

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 1 月 25 日 (25.01.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/014834 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 307/88 (2006.01) **A61P 3/10** (2006.01)
A61K 31/343 (2006.01) **A61P 9/10** (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) **A61P 25/24** (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01) **A61P 25/04** (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

院 (SICHUAN ACADEMY OF CHINESE MEDICINE SCIENCES) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区人民南路4段51号, Sichuan 610041 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/093408

(22) 国际申请日: 2017 年 7 月 18 日 (18.07.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201610566577.8 2016年7月19日 (19.07.2016) CN

(71) 申请人: 四川大学 (SICHUAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 四川省中医药科学

(72) 发明人: 杜俊蓉 (DU, Junrong); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 陈维 (CHEN, Chu); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 毛晓娜 (MAO, Xiaona); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 吴燕 (WU, Yan); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 杨小佳 (YANG, Xiaojia); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 李彬 (LI, Bin); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 史梦琪 (SHI, Mengqi); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan

(54) Title: 3-HYDROCARBYL-5,6-DIOXY-SUBSTITUTED PHTHALIDE COMPOUND AND PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一类3-烃基-5,6-二氧取代苯酐化合物及其制备方法和用途

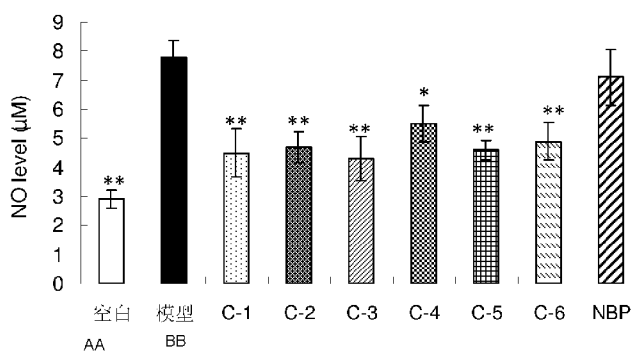
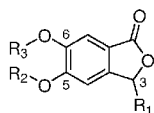


图 1



(1)

AA Blank
BB Model

(57) Abstract: Disclosed are a 3-hydrocarbyl-5,6-dioxy- substituted phthalide compound and a preparation method and use thereof. The structure of the phthalide compound is as shown in formula (I): wherein the definitions of R₁, R₂ and R₃ are as described in the specification and claims. The phthalide compound is easy to synthesize, has a good stability and safety, and has a significant anti-inflammatory activity and neuroprotective effects, and can be used in the preparation of drugs for preventing and/or treating nervous system diseases.

(57) 摘要: 一种3-烃基-5,6-二氧取代苯酐化合物及其制备方法和用途, 苯酐类化合物的结构如式(I)所示: 其中, R₁、R₂和R₃的定义如说明书和权利要求中所述。所述的苯酐类化合物合成简便、稳定性和安全性均较好, 具有显著的抗炎活性和神经保护作用, 可用于制备预防和/或治疗神经系统疾病的药物。

610065 (CN)。 旷喜(KUANG, Xi); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 李欣(LI, Xin); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。

(74) 代理人: 成都虹桥专利事务所(普通合伙)(CHENGDU HONGQIAO PATENT LAW OFFICE); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段22号KEN商务写字楼3层13、15、16号, Sichuan 610041 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一类 3-羟基-5,6-二氧取代苯酐化合物及其制备方法和用途

技术领域

5 本发明涉及一类3-羟基-5,6-二氧取代苯酐化合物及其制备方法和用途，属于医药技术领域。

背景技术

神经炎症与许多神经系统疾病的病理进程密切相关。这些疾病涉及阿尔兹海默病、血管性痴呆、帕金森病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化病、糖尿病神经病变，以及缺血性脑卒中、出血性脑卒中、外伤引起的脑组织损伤等。此外，长期或过度的炎症反应
10 还可能导致抑郁、焦虑等精神疾病。大脑中的炎症是由激活的小胶质细胞和反应性的星形胶质细胞所诱发的。这些细胞是脑内固有的免疫细胞，生理状态下在中枢神经系统内发挥清除病原微生物等外源物质及自身坏死细胞的作用，以维持神经组织内环境的稳定；病理状态下，胶质细胞在各种病原物质的刺激下持续激活，大量分泌多种炎症因子，如肿瘤坏死因子- α 、白介素- 1β 和干扰素- γ 等，形成病理级联反应，导致神经元损伤甚至
15 死亡，诱发或加重神经系统病变。近年的研究发现，卒中后神经细胞释放的危险相关分子模式（DAMPs）——过氧化物还原酶家族（Prxs）丧失抗氧化活性，但能激活巨噬细胞TLR2/TLR4而介导神经炎症，是卒中后脑组织损伤的核心病理生理机制[Nature Medicine. 2011, 17: 796; Nature Medicine. 2012, 18: 858]。

影响神经系统功能的另一个重要因素是机体物质和能量的供应不足或者失衡，尤其是
20 是脑血管病变导致的糖氧供应缺乏及其它物质能量代谢的失衡。例如，神经退行性病变的发生发展与糖尿病、肥胖、高胆固醇血症等糖脂代谢异常之间存在明显的正相关性。在发病早期，大脑对糖的利用及脑血流均出现明显下降，导致患者脑部微循环血流状态改变，限制了脑血流的代偿，使供给脑的氧气、葡萄糖等不足，最终造成神经系统物质能量代谢的紊乱，引发神经系统疾病。

25 因此，抑制病理状态下的炎症因子过度释放，改善脑部的物质能量代谢是减轻神经损伤的重要干预策略。

我国天然药物资源丰富，应用历史悠久，是现代药物研发的宝贵财富。对来源于传统药物的天然产物进行活性筛选与结构修饰至今仍是发现创新药物的有效手段。丁基苯酐（Butylphthalide, NBP）是从芹菜籽中提取得到的一种苯酐化合物。川芎、当归、藁本等也含有该成分。天然来源的丁基苯酐为具有光学活性的左旋体。目前其人
30

工合成的外消旋体作为我国原创的新化学实体药物在临床上用于轻、中度急性缺血性脑卒中的治疗。研究表明，丁基苯酞具有显著的神经保护作用，能增加缺血区脑血流量和重构缺血区微循环、保护线粒体功能、抑制血小板聚集和血栓形成、改善全脑缺血后的能量代谢、减轻神经功能损伤的程度，涉及脑缺血病理的多个环节，对脑卒中具有显著的治疗效果。此外，丁基苯酞对阿尔兹海默病、血管性痴呆、帕金森病、糖尿病所致神经病变、记忆障碍、脑卒中、外伤性脑损伤、癫痫、抑郁症等许多神经系统疾病也具有一定的改善作用。

