

【11】證書號數：I415600

【45】公告日：中華民國 102 (2013) 年 11 月 21 日

【51】Int. Cl. : A61K31/12 (2006.01) A61P9/10 (2006.01)

發明

全 12 頁

【54】名稱：用於治療動脈粥狀硬化的組合物及其製備方法

COMPOSITION FOR TREATING ATHEROSCLEROSIS AND A
PREPARATION METHOD THEREOF

【21】申請案號：100128614

【22】申請日：中華民國 100 (2011) 年 08 月 10 日

【11】公開編號：201306829

【43】公開日期：中華民國 102 (2013) 年 02 月 16 日

【72】發明人：吳永昌 (TW) WU, YANG CHANG；張芳榮 (TW) CHANG, FANG RONG；
謝翠娟 (TW) HSIEH, TUSTY JIUAN；卓夙航 (TW) JUO, SUH HANG；林安
聲 (TW) LIN, AN SHEN；杜英齊 (TW) DU, YING CHI

【71】申請人：高雄醫學大學

KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY

高雄市三民區十全一路 100 號

【74】代理人：蔡清福

【56】參考文獻：

US 4867964A

US 7566737B2

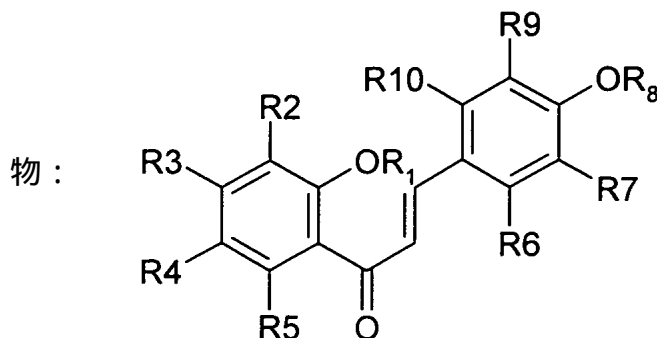
US 2005/0080021A1

US 2008/0248131A1

審查人員：廖彥昱

[57]申請專利範圍

1. 一種下列式 I 之查耳酮化合物之用途，其係用於製備預防或治療動脈粥狀硬化之組合



其中，R1 係為氫，R2 至

式 I，

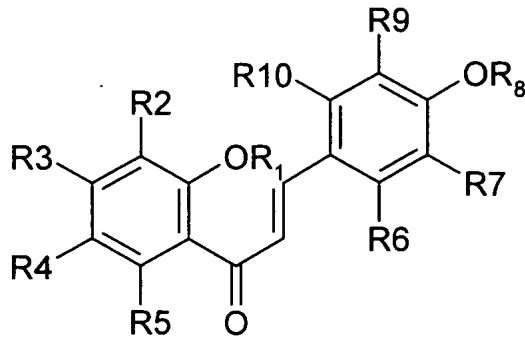
R5 分別為氫、羥基、鹵素其中之一，R6、R7、R9、R10 分別為氫、羥基、C₁-C₂₀ 烷氧基、苄氧基其中之一，R8 為苄基。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之查耳酮化合物之用途，其中該組合物被配置用於抑制 p44/42 絲裂原活化蛋白激酶(MAPK)之磷酸化及活化伽瑪型過氧化體增殖劑活化受器(PPAR γ)至少其中之一。
3. 如申請專利範圍第 2 項所述之查耳酮化合物之用途，其中該 p44/42 絲裂原活化蛋白激酶之磷酸化被配置用於促進一介白素-6(IL-6)及一介白素-1 β (IL-1 β)至少其中之一的表現，該伽瑪型過氧化體增殖劑活化受器被配置用於抑制該介白素-6 及該介白素-1 β 至少其中之一的表現。
4. 如申請專利範圍第 2 項所述之查耳酮化合物之用途，其中該伽瑪型過氧化體增殖劑活化受器被配置用於抑制一細胞週期素 D1(cyclin D1)及一細胞週期素 D3(cyclin D3)至少其中之一的表現。

(2)

5. 一種下列式 I 之查耳酮化合物之用途，其係用於製備增加一伽瑪型過氧化體增殖劑活化

受器(PPAR γ)產生之組合物：

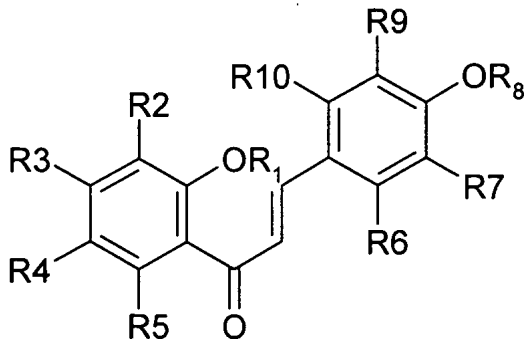


其式 I，

中，R1 係為氫，R2 至 R5 分別為氫、羥基、鹵素其中之一，R6、R7、R9、R10 分別為氫、羥基、C₁-C₂₀ 烷氧基、苄氧基其中之一，R8 為苄基。

6. 如申請專利範圍第 5 項所述之查耳酮化合物之用途，其中該組合物被配置用於增加該伽瑪型過氧化體增殖劑活化受器之信使 RNA(mRNA)的表現。

7. 一種藥物組合物之用途，其係用於製備抑制人類主動脈平滑肌細胞的細胞增生及發炎反應至少其中之一的藥劑，其中該藥物組合物包括下列式 I 之查耳酮化合物及一伽瑪型過氧化體增殖劑活化受器(PPAR γ)配體(ligand)：



