[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 31/724 (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01)
A61P 39/04 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 00811655.5

[45] 授权公告日 2006 年 2 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1241576C

[22] 申请日 2000.8.7 [21] 申请号 00811655.5
[30] 优先权
[32] 1999.8.13 [33] EP [31] 99306411.2
[86] 国际申请 PCT/EP2000/007694 2000.8.7
[87] 国际公布 WO2001/012202 英 2001.2.22
[85] 进入国家阶段日期 2002.2.10
[71] 专利权人 阿克佐诺贝尔公司
地址 荷兰阿纳姆
[72] 发明人 A·H·A·波姆 A·W·缪尔 D·里斯
审查员 周 英
[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 樊卫民

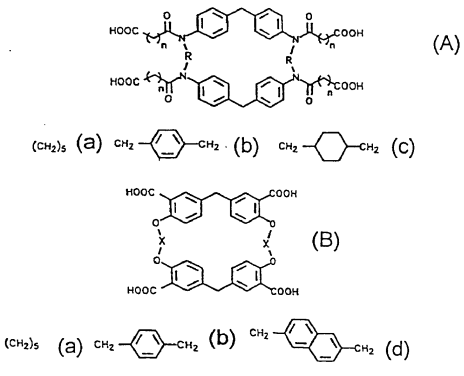
权利要求书 3 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

化学螯合剂用于制备逆转临床使用的神经肌肉传导阻滞剂药物诱发的神经肌肉传导阻滞的药物的用途

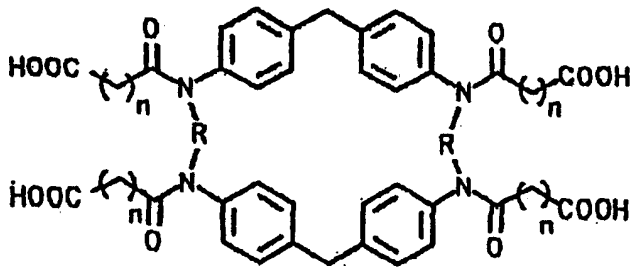
[57] 摘要

本发明涉及化学螯合剂在制备用于逆转药物诱发的神经肌肉传导阻滞的药物中的用途，涉及一种提供神经肌肉传导阻滞及其逆转的试剂盒，并涉及具有通式(A)(其中 R 是(a)、(b)或(c))或通式(B)(其中 X 是(a)、(b)或(d))的环芳衍生物，或其药学可接受的盐。



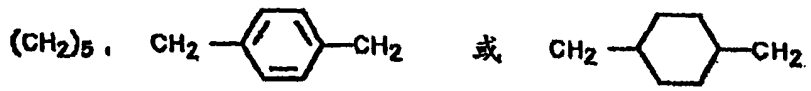
1. 一种化学螯合剂在生产用于逆转由临床使用的神经肌肉传导阻滞剂诱发的神经肌肉传导阻滞的药物中的用途，其中所述螯合剂选自环糊精、环芳和杯芳烃，

其中，环芳具有通式 A



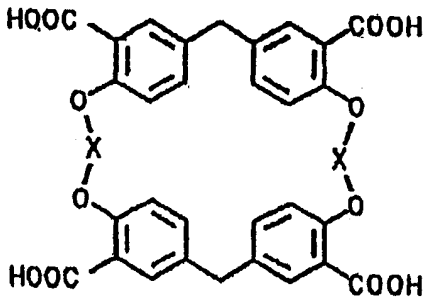
(A)

其中 R 是



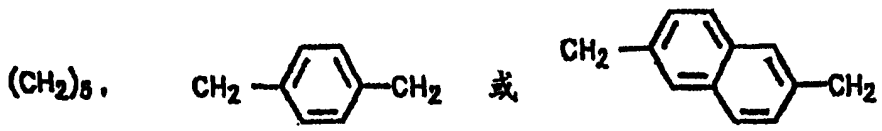
n 是 1-5；或

通式 B



(B)

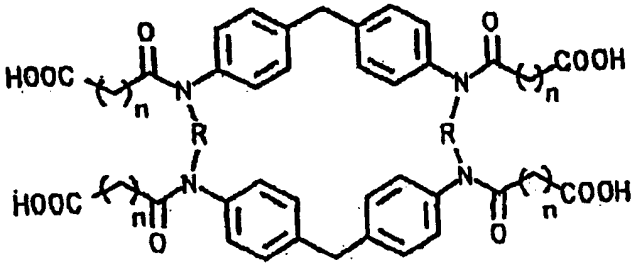
其中 X 是



或其药学可接受的盐。

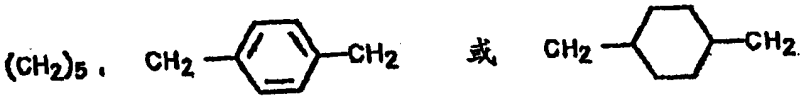
2. 根据权利要求 1 的用途，其中环糊精是γ-环糊精。

3. 一种提供神经肌肉传导阻滞及其逆转的试剂盒，其包含(a)一种神经肌肉传导阻滞剂，和(b)一种能与该神经肌肉传导阻滞剂形成客体-主体配合物的化学螯合剂，其中神经肌肉传导阻滞剂选自：罗库溴铵、维库溴铵、泮库溴铵、雷帕罗库溴铵、美维库铵、阿曲库胺、顺阿曲库胺、筒箭毒碱和琥珀胆碱，而螯合剂选自环糊精、环芳和杯芳烃， 其中，环芳具有通式 A



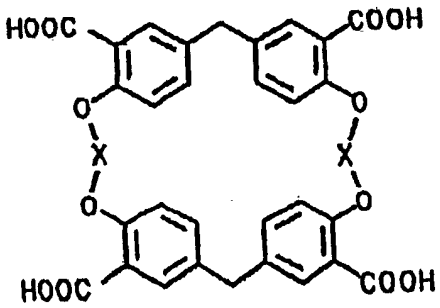
(A)

其中 R 是



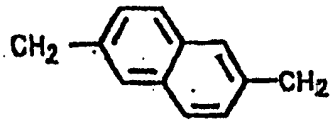
n 是 1-5； 或

通式 B



(B)

其中X是

$(CH_2)_5$， 或 

或其药学可接受的盐。

4. 根据权利要求3的试剂盒，其中神经肌肉传导阻滞剂是罗库溴铵，而化学螯合剂是γ-环糊精。

化学螯合剂用于制备逆转临床使用的神经肌肉传导阻滞剂药物诱发的神经肌肉传导阻滞的药物的用途

本发明涉及化学螯合剂在制备用于逆转药物诱发的神经肌肉传导阻滞（neuromuscular block）的药物中的用途，并涉及一种提供神经肌肉传导阻滞及其逆转的试剂盒。

在施行麻醉过程中常规使用一种神经肌肉传导阻滞剂(NMBA，也叫做肌肉松弛剂)，以利于气管内插管，并允许手术进入体腔，特别是腹腔和胸腔，而不被随意或反射肌肉运动妨碍。NMBA 也用于接受加强治疗的垂危患者的护理，以便在证明单独的镇静和止痛不足时，促进对机械通气的适应性。