然而丁基苯酞也存在一些不足。例如，该化合物为高沸点油状物，其精制纯化对生产设备的要求高；在体内不稳定，代谢清除快；常温下为油状物，不便于制备口服固体制剂，目前仅有软胶囊供口服使用；具有特殊气味，可能引起不适。

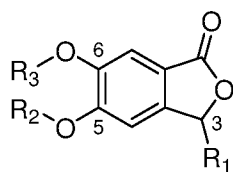
研究发现，2-（ α -羟基戊基）苯甲酸及其盐在血浆会快速发生关环反应生成丁基苯酞。将丁基苯酞与碱反应转化成前体药物，即 2-（ α -羟基戊基）苯甲酸及其盐，可以改善丁基苯酞自身水溶性差的缺陷。但是，2-（ α -羟基戊基）苯甲酸及其盐，包括钾、钠、钙、镁、锌等无机盐和苄胺、吗啉、二乙胺等有机胺盐，往往存在结晶性差、吸湿性强、易分解、在酸性或中性环境下不稳定等缺点。此外，2-（ α -羟基戊基）苯甲酸的钾盐或钠盐的水溶液呈碱性（通常 $\text{pH} > 9$ ），存在一定的生理刺激性。

本发明人针对现有技术的不足，设计并合成了一系列的苯酞化合物，从中筛选到了活性更强、安全性更好、成药性质更佳的苯酞化合物。

发明内容

为克服丁基苯酞存在的缺陷和不足，获得更好的苯酞类药物，申请人提出了本发明。

本发明的第一方面，提供一类苯酞化合物或其药学上可接受的溶剂化物、前体药物，其特征在于选自通式 I：



通式 I

其中： R_1 选自 C3-C6 烷基； R_2 、 R_3 独立地选自氢、C1-C3 烷基、乙酰基。

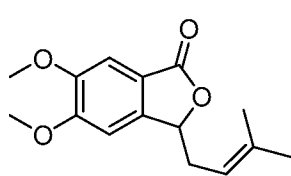
本发明所述的“烷基”是指，直链或支链的脂烷基，包括烷基、烯基、炔基。

本发明所述的“溶剂化物”是指，通式 I 表示的化合物在结晶过程中，与一个或多个溶剂分子缔合而成的聚集体。溶剂分子可以为水或其它有机溶剂（如乙醇、异丙醇、乙醚、乙酸乙酯、丙酮等）。

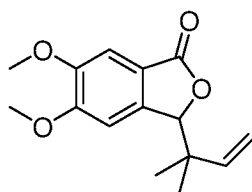
5 本发明所述的“前体药物”是指，通式 I 表示的苯酐化合物与碱反应，发生内酯开环反应而生成的羧酸及其盐。上述的碱包括无机碱（如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化镁、氢氧化钙等）、有机碱（如苄胺、吗啉、乙二胺、乙醇胺、哌嗪、胆碱、甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、二乙胺、三乙胺等）。上述的羧酸及其盐可在体内生理条件下转化成母体药物（通式 I 表示的苯酐化合物）。

10 在通式 I 结构的基础上，本发明所述的苯酐化合物，其特征在于 R_1 选自正丙基、正丁基、正戊基、2-烯丙基、2-烯丁基、3-烯丁基、1-甲基-3-烯丁基、1-甲基-2-烯丙基、2-甲基-2-烯丙基、1,1-二甲基-2-烯丙基、1,2-二甲基-2-烯丙基、3-甲基-2-烯丁基、2,2-二甲基-3-烯丁基、3-甲基-3-烯丁基、4-甲基-3-烯戊基、1-甲基-1-乙烯基、1-乙基-1-乙烯基、1-丙基-1-乙烯基、2-炔丙基、3-炔丁基； R_2 和 R_3 独立地选自氢、甲基、乙酰基。