其中，R1 係為氫，R2 至 R5 分

式 I，

別為氫、羥基、鹵素其中之一，R6、R7、R9、R10 分別為氫、羥基、C₁-C₂₀ 烷氧基、苄氧基其中之一，R8 為苄基。

圖式簡單說明

第 1 圖為各種黃酮類化合物(5 μ g/ml)抑制由氧化型低密度脂蛋白(30 μ g/ml)在 24 小時內引起的平滑肌細胞增生之示意圖。控制組為未加入任何藥物或化合物於細胞培養液中之組別。數據表示 6 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為與控制組比較之 $p < 0.001$ ，b 為與氧化型低密度脂蛋白組比較之 $p < 0.001$ ，c 為與氧化型低密度脂蛋白組比較之 $p < 0.01$ 。

第 2 圖為 1、2.5 及 5 μ g/ml 濃度下化合物 1 抑制由氧化型低密度脂蛋白(30 μ g/ml)在 24 小時內引起的平滑肌細胞增生之示意圖。數據表示 6 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為 $p < 0.001$ 。

第 3 圖為化合物 1 及 PD98059 對於 Ki-67 蛋白表現之影響。以 30 μ g/ml 的氧化型低密度脂蛋白處理平滑肌細胞 24 小時並且同時分別加入 5 μ g/ml 之化合物 1 或 10⁻⁵ M 之 PD98059。數據表示 3 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為 $p < 0.001$ 。

第 4 圖為化合物 1 及 PD98059 對於磷酸化與總 p44/42 MAPK 蛋白表現之影響。以 30 μ g/ml 的氧化型低密度脂蛋白處理平滑肌細胞 15 分鐘並且同時分別加入 5 μ g/ml 之化合物 1 或 10⁻⁵ M 之 PD98059。每個組別進行 2 次獨立實驗。

第 5 圖(a)及第 5 圖(b)為 PD98059、化合物 1、羅格列酮對於介白質(a)IL-1 β mRNA 及(b)IL-6 mRNA 表現之影響。以 30 μ g/ml 的氧化型低密度脂蛋白處理平滑肌細胞 24 小時並且同時

(3)

分別加入 10^{-5} M 之 PD98059、 $5\mu\text{g/ml}$ 之化合物 1、 $5\mu\text{g/ml}$ 之羅格列酮、或化合物 1+羅格列酮(各為 $5\mu\text{g/ml}$)。數據表示 3 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為 $p<0.001$, c 為 $p<0.05$ 。

第 6 圖(a)及第 6 圖(b)為氧化型低密度脂蛋白及化合物 1 對於(a)PPAR γ mRNA 及(b) PPAR α mRNA 表現之影響。以 $30\mu\text{g/ml}$ 的氧化型低密度脂蛋白單獨處理平滑肌細胞 2 小時、4 小時、8 小時及 24 小時，或同時加入 $5\mu\text{g/ml}$ 之化合物 1。數據表示 3 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為與氧化型低密度脂蛋白組比較之 $p<0.001$ 。

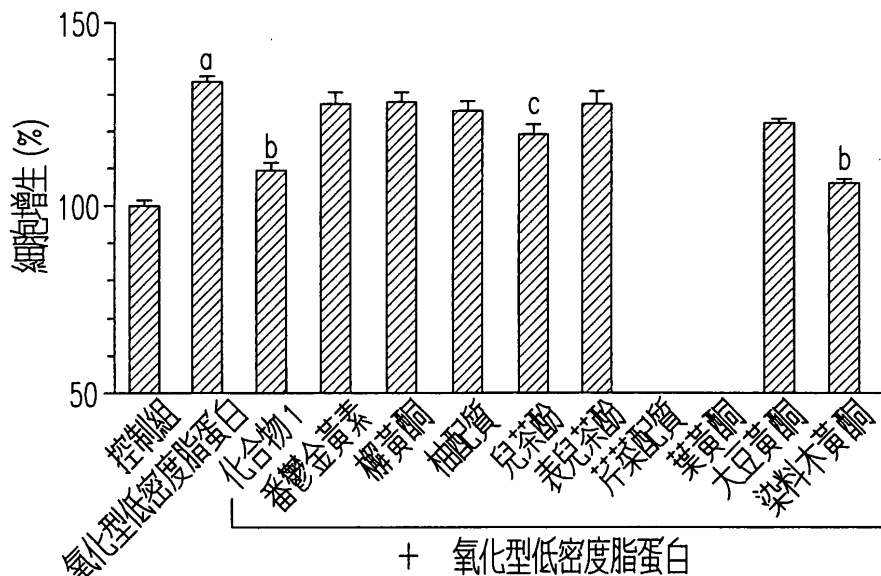
第 7 圖(a)及第 7 圖(b)為僅以 0、1、2.5 及 $5\mu\text{g/ml}$ 化合物 1 處理平滑肌細胞 4 及 8 小時後之(a)PPAR γ mRNA 表現及(b)PPAR γ 蛋白表現。數據表示 3 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為 $p<0.001$, b 為 $p<0.01$ 。