根据作用机理，NMBA 可分为两类：去极化的和非去极化的。去极化的神经肌肉传导阻滞剂可与神经肌肉接头处的烟碱性乙酰胆碱受体(nAChR)以类似于内源神经递质乙酰胆碱的方式结合。它们刺激离子通道的最初打开，引起收缩（称为肌束震颤）。然而，由于与乙酰胆碱酯酶对乙酰胆碱的极快速水解相比，这些药物只被胆碱酯酶相对缓慢地分解，因此它们能比乙酰胆碱结合更长的时间，导致运动终板的持续去极化，因而引起神经肌肉传导阻滞。琥珀胆碱(司可林)是去极化 NMBA 的最著名的例子。

非去极化的神经肌肉传导阻滞剂与乙酰胆碱竞争结合肌肉 nAChR，但与去极化的 NMBA 不同，它们不能激活通道。它们阻断乙酰胆碱对通道的激活，因而阻止细胞膜去极化，因此肌肉将变得松弛。大多数临床使用的 NMBA 属于非去极化的种类。它们包括筒箭毒碱、阿曲库铵、(顺)阿曲库胺、美维库铵、泮库溴铵、维库溴铵、罗库溴铵和雷帕罗库溴铵（rapacuronium）(Org 9487)。

在手术结束时或特别监护期间，通常对患者施用 NMBA 的逆转剂，以帮助肌肉功能的恢复。最常用的逆转剂是乙酰胆碱酯酶(AChE)

的抑制剂，如新斯的明、腾喜龙和吡啶斯的明。因为这些药物的作用机理是通过抑制乙酰胆碱分解提高神经肌肉接头处乙酰胆碱的水平，它们不适于去极化 NMBA(如琥珀胆碱)的逆转。AChE 抑制剂作为逆转剂的使用可引起选择性问题，因为这些药物可加强与神经递质乙酰胆碱有关的对所有突触(身体的和自律的)的神经传递。由于毒蕈碱性和烟碱性乙酰胆碱受体的非选择性激活，这种非选择性可导致许多副作用，包括心搏徐缓、低血压、流涎增多、恶心、呕吐、腹部痛性痉挛、腹泻和支气管收缩。因此实际上，这些药剂只能在施用阿托品(或胃长宁)之后或与之一起使用，以拮抗乙酰胆碱在自律性副交感神经效应器接头(例如心脏)中毒蕈碱性受体处的毒蕈碱性作用。毒蕈碱性乙酰胆碱受体(mAChR)拮抗剂(如阿托品)的使用可引起许多副作用，例如，心动过速、口干、视力模糊，并且还可影响心脏传导。

抗胆碱酯酶药物的另一个问题是必须存在残余的神经肌肉活性(>10%颤搐活性)，以便能快速恢复神经肌肉功能。有时，由于患者的过敏性或偶然的剂量过量，施用 NMBA 能引起神经肌肉功能的完全阻断(“深度阻断”)。目前，没有可靠的治疗能逆转这种“深度阻断”。用高剂量 AChE 抑制剂克服“深度阻断”的尝试具有诱发“胆碱能危象”的危险，可导致与烟碱性和毒蕈碱性受体刺激增强相关的多种症状。

因此需要一种用于逆转 NMBA 作用(即恢复肌肉收缩)的备选方法。

本发明提供化学螯合剂(或多价螯合剂)作为逆转剂的用途。一方面本发明涉及能形成客体-主体配合物的化学螯合剂在生产用于逆转药物诱发的神经肌肉传导阻滞的药物中的用途。

化学螯合剂作为 NMBA 逆转剂的使用具有在逆转去极化和非去极化 NMBA 的作用中均有效的优点，因为化学螯合剂不与 NMBA 竞争结合 nAChR。它们的使用不会提高乙酰胆碱的水平，因此比基于 AChE 的逆转剂产生更少的副作用。另外，不需要联合使用 AChE 抑制剂与 mAChR 拮抗剂(例如阿托品)。本发明的化学螯合剂可以进一

步安全地用于"深度阻断"的逆转。

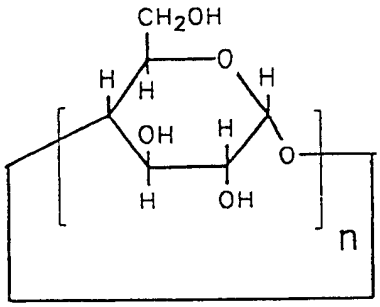
在本发明中使用时，术语化学螯合剂(或多价螯合剂)意指能与一种神经肌肉传导阻滞剂形成主体-客体配合物的任何有机化合物。化学螯合剂作为主体分子，神经肌肉传导阻滞剂作为客体分子。特定的分子配合物，即客体-主体配合物，被定义为由通过非共价分子间作用力结合在一起的两种或多种成分结合产生的一种有机化学实体。

根据本发明的化学螯合剂(或多价螯合剂)是选自不同类别(大多数为环状)的有机化合物的主体分子，已知它们能与多种有机化合物(例如环状寡糖、环芳(cyclophane)、环肽、杯芳烃、冠醚和氮杂冠醚)的水溶液形成包合配合物。包合配合物的形成(也称作包封或化学螯合)是众所周知的"超分子化学"或"主体-客体化学"领域的部分。众所周知，许多环状有机化合物能与另一种有机或无机的分子形成包合配合物。这些化合物的结构和化学已经得到很好的证明(Comprehensive Supramolecular Chemistry, 1-11 卷, Atwood J.L., Davies J.E.D., MacNicol D.D., Vogtle F.编; Elsevier Science Ltd., Oxford, UK, 1996)。

本发明使用的优选化学螯合剂是环状寡糖、环芳和杯芳烃。

适用于本发明的环状寡糖的例子有环糊精(一类天然存在的环麦芽寡糖)、cyclomannin(1,4 位通过 α 键连接的 5 个或更多 α-D-吡喃甘露糖单位)、环催乳激素(1,4 位通过 β 键连接的 5 个或更多 β-D-吡喃半乳糖单位)、cycloaltrin(1,4 位通过α键连接的 5 个或更多α-D-吡喃阿卓糖单位)，每一种均能形成客体-主体配合物。有不同单糖组分、可通过全化学合成产生的环状寡糖代表能与一种神经肌肉传导阻滞剂相互作用的其它化学螯合剂。例如，发现环-[(1-4)-α-L 鼠李-吡喃糖基-(1-4)-α-D-甘露吡喃糖基]四糖苷在逆转神经肌肉传导阻滞剂罗库溴铵的作用方面有效。

根据本发明的一类特别优选的环状寡糖螯合剂由环糊精形成:



n = 6 - 9

环糊精是如在直链淀粉中一样含有 6 个或更多 1,4 位通过 α 键连接的 α-D-吡喃葡萄糖单位的环状分子。由于这种环状排列，环糊精以具有一个亲脂性腔的圆锥形分子存在，该腔能吸引客体分子，而外部更具亲水性，并且是水溶性的。由 6、7、8 和 9 个吡喃葡萄糖单位组成的环糊精一般分别被称为 α-、β-、γ-和 δ-环糊精。