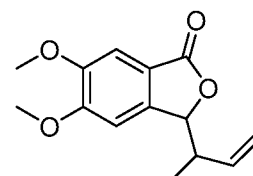
15 本发明所述的苯酐化合物，进一步优选自以下化合物：



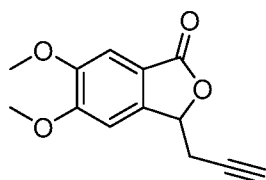
C-1



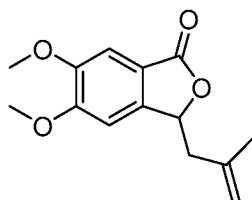
C-2



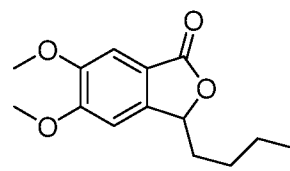
C-3



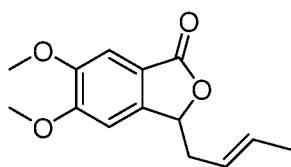
C-4



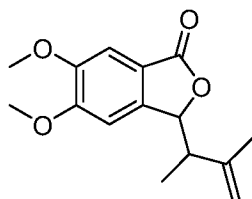
C-5



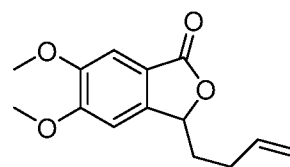
C-6



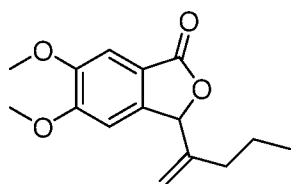
C-7



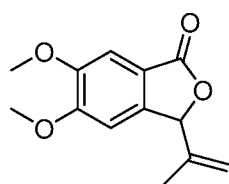
C-8



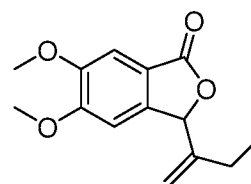
C-9



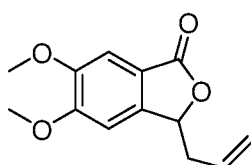
C-10



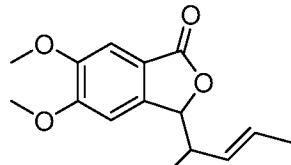
C-11



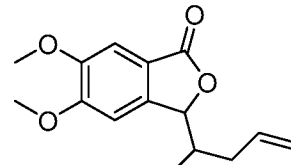
C-12



C-13



C-14

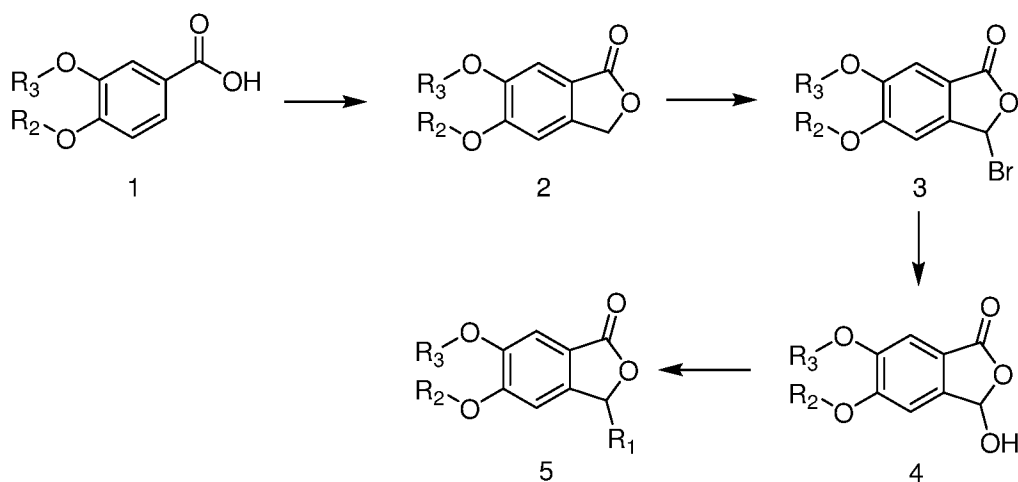


C-15

本发明的第二方面，所述的苯酐化合物可以通过如下方法制备得到：

化合物 1 与 HCl、37% 甲醛溶液 10~80℃ 反应 4~12 小时，得到化合物 2。以 CCl₄ 或苯为溶剂，过氧化苯甲酰为催化剂，化合物 2 与 *N*-溴代琥珀酰亚胺 (NBS) 20~100℃ 反应 2~8 小时，得到化合物 3。化合物 3 与水 20~100℃ 反应 1~4 小时，生成化合物 4。

5 化合物 4 与卤代烷的格氏试剂（如 R₁MgBr、R₁MgCl 等）反应生成目标化合物 5。



本发明的第三方面，提供一种药物组合物，它包含安全有效量的一种或多种苯酐化合物及其药学上可接受的溶剂化物、前体药物。

本发明所述的“组合物”是指，通过将一种以上物质或组份混和而成的产品。本发明的组合物包含 1 wt%（重量百分比）至 95 wt%、优选地为 10 wt% 至 80 wt% 的第一方面所述的苯酐化合物及其药学上可接受的溶剂化物、前体药物，以所述药物组合物的总重量计。

本发明所述的“安全有效量”是指，本发明的苯酐化合物的给药剂量足以明显改善病情，而不至于产生严重的副作用。本发明化合物的安全有效量可根据给药途径，

患者的年龄、体重、疾病类型及其严重程度等变化。对于体重 60 kg 的人而言，每日给药剂量通常为 10 mg 至 1500 mg，优选地为 30 mg 至 600 mg。可一次或分多次给药。

5 作为优选的实施方案之一，该药物组合物可进一步加入一种或多种药学上可接受的载体制成药学上可接受的药物制剂。

本发明所述的“药学上可接受的载体”是指，一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质，它们适合于人使用，而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此是指，组合物中各组分能和本发明的苯酐化合物以及它们之间相互掺和，而不明显降低苯酐化合物的药效。药学上可以接受的载体包括糖（如蔗糖、乳糖、葡萄糖等）、
10 淀粉（如马铃薯淀粉、玉米淀粉等）、纤维素及其衍生物（如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等）、糊精及其衍生物、微粉硅胶、明胶、滑石粉、硫酸钙、固体润滑剂（如硬脂酸镁、硬脂酸等）、植物油（如大豆油、芝麻油、花生油、橄榄油、蓖麻油、棉籽油、玉米胚芽油、棕榈油等）、醇类溶剂（如乙醇、丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇、聚乙二醇等）、表面活性剂、乳化剂、润湿剂、着色剂、矫味剂、
15 稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热源水。

本发明所述的“药物制剂”包括片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、滴丸剂、散剂、锭剂、注射剂、冻干粉针、糖浆剂、口服液、贴剂、吸入粉雾剂、喷雾剂，经口服、静脉注射、肌肉注射、皮下注射、舌下、透皮、口腔喷雾、鼻腔喷雾途径给药。

20 本发明的第四方面，提供第一方面所述的苯酐化合物及其药学上可接受的溶剂化物、前体药物或第三方面所述的药物组合物的用途，用于制备预防和/或治疗神经系统疾病的药物。

本发明所述的“神经系统疾病”包括阿尔兹海默病、帕金森病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化病、糖尿病神经病变、缺血性脑卒中、出血性脑卒中、脑外伤引起的神经损伤、抑郁症、血管性痴呆、神经性疼痛。

25 在另一优选例中，所述预防和/或治疗神经系统疾病是通过抑制病理状态下的炎症因子过度释放实现的。

在另一优选例中，用于所述预防和/或治疗神经系统疾病是通过改善脑血管和血流状态，调节脑内物质能量代谢实现的。

30 本发明的第五方面，提供第一方面所述的苯酐化合物及其药学上可接受的溶剂化物、前体药物或第三方面所述的药物组合物的用途，用于：

(a) 制备预防和/或治疗由炎症诱发神经细胞损伤的药物；

(b) 用于制备预防和/或治疗由脑血管阻塞诱发神经细胞损伤的药物。

有益效果

本发明所公开的苯酐化合物能够减轻过氧化物酶 4 (Prx4) 诱导的细胞炎症损伤，具有显著的神经保护作用，其效果优于丁基苯酐；本发明所公开的苯酐化合物为结晶性固体，不易吸湿、无明显气味、物理化学性质较为稳定，相比于常温下为油状物的丁基苯酐，能更便利地制备口服固体制剂；本发明所公开的苯酐化合物在 pH1~9 范围内均稳定，在血浆中的稳定性优于丁基苯酐；本发明所公开的苯酐化合物毒性低，安全性良好。