第 8 圖(a)及第 8 圖(b)為 PD98059、化合物 1、羅格列酮對於由氧化型低密度脂蛋白引起的(a)細胞增生及(b)磷酸化與總 p44/42 MAPK 蛋白表現之影響。(a)以 $30\mu\text{g/ml}$ 的氧化型低密度脂蛋白處理平滑肌細胞 24 小時並且同時分別加入 10^{-5} M 之 PD98059、 $5\mu\text{g/ml}$ 之化合物 1、 $5\mu\text{g/ml}$ 之羅格列酮、或化合物 1+羅格列酮(各為 $5\mu\text{g/ml}$)。數據表示 6 次獨立實驗的平均值 \pm 標準差。a 為 $p<0.001$ 。(b)以 $30\mu\text{g/ml}$ 的氧化型低密度脂蛋白處理平滑肌細胞 15 分鐘並且同時分別加入 $5\mu\text{g/ml}$ 之化合物 1 或 $5\mu\text{g/ml}$ 之羅格列酮。每個組別進行 3 次獨立實驗。

第 9 圖為氧化型低密度脂蛋白、PD98059、羅格列酮、化合物 1 對於 cyclin D1 及 cyclin D3 蛋白表現之影響。以 $30\mu\text{g/ml}$ 的氧化型低密度脂蛋白單獨處理平滑肌細胞 8 小時，或同時加入 10^{-5} M 之 PD98059、 $5\mu\text{g/ml}$ 之化合物 1、 $5\mu\text{g/ml}$ 之羅格列酮、或化合物 1+羅格列酮(各為 $5\mu\text{g/ml}$)。每個組別進行 3 次獨立實驗。

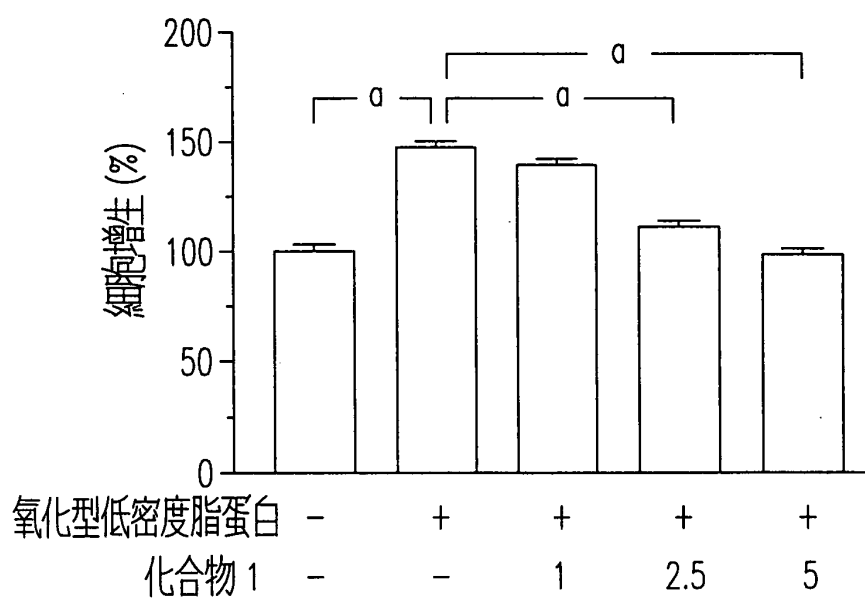
第 10 圖為化合物 1 抗動脈粥狀硬化作用機轉之示意圖。實線為促進作用，虛線為抑制作用。

第 11 圖(a)、(b)、(c)分別為各種查耳酮化合物於(a) $5\mu\text{g/ml}$ 、(b) $2.5\mu\text{g/ml}$ 及(c) $2\mu\text{g/ml}$ 濃度下，對脂多醣體引起的人類主動脈平滑肌細胞的細胞增生之影響。控制組為未加入任何藥物或化合物於細胞培養液中之組別。

