

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.⁷
A61K 31/15
A61P 25/28



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00818784.3

[43] 公开日 2003 年 7 月 30 日

[11] 公开号 CN 1433303A

[22] 申请日 2000.12.11 [21] 申请号 00818784.3

[30] 优先权

[32] 2000. 1. 10 [33] DE [31] 10000577.2

[86] 国际申请 PCT/EP00/12504 2000. 12. 11

[87] 国际公布 WO01/51047 德 2001. 7. 19

[85] 进入国家阶段日期 2002. 7. 10

[71] 申请人 富玛法姆股份公司

地址 瑞士穆里

[72] 发明人 拉金德拉·库马尔·乔希

汉斯-皮特·斯特雷贝尔

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 3 页 说明书 9 页

[54] 发明名称 富马酸衍生物在治疗线粒体病中的应用

[57] 摘要

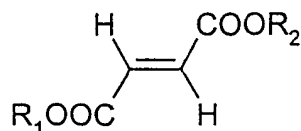
本发明涉及采用一种富马酸衍生物或多种富马酸衍生物的混合物制备的药物组合物，用于治疗线粒体病，特别是用于治疗帕金森综合症，阿耳茨海默氏病、慢性舞蹈症、色素性视网膜炎和线粒体性脑病。优选地，富马酸衍生物选自于富马酸双烷基酯以及游离酸或盐形式的富马酸单烷基酯。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种富马酸衍生物或多种富马酸衍生物的混合物在制备用于治疗线粒体病的药物组合物中的应用。

2、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于富马酸衍生物选自于富马酸双烷基酯以及游离酸或盐形式的富马酸单烷基酯。

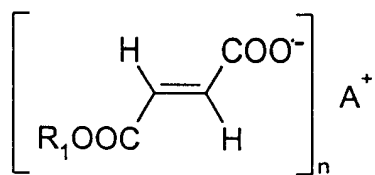
3、如权利要求 2 所述的应用，其中富马酸双烷基酯符合以下结构式：



其中 R_1 和 R_2 可以相同或不相同，分别代表直链、支链、饱和或不饱和的 C_{1-24} 烷基或 C_{5-20} 芳基，其中这些基团可以任选被卤素 (F、Cl、Br、I)、羟基、 C_{1-4} 烷氧基、硝基或氰基取代。

4、如权利要求 2 或 3 所述的应用，其特征在于基团 R_1 和 R_2 为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、环戊基、2-乙基己基、己基、环己基、庚基、环庚基、辛基、乙烯基、烯丙基、2-羟基乙基、2-和/或 3-羟基丙基、2-甲氧基乙基、甲氧基甲基或者 2-或 3-甲氧基丙基。

5、如权利要求 2 所述的应用，其中富马酸单烷基酯符合以下结构式：



其中：

—R₁ 为权利要求 3 或 4 定义的基团；

—A 为氢离子或者碱金属或碱土金属阳离子或者生理可接受的过渡金属阳离子，优选选自 Li⁺、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Zn²⁺、Fe²⁺、Mn²⁺；

—n 为 1 或 2 并相应于 A 的价数。

6、如权利要求 1 至 5 之一所述的应用，其特征在于富马酸衍生物在药物组合物之单元剂量中的含量相当于 1 至 500 mg、优选 10 至 300 mg、最优选 10 至 200 mg 的富马酸。

7、如上述任意一项权利要求所述的应用，其中药物组合物为口服给药、非肠道给药、直肠给药、经皮给药或经眼给药的剂型，优选为口服给药的剂型。

8、如权利要求 7 所述的应用，其中口服给药的药物组合物的剂型为单元剂量的片剂，微片或可任选装入胶囊或袋中的微片剂或颗粒剂，胶囊或供饮用的溶液。

9、如权利要求 8 所述的应用，其特征在于固体制剂包有肠溶包衣。

10、如上述任意一项权利要求所述的应用，其中富马酸衍生物为一种或多种选自于以下组中的衍生物：富马酸二甲酯、富马酸二乙酯、富马酸甲基乙基酯、富马酸甲基氢酯、富马酸乙基氢酯、富马酸甲酯钙盐、

