

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480019969.8

[51] Int. Cl.

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/4166 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 8 月 23 日

[11] 公开号 CN 1822836A

[22] 申请日 2004.6.28

[21] 申请号 200480019969.8

[30] 优先权

[32] 2003.7.11 [33] US [31] 60/486,678

[86] 国际申请 PCT/EP2004/006989 2004.6.28

[87] 国际公布 WO2005/004867 英 2005.1.20

[85] 进入国家阶段日期 2006.1.11

[71] 申请人 埃尔比昂股份公司

地址 德国拉德布尔

[72] 发明人 B·朗根 C·伦德费尔德特

R·多斯特 H·吕登斯 H·拉伯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘维升 李连涛

权利要求书 4 页 说明书 47 页 附图 15 页

[54] 发明名称

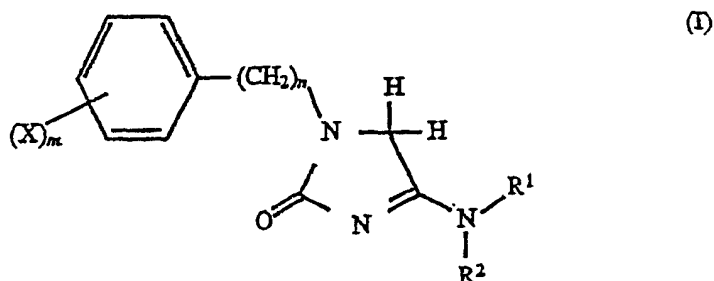
用对苯并二氮杂草受体的 $\alpha 3$ 亚基具有选择性的化合物治疗或预防中枢神经系统病症的方法

[57] 摘要

本发明涉及在 4 - 位上包含被二取代的胺基团的 1 - 芳(烷)基咪唑啉 - 2 - 酮用于治疗或预防包括抑郁、焦虑、运动失调, 并且尤其是张力障碍、和精神障碍, 并且尤其是精神分裂症和与其它精神病症有关的精神病在内的中枢神经系统病症的应用。

1. 通过给需要其的患者施用有效量至少一种式(I)的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮来治疗或预防包括精神障碍、运动失调和/或其它精神病症状有关的精神病症状在内的中枢神经系统病症的方法，

5



其中 X 是氢、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄ 烷氧基、三氟甲基、或卤素残基，R¹ 和 R² 彼此独立地是 C₁₋₄-烷基、C₃₋₁₀ 环烷基或 C₃₋₁₀ 杂烷基残基，或者 R¹ 和 R² 一起是 C₂₋₆ 亚烷基残基，其中 -CH₂- 基团任选地被氧、氮或硫代替，n 是 0 或 1，和 m 是 0 或 1 至 5 的基数。

2. 用于治疗或预防包括精神障碍、运动失调和/或其它精神病症状有关的精神病症状在内的中枢神经系统病症并且尤其是用于治疗焦虑性障碍的方法，其包括施用有效量至少一种是携带 α3 亚基的苯并二氮杂䓬受体的亚型选择性激动剂但是不作用于携带 GABA_A 受体的 α2 或 α4 亚基的受体的物质。

3. 如权利要求 2 所述的方法，其中所说的物质以高亲合力部分激动携带 α3 的受体，并且此外，以低亲合力部分激动携带 α1 和/或 α5 的受体。

4. 如权利要求 1 至 4 中任意一项所述的方法，其中施用有效量的 1-(4-氯苯基)-4-哌啶子基咪唑啉-2-酮。

5. 如权利要求 1、2 或 3 所述的方法，其中所说的式(I)的化合物被胃肠外或口服给药。

6. 如权利要求 1 中任意一项所述的方法，其中所说的式(I)化合物的给药量为 1-100 mg/kg 患者体重。

7. 如权利要求 1 至 6 中任意一项所述的方法，其中所说的中枢神经系统病症是精神病或精神病发作。

8. 如权利要求 7 所述的方法，其中所说的精神病或精神病发作

是一种类型的精神分裂症(例如妄想型、错乱型、紧张症未分化型或残余型)、双相型情感障碍如躁狂抑郁、和精神分裂症的精神病后抑郁病症。精神病发作被理解为精神分裂症样精神障碍、情感分裂性精神障碍、妄想类偏执狂性精神障碍、物质诱导的精神障碍(例如由酒精、苯丙胺、大麻、可卡因、halluzinogens、吸入剂、阿片样物质、或苯环利定诱导的);人格障碍(如边缘型人格障碍)、冲动性病症,如 maladaptive aggression; 双相型精神障碍和活动过度-冲动性注意力缺陷/活动过度(AD/HD)和滥用和成瘾(例如酒精、苯丙胺、可卡因或阿片制剂成瘾)。

5 9. 如权利要求 1 至 6 中任意一项所述的方法,其中所说的中枢
10 神经系统病症是情感障碍或情感发作。

10. 如权利要求 9 所述的方法,其中所说的情感障碍或情感发作是严重的抑郁性障碍或发作、躁狂型、混合型和轻躁狂型情感发作、具有非典型的紧张或忧郁特性的抑郁发作、具有产后发作的月经前焦虑症的抑郁发作、轻度抑郁症、创伤后、急性应激障碍、强迫症和患有进食障碍的患者。

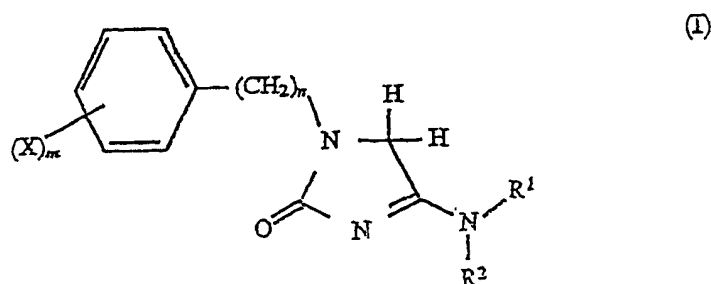
11. 如权利要求 1 至 6 中任意一项所述的方法,其中所说的中枢神经系统病症是焦虑性障碍或焦虑的发作。

12. 如权利要求 10 所述的方法,其中所说的焦虑性障碍或发作是慢性焦虑性障碍、恐慌症、广场恐怖症、特异恐怖、社交恐怖症和泛化性焦虑性障碍。

13. 如权利要求 1 至 6 中任意一项所述的方法,其中所说的中枢神经系统病症是主要与基底神经节的机能障碍有关的运动失调。

14. 如权利要求 13 所述的方法,其中所说的运动失调是张力障碍的不同亚型,如病灶性张力障碍、多病灶性或分节性张力障碍、扭转性张力障碍、大脑半球、泛化性和迟发性张力障碍(由精神药理学药物诱导的)。病灶性张力障碍包括宫颈张力障碍(斜颈)、睑痉挛(眼睑的痉挛)、四肢张力障碍(四肢的痉挛,如书写痉挛)、口下颌张力障碍和痉挛性发音困难(声带的痉挛)以及突发性张力障碍。

15. 给药于需要其的患者用于治疗或预防包括精神障碍、运动失调和/或其它精神病症有关的精神病症状在内的中枢神经系统病症的药物组合物,其包含有效量至少一种式(I)的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮



其中 X 是氢、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄ 烷氧基、三氟甲基、或卤素残基，R¹ 和 R² 彼此独立地是 C₁₋₄-烷基、C₃₋₁₀ 环烷基或 C₃₋₁₀ 杂烷基残基，或者 R¹ 和 R² 一起是 C₂₋₆ 亚烷基残基，其中 -CH₂-基团任选地被氧、氮或硫代替，n 是 0 或 1，和 m 是 0 或 1 至 5 的基数。

16. 用于治疗或预防包括精神障碍、运动失调和/或与其它精神病症有关的精神病症状在内的中枢神经系统病症的药物组合物，其包含对苯并二氮杂萘受体的 α3 亚基有选择性但是对携带 GABA_A 受体的 α2 或 α4 亚基的受体不发挥显著的积极的 GABA 增加作用的苯并二氮杂萘受体配体。

17. 如权利要求 16 所述的药物组合物，其中所说的苯并二氮杂萘配体以高亲合力部分激动携带 α3 的受体，并且此外，以低的亲合力部分激动携带 α1 和/或 α5 的受体。

18. 如权利要求 15、16 或 17 所述的药物组合物，其中所说的式 (I) 的化合物是 1-(4-氯苯基)-4-吡啶基咪唑啉-2-酮。

19. 如权利要求 15 至 18 中任意一项所述的药物组合物，其还包含可药用的赋形剂或助剂。

20. 如权利要求 15 至 19 中任意一项所述的药物组合物，其是用于胃肠外或口服给药的组合物。

21. 如权利要求 15 或 16 所述的药物组合物，其中包含 1-100 mg/kg 患者体重的数量的式 (I) 的化合物。

22. 如权利要求 15 至 21 中任意一项所述的药物组合物，其中所说的中枢神经系统病症是精神病或精神病发作。

23. 如权利要求 22 所述的药物组合物，其中所说的精神病或精神病发作是一种类型的精神分裂症(例如妄想型、错乱型、紧张症未分化型或残余型)、双相型情感障碍如躁狂抑郁、和精神分裂症的精神病后抑郁病症。精神病发作被理解为精神分裂症样精神障碍、情感分裂性

5 精神障碍、妄想类偏执狂性精神障碍、物质诱导的精神障碍(例如由酒精、苯丙胺、大麻、可卡因、halluzinogens、吸入剂、阿片样物质、或苯环利定诱导的);人格障碍(如边缘型人格障碍)、冲动性病症,如maladaptive aggression;双相型精神障碍和活动过度-冲动性注意力缺陷/活动过度(AD/HD)和滥用和成瘾(例如酒精、苯丙胺、可卡因或阿片制剂成瘾)。

24. 如权利要求 15 至 21 中任意一项所述的药物组合物,其中所说的中枢神经系统病症是情感障碍或情感发作。

10 25. 如权利要求 24 所述的药物组合物,其中所说的情感障碍或情感发作是严重的抑郁性障碍或发作、躁狂型、混合型和轻躁狂型情感发作、具有非典型的紧张或忧郁特性的抑郁发作、具有产后发作的月经前焦虑症的抑郁发作、轻度抑郁症、创伤后、急性应激障碍、强迫症和患有进食障碍的患者。

15 26. 如权利要求 15 至 21 中任意一项所述的药物组合物,其中所说的中枢神经系统病症是焦虑性障碍或焦虑的发作。

27. 如权利要求 26 所述的药物组合物,其中所说的焦虑性障碍或发作是慢性焦虑性障碍、恐慌症、广场恐怖症、特异恐怖、社交恐怖症和泛化性焦虑性障碍。

20 28. 如权利要求 15 至 21 中任意一项所述的药物组合物,其中所说的中枢神经系统病症是主要与基底神经节的机能障碍有关的运动失调。

25 29. 如权利要求 28 所述的药物组合物,其中所说的运动失调是张力障碍的不同亚型,如病灶性张力障碍、多病灶性或分节性张力障碍、扭转性张力障碍、大脑半球、泛化性和迟发性张力障碍(由精神药理学药物诱导的)。病灶性张力障碍包括宫颈张力障碍(斜颈)、眼睑痉挛(眼睑的痉挛)、四肢张力障碍(四肢的痉挛,如书写痉挛)、口下颌张力障碍和痉挛性发音困难(声带的痉挛)以及突发性张力障碍。

用对苯并二氮杂萘受体的 $\alpha 3$ 亚基具有选择性的化合物治疗或 预防中枢神经系统病症的方法

5 发明领域

本发明涉及在 4-位上包含二取代的胺基团的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮用于治疗或预防中枢神经系统病症的应用以及这些物质和是包含 $\alpha 3$ 亚基的苯并二氮杂萘受体的亚型选择配体的其它激动物的应用, 所说的中枢神经系统病症包括精神障碍并且尤其是精神分裂症、和抑郁、
10 焦虑以及张力障碍。