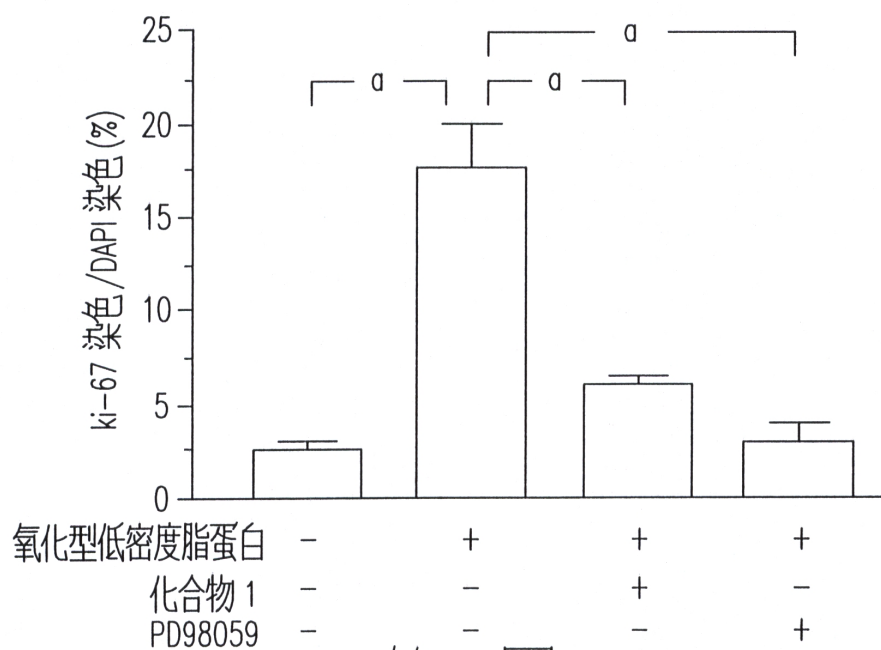


第 1 圖

(4)

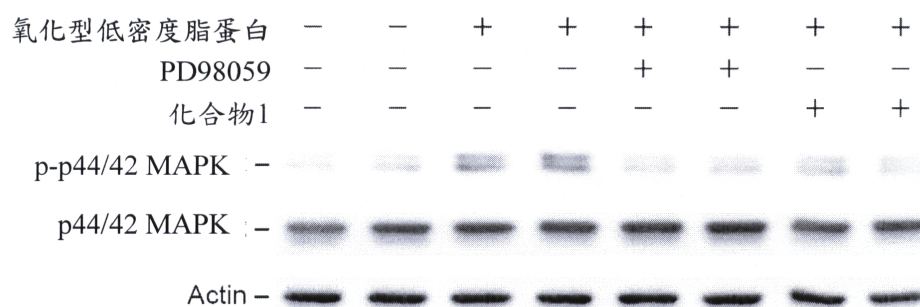


第2圖

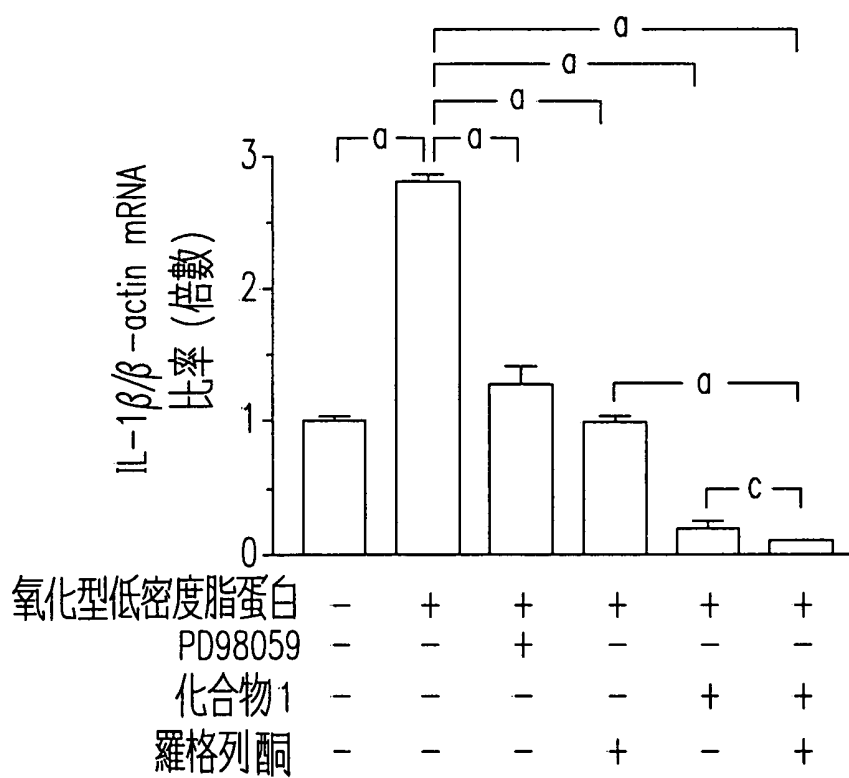


第3圖

(5)

