，以致联邦食品药品监督管理局(FDA)将其所推荐的持续配戴隐形眼镜的时间从30天减为“一到七天”。1988年医院急诊室收治和报道的因配戴隐形眼镜而致伤的病人逾20,000例。

尽管配戴普通眼镜不会发生大多数上述危险，能忍受隐形眼镜折磨的隐形眼镜配戴者们仍证明了配戴普通眼镜不是一种可接受的选择。结果，在用常规手术刀或激光手术刀做角膜手术以矫正近视方面做了大量努力。但不论是哪一种手术治疗，其结果都是不易恢复原状或无法充分预知。在美国有成千上万的患者不顾这类外科治疗可能造成的永久性视力损害的危险，做了放射状角膜切开手术。

虽然近视的光学矫正和手术矫正可以矫正眼睛的屈光状态，但这些治疗无助于阻止发育期眼睛的不正常伸长。调查表明，即使是低度的近视(屈光度-1.00~-5.00)也易使患者发展成青光眼(Perkins, 1982)。近视眼的视网膜扩展变薄，容易造成视网膜脱离。因此许多研究都指出近视是一种可发展成视网膜脱离的危险因素。所有上述情况突出表明，需对近视进行药理学的治疗。

以前所能用的依赖于用药的治疗方法都是从使用睫状肌麻痹剂开始。睫状肌麻痹剂是局部使用的药物，可使眼的睫状肌松弛，而

睫状肌则是通过控制晶体的大小使眼聚焦的肌肉。

经典的睫状肌麻痹剂是已使用了一个多世纪的颠茄碱阿托品。阿托品是一种长效的非特异性抗毒蕈碱药，它拮抗受副交感神经系统的节后胆碱能神经支配的自主效应细胞中神经传导乙酰胆碱 (ACh) 的作用。

1971年，Bedrossian 完成了一项历时两年的在75名近视儿童中进行的交叉研究。第一年在孩子睡觉的时间局部使用1.0%阿托品治疗右眼，第二年治疗左眼。如表1所示，受到治疗的眼睛的近视程度不再发展(见表1)。

表1 1.0%阿托品对近视眼的作用

(Bedrossian, 1971)

[屈光度的平均改变]

[+为远视度，-为近视度]

	右眼	左眼
第1年	+0.20	-0.85
第2年	-1.05	+0.17

$P < 0.01$

其后的一项研究证实了第一次研究的结果，并指出使用阿托品延缓近视程度的发展在九岁以下的儿童中起的作用最大(见表2)。

表2 近视程度的进展 (Brodstein, 1984)

[每年屈光度的加深]

[+为远视度，-为近视度]

开始治疗时的年龄	1.0%阿托品	对照
9岁以下	-0.23	-0.69
9—12岁	-0.24	-0.48
13岁以上	-0.20	-0.23

阿托品并未广泛地用于延缓近视程度的发展，因为它的作用还包括扩大瞳孔而致目眩，并抑制眼的聚焦。而这对需近距离视觉的工作，如阅读，是有害的。除了使患者感到不舒服之外，有证据表明长期使用阿托品或其它长期的睫状肌麻痹剂，当视网膜暴露于强光下时会受到损害。

最近发现有选择活性的抗毒蕈碱药剂可用于治疗近视。眼睛的后部，特别是视网膜上决定成象质量的区域因而也即神经系统的一个延伸部分是与眼睛生长的后天调节相联联系的，关于这一点有大量确凿的证据，于是才可能有上述发现。有明显的证据表明，视网膜成象质量的降低导致了近视。在鸟类或灵长类，通过缝合眼睑或给戴一付象散镜而使视网膜不能成象，均可实验性地引起轴性近视。在鸟类或灵长类(如猴子)中引起的实验性近视酷似人的普通的轴性近视。

因此，动物的视觉过程显然有助于一种反馈机制，眼的后天生长通过这种反馈机制得到正常的调节，并觉察出屈光的错误。这表明这种机制是神经调节的，可能源于视网膜。R. A. Stone 等发现了一种方法来控制成长中的动物眼睛的不正常的后天生长。该方法包括对存在的一种神经化学物质，其促效物质和拮抗物质，进行调控。在动物成长的过程中这种神经化学物质发生改变，从而导致不正常的轴性伸长。其中揭示出，在通常导致发展成近视的、眼睛不能成