发明背景

中枢神经系统病症是严重损害日常生活的严重的精神障碍。例如, 世界范围内有约 1% 的人口受到精神分裂症的影响(Capuano 等人, 2002)并且大多数人是在 30 岁之前发病, 这意味着其在生命的很长时间
15 中都要接受治疗(Benes,1993)。

精神病, 尤其是精神分裂症具有各种各样的症状表现(American Psychiatric Association,1994)。可以将其症状分成两部分, 在急性发作期中, 精神分裂症主要是幻觉(对不存在的外部刺激的感官知觉)和妄想(错误的、固定的和不寻常的信念), 例如被虐狂。患者十分激动并且丧
20 失了对现实的认识。这些被称为阳性症状(Davidson 和 Neale,1988;Bailer 等人, 1999)。当该激动阶段减轻时, 所谓的阴性症状变得明显起来。这些症状包括认识缺陷、警惕性降低、言语学习和记忆力、言语流畅性、运动机能、工作记忆有缺陷以及冷淡和倦怠。患者没有自信并且焦虑(Davidson 和 Neale,1988; Bailer 等人, 1999)。

25 虽然可以获得一些抗精神病药, 但是目前对精神病的治疗不令人满意。对多巴胺 D2 受体的亲合力高的典型的抗精神病药表现出严重的运动失调和镇静的副作用(Nyberg 等人, 2002)。典型的抗精神病药中最著名的前型是氟哌啶醇并且其仍然是一线治疗药物(Capuano 等人, 2002)。因为其消极的副作用以及其可降低精神分裂症的阳性急性症状
30 但是不能降低其阴性症状的事实, 其并不能确保患者可以恢复其日常生活。

这一事实使得需要研制新型抗精神病药——所谓的非典型的抗精

神病药。其对多巴胺 D2 受体的亲合力较低并且具有更强的聚焦于 5-羟色胺受体亚型 5-HT₂ 的不同的受体亲合性(Sawa 和 Snyder,2002)。药物受体亲合性的这种变化降低了运动失调的副作用，但是其产生了诸如体重极度增加、性功能障碍、认识机能障碍和兴趣缺乏之类的副作用。作为同时改善精神分裂症的阳性和阴性症状的基准治疗被提出并避免了运动失调副作用的氯氮平表现出一种严重的可能致命的副作用——粒细胞缺乏症(Capuano 等人, 2002)。最重要的是还有许多对治疗有抵抗性的情况(Lindenmayer 等人, 2002)。

既没有充分阐明精神分裂症的诱因，又没有充分阐明抗精神病药，尤其是非典型抗精神病药的作用机理。其似乎是遗传的多基因方式，但是其也受非遗传因素的控制(Prasad 等人, 2002)。越来越多的流行病学、遗传学、和临床神经生物学迹象表明脑发育异常在精神分裂症的病理生理学中起着决定性作用(Arnold,1999)。

精神分裂症一种主要的假设是其起源于多巴胺能系统机能障碍。因此，多巴胺能药可刺激急性精神病症状(Capuano 等人, 2002)并且如上所述的那样，典型的抗精神病药如氟哌啶醇对多巴胺 D2 受体具有高亲合力(Nyberg 等人, 2002)。但是，非典型的抗精神病药的作用方式表明在精神分裂症的发展中还涉及另外的神经递质系统。作为基准抗精神病药和既可以改善精神分裂症的阳性症状又可以改善其阴性症状的唯一药物，氯氮平对多巴胺 D2 受体并没有表现出高亲合力(Gerlach,2002)。例如，在精神分裂症的病理生理学中涉及的另一种神经递质是 5-羟色胺(Sawa 和 Snyder,2002)。

在精神分裂症的发展中似乎还涉及谷氨酸能神经递质系统。因此，NMDA 拮抗剂如苯环利定和氯胺酮能刺激人和啮齿动物精神分裂症的症状(Abi-Saab 等人, 1998; Lahti 等人, 2001)。以 NMDA 拮抗剂为基础的精神病动物模型具有优于多巴胺能模型的优点，这是因为其不仅模拟了精神分裂症阳性期的激动和冲动的行为，而且还模拟了精神分裂症的阴性症状如认识缺陷。(Abi-Saab 等人, 1998; Jentsch 和 Roth,1999)。因此，可以用这种模型来对具有抗精神病药潜能的新药物进行鉴定。

虽然还完全不清楚大多数中枢神经系统病症的原因，但是发现神经递质 5-羟色胺(5-HT)在许多中枢神经系统病症中都起着重要的作

用。虽然复杂的情感状态如抑郁和焦虑不能仅仅被归纳为单一神经递质诱导的失调,但是,一般公认在抑郁和焦虑的发展中主要涉及 5-HT 神经递质系统中的缺陷(Graeff 等人, 1996)。因此,不管抑郁的各种临床形式是什么,如严重的抑郁性障碍和发作、躁狂性、混合性和轻躁狂性情绪发作、具有非典型的紧张或忧郁特性的抑郁发作、具有产后发作的月经前焦虑症的抑郁发作、轻度抑郁症、创伤后病症和急性应激障碍,抑郁患者都表现出脑脊液中 5-HT 显著降低和其中枢 5-HT 系统另外的变化(Owens and Nemeroff,1994)。虽然抑郁的基础机理的确比简单的 5-HT 水平降低或这种系统的功能降低更复杂(Delgado 和 Moreno,1999),但是通过增加脑中细胞外 5-HT 浓度的药物如选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂(SSRI)的疗效最清楚地表明了该 5-羟色胺能系统在抑郁中的参与。因此,描述了 SSRI 如氟西汀或西酞普兰可有效治疗抑郁的各种亚类,包括严重的抑郁症、强迫症、和患有进食障碍的患者(Stokes 和 Holtz,1997)。重要的是要注意到与同时不同程度升高 5-羟色胺、多巴胺和去甲肾上腺素水平并因此表现出更多的副作用的非选择性单胺吸收抑制剂相比,SSRIs 在中枢神经系统病症的治疗中视为是一种巨大的进步。

此外,通过例如 SSRIs 对脑中细胞外 5-HT 浓度的长期持续增加可降低人和动物的焦虑(Jones 等人, 2002;Stokes 和 Holtz,1997)。因此,氟西汀(一种 SSRI)可用于治疗不同的焦虑性障碍(Nutt 等人, 1999),表明增强的 5-HT 水平对恐慌症、广场恐怖症、特异恐怖、社交恐怖症和泛化性焦虑症的额外调节作用。清楚地表明该药理学作用是通过神经递质水平增加从而使得各受体的活化增加而引起的,而不是由特定阻断吸收运载体所引起的。

但是,增加脑中 5-HT 水平的化合物如 SSRIs 的抗焦虑和抗抑郁作用开始的晚是这些药物治疗益处的限制因素(Nutt 等人, 1999)。自杀倾向很高的人不可能等三周等到该治疗药物发挥其抗抑郁、抗精神病和/或抗焦虑作用。

与 SSRI 相反,苯并二氮杂䓬类物质表现出迅速开始其抗焦虑活性的性质(Costa 和 Guidotti,1996)。但是,其治疗应用的范围被限制在相对较短的时期内,这是因为会对该苯并二氮杂䓬类物质形成耐药性和有药物成瘾的风险限制了其长期应用(Costa 和 Guidotti,1996)。

因此,将两种机理即苯并二氮杂䓬类物质活性的快速开始和 SSRI 的长期功效结合到一起的治疗药物在焦虑性障碍和抑郁的治疗中将很有前景。

5 中枢神经系统病症的另一个具体实例是张力障碍。张力障碍是一种以中枢神经系统控制运动活性的机能失灵为基础的运动失调;其以前也被称为生长型精神病(psychovegetative)综合征。其特征为无意识的重复运动和部分伴有肌肉痛苦痉挛的异常姿势(Green, 1992; Friedrman 和 Standaert,2001; Hamann 和 Richter,2002)。根据张力障碍的亚型,该症状可以从病灶性张力障碍发作达到泛化性张力障碍发作。
10 还有在儿童期间从局灶性发作开始的进行形式。所有年龄的人都能受到其影响。在德国,有大约 80000 名个体患有张力障碍发作(DDG eV,2002)。

根据症状分布,可以将张力障碍分成几种亚型:病灶性张力障碍、多病灶性或分节性张力障碍、扭转性张力障碍、大脑半球、泛化和迟
15 发性张力障碍。病灶性张力障碍包括宫颈张力障碍(斜颈(torticolli))、眼睑痉挛(眼睑的痉挛)、四肢张力障碍(四肢的痉挛,如书写痉挛)、口下颌张力障碍和痉挛性发音困难(声带的痉挛)(DDG eV,2002; Friedman 和 Standaert,2001)。

目前,除一些不常见的形式外,张力障碍的治疗着重于对症治疗。
20 可以用肉毒杆菌毒素对病灶性张力障碍进行十分成功的治疗(Hsiung GY 等人, 2002)。将肉毒杆菌毒素局部给药于受影响的区域,其使得肌肉松弛数周。有规律地重复进行该治疗。该治疗的弱点是由于对抗其的抗体增加,一些患者对该毒素形成了抗药性,并且当机体的更大区域受到影响时不能使用这种物质(Dressier 等人, 2002; Hsiung 等人,
25 2002)。

分节性和泛化性张力障碍的全身药物治疗是不令人满意的。该全身药物治疗包括抗胆碱能药和巴氯芬(一种在突触前起作用的 GABAB 激动剂,据报道可有利影响张力障碍症状)(Fahn,1987; Green,1992 ;Rawicki,1999)。抗惊厥药对张力障碍的作用是不一致的:
30 苯巴比妥和拉莫三嗪似乎在张力障碍前有效,而推定加巴喷丁是抗张力障碍药(Richter 和 Loscher,1999; Richter 和 Loscher,2000; Siep 等人, 2002)。

对于严重的张力障碍而言, 手术治疗——对苍白球深部脑刺激仍然处于十分初级的研究阶段并且仅在某些类型的张力障碍中取得了成功。大多数时候需要进行另外的全身药物治疗(Krack 和 Vercueil,2001; Vercueil 等人, 2002; Klein 和 Ozelius,2002)。

- 5 还没有充分阐明张力障碍的机理。许多暗示表明其涉及基底神经节机能障碍(Gernert 等人, 2002; Herrero 等人, 2002)。推测对躯体感觉传入信息进行协调和控制其进入运动系统的机制受到了损害(Herrero 等人, 2002)。张力障碍可能是由脑外伤或中风造成的, 但是约 80% 的泛化性张力障碍是自发的并且在具有不同程度外显率的同时似乎是可遗传的(Pauls 和 Korczyn,1990)。目前在遗传基础上可以区分出 13 种不同形式的张力障碍(1-13 型张力障碍)(Klein 和 Ozelius,2002)。对于三种十分少见的泛化性张力障碍亚型例如 L-多巴响应型而言, 已经确定了一种基因突变(Thyagarajan; 2001)。

- 15 突发性张力障碍的遗传学仓鼠模型是一种为数不多的进行了清楚定义的张力障碍动物模型(Hamann 和 Richter,2002)。

- 焦虑性障碍是一种发生率日益增加的在世界范围内很流行的病症。苯并二氮杂革类物质仍然被认为是表现出迅速起效的抗焦虑活性的治疗焦虑性障碍的最有效的药物。但是, 其也表现出一些不希望出现的副作用, 如共济失调、镇静、骨骼肌松弛、乙醇和巴比妥类药物相互作用健忘症。主要问题还有有对其疗效形成耐药性和有药物滥用的可能(Costa 和 Guidotti,1996; Attack,2003)。

- 25 如上所述的那样, 用于治疗焦虑的药物类型有选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂(SSRIs)。已经明确确定了这些药物可用作抗抑郁剂, 并且其不会产生苯并二氮杂革类物质主要的副作用, 如耐药性或药物滥用, 但是其抗焦虑和抗抑郁作用起效晚是其治疗益处的限制因素(Nutt 等人, 1999)。此外, 其治疗应用受到体重增加和性机能障碍的影响, 其使得患者不得不中断治疗(Perna 等人, 2001)。苯并二氮杂革受体配体和 SSRIs 的积极作用的组合可作为理想抗焦虑药的样板。总之, 仍然十分需要理想的抗焦虑药。