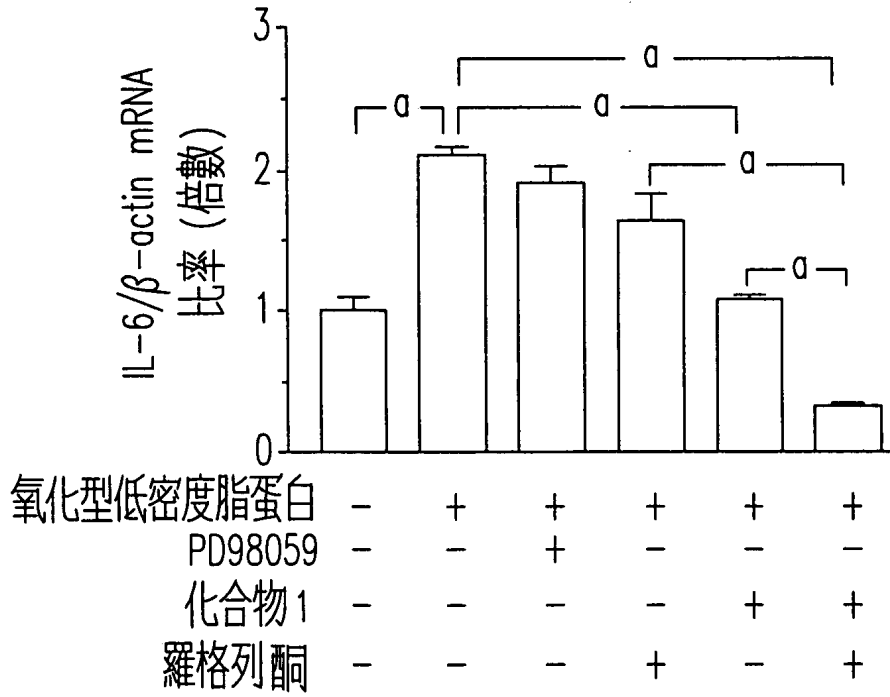


第4圖

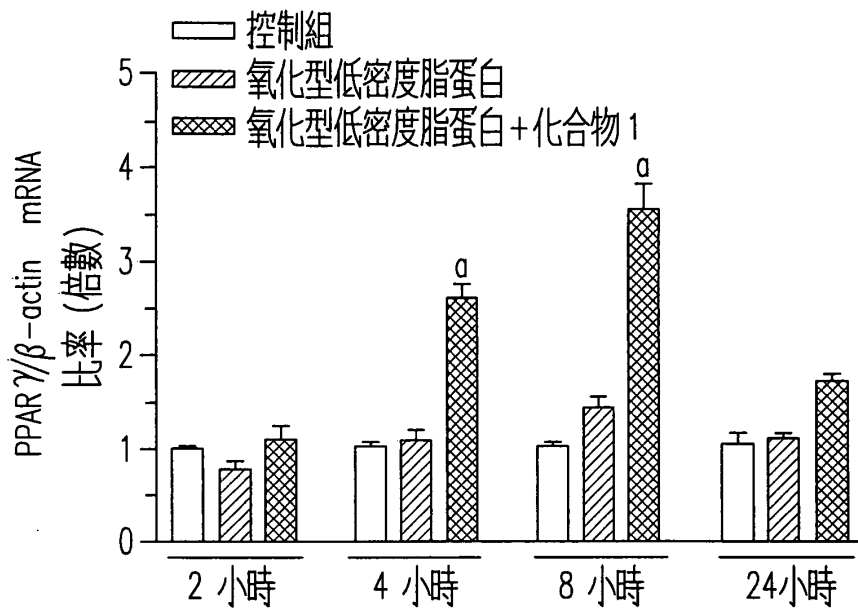


第5圖 (a)

(6)

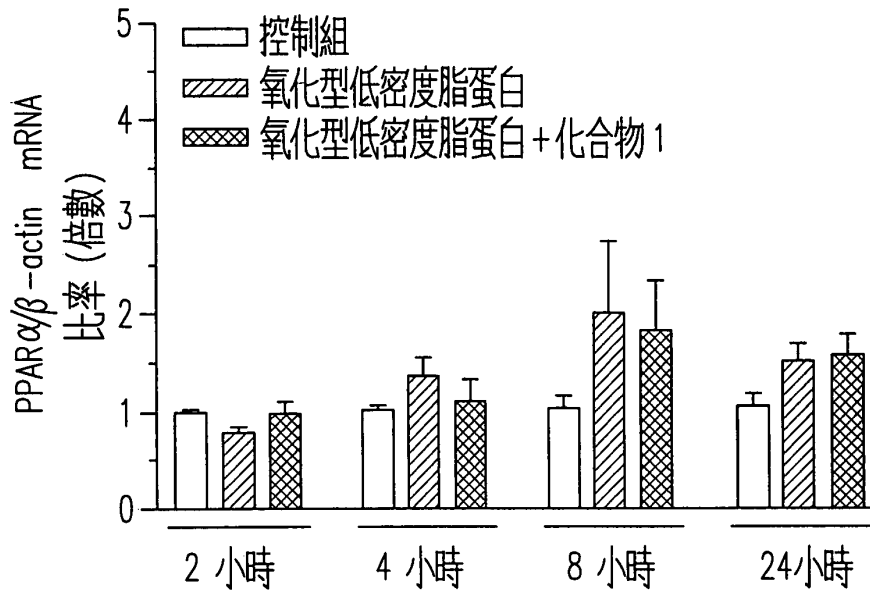


第5圖 (b)

