



## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01815096.9

[43] 公开日 2003 年 10 月 22 日

[11] 公开号 CN 1450896A

[22] 申请日 2001.7.27 [21] 申请号 01815096.9

[30] 优先权

[32] 2000. 7. 28 [33] ES [31] 200001916

[32] 2001. 3. 16 [33] US [31] 60/276,885

[86] 国际申请 PCT/US01/24220 2001. 7. 27

[87] 国际公布 WO02/09702 英 2002.2.7

[85] 进入国家阶段日期 2003.3.3

[71] 申请人 印斯拜尔药品股份有限公司

地址 美国北卡罗来纳州

共同申请人 马德里康普鲁坦斯大学

[72] 发明人 J·J·平特 M·A·佩拉尔

W·M·彼德森 R·小普罗德

E·G·布朗 B·R·耶扎

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

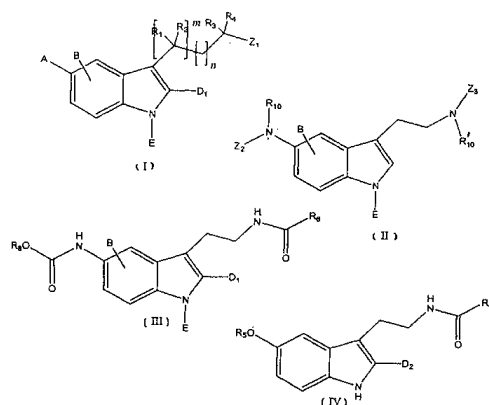
代理人 陈文青

权利要求书 6 页 说明书 20 页 附图 4 页

[54] 发明名称 用吲哚衍生物降低眼内压的方法

[57] 摘要

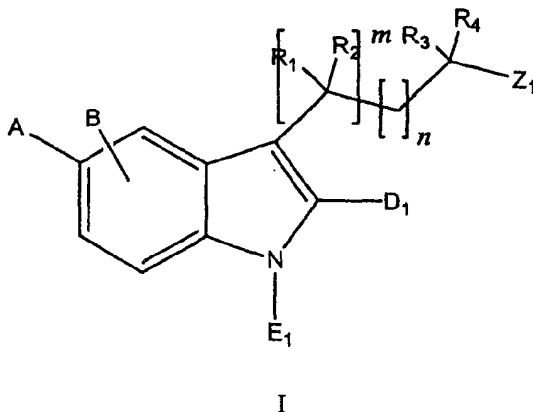
本发明提供了一种通过施用含有吲哚衍生物的药物组合物降低眼内压的方法。在本发明中有效的药物组合物含有吲哚衍生物和如结构式 I-IV 所述的褪黑素类似物。优选的实施方案是用 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺(5-MCA-NAT), 也被称为 GR 135531 降低眼内压的方法, 这种物质有延长的作用时间和大于褪黑素的降低眼内压的功效。本发明进一步提供了一种治疗与眼压过高有关的疾病的方法, 以及治疗各种形式青光眼的方法; 这一方法包括, 和通常用来治疗此类病症的药剂一起或不一起施用有效量的含有吲哚衍生物的药物组合物。



1. 一种在有此需要的受试者中降低眼内压的方法，所述方法包括：

以有效降低眼内压的量向所述受试者施用一种吲哚衍生物，其中所述的吲哚衍

5 生物是结构式 I：



的化合物，其中

$n=0$ 、1、2、3、4 或 5；

$m=0$  或 1；

10  $R_1$  和  $R_2$  是彼此独立的 H、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6(CO)-$ 、 $F$ 、 $OR_5$ ，或者  $R_1$  或  $R_2$  是  $R_6R_7N(CO)-$ ；或者当  $R_1$  和  $R_2$  被放在一起时，是氧代；或是取代或未取代的 4、5、6 或 7 元碳环或杂环；

$R_3$  和  $R_4$  是彼此独立的 H、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6(CO)-$ ，

15 或者当  $R_3$  和  $R_4$  被放在一起时，是氧代；或是取代或未取代的 4、5、6 或 7 元碳环或杂环；

或者当  $R_2$  和  $R_4$  被放在一起时，代表取代或未取代的 4、5、6 或 7 元碳环或杂环；

20 A=卤素、 $NO_2$ 、CN 或  $R_5-X_1-$ ；

B=卤素、 $NO_2$ 、CN 或  $R_5-X_1-$ ；

当 B 出现在吲哚的 4 位且 B 不是卤素、 $NO_2$ 、CN 或 H 时，则 B 和  $R_1$ 、或  $R_3$ 、或  $Z_1$  一起代表取代或未取代的 5、6 或 7 元碳环或杂环；

当 B 不是卤素、 $NO_2$ 、CN 或 H 且 B 出现在吲哚的 7 位时，则 B 和 E 可一起代表

25 取代或未取代的 5、6 或 7 元碳环或杂环；

$X_1=O$ 、 $S$ 、 $NR_9$ 、 $-CF_2-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、或不存在；

$R_5=H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8S(O)-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2$ 、 $R_6R_7NP(O)(OR_9)-$ 、 $R_8P(O)(OR_9)-$ 、 $(R_8O)P(O)(OR_9)-$ 、 $CF_3-$ ；

- 5  $R_6$  和  $R_7$  是彼此独立的  $H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基或杂环；或当被放在一起时， $NR_6R_7$  代表取代或未取代的 3、4、5、6 或 7 元环；

$R_8=$ 取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、杂环或  $CF_3-$ ；

- 10  $R_9=H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基；

当被放在一起时， $R_6$  和  $R_9$  代表 5、6 或 7 元环；

$E=H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 或  $OR_6$ ；

- 15 或  $E=R_6(CO)-$ ，只要  $Z_1=NR_{10}R_{11}$  时， $R_{10}$  是  $H$ ；  
或  $E=R_6(CO)-$ ，只要  $Z_1=OR_5$  时， $R_5$  不是  $H$ 、烷基、芳基或芳烷基；  
或  $E=R_6R_7N(CO)-$ ，只要  $Z_1=NR_{10}R_{11}$  时， $R_{10}$  是  $H$ ；  
或  $E=R_6R_7N(CO)-$ ，只要  $Z_1=OR_5$  时， $R_5$  不是  $H$ 、烷基、芳基或芳烷基；

$D_1=$ 卤素、 $NO_2$ 、 $CN$  或  $R_5-X_1-$ ；

- 20 当  $D_1=R_5-X_1-$ 和  $E$  被放在一起时，代表取代或未取代的 4、5、6 或 7 元杂环；  
当  $D_1=R_5-X_1-$ 和  $R_1$  被放在一起时，代表取代或未取代的 5、6 或 7 元的碳环或杂环；

当  $D_1=R_5-X_1-$ 和  $R_3$  被放在一起时，代表取代或未取代的 5、6 或 7 元的碳环或杂环；

- 25 当  $D_1=R_5-X_1-$ 和  $Z_1$  被放在一起时，代表取代或未取代的 5、6 或 7 元杂环；

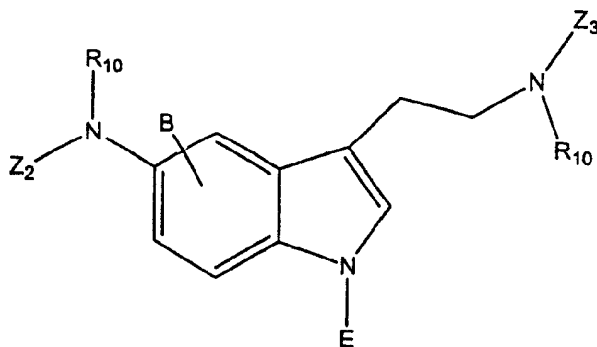
$Z_1=OR_5$ ；或  $NR_{10}R_{11}$ ；

当  $Z_1$  和  $R_1$  被放在一起时，代表取代或未取代的 4、5、6 或 7 元杂环； $R_{10}=H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、杂环、 $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ 、

- 30  $CF_3-$ ；且

$R_{11}=NR_6R_7(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ ；只要  $n=1$ ， $m=0$ ， $R_5=CH_3$ ， $X_1=O$ ， $B=D_1=E=R_3=R_4=H$  时， $Z$  不是  $-NHAc$ 。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的吲哚是 II 结构的化合物:



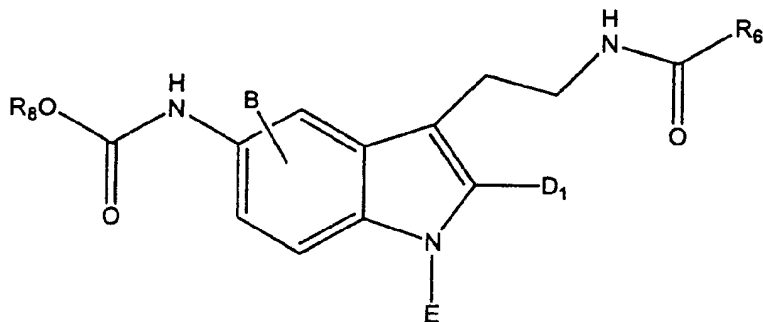
II

其中  $R_{10}$  和  $R'_{10}$  是彼此独立的 H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、杂环、 $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ 、 $CF_3-$ ;

其中  $Z_2$  和  $Z_3$  是独立的  $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ ;

或者各个  $Z_2-N-R_{10}$  和  $Z_3-N-R_{10}$  单位独立代表 4-7 元环。

3. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的吲哚是 III 结构的化合物:

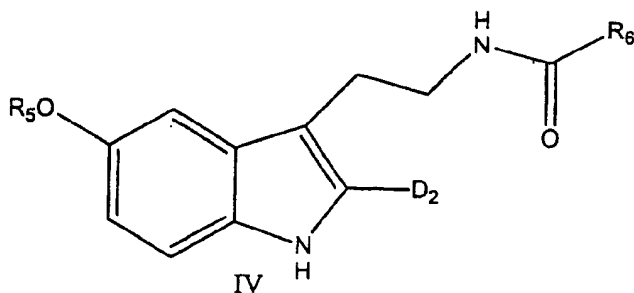


III

其中  $D_1$  是卤素、 $NO_2$ 、CN 或  $R_5-X_1$ , 或者  $D_1$  可以和  $R_6$  形成环, 或  $D_1$  和  $R_6$  可以不存在, 而用羰基在环中连接这两个位置。

4. 如权利要求 3 所述的方法, 其中  $B=D_1=E=H$ 。

5. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的吲哚是 IV 结构的化合物:



IV

$D_2=H$ 、取代或未取代的线性-、分支-或环-烷基、卤素、取代或未取代的苯基、或取代或未取代的芳烷基；只要  $R_5=R_6=CH_3$  时， $D_2$  不是 H。

6. 如权利要求 5 所述的方法，其中  $R_5=C_1-C_4$  烷基、乙酰基、甲酰基或  $CF_3$ ； $R_6=H$ 、 $C_1-C_4$  烷基或  $CF_3$ ；只要  $R_5=CH_3$  时， $R_6$  不是  $CH_3$ ；