- 30 一种降低与 GABA_A 受体部位的苯并二氮杂革识别位点结合的药物, 这些主要副作用即镇静作用的努力是研制对某些 GABA_A 受体亚型具有高选择性的药物(Costa 和 Guidotti,1996)。在近几年, 药理学和

遗传学研究表明受体不同的 α -亚基对苯并二氮杂茛类物质诱导的不同行为症状负责(Atack,2003)。

因此,据述包含 $\alpha 1$ -亚基的受体可调节苯并二氮杂茛类物质的镇静和抗惊厥作用(Costa 和 Guidotti,1996; Crestani 等人, 2000; Dubinsky 等人, 2002)。包含 $\alpha 5$ -亚基的 $GABA_A$ 受体在苯并二氮杂茛类物质诱导的健忘症中应当起着一定的作用,而包含 $\alpha 2$ -和 $\alpha 3$ -亚基的受体似乎对这些类化合物的抗焦虑活性负责(Costa 和 Guidotti,1996; Low 等人, 2000; Dubinsky 等人, 2002)。但是,还未能充分理解苯并二氮杂茛类物质的亚型特异性的作用并且对不同亚基的作用不断进行着争论性讨论,除不同的 α 亚基外还报道了不同的 β 和 γ 亚基以及另外的亚基并且其也有助于异质性的事实进一步将其复杂化。例如,一些结果表明苯并二氮杂茛类物质的镇静作用不仅仅是由包含 $\alpha 1$ -亚基的受体亚型调控的,而且还受另外机理的调控,并且还表明 $\alpha 1$ -亚基仅仅在共济失调中起着主要作用(Platt 等人, 2002)。Tauber 等人(2003)发现在 $\alpha 2$ -亚基-突变型小鼠中没有观察到由于同时使用地西洋和酒精而导致的正位反射的损失(与受体活性降低相结合),但是在 $\alpha 1$ -、 $\alpha 2$ -、 $\alpha 3$ -和 $\alpha 5$ -亚基-突变型小鼠中同时使用两种化合物时发现活动能力下降(镇静的迹象)。对在脑中异种表达的不同苯并二氮杂茛类受体亚型的功能缺乏了解主要是由于缺乏对不同亚型具有高亚型选择性的配体所造成的。然而,根据用具有不再能调节苯并二氮杂茛作用的受损的 α 亚基的遗传性改性的小鼠进行研究的基础上获得的上述发现,一些公司已经开始进行一些研制对 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 亚基都具有选择性同时对 $\alpha 1$ 亚基的活性降低的苯并二氮杂茛受体配体的项目。(Low 等人, 2000;Griebel 等人, 2001)。已经对很少一些该类化合物进行了描述并且其亚型选择性的程度看起来相当有限。功能选择性是通过对各受体不同程度的部分激动而获得的。例如,物质 SL651498 对包含 $\alpha 1$ 和 $\alpha 5$ 的受体表现出具有约 40-50% 部分激动活性的作用,而对包含 $\alpha 2$ 的受体具有 100% 部分激动活性,对包含 $\alpha 3$ 的受体具有 70% 的活性。无论如何,仅对需要受体高度活化的药理学作用而言,其实际上导致了功能亚型选择性。对于需要低于 50% 活化的作用而言,正如在 Griebel 等人, 2001 的论文的图 2 中所看到的那样,该类化合物将如非选择性激动剂那样起作用。该讨论仍然指出对于该类作用而言,受体需要在何种程度上被活化,

但是已经发现即使非选择性部分激动剂如 imidazenil 对患者而言也是镇静剂(Attack,2003)。因此,对于部分功能激动策略能否为不选择 $\alpha 1$ 亚基传递所需的选择性仍然有疑问。尽管这样,其它一些人也使用了相同方法(Dawson,1998; McKernan,1998)。得自该研究和 Merck 的研发项目的 NS2710 和在临床研制中的未公开的新化合物(Adis Data Information,2003; Goodacre 等人, 2002; Chambers 等人, 2001)仍然不能提供所预期的临床性质并且证明其是镇静剂并且并非没有成瘾可能(Attack,2003)。综合考虑这些结果,迄今为止在新苯并二氮杂革受体配体的研制方面没有取得重大进展,对于高亚型选择性配体而言尤其如此。此外,也是由于缺乏选择性化合物,对于不同亚基在疾病的生理学和病理生理学中所起的作用的所知仍然十分有限。

虽然对亚基 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 作用的所知甚少,但是对 $\alpha 3$ 亚基的作用所知更少, $\alpha 3$ 亚基是一种在脑中选择性分布性相当高的亚基。迄今为止,还没有获得对 $\alpha 3$ 亚基具有任何选择性的配体,所有上述药物都被设计为并且最多对 $\alpha 2$ 亚基和 $\alpha 3$ 亚基一起有几分选择性,在一定程度上对 $\alpha 1$ 亚基没有选择性。仅仅有很少一些研究是关于包含 $\alpha 3$ 亚基的受体的。在免疫细胞化学研究中, $\alpha 3$ -亚基被描述为在纹状体、隔膜和脑桥脚核的胆碱能神经元和黑质致密部的多巴胺能神经元中大量表达,而这些细胞仅表达很少量的 $\alpha 2$ -亚基(Rodriguez-Pallares 等人, 2001)。在黑质致密部的多巴胺能神经元中, $\alpha 3$ 亚基似乎主要与 $\alpha 4$ 亚基相伴($\alpha 4$ 亚基对苯并二氮杂革类物质不敏感),而没有发现 $\alpha 2$ -亚基的 mRNA(Guyon 等人, 1999)。蓝斑的去甲肾上腺素能神经元被描述为对 $\alpha 3$ -和 $\alpha 2$ -亚基有免疫反应。所有这些脑区域对 $\alpha 1$ -亚基都是无免疫性的(immunonegative)(Rodriguez-Pallares 等人, 2001)。

同样,脊中的 5-羟色胺能神经元表现出 $\alpha 3$ -亚基的高标记水平,而仅仅有很少量表达 $\alpha 2$ 亚基的神经元(Rodriguez-Pallares 等人, 2001)。因此, Gao 等人(1993)发现脊中绝大多数 5-羟色胺能神经元表现出强 $\alpha 3$ -亚基-免疫反应性,但是缺乏 $\alpha 1$ -亚基染色,而这两种亚基都存在于脊的 GABA 能神经元中。但是,所有这些研究都是标记研究,并没有对通过 $\alpha 3$ 亚基介导的药理学进行任何清楚的剖析。

当将蝇蕈醇(一种 GABA_A 激动剂)和荷包牡丹碱(一种 GABA_A 拮抗剂)局部给药于中缝背核(dorsal and medial raphe)时,在微量透析研究

中已经发现对局部和伏核细胞外 5-HT 水平有影响(Tao 和 Auerbach,2000)。这表明在 5-羟色胺能神经传递中可能涉及包含 α_3 -亚基的 GABA_A 受体。

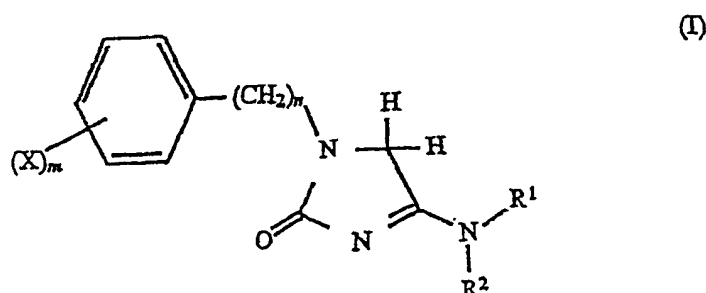
本发明的描述

5 上面的描述表明目前对包括精神障碍、抑郁、焦虑和运动失调如张力障碍在内的中枢神经系统病症进行治疗的方法和可能存在不足并且至少部分表现出严重的副作用。

因此,本发明的目的是提供治疗或预防哺乳动物该类中枢神经系统病症的进一步的可能并且尤其是提供用于人的治疗。

10 根据本发明的第一个主题,这一目的是通过一种治疗或预防中枢神经系统病症的方法而得到解决的,所说的中枢神经系统病症包括精神障碍、抑郁、焦虑和运动失调和/或其它精神病症有关的精神病症状,该方法通过给需要其的患者施用有效量的至少一种式(I)的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮,

15



其中 X 是氢、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄ 烷氧基、三氟甲基、或卤素残基, R¹ 和 R² 彼此独立地是 C₁₋₄-烷基、C₃₋₁₀ 环烷基或 C₃₋₁₀ 杂烷基残基,或者 R¹ 和 R² 一起是 C₂₋₆ 亚烷基残基,其中-CH₂-基团可任选地被氧、氮或硫代替, n 是 0 或 1, 和 m 是 0 或者 1 至 5 的基数(cardinal number)。

20

根据本发明,已经令人吃惊地发现,式 I 的化合物在治疗下面的中枢神经系统病症中具有很高的疗效:

1.精神病和精神病发作

25 不同类型的精神分裂症(例如妄想型、错乱型、紧张症未分化型或残余型)和双相型情感障碍,如躁狂抑郁和精神分裂症的精神病后抑郁病症。精神病发作被理解为精神分裂症样精神障碍、情感分裂性精神

- 障碍、妄想类偏执狂性精神障碍、物质诱导的精神障碍(例如由酒精、苯丙胺、大麻、可卡因、halluzinogens、吸入剂、阿片样物质、或苯环利定诱导的);人格障碍(如边缘型人格障碍)、冲动性病症,如 maladaptive aggression; 双相型精神障碍和活动过度-冲动性注意力缺陷/活动过度 (AD/HD)和滥用和成瘾(例如酒精、苯丙胺、可卡因或阿片制剂成瘾)。

2.情感障碍和情感发作

- 严重的抑郁性障碍和发作、躁狂型、混合型和轻躁狂型情感发作、具有非典型的紧张或忧郁特性的抑郁发作、具有产后发作的月经前焦虑症的抑郁发作、轻度抑郁症、创伤后、急性应激障碍、强迫症和患有进食障碍的患者。

3.焦虑性障碍和焦虑的发作

慢性焦虑性障碍、恐慌症、广场恐怖症、特异恐怖、社交恐怖症和泛化性焦虑性障碍。

4.主要与基底神经节机能障碍有关的运动失调:

- 不同亚型的张力障碍,如病灶性张力障碍、多病灶性或分节性张力障碍、扭转性张力障碍、大脑半球、泛化性和迟发性张力障碍(由精神药理学药物引起)。病灶性张力障碍包括宫颈张力障碍(斜颈)、眼睑痉挛(眼睑的痉挛)、四肢张力障碍(四肢的痉挛,如书写痉挛)、下颌张力障碍和痉挛性发音困难(声带的痉挛)和突发性张力障碍。

- 在 WO 97/09314 中第一次将式(I)的化合物描述为适于治疗癫痫性病症的物质。令人吃惊地是,现在发现这些物质还可有效用于治疗或预防中枢神经系统病症如上述这些病症,但是并不仅限于上述这些病症。这些化合物可用于哺乳动物的治疗,并且尤其是可用于人。

- 本发明所用化合物 CH_2 基团的数目为 0(1-芳基咪唑啉-2-酮)或 1(1-芳烷基咪唑啉-2-酮)。

式(I)化合物的实例包括:

- 1-苯基-4-吗啉基咪唑啉-2-酮,
- 1-(4-甲氧基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮,
- 1-(4-氯苯基)-4-吗啉基咪唑啉-2-酮,
- 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮,
- 1-(4-氯苯基)-4-二甲基氨基咪唑啉-2-酮,
- 1-(4-溴苯基)-4-吗啉基咪唑啉-2-酮,