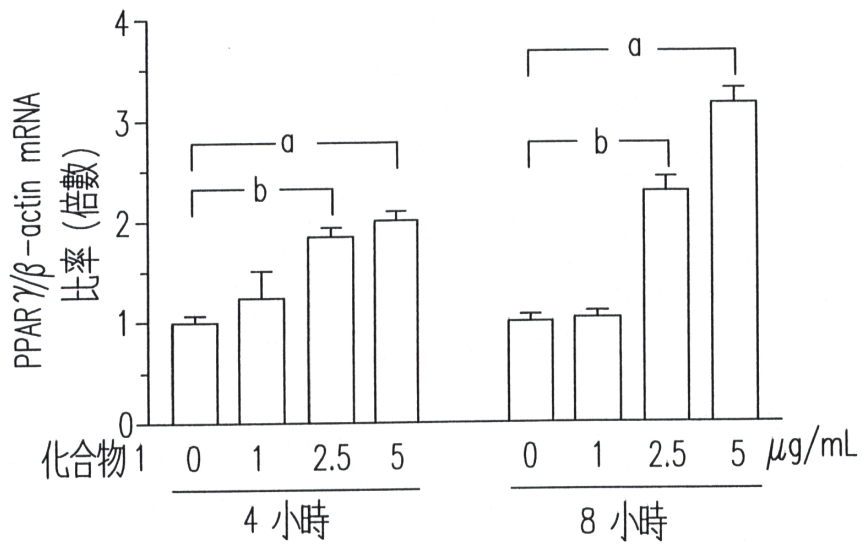


第6圖 (a)

(7)

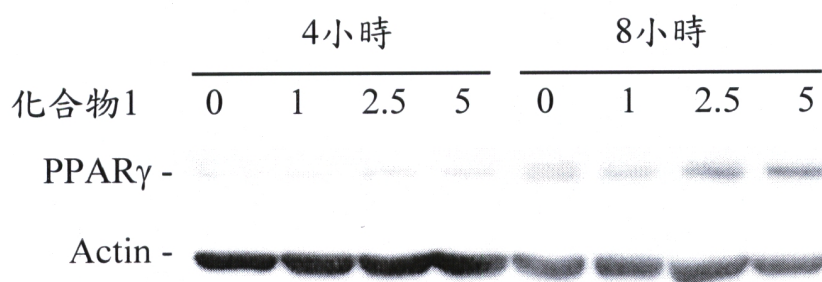


第6圖(b)

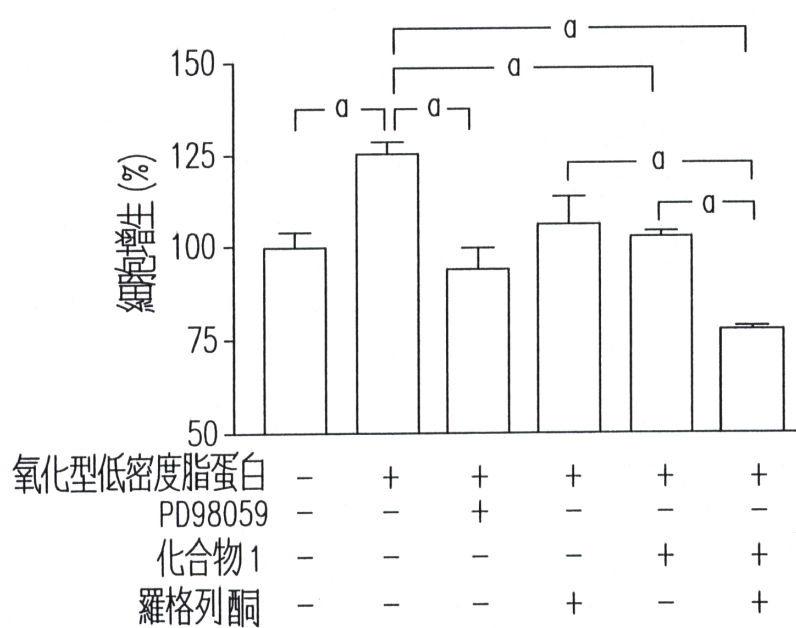


第7圖(a)

(8)