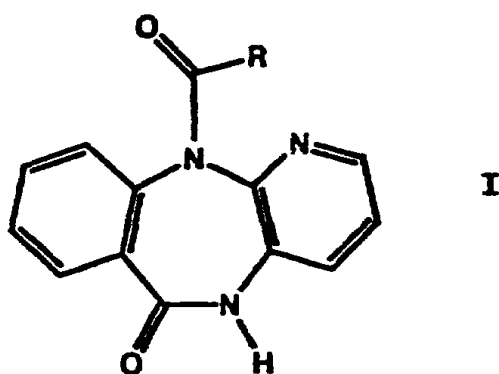
象的实验动物，如小鸡或猴子中，视网膜的某些神经化学物质的代谢改变导致了这些物质在视网膜中浓度的变化。尤其是，在这种成象丧失期间，发现多巴胺的视网膜浓度降低了，在眼上用与多巴胺有关的药物如阿朴吗啡（一种多巴胺的促效药），在通常导致轴性伸长的条件下可以抑制或实际上可以防止眼睛的轴性伸长。

近来对胆碱能神经系统有了更进一步的认识。胆碱能受体是包埋在细胞膜上的蛋白质，它们对乙酰胆碱起反应。这些受体主要分为烟碱受体和毒蕈碱受体。在这方面，目前已知毒蕈碱受体并非全都属于一种类型，最近的研究结果表明，胆碱能性毒蕈碱受体至少有五种类型（ M_1-M_5 型），如果不是更多的话。 M_1 型受体数量很多，被认为主要存在于脑神经组织和神经节中。其它类型的受体富集在其它组织中，例如心脏、平滑肌组织或腺体。虽然许多能作用于毒蕈碱受体的药理学的药物可以影响多种类型的受体，但已知有些药物主要作用于某一类型的受体，对之有相对的选择性，而其它药物则能对另一种不同的受体有相对的选择作用。而其它的药物也可以对多种甚至所有类型的受体都有明显的作用。例如，已知哌吡二氮䓬（胃西平，LS 519）5，11-二氢-11-[(4-(甲基-1-哌嗪)乙酰)-6H-吡啶并[2,3-b][1,4]苯并二氮䓬-6-酮，及其二盐酸盐，是抗胆碱能，抗毒蕈碱的，对 M_1 型受体有相对的选择性。又已知4-DAMP（4-二苯乙酰氧基-N-甲基哌啶碘甲烷盐）是一种有相对的选择性的平滑肌拮抗药（一般称作 M_3 型，但因近来对受体的分型经常变动，又有称作 M_2 或 M_3 型的）。相反，据信阿托品作为上述一种睫状肌麻痹药，是一种对所有各型胆碱能毒蕈碱受体都有作用的非特异性拮抗药。

哌吡二氮革基本上是一种M₁拮抗药，它能阻止眼的轴性伸长，但其扩瞳作用则远不如阿托品或其它睫状肌麻痹药。因此就有可能不用扩瞳和不使睫状体的调节活动停下来而抑制近视的发展。

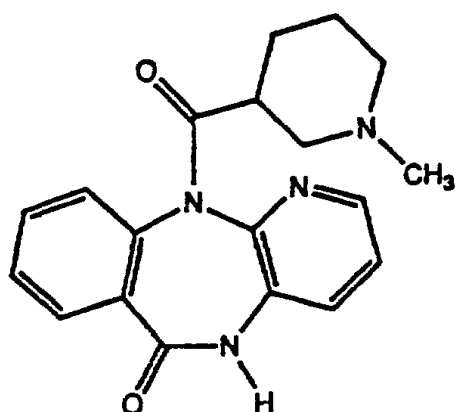
但哌吡二氮革也有一个缺点。给一个发育中的孩子长时间地在眼睛局部用药，则希望眼的致敏作用越小越好。致敏检测中，哌吡二氮革试验阳性。因此在这项技术中需要一种有选择性的抗毒蕈碱药物，它可用于治疗近视，但不引起扩瞳，不影响睫状体的调节作用，而且所引起的致敏作用要低于哌吡二氮革。