- 1-(3-氯苯基)-4-吗啉基咪唑啉-2-酮,
1-(4-氯苯基)-4-六亚甲基咪唑啉-2-酮,
1-(4-甲基苯基)-4-吗啉基咪唑啉-2-酮,
1-(4-氯苯基)-4-(环己基甲基氨基)咪唑啉-2-酮,
5 1-(4-氯苯基)-4-吗啉基咪唑啉-2-酮, 和
1-苄基-4-吗啉基咪唑啉-2-酮。

本发明方法中所用的物质可以用 US 5,869,481 所述的方法来进行制备。

- 尤其优选的用作本发明药物的化合物是 1-(4-氯苯基)-4-哌啶子基咪唑啉-2-酮(ELB139; IB-命名: 1-(4-氯苯基)-4-哌啶-1-基-2,5-二氢-1H-咪唑啉-2-酮)。

至少一种式(I)的化合物并且尤其是 1-(4-氯苯基)-4-哌啶子基咪唑啉-2-酮的给药可以用精神活性药物的常规给药方式来完成。

- 这些化合物优选地是以药理学组合物的形式以每天 1-100 mg/kg 患者体重的数量被给药的。如果选择吸入或鼻内给药, 则给药的优选数量为 0.05 至 5mg/kg 患者体重。对用于精神分裂症和其它精神障碍治疗框架内的应用而言, 更优选的给药量为 2 至 70 mg/kg 体重并且在张力障碍的治疗框架内尤其优选的数量为 5-50 mg/kg 体重, 更优选的给药量为 1-20 mg/kg 体重, 并且尤其优选地是 5 至 15 mg/kg 体重。

- 20 在一个优选的实施方案中, 这些化合物被口服给药或者以适宜胃肠外制剂的形式被注射给药、可以被吸入给药、鼻内给药或者以栓剂形式进行给药。

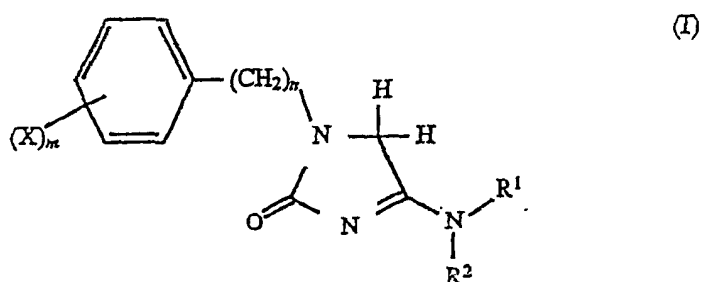
- 此外, 这些化合物优选地与常规药用载体、赋形剂或助剂联用。在本发明的框架内, 应用形式并不关键, 只要其能确保活性成分被充分吸收即可。

- 25 此外, 这些化合物可以以唯一治疗的形式用于所述的疾病和疾病状态, 或者可以与用于治疗所说疾病或疾病状态的其它化合物联用。这种组合可以用各药物独立给药的形式被共同给药, 或者可以以混有常用药用赋形剂或助剂的固定组合的形式进行给药。在本发明的框架内, 该组合应用形式并不关键, 只要其能确保活性成分被充分吸收即可。

所附的 1-芳(烷)基-咪唑啉-2-酮根据本发明的应用的实例清楚地证

明了当治疗精神疾病时本发明的方法十分有效并且实际上没有观察到副作用。本发明所用的化合物可以被十分良好地耐受并且易于被制备成用于治疗或预防应用的组合物。

因此，本发明的另一个主题是一种用于治疗或预防需要进行治疗或预防的患者的中枢神经系统病症的药物组合物，其包含有效量至少一种式(I)的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮：



其中 X 是氢、C₁₋₄-烷基、C₁₋₄ 烷氧基、三氟甲基、或卤素残基，R¹ 和 R² 彼此独立地是 C₁₋₄-烷基、C₃₋₁₀ 环烷基或 C₃₋₁₀ 杂烷基残基，或者 R¹ 和 R² 一起是 C₂₋₆ 亚烷基残基，其中 -CH₂- 基团任选地被氧、氮或硫所代替，n 是 0 或 1，和 m 是 0 或 1 至 5 的基数。

该药物组合物最优选地包含作为活性剂的 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮(ELB 139)。

本发明的药物组合物还包含适宜的赋形剂、助剂或填充剂和/或物质，其必需或有利地用于适于应用形式的制剂。本发明的药物组合物优选地以 1-100mg/kg 患者体重的数量包含活性成分并且被用于经口或胃肠外给药(例如被静脉内、肌内或皮下给药)。

根据所需的应用，该组合物所包含活性成分的数量更优选地分别为 25 至 70 mg/kg 体重或 5 至 15 mg/kg 体重。

根据本发明的另一个主题，其目的是通过提供一种治疗或预防包括精神障碍、运动失调和/或其它精神病症有关的精神病症状在内的中枢神经系统病症并且尤其是治疗焦虑性障碍的方法而被解决的。所说的方法包括施用有效量的至少一种是携带 α₃ 亚基的苯并二氮杂革类受体的亚型选择性激动剂的物质。但是，其不会活化携带 GABA 受体的 α₂ 和/或 α₄ 亚基的受体，即不管是是否与这种受体结合，其不会对携带 GABA 受体的 α₂ 和/或 α₄ 亚基的受体发挥显著正性的 GABA 增

加作用。

预期对该苯并二氮杂革受体的 $\alpha 3$ 亚基有选择性的苯并二氮杂革受体配体可有效治疗上述的 CNS 疾病。

根据本发明，选择性被定义为如在本文的实施例和方法部分所表现出来的那样，在激发最大 GABA 加强响应的 50% 响应所需浓度下至少 20 倍的差异，即在 EC50 方面具有至少 20 倍的差异。选择性还可被定义为如果将该结合转换成对各受体亚型的功能激动作用则在结合亲合力方面具有至少 20 倍的差异(用标准结合实验操作进行测定时亲合力至少高 20 倍)。尤其优选的是对携带 $\alpha 3$ 亚基 GABA 受体的受体具有亚型选择性的化合物。还优选不管其与携带 GABA 受体的 $\alpha 2$ 和 $\alpha 4$ 亚基的受体结合与否，其对这种受体一点也没有活性的 $\alpha 3$ 亚型选择性化合物(其不发挥显著正性的 GABA 增加作用)。尤其优选的还有如果发挥上述特性并且除作为携带 $\alpha 3$ 亚基的 GABA 受体的部分激动剂外和除作为低亲合力激动剂或部分激动剂(在亲合力方面具有至少 20 倍的差距)外，又尤其优选是部分激动剂，对 $\alpha 1$ 和/或 $\alpha 5$ 亚基具有低亲合力的该类化合物。上面所定义的式(I)的 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮化合物是表现出所需选择性的化合物。符合上面所定义的选择性标准的尤其优选的化合物的实例是 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮(ELB139)。

出乎意料地发现 ELB139 和本发明所包含的其它物质可作为携带 $\alpha 3$ 亚基的受体上的苯并二氮杂革受体的十分好的亚型选择性激动剂。对这些受体作用的性质是部分激动性，其表明这些化合物并且尤其是 ELB139 可作为携带 $\alpha 3$ 亚基的受体的亚型选择性部分激动剂。这些化合物并且尤其是 ELB139 还可作用于携带 $\alpha 1$ 或 $\alpha 5$ 亚基的受体，但是与 $\alpha 3$ 亚基相比，其在比与 $\alpha 3$ 亚基相作用的浓度高 20 倍以上的浓度下才能作用于这些亚基。此外，还发现这些化合物出乎意料地对包含 $\alpha 2$ 亚基的受体根本没有作用。与其它苯并二氮杂革类物质一样，ELB139 也不会作用于携带 $\alpha 4$ 亚基的受体。因此，ELB139 可作为活化包含 $\alpha 3$ 受体的亚基选择性化合物并且对包含 $\alpha 1$ 和 5 的受体的功效比对包含 $\alpha 3$ 的受体的功效低 20 倍以上和不选择包含 $\alpha 2$ 和 4 的受体。在对 ELB139 表现出敏感性的所有受体上，与地西洋(其是部分激动性的象征)相比，该化合物对 GABA 诱导的电流表现出较弱的加强作用。在这一方面，如果与作为阳性对照化合物的地西洋在 1 至 10 μM 的超最大浓度

下所诱导的最大作用相比，如果在最高试验浓度下 GABA 诱导作用的最大加强作用较低，则可得出具有部分激动活性的结论。相对部分激动的范围为 50 至 70%。由于对 $\alpha 3$ 亚基有选择性的本发明化合物并且尤其是 ELB139 的亚型选择性，可以用这些化合物对 $\alpha 3$ 亚基在生理学
5 和药理学方面的作用进行评估。发现 ELB139 可诱导大鼠脑中 5-羟色胺水平的增加，但是，起先并不清楚这种作用的机理。为了进一步阐明这种作用，对这种作用是否与 5-羟色胺运载体的作用有关进行了试验，即对限制这种运载体功能并因此而产生了 5-羟色胺的增加的药物（选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂，SSRIs）的机理或者现在已知的与 $\alpha 3$
10 苯并二氮杂萘受体的选择性相互作用进行了试验。本发明的化合物并且尤其是 ELB139 对突触小体制剂中 5-羟色胺的吸收没有作用。另一方面，通过施用可阻断苯并二氮杂萘类物质与包括 $\alpha 3$ 亚基上的一种受体在内的所有苯并二氮杂萘敏感受体的相互作用的特定的苯并二氮杂萘受体阻滞剂氟马西尼可以完全阻断并且甚至逆转 ELB139 对细胞外
15 5-羟色胺水平的作用。由于亚型选择性，这些数据清楚地和出乎意料地表明 ELB139 对血清素能系统的作用是由 $\alpha 3$ 亚基上的苯并二氮杂萘受体介导的。据报道，既使在相似试验中被给药，地西洋对 5-羟色胺水平也没有作用，这表明仅亚基选择性化合物才可以发挥这种作用。因此，在这些数据的基础上，现在得出了对于涉及血清素能系统功能降
20 低的疾病或者对于其中需要增加血清素能系统功能的疾病如包括抑郁和焦虑在内的情感障碍而言， $\alpha 3$ 亚基是独特和新的目标。

在第二种方法中，对施用氟马西尼是否可以逆转不是典型的苯并二氮杂萘类物质的 ELB139 的精神药理学行为作用进行了试验。可以容易地将该抗抑郁作用与脑中的 5-羟色胺水平增加连接起来。所有增
25 加 5-羟色胺水平的药物都会发挥抗抑郁作用，所说的药物包括如氟西汀（一种 SSRI 类药物）之类的药物。因为施用氟马西尼可以防止 5-羟色胺的增加，所以最适宜地对抗精神病作用进行选择以对 $\alpha 3$ 亚基在 ELB139 的精神药理学性质中的作用进行评估。已知对 $\alpha 3$ 亚基没有选择性的苯并二氮杂萘类物质不能发挥抗精神病作用。如果将氟马西尼
30 与 ELB139 联合给药，则 ELB139 的抗精神病作用出乎意料地被拮抗。这些数据表明 $\alpha 3$ 亚基不仅是上述涉及血清素能系统的疾病的理想目标，而且还是其它 CNS 疾病如精神病的理想目标。此外，这些结果表

明 ELB139 和对包含 $\alpha 3$ 亚基的受体具有选择性的其它物质是有效的抗焦虑剂、抗张力障碍药和抗惊厥剂。这种广谱活性和亚型选择性以及所讨论的除 $\alpha 3$ 亚基外其它亚基与不同疾病的联系形成了对照。例如, 虽然迄今为止, 抗惊厥剂活性主要与 $\alpha 1$ 亚基有关, 但是尽管 ELB139 对 $\alpha 1$ 亚基的亲合力低, 但是其可作为一种十分有效的抗焦虑剂。同样, $\alpha 2$ 亚基被看成主要对抗焦虑作用负责, 并且 $\alpha 3$ 亚基对焦虑的作用只有附加贡献。但是, ELB139 根本不作用于 $\alpha 2$ 亚基, 其选择 $\alpha 3$ 亚基。这些数据进一步表明 $\alpha 3$ 亚基和 $\alpha 3$ 亚基上的苯并二氮杂革受体是治疗包括焦虑和癫痫症在内的这些疾病的理想目标。