附图说明

以下，结合附图来详细说明本发明的实施方案，其中：

图 1 为空白组、模型组和经不同浓度本发明化合物(C-1 至 C-6)及丁基苯酐(NBP)处理后的 RAW264.7 巨噬细胞分泌 NO 的浓度。与模型组比较：* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 。

图 2 为本发明化合物 (C-1 至 C-3) 及丁基苯酐 (NBP) 对小鼠脑缺血神经病理学改变的影响。

具体实施方式

以下实施例是对本发明的进一步说明，但绝不是对本发明范围的限制。下面参照实施例进一步详细阐述本发明，但是本领域技术人员应当理解，本发明并不限于这些实施例以及使用的制备方法。而且，本领域技术人员根据本发明的描述可以对本发明进行等同替换、组合、改良或修饰，但这些都包括在本发明的范围内。

实施例 1 5,6-二甲氧基苯酐的制备

将 37% 甲醛水溶液 280 ml，缓慢通入 HCl 气体 2 小时，加入 3,4-二甲氧基苯甲酸 36.4 g，60℃ 反应 10 小时并持续通入 HCl。反应液减压浓缩后，加水 240 ml，搅拌均匀，加氨水调至 pH7，静置析出沉淀。沉淀过滤，用水洗涤数次，再用 MeOH 重结晶，得无色晶体 23.5 g。

实施例 2 3-羟基-5,6-二甲氧基苯酐的制备

5,6-二甲氧基苯酐 6.76 g、过氧化苯甲酰 116 mg、N-溴代琥珀酰亚胺 7.0 g 溶于 CCl_4 88 ml，加热回流 4 小时。反应液 4℃ 放置 12 小时。过滤，除去沉淀。滤液浓缩，加水 30 ml，加热回流 1.5 小时。反应液 4℃ 放置 12 小时。过滤，冰水洗涤滤饼，50℃ 减压干燥，得白色固体 4.38 g。

实施例 3 3-(3'-甲基-2'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酐的制备

Mg 粉 1.0 g, N₂ 保护, 加入无水 THF 10 ml, 5℃下滴加 5 ml 含 3-甲基-2-烯丁基-1-溴的 THF 溶液 (3-甲基-2-烯丁基-1-溴 5.6 g 溶于 THF 15 ml), 待反应引发后, 滴入剩余溶液, 5℃反应 2 小时, 即得格氏试剂。3-羟基-5,6-二甲氧基苯酐 3.0 g 溶于无水 THF 27 ml, 0℃下滴入新制的格氏试剂溶液中, 30℃反应 12 小时。加入饱和 NH₄Cl 溶液 10 ml, 待反应平稳后加入 10%盐酸 13 ml, 室温反应 2 小时。反应液用乙酸乙酯萃取。有机相浓缩后上硅胶柱, 洗脱剂为石油醚-乙酸乙酯 (5:1), 得白色固体 2.1 g, 3-(3'-甲基-2'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酐: HR-TOF-MS (*m/z*): 261.1122 ([M-H]⁻, 计算值: 261.1127, [C₁₅H₁₇O₄]⁻); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.25 (1H, s), δ 7.23 (1H, s), δ 5.49 (1H, t), δ 5.02 (1H, t), δ 3.88 (3H, s), δ 3.84 (3H, s), δ 2.77 (1H, m), δ 2.46 (1H, m), δ 1.64 (3H, s), δ 1.58 (3H, s)。

实施例 4 3-炔丙基-5,6-二甲氧基苯酐的制备

Mg 粉 3.0 g, N₂ 保护, 加入无水 THF 30 ml, 5℃下滴加 15 ml 含 2-炔丙基-1-溴的 THF 溶液 (2-炔丙基-1-溴 4.5 g 溶于 THF 40 ml), 待反应引发后, 滴入剩余溶液, 10℃反应 1 小时, 即得格氏试剂。3-羟基-5,6-二甲氧基苯酐 9.0 g 溶于无水 THF 80 ml, 0℃下滴入新制的格氏试剂溶液中, 45℃反应 8 小时。加入饱和 NH₄Cl 溶液 40 ml, 待反应平稳后加入 10%盐酸 40 ml, 室温反应 4 小时。反应液用乙酸乙酯萃取。有机相浓缩后上硅胶柱, 洗脱剂为石油醚-乙酸乙酯 (3:1), 得白色固体 6.8 g, 3-炔丙基-5,6-二甲氧基苯酐: 白色固体; HR-TOF-MS (*m/z*): 231.0651 ([M-H]⁻, 计算值: 231.0657, [C₁₃H₁₁O₄]⁻); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.29 (1H, s), δ 7.11 (1H, s), δ 5.45 (1H, q), δ 3.99 (3H, s), δ 3.95 (3H, s), δ 2.95 (1H, m), δ 2.68 (1H, m), δ 2.09 (1H, t)。

实施例 5 苯酐化合物的血浆稳定性

将用磷酸盐缓冲液 (pH7.4) 按 1: 1 稀释的雄性 SD 大鼠血浆 195 μl 加入离心管中, 然后加入浓度为 40 μmol/L 受试化合物 DMSO 溶液 5 μl, 密塞, 漩涡混匀, 37℃孵化 3 小时。用冷乙腈 600 μl 中止反应, 立即混合并离心, 进行 HPLC 测定。以孵化零时间的化合物浓度为 100%, 计算剩余百分比。结果如下:

编号	化合物名称	剩余百分比
C-1	3-(3'-甲基-2'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酞	94.1%
C-2	3-(1',1'-二甲基-2'-烯)丙基-5,6-二甲氧基苯酞	89.4%
C-3	3-(1'-甲基-2'-烯)丙基-5,6-二甲氧基苯酞	91.6%
C-4	3-炔丙基-5,6-二甲氧基苯酞	88.9%
C-5	3-(2'-甲基-2'-烯)丙基-5,6-二甲氧基苯酞	93.7%
C-6	3-正丁基-5,6-二甲氧基苯酞	87.0%
C-7	3-(2'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酞	85.7%
C-8	3-(1',2'-二甲基-2'-烯)丙基-5,6-二甲氧基苯酞	89.3%
C-9	3-(3'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酞	83.5%
NBP	3-正丁基苯酞	71.8%