根据形成客体-主体配合物的能力、多种用途(尤其在制药领域)，已经发现了通过淀粉的酶降解产生的天然环糊精(α、β、γ)，尤其是大量的化学修饰形式。Stella 和 Rajewski(Pharmaceutical Research, 14, 556-567, 1997)最近综述了环糊精的药学用途。主要用途是在药物的配制中，用以溶解和/或稳定一种药物，用于口、鼻、眼、皮肤、直肠和肠胃外施用。

在本发明中使用时，术语环糊精包括天然环糊精和其化学修饰形式。

Uekama 等人(Chemical Reviews 1998,98,2045-2076)叙述了关于这些化学修饰环糊精在药物输送系统中作为药物载体的综述。通过化学试剂(亲核试剂或亲电子试剂)与适当功能化的环糊精反应，能直接对天然 α-、β-或 γ-环糊精环进行环糊精的化学修饰(关于环糊精选择性修饰方法的最新综述，见 Khan A.R. 等人，Chem. Rev. 1998,98,1977-1996)。迄今为止，通过天然环糊精的化学修饰已经产生了 1500 种以上的环糊精衍生物(Jicsinszky L.等人，Comprehensive Supramolecular Chemistry, 第 3 卷，环糊精，Atwood J.L., Davies J.E.D, MacNicol D.D., Vogtle F.编；Elsevier Science Ltd., Oxford, UK,

1996, 57-188 页)。

天然环糊精的许多直接修饰产生没有精确确定的取代位置的异构体的混合物。这种位置异构体的混合物通常被称为统计混合物，在这种统计混合物中与每个环糊精分子连接的取代基的数量被表示为平均取代程度(DS)。为了药学用途研究的大多数环糊精衍生物是统计混合物(Szente L.和 Szejtli J., Adv. Drug Delivery Rev. 1999,36,17-28)。环糊精的直接修饰不改变重复 α-D-吡喃葡糖基单位的结构和构型。

环糊精也能从吡喃葡萄糖开始从头合成制备(Gattuso G.等人, Chem. Rev. 1998,98,1919-1958)。这样，人们不仅能制备天然存在的环(1→4)连接的环糊精，而且能制备环(1→3)、(1→2)和(1→6)连接的寡吡喃糖苷。这种合成能利用不同的化学试剂或生物酶(如环糊精糖基转移酶)完成。利用不同的糖单位作为原材料，人们能制备不同的同类或异类的环状寡糖。

众所周知，环糊精的化学修饰能调节其性质，并且能用于设计针对特定神经肌肉传导阻滞剂的逆转剂。

本领域技术人员应当清楚，对于特定的神经肌肉传导阻滞剂，能发展一种化学螯合剂主体，其具有适合于客体分子的形状与大小的疏水腔，除了主体与客体之间的疏水相互作用之外，电荷相互作用对于配合物的形成也可能是重要的。由于本发明的化学螯合剂用于肠胃外施用，它们必须是水溶性的。能设计并制备一种特殊的主体分子，使其具有与客体分子互补的功能性，这样通过如氢键、疏水、静电、范德华力和 π-π 相互作用产生最大的分子间相互作用。因此，例如，对于含有碱性功能基团或正电荷的客体分子，可制备一种含有酸性功能基团或负电荷的主体分子，以提高客体与主体之间的离子相互作用。当通过包合或部分包合形成这种主体-客体配合物时，主体分子的腔大小也是十分重要的。

化学螯合剂与神经肌肉传导阻滞剂之间的相互作用能通过物理方法(如核磁共振光谱法(nmr)和微量量热法)分析。

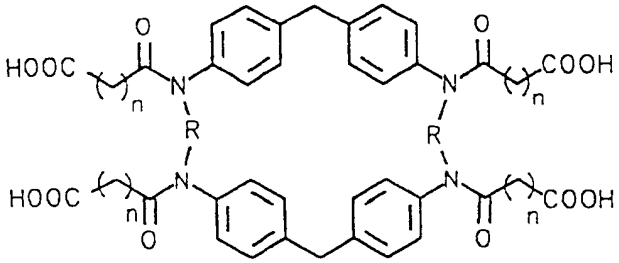
本发明使用的最优选的环糊精是 γ-环糊精及其衍生物。

许多常用的神经肌肉传导阻滞剂或肌肉松弛剂，如罗库溴铵、泮库溴铵、维库溴铵、美维库铵、阿曲库铵、(顺)阿曲库胺、琥珀胆碱和筒箭毒碱，是当在中性水性介质中时具有 1 或 2 个阳离子位点的化合物。结构中具有阴离子位点的环糊精是根据本发明的优选化学螯合剂。

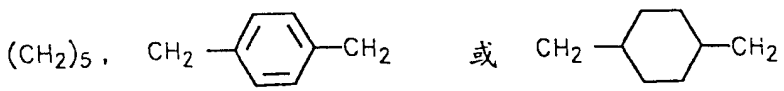
阴离子化学螯合剂对逆转上述神经肌肉传导阻滞剂的偏好也适用于属于环芳的本发明的化学螯合剂。

环芳是一类桥连的芳族化合物，它们具有由掺入大环结构中的芳环构成的疏水内函腔。通过向人工主体化合物中引入极性和亲水功能基团，如羟基和羧基，环芳可成为水溶性的，并且适于在水性介质中形成包合配合物(Vogtle F.等人，Comprehensive Supramolecular Chemistry，第 2 卷，分子识别：分子客体的受体，Atwood, J.L., Davies, J.E.D., MacNicol, D.D., Vogtle, F.编；Elsevier Science Ltd., Oxford, UK, 1996, 211-266 页)。Miyake 等人(Tetr. Letters 32, 7295-7298, 1991; Chem. Pharm. Bull. 41, 1211-1213, 1993)描述了水溶性阴离子环芳作为阳离子芳族客体的主体。类似地，显示阳离子环芳在水溶液中可与阴离子和中性芳族化合物形成包合配合物。

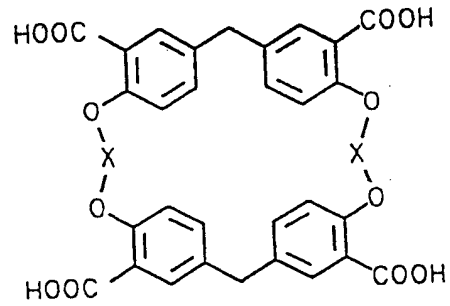
在一个本发明优选的实施方案中，化学螯合剂选自下列环芳，其具有通式 A:



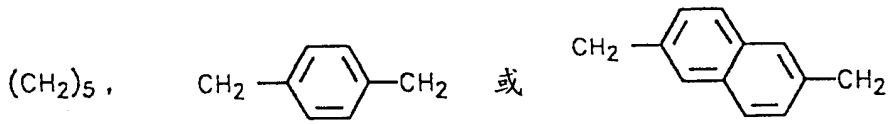
其中 R 是



n 是 1-5；或通式 B



其中X是



根据通式 A 的化合物，其中 R 是 CH_2-苯基-CH_2，n 是 2，即 N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-3,4,5,6,7,8,26,27,28,29,30,31-十二氢-1,10,24,33-四氮杂[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 23)，和根据通式 B 的化合物，其中 X 是 CH_2-苯基-CH_2，即，1,10,24,33-四恶-12,20,35,43-四羧基-[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 18)，是逆转罗库溴铵作用的一种优选环芳衍生物。