总之, 这些数据, 即在精神病、抑郁、张力障碍、癫痫症和焦虑模型中的体内作用以及对象征抗抑郁活性的 5-羟色胺水平的作用和亚型选择活性一起展示了预期对苯并二氮杂革受体的 $\alpha 3$ 亚基有选择性的所有苯并二氮杂革受体配体可能对上述 CNS 疾病有效的潜在可能。

因此, 本发明的另一个主题是包含对苯并二氮杂革受体的 $\alpha 3$ 亚基有选择性的苯并二氮杂革受体配体的药物组合物。可以用公认和进行了充分描述的筛选系统容易地探测对 $\alpha 3$ 亚基具有高选择性的该类物质。该类系统可包含受体结合试验作为首要步骤, 但是可以使用以包含各 GABA 受体亚基的膜部分为基础的结合试验。该类制剂可以由在稳定的瞬时转染后表达和装配功能性 GABA 受体配合体(包含进行研究的 α 亚基, 即 $\alpha 1$ 、2、3、4、或 5 和一种 β 亚基(优选 $\beta 2$ 亚基)和一种 γ 亚基(优选 $\gamma 2$ 亚基)的细胞系获得。GABA 受体亚型的不同来源可得自表达不同亚基的重组蛋白的表达系统。该类表达系统可以是细菌、酵母菌或真核细胞。用该类结合试验可以容易地确定对 $\alpha 3$ 亚基具有高亲合力和对 $\alpha 3$ 亚基的选择性高于对包含 $\alpha 1$ 、2、4 或 5 亚基的其它 GABA 受体的选择性的化合物。放射性配体可以是 3(H)-氟硝西洋或其它进行了充分描述的对各 GABA 亚基没有选择性的放射性配体。

因为苯并二氮杂革受体配体可以作为激动剂、中性配体(拮抗剂)和反相激动剂, 所以需要功能性试验来确定其是激动剂还是部分激动剂。因为激动剂以及拮抗剂和反相激动剂对蝇蕈醇的结合特性具有不同的影响, 所以该类试验可以是进行了修改的用 3(H)-蝇蕈醇的结合作为读数的结合试验。

用于确定苯并二氮杂革配体的内在活性的另一种不同的功能性试

验是以电生理学技术为基础的，其使用爪蟾卵作为表达系统或者使用进行了转染的细胞系如用如其它地方所述的各 α 、 β 和 γ 亚基进行了转染的 CHO 细胞。另一种功能性试验可以以与 GABA 和被试验化合物进行接触的转染细胞系为基础，但是用膜电位作为受体相互作用的读数器。该类逐步筛选法的结果是得到一种对 $\alpha 3$ 亚基具有高选择性和可

5 作为 $\alpha 3$ 亚基的完全或部分激动剂的化合物。

该类受体配体化合物还可以作为对包含 $\alpha 1$ 和 5 的 GABA 受体的亲合力比对包含 $\alpha 3$ 的 GABA 受体的亲合力低至少 20 倍的部分激动剂。该类药物组合物优选地包含表现出所需选择性的上面所定义的式 I 的

10 1-芳(烷)基咪唑啉-2-酮。该类药物组合物优选地包含化合物 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮(ELB139)。此外，其可能并且有时建议该药物组合物还包含赋形剂或助剂并且该组合物可以被制备成用于胃肠外或口服给药的组合物。如上所述的那样，已经发现 1-100mg/kg 患者体重的剂量是活性化合物的有效剂量。对于精神分裂症和其它精神疾病

15 的治疗而言，该药物组合物中的剂量还优选地为 2 至 70 mg/kg 体重或 5 至 50 mg/kg 体重，对于张力障碍的治疗而言，该组合物中的剂量优选地为 1 至 20 mg/kg 或 5 至 15mg/kg 体重。

该类药物组合物可用于治疗中枢神经系统病症并且如上面更详细描述的那样，优选地用于治疗精神病、抑郁、张力障碍、癫痫症和焦虑

20 虑。

还声称包括 ELB139 在内的该类化合物或组合物可对目前不能用可获得的苯并二氮杂䓬受体配体进行治疗的 CNS 病症即抑郁、精神病、张力障碍和相关的 CNS 疾病，特别是包括抑郁在内的可以用对脑内 5-羟色胺水平发挥作用的化合物进行治疗的疾病发挥选择性的积极作用。声称该类化合物还可以对目前可以用苯并二氮杂䓬受体配体进行治疗的疾病发挥作用，但是其更好地降低了苯并二氮杂䓬受体配体的健忘、镇静、催眠、诱导成瘾、肌肉松弛、和 CNS-抑制作用的副作用以及形成的耐药性。该类疾病包括焦虑性障碍、癫痫症、睡眠障碍、和对苯并二氮杂䓬治疗有响应的其它疾病。

30 用下面的实施例和附图进一步对本发明进行解释：

这些图表示：

图 1：在用雌性大鼠进行试验前 10 分钟通过腹膜内给予 0.2 mg/kg

MK-801 所激发的活性、前进的总距离、刻板地用力嗅(stereotyped sniffing)、其它刻板症(stereotypies)和共济失调。

在试验前 1 小时, 将氟哌啶醇腹膜内给药和将 E131-00139 经口给药。*与对照相比的显著性 $p < 0.05$, ** 与对照相比的显著性 $p < 0.01$,
5 ***与对照相比的显著性 $p < 0.001$, #彼此有显著差异 $p < 0.05$ 。

图 2: E131-00139 的抗张力障碍活性

在较低剂量下, 即在 5 mg/kg 下腹膜内给药, 仍然存在显著的抗张力障碍活性。

图 3: E131-00139 对大鼠纹状体中 5-HT 释放的影响

10 将 E131-00139 以 30 mg/kg 的剂量腹膜内给药。将数据表示为 5-HT 基准水平平均值的百分比(平均 SEM); * = 与 tylose 相比的显著性, $p < 0.05$ 。

图 4: E131-00139 对大鼠纹状体中多巴胺释放的影响

15 将 E131-00139 以 30 mg/kg 的剂量腹膜内给药。将数据表示为多巴胺基准水平平均值的百分比(平均 SEM); * = 与 tylose 相比的显著性, $p < 0.05$ 。

图 5: 表达重组大鼠 $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2(i=1-5)$ GABA_A 受体的 HEK 293 细胞的全细胞记录。将电流归一化成不存在所有不同药物情况下所用 GABA 的浓度。将浓度渐增的地西洋($\blacktriangle$)、地西洋 + 10 μ M Ro15-
20 1788($\triangle$)、E131-139($\blacksquare$)、或 E131-139 + 10 μ M Ro15-1788($\square$)与约 EC₂₀ 浓度的 GABA 一起进行应用。误差棒表示 4 种细胞各自均值的标准偏差($\pm$ SEM)。

图 6: 与用基质处理的对照相比, ELB139(= E131-00139, 10+30 mg/kg)对强迫游泳试验中的大鼠静止所花费的时间、游泳的持续时间
25 和试图爬出来的时间跨度的影响。(* $p < 0.05$, 单因素 ANOVA, 然后 Holm-Sidak 法)。将数据表示为均值 $\pm$ SEM(n=10)。

图 7: 与用基质处理的对照相比, 氟西汀(10+30 mg/kg)对强迫游泳试验中的大鼠静止所花费的时间、游泳的持续时间和试图爬出来的时间跨度的影响。(* $p < 0.05$, 单因素 ANOVA, 然后 Holm-Sidak 法)。将
30 数据表示为均值 $\pm$ SEM(n=10)。

图 8: 氟哌啶醇对雌性大鼠与 MK-801-诱导的精神病有关的行为的影响

表示了两个独立的试验。当被单独给药时，在试验前 60 分钟将氟哌啶醇(H)以 0.5 mg/kg 的剂量腹膜内给药和当与氟马西尼联合给药(F)时在给药前 30 分钟将氟哌啶醇以 0.5 mg/kg 的剂量腹膜内给药。在试验前 20 分钟将氟马西尼以 5 mg/kg 的剂量腹膜内给药。在试验前 10 分钟，将 MK-801 以 0.1 mg/kg 的剂量腹膜内给药。将数据表示为均值 ± SEM。与对照(C)相比的显著性：* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ 。

图 9: ELB139 对雌性大鼠与 MK-801-诱导的精神病有关的行为的影响以及氟马西尼对其的可逆性

在试验前 1 小时，将 ELB139 以 30mg/kg 的剂量口服给药。在试验前 20 分钟，将氟马西尼以 5 mg/kg 的剂量腹膜内给药。在试验前 10 分钟以 0.1mg/kg 的剂量腹膜内给予 MK-801。将对 MK-801-诱导的刻板地用力嗅、其它刻板症和共济失调的影响表示为均值 ± SEM。与对照相比的显著性：* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ ；与 ELB139 组相比的显著性：# $p < 0.05$ 。

图 10a: ELB139 对雌性大与 MK-801-诱导的精神病有关的行为的影响以及氟马西尼对其的可逆性

在试验前 1 小时，将 ELB139 以 30 mg/kg 的剂量口服给药。在试验前 20 分钟，将氟马西尼以 5 mg/kg 的剂量腹膜内给药。在给药前 10 分钟，以 0.1 mg/kg 的剂量腹膜内给予 MK-801。将对 MK-801-增加的活性和前进距离的影响表示为均值 ± SEM。与对照相比的显著性：* $p < 0.05$ ；与 ELB139 组相比的显著性：# $p < 0.05$ 。

图 10b: ELB139 对雌性大鼠与 MK-801-诱导的精神病有关的行为的影响以及氟马西尼对其的可逆性

在试验前 1 小时，将 ELB139 以 30 mg/kg 的剂量口服给药。在试验前 20 分钟，将氟马西尼以 5 mg/kg 的剂量腹膜内给药。在试验前 10 分钟，以 0.1 mg/kg 的剂量腹膜内给予 MK-801。以 5-分钟的时间间隔将对 MK-801-增加的活性和前进距离的影响表示为均值 ± SEM。与对照相比的显著性：* $p < 0.05$ ；与 ELB139 组相比的显著性：# $p < 0.05$ 。

实施例

1.精神障碍的治疗

1.1.动物

该试验使用重 150 至 180 g 的雌性 Wistar 大鼠(Crl:

(WI)BR,Charles River,Sulzfeld,德国)。将其以每组 5 只的数量在 12 小时光/暗循环(在 0600 h 开灯)下在标准条件下饲养,使其自由进食食物(Pellets,ssniff M/R 15,Spezialdiät GmbH,Soest/Westfalen)和水。

1.2.化学药品

- 5 E131-00139 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮, MW 277.75)由 elbion AG 制备。氟哌啶醇(4-(4-[4-氯苯基]-4-羟基-1-哌啶基)-1-(4-氯苯基)-1-nutanone,MW 375,9)得自 ratiopharm GmbH, Ulm, 德国, MK-801(地佐环平,MW 337.37)得自 Tocris, 由 Biotrend Chemikalien GmbH,Köln,德国分销。所用的所有其它化学品都得自 Sigma-Aldrich
- 10 Chemie GmbH,德国或得自 Merck,德国。

1.3.给药时间表/剂量

应用体积: 0.5 ml/100g

物质	动物数 [n]	剂量 [mg/kg]	预处理 [min]	应用次数 [n]	给药途径
MK-801	17	0.2	10	1	腹膜内
E131-00139	6	30,60	60	1	经口
氟哌啶醇	10	0.5	60	1	腹膜内

1.4.化合物的制备:

- 15 将 E131-00139 新混悬于 0.5 % 羟乙基纤维素中从而使得各物质和剂量达到 0.5 ml/100 g 的给药体积。用盐水对氟哌啶醇注射液进行稀释从而达到 0.5 ml/100g 的给药体积。在给药操作之前和期间将该混悬液放置在磁力搅拌器上。将羟乙基纤维素溶解于蒸馏水中。