富马酸乙酯钙盐、富马酸甲酯镁盐、富马酸乙酯镁盐、富马酸甲酯锌盐、富马酸乙酯锌盐、富马酸甲酯铁盐和/或富马酸乙酯铁盐。

11、如权利要求 10 所述的应用，其特征在药物组合物的单元剂量中含有一种或多种以下物质：

10 至 500 mg 的富马酸双烷基酯，特别是富马酸二甲酯和/或富马酸二乙酯；

10 至 500 mg 的富马酸烷基酯钙盐，特别是富马酸甲酯钙盐和/或富马酸乙酯钙盐；

0 至 250 mg 的富马酸烷基酯锌盐，特别是富马酸甲酯锌盐和/或富马酸乙酯锌盐；

0 至 250 mg 的富马酸烷基氢酯，特别是富马酸甲基氢酯和/或富马酸乙基氢酯；

0 至 250 mg 的富马酸烷基酯镁盐，特别是富马酸甲酯镁盐和/或富马酸乙酯镁盐；

总量相当于 500 mg、优选 300 mg、最优选 200 mg 的富马酸。

12、如上述任意一项权利要求所述的应用，其特征在于线粒体病为帕金森综合症、阿耳茨海默氏病、慢性舞蹈症、色素性视网膜病和线粒体性脑病。

富马酸衍生物在治疗线粒体病中的应用

技术领域

本发明涉及一种富马酸衍生物或多种富马酸衍生物的混合物在制备用于治疗线粒体病的药物组合物中的应用，所述线粒体病特别是帕金森综合症、阿耳茨海默氏病、慢性舞蹈症、色素性视网膜病和线粒体性脑病。

背景技术

线粒体具有一个独立的 DNA (mtDNA) 和 RNA 遗传系统，因此可以自身合成某些蛋白。细胞核的基因和线粒体基因组均编码氧化磷酸化和柠檬酸循环的成分。因此 mtDNA 的基因缺陷有可能分别影响氧化磷酸化和柠檬酸循环，并导致机能失调。这些缺陷或机能失调已经证明和所谓的线粒体病有关。

mtDNA 的基因缺陷可能是一个碱基被另一个替代的局部突变的结果。例如，这些点突变与神经性肌无力，运动失调和色素性视网膜病有关。

mtDNA 的基因缺陷也可能是插入突变或删除突变的结果，此时一个或多个核苷插入 DNA 中或从 DNA 中被删除。这种基因突变机理与 Kearns Sayre 综合症和 Pearson 综合症的关系正在探讨之中。

mtDNA 的突变在神经变性疾病如帕金森综合症、阿耳茨海默氏病，慢性舞蹈症中也起到一定作用 (Encyclopedia of Molecular Biology and Molecular Medicine 第 4 卷, R. A. Meyers 编辑)。但是到目前为止尚不能毫不怀疑地将这些疾病归因于这些致病性的突变。例如，突变的积累作

为一种发病机理也在探讨之中。

帕金森综合症表现出多种症状，它们可以被分成三类。运动失调表现为正性症状—强直（横纹肌张力增加）和中度至重度震颤（快速连续的抽动）和负性症状—运动功能减退和运动不能（运动系统破坏，姿势反射丧失）。同时也可以观察到植物性症状（唾液和泪液增加、脑炎后皮脂溢）和精神性疾病（犹豫、情绪低落等）。

这种病的病因是脑干运动关键区中的神经细胞破坏。例如，在德国约有 200000 名患者。在其它原因中，帕金森综合症在分子水平上与线粒体基因组突变有关。现在已经可以证明在帕金森氏病患者中存在 mtDNA 的删除突变。此外，在某些帕金森综合症中发现脑部某些区域内多巴胺缺乏。所观察到的症状是由于神经体液性递质乙酰胆碱和多巴胺间不平衡所致。