另一方面，本发明提供具有如上所述的通式 A 和通式 B 的新型二聚二甲苯一羧酸衍生物，或其药学可接受的盐。这些盐的例子有钾、钠和铵盐等。

在本发明中使用的化学螯合剂肠胃外施用。注射途径可以是静脉内、皮下、 皮内、肌肉内或动脉内。静脉内途径是优选途径。使用的确切剂量必然取决于将施用药物的个体的需要、将要恢复的肌肉活动的程度和麻醉师/病危护理专家的判断。也构思了本发明的化学螯合剂的体外应用，例如在透析或血浆置换中化学螯合剂与血液混合。

另一方面，本发明涉及一种提供神经肌肉传导阻滞及其逆转的试剂盒，其包含(a)一种神经肌肉传导阻滞剂，和(b)一种能与该神经肌肉传导阻滞剂形成客体-主体配合物的化学螯合剂。根据本发明的试剂盒是指一种制品，其含有分开的药学制剂，即神经肌肉传导阻滞剂和一种化学螯合剂，即逆转剂。这种试剂盒的组分顺序使用，即，对需要的患者施用神经肌肉传导阻滞剂，之后在需要恢复肌肉功能时，施用

逆转剂，即能与该神经肌肉传导阻滞剂形成客体-主体配合物的化学螯合剂。

根据本发明的一种优选的试剂盒包含一种选自环状寡糖和环芳的化学螯合剂，和一种选自罗库溴铵、维库溴铵、泮库溴铵、rapacuronium、美维库铵、阿曲库铵、(顺)阿曲库胺、筒箭毒碱和琥珀胆碱的神经肌肉传导阻滞剂。本发明的一种特别优选的试剂盒包含罗库溴铵作为神经肌肉传导阻滞剂，γ-环糊精或其衍生物作为化学螯合剂。

与药学合适的助剂和药学合适的液体(如标准参考文献所述，Gennaro 等人，Remington's Pharmaceutical Sciences,(第 18 版，Mack Publishing Company, 1990，第 8 部分：药学制剂及其生产；特别参见第 84 章 "非肠胃制剂"，1545-1569 页；和第 85 章 "静脉内混合物"，1570-1580 页))混合，化学螯合剂能以溶液形式使用，例如用作注射制剂。

此外，药用组合物可包含于单位剂量或多剂量容器中，例如密封的小瓶和安瓿中，并且可以在冷冻干燥(冻干)条件下贮存，只需在使用前加入无菌液体载体，例如水。

本发明还包括与适合该组合物的包装材料组合的如上所述的药用制剂，该包装材料包括如上所述使用的组合物的使用说明书。

用下列实施例说明本发明。

实施例 1

环糊精衍生物

用来证明作为根据本发明的逆转剂的活性的某些环糊精衍生物可以商品获得:

商业来源

化合物 1: α-环糊精(α-CD)	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国; 或 ALDRICH
化合物 2: 羧甲基-β-CD(DS=3.5)钠盐	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国
化合物 3: 2-羟基-3-三甲基胺基丙基-β-CD(DS=3.5)	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国
化合物 4: 过 2,6-二甲基-β-CD(DS=12.6)	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国
化合物 5: β-环糊精-磷酸钠盐(DS=3)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 6: β-环糊精-磷酸钠盐(DS=8)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 7: 羧甲基-β-CD(DS=3-3.5)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 8: 羧乙基-β-CD(DS=3)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 9: β-环糊精(β-CD)	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国; 或 ALDRICH
化合物 10: 2-羟丙基-β-CD	RBI,Natick,MA01760,USA
化合物 11: γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=3)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 12: γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=7)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 13: 羧甲基-γ-CD(DS=3.2)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 14: 羧乙基-γ-CD(DS=3.8)	CycloLab, Ltd. 布达佩斯,匈牙利
化合物 15: γ-环糊精(γ-CD)	Wacker-Chemie GmbH, 慕尼黑, 德国; 或 FLUKA
化合物 16: 2-羟丙基-γ-CD)(DS=4)	RBI,Natick,MA01760,USA

- DS 是指取代程度, 是指带有相应取代基的羟基功能基的数量。

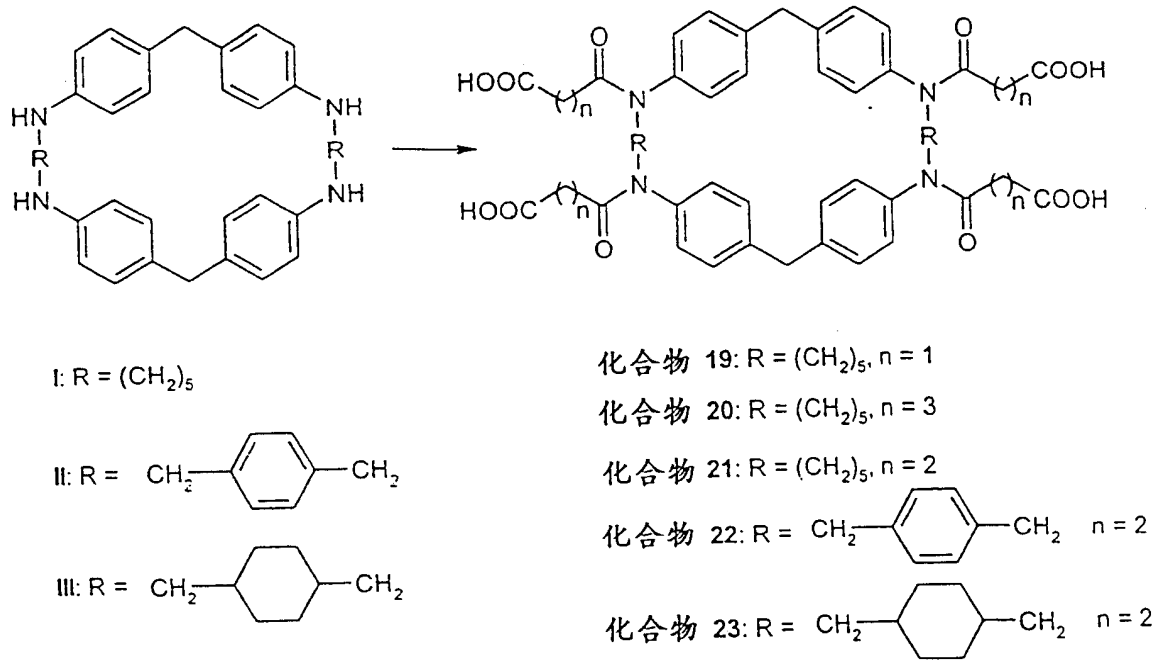
- 化合物 2 和 7 相同, 但来自不同的供应商。

实施例 2

环芳衍生物

命名: 术语二聚二甲苯一羧酸是指一个化合物家族, 其中一个或多个苯环构成一个碳环系统, 而苯环的对位是该碳环系统的部分。以下二聚二甲苯一羧酸环系统使用的常规编号如 Cram 和 Abell(J. Am. Chem. Soc. 1955,77,1179-1186)所述。