5 7. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述的化合物是以能在所述受试者眼表面达到约  $10^{-12}M-10^{-3}M$  浓度的有效量施用的。

8. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述的化合物是 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺。

9. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述的吲哚选自 N-[2-(5-二甲基氨基-1H-吲哚-3-基)-乙基]-乙酰胺、{3-[2-(2-羟基-苄基氨基)-乙基]-1H-吲哚-5-基}-氨基甲酸甲酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-苯基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1-甲基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、[3-(3-乙酰氨基-丙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、[3-(3-苯磺酰基氨基-丙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、N-[2-(5-脲基-1H-吲哚-3-基)-乙基]-乙酰胺、[3-(2-丙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、N-[2-(5-甲氧基羰基氨基-1H-吲哚-3-基)-乙基]-琥珀酰胺酸、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸烯丙酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸 3-羟基-丙酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸 2,3-二羟基-烯丙酯，和 N-[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-乙酰胺、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-溴-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-甲基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1-苄基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯、(1-氧代-2,3,4,9-四氢-1H- $\beta$ -咔啉-6-基)-氨基甲酸甲酯和 [3-(2-乙酰氨基-乙基)-4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯。

10. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述的有 I 结构的吲哚衍生物被施用于需要治疗的受试者，以治疗选自眼高压和青光眼的症状，所用的量可有效治疗所述症状。

11. 如权利要求 10 所述的方法，其中所述的青光眼是原发性青光眼。

12. 如权利要求 11 所述的方法，其中所述的原发性青光眼选自狭角性、急性充血性青光眼；宽角性，慢性单纯性青光眼；和继发性青光眼。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其中所述的吲哚衍生物是和用来控制狭角性、急性充血性青光眼的选自抗胆碱酯酶抑制剂、碳酸酐酶抑制剂、前列腺素类似物的治疗和辅助药物以及渗透性药物一起施用的。

14. 如权利要求 13 所述的方法, 其中所述的抗胆碱酯酶抑制剂是水杨酸盐或匹鲁卡品硝酸盐; 所述碳酸酐酶抑制剂是乙酰唑胺; 所述前列腺素类似物是 Xalatan 或 Lumigan; 所述渗透性药物是甘露醇或甘油。

15. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的吲哚是和用来控制宽角性、慢性单纯性青光眼的选自拟副交感神经药、短效抗胆碱酯酶药、长效抗胆碱酯酶药、 $\alpha$ -肾上腺素能激动剂、 $\beta$ -肾上腺素能拮抗剂、拟交感神经药和前列腺素类似物的治疗药一起施用的。

16. 如权利要求 15 所述的方法, 其中所述的拟副交感神经药是匹鲁卡品硝酸盐; 所述的短效抗胆碱酯酶药是毒扁豆碱水杨酸盐; 所述的长效抗胆碱酯酶药是地美溴铵、二乙氧磷酰硫胆碱碘化物或异氟磷; 所述的 $\beta$ -肾上腺素能拮抗剂是噻吗洛尔马来酸盐; 所述的拟交感神经药是肾上腺素或苯肾上腺素; 所述的前列腺素类似物是拉坦前列素或 Lumigan。

17. 如权利要求 12 所述的方法, 其中所述的吲哚衍生物是和用来控制继发性青光眼的选自拟副交感神经药、短效抗胆碱酯酶药、长效抗胆碱酯酶药、 $\beta$ -肾上腺素能拮抗剂、拟交感神经药和前列腺素类似物的治疗药一起施用的。

18. 如权利要求 17 所述的方法, 其中所述的拟副交感神经药是匹鲁卡品硝酸盐; 所述的短效抗胆碱酯酶药是毒扁豆碱水杨酸盐; 所述的长效抗胆碱酯酶药是地美溴铵、二乙氧磷酰硫胆碱碘化物或异氟磷; 所述的 $\beta$ -肾上腺素能拮抗剂是噻吗洛尔马来酸盐; 所述的拟交感神经药是肾上腺素或苯肾上腺素; 所述的前列腺素类似物是拉坦前列素或 Lumigan。

19. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的吲哚衍生物是以含有所述化合物或它们的药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂或载体的无菌制剂施用的。

20. 如权利要求 19 所述的方法, 其中所述的药学上可接受的载体是生理上相容的选自含水的电解质溶液、聚醚类、聚乙烯类、丙烯酸的聚合物、羊毛脂和葡糖胺聚糖的赋形剂, 其中所述的制剂提高了液体从眼流出从而降低了眼内压。

21. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述的施用所述化合物的方法选自: a) 通过选自滴眼液、洗眼液、凝胶剂、软膏剂、喷雾剂或脂质体的载体赋形剂局部施用; b) 通过选自泵-导管系统、连续或选择性释放装置和隐形眼镜的装置输注到所述的眼表面; 以及 c) 全身性施用。

22. 如权利要求 22 所述的方法, 其中所述的全身施用所述吲哚是通过在外科手术时滴注凝胶、乳膏、粉末、泡沫、晶体、脂质体、喷雾或液态悬浮液形式的化合物实现的, 这样治疗有效量的所述化合物就通过全身吸收和循环与所述受试者的眼

组织接触。

23. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述的吲哚衍生物被用来降低用来治疗青光眼的药物的不利的副作用，包括以下步骤：

5 和选自地美溴铵、二乙氧磷酰硫胆碱和异氟磷的药物一起施用所述的吲哚衍生物。

24. 一种选自：[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-甲基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯；  
[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-苯基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯；[3-(3-乙酰氨基-丙-1-基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯；N-[2-(5-甲氧羰基氨基-1H-吲哚-3-基)-乙基]-琥珀酰胺酸；[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸烯丙酯；  
10 [3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸 3-羟基-丙-1-基酯；[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸 2,3-二羟基-烯丙酯；[3-(2-乙酰氨基-乙基)-4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯；N-[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吲哚-5-基]-乙酰胺；[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1-苄基-1H-吲哚-5-基]-氨基甲酸甲酯；和(1-氧代-2,3,4,9-四氢-1H- $\beta$ -咔啉-6-基)-氨基甲酸甲酯的  
15 物质的组合物。

### 用吲哚衍生物降低眼内压的方法

本申请要求提交于 2000 年 7 月 28 日的西班牙申请第 P200001916 号的优先权。

5 本申请还要求提交于 2001 年 3 月 16 日的美国临时申请 60/276,885 号的优先权。

### 技术领域

本发明涉及一种通过施用吲哚类似物和药物组合物降低眼内压、治疗眼压过高并治疗青光眼的方法。

10

### 发明背景

青光眼是一种通常与眼内压(IOP)的慢性升高有关的缓慢发展的致盲的疾病。很高且持续的眼内压被认为会在视神经和视网膜的连接处对视神经乳头造成损伤，导致视网膜的神经节细胞变性并导致青光眼特殊的视觉丧失。然而，IOP 升高(也  
15 称为眼高压)导致青光眼的机制还未清楚了解。此外，一部分典型的与青光眼有关的视野丧失的患者并不显示出异常升高的 IOP 水平(被称为低眼压性或正常眼压性青光眼)。

青光眼主要分为开角型、闭角型或先天性，还可进一步分为原发性和继发性。青光眼是用各种药理学和手术方法治疗的。当青光眼与眼高压有关时，药理学治疗  
20 包括肾上腺素能激动药(肾上腺素、dipevefrin、apraclonidine)、胆碱能激动药(匹鲁卡品)、 $\beta$ 受体阻滞药(倍他洛尔、左布诺洛尔、噻吗洛尔)、碳酸酐酶抑制剂(乙酰唑胺)或是最近的前列腺素类似物(拉坦前列素(latanoprost), Lumigan™)和 $\alpha$ 肾上腺素能激动药(brimonidine)。这些药理学方法要么通过抑制睫状体产生房水，要么使小梁或色素层巩膜房水流出比较容易，从而有助于使 IOP 恢复正常压力。抗  
25 胆碱能药降低原发性青光眼的眼内压，减少对房水流出的阻力。抗胆碱酯酶抑制剂已经被用来治疗原发性和某些类型的继发性青光眼，比如在白内障摘除后的无晶状体性青光眼。先天性青光眼很少对治疗有反应，它通常是通过手术治疗的。在狭角性青光眼中，在巩膜静脉窦处将小梁间隙的入口从虹膜的阻滞中解脱出来可以增加房水的流出，这是药物诱导的虹膜括约肌收缩的结果。(Taylor, 第 123-125 页，见  
30 *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 第七版, A. G. Gilman, L. S. Goodman, T. W. Rall 和 R. Murad 编, MacMillan 出版公司, 纽约(1985))。

在宽角性或慢性单纯性青光眼中，小梁的入口未受物理阻碍；小梁这种小直径

孔洞的网状组织失去了它们的开放性。虹膜括约肌和睫状肌的收缩增加了小梁网的紧张性和排列，从而促进房水通过该网至巩膜静脉窦的吸收和流出 (Watson, *Br. J. Ophthalmol.* 56:145-318(1972) ; Schwartz , *N. Engl. J. Med.* , 290:182-186(1978); Kaufman 等, *Handbook of Experimental Pharmacology* 5 69:149-192(1984))。

急性充血性(狭角性)青光眼几乎总是医疗急症，这时药物主要是控制急性发作的，但大范围的控制通常主要是基于手术(周边或全虹膜切除术)。相反，慢性单纯性(宽角性)青光眼是逐渐的、隐袭性发作的，通常不易以手术改善；眼内压的控制依赖于长期的治疗。

10 急性充血性青光眼可因不明智的让 40 岁以上的患者使用散瞳剂，或因各种会导致瞳孔扩大或眼内血管充血的因素而引发。征兆和症状包括明显的眼睛发炎、半开大的瞳孔、剧痛和恶心。治疗的目的是发作时使眼内压降低至正常水平。抗胆碱酯酶抑制剂和拟副交感神经药构成的组合物被滴入结膜囊以发挥最大的功效。通常使用的组合物中含有 5%的毒扁豆碱水杨酸盐溶液和 4%的匹鲁卡品硝酸盐溶液。辅  
15 助的治疗包括静脉施用碳酸酐酶抑制剂(如乙酰唑胺(acetazolamide))以减少房水的分泌，或渗透性药物(如甘露醇或甘油)以诱导眼内脱水。由于血管充血和前房角阻滞的增加，长效的有机磷化合物不适用于狭角性青光眼。

对慢性单纯性青光眼和继发性青光眼的治疗包括：(1)拟副交感神经药(如匹鲁卡品硝酸盐, 0.5-0.6%)；(2)短效(如，毒扁豆碱水杨酸盐, 0.25-0.5%)或长效(地  
20 美溴铵, 0.125-0.25%；二乙氧磷酰硫胆碱的碘化物, 0.03-0.25%；异氟磷, 0.025%)抗胆碱酯酶抑制剂；(3)β 肾上腺素能拮抗剂，如噻吗洛尔马来酸盐，这是一种每 12 小时施用一次的长效药物，它不直接影响瞳孔但能减少房水的产生(Boger 等, *Am. J. Ophthalmol.* 86:8-18(1978) ; Lotti 等 , *Handbook of Experimental Pharmacology* 69:249-278(1984))并能避免调节作用的部分阻滞和长效抗胆碱酯  
25 酶药的不良作用；以及反常的，(4)拟交感神经药(如，肾上腺素, 0.25-2%，苯肾上腺素, 10%)，当和抗胆碱酯酶抑制剂或胆碱能激动药结合使用时，它们最为有效。它们通过减少房水的分泌从而降低眼内压，并防止小血管的充血。