1.5.实验操作

- 20 NMDA 拮抗剂 MK-801 诱导的行为通常被看成精神病的大鼠模型。在给药后, MK-801 在大鼠体内诱导了刻板症、活动过度和共济失调。

- 25 用 MotiTest Apparatus(TSE,Bad Homburg,德国)记录大鼠的活动能力。试验区域由具有保护性有机玻璃墙(20 cm 高)的正方形舞台(45(45 cm)所组成,大鼠在其中自由活动。用沿着该舞台各壁底部排列的 32 根红外光电管记录其水平活动。用在地板上面 12 cm 水平成行排列的 32 根红外光电管记录其垂直活动(直立)。用计算机程序“ActiMot”(TSE,Bad Homburg,德国)对下面的参数进行测量:

活动时间[s]和前进的总距离[m]

每隔五分钟，由实验人员根据 Andiné 等人(1999)所述的方法对被分成刻板地用力嗅和其它刻板症的刻板症以及共济失调进行评分，对其评价 1 小时(12 个时间间隔)。对于各参数而言，将这 12 个间隔的得分相加。

得分	刻板地用力嗅	其它刻板症	共济失调
0	没有刻板地用力嗅	没有其它刻板症	正常的身体控制
1	不连续地用力嗅(不嗅的时间间隔>5 秒)	不连续的刻板症(无刻板症的时间间隔>5 秒)	在运动时有跌倒的倾向
2	连续用力嗅	连续的刻板症	在运动时跌倒
3	-	-	几乎不能移动

在实验当天，将雌性大鼠放到实验室中并使其在试验前的适宜时间接受试验化合物、参照物质或赋形物。在试验前 10 分钟，将 MK-801 以 0.2 mg/kg 的剂量腹膜内给药。

在该试验开始时，将这些大鼠放到该 MotiTest 装置正方形舞台的中央。对大鼠的行为记录一小时。其后，将各动物取出并对这些盒子仔细进行清理和干燥。

1.6.统计学

用单因素方差分析(ANOVA)对这些结果进行分析。使用 Tukey 检验用于各比较。认为 $P<0.05$ 具有显著差异。

1.7.结果

该试验的结果如图 1 所示。如 Andiné 等人(1999)所述的那样，氟哌啶醇显著降低了 MK-801 所诱导的所有症状[$p < 0.001$]。

以 30 mg/kg 的剂量经口给药的 E131-00139 显著逆转了 MK-801 诱导的刻板地用力嗅、其它刻板症和共济失调并且显著降低了 MK-801 所增加的前进的总距离。在这种剂量下，其不会降低 MK-801-激发的活性。

以 60 mg/kg 的剂量经口给药的 E0131-00139 显著降低了 MK-801 诱导的所有参数。

剂量依赖性地降低了其刻板地用力嗅的情况[$p < 0.05$]。

2.张力障碍的治疗

2.1.动物

用雄性和雌性 dt^{SZ} 突变型 Syrian 金仓鼠(其是如之前详细描述 (Fredow 和 Loscher,1991)的那样通过选择性育种获得的)来进行实验。

5 将其以每组三至五只的数量在 12 小时光/暗循环(在 0600 h 时开灯)下在标准条件下饲养,使其自由进食食物 (Altromin1320 标准饮食,Altromin,Lage,德国)和水。

2.2 化学药品

10 E131-00139 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮,MW 277.75)是由 elbion AG 制造的。所用的所有其它化学品都来自 Sigma-Aldrich Chemie GmbH,德国或得自 Merck,德国。

2.3.给药时间表/剂量

应用体积:0.2 ml/20g

物质	动物数 [n]	剂量 [mg/kg]	给药后的 观察时间 [min]	应用次数 [n]	给药途径
E131-00139	8	5	180	1	腹膜内
E131-00139	8	10	180	1	腹膜内

15 2.4.化合物的制备

将 E131-00139 新混悬于 0.5 % 羟乙基纤维素中从而使得各物质和剂量达到 0.2 ml/20 g 的给药体积。在给药操作之前和期间将该混悬液放置在磁力搅拌器上。将羟乙基纤维素溶解于蒸馏水中。

2.5.实验操作

20 为了诱导张力障碍发作,在仓鼠的敏感性最大时进行药物试验,即在 30 至 40 天大时进行药物试验。用三联刺激技术来诱导张力障碍发作:将仓鼠从其居住的笼子中取出并将其放到天平上(以确定其体重),然后给其腹膜内注射生理盐水(对照)或药物,并立即将其单独放置到新的空塑料笼子中。在将该仓鼠放到该新塑料笼子中后几分钟内
25 张力障碍发作开始。在这个笼子中对动物观察 3 小时,并且在 0-1 小时、1-2 小时和 2-3 小时的时期内如下那样对张力障碍性运动的严重性进行评估,始终对观察期内达到的最大状态进行评价:

- 第 1 阶段 在行走的同时牵拉着耳朵(flattened ears)并且为展平姿态(flattened posture)
- 第 2 阶段 面部扭曲, 前肢交叉耸起, 前爪放置迟钝情况下的步态混乱
- 5 第 3 阶段 后肢僵硬, 从而使得动物在辨距障碍性步态过大中表现出踮着脚尖走路
- 第 4 阶段 丧失平衡
- 第 5 阶段 后肢在尾侧过分延伸, 动物用有功能的前肢继续拖拉它自己
- 10 第 6 阶段 动物以扭曲、隆起的姿态的静止, 两个后肢和前肢都强直性向前延展, 尾巴竖起(Starub-状), 单侧前肢交替举起, 头摇晃, 和角弓反张

最后的一个阶段持续二至五小时, 但是其后迅速恢复。在所描述的整个顺序中, 所有突变型仓鼠都不前进; 在 40-170 分钟后通常达到个体的最大状态。

2.6.统计学

用 Friedman 检验, 然后用 Wilcoxon 检验对结果进行分析。认为 $P < 0.05$ 具有显著意义。

2.7.结果

- 20 在给予赋形物(腹膜内给药)后以及在进行上述三联刺激操作后, 对 32-33 天大的第一组动物($n=8$)的张力障碍发作的出现和严重程度进行试验。在两或三天后, 给相同的动物腹膜内注射 E131-00139, 并再对其观察 3 小时和再过 2-3 天后, 在给予赋形物后重新对这些动物进行试验, 将其作为给药后的对照。这种试验的结果如图 2 所示。在该图中,
- 25 分别表示了三组三条棒的堆叠。第一组堆叠物表示给药后开始观察的第一小时, 第二组棒的堆叠表示观察的第二小时和第三组堆叠表示第三小时。

在各堆叠中显示了三条棒。第一条(空心)棒表示在药物试验前 2-3 天记录的动物的对照响应, 黑色的棒表示在给药后得到的结果, 和第三条(灰色的)棒表示在给药后 2-3 天进行试验的给药后的对照。用给药前和给药后的试验来排除对于张力障碍发作的诱导而言, 仅仅由于其诱导敏感性依赖年龄而降低而产生的状态严重程度降低。

在目前的实验中，E131-00139 表现出有效的抗张力障碍作用。在试验剂量下，即在腹膜内给药，10 mg/kg 的剂量下，这些化合物可以被良好耐受并且没有观察到镇静作用。在整个观察期内，张力障碍发作的严重程度被显著降低，这表明了其作用的长期持续性。剩余的症

5 状，即 2.3 至 2.4 的平均阶段是在该实验开始后的几分钟内出现的，即 E131-00139 在血浆中没有出现或其血浆浓度水平很小时出现的。

3.抗焦虑和抗抑郁活性

为了进一步对 E131-00139 进行鉴定，用微量透析对该化合物进行研究。测定了纹状体中两种神经递质—5-羟色胺(5-HT)和多巴胺的细胞

10 外浓度。

3.1.动物

该试验使用重 200 至 260 g 的雄性 Wistar 大鼠 (Cri :(W)BR,Charles River,Sulzfeld,德国)。将其以每组 5 只的数量在 12 小时光/暗循环(在 0600 h 开灯)下在标准条件下饲养，使其自由进食

15 食物(Pellets,ssniff M/R 15,Spezialdiät GmbH,Soest/Westfalen)和水。

3.2.化学药品

E131-00139 1-(4-氯苯基)-4-哌啶基咪唑啉-2-酮,MW 277.75 是由 elbion AG 制造的。所用的所有其它化学品都得自 Sigma-Aldrich Chemie GmbH,德国或得自 Merck,德国

20 3.3.给药时间表/剂量

应用途径：腹膜内

应用体积：0.5 ml/100g

物质	剂量 [mg/kg]	预处理时间 [min]	应用次数 [n]
E131-00139	30	0	1

3.4.被混悬于包含 10 % 聚乙二醇 300(PEG300)的 0.5 % 羟乙基纤维素中的化合物的制备

25 将 E131-00139 新混悬于 0.5 % 羟乙基纤维素中从而使得各给药达到 0.5 ml/100 g 的给药体积。在给药操作之前和期间将该混悬液放置在磁力搅拌器上。将羟乙基纤维素溶解于蒸馏水中。

3.5.实验操作

手术

在实验的前一天，将雄性大鼠用水合氯醛(3.6%，1ml/100 g，腹膜内给药)麻醉并将其放置在立体定位架上来给其植入一种微量透析引导套管(CMA/12,Carnegie Medicine,瑞典)。切开人字点和前卤点之间从前到后方向上正中间的头皮并在头颅上钻一个小孔。该趋实体的坐标是根据 Paxions 和 Watson,(1986)(1)的图谱的纹状体,从前卤点开始 AP= +1.0 mm， L =-3. 0 mm 和离颅骨表面 1.5 mm。用牙科粘固粉(Sinfony(2))将该导入套管和锚凹螺丝固定到头盖骨上。在手术期间，用加热毯将直肠温度维持在 37℃。

微量透析

在实验的前一天，通过导入套管将微量透析探针(CMA/12,膜长度为 4mm,Carnegie Medicin,瑞典)插入到纹状体中。在实验的当天，用林格氏溶液(148 mM NaCl,4 mM KCl,2,4 mM CaCl₂,pH = 6,0)对该探针进行灌注。其流速(1 μl/min)使得可以每隔 20 分钟在微量小瓶中收集到 20 μl 样品。将这些微量小瓶在 8℃ 下储存在分段收集器(CMA/170)中直至进行分析。使用旋转接头，该灌注布置使得动物可以在半球形碗中自由移动。

在 1 小时的调节时间后，收集连续 3 个 20-分钟的部分以建立一种稳定的神经递质释放的基准水平。其后，分别以 30 mg/kg 的剂量给予 E131-00139 或等体积的 0.5 % 的 tylose/PEG300(9:1)。继续进行至少 220 分钟的样品收集。

透析液的分析

用使用电化学检测的反相高效液相色谱(HPLC-EC)直接对透析液进行分析。用 ZORBAX SB-Aq 2.1 mm ID x 100 mm 柱(Agilent Technologies)对样品进行分离。向该 20-分钟部分中加入 1 μl 1 % 的高氯酸并将 10 μl 这种混合物注射到该 HPLC 系统中。

流动相包含:

KH ₂ PO ₄	50mM
Octan-1-sulfonsäure Natriumsalz(NOS)	2,2mM
EDTA	0.086mM
2MH ₃ PO ₄	5ml
甲醇(MeOH)	83ml
乙腈	10ml

pH 3.5

该方法(5-羟色胺)在 0.23 ml/min 的流速下运行，柱温为 38℃，样品恒温器为 8℃。

在晚上，将流速降至 0.1 ml/min。在 500 mV 下对儿茶酚胺类物质进行氧化(Model5014B 微量透析池,esa)。在 200 nA 下测量 Dopac，在 2 nA 下测量多巴胺，在 100 nA 下测量 HIAA，在 2 nA 下测量 HVA，和在 500 pA 下测量 5-羟色胺。