A: 四氮杂-二聚二甲苯一羧酸衍生物:



示图 A

示图 A 显示 N-(羧基)酰化环芳衍生物 19-23 的结构，它们是通过亲本环芳的酰化制备的(其合成见，Soga T.等人，Tetrahedron Lett. 1980,4351-4)(1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(I)、1,10,24,33-四氮杂-[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(II)和3,4,5,6,7,8,26,27,28,29,30,31-十二氢-1,10,24,33-四氮杂[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(III)，以及适当激活的酸衍生物。

A1: 化合物 21:

N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸

向 1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(400mg, 0.75mmol)在二氯甲烷(5ml)的悬液中加入三乙胺(1.05ml, 7.52mmol)，随后加入溶解于二氯甲烷(3ml)的 3-(甲氧基羰基)丙酰氯(0.93ml, 7.52mmol)。反应液在氮气下搅拌 12 小时。反应液用二氯甲烷(20ml)稀释，用水洗涤(2×20ml)，干燥($MgSO_4$)，真空去除溶剂，得到黄色油，通过硅胶层析、

5%甲醇的二氯甲烷溶液洗脱纯化。使得到的产物静置结晶。产物从氯仿/乙醚中再结晶，得到 N,N',N",N"'-四(3-甲氧基羰基)-丙酰基-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(480mg, 0.48mmol, 65%)。

MS (EI) m/z 989 $(M+H)^+$, ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.27 (m, 4H), 1.45 (m, 5H), 1.64 (m, 3H), 2.25 (t, J 6.8, 8H), 2.56 (t, J 6.8, 8H), 3.61 (t, J 7.6, 8H), 3.65 (s, 12H), 4.02 (s, 4H), 7.09 (d, J 8.1, 8H), 7.20 (d, J 8.1, 8H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 24.45, 27.85, 29.17, 29.37, 40.73, 49.47, 51.68, 128.47, 130.27, 140.15, 140.60, 171.35, 173.84.

将上述四甲酯(440mg, 0.45mmol)、氢氧化钾沉淀(2.51g, 45mmol)、甲醇(9ml)和水(25ml)的混合物加热回流 4 小时。反应液冷却到室温，真空去除大部分溶剂，残余物用 2N HCl 酸化。过滤并干燥得到的沉淀，然后从 $MeOH/H_2O$ 中再结晶，得到标题化合物 21(142mg, 0.15mmol, 34%)。

MS (EI) m/z 931 $(M-H)^-$, ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.28 (m, 4H), 1.44 (m, 8H), 2.25 (m, 8H), 2.49 (m, 8H), 3.60 (m, 8H), 4.05 (s, 4H), 7.16 (d, J 7.72, 8H), 7.30 (d, J 7.72, 8H), ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 23.95, 27.44, 28.94, 29.11, 39.86, 48.62, 128.21, 129.79, 140.01, 140.35, 170.01, 173.07, I.R. (KBr) 1736, 1656 cm^{-1}.

用类似的方法制备:

A2: 由 1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸和甲基丙二酰氯产生的 N,N',N",N"'-四(羧基乙酰基)-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 19)。

MS (EI) m/z 877 $(M+H)^+$, ^1H NMR (DMSO) δ 1.21 (m, 4H), 1.36 (m, 8H), 2.97 (m, 8H), 3.53 (m, 8H), 3.99 (s, 4H), 7.15 (d, J 7.95, 8H), 7.27 (d, J 7.95, 8H), 12.40 (s, 4H), ^{13}C NMR (DMSO) δ 23.79, 27.19, 39.39, 41.44, 48.59, 128.04, 129.83, 145.05, 141.02, 165.69, 169.23, I.R. (KBr) 1736, 1625 cm^{-1}.

A3: 由 1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸和甲基 4-(氯甲酰基)丁酸产生的 N,N',N",N"'-四(4-羧基丁酰基)-1,7,21,27-四氮杂

[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 20)。

MS (EI) m/z 989 $(M+H)^+$, ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.28 (m, 4H), 1.44 (m, 8H), 1.76 (m, 8H), 2.07 (t, J 7.5, 8H), 2.19 (t, J 7.5, 8H), 3.62 (m, 8H), 4.05 (s, 4H), 7.11 (d, J 8.17, 8H), 7.27 (d, J 8.17, 8H), ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 21.86, 25.54, 28.72, 34.02, 34.41, 41.70, 50.60, 129.50, 131.47, 141.82, 142.55, 174.69, 177.69, I.R. (KBr) 1736, 1656 cm^{-1}.

A4: 由环芳 II 和 3-(甲氧基羰基)丙酰氯产生的 N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-1,10,24,33-四氮杂[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 22)。

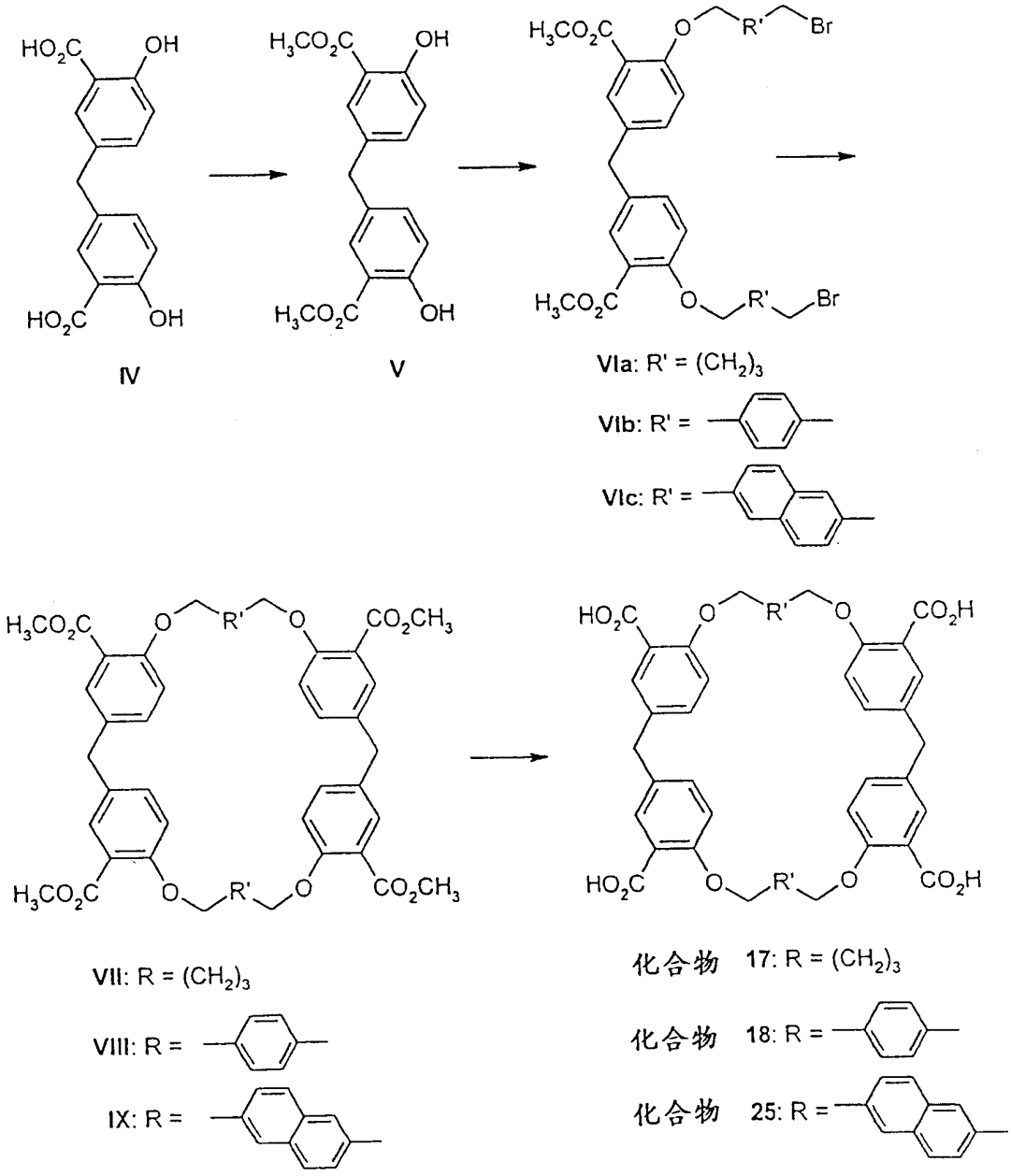
^1H NMR (DMSO) δ 2.22 (m, 8H), 2.42 (m, 8H), 3.93 (s, 4H), 4.75 (s, 8H), 6.96 (d, J 8.27, 8H), 7.00 (s, 8H), 7.16 (d, J 8.27, 8H), 11.90 (bs, 1H), ^{13}C NMR (DMSO) δ 28.83, 29.10, 39.93, 51.51, 125.32, 127.83, 128.22, 129.43, 136.36, 139.88, 14.00, 170.69, 173.52, I.R. (KBr) 1727, 1650 cm^{-1}.