由于胆碱能激动药和胆碱酯酶抑制剂阻碍了调节，它们使看远时出现短暂的模糊，这通常在短时间内施用相对较高剂量后发生。若长期施用胆碱能激动药和胆碱  
30 酯酶抑制剂，则由于乙酰胆碱受体数量减少该反应会减小。

尽管长效抗胆碱酯酶药具有不频繁用药的方便性和高效性，使用长效抗胆碱酯酶药是和出现晶状体浑浊和对自主神经的不良作用的巨大的风险相连的。有机磷类

药物 DFP 有最长的作用时间，当局部使用时特别有效；用花生油或芝麻油制成的溶液需要每天至每周使用一次，且在对其它药物有抗性的严重病例可能控制眼内压。由于大多数患者不喜欢油性载体，DFP 已经被二乙氧磷酰硫胆碱取代。

用有效的长效抗胆碱酯酶药包地美溴胺、二乙氧磷酰硫胆碱和异氟磷)治疗青  
5 光眼 6 个月或更长时间与出现白内障的高风险是有关的。(Axelsson 等, *Acta Ophthalmol.* (Kbh.) 44:421-429(1966); de Roetth, *J. A. M. A.* 195:664-666(1966); Shaffer 等, *Am. J. Ophthalmol.* 62:613-618(1966))。尽管白内障的出现在未治疗的  
可比年龄群中是常见的，这种情况下晶状体浑浊的发生可以达到 50%，其风险与溶  
液强度、用药频率、治疗时间和患者年龄成比例地增加。(Laties, *Am. J. Ophthalmol.*  
10 68:848-857(1969); Kaufman 等, 第 149-192 页, 见 *Pharmacology of the Eye, Handbook of Experimental Pharmacology*, 69 卷, M. L. Sears 编, Springer-Verlag, 柏林, (1984))。

当可以用噻吗洛尔、拟副交感神经药、毒扁豆碱或其它药物可以控制青光眼时  
则不推荐使用长效抗胆碱酯酶药。尽管如此，由于不适当控制，青光眼会导致不可  
15 逆的视觉缺失，当其它药剂无效时，长效胆碱酯酶抑制剂仍有它们的治疗重要性。

据发现，每天 1-5 次单用匹鲁卡品(4%)或合用毒扁豆碱(0.2%)治疗，不会使  
晶状体浑浊出现率高于在可比年龄组中未治疗患者中的自发出现率(Axelsson,  
*Acta Ophthalmol.* (Kbh., Suppl. 102, 1-37(1969))。因此，匹鲁卡品和其它短效缩  
瞳剂可用来控制眼内压。如果无效，在使用有效的长效抗胆碱酯酶药之前必需对白  
20 内障出现的危险与升高眼内压的危险进行权衡。然而，患者必需间隔 6 个月或更短  
时间对晶状体浑浊进行检查。

已经评价了其它的治疗青光眼的新药，包括 A<sub>3</sub> 亚型腺苷受体拮抗剂、钙调蛋白  
拮抗剂和抗雌激素药(WO 00/03741)；寡核苷酸可以对它的磷酸酯、糖或碱基进行  
取代或修饰，以便降低眼内压(美国专利 5, 545, 626)；一类被非芳香性氮杂二环系  
25 统和任意被至多另两个取代基取代的吡嗪、嘧啶和哒嗪的衍生物(美国专利  
5, 219, 849)；以及前列环素的类似物拉坦前列素(Higginbotham, *Arch. Ophthalmol.*  
114:998-999(1996))。四类可能有临床功效的用来长期控制青光眼的化合物包括有  
局部活性的碳酸酐酶抑制剂、选择性  $\alpha$ -2 肾上腺素能激动药、前列腺素类和利尿  
酸(Serle, *Drugs Aging* 5:156-170(1994))。

30 滴注抗胆碱酯酶抑制剂后可能发生的各种各样的眼副作用有头痛、额痛、视觉  
模糊、晶状体刺开(phacodonesis)、角膜周充血、充血性虹膜炎、各种变态反应和  
罕见的视网膜剥离。当频繁的在结膜内滴注抗胆碱酯酶抑制剂时，会发生充分的吸

收从而造成各种全身性的作用，这是由于对胆碱酯酶和丁酰-胆碱酯酶的抑制作用造成的。因此，胆碱能的自主功能会提高，有酯键的局部麻醉剂的作用持续时间延长了，同时琥珀酰胆碱诱导的神经肌肉阻滞增强并延长了。患有迷走神经过敏和变态反应的个体特别危险。

- 5       拉坦前列素(Xalatan®)是一种前列腺素类激动药，据信它通过增加色素层巩膜的房水流出从而降低 IOP。拉坦前列素是异丙酯的前体药物，它在角膜内被酯酶水解成有生物学活性的酸。Xalatan®的处方为每天一次剂量且与每天两次剂量的 0.5 %噻吗洛尔有同样的效果。Xalatan®通过增加虹膜中褐色色素的量可以逐渐改变眼睛的颜色。这种对虹膜的长期作用是未知的。眼睑皮肤变黑也被报道与 Xalatan®
- 10       的使用有关。此外，Xalatan®会逐渐增加睫毛的长度、粗细、颜色和数量。黄斑水肿，包括黄斑囊样水肿会在 Xalatan®治疗时发生。这些现象主要发生在无晶状体的患者、在晶状体囊后部撕裂的人工晶状体患者中，或在已知有黄斑水肿致病因素的患者中。((Ophthalmic PDR, 315-316(2001)).)

- 总之，尽管对于青光眼患者存在各种药物治疗以降低 IOP 的方法，这些方法无论
- 15       是在功效还是副作用方面都是受到限制的。

- 褪黑素是一种主要由松果体分泌的神经激素，视网膜也少量分泌这种激素。褪黑素的产生遵照生理周期节律，在夜间水平增加。已知褪黑素能够调节生理周期节律的许多方面，比如周期性信息的加工。它的作用机制包括褪黑素膜受体(分成三种类型，MT<sub>1</sub>(以前被称为 mel<sub>1a</sub>)、MT<sub>2</sub>(以前被称为 mel<sub>1b</sub> 或 ML<sub>1</sub>)和 MT<sub>3</sub>(以前被称为
- 20       ML<sub>2</sub>))的活化，和通过游离基清除活性而抵抗氧化性损伤的抗氧化保护作用。类似于毒蕈碱受体和嘌呤能(purinergic)受体，MT<sub>1</sub> 和 MT<sub>2</sub> 受体属于假定的 7 种跨膜结构域 G 蛋白偶联受体超家族。MT<sub>1</sub> 和 MT<sub>2</sub> 受体都已经被克隆并通过百日咳毒素敏感性 G 蛋白与腺苷酸环化酶负偶联。MT<sub>3</sub> 还没有被克隆，它似乎与磷脂酶 C 偶联。(Mullins 等, *Cell Signal* 9, 169-173(1997))。研究显示，MT<sub>1</sub> 受体介导大鼠尾动脉的血管收缩并与催眠(somnogenic)效应相关地抑制神经元引发(firing)，而 MT<sub>2</sub>
- 25       受体介导大鼠尾动脉的血管舒张和生理周期节律的阶段性的推进。(Marco 等, *Current Medicinal Chemistry* 6, 501-518(1999))。已经用高亲和性配体 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺(5-MCA-NAT)(也被称为 GR 135531)将 MT<sub>3</sub> 受体鉴定(Molinari 等, *European J. Pharmacol.* 301, 159-168(1996))，尽管没有报道任何
- 30       生理活性。

      褪黑素在调节眼内压(IOP)中的作用还不清楚，以前的研究显示，根据物种和生理周期节律中测量 IOP 的时间，褪黑素可以提高或降低 IOP。(Chiou 和

McLaughlin, *Ophthalmic Res.* 16:302-306(1984); Rohde 等, *J. Ocul. Pharmacol.* 1:235-243(1985); Chiou 等, *Ophthalmic Res.* 17:373-8(1985); Rohde 等, *Ophthalmic Res.* 25:10-15(1993); Meyer-Bothling 等, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34:3035-3042(1993); Osborne, *Acta Neurobiol. Exp. (Warsz)* 54 Suppl: 57-64(1994); Aimoto 等, *J. Ocul. Pharmacol.* 1:149-160(1985); Wilsoet 等, *Ophthalmic Physiol. Opt.* 13:357-165(1993); Dkhissi 等, *J. Neuroendocrinol.* 10:863-869(1998); Ritch, *Curr. Opin. Ophthalmol.* 11:78-84(2000); Kiuchi 等, *Curr. Eye Res.* 12:181-190(1993); Dubocovich 等, *FASEB J.* 12, 1211-1220(1998)). 大多数研究显示,褪黑素提高了 IOP。然而,美国专利 4,654,361 揭示了一种通过施用有效量的褪黑素降低眼内压的方法。在这里全文并入这一专利和这里引用的其它的美国专利。

美国专利 4,803,218 揭示了一种通过施用含有[3-(氨基烷基)-1H-吡啶-5-基]尿素化合物和药学上可接受的载体的药物组合物在动物中治疗高血压的方法。这一专利还提到了制造 N-[3-(2-氨基乙基)-1H-吡啶-5-基]尿素和相关的类似物的方法。美国专利 5,633,276、6,040,451、5,948,804 和 6,159,998 揭示了用取代的 5-(2-咪唑啉-2-基-氨基)吡啶化合物以降低眼内压、老花眼、治疗偏头痛、高血压、戒酒、药瘾、类风湿性关节炎、局部缺血性疼痛、痉挛状态、腹泻、减轻鼻充血和小便失禁的方法。美国专利 6,004,991、6,140,372、59,998,461 和 6,071,946 揭示了治疗与褪黑素紊乱有关的不适的方法。这里并入了上述专利中提到的合成取代吡啶衍生物的方法,以供参考。

PCT 国际申请 WO 96/25397 揭示了对 cannabinoid 受体有活性的吡啶衍生物以及它们在降低眼内压和治疗青光眼中的应用。PCT 国际申请 WO 96/11685 揭示了用来治疗青光眼和其它病症的吡啶衍生物。上述两个 PCT 申请中提到的吡啶衍生物与本发明的那些物质是不同的。

如上所述,通常用来治疗青光眼的药剂可能会造成不良的副作用,比如白内障的出现。因此需要安全有效的治疗青光眼的药物。

### 发明概述

这里揭示了新的通过施用 I、II、III 和 IV 结构的化合物降低眼内压的方法,这些化合物包括吡啶核或褪黑素型的化学结构。

本发明提供了一种使用此类化合物以降低眼内压的方法,与褪黑素相比,它们增加了作用持续时间和/或强度。优选的化合物是 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色