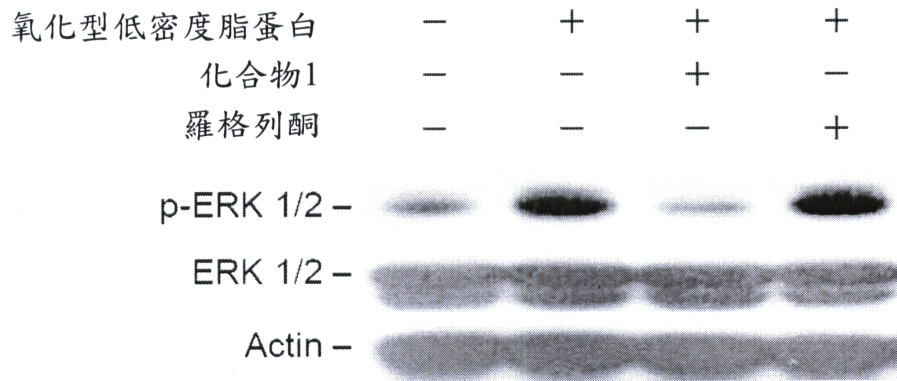


第7圖(b)

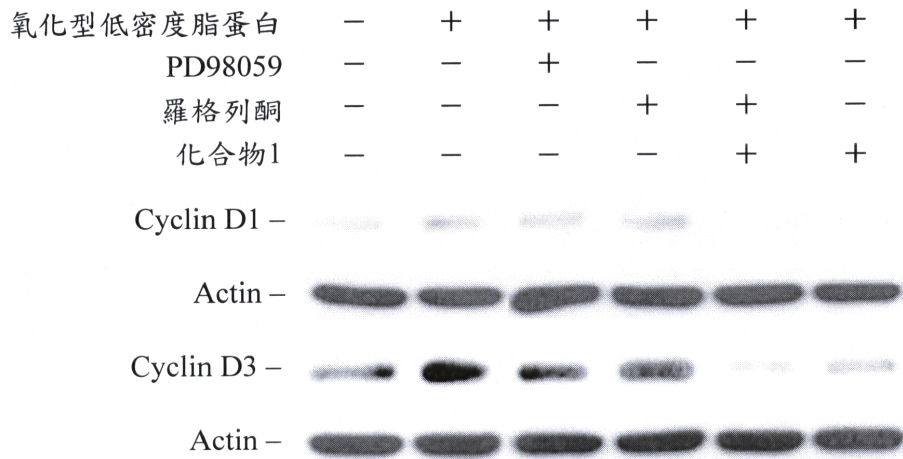


第8圖(a)

(9)

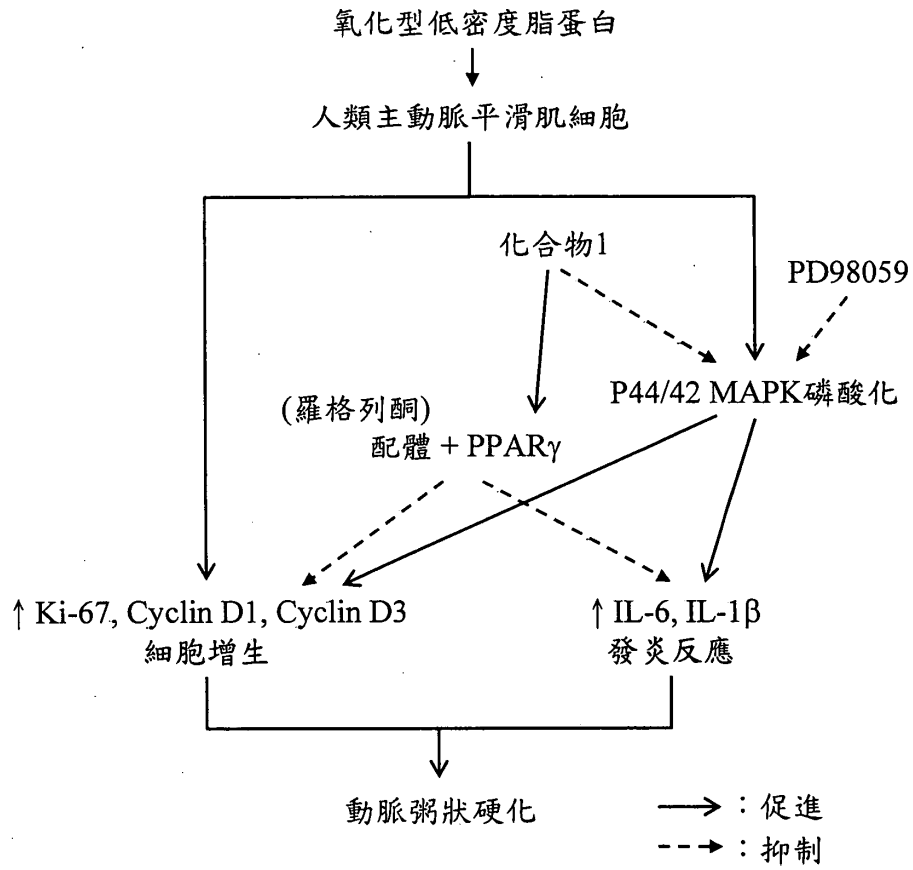


第8圖(b)