A5: 由环芳 III 和 3-(甲氧基羰基)丙酰氯产生的 N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-3,4,5,6,7,8,26,27,28,29,30,31-十二氢-1,10,24,33-四氮杂[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 23)。

MS (EI) m/z 1012 $(M-H)^-$, ^1H NMR (DMSO) δ 0.76 (m, 8H), 1.51 (m, 4H), 1.67 (m, 8H), 2.15 (m, 8H), 2.36 (t, J 6.60, 8H), 3.37 (s, 8H), 3.97 (s, 4H), 7.19 (d, J 8.08, 8H), 7.30 (d, J 8.08, 8H), 11.86 (bs, 4H), ^{13}C NMR (DMSO) δ 28.97, 29.09, 36.13, 52.33, 55.59, 128.09, 129.72, 141.55, 170.65, 173.52, I.R. (KBr) 1727, 1652 cm^{-1}

B. 四氧杂-二聚二甲苯一羧酸衍生物

醚连接的环芳(化合物 17、18 和 25)可如示图 B 所示通过环的构建合成。



示图 B

市售的 5,5'-亚甲基双水杨酸 IV 保护为甲酯 V，然后用合适的二卤化物烷基化，产生 VI。二卤化物 VI 与当量的二酚 IV 反应产生环芳 VII-IX，在皂化后产生希望的羧酸衍生物。

B1：化合物 17：1,7,21,27-四氧杂-9,17,29,37-四羧基[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸。

3,3'-二甲氧基羰基-4,4'-二羟基二苯甲烷(V)

向氯化氢气体饱和的甲醇(100ml)中逐渐加入 3,3'-二羧基-4,4'-二羟基二苯甲烷(10g, 34.69mmol)30 分钟。然后将混合液加热回流 3 小时，冷却至室温，用氯化氢气体再饱和。回流时再加热 8 小时后，真空去除溶剂，通过硅胶层析、25%乙酸乙酯/石油醚洗脱纯化，得到标题化合物(2.40g, 7.59mmol, 22%)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 3.84 (s, 2H), 3.92 (s, 6H), 6.90 (d, J 8.0, 2H), 7.25 (dd, J 8.0, 1.0, 2H), 7.63 (d, J 1.0, 2H), 10.65 (s, 2H).

4,4'-双(5-溴戊氧基)-3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷(VIa)

在 60℃和氮气氛下，向搅拌的 1,4-二溴戊烷(21.8g, 94.9mmol)和 K_2CO_3(13.1g, 94.9mmol)在无水二甲基甲酰胺(380ml)的悬液中逐滴加入 3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷(3.0g, 9.49mmol)溶于无水二甲基甲酰胺(190ml)中的溶液。得到的混合物再加热 1 小时，冷却，过滤。真空去除二甲基甲酰胺，产物用 1%甲醇的二氯甲烷溶液洗脱的层析纯化，随后用 10%乙酸乙酯/庚烷洗脱二次纯化，产生标题化合物(3.51g, 5.73mmol, 60%)。

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 1.60-2.02 (m, 12H), 3.44 (t, J 7.0, 4H), 3.87 (s, 8H), 4.01 (t, J 6.5, 4H), 6.87 (d, J 8.0, 2H), 7.22 (dd, J 8.0, 1.0, 2H), 7.60 (d, J 1.0, 2H).

1,7,21,27-四氧杂-9,17,29,37-四(甲氧基羰基)[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(VII)

在 80℃下，将 4,4'-双(5-溴戊氧基)-3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷(3.51g, 5.74mmol)和 3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷(1.81g, 5.74mmol)在无水二甲基甲酰胺(230ml)中的溶液通过注射泵逐滴加入搅拌的 K_2CO_3(7.92g, 57.4mmol)无水二甲基甲酰胺(340ml)的悬液中，历时 3 小时。在 80℃下再搅拌 4.5 小时，并在室温下搅拌 12 小时后，过滤反

应混合液，并真空去除二甲基甲酰胺。通过硅胶层析、1%甲醇/二氯甲烷洗脱纯化产物，产生标题化合物(0.47g, 0.6mmol, 10.5%)。

NMR ($CDCl_3$) δ 1.58-1.95 (m, 12H), 3.82 (s, 16H), 4.05 (t, J 8.0, 8H), 6.82 (d, J 8.0, 4H), 7.16 (dd, J 8.0, 1.0, 4H), 7.58 (d, J 1.0, 4H).

1,7,21,27-四氧杂-9,17,29,37-四羧基[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(17)

向 1,7,21,27-四氧杂-9,17,29,37-四(甲氧基羰基)[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸(0.47g, 0.612mmol)在甲醇-水(3:1, 40ml)的悬液中加入固体氢氧化钠(0.49g, 12.2mmol))。将得到的混合物加热回流 1 小时，然后加入四氢呋喃(5ml)，再次将混合物加热回流 2 小时。在真空下使溶剂体积减半，过滤去除不溶性物质。滤液用浓盐酸酸化，过滤干燥获得的沉淀，进一步用甲醇-水洗涤，之后干燥，获得标题化合物(160mg, 0.22mmol, 45%)。

MS (EI) m/z 711 $(M-H)^-$, ^1H NMR (DMSO) δ 1.51 (m, 4H), 1.68 (m, 8H), 3.81 (s, 4H), 3.99 (t, J 5.6, 8H), 6.96 (m, 4H), 7.20 (m, 4H), 7.43 (m, 4H), 12.25 (bs, 4H), ^{13}C NMR (DMSO) δ 21.57, 27.81, 38.72, 68.47, 113.99, 121.77, 130.28, 132.60, 133.21, 155.61, 167.27, I.R. (KBr) 1743 cm^{-1}.