胺(5-MCA-NAT),也被称为GR 135531, (Molinari 等, *Eur. J. Pharmacol.* 301, 159-168(1996)), 它是对  $MT_3$  受体有特异性的高亲和性配体。

本发明提供了降低眼内压的方法和治疗与眼内压有关的疾病(如眼高压和青光眼)的方法。这一方法包括, 向需要治疗的受试者施用有效量的吲哚衍生物以降低眼内压。如结构式 I、II、III 和 IV 所示的吲哚衍生物在降低眼内压时有延长的作用时间和/或和增强的疗效。

### 附图简述

图 1 显示了在 6 小时内, 褪黑素对新西兰白兔 IOP 的作用。

10 图 2 显示了 10 小时内, 等量的 5-MCA-NAT 的作用。

图 3 对比了 5-MCA-NAT 和褪黑素降低 IOP 的剂量-反应。

图 4 图解说明了褪黑素受体拮抗剂 luzindole 对 5-MCA-NAT 和褪黑素的降 IOP 作用的逆转。

### 发明详述

15 本发明提供了一种治疗与升高的眼内压有关的病症的方法。此方法包括和通常用来治疗或控制升高的眼内压的治疗药和辅助药一起或不一起施用有效量的如结构式 I、II、III 和 IV 的吲哚衍生物。申请人意外发现, 采用此类化合物使眼内压显著并持续降低。有效量是使眼内压降低所必需的此类化合物的量。

20 本发明进一步提供了一种新的降低与眼高压病症有关的眼内压的方法, 因此可有效用于预防、控制和治疗眼高压。

本发明的方法可有效控制和/或治疗原发性青光眼, 它包括两种类型: 狭角性或急性充血性青光眼和宽角性或慢性单纯性青光眼。但本发明的另一实施方案是控制继发性青光眼的。

25 本发明的方法可有效提高用来治疗和控制不同类型青光眼的治疗药和辅助药的效果。用来治疗狭角性或急性充血性青光眼的治疗药包括, 例如, 毒扁豆碱水杨酸盐和匹鲁卡品硝酸盐。用来控制狭角性青光眼的辅助药包括, 例如, 静脉内施用碳酸酐酶抑制剂, 如乙酰唑胺以减少房水的分泌, 或是施用渗透性药物, 如甘露醇或甘油以诱导眼内的脱水。用来控制宽角性或慢性单纯性青光眼和继发性青光眼的治疗药包括, 例如, 拟副交感神经药(比如匹鲁卡品硝酸盐), 短效抗胆碱酯酶药(如毒扁豆碱水杨酸盐), 长效抗胆碱酯酶药(如地美溴铵、二乙氧磷酸硫胆碱碘化物、异氟磷),  $\beta$ -肾上腺素能拮抗剂(如噻吗洛尔马来酸盐)和拟交感神经药(如肾上腺素和苯肾上腺素)。最近, 前列腺素类似物(拉坦前列素(Xalatan), Lumigan™)、

30

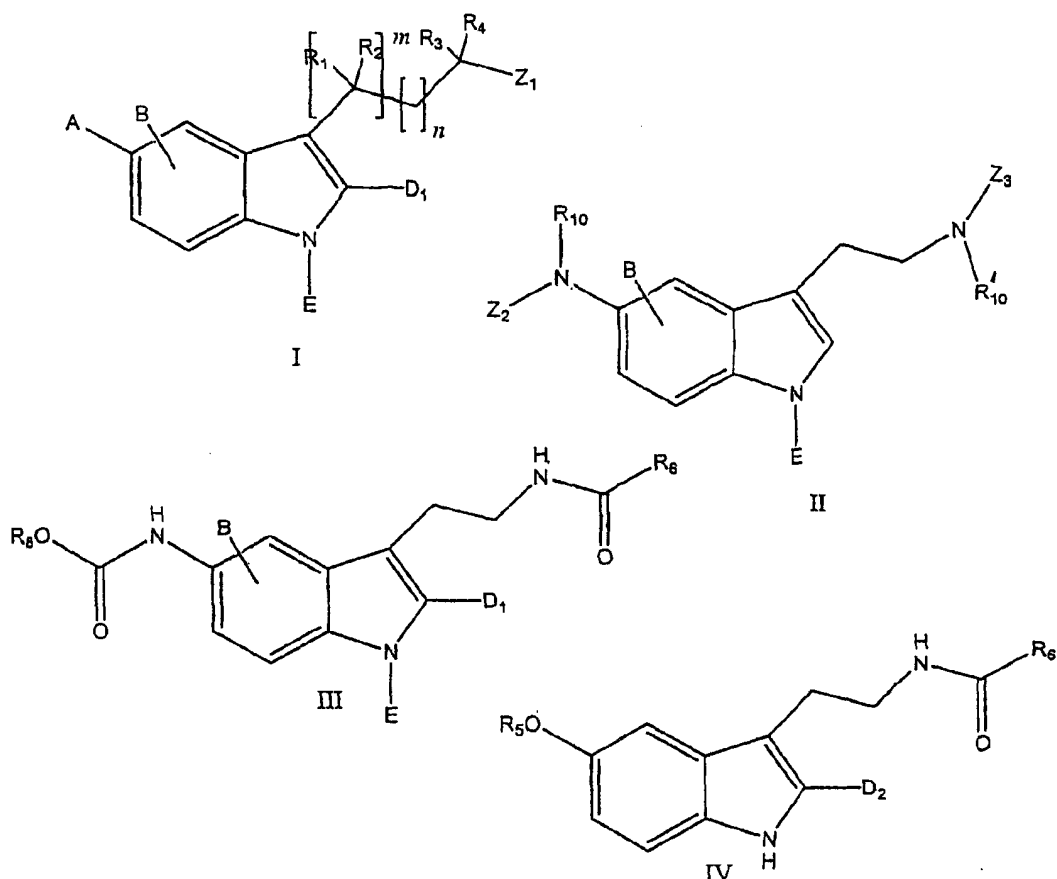
$\alpha$  肾上腺素激动药(brimonidine)和 Rescula(它可能通过一种未知的机制降低眼内压)已经被用来控制与眼高压有关的青光眼。

对一些治疗剂, 为达到实现目标效应的水平, 高剂量是需要的, 但这通常会带来较大频度的与剂量相关的不良反应。因此, 将本发明的化合物和通常用来治疗青光眼的药物结合使用就可以使用相对较低剂量的此类药药, 这样就可使与长期施用此类治疗药有关的不良副作用的频度降低。因此, 本发明化合物的另一个作用是, 降低用来治疗青光眼的药物的不良副作用, 比如和长效抗胆碱酯酶药(包括地美溴苯铵、二乙氧磷酰硫胆碱和异氟磷)有关的白内障的出现。

本发明提供了一种有延长的持续时间和/或增强的降低眼内压作用的使用结构式 I、II、III 和 IV 的吲哚衍生物的方法。

### 化合物的描述

本发明提供了一种使用结构式 I-IV:



15 的吲哚衍生物的方法, 其中:

$n=0, 1, 2, 3, 4$  或  $5$ ;

$m=0$  或  $1$ ;

$R_1$  和  $R_2$  是彼此独立的 H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6(CO)-$ 、 $F$ 、 $OR_5$ ;  $R_1$  或  $R_2$  还可以是  $R_6R_7N(CO)-$ ;

或者任选地, 当  $R_1$  和  $R_2$  被放在一起时, 可以代表氧代; 或是(未)取代的 4、5、  
5 6 或 7 元碳环或杂环;

$R_3$  和  $R_4$  是彼此独立的 H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6(CO)-$ ;

或者任意地, 当  $R_3$  和  $R_4$  被放在一起时, 可以代表氧代; 或是(未)取代的 4、5、  
6 或 7 元碳环或杂环;

10 或者任意地, 当  $R_2$  和  $R_4$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 4、5、6 或 7 元碳环或杂环;

$R_5=H$ 、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8S(O)-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)-$ 、 $R_6R_7NP(O)(OR_9)-$ 、 $R_8P(O)(OR_9)-$ 、 $(R_8O)P(O)(OR_9)-$ 、 $CF_3-$ ;

15  $R_6$  和  $R_7$  是彼此独立的 H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基或杂环;

或当任意地放在一起时,  $NR_6R_7$  可以代表(未)取代的 3、4、5、6 或 7 元环;

$R_8=(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、杂环或  $CF_3-$ ;$

20  $R_9=H$ 、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基; 或任选地当被放在一起时,  $R_6$  和  $R_9$  可以代表 5、6 或 7 元环;

$R_{10}$  和  $R'_{10}$  是彼此独立的 H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、杂环、 $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ 、 $CF_3-$ ;

25  $R_{11}=R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ ,  
 $X_1=O$ 、 $S$ 、 $NR_9$ 、 $-CF_2-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、或不存在;

$Z_1=OR_5$ ;  $NR_{10}R_{11}$ ;

$Z_2$  和  $Z_3$  的独立的  $R_6R_7N(CO)-$ 、 $R_6(CO)-$ 、 $R_8O(CO)-$ 、 $R_8S(O)_2-$ 、 $R_8OS(O)_2-$ 、 $R_6R_7NS(O)_2-$ ;

30  $A=$ 卤素、 $NO_2$ 、 $CN$  或  $R_5-X_1-$ ;

$B=$ 卤素、 $NO_2$ 、 $CN$  或  $R_5-X_1-$ ;

或任选地, 如果  $B$  不是卤素、 $NO_2$ 、 $CN$  或  $H$ , 并且当  $B$  出现在吡啶的 4 位时, 则

B 和  $R_1$ 、或  $R_3$ 、或  $Z_1$  一起出现时, 可以代表(未)取代的 5、6 或 7 元碳环或杂环;

$D_1$ =卤素、 $\text{NO}_2$ 、CN 或  $\text{R}_5\text{-X}_1$ ;

$D_2$ =H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、卤素、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的芳烷基;

- 5       $E$ =H、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、-烯基、-炔基、-芳基、-芳烷基、-芳烯基、-芳炔基、 $\text{R}_6\text{O}(\text{CO})-$ 、 $\text{R}_6\text{S}(\text{O})_2-$ 或  $\text{OR}_6$ ;

或任选地,  $E=\text{R}_6(\text{CO})-$ , 只要当  $Z_1=\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$  时,  $\text{R}_{10}$  是 H;

或任选地,  $E=\text{R}_6(\text{CO})-$ , 只要当  $Z_1=\text{OR}_5$  时,  $\text{R}_5$  不是 H、烷基、芳基或芳烷基;

或任选地,  $E=\text{R}_6\text{R}_7\text{N}(\text{CO})-$ , 只要当  $Z_1=\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$  时,  $\text{R}_{10}$  是 H;