本发明是使用式I化合物及其药学上可采用的盐的方法：

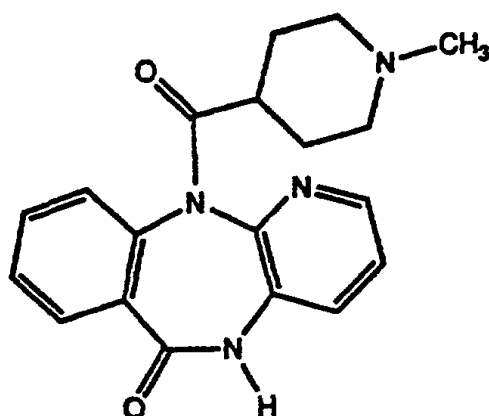


此处R为被C₁₋₅烷基取代的哌啶，在眼睛上使用这种化合物治疗近视时，它将防止眼睛视轴长度的不正常增加。

特别是利本西平 (rispenzepine, 乌仑西平 (ulenzepine))

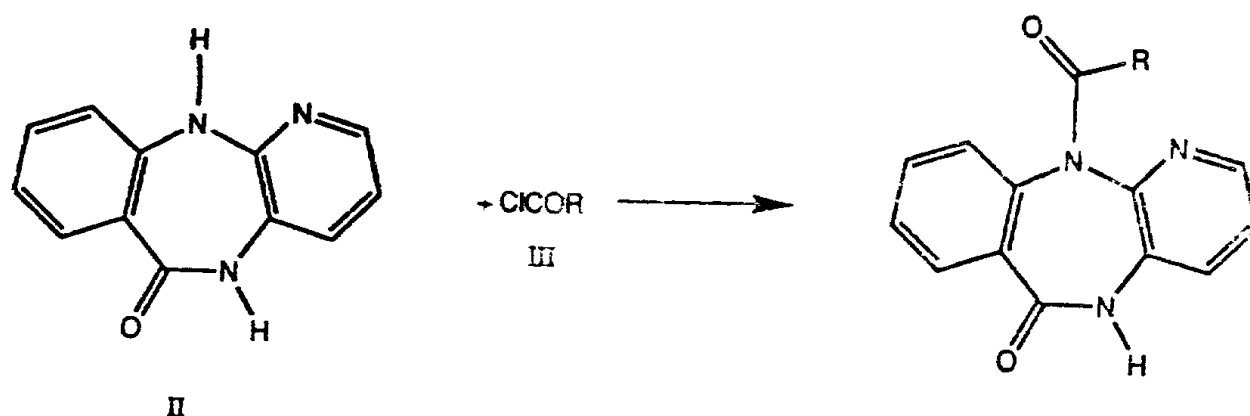


和奴芬西平 (nuvenzepine)



可被用于本发明的方法中。通过这些化合物施用在眼睛上以防止眼睛视轴的不正常延长，就防止了轴性近视的进一步发展。

式I化合物的制备，是以式II化合物为起始原料 (J. Med. Chem. 6, 255, 1963; Bull. Soc. Chim. Fran. 7, 2316, 1966; 和 German Pat. No. 1, 179, 943)，按下述方案与式III化合物的酰基氯进行酰化作用而制备的：



此处的R如前所限定，即为被C₁₋₅烷基所取代的哌啶。反应的进行条件为：在极性溶剂，如二甲基甲酰胺和二甲基亚砷中；在碱，如三乙胺、碱金属氢氧化物和碱金属碳酸盐存在下；于室温到150℃ 下进行反应；反应时间为2—24小时。

具代表性的药学上可采用的盐包括，例如，盐酸盐和马来酸盐。一般是在惰性溶剂中使核心化合物与1—3当量的相应的酸结合制备酸加成盐。然后使溶剂蒸发将盐析出，或者如果盐自发沉淀出来，则将盐滤出；或者用一种共溶剂或非极性的共溶剂使盐沉淀，再将其滤出。

“药理学上的有效量”指的是兽医或医生在探寻的、能够引起组织、系统或器官发生生物学的或医学反应的药物的量。

“烃基”一词指直链的或支链的烷烃或烯烃。

“取代”一词被认为包括被一个指定的取代基多重取代。

使用很容易得到的起始材料、试剂和常规的合成方法，按下面所详述的实施例，可以很容易地制备本发明的方法所用的化合物。在这些反应中也利用那些变换的方法，这些方法本身是本专业一般技术人员共知的，但没有在此十分详尽地述及。美国专利4, 556, 653号提供了另外的背景资料，其全部公开内容作为参考

并入本发明。

实施例1

11-(1-甲基哌啶-3-羰基)-5, 11-二氢-6H-吡啶并[2, 3-b][1, 4]苯并二氮革-6-酮

将1-甲基哌啶-3-甲酰氯盐酸盐 (4.7 g) 加到含5, 11-二氢-6H-吡啶并[2, 3-b][1, 4]苯并二氮革-6-酮(5 g)和三乙胺(7.5 ml)的二甲基甲酰胺(200 ml)溶液中。将反应混合物加热到90°C反应24小时。