实施例 6 苯酞化合物对细胞分泌 NO 的影响

取处于对数生长期的 RAW264.7 巨噬细胞，调整细胞密度为 5×10^5 个/ml，接种于 96 孔板，100 μ l/孔，置于 37℃、5%CO₂ 培养箱中培养。待细胞贴壁 20 小时后，弃去孔内培养基，并加入 80 μ l/孔基础培养基，同时加 10 μ l/孔不同浓度的受试化合物处理，1 小时后加入 Prx4，终浓度为 20 nmol/ml，20 小时后收集细胞上清液。采用比色法，以 NaNO₂ 显色，于 550 nm 波长处检测 NO 含量，结果见图 1。

结果显示，Prx4 能刺激 RAW264.7 巨噬细胞发生炎症反应，导致 NO 含量显著增加，而本发明的苯酞化合物能抑制 Prx4 引起的 NO 分泌增加，减轻细胞炎性损伤的程度，且效果优于 NBP。

实施例 7 对脑缺血小鼠的神经保护作用

SPF 级雄性 C57 小鼠，随机分组，每组 8 只，参照文献制备小鼠双侧颈总动脉短暂结扎的脑缺血模型（Free Radical Biology and Medicine. 2011, 50: 1780-1786; Neuropharmacology. 2014, 77: 453-464）。于缺血再灌时、24 小时、48 小时，分别腹腔注射给予 30 mg/kg 的不同苯酞化合物（C-1 组、C-2 组、C-3 组、NBP 组）或空白溶媒（Sham 组和 Model 组）。再灌注 72 小时后，进行神经行为学评价，处死动物取大脑 Nissl 染色检测海马 CA1 区和纹状体 CPu 脑区中同一部位的存活神经元细胞数，结果见图 2。

与假手术组（Sham 组）比较，小鼠双侧颈总动脉短暂结扎而造成脑缺血，引起模型组（Model 组）动物神经行为障碍、神经元丢失和星形胶质细胞过度激活；而脑缺血再灌后给予不同苯酞化合物治疗，C-1、C-2、C-3 均显示出较强的神经保护作用，不仅可改善脑低灌状态下小鼠术后 24 小时、48 小时及 72 小时的神经行为功能，还

能增加海马和纹状体脑区的神经元细胞数，且效果优于 NBP。

实施例 8 对小鼠的急性毒性

SPF 级 ICR 小鼠，18~20 g，雌雄各半，适应性喂养 3 天后，禁食 12 小时称体重随机分组：溶媒组和给药组（C-1、C-2、C-3）。各受试化合物临用前用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制混悬药液，灌胃剂量均为 1.0 g/20 ml/kg；溶媒组灌胃 20 ml/kg 的空白溶媒。给药后，48 小时内动物单笼饲养，药后 2 小时连续观察，药后 7 天、14 天同前称取动物体重。

在该实验条件下，C-1、C-2、C-3 灌胃剂量 1.0 g/kg 对 ICR 小鼠均未见任何不良反应；14 天观察期内，各给药组与溶媒组的小鼠体重增长未见差异，均无动物死亡。

10 结果表明，C-1、C-2、C-3 对小鼠灌胃给药的安全剂量均大于 1.0 g/kg。

实施例 9 片剂的制备

1. 处方（1000 片量）：

3-(3'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酐（C-9）	100 g
淀粉	50 g
微晶纤维素	20 g
硬脂酸镁	2 g
羧甲基纤维素钠	5 g
50%乙醇	适量

2. 制法：将 3-(3'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酐、淀粉、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠粉碎、混匀，以 50%乙醇适量作润湿剂制成软材，过 20 目筛制粒，60~80℃干燥，整粒，加硬脂酸镁混匀，压片，包薄膜衣。

实施例 10 注射剂的制备

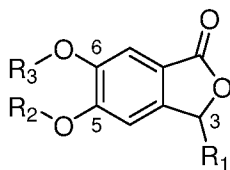
1. 处方（1000 瓶量）：

3-正丁基-5,6-二甲氧基苯酐（C-6）	50 g
PEG-400	2 L
注射用乙醇加到	5 L

2. 制法：将 3-(3'-甲基-2'-烯)丁基-5,6-二甲氧基苯酐加入 PEG-400，搅拌溶解，再加乙醇至足量，搅匀，溶液滤过，灌封。临用前以 0.9%氯化钠注射液或 5%葡萄糖注射液稀释，静脉滴注。

权利要求书

1、苯酐化合物，其特征在于：结构式如通式 I：

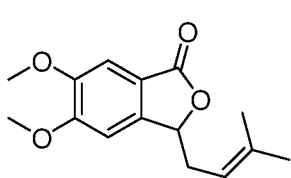


通式 I

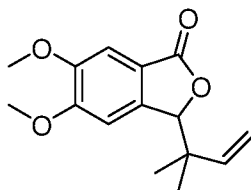
5 其中： R_1 选自 C3-C6 烷基； R_2 、 R_3 独立地选自氢、C1-C3 烷基、乙酰基。

2、根据权利要求 1 所述的苯酐化合物，其特征在于： R_1 选自正丙基、正丁基、正戊基、2-烯丙基、2-烯丁基、3-烯丁基、1-甲基-3-烯丁基、1-甲基-2-烯丙基、2-甲基-2-烯丙基、1,1-二甲基-2-烯丙基、1,2-二甲基-2-烯丙基、3-甲基-2-烯丁基、2,2-二甲基-3-烯丁基、3-甲基-3-烯丁基、4-甲基-3-烯戊基、1-
10 甲基-1-乙炔基、1-乙基-1-乙炔基、1-丙基-1-乙炔基、2-炔丙基、3-炔丁基； R_2 和 R_3 独立地选自氢、甲基、乙酰基。