当前药物治疗的依据是利用在中枢神经中起作用的抗胆碱能药物抑制胆碱能神经传递，给药多巴胺前体左旋多巴增加多巴胺浓度，以及利用多巴胺能激动剂刺激中枢多巴胺受体。

因此，具体的治疗包括给药抗胆碱能药物或左旋多巴。为对帕金森氏病患者的正性和负性症状均有所改善，一般需要非药物治疗手段进行复合治疗。

此外，对于已经伴有明显精神—器官疾病或外源性精神症状的帕金森氏病患者来说，由于会导致症状加重，采用抗胆碱能药物进行治疗是不可取的。

由于副作用，包括运动性症状（运动机能亢奋、运动障碍），植物性症状（消化道症状等）以及心血管疾病（如体位性疾病）也限制了左旋多巴在治疗帕金森综合症中的应用。

阿耳茨海默氏病是早衰性或老年性痴呆，它的进行不可逆转，而且具有脑部某些区域被破坏的特征。近期的研究显示，除线粒体基因缺陷

外，阿朴脂蛋白 E₄ (apo E₄) 的浓度增加与阿耳茨海默氏病有关。在该病的遗传型中，apo E₄ 的相应基因常表现出缺陷。与帕金森综合症相反，除吲哚美辛外没有药物可以治疗阿耳茨海默氏病。然而吲哚美辛也存在着有副作用的情况。

色素性视网膜病是一种变性过程，遗传型要比获得型更为普遍。它与视网膜血管变窄、眼睛萎缩、视网膜神经元破坏和色素沉着有关。症状有夜盲症、视野严重变窄和失明。

线粒体性脑病是一种特征为线粒体呼吸链失调的疾病。典型症状有肌病（所谓的粗糙红纤维肌病），生长抑制，痴呆，癫痫发作，运动失调，病灶性神经失调以及 MELAS（线粒体性脑病、乳酸中毒和中风）。

慢性舞蹈症是一种遗传性的常染色体显性疾病，在第 4 染色体的短臂上存在缺陷，常在 30—50 岁间病情加重并伴随进行性痴呆。*Nucleus candatus*、也可能是 *nucleus lentiformis* 的缺陷和萎缩，有可能是致病因。神经递质代谢的缺陷和 mtDNA 缺陷的影响作用也在探讨之中。

发明内容

因此，本发明的一个目的是提供一种治疗线粒体病，特别是上述疾病的药物组合物，使得可以利用药物对这些疾病进行部分性的治疗，到目前为止这种情况还是不可能的。本发明的另一个目的是提供一种治疗上述疾病的药物组合物，与现有药物治疗方法相比，它降低了副作用而且不需要复合治疗。

采用一种富马酸衍生物或多种富马酸衍生物的混合物制备药物组合物，用于治疗线粒体病，特别是用于治疗帕金森综合症、阿耳茨海默氏病、慢性舞蹈症、色素性视网膜病和线粒体性脑病，由此可以达到本发明的目的。本发明的主题内容在权利要求中被详细规定。

具体实施方式

众所周知药物制剂在给药后经生物降解进入柠檬酸循环或参与其中可以增加治疗的显著性，特别是当大剂量给药时，因为它们可以缓解或治愈隐发性的疾病。

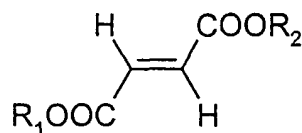
例如，富马酸可以抑制小鼠中 Ehrlich 腹水瘤的生长，降低丝裂霉素 C 和黄曲霉毒素的毒副作用，并表现出抗牛皮癣和抗菌作用。总之，有关富马酸衍生物在牛皮癣的治疗方面在多个专利如 EP 0 188 749、DE 25 30 372、DE 26 21 214、或 EP 0 312 697 中已有描述。