为了对该系统进行校正，用 5 种浓度的外标规则地进行运行：

	DOPAC(3,4-二羟基苯乙酸)	1000,500,250,125,62.5 nM
10	多巴胺(3-羟基酪胺盐酸盐)	8,4,2,1,0.5 nM
	HIAA(5-羟基-3-吲哚乙酸)	200,100,50,25,12.5 nM
	HVA(高香草酸)	800,400,200,100,50 nM
	5-羟色胺(5-羟基色胺-肌酸酐硫酸盐)	0.15,0.075,0.0375,0.01875,0.009375 nM

15 在植入该微量透析探针前和将其取出后，用包含 2000 nM DOPAC、40 nM 多巴胺、1000 nMHIAA、2000 nM HVA 和 0.8 nM 5-羟色胺的溶液进行回收。该探针层的回收率为 5 至 20%。

组织学

20 在该实验结束后，取出大鼠的脑并将其在福尔马林(10%)中后固定约 10 天。用 vibroslice(TSE)对这些脑进行切割并用 toluidin 蓝对其进行染色以查验探针的正确位置。

统计学

25 5-HT 释放的基准水平表现出个体间差异。因此，将各动物的数据表示为百分比。将由给予所说这些物质前的透析液获得的数据平均，并将该均值设定为 100%；相应地计算所有个体的值。

用双因素方差分析(ANOVA)对结果进行分析，用时间和药物作为两个因素。用 tuckey 检验进行个体比较。P<0.05 被认为具有显著差异。

3.6.结果

30 E131-00139 以 30 mg/kg 的剂量腹膜内给药时在 1 小时 40 分钟内出乎意料地显著增加了大鼠纹状体中的 5-HT 浓度(图 3)，同时不会影响 HIAA——一种 5-HAT 的代谢产物的浓度(数据未表示出来)。其也不会影响同时测量的大鼠纹状体中的多巴胺浓度(图 4)。5-HT 水平的变化是

抗抑郁和抗焦虑作用的象征。

对这种增加的机理还不清楚。不能用不是增加而是降低脑中 5-HT 释放(Pei 等人, 1989)的这些化合物如苯并二氮杂萘类物质如地西洋的苯并二氮杂萘样活性和用抵消了 SSRIs 的作用来进行解释。此外, 因为抗癫痫剂对脑中 5-HT 释放的作用随着抗惊厥剂的不同而不同, 所以纹状体 5-HT 的增加不是抗癫痫药的本质和典型机理。卡马西平也可能通过影响 N-型 Ca^{2+} 通道而增加基准 5-HT 的释放(Kawata 等人, 2001)。丙戊酸盐也增加了细胞外的 5-HT(Murakami 等人, 2001), 而苯妥英和加巴喷丁则降低细胞外的 5-HT(Okada 等人, 1997; Taylor 等人, 1998)。

可以将 E131-00139 对细胞外 5-HT 浓度的作用与氟西汀和其它选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂(SSRI)进行比较(Li 等人, 1996)。因此, 因为该类化合物可以将能增加大脑中细胞外 5-HT 浓度的作用时间长但是起效晚的药物与是 1-芳(烷)基-咪唑啉-2-酮类化合物众所周知的性质的抗焦虑活性直接和起效快的优点结合起来, 所以 E131-00139 开辟了治疗中枢神经系统病症的新天地。由于在不会对苯并二氮杂萘介导对 5-羟色胺水平的作用产生任何缓解的情况下将苯并二氮杂萘激动剂的优点和 SSRI 的性质结合了起来, 所以 E131-000139 表现出异常好的得到了改善的治疗慢性焦虑综合征、恐慌症、广场恐怖症、特异恐怖、社交恐怖症和泛化性焦虑性障碍、和抑郁症如严重的抑郁症和发作、躁狂型、混合型和轻躁狂型情感发作、具有非典型的紧张或忧郁特性的抑郁发作、具有产后发作的月经前焦虑症的抑郁发作、轻度抑郁症、创伤后和急性应激障碍的潜能。

实施例 4

作为亚型选择性部分激动 $\alpha 3$ 优选化合物的实例, ELB139 的亚型选择性和部分激动作用

由 γ -氨基丁酸(GABA_A 受体)开放的配体门控离子通道是由六个 α 、三个 β 、三个 γ 、 δ 、 ϵ 、 π 和 θ 亚基的序列之外的二至三种不同的亚基装配的五聚物(见 Hevers 等人, 1998)。最可能是由于 GABA_A 受体的结构异质性而形成了其功能多样性。大多识别 GABA_A 受体的苯并二氮杂萘类物质(BZ)通过这些受体通道调控 Cl^- 通量, 从而影响 CNS 中的突触传递。例如, 在本发明的研究中用作参照化合物的镇静

剂-安眠剂 BZ 地西洋对 CNS 的功能施加了大量影响,从而产生了范围从低剂量下的镇静作用至相当高剂量下诱导的麻醉作用的临床作用范围。因此,已经进行了大量努力来改善药物如 BZ 类药物的 GABA 能亚型特异性以降低其对这些在治疗作用中不涉及的神经元系统的作用。

该 GABA_A 受体亚基组成确定了内源性配体以及药物如 BZ 类物质的亲合力和功效。这些 α 亚基中的变化对不同类 BZ 配体的亲合力和功效有深远影响,而其它类物质则是无差别的(Pritchett 等人, 1989,Wisden 等人, 1991)。例如,与大多数(但是不是所有的)1,4-BZ 类物质相似,之前表明地西洋对通用形式为 $\alpha_i \beta_j \gamma_2$ ($i=1-3,5$; $j=1-3$) 的受体亚型的结合没有差异(Lüddens,1995, Benavides, 1992, Pritchett, 1990)。

为了更详细地确定公认的 BZ 受体配体 ELB139 在存在和不存在 BZ 拮抗剂氟马西尼(Ro15-1788)的情况下对在人胚胎肾(HEK293)细胞的异种系统中表达的许多 GABA_A 受体亚型的效力和效能进行检查而进行本实验。所选择的受体亚型 $\alpha_i \beta_2 \gamma_2$ ($i=1-5$) 可能占天然 GABA_A/BZ 受体的大多数。将所说新型化合物的功效、效力、和 α 亚基特异性与地西洋进行比较。

4.1.实验部分

20 材料

除 ELB139(E131-00139)外,所有的化合物都得自商业来源并且是分析级的。

4.2.细胞培养和细胞转染

为了进行电生理学记录,将 HEK-293 细胞在 12 mm 玻璃盖玻片上传代并再培养,该盖玻片位于 9.6 cm 塑料盘中,填充了 10 ml 的最低基础培养基(MEM, GibCO),其补加了 158mg/l 碳酸氢钠、2 mM 谷酰胺(Gibco)、100 U/ml 青霉素-链霉素(Gibco)、和 10% 胎牛血清(Gibco)。将其在 37℃ 下,在 95% O₂/5% CO₂ 的潮湿气氛下培养 2-3 天。

如详细描述(Korpi 和 Lüddens,1993,Lüddens 和 Korpi,1995b)那样用重组的大鼠 GABA_A 受体进行转染。简单地说,对于 α 、 β 和 γ 亚基而言,在三联组合中使用位于真核生物表达载体中的大鼠 GABA_A 受

体 cDNAs 进行的磷酸盐沉淀法(Prithett,1990)对 HEK 293 细胞进行转染。对于最佳的受体表达而言, 终浓度(μg 载体 DNA/9.6 cm 组织培养板)为: $\alpha 1,2$; $\alpha 2 4.8$; $\alpha 3,1.2$; $\alpha 4,10$; $\alpha 5,0.8$; $\beta 2,0.4$; 和 $\gamma 2S,0.3$ 。在本文的其余部分, 将该 $\gamma 2S$ 变型体缩写为 $\gamma 2$ 。为了对被转染的细胞进行鉴定, 用 $1 \mu\text{g}$ pNI-EGFP/板对所有的亚基组合进行共转染。

4.3.电生理学

在转染后两天, 将一个包含 HEK 293 细胞的盖玻片放置到被安放在荧光显微镜(Olympus IX70)的可移动的载物台上并用所规定的包含(mM): 130 NaCl 、 5.4 KCl 、 2 CaCl_2 、 2 MgSO_4 、 10 葡萄糖、 5 蔗糖、和 10 HEPES (游离酸)的盐水溶液(用约 35 mM NaOH 将其 pH 调至 7.35)灌注的记录室中。用其由于表达 pNI-EGFP 载体而产生的绿色荧光来对进行了转染的细胞进行鉴定并且用该膜片箝技术(Hamil 等人, 1981)的全细胞构型对这些细胞配体介导的膜电流进行研究。用水平拔出器(Sutter Instruments,CA,Model P-97)用一种多级过程从硬硼硅酸盐毛细管玻璃(0.5 mm 内径(ID), 1.5 mm 外径(OD),Vitrex,Science Products GmbH,Hofheim,德国)中拖拉出膜片箝移液管。当填充包含(mM): 90 KCl 、 50 KOH 、 2 CaCl_2 、 2 MgCl_2 、 10 EGTA 、 3.1 ATP (二钾盐)、 0.4 GTP (三钠盐)、和 10 HEPES (游离酸)的溶液(pH 7.35)时, 该移液管具有 $2\text{-}4\text{M}\Omega$ 的初始电阻。

该移液管和外部溶液之间的接头电位低于 2.3 mV 并且因此被忽略。通过轻轻抽吸该移液管通常可以获得 $>1\text{G}\Omega$ 的封闭电阻。在容量增加的同时对膜破裂进行电监测。对移液管电容、膜电容、和串联电阻进行电子补偿以获得最小的电容系数(capacitive)瞬变。经常使用 $>60\%$ 的串联电阻补偿。

使用快速灌注分档器系统(fast perfusion stepper system)(SF-77B,Perfusion Fast Step,Warner Instruments,Inc.,Midwest,USA)对包含适宜受体亚型特异性 GABA EC_{20} 、 GABA EC_{20} 加浓度渐增的地西洋(μM): 0.01 、 0.1 、 1 、 10 、和 GABA EC_{20} 加浓度渐增的 ELB139 (μM): 0.01 、 0.03 、 0.1 、 0.3 、 1 、 3 、 10 、 30 的溶液进行试验。在地西洋和 ELB139 的情况中, 对另外加入了 $10 \mu\text{M}$ Ro15-1788 的所有浓度的实验组进行试验。在所记录的所有细胞中, 在对实验药物进行试验前, 通过应用 $1 \mu\text{M}$ 唑吡坦加 EABA 的 EC_{20} 对该杂五聚物中 $\gamma 2$ 亚基的出现进行监

测。

用与标准个人电脑相连的膜片箝放大器 (EPC-8, HEKA-Electronic, Lambrecht, 德国) 和 pClamp 8.1 软件 (Axon Instruments, Foster City, CA) 来记录细胞的响应。细胞的标准保持电位为 -40 mV。在用 Digidata 1322a 界面 (Axon Instruments, Foster City, CA) 数字化前, 用八-孔 Bessei 滤波器在 5 或 3 kHz 下对全细胞电流低通过滤并用计算机在至少 1 kHz 的取样速率下对其进行记录。

4.4 结果和讨论

通过将浓度渐增的药物和适宜 EC_{20} 的 GABA 应用到绿荧光细胞上, 用膜片箝技术的全细胞构型对新化合物 ELB139 的增效、效力、和 $GABA_A$ 受体 α 亚基特异性进行试验。在另外还使用了 $10 \mu M$ Ro15-1788 的相同实验装置中, 在相同的细胞上对该新化合物的 BZ 结合部位特异性进行试验。