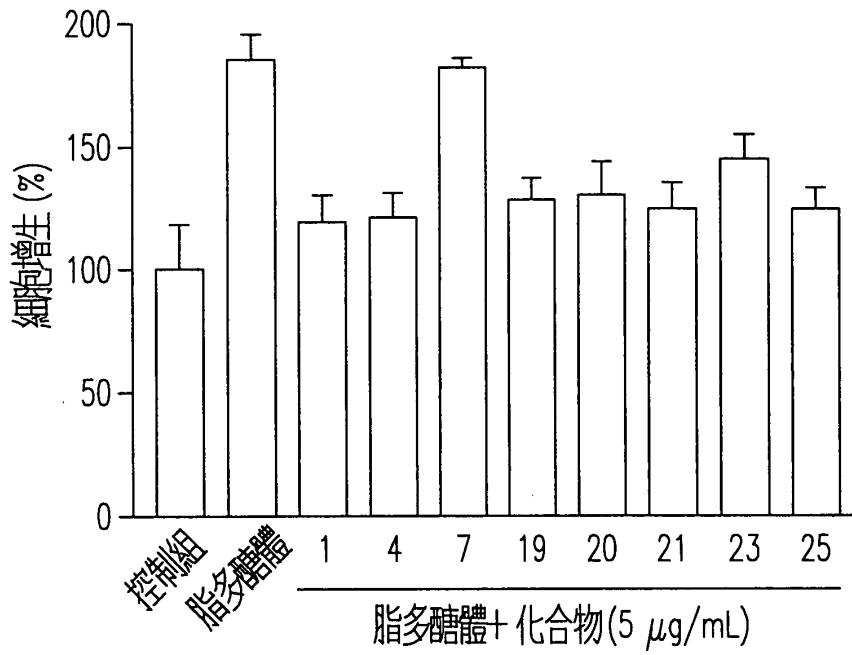
第9圖

(10)

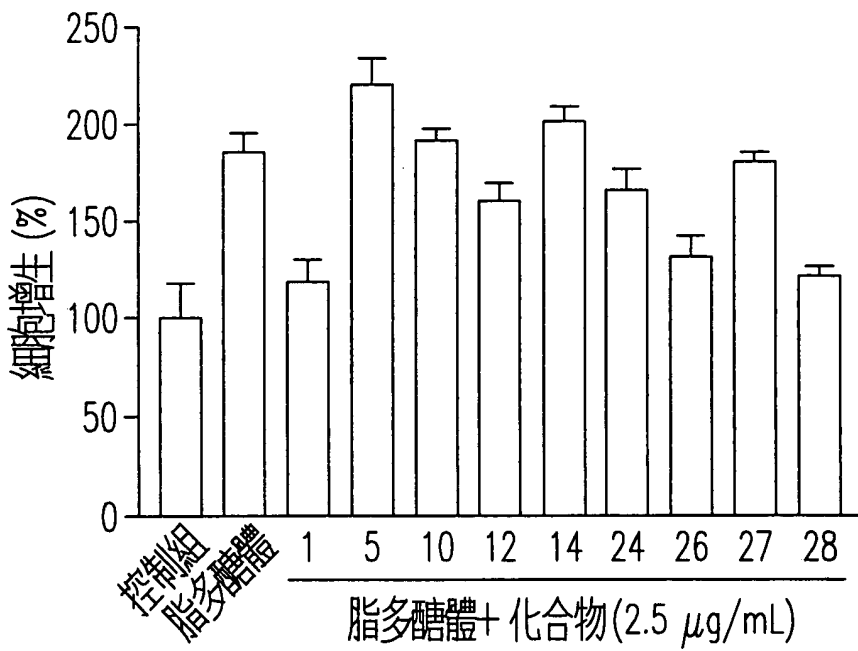


第10圖

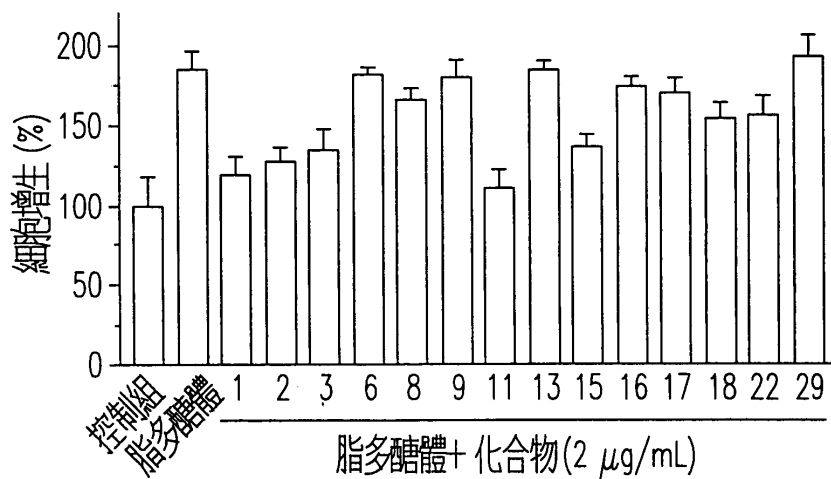
(11)



第11圖(a)



第11圖(b)



第11圖(c)