实施例2

11-(1-甲基哌啶-4-羰基)-5, 11-二氢-6H-吡啶并[2, 3-b][1, 4]苯并二氮革-6-酮

将1-甲基哌啶-4-甲酰氯盐酸盐(4.7 g)加到含5, 11-二氢-6H-吡啶并[2, 3-b][1, 4]苯并二氮革-6-酮(5 g)和三乙胺(7.5 ml)的二甲基甲酰胺(200 ml)溶液中。将反应混合物加热到90°C 反应24小时。

将溶剂真空蒸发，残渣溶于10%乙酸(150 ml)中。将溶液用二氯甲烷反复洗涤，用活性炭脱色，用碳酸氢钠饱和溶液将其调到PH 8，再用二氯甲烷提取(100 ml×5)。用硫酸钠使收集的有机提取物干燥，并予蒸发。残渣用乙醇-乙醚结晶，产生2.4 g (30%) 11-(1-甲基哌啶-4-羰基)-5, 11-二氢-6H-吡啶并[2, 3-b][1, 4]苯并二氮革-6-酮。熔点: 265-267°C (分解)。

用于本发明的毒蕈碱样药物是相对地选择阻断M₁型受体，而对M₂型平滑肌受体选择性较低的那些化合物。用下述分析方法检测了对M₁-M₅受体的相对亲合力。

实施例3

建立了三种放射配体结合分析方法以检测毒蕈碱拮抗药对 M_1 , M_2 和 M_3 亚型毒蕈碱受体的亲合力。用 3H -哌吡二氮莨标记大鼠脑皮质中的 M_1 受体, 用 3H -AFDX-384标记大鼠心肌中的 M_2 受体, 用 3H -QNB标记兔虹膜+睫状体(除去含有 M_1 受体的睫状体突)中的 M_3 受体。Scatchard 分析表明, 每种组织中都有一群结合点被标记, 并获得了如下的 K_d 值和 B_{max} 值: 脑皮质(2.36 nM, 1781 fmol/mg 蛋白), 心肌(5.77 nM, 164 fmol/mg 蛋白), 虹膜+睫状体(2.45 pM, 210 fmol/mg 蛋白)。获得了三种结合分析方法对阿托品、利本西平、哌吡二氮莨和奴芬西平的 K_i 值。在 M_1 结合点上最有力的药物是阿托品, K_i 值为0.13 nM。哌吡二氮莨、奴芬西平和利本西平的 K_i 值分别为4.87 nM, 1.5 nM和2.61 nM。阿托品是 M_2 受体最强有力的拮抗剂, K_i 值为0.82 nM, 而哌吡二氮莨(532 nM)、奴芬西平(248 nM)和利本西平(226 nM)的作用则要小得多。阿托品也是 M_3 结合点上最强有力的药物(0.37 nM), 以下依次是奴芬西平(29.7 nM)、哌吡二氮莨(37.2 nM)和利本西平(38.9 nM)。至于在区分 M_1 和 M_3 受体方面的能力, 阿托品基本上没有选择性, 而哌吡二氮莨、奴芬西平和利本西平对 M_1 受体的选择性比对 M_3 受体分别强8倍、20倍和15倍。

一些毒蕈碱拮抗药与M₁, M₂和M₃毒蕈碱受体的亲合力

药物	M ₁		M ₂		M ₃	
	Ki	nH	Ki	nH	Ki	nH
阿托品	0.13 ± 0.2	1.5	0.82 ± 0.23	1.05	0.37 ± 0.21	1.1
噻吡二氮革	4.87 ± 2.55	1.0	532 ± 93	0.90	37.2 ± 3.80	0.72
利本西平	2.61 ± 0.39	0.9	226 ± 54	1.00	38.9 ± 2.90	0.84
奴芬西平	1.50 ± 0.53	0.9	248 ± 11	1.03	29.7 ± 3.00	0.80