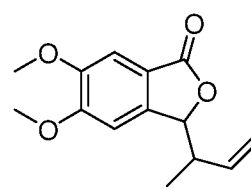
3、根据权利要求 1 所述的苯酐化合物，其特征在于：包括以下化合物：



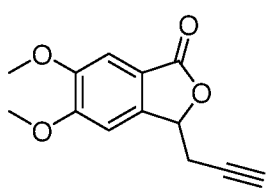
C-1



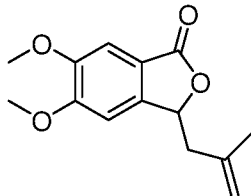
C-2



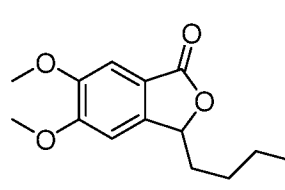
C-3



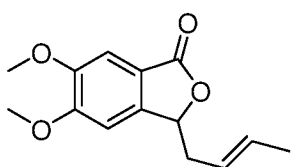
C-4



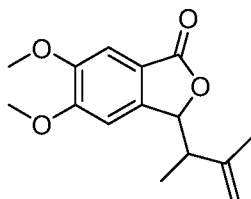
C-5



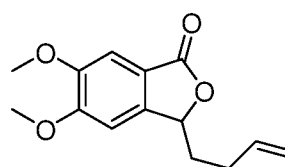
C-6



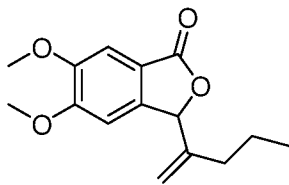
C-7



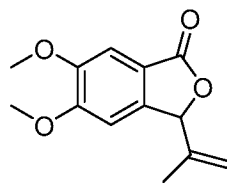
C-8



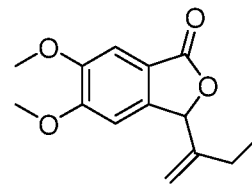
C-9



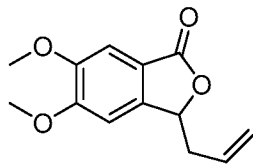
C-10



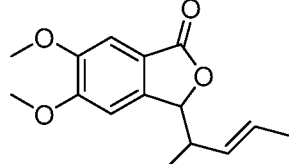
C-11



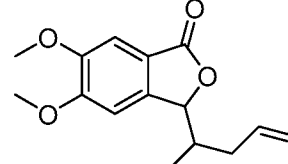
C-12



C-13



C-14



C-15

4、权利要求 1-3 任一项所述的苯酐化合物的药学上可接受的溶剂化物或前体药物，其特征在于：

所述溶剂化物是指：通式 I 表示的化合物在结晶过程中，与一个或多个溶剂分子缔合而成的聚集体；

5 优选的，所述溶剂分子为水或如乙醇、异丙醇、乙醚、乙酸乙酯、丙酮等有机溶剂；

所述前体药物是指：通式 I 表示的苯酐化合物与碱反应，发生内酯开环反应而生成羧酸及其盐；

所述的碱包括无机碱、有机碱；

10 进一步优选，所述无机碱包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化镁、氢氧化钙；
进一步优选，所述有机碱包括如苄胺、吗啉、乙二胺、乙醇胺、哌嗪、胆碱、甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、二乙胺、三乙胺等。

5、药物组合物，其特征在于：所述的药物组合物包含：(a) 治疗有效量的选自权利要求 1-3 中任意一项所述的苯酐化合物以及权利要求 4 所述的苯酐化合物的药学上可接受的溶剂化物、前体药物中的一种或多种；以及 (b) 一种或多种药学上可接受的载体。

6、权利要求 1-3 中任意一项所述的苯酐化合物以及权利要求 4 所述的苯酐化合物的药学上可接受的溶剂化物、前体药物或权利要求 5 所述的药物组合物在制备预防和/或治疗神经系统疾病的药物中的用途。

20 7、根据权利要求 6 所述的用途，其特征在于：所述的神经系统疾病包括阿尔兹海默病、帕金森病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化病、糖尿病神经病

变。

8、根据权利要求 6 所述的用途，其特征在于：所述的神经系统疾病包括缺血性脑卒中、出血性脑卒中、脑外伤引起的神经损伤、抑郁症、血管性痴呆、神经性疼痛。

5 9、权利要求 1-3 中任意一项所述的苯酐化合物以及权利要求 4 所述的苯酐化合物的药学上可接受的溶剂化物、前体药物或权利要求 5 所述的药物组合在制备预防和/或治疗由炎症诱发神经细胞损伤的药物中的用途。

10 10、权利要求 1-3 中任意一项所述的苯酐化合物以及权利要求 4 所述的苯酐化合物的药学上可接受的溶剂化物、前体药物或权利要求 5 所述的药物组合在制备预防和/或治疗由脑血管阻塞诱发神经细胞损伤的药物中的用途。