某些富马酸衍生物如富马酸烷基氢酯的另外一种用途在 DE 197 21 099.6 和 DE 198 53 487.6 中已经被公开，其中采用这些特殊的富马酸衍生物治疗自身免疫性疾病如多发性关节炎、多发性硬化症、和移植物抗宿主反应。此外，在 DE 198 53 487.6 和 DE 198 39 566.3 中也公开了富马酸烷基氢酯和富马酸双烷基酯在器官移植中的应用。

令人吃惊的是现已发现采用一种富马酸衍生物或多种富马酸衍生物的混合物制备的药物组合物，可以有助于线粒体病，特别是帕金森综合症、阿耳茨海默氏病、慢性舞蹈症、色素性视网膜病和线粒体性脑病的治疗。

在本发明中优选采用一种或多种富马酸双烷基酯和/或游离酸或盐形式的富马酸单烷基酯制备药物组合物。

富马酸双烷基酯优选符合以下结构式：

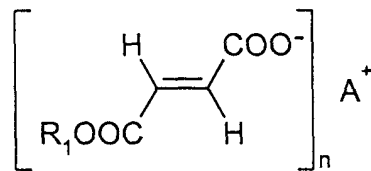


其中 R_1 和 R_2 可以相同或不相同，分别代表直链、支链、饱和或不饱和的 C_{1-24} 烷基或 C_{5-50} 芳基，其中这些基团可以任选被卤素 (F、Cl、Br、I)、羟基、 C_{1-4} 烷氧基、硝基或氰基取代。

基团 R_1 和 R_2 优选为甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、

叔丁基、戊基、环戊基、2-乙基己基、己基、环己基、庚基、环庚基、辛基、乙烯基、烯丙基、2-羟基乙基、2-和/或3-羟基丙基、2-甲氧基乙基、甲氧基甲基或者2-或3-甲氧基丙基。

富马酸单烷基酯优选符合以下结构式：



其中 R_1 为以上定义的基团；A 为氢离子或者碱金属或碱土金属阳离子或者生理可接受的过渡金属阳离子，优选选自 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} ，n 为 1 或 2 并相应于 A 的价数。

优选地，本发明富马酸衍生物在药物组合物之单元剂量中的用量为，一种或多种富马酸衍生物的量相当于或者等于 1 至 500 mg、优选 10 至 300 mg、最优选 10 至 200 mg 的富马酸。

药物组合物使用形式优选为口服给药、非肠道给药、直肠给药、经皮给药或经眼给药（以滴眼液的形式），其中口服给药为优选。制剂应与给药途径相适应。

就口服给药而言，本发明的药物组合物的形式为单元剂量的片剂，微片或可任选装入胶囊或袋中的微片剂（微丸剂）或颗粒剂，胶囊或供饮用的溶液。

在优选的实施方案中，固体制剂或其它制剂包敷有肠溶包衣。这种包衣也可以用于胶囊或内部充填的制剂中。

优选地，本发明所采用的一种或多种富马酸衍生物选自于以下组中：富马酸二甲酯、富马酸二乙酯、富马酸甲基乙基酯、富马酸甲基氢酯、富马酸乙基氢酯、富马酸甲酯镁盐、富马酸乙酯镁盐、富马酸甲酯锌盐、富马酸乙酯锌盐、富马酸甲酯铁盐、富马酸乙酯铁盐、富马酸甲酯钙盐和/或富马酸乙酯钙盐。

本发明药物组合物优选可含有 10 至 500 mg 的富马酸双烷基酯，特别是富马酸二甲酯和/或富马酸二乙酯；10 至 500 mg 的富马酸烷基酯钙盐，特别是富马酸甲酯钙盐和/或富马酸乙酯钙盐；0 至 250 mg 的富马酸烷基酯锌盐，特别是富马酸甲酯锌盐和/或富马酸乙酯锌盐；0 至 250 mg 的富马酸烷基氢酯，特别是富马酸甲基氢酯和/或富马酸乙基氢酯；以及 0 至 250 mg 的富马酸烷基酯镁盐，特别是富马酸甲酯镁盐和/或富马酸乙酯镁盐；总量相当于 500 mg、优选 300 mg、最优选 200 mg 的富马酸。