用类似的方法制备:

B2: 由 3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷和 α,α'-二溴对二甲苯产生的 1,10,24,33-四氧杂-12,20,35,43-四羧基-[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸(化合物 18)。

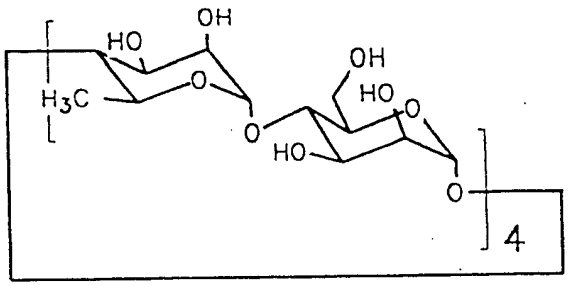
MS (EI) m/z 779 $(M-H)^-$, ^1H NMR (DMSO) δ 3.75 (s, 4H), 5.15 (s, 8H), 6.91 (d, J 8.58, 4H), 7.20 (m, 4H), 7.32 (m, 8H), 7.49 (m, 4H), 12.40 (bs, 4H), ^{13}C NMR (DMSO) δ 68.69, 84.57, 114.52, 126.54, 129.98, 132.32, 133.81, 136.28, 154.60, 167.50, I.R. (KBr) 1733 cm^{-1}.

B3: 由 3,3'-二羧基甲基-4,4'-二羟基二苯甲烷和 2,6-(二溴甲基)萘产生的化合物 25(Golden, J.H., J. Chem. Soc. 1961,3741)。

MS (EI) m/z 879 $(M-H)^-$, ^1H NMR (DMSO) ? 3.76 (s, 4H), 5.30 (s, 8H), 6.90 (m, 4H), 7.19 (m, 4H), 7.49 (m, 8H), 7.74 (m, 4H), 7.83 (m, 4H), 12.60 (bs, 4H), ^{13}C NMR (DMSO) ??69.21, 83.84, 114.73, 121.88, 125.25, 125.37, 127.96, 130.34, 132.04, 132.67, 133.97, 135.03, 154.91, 167.52, I.R. (KBr) 1731 cm^{-1}.

实施例 3

化合物 24: 环[(1-4)-α-L-鼠李吡喃糖基-(1-4)-α-D－甘露吡喃糖基]-四糖苷。



Ashton 等人，Chem. Eur. J. 1996, 2,580-591 描述了该环八糖的合成。

实施例 4

化学螯合剂对罗库溴铵的络合

所有 ^1H 光谱(303K)均在 400.13MHz 时记录，128 扫描线，sw=12 ppm，TD=32k，处理中补零至 64k 实点。所有实验均在 303K 测量。

化学计量的确定

制备罗库溴铵和 γ-环糊精(15)的贮存液，浓度均为 6.02mM。通过吸取 0-800μl 罗库溴铵溶液等份，制备 16 种溶液(罗库溴铵的摩尔百分比为 0-100%)。加入 800-0μl γ-环糊精溶液等份，使溶液的总体积为 800μl，100 mole%(即，6.02mM [罗库溴铵+γ-环糊精])。^1H-NMR 光谱如上所述记录。

如果罗库溴铵的 $H_{9\alpha}$ 的化学位移改变被确定为 Δδ，则通过连续变异法，[Δδ*(mole%罗库溴铵)]对[mole%罗库溴铵]的图可获得所谓的 Job 图(Connors K.A.：结合常数，分子配合物稳定性的测量；Wiley-Interscience；纽约，1987，24-28 页)。该图中的最大值代表配合物的化学计量。罗库溴铵/γ-环糊精配合物的 Job 图在 50 mole%罗库溴铵时有最大值，表明罗库溴铵和γ-环糊精形成 1:1 的配合物。

缔合常数的确定

制备罗库溴铵的贮存液：0.821mM 溶于 D_2O。制备 β-环糊精(9)和γ-环糊精(15)的贮存液，浓度均为 13.1、6.57、1.64 和 0.411mM，溶于 D_2O。然后吸取 50-400μl 等份这些溶液，与 D_2O(需要时)组成 400μl，并与 400μl 罗库溴铵溶液混合。为了将γ-环糊精(15)实验的数据范围扩大到更高的环糊精浓度，制备另外三种溶液：16.4、24.6、32.8mM，溶于 400μl D_2O 中。如前所述，这些溶液与 400μl 罗库溴铵溶液混合。

^1H NMR 光谱如前所述记录。

使用曲线拟合法(Loukas Y.L., J. Pharm. Pharmacol. 1997,49,941; Bisson A.P.等人，Chem. Eur. J. 1998,4,845)，根据环糊精和/或罗库溴铵信号的质子化学位移改变(Δδ)对 mole%环糊精作图，获得这些配合物的缔合常数。其缔合常数在表 A 中列出。

表 A：罗库溴铵和环状主体化合物的 1:1 配合物的缔合常数(Ka, M^{-1})，通过 NMR 光谱法在 303K 处测得。

化学螯合剂	缔合常数(Ka, M^{-1})
β-环糊精(9)	3 100-3 900*
γ-环糊精(15)	10 000-20 400#

* 测量 CH_3-19[罗库溴铵]和 H_3[β-环糊精(9)]的质子。

\# 测量 $H_{9\alpha}$[罗库溴铵]和 $H_{3,5}$[γ-环糊精(15)]的质子。

实施例 5

体内神经肌肉传导阻滞的逆转：麻醉的豚鼠

通过腹膜内施用 10mg/kg 戊巴比妥和 1000mg/kg 尿烷麻醉雄性 Dunkin-Hartley 豚鼠(体重：600-900g)。行气管切开术后，动物用 Harvard 小动物呼吸器人工呼吸。将一个导管置入颈动脉中，用以连续监测动脉血压并采取血样进行血气分析。心率由血压信号获得。刺激坐骨神经(0.5ms 持续时间、10s(0.1Hz)间隔时间、超高电压的矩形脉冲，使用 Grass S88 刺激器)，用 Grass FT03 肌张力-变位换能器测量腓肠肌收缩力。收缩、血压和心率用多频道 Grass 7D 记录仪记录。导管置于两侧颈静脉中。一个导管用于连续输入神经肌肉传导阻滞剂。提高神经肌肉传导阻滞剂的输入速率，直到达到 85-90%的稳态阻断。另一个导管用于输送剂量渐增的逆转剂。在连续输入神经肌肉传导阻滞剂过程中，给予浓度渐增的单剂量逆转剂。在实验结束时，将测量的肌收缩力对逆转剂浓度作图，并用回归分析技术计算 50%逆转浓度。