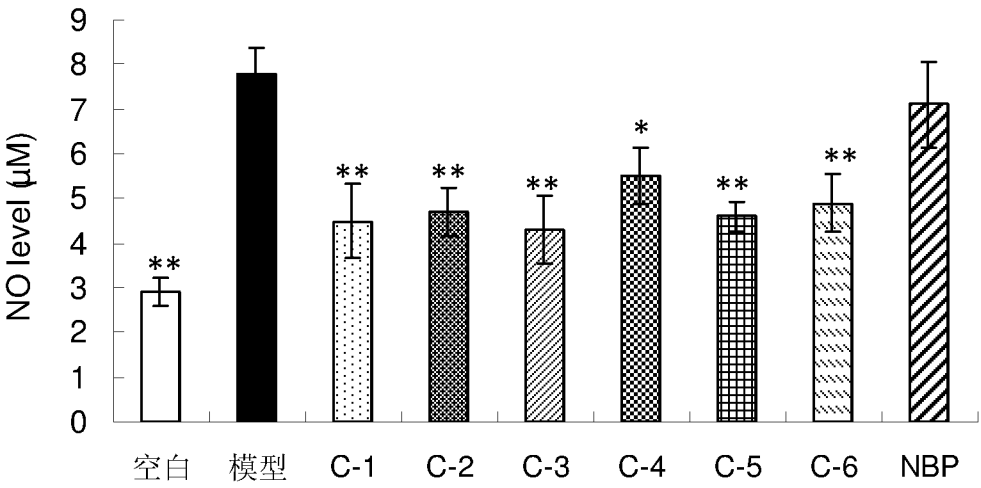


图 1

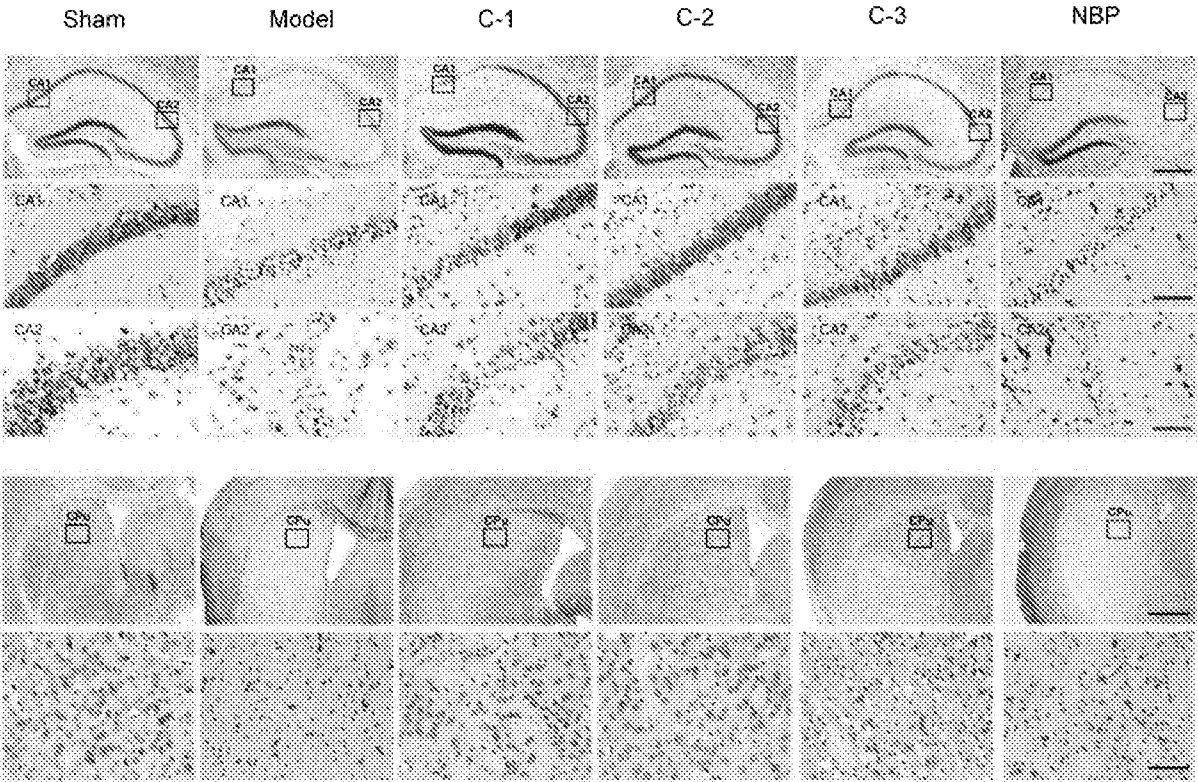


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/093408

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 307/88 (2006.01) i; A61K 31/343 (2006.01) i; A61P 25/00 (2006.01) i; A61P 25/16 (2006.01) i; A61P 25/28 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i; A61P 9/10 (2006.01) i; A61P 25/24 (2006.01) i; A61P 25/04 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 307/-; A61K 31/-; A61P 25/-; A61P 3/-; A61P 9/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNKI; DWPI; SIPOABS; REGISTRY (STN) ; CAPLUS (STN); SICHUAN UNIVERSITY; SICHUAN ACADEMY OF CHINESE MEDICINE SCIENCES; oxygen; phthalide; neuro+; nerve; Alzheimer; Parkinson; sclerosis; stroke; depression; dementia; structural formula search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 106432161 A (SICHUAN UNIVERSITY; SICHUAN ACADEMY OF CHINESE MEDICINE SCIENCES), 22 February 2017 (22.02.2017), description, paragraphs 0009-0026	1-10
PX	MAHENDAR, L. et al., "Domino [Pd]-Catalysis: One-Pot Synthesis of Isobenzofuran-1 (3H)-ones", J. ORG. CHEM., vol. 81, no. 14, 10 August 2016 (10.08.2016), pages 7685-7691, and table 3, compound 2bk	1-2
X	WO 2013102935 A2 (COUNCIL SCIENT. IND. RES.), 11 July 2013 (11.07.2013), description, page 10, and table 3	1-3
X	BARFIELD, M. et al., "Interproton Spin-Spin Coupling across a Dual Path in 2, 5-Dihydrofurans and Phthalans", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 97, no. 18, 03 September 1975 (03.09.1975), pages 5160-5167 and page 5166, left-hand column, paragraph 8	1
X	CN 101402623 A (SHANGHAI INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES), 08 April 2009 (08.04.2009), description, page 2, paragraph 1 to page 4, paragraph 3	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 19 September 2017 (19.09.2017)	Date of mailing of the international search report 29 September 2017 (29.09.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer CHEN, Wenrui Telephone No.: (86-10) 010-82246747

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/093408

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101184484 A (DSM IP ASSETS BV), 21 May 2008 (21.05.2008), description, page 1, paragraph 3 to page 6, paragraph 1, page 8, paragraph 5 and page 9, paragraph 2	1-10
X	CN 101563080 A (DSM IP ASSETS BV), 21 October 2009 (21.10.2009), description, page 4, paragraph 4 to page 8, paragraph 1, page 10, paragraph 3 and page 15, paragraphs 2-5	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/093408

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106432161 A	22 February 2017	None	
WO 2013102935 A2	11 July 2013	US 2015045564 A1	12 February 2015
		WO 2013102935 A3	03 October 2013
CN 101402623 A	08 April 2009	None	
CN 101184484 A	21 May 2008	CN 101184484 B	05 October 2011
		US 2010298427 A1	25 November 2010
		EP 1937250 B1	19 October 2011
		ES 2375302 T3	28 February 2012
		JP 2008542226 A	27 November 2008
		WO 2006125651 A2	30 November 2006
		KR 20080015802 A	20 February 2008
		WO 2006125651 A3	19 July 2007
		US 2009176873 A1	09 July 2009
		EP 1937250 A2	02 July 2008
		AT 529107 T	15 November 2011
CN 101563080 A	21 October 2009	WO 2008017491 A1	14 February 2008
		KR 20090078777 A	20 July 2009
		EP 2068863 A2	17 June 2009
		ES 2357261 T3	20 April 2011
		AT 491446 T	15 January 2011
		RU 2462462 C2	27 September 2012
		JP 2010500386 A	07 January 2010
		BR PI0715929 A2	30 July 2013
		WO 2008017491 A8	07 May 2009
		EP 2068863 B1	15 December 2010
		RU 2009108655 A	20 September 2010
		DE 602007011302 D1	27 January 2011
		US 2010184852 A1	22 July 2010