- 10      或任选地,  $E=\text{R}_6\text{R}_7\text{N}(\text{CO})-$ , 只要当  $Z_1=\text{OR}_5$  时,  $\text{R}_5$  不是 H、烷基、芳基或芳烷基;

或任选地, 当  $D_1=\text{R}_5\text{-X}_1$ -和  $E$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 4、5、6 或 7 元杂环;

或任选地, 当  $D_1=\text{R}_5\text{-X}_1$ -和  $\text{R}_1$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 5、6 或 7 元的碳环或杂环;

- 15      或任选地, 当  $D_1=\text{R}_5\text{-X}_1$ -和  $\text{R}_3$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 5、6 或 7 元的碳环或杂环;

或任选地, 当  $D_1=\text{R}_5\text{-X}_1$ -和  $Z_1$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 5、6 或 7 元杂环;

- 20      或任选地, 当  $Z_1$  和  $\text{R}_1$  被放在一起时, 可以代表(未)取代的 4、5、6 或 7 元杂环;

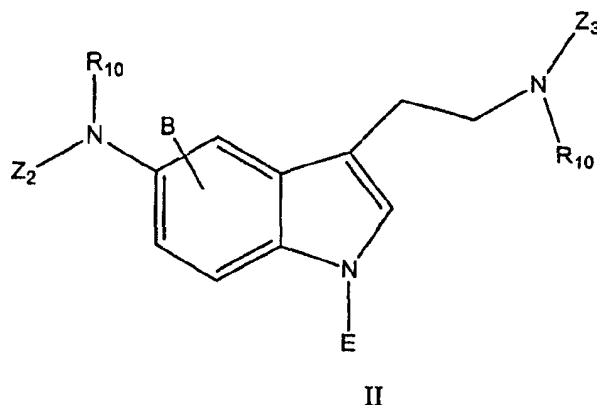
只要当  $n=1$ ,  $m=0$ ,  $\text{R}_5=\text{CH}_3$ ,  $\text{X}_1=\text{O}$ ,  $\text{B}=\text{D}_1=\text{E}=\text{R}_3=\text{R}_4=\text{H}$  时,  $Z$  不是  $\text{-NHAc}$ ;

也只要当  $D_2=\text{H}$ ,  $\text{R}_5=\text{CH}$  时,  $\text{R}_6$  不是  $\text{CH}_3$ ;

对映异构体、非对映异构体、顺/反异构体、药学上有有效的盐类和它们的混合物都包括在本发明内。

- 25      对本发明有效的优选的化合物是 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺(MCA-NAT), 也被称为 GR 135531。

本发明一个优选的实施方案涉及有 II 结构的化合物, 其中:

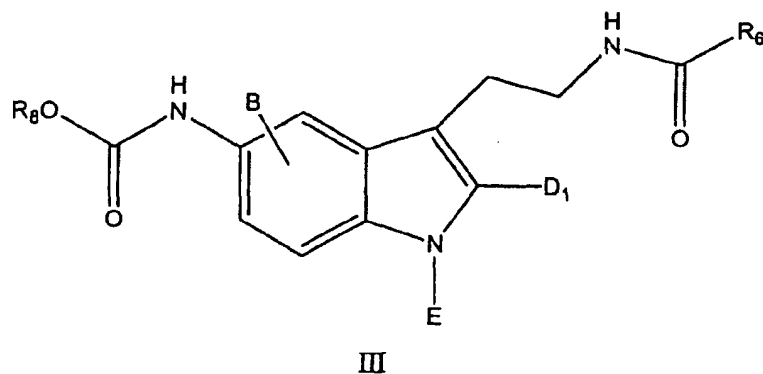


$Z_2$  和  $Z_3$  是独立的  $N R_6 R_7 (CO)-$ 、 $R_6 (CO)-$ 、 $R_8 O (CO)-$ 、 $R_8 S (O)_2-$ 、 $R_8 O S (O)_2-$ 、 $R_6 R_7 N S (O)_2-$ ;

或任选地, 各个  $Z_2-N-R_{10}$  和  $Z_3-N-R_{10}$  单位都是独立的, 代表 4-7 元环;

5 且结构式 I 中的  $D_1$  现在是 H。

本发明另一个优选的实施方案涉及有 III 结构的化合物, 其中:



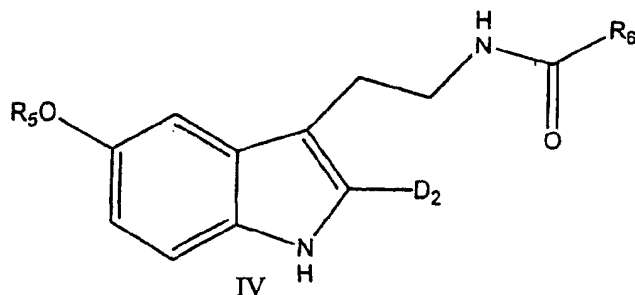
$D_1$  如实施例部分定义, 或任选地,  $D_1$  可以和  $R_6$  形成环, 或者,  $D_1$  和  $R_6$  可以不存在, 而用羰基在环中连接这两个位置; 所有其它的术语都如前定义

10 本发明一个较优选的实施方案涉及结构式 III 的如下化合物, 其中:

$B$ 、 $D_1$  和  $E=H$

所有的术语如前定义;

本发明另一个优选的实施方案涉及有 IV 结构的化合物, 其中;



15  $D_2=H$ 、(未)取代的线性-、分支-或环-烷基、卤素、取代或未取代的芳基、或取

代或未取代的芳烷基；

只是当  $R_5=R_6=CH_3$  时， $D_2$  不是 H；

本发明另一个优选的实施方案涉及有 IV 结构的化合物，其中：

$R_5=C_1-C_4$  烷基、乙酰基、甲酰基或  $CF_3$ ；

5  $R_6=H$ 、 $C_1-C_4$  烷基或  $CF_3$ ；

只是当  $R_5=CH_3$ ， $D_2=H$  时， $R_6$  不是 H；

定义：(未)取代这一说法涉及烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳烯基、芳炔基，它是指所述的基团可以被或不被选自同样基团或选自卤素、氮、氧、磷或硫的基取代。烷基、烯基、炔基这些术语是指含有 1-9 个碳原子的这种基。芳烷基、芳烯基、芳炔基这些术语是指含有两个如此定义的基形成的基团。若没有进一步说明，环这一术语是指 (未)取代的 3-7 元环。杂环这一术语是指含有一个或多个非碳原子且有任何不饱和度或没有不饱和度的环。例如，芳烯基是指连接到烯基上的芳基。

15 提供了本发明化合物的特殊的例子和制造所述化合物的方法。本发明提供了用于降低眼内压并治疗青光眼的使用含有如结构式 I-IV 所示的吲哚衍生物(如褪黑素能类似物)和药学上可接受的载体的药物组合物制剂的方法。本发明的化合物还包括它们无毒的药学上可接受的盐类，比如(但不限于)氯化物、硫酸盐和乙酸盐类，以及钠盐、铵盐和吡啶盐。药学上可接受的盐类是保留了母体化合物所需的生物活  
20 性且没有不需要的毒理作用的盐类。本发明还包括这里所述化合物的前体药物。那些精通此领域的技术人员将知道各种合成法，它们可用来制造无毒的药学上可接受的化合物的盐类和前体药物。

尽管本发明的化合物主要是用来治疗人类患者的，它们也可用于兽医目的，用来治疗其它的哺乳类患者，比如狗类和猫类。

25 根据用 Xomed(杰克逊维尔，佛罗里达州，美国)提供的 TONOPEN 接触型眼压计测得的 IOP 的改变确定了本发明化合物的药效。这些化合物的功效反映在它们活化褪黑素受体以实现目标反应的能力上。目标反应是降低与青光眼有关的眼内压。有效剂量将依赖于各个患者的特征、所用特殊化合物的活性、用药方式和疾病或病症的特征，并且可由那些精通此领域的人员决定。

30 所需的剂量和/或浓度水平是从约  $10^{-12}M$  至约  $10^{-3}M$ ，较好的是在约  $10^{-11}M$  至约  $10^{-4}M$  的范围内，最好是从约  $10^{-10}$  至约  $10^{-5}M$ 。

## 新型化合物的施用

可以用任何此领域的熟练技术人员已知的方法施用本发明的化合物以治疗眼疾。吡啶衍生物是以含有活性化合物或其药学上可接受的盐类和药学上可接受的赋形剂或载体的无菌制剂的形式施用。

- 5 可以通过任何合适的方法将这里叙述的活性化合物施用到患者的眼中，但最好制成活性化合物的液体或凝胶悬浮液，以滴眼液、洗眼液、喷雾剂、软膏剂或凝胶剂的形式施用。或者，可通过脂质体或其它载体(如环糊精)将活性化合物加到眼中。此外，可以通过泵-导管系统将活性化合物输注入泪膜。本发明的另一个实施方案涉及含在连续释放或选择性释放装置中的活性化合物，这些装置有膜，比如(但不
- 10 限于)用在 Ocusert™系统(Alza 公司，帕洛阿尔托，加利福尼亚州)的那些膜。在另外的实施方案中，这些活性化合物可含在、装载于或附着在放在眼上的隐性眼镜。本发明的另一个实施方案涉及可敷在眼表面的含在棉签或海绵中的活性化合物。本发明的另一个实施方案涉及可用于眼表面的含在液体喷雾中的活性化合物。本发明的另一个实施方案涉及直接注射进入泪腺组织或注射在于眼表面，或玻璃体内
- 15 注射的活性化合物的注射剂。

- 含有活性化合物的局部溶液还可以含有生理上相容的赋形剂，精通眼科技术的人员可用常规的标准进行选择。赋形剂可选自己知的眼科赋形剂，包括(但不限于)盐水和含水的电解质溶液、含水的聚醚类(如聚乙二醇)、聚乙烯类(如聚乙烯醇和聚吡咯烷酮)、纤维素衍生物类(如甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素)、石油衍生物
- 20 类(如矿物油和白凡士林)、动物脂肪(如羊毛脂)、丙烯酸的聚合物(如羧基聚亚甲基凝胶)、植物脂肪(如花生油)和多糖类(如葡聚糖)和糖胺聚糖类(如透明质酸钠盐)和盐类(如氯化钠和氯化钾)。

- 除了上述局部用药的方法，还有许多全身性施用本发明的活性化合物的方法，这样，化合物就可以通过全身吸收和循环到达眼部。这类方法之一涉及一种被受试
- 25 者吸入的含有活性化合物的可吸入颗粒的气溶胶悬浮液。活性化合物将通过肺被吸收进血液，或经过鼻泪管与眼组织接触，随后再以药物有效量与眼内细胞接触。可吸入的颗粒可以是液体或固体，粒径应该足够小以被吸入时通过口腔和喉；通常，粒径在约 1-10 微米，但最好在 1-5 微米，这一范围内的颗粒被认为是可吸入的。