在具有共表达的 $\beta 2$ 和 $\gamma 2$ 亚基的包含 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 、和 $\alpha 5$ 的受体中, ELB139 增强了 GABA 诱导的电流, 但是其效力和效率都低于地西洋 (表 1)。在这三种 $GABA_A$ 受体组合中, $10 \mu M$ Ro15-1788 全都完全消除了 ELB139 的作用。在包含 $\alpha 1$ 的受体中, 在 $0.3 \mu M$ 下可观察到 ELB139 造成的正电流调幅并且在 $30 \mu M$ 下达到了其 1.6 ± 0.08 -倍的最大值 (图 5A), 其大约是地西洋最大作用的一半 (在 $1 \mu M$ 地西洋下 2.2 ± 0.9 -倍)。在 $\alpha 5 \beta 2 \gamma 2$ 受体中, 在 $1 \mu M$ 下第一次观察到了 ELB139 的正电流调幅并且在 $30 \mu M$ 下达到了其 1.4 ± 0.06 -倍的最大值, 即, ELB139 的增效和效力显著低于地西洋, 地西洋在 $10 nM$ 的剂量下加强了该电流并且在 $1 \mu M$ 下达到了其 2 ± 0.05 -倍电流增强的最大激动作用 (图 5E)。该新化合物 ELB139 在高于 $30 nM$ 的浓度下正性调控包含 $\alpha 2$ 的受体中 GABA-诱导的电流, 同时在高于 $0.3 \mu M$ 的浓度下具有 1.3 ± 0.07 -倍的最大功效值。相反, 地西洋在低于 $10 nM$ 的浓度下可观察到正电流调幅并且在 $1 \mu M$ 下达到了 1.8 ± 0.11 -倍的最大刺激。

与原型 (prototypical) BZ 地西洋相比, ELB139 对包含 $\alpha 2$ 的受体表现出 α 亚基特异性。对这种 $GABA_A$ 受体而言, 地西洋表现出高增效和效力, 其在低于 $0.1 \mu M$ 的浓度下第一次观察到正电流增幅和在 $1 \mu M$ 的浓度下表现出最大激动性 (具有 1.8 -倍的增强) (图 5B, 表 1)。相反,

ELB139 在重组的 $\alpha 2 \beta 2 \gamma 2$ GABA_A 受体中不能引起 GABA-诱导的电流的激动或反相激动调节。

对于包含 $\alpha 4$ 的受体而言，在高至 1 μ M 的浓度下，地西洋没有表现出 GABA 诱导电流的显著调幅(图 5D)。同样，在所有的试验浓度下，ELB139 对该 Cl⁻ 电流都没有影响。

虽然 ELB139 在 $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2$ 和 $\alpha 5 \beta 2 \gamma 2$ 受体中的效力相似，即在两种情况中在约 1 μ M ELB139 下都可观察到显著的激动作用，但这种药物对包含 $\alpha 1$ 的受体的功效略微高于对 $\alpha 5 \beta 2 \gamma 2$ 受体的作用(1.6-倍对 1.4，见表 1)。令人感兴趣的是，ELB139 对 $\alpha 3 \beta 2 \gamma 2$ 受体表现出最高的效力，在高于 30 nM 的浓度下已经观察到加强作用，但是对这些受体表现出仅有 1.3-倍电流加强的最低功效。

表 1: 与适宜受体亚型特异性的 GABA EC₂₀ 一起应用时 ELB139 和地西洋的 EC₅₀ 和加强值。

星号(*)表示用图确定的值。

$\alpha i \beta 2 \gamma 2$	ELB139		地西洋	
	EC ₅₀ [μ M]	加强 *	EC ₅₀ * [μ M]	加强 *
$\alpha 1$	3.8	1.6±0.08	0.035	2.2±0.9
$\alpha 2$	>> 30	--	0.1	1.8±0.6
$\alpha 3$	0.06*	1.3±0.07	0.09	1.8±0.11
$\alpha 4$	>> 30	--	>> 1	--
$\alpha 5$	3.6	1.4±0.06	0.07	2±0.05

4.5.结论

总之，与地西洋相比，新药 ELB139 以更低的效力和功效通过 BZ-结合部位正性地调控 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 、和 $\alpha 5 \beta 2 \gamma 2$ GABA_A 受体上 GABA-诱导的电流。但是，ELB139 对包含 $\alpha 3$ 的 GABA_A 受体的选择性为对 $\alpha 1$ 和 $\alpha 5$ 约 50-倍。此外，与地西洋相反，ELB139 对包含 $\alpha 2$ 的受体没有激动作用。该结果表明与地西洋相比，ELB139 的 GABA_A 受体亚型差异选择性可能是其体内活性差异的基础。

实施例 5

作为亚型选择性部分激动 $\alpha 3$ 优选化合物实例的 ELB139 在抑郁的啮齿动物模型中的体内抗抑郁活性

用强迫大鼠游泳的试验(FST)来对 ELB139 的作用进行检查。包括严重抑郁在内的抑郁症是严重的和使人失去能力的病症。选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂(SSRIs)具有改善的抗抑郁治疗安全性和耐受性。但是,主要在治疗开始时出现的不利的药物作用常常损害了其顺从性。

5 SSRIs 的抗抑郁功效,特别是在严重抑郁的患者中的功效并不比三环抗抑郁剂的功效(约 30 % 的患者没有得到改善)更好(Anderson 和 Thomenson,1994; Blier,2001 Anderson 和 Tomenson,1994; Burke 和 Preskom,1995)。为此,在抑郁的治疗中对新治疗方法有很大的兴趣。

使用大约十二种抗抑郁剂动物试验(Cryan 等人, 2002 Cryan 等人, 2002)。Porsolt 以及其同事对用于测量对应激的非特异性抵抗性的使用大鼠和小鼠的强迫游泳试验进行了描述和验证(Porsolt 等人, 1977)(Porsolt,2000)。该强迫游泳试验利用一种其中强迫动物游泳至几乎完全筋疲力尽(约 15 分钟)的行为方法。在开始的剧烈活动期后,啮齿动物迅速采取典型的静止姿势,仅仅进行用于保持漂浮的最微小的运动(Porsolt 等人, 1977)。已经对该强迫游泳试验(Porsolt 试验)的有效性以及其与抑郁的关系进行了广泛综述(Cryan 等人,2002; Willner,1984; Willner ,1990)并且建立了一种用于抗抑郁剂的筛选试验。虽然不同实验室已经对该装置进行了技术性的修改,但是该试验的基本原理仍然相同。不幸地是,虽然在临床上有效,但是在常规的强迫游泳试验中对选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂(SSRIs)的探测并不可靠(Borsini 和 Meli,1988;Detke 等人, 1995; Cryan,2002)。以对行为进行详细分析为基础的 FST 的一种变型使得可以更可靠地进行 5-羟色胺能和去甲肾上腺素能抗抑郁剂的探测和鉴别(Lucki,1997,Detke 等人,1995)。

25 5.1.材料和方法

动物

使用体重为 180-220 g 的雄性 Wistar 大鼠(Shoe: Wist,Dimed Schönwald GmbH,德国)。将其每笼(45x60x25 cm)5 只地成组饲养在室温($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$)下并用 170 lux 的照明保持一种 12 小时光-暗循环(在 06.00 点开灯)。动物可以自由获得标准颗粒状食物(Altromin 1326)和水。为了确保其能适应该新环境,在试验前将大鼠在各部分动物单元中饲养两周。在到达时将大鼠随机指定到各治疗组。试验在隔音、明亮的室

中，在 14.00 至 17.00 点进行。

化学药品

5 试验化合物: ELB139
化学名: 1-(对-氯苯基)-4-哌啶-1-基-1,5-二氢-咪唑-2-酮
分子量: 277.75
批号: S306767
制造商: elbion AG

10 参照化合物: 氟西汀
化学名: N-甲基-γ-[4-(三氟甲基)苯氧基]苯丙胺
分子量: 345.8

15 赋形物(Vehicle)1: Tylose
化学名: 羟乙基纤维素
批号: S22341 743
制造商: Merck Eurolab GmbH

20 赋形物 2: PEG300
批号: Lot53616433
制造商: Merck Eurolab

给药时间表/剂量

25 在实验前，将 ELB139(10,30mg/kg)新混悬于 10 % PEG + 90 % 0.5 % 羟乙基纤维素中。为了对该实验操作进行验证，包含用已经确认的抗抑郁剂 SSRI 氟西汀(10,30mg/kg)和赋形物(10 % PEG + 90 % 0.5 % 羟乙基纤维素)进行处理的对照物。

将所有的动物都用 verum 或赋形物处理三次：就在其习惯期后不久(23 小时)、在试验前 5 和 1 小时。以 1 ml/kg 的应用体积将所有的药物口服给药。

5.2.实验操作

30 在用 22℃ 的水填充至 28 cm 深的玻璃槽(23 x 30cm,高 40 cm)内对动物进行试验(动物不能碰到槽的底部)。不直接对该玻璃槽进行光照并且该槽的周围围绕着深褐色的遮阳屏障(距离该槽 20 cm 远)以防止看见

试验者。在 14:00 至 17:00 点之间进行实验并且使用所述的一般方法 (Porsolt 等人, 1979; Lucki,1997)。

在实验的第一天, 将大鼠轻轻放在水中使其习惯 15 分钟。在将其从水中取出后, 将其放在一个位于红外加热器下的底部用纸巾覆盖的标准有机玻璃盒中以将其弄干。第二天, 再次将其轻轻放到该玻璃槽中并观察 5 分钟。用录像带录下动物的行为。

在该 5 分钟后, 将大鼠转移到红外加热的盒子中使其变干。

在实验后, 对该录像带进行人工分析并记录下面行为的持续时间: 静止: 漂浮和仅仅进行确保鼻子位于水面之上的这些活动。游泳: 动物表现出主动运动, 即包括潜水在内的在该槽中到处活动。攀登: 动物前爪在水中和水外强烈扑腾移动, 通常靠着槽壁移动。

5.3.统计学

将数据表示为均值 $\pm$ S.E.M. 并且每组为 10 只大鼠。用单因素 ANOVA 进行组间比较, 然后用 Holm-Sidak 法进行组内比较。认为 $P < 0.05$ 的结果具有显著差异。所有的统计过程都是用 SigmaStat 3.0 版进行的。各数据如表 2-4 所示。

5.4.结果

在 30 mg/kg(经口)的剂量下, ELB139 对强迫游泳试验期间静止所花费的时间没有影响, 但是增加了游泳的持续时间, 同时没有改变攀登行为(图 6)。主观的观察表明在 30 mg/kg(经口)的剂量下, 在放回到其居住的笼子中后其出现了中等程度的活动减退。

已经确认的抗抑郁药氟西汀在 10 和 30 mg/kg 下降低了静止所花费的时间并增加了游泳时间, 同时没有改变攀登行为(图 7)。

5.5.讨论

在我们的研究中, ELB139 在强迫游泳试验中表现出一定的作用。为了获取更多的有关公认的抗抑郁样作用的信息, 用更复杂的方法对该强迫游泳试验期间的行为进行分析以对各类抗抑郁剂进行区分 (Lopez-Rubalcava 和 Lucki,2000; Lucki,1997)。与之前的研究结果相一致, 选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂氟西汀促进了游泳行为, 但是没有增加攀登行为。

ELB139 对在该强迫游泳试验中测得的参数的影响与氟西汀相似 (游泳有变动同时对静止的持续时间的更低), 与地昔帕明(静止和

攀登发生变化)(Rex 等人, in press)不同。因此, 推测 ELB139 的作用可能涉及 5-羟色胺能系统。已经提出 5-羟色胺能神经传递降低在抑郁的病因学中起着关键的作用。已经由增强 5-羟色胺能传递的第三代抗抑郁剂——SSRI 的临床功效大体确定了这一点(Beique 等人, 2000; Blier,2001)。ELB139 在 10 和 30 mg/kg 的剂量下都可以被良好地耐受。

在试验期间, 以 10 或 30 mg/kg 的剂量接受 ELB139 的大鼠没有表现出静止时间增加, 但是在 30 mg/kg 下可以探测到攀登时间不显著的略微降低。这可能是由于 ELB139 对活动能力的作用低造成的。在将其放回到其居住的笼子中后, 还看到大鼠的活动性略有降低。但是, 这种攀登时间的降低与同时发生的游泳时间显著增加一起存在, 从而使得大鼠的总活动性似乎不变。因此, 在该开放领域试验中和不同的焦虑动物