Ki值=3-7次测定的平均值±SEN, 以nM表示。

nH = 希尔系数

M₁ = ³H 噻吡二氮革结合, 大鼠脑皮质。

M₂ = ³H AFDX-384 结合, 大鼠心肌。

M₃ = ³H-QNB 结合, 兔虹膜+睫状体(减去睫状体突)。

毒蕈碱拮抗药对 M_1-M_5 受体的亲合力和相对亲合力还可用本专业人员共知的其它方法检测。例如，参见Buckley, et al., *Molecular Pharmacology*, 35: 469-476 (1989)或Dorje, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 256: 727-733 (1991)，其中有本专业人所共知的检测五种克隆的人类毒蕈碱受体拮抗药结合率的方法的详尽描述。同样地，也有其它途径实现测定 M_1 敏感性的实用性研究。例如，目前较多采用的方法是用豚鼠的输精管，它具有 M_1 敏感性。首先将输精管准备好，测其张力，给以予知量的已知刺激物质如 M_1 促效药McNeil A 343以改变张力。在此条件下，首先仔细测定此促效药予知的作用，然后测定一种或其它拮抗药抑制这种促效药作用的程度。

兹将一种可用于筛选的近视眼活体内动物模型描述如下。

在无菌条件下将一日龄的白色来杭鸡麻醉并缝合一只眼的眼睑以引发成象不能性近视。给鸡以每日12小时光照、12小时黑暗的条件。将缝合的鸡眼用奴芬西平、利本西平、哌吡二氮䇆或盐水(对照)处理。每日的“白天”时间经结膜下注射给药。待鸡长到2周龄时将其处死，由两名实验人员各自独立地用游标卡尺测量鸡的未固定眼的视轴长度和中纬线长度。相对于哌吡二氮䇆来说，由于利本西平和奴芬西平对 M_1 受体多少具有较强的亲合力，因此在近视的治疗中至少可以预期它们与哌吡二氮䇆一样有效。

实施例4

美国食品和药品管理局要求对所有准备用于治疗眼疾的药物进行豚鼠最大耐受量试验。用于测试奴芬西平和利本西平对哌吡二氮䇆的试验动物种群由至少9只雌性Dunkin Hartley 白化豚鼠(体重

300—500 g)组成，另外还有10只作为对照。在I期(此期为诱导期)，第1天在豚鼠剃掉毛的囊间区皮内注射最高耐受浓度的试验药物两次50:50的Freund氏完全佐剂与蒸馏水的混合液中含0.1 ml 试验药物)。在第7天，于剃了毛的囊间区施用药400 mg 10% 的月桂硫酸钠的凡士林混合物。在第8天，将试验药物的凡士林混合物400 mg 涂在一块2×4 cm 的Whatman 滤纸上，用Blenderm绷带将其固定在剃掉毛的囊间区。

在II期(此期为攻击期)，第22天，将200 mg 凡士林涂在剃毛区的右侧，而将200 mg 含最高非刺激性浓度的试验药物(以极细的微粒混合在凡士林中)涂于剃毛区的左侧，每次涂抹后使吸留24小时。在第24和25天判读结果，反应程度分级如下：

0=无反应

1=散在的轻微发红

2=中等的弥散性发红

3=剧烈的红肿

奴芬西平和利本西平的反应程度均为0，即对任何一只试验动物均无反应。但嘧啶二氮革则在9只试验动物中的6只身上引起“1”度反应，在2只动物身上引起了“2”度反应。

用本发明的方法进行诊断和治疗是本专业领域中一般技术人员都通晓的。

即使是新生儿眼睛的屈光度，用一种手持的器械视网膜镜也能很容易地检查出来。这种客观的检查是在局部施用环戊通或阿托品而引起眼的睫状肌麻痹后进行的。此外，用超声摄影法可以很容易测出眼的视轴长度。