- 另一种向受试者的眼全身性施用活性化合物的方法包括以液态制剂的眼药水
- 30 或洗眼液或滴鼻药水形式，或以受试者吸入的可吸入颗粒的鼻喷雾剂的形式施用液/液悬浮液。可以用精通此领域的技术人员已知的方法，将活性化合物与合适的赋形剂，如无菌无热原的水或无菌盐水混合，以制备用来制造鼻喷雾剂或滴鼻或滴眼

液的活性化合物的液态药物组合物。

其它全身性施用活性化合物的方法包括口服施用，其中含有 I、II、III 和 IV 结构化合物的药物组合物是片剂、锭剂、水性或油性悬浮液、可分散的粉剂或颗粒剂、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆剂或酞剂的形式。可以根据此领域中已知的用来制造药物组合物的任何方法来制造供口服的组合物，且这种组合物可以含有一种或多种选自：甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂的物质以提供好看且美味的药物制剂。与无毒的药学上可接受的赋形剂混合的含有活性成分的片剂是适宜于制造片剂的。这些赋形剂可以是，例如，惰性稀释剂，如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；成粒剂和崩解剂，如玉米淀粉或海藻酸；粘合剂，例如淀粉、明胶或阿拉伯胶；和润滑剂，如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。片剂可以不包衣或可用已知的技术进行包衣以延迟它们在肠胃道中的崩解和吸收，从而在较长的时间内提供持续的活性。例如，可以使用单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯之类的缓释材料。供口服的制剂可以硬明胶胶囊的形式提供，其中活性成分与惰性固体稀释剂(如，碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合，或作为软明胶胶囊的形式，其中活性成分与水或油性介质(如，花生油、液态石蜡或橄榄油)混合。

其它向受试者的眼全身性使用活性成分的方法包括活性成分的栓剂形式，以通过全身性吸收和循环使治疗有效量的化合物到达眼部。

进一步的全身性施用活性化合物的方法包括在外科手术时直接滴注凝胶、乳膏、粉末、泡沫、晶体、脂质体、喷雾或液态悬浮液形式的化合物，这样治疗有效量的活性化合物就通过全身性吸收和循环与所述受试者的眼组织接触。通过以下实施例进一步阐述了本发明，这些实施例不能理解为将本发明限制在它们所描述的特定步骤的范围内。

### 实施例 1

#### 5-硝基-色胺

这一方法是根据 Macor 等, Synth. Comm. 23:65-72(1993)类似的方法改进的。

向 5-硝基吲哚(6.2mmol)和苯邻二甲酰亚胺(0.4g)的乙醚(30mL)悬浮液中逐滴加入草酰氯(19.2mmol)，将反应混合物在 24℃下搅拌 48 小时。然后将反应容器和 Dewar 冷凝器连接，冷却至 0℃，并向混合物中鼓入无水氨 1.5 小时。在真空下除去气体和溶剂。和水一起研磨所得黄色固体、过滤、并用甲苯洗涤残余物。固体被干燥，得到 2-氨基-1-(5-硝基-1H-吲哚-3-基)-乙-1,2-二酮。将一部分化合物(0.59mmol)加到 THF(15mL)中并用硼烷-THF(2.4mL 1M 的溶液)在 28℃下处理 16 小

时。用碳酸氢钠中和反应物并用乙酸乙酯萃取。在真空下干燥乙酸乙酯的萃出物，重新溶解在乙醇中(10mL)并在氟化铯(360mg)和碳酸钠(312mg)存在时回流。通过硅藻土过滤混合物，蒸发，在硅胶上对残余物进行层析并用氯仿-甲醇-氨(8:2:0.2)作为洗脱剂得到标题化合物(20mg)。

5

### 实施例 2

*N*-[2-(5-硝基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-乙酰胺

将 5-硝基色胺(6mmol)溶于吡啶(15ml)，并用乙酸酐(7mmol)在 27℃下处理 20 分钟。在真空下除去溶剂，将残余物溶于少量甲醇并通过短的硅胶塞以含有 5%甲  
10 醇-氯仿洗脱剂洗脱。收集含有的产物的级分，蒸发并于<0.1mm Hg 彻底干燥。

### 实施例 3

*N*-[2-(5-氨基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-乙酰胺

将实施例 2 的产物(0.05mmol)溶于乙醇(3mL)，并在 3 个大气压的 H<sub>2</sub> 压力下在催化量的 10% Pd/C 上氢化 6 小时。通过硅藻土过滤除去催化剂并在真空下将溶剂除  
15 去，得到了标题化合物。这种产物对空气略微敏感，应立即用于以后的反应。

### 实施例 4

{3-[2-(2-羟基-苄基氨基)-乙基]-1*H*-吡啶-5-基}-氨基甲酸甲酯

20 将 5-硝基色胺(6mmol)和水杨醛(7mmol)溶解在用氢氧化钾(0.15g)缓冲的乙醇(35mL)中，并用硼氢化钠(18mmol)在 24℃下处理 8 小时。在真空下除去乙醇并将残余物在乙醚和水之间分配，将乙醚相干燥，蒸发，并将油在硅胶上进行层析以乙酸乙酯-己烷洗脱得到 2-[[2-(5-硝基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基氨基]-甲基]-苯酚。同  
25 上在 Pd/C 上氢化之后，将残余物溶解在吡啶(12mL)中并用氯甲酸甲酯(9mmol)处理。在加入氯甲酸酯后立即形成了带褐色的沉淀，它在 20 分钟内又溶解了。短时间后进行硅胶 TLC(5%甲醇-氯仿洗脱)后判断反应的完成。将混合物蒸发至干并在<0.1mmHg 的真空下至少保持 2 小时。然后将其溶解在少量甲醇中，并通过反相 HPLC 用水-甲醇梯度进行纯化。

30

### 实施例 5

[3-(2-丙酰氨基-乙基)-1*H*-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

将 5-硝基色胺(6mmol)溶解在吡啶(15ml)中并用丙酸酐(7mmol)在 27℃下处理

20 分钟。在真空下除去溶剂，将残余物于<0.1mm Hg 的压力彻底干燥。然后将残余物氢化并如前面的实施例将其转变成氨基甲酸甲酯。通过短的硅胶塞过滤并以 5% 甲醇-氯仿作为洗脱剂将标题化合物纯化。

5

### 实施例 6

*N*-[2-(5-二甲基氨基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-乙酰胺

将 *N*-[2-(5-硝基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]乙酰胺(0.6mmol)溶于乙腈(1mL)中并和催化量的 DMAP 和焦碳酸二-叔丁酯(0.7mmol)一起搅拌 1 小时。在真空下除去溶剂并对残留的油进行层析用乙酸乙酯-己烷作为洗脱剂。将产物溶解于乙醇(10mL)并如上述方法进行氢化。将残余物溶解于 DMF(2mL)，加入二异丙基乙胺(1.4mmol)然后再加入甲基碘(1.4mmol)。将混合物在 25℃下搅拌 3 小时，然后过滤，蒸发至干，溶解在乙醇中并用活性炭脱色。将残余物溶解于三氟乙酸和 1 当量的苯硫酚，并在 20℃下搅拌 1 小时。除去溶剂，将化合物溶解于异丙醇-水(5:1)并用 2 当量(w/w)氢氧化物型的 Dowex AG1-X8 离子交换树脂进行处理。蒸发掉溶剂，然后结晶，得到标题化合物。

15

### 实施例 7

[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-苯基-1*H*-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

将 2-[2-(5-硝基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-异吡啶-1,3-二酮(1mmol)溶解于 THF/氯仿(1:1)，并用吡啶氢溴化物过溴化物在 0℃下处理 90 分钟，然后从硅胶柱上用氯仿-甲醇洗脱。将产物溶解在甲苯-乙醇(1:1)中并用苯基硼酸(1.5 当量)、碳酸钠(2.5 当量)、氯化锂(3 当量)和四(三苯膦)钯(5mol%)处理。将混合物回流 4 小时，在真空下浓缩，并在硅胶上将油进行层析，以乙酸乙酯-己烷洗脱得到 2-[2-(5-硝基-2-苯基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-异吡啶-1,3-二酮。将这一化合物溶解在乙醇(6mL)中，并和乙二胺(3 当量)一起回流 18 小时。在真空下除去溶剂，并用吡啶-乙酸酐(1:1, 6mL)将该物质乙酰化。在真空下除去溶剂，将残余物在硅胶上层析，并以乙酸乙酯-己烷洗脱。将产物氢化并如以上实施例转变成氨基甲酸甲酯。通过反相 HPLC 分离出纯的产物。

25

30

### 实施例 8

[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-甲基-1*H*-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

在 2-甲基-5-硝基吡啶(1.4mmol)和苯邻二甲酰亚胺(0.1g)的乙醚(10mL)悬浮

液中逐滴加入草酰氯(4.4mmol)，将反应混合物在 24℃下搅拌 48 小时。然后将反应容器和 Dewar 冷凝器连接，冷却至 0℃，并向混合物中通入无水氨 1.5 小时。在真空下除去气体和溶剂。和水一起研磨所得褐色固体、过滤、并用甲苯洗涤残余物。固体被干燥，得到 2-氨基-1-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)-乙-1,2-二酮。将一部分化合物(0.59mmol)溶于 THF(15mL)中并用硼烷-THF(2.4mL 1M 的溶液)在 28℃下处理 16 小时。用碳酸氢钠中和反应物并用乙酸乙酯萃取。在真空下干燥乙酸乙酯的萃出物，重新溶解在乙醇中(10mL)并在氟化铯(360mg)和碳酸钠(312mg)存在时回流。通过硅藻土过滤化合物，蒸发，在硅胶上对残余物进行层析并用氯仿-甲醇-氨(8:2:0.2)洗脱得到 2-(2-甲基-5-硝基-1H-吡啶-3-基)-乙胺。这一化合物被乙酰化、氢化并被转化成如上所述的氨基甲酸甲酯。

### 实施例 9

#### [3-(3-乙酰氨基-丙-1-基)-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

于 THF-HMPA(9:3, 11mL)中在 0℃下用氢化钠(7mmol)将氰基甲烷膦酸二乙酯(7mmol)处理 10 分钟。然后加入 1-乙酰-5-硝基吡啶-3-甲醛(6mmol)，并在室温下将溶液搅拌 3 小时。将混合物倒进冰水中并将 pH 调至 5。蒸发去溶剂并和甲醇一起研磨残余物，得到固态的 3-(1-乙酰-5-硝基-1H-吡啶-3-基)-丙烯腈。将其溶于被氨饱和的乙醇(75mL)，并在 3 个大气的 H<sub>2</sub> 压力下在 Raney 镍上氢化 16 小时。除去催化剂，然后按上述方法乙酰化，制得 N-[3-(5-硝基-1H-吡啶-3-基)-丙-1-基]乙酰胺，用上述方法将其氢化、氨基甲酰化并用反相 HPLC 纯化。

### 实施例 10

#### [3-(3-苯磺酰氨基-乙基)-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

将 5-硝基色胺(6mmol)溶解于吡啶(15mL)并在 25℃下用苯磺酰氯处理 4 小时。将混合物倒进冰水中并用乙醚(3×50mL)萃取。用 1M HCl(2×50mL)洗涤乙醚萃出物，然后用饱和的碳酸氢钠(2×50mL)洗涤，用硫酸镁干燥并在减压下蒸发。如前面的实施例，将所得固体氢化并转化成氨基甲酸甲酯。