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/093408

A. 主题的分类 C07D 307/88(2006.01)i; A61K 31/343(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 25/16(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61P 25/24(2006.01)i; A61P 25/04(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																				
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D307/-;A61K31/-;A61P25/-;A61P3/-;A61P9/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称,和使用的检索词(如使用)) CNABS; CNKI; DWPI; SIPOABS; REGISTRY(STN); CAPLUS(STN); 四川大学; 四川省中医药科学院; 苯酐; 氧; 神经; 阿尔兹海默; 帕金森; 硬化; 抑郁; 痴呆; 卒中; phthalide; neuro+; nerve; Alzheimer; Parkinson; sclerosis; stroke; depression; dementia; 结构式检索																				
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 106432161 A (四川大学 四川省中医药科学院) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第0009-0026段</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>MAHENDAR, Lodi等. "Domino [Pd]-Catalysis: One-Pot Synthesis of Isobenzofuran-1(3H)-ones" J. Org. Chem., 第81卷, 第14期, 2016年 8月 10日 (2016 - 08 - 10), 第7685-7691页, 表3化合物2bk</td> <td>1-2</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2013102935 A2 (COUNCIL SCIENT. IND. RES.) 2013年 7月 11日 (2013 - 07 - 11) 说明书第10页表3</td> <td>1-3</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>BARFIELD, M. 等. "Interproton Spin-Spin Coupling across a Dual Path in 2, 5-Dihydrofurans and Phthalans" Journal of the American Chemical Society, 第97卷, 第18期, 1975年 9月 3日 (1975 - 09 - 03), 第5160-5167页, 第5166页左栏第8段</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 101402623 A (中国科学院上海有机化学研究所) 2009年 4月 8日 (2009 - 04 - 08) 说明书第2页第1段至第4页第3段</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 106432161 A (四川大学 四川省中医药科学院) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第0009-0026段	1-10	PX	MAHENDAR, Lodi等. "Domino [Pd]-Catalysis: One-Pot Synthesis of Isobenzofuran-1(3H)-ones" J. Org. Chem., 第81卷, 第14期, 2016年 8月 10日 (2016 - 08 - 10), 第7685-7691页, 表3化合物2bk	1-2	X	WO 2013102935 A2 (COUNCIL SCIENT. IND. RES.) 2013年 7月 11日 (2013 - 07 - 11) 说明书第10页表3	1-3	X	BARFIELD, M. 等. "Interproton Spin-Spin Coupling across a Dual Path in 2, 5-Dihydrofurans and Phthalans" Journal of the American Chemical Society, 第97卷, 第18期, 1975年 9月 3日 (1975 - 09 - 03), 第5160-5167页, 第5166页左栏第8段	1	X	CN 101402623 A (中国科学院上海有机化学研究所) 2009年 4月 8日 (2009 - 04 - 08) 说明书第2页第1段至第4页第3段	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 106432161 A (四川大学 四川省中医药科学院) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第0009-0026段	1-10																		
PX	MAHENDAR, Lodi等. "Domino [Pd]-Catalysis: One-Pot Synthesis of Isobenzofuran-1(3H)-ones" J. Org. Chem., 第81卷, 第14期, 2016年 8月 10日 (2016 - 08 - 10), 第7685-7691页, 表3化合物2bk	1-2																		
X	WO 2013102935 A2 (COUNCIL SCIENT. IND. RES.) 2013年 7月 11日 (2013 - 07 - 11) 说明书第10页表3	1-3																		
X	BARFIELD, M. 等. "Interproton Spin-Spin Coupling across a Dual Path in 2, 5-Dihydrofurans and Phthalans" Journal of the American Chemical Society, 第97卷, 第18期, 1975年 9月 3日 (1975 - 09 - 03), 第5160-5167页, 第5166页左栏第8段	1																		
X	CN 101402623 A (中国科学院上海有机化学研究所) 2009年 4月 8日 (2009 - 04 - 08) 说明书第2页第1段至第4页第3段	1-10																		
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																				
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																				
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期																		
2017年 9月 19日		2017年 9月 29日																		
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员																		
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		陈文瑞 电话号码 (86-10)010-82246747																		

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 101184484 A (帝斯曼知识产权资产管理有限公司) 2008年 5月 21日 (2008 - 05 - 21) 说明书第1页第3段至第6页第1段，第8页第5段，第9页第2段	1-10
X	CN 101563080 A (帝斯曼知识产权资产管理有限公司) 2009年 10月 21日 (2009 - 10 - 21) 说明书第4页第4段至第8页第1段，第10页第3段，第15页第2-5段	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/093408

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	106432161	A	2017年 2月 22日	无			
WO	2013102935	A2	2013年 7月 11日	US	2015045564	A1	2015年 2月 12日
				WO	2013102935	A3	2013年 10月 3日
CN	101402623	A	2009年 4月 8日	无			
CN	101184484	A	2008年 5月 21日	CN	101184484	B	2011年 10月 5日
				US	2010298427	A1	2010年 11月 25日
				EP	1937250	B1	2011年 10月 19日
				ES	2375302	T3	2012年 2月 28日
				JP	2008542226	A	2008年 11月 27日
				WO	2006125651	A2	2006年 11月 30日
				KR	20080015802	A	2008年 2月 20日
				WO	2006125651	A3	2007年 7月 19日
				US	2009176873	A1	2009年 7月 9日
				EP	1937250	A2	2008年 7月 2日
				AT	529107	T	2011年 11月 15日
CN	101563080	A	2009年 10月 21日	WO	2008017491	A1	2008年 2月 14日
				KR	20090078777	A	2009年 7月 20日
				EP	2068863	A2	2009年 6月 17日
				ES	2357261	T3	2011年 4月 20日
				AT	491446	T	2011年 1月 15日
				RU	2462462	C2	2012年 9月 27日
				JP	2010500386	A	2010年 1月 7日
				BR	PI0715929	A2	2013年 7月 30日
				WO	2008017491	A8	2009年 5月 7日
				EP	2068863	B1	2010年 12月 15日
				RU	2009108655	A	2010年 9月 20日
				DE	602007011302	D1	2011年 1月 27日
				US	2010184852	A1	2010年 7月 22日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)