当孩子长到7—12岁时，近视变得明显起来。一旦确诊为近视，通常会不断发展，直到14岁后眼睛发育完全为止。

一旦确诊，可通过每6—12个月检查一次的办法将近视的发展情况记录下来。造成高度近视的危险因素包括种族和家族史因素。

一旦发现近视在发展，即应开始进行药理学的治疗以延缓其发展速率。治疗须持续进行直到眼睛发育完全。对大多数儿童来说，治疗宜在7—10岁时开始，14岁左右中断。

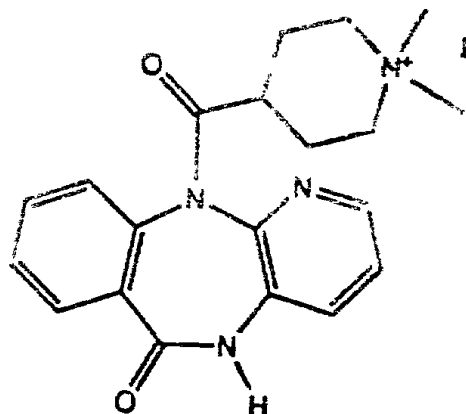
在成人中抑制视轴伸长性近视的治疗可使用滴眼剂。确实，在绝大多数病例中，治疗药物是以滴眼剂的形式投入人的眼中的。典型的滴眼剂是用眼药用介质将有效成份配制成含量为0.5%和2%的浓度。利本西平或奴芬西平的1%水溶液可能是较适于临床应用的浓度。有的配方可能规定要求一定的酸碱度和防腐剂。作为滴眼剂来说，pH 6.5 予期是可采用的，按已知的吡啶苯并二氮草酮的溶解度和稳定性而言也是可行的。由于已知哌吡二氮草在生理盐水中形成很酸的溶液，因而建议用它与已知相容的碱配制成pH 4.5—7.5(最好是6或6.5)的溶液。磷酸缓冲盐水也是很普通的眼科药用介质，且与利本西平和奴芬西平是相容的。滴眼剂的用药频率为每日2—3次，非睡眠时用，平均拉开用药的间隔时间。作用较强的药物要求的用药次数较少，或者可以使用稀释倍数较大药液。此外，软膏和固体栓剂目前也越来越多地用于临床。它们避免了定量给药时药物分解的问题。当然也可以丸剂、胶囊或其它内服药的制剂形式投以有效治疗量和剂量的上述有效药剂。

在动物实验中，如上面提到的用使视网膜不能成象的办法实验性地引发的轴性近视，其它人注意到在灵长目中也能同时实验性地

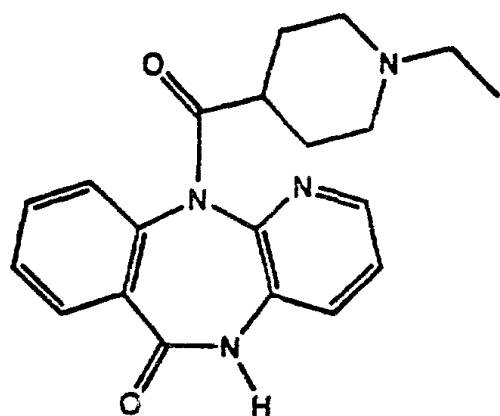
引发弱视。弱视被证明是眼的视觉敏锐度很差导致视力衰弱。通常到成人期视觉敏锐度会改善。已知人的弱视可由未知的原因引起，或者是斜视的一部分。投以有效治疗量和剂量的毒蕈碱拮抗药如利本西平和奴芬西平（它们能相对有效地阻断M₁胆碱能受体，但阻断平滑肌细胞中的胆碱能受体的效果较差）可以防止或抑制眼的敏感性降低的成年人中永久性或持续性弱视的发展。因其它原因甚至未知的原因已经形成弱视的人，通过上述药物的治疗也可以有所帮助。

除利本西平和奴芬西平外，本发明范围内的其它选择性的抗毒蕈碱吡啶苯并二氮䇇酮还包括：

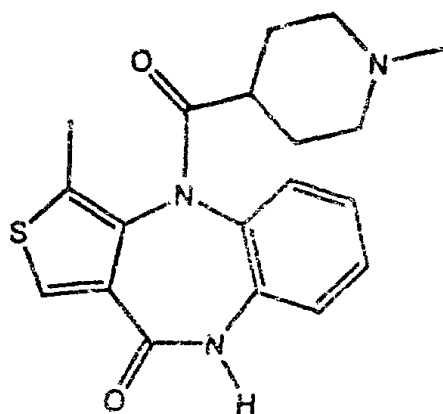
N, N-二甲基-4-[(5, 11-二氢-6-氧代-6H-吡啶并[2, 3-b][1,4]苯并二氮䇇-11基)羰基]哌啶鎓的碘化物



11-[(1-乙基哌啶-4-基)羰基]-6, 11-二氢-5-氧代-5H-吡啶并[1, 2-b][1, 5]苯并二氮䇇



3-甲基-4-[(1-甲基哌啶-4-基)羰基]-4,9-二氢-10-氧代-10H-噻吩并[3,4-b][1,5]苯并二氮䓬



4-[(1-甲基哌啶-4-基)羰基]-3-甲基-4,9-二氢-10-氧代-10H-吡啶并[3,2-b]-噻吩并[3,4-e][1,5]二氮䓬