### 实施例 11

#### N-[2-(5-氨基-1H-吡啶-3-基)-乙基]-乙酰胺

将实施例 3 的产物溶解于乙酸-水(1:2, 3mL)并加入氰酸钠(2mmol)。搅拌直至有带棕色的胶状物沉淀出。用氯仿(3×30mL)萃取混合物，并用饱和的碳酸氢钠洗

涤有机萃取液，用硫酸镁干燥并在真空下蒸发去溶剂。按上述方法，用反相 HPLC 纯化所得产品。

#### 实施例 12

##### 5 *N*-[2-(5-甲氧羰基氨基-1*H*-吡啶-3-基)-乙基]-琥珀酰胺酸

在 5-硝基色胺 (6mmol) 的二氯甲烷 (25mL) 溶液中加入三乙胺 (12mmol)、  
DMAP (0.6mmol) 和琥珀酸酐 (9mmol)。将混合物搅拌 4 小时，在真空下除去溶剂，将  
残余物在硅胶上进行层析，用含 1% 乙酸的 10% 甲醇-氯仿作为洗脱剂。然后如前面  
的实施例，将产物氢化并转变成氨基甲酸甲酯。按上述方法，用反相 HPLC 纯化产  
10 物。

#### 实施例 13

##### *[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸烯丙酯*

然后用氯甲酸烯丙酯，以与上面同样的方法处理实施例 3 的产物 (5mmol)，并  
15 以硅胶纯化，用 5% 甲醇的氯仿溶液作为洗脱剂。

#### 实施例 14

##### *[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸 3-羟基-丙-1-基酯*

将 [3-(2-乙酰氨基-乙基)-1*H*-吡啶-5-基]-氨基甲酸烯丙酯 (1mmol) 溶解于  
20 THF (27mL)，并滴入硼烷-THF (2mmol)。2 小时后，加入氢氧化钠 (4mL, 3M) 和过氧化  
化氢 (4mL, 30%) 并将溶液继续搅拌 1 小时。将溶液浓缩至一半体积，加入 10mL 水  
并用乙酸乙酯 (4×25mL) 萃取。用盐水洗涤合并的萃出物，干燥，在真空下除去溶  
剂，在硅胶上层析产物，并以 5% 甲醇的氯仿溶液作为洗脱剂。

#### 实施例 15

##### *[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸 2,3-二羟基-烯丙酯*

将 [3-(2-乙酰氨基-乙基)-1*H*-吡啶-5-基]-氨基甲酸烯丙酯 (1mmol) 溶解于吡  
啶 (7mL) 并在 25℃ 下用四氧化锇 (0.01mmol) 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1mL, 30% 的水溶液) 处理 15 小  
时。在真空下除去溶剂并在硅胶上层析产物，以 10% 甲醇的氯仿溶液作为洗脱剂。  
30

#### 实施例 16

##### *N*-[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1*H*-吡啶-5-基]-乙酰胺

将实施例 1 的产物(0.05mmol)溶解于乙醇(3mL)中,并在 3 个大气的 H<sub>2</sub> 压下在催化量的 10% Pd/C 上氢化过夜。通过硅藻土过滤除去催化剂并在真空下将溶剂除去。如上所述,用吡啶/乙酸酐进行乙酰化制得标题化合物。

5

### 实施例 17

*[3-(2-乙酰氨基-乙基)-2-溴-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯*

在 25°C 下,用 N-溴琥珀酰亚胺(0.05mmol)处理 5-甲氧羰基氨基-N-乙酰色胺(0.05mmol)的乙酸(0.5mL)溶液 3.5 小时。然后用 50%的氢氧化钠溶液中和此溶液并用乙酸乙酯萃取。将有机萃液蒸发,在硅胶上进行层析,用 2%的甲烷-氯仿作为洗脱剂得到纯化的产品。

10

### 实施例 18

*[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1-苄基-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯*

在实施例 2 产物(0.04mmol)的 DMF(0.7mL)溶液中加入氢化钠(0.1mmol)。混合物立即由黄色变为红色。搅拌 20 分钟后,加入苄基溴(0.1mmol)并将混合物再搅拌 2 小时。然后在水和乙酸乙酯之间将反应物进行分配,分离各层,在真空下蒸发乙酸乙酯相并在高真空下将产物干燥。然后将残余物溶解在少量的甲醇中,采用水-甲醇的梯度进行反相 HPLC 将产物分离。用以前实施例中的方法,通过氢化并转化成氨基甲酸甲酯,将产物转化成标题化合物。

15

20

### 实施例 19

*(1-氧代-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉-6-基)-氨基甲酸甲酯*

用以前实施例中施用的方法,通过氢化并转化成氨基甲酸甲酯,将 6-硝基-2,3,4,9-四氢-β-咔啉-1-酮(0.05mmol)转化成标题化合物。

25

### 实施例 20

*[3-(2-乙酰氨基-乙基)-1-甲基-1H-吡啶-5-基]-甲基-氨基甲酸甲酯*

在 5-(甲氧羰基氨基)-N-乙酰色胺(0.03mmol)的 DMF(0.7mL)溶液中加入氢化钠(0.1mmol),并在室温下将混合物搅拌 20 分钟。然后加入碘甲烷(0.1mmol)并将混合物继续搅拌 2 小时。在水和乙酸乙酯间将反应混合物进行分配,在真空下蒸发乙酸乙酯相并在高真空下将产物干燥。然后将残余物溶解在少量的甲醇中,采用水-甲醇的梯度进行反相 HPLC 将产物分离。用以前实施例中的方法,通过氢化并转化

30

成氨基甲酸甲酯，将产物转化成标题化合物。

### 实施例 21

#### 5 [3-(2-乙酰氨基-乙基)-4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吡啶-5-基]-氨基甲酸甲酯

在 1-(1H-吡啶-4-基)-乙醇(4mmol)的 DMF (7mL)溶液中加入氢化钠(10mmol)。搅拌 20 分钟后，加入碘甲烷(10mmol)并将混合物继续搅拌 2 小时。然后在水和乙酸乙酯之间将反应物进行分配，分离各层，在真空下蒸发乙酸乙酯相并在高真空下将产物干燥。然后将残余物溶解在少量的甲醇中，在硅胶上进行层析，以氯仿-甲  
10 醇作为洗脱剂将 4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吡啶分离。将产物(2mmol)溶解于乙醚(40mL)，逐滴加入草酰氯(8mmol)，并将混合物在 24℃下搅拌 8 小时。然后将反应容器和 Dewar 冷凝器连接，冷却至 0℃，并向混合物中通入无水氨 1.5 小时。在真空下除去气体和溶剂。将所得固体溶解在乙酸乙酯中，用盐水萃取，并用硫酸镁干燥乙酸乙酯相并将其蒸发。将该物质溶解在 THF (15mL)中并在 25℃下用硼烷-  
15 THF (3mL, 1M 的溶液)处理 16 小时。用碳酸氢钠中和反应物并用乙酸乙酯萃取。然后在真空下干燥乙酸乙酯萃出物，重新溶解在乙醇中(10mL)并在氟化铯(380mg)和碳酸钠(350mg)存在下回流。通过硅藻土过滤化合物，蒸发，在硅胶上对残余物进行层析并用氯仿-甲醇-氨(9:1:0.1)作为洗脱剂得到 2-[4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吡啶-3-基]-乙基胺。将这一物质溶解于吡啶(6mL)并用乙酸酐(3mL)处理以  
20 得到 N-{2-[4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-1H-吡啶-3-基]-乙基}-乙酰胺。在 <0.1mmHg 下干燥 24 小时后，将化合物(1mmol)溶于二氯甲烷(2mL)。加入硝酸铵(1.7mmol)，然后加入三氟醋酐(3mmol)。将混合物搅拌过夜，然后将其在冷的饱和碳酸氢钠和氯仿之间分配。用水洗涤有机相，用硫酸镁干燥并蒸发至干。在硅胶上层析，用乙酸乙酯-己烷作为洗脱剂分离出 N-{2-[4-(1-甲氧基-乙基)-1-甲基-5-  
25 硝基-1H-吡啶-3-基]-乙基}-乙酰胺，用以前实施例中的方法，通过氢化和氨基甲酸甲酯的形成将其最终转变成标题化合物。

### 实施例 22

#### 褪黑素和 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺(5-MCA-NAT)对兔眼内压的作用

30 在新西兰白兔中研究了褪黑素和 5-(甲氧基羰基氨基)-N-乙酰色胺(5-MCA-NAT)，也被称为 GR 135531 对眼内压(IOP)的作用

眼内压的测量: IOP 是用 Xomed(杰克逊维尔, 佛罗里达州, 美国)提供的 TONOPEN

接触型眼压计测得的。向一侧角膜局部施用 10 微升药物，而向对侧的眼睛施用同样体积的盐水溶液。将角膜麻醉以避免任何与应用眼压计有关的不适。在施用药物之前进行两次测量。

5 药理学研究：在 DMSO 中将褪黑素(Sigma, 圣路易斯)和 5-MCA-NAT(Tocris, 布里斯托尔, 英国)制成 10-100 倍的高浓度并用盐水稀释。采用了 10pg/10 $\mu$ L-1mg/10 $\mu$ L(褪黑素相当于 43fmol-43 $\mu$ mol, 5-MCA-NAT 相当于 34fmol-34 $\mu$ mol)的剂量, 在用药后第 0.5、1、2、3、4、5 和 6 小时测量眼内压。每天对一个动物试验一个剂量。在用褪黑素或 5-MCA-NAT 之前 30 分钟, 以 100 $\mu$ g/10 $\mu$ L 或 342nM 的剂量加入非特异性的褪黑素拮抗剂 luzindole。

10 褪黑素和 5-MCA-NAT 对兔 IOP 的作用：褪黑素和 5-MCA-NAT(10pg/10 $\mu$ L-1mg/10 $\mu$ L)引起了 IOP 剂量依赖性的降低, 在 10 $\mu$ g/10 $\mu$ L 时这一值最大, 降低了  $24 \pm 4.4\%$ (n=8)。在 1 小时后观察到了最大效果并保持了 3 小时(图 1)。5-MCA-NAT(10pg/10 $\mu$ L-1mg/10 $\mu$ L)也引起了 IOP 剂量依赖性的降低, 它在 100 $\mu$ g/10 $\mu$ L 时最大, 降低了  $43.1 \pm 3.65\%$ (n=8)。在 2 小时后观察到了最大效果并保持了 10 小时  
15 (图 2)。对 5-MCA-NAT 的最大响应在统计学上显著高于对褪黑素的响应。褪黑素和 5-MCA-NAT 的 IC<sub>50</sub> 值分别为  $363 \pm 23.0$ ng/10 $\mu$ L 和  $423 \pm 30$ ng/10 $\mu$ L, 这分别相当于  $1.6 \pm 0.1$ nmol 和  $1.8 \pm 0.1$ nmol 的剂量(图 3)。这些值彼此之间没有显著差异。