使用一系列 α-、β-和 γ-环糊精(化合物 1-16)和修饰的环糊精，肌肉松弛剂罗库溴铵(Roc)、维库溴铵(Vec)、泮库溴铵(Pan)、米库氯铵(Miv)、阿曲库铵苯磺酸盐(Atr)、顺阿曲库胺(Cis-Atr)、氯化筒箭毒碱(T-C)、氯琥珀胆碱(Sux；琥珀胆碱)和 rapacuronium bromide(Rap；Org 9487)诱发的神经肌肉传导阻滞逆转的结果在表 1 中列出。结果证明，每种神经肌肉传导阻滞剂的作用都能被静脉内施用环糊精衍生物逆转。

表 1　在麻醉的豚鼠中产生稳态神经肌肉传导阻滞 50%逆转的剂量(ED_{50}，$\mu mol.kg^{-1}$)

化合物*	Roc	Vec	Pan	Miv	Atr	Cis-Atr	T-C	Sux	Rap
1: α-环糊精(α-CD)	1575(2)	2610(1)							
2: 羧甲基-β-CD(DS=3.5)钠盐	134(2)	800(1)							
3: 2-羟基-3-三甲基胺基丙基-β-CD(DS=3.5)	518(2)	1400(1)							
4: 过 2,6-二甲基-β-CD(DS=12.6)	70(2)	1313(4)							
5: β-环糊精-磷酸钠盐(DS=3)	280(3)								
6: β-环糊精-磷酸钠盐(DS=8)	120(2)								
7: 羧甲基-β-CD(DS=3-3.5)	139(3)								
8: 羧乙基-β-CD(DS=3)	42(3)	103(2)	479(2)					408(2)	412(2)
9: β-环糊精(β-CD)	20(3)	636(1)	1050(2)						358(3)
10: 2-羟丙基-β-CD	33(3)	1598(4)							
11: γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=3)	64(3)	67(3)	197(2)	292(2)	113(2)	204(2)	160(2)	160(2)	80(3)
12: γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=7)	52(2)								
13: 羧甲基-γ-CD(DS=3.2)	25(4)	30(3)	641(4)	964(3)	990(2)	893(2)	431(2)	999(2)	227(2)
14: 羧乙基-γ-CD(DS=3.8)	7(3)	25(3)	141(3)	399(2)	421(2)	1558(3)	294(2)	1294(2)	43(3)
15: γ-环糊精(γ-CD)	4(3)	75(4)	186(4)	1690(2)	2793(4)	1710(2)	630(2)	1189(2)	57(3)
16: 2-羟丙基-γ-CD(DS=4)	12(3)	123(3)	440(3)	1674(2)	828(2)	878(2)	909(2)	1340(2)	134(3)

ED_{50} 值是多次实验的平均值；次数在括号中列出。

实施例 6

体外神经肌肉传导阻滞的逆转：分离的小鼠半膈标本

从安乐死的雄性小鼠(癌症研究所；体重 20-60g)中取出附着有膈神经的半膈。将该标本固定在组织固定器上，并置于充满改良 Krebs-Henseleit 溶液(组成：118mM NaCl, 30mM $NaHCO_3$, 5mM KCl, 1mM KH_2PO_4, 1mM $MgSO_4$, 30mM 葡萄糖和 2.5mM $CaCl_2$)、37℃、用 95%氧气和 5%二氧化碳起泡的组织浴中。标本的一端用硅化缝合线与 Grass FT03 肌张力-变位换能器连接。最初施加 10mN 的力。将膈神经置于双极铂电极上，使用 Grass S88 刺激器，在超高电压下，以 20s(0.05Hz)的间隔时间，用 0.2ms 持续时间的矩形脉冲刺激。用四频道 Grass 79D 记录仪记录收缩。

在形成稳定收缩后，向每个组织浴中加入适当的单剂量神经肌肉传导阻滞剂，以在 20 分钟的接触时间后产生约为基值 5-10%的收缩抑制(对于罗库溴铵，发现该浓度为 3.1μM)。然后以 10 分钟的间隔向该组织浴中施加含量渐增的逆转剂。建立最大百分比的逆转。在实验结束时，将测量的肌肉收缩力对逆转剂浓度作图，并用回归分析技术计算 50%逆转浓度。

在罗库溴铵诱发神经肌肉传导阻滞后，加入大量 γ-环糊精衍生物(化合物 11-16)、含有 4 个鼠李糖基-甘露吡喃糖基单位的环八糖(化合物 24)或大量二聚二甲苯一羧酸衍生物(化合物 17-21 和 23)产生的%最大逆转在表 II 中列出。结果证明，罗库溴铵的神经肌肉传导阻滞作用能被可变结构的化学螯合剂(即 γ-环糊精 13、14 和 15、由鼠李糖和甘露糖组成的环状寡糖(24)和环芳 18 和 23 的作用)有效阻断。

表 II 小鼠半膈：最大逆转(%)

化合物	3.1μM 罗库溴铵[1]
环糊精	
11：γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=3)	34(360)
12：γ-环糊精-磷酸钠盐(DS=7)	17(360)
13：羧甲基-γ-CD(DS=3.2)	88(180)
14：羧乙基-γ-CD(DS=3.8)	87(144)
15：γ-环糊精(γ-CD)	94(144)
16：2-羟丙基-γ-CD(DS=4)	71(360)
环状寡糖	
24：环[(1,4)-α-L-鼠李吡喃糖基-(1,4)-α-D-甘露吡喃糖基]四糖苷	86(288)
环芳	
17：1,7,21,27-四氧杂-9,17,29,37-四羧基[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸	11(360)
18：1,10,24,33-四氧杂-12,20,35,43-四羧基-[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸	61(288)
19：N,N',N",N"'-四(羧基乙酰基)-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸	2.4(108)
20：N,N',N",N"'-四(4-羧基丁酰基)-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸	8.7(72)
21：N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-1,7,21,27-四氮杂[7.1.7.1]二聚二甲苯一羧酸	0(360)
23：N,N',N",N"'-四(3-羧基丙酰基)-3,4,5,6,7,8,26,27,28,29,30,31-十二氢-1,10,24,33-四氮杂[2.2.1.2.2.1]二聚二甲苯一羧酸	90(58)

[1]：括号中为最大逆转时化学螯合剂的浓度，单位为 μM；

实施例 7

杯芳烃衍生物

4-磺基杯[6]芳烃和 4-磺基杯[8]芳烃从 Aldrich 获得。

体内神经肌肉传导阻滞的逆转，由罗库溴铵诱发，如实施例 5 所述进行。发现在麻醉豚鼠中引起稳态神经肌肉传导阻滞 50%逆转的杯芳烃衍生物剂量(ED_{50})，4-磺基杯[6]芳烃为 5.1μmol/kg，4-磺基杯[8]芳烃为 34μmol/kg。

体外神经肌肉传导阻滞的逆转如实施例 6 所述用小鼠半膈标本进行。在用罗库溴铵(组织浴中 3.6μM)诱发神经肌肉传导阻滞(95%阻断)后，对于 4-磺基杯[8]芳烃和 4-磺基杯[6]芳烃分别记录到 124%和 120%的最大逆转，而 50%逆转浓度为 36μM 和 34μM。