本发明的优选组合物仅包含富马酸甲基氢酯或富马酸乙基氢酯，其用量为 10 至 300 mg。

例如，富马酸衍生物可以依据 EP 0 312 679 所公开的方法制备。

为描述本发明的用途，以下列出了多个制备优选药物的实施例。

实施例 1

含有肠溶包衣的薄膜衣片的制备，其中含有 100 mg 的富马酸单甲酯钙盐，相当于 78 mg 的富马酸

采取必要的防护措施（口罩、手套、防护衣等），将 10.000 kg 的富马酸单甲酯钙盐粉碎，强烈混合并过 800 目筛混匀。然后制备以下组成的辅料混合物：21.000 kg 的淀粉衍生物（STA-RX 1500®）、2.000 kg 的微晶纤维素（Avicel PH 101®）、0.600 kg 的聚乙烯吡咯烷酮（PVP，Kollidon®25）、4.000 kg 的 Primogel®、0.300 kg 的胶体硅酸（Aerosil®）。

将活性成份加到上述整个粉末混合物中，混合，过 200 目筛混合均匀，按常规方法采用 2% 聚乙烯吡咯烷酮（PVP，Kollidon®25）水溶液制粒，烘干，然后与外层相混合。后者包含 2.000 kg 所谓的 FST 复合物，其中含有 80% 的滑石粉、10% 的胶体硅酸和 10% 的硬脂酸镁。

此后，用常规方法将混合物压制成圆片，片重 400 mg，片径 10.0 mm。除常规压片方法外，其它方法如直接压片或根据熔融法和喷雾干燥法进

行的固体分散也可用于制片。

肠溶包衣

制备含有 2.250 kg 的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯 (HPMCP, Pharmacoat HP®50) 的溶液, 其中溶剂为 2.50 L 的去离子水、13.00 L 的丙酮 (Ph. Helv. VII)、以及 13.00 L 的乙醇 (浓度为 94 重量%), 然后加入 0.240 kg 的蓖麻油 (Ph. Eur. II)。按常规方法在包衣锅中将溶液分份倒入或喷入素片之上或采用适当结构的流化床。

干燥后进行薄膜包衣。所述包衣由一种溶液构成, 其中含有 4.800 kg 的 Eudragit E 12.5%®、0.340 kg 的滑石粉 Ph. Eur. II、0.520 kg 的二氧化钛 Cronus RN 56®、0.210 kg 的蓝颜料 ZLT-2(Siegle)、以及 0.12 kg 的聚乙二醇 6000 Ph. Helv. VII, 而溶剂包括 8.200 kg 的异丙醇 Ph. Helv. VII、0.06 kg 的甘油三乙酸酯 (Triacetin®) 和 0.200 kg 的去离子水。在包衣锅或流化床中均匀分布后, 按常规方法对混合物进行干燥和抛光。

实施例 2

含有肠溶包衣的胶囊的制备, 其中含有 86.5 mg 富马酸单乙酯钙盐和 110.0 mg 富马酸双甲酯, 共相当于 150 mg 富马酸

采取必要的防护措施 (口罩、手套、防护衣等), 将 8.650 kg 的富马酸单乙酯钙盐和 11.000 kg 的富马酸双甲酯粉碎, 与一种混合物强烈混合, 该混合物包含: 15.000 kg 的淀粉、6 kg 的乳糖 (Ph. Helv. VII)、2 kg 的微晶纤维素 (Avicel®)、1 kg 的聚乙烯吡咯烷酮 (Kollidon®25) 和 4 kg 的 Primogel®, 过 800 目筛混匀。

按常规方法用 2% 聚乙烯吡咯烷酮 (Kollidon®25) 水溶液使上述整个化合物成粒, 烘干, 然后与外层相混合。所述的外层相含有 0.350 kg 的胶体硅酸 (Aerosil®)、0.500 kg 的硬脂酸镁和 1.500 kg 的滑石粉 (Ph. Helv.