用非特异性的褪黑素受体拮抗剂 luzindole(100 $\mu$ g/10 $\mu$ L)预先处理可以消除褪黑素和 5-MCA-NAT 的作用(图 4), 但当单独使用时, 在 6 小时之后就没有作用了。

20 这些结果显示, 褪黑素和选择性的 MT<sub>3</sub>受体激动剂 5-MCA-NAT 都对 IOP 引起剂量依赖性的降低, 而 5-MCA-NAT 引起的最大响应约为褪黑素引起的响应的两倍。这些结果说明, 假定存在一组褪黑素受体, 则褪黑素似乎就成为部分激动剂, 而 5-MCA-NAT 则成为完全激动剂。非特异性的褪黑素受体拮抗剂 luzindole 消除褪黑素和 5-MCA-NAT 作用的能力说明, 褪黑素和 5-MCA-NAT 的作用是通过褪黑素受体介导的。  
25

现在已经用完整、清楚、简洁且准确的术语描述了本发明以及制造和使用它的方式和方法, 这就使得精通此领域的任何技术人员都可以制造和使用它。应该理解的是, 上面描述了本发明优选的实施方案, 并可以在不背离如权利要求所列出的本发明范围的情况下对其作出改进。为特别指出并明确要求本发明的主题, 用以下的  
30 权利要求结束本说明书。

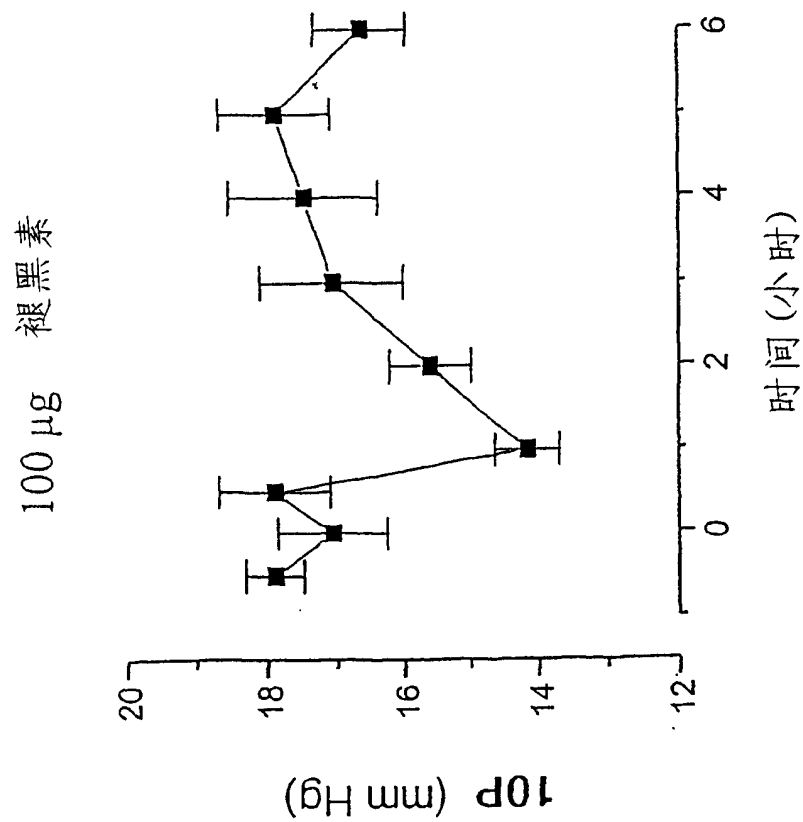


图 1

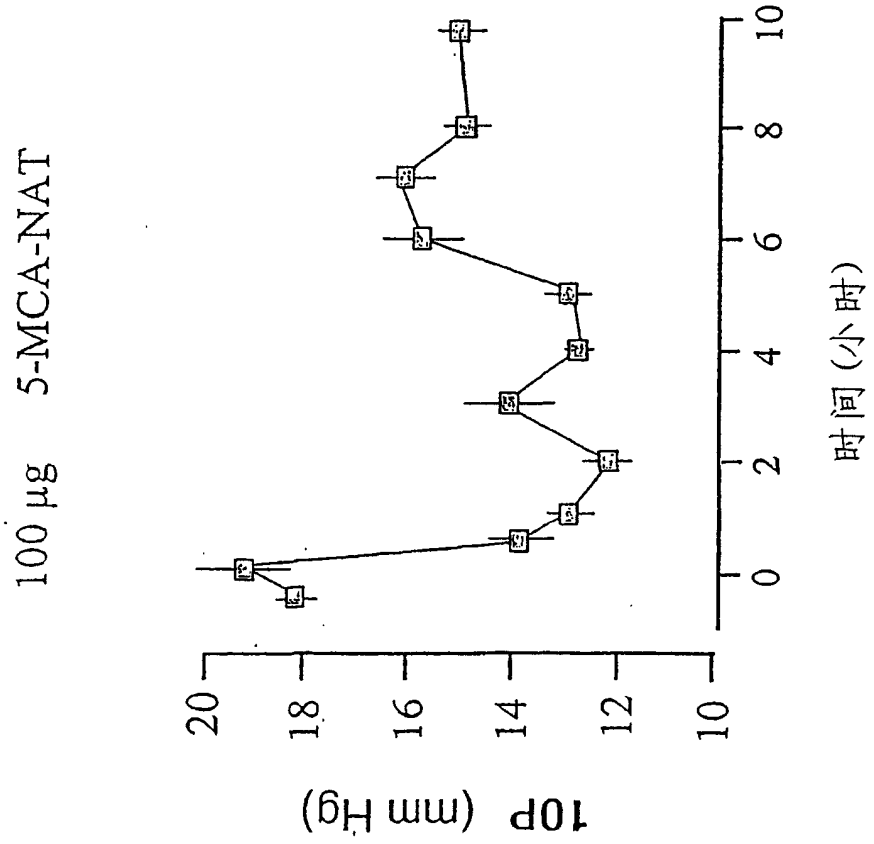


图 2

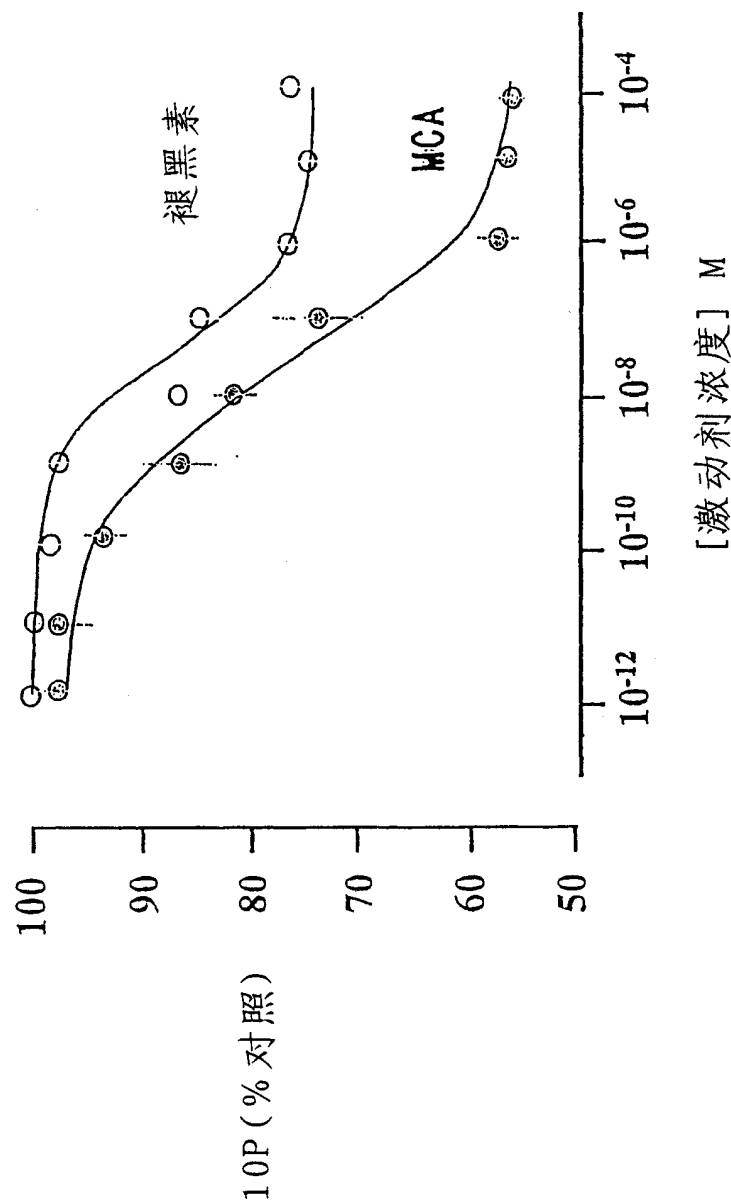


图 3

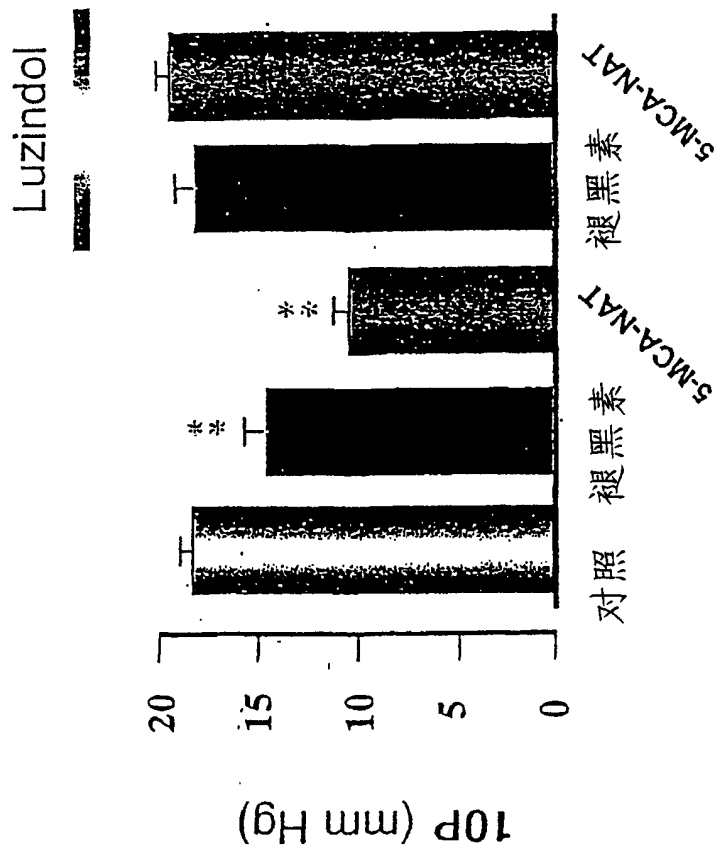


图 4