VII)。匀化的混合物按 500.0 mg 的规格充填于适当的胶囊中，然后用已知方法包附肠溶包衣（耐胃酸），其中肠溶包衣中含有羟丙基甲基纤维素硬脂酸酯和作为软化剂的蓖麻油。除硬明胶外，混合物也可以充填至适当的耐胃酸的胶囊中，该胶囊含有乙酸邻苯二甲酸纤维素（CAP）和羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯（HPMCP）。

实施例 3

含有肠溶包衣的微片胶囊的制备，其中含有 87.0 mg 的富马酸单乙酯钙盐、120 mg 的富马酸二甲酯、5.0 mg 的富马酸单乙酯镁盐和 3.0 mg 的富马酸单乙酯锌盐，共相当于 164 mg 富马酸（forte 片）

采取必要的防护措施（口罩、手套、防护衣等），将 8.700 kg 的富马酸单乙酯钙盐、12.000 kg 的富马酸二甲酯、0.500 kg 的富马酸单乙酯镁盐和 0.300 kg 的富马酸单乙酯锌盐粉碎，过 800 目筛混匀。然后按以下组成制备辅料混合物：18.00 kg 的淀粉衍生物（STA-RX 1500）、0.30 kg 的微晶纤维素（Avicel PH 101）、0.75 kg 的 PVP（Kollidon 120）、4.00 kg 的 Primogel、0.25 kg 的胶体硅酸（Aerosil）。将整个混合物加到活性成份混合物中，过 200 目筛混匀。按常规方法用 2% 的聚乙烯吡咯烷酮（Kollidon K25）水溶液制粒，烘干，然后与外层相混合，其中外层相含有 0.50 kg 的硬脂酸镁和 1.50 kg 的滑石粉。将粉末混合物用常规方法压制成圆片，片重 10.0 mg，片径 2.0 mm。除常规压片方法外，其它方法如直接压片或根据熔融法和喷雾干燥法进行的固体分散也可用于制片。

按常规方法将耐胃酸包衣液倒入或喷入包衣锅中或采用适当结构的流化床。为获得耐胃酸的功能，制备含有 2.250 kg 的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯（HPMCP，Pharmacoat HP®50）的溶液，其中溶剂为 13.00 L 的丙酮、13.50 L 用 2% 丙酮变性的乙醇（浓度为 94 重量%）和 2.50 L 的去离子水。加入 0.240 kg 作为软化剂的蓖麻油构成最终溶液，然后按

常规方法分份包敷到素片上。

薄膜包衣：干燥完成后，将以下组成的悬浮液在相同包衣装置中进行薄膜包衣：0.340 kg 的滑石粉、0.4 kg 的二氧化钛 Cronus RN56、0.324 kg 的红颜料 86837、4.800 kg 的 Eudragit E 12.5%、以及 0.12 kg 的聚乙二醇 6000 pH 11 XI，其中溶剂包括 8.170 kg 的异丙醇、0.200 kg 的去离子水和 0.600 kg 的甘油三乙酸酯（Triacetin®）

按净重 500.0 mg 的规格将耐胃酸的微片装入硬明胶胶囊中。

实施例 4

实施例 4 显示富马酸衍生物对琥珀酸脱氢酶的酶活性有促进作用。

琥珀酸脱氢酶为线粒体膜的一部分，在柠檬酸循环中催化琥珀酸脱氢转化成富马酸。通过转移电子的黄素蛋白，将氢传递至呼吸链。因此，琥珀酸脱氢酶的活性可能受电子转运链的电流的影响。后者与氧化磷酸化有关，其功能的不正常被认为是线粒体病的一个病因。因此，琥珀酸脱氢酶的活性有可能还会对氧化磷酸化有影响。

下表 1 中显示富马酸衍生物对琥珀酸脱氢酶酶活性的促进作用。

富马酸酯	纤维原细胞[0.75m Val/I]
富马酸二甲酯	强（838%）
富马酸单乙酯钙盐	中
富马酸单乙酯镁盐	弱
富马酸单乙酯锌盐	强（107%）
富马酸单乙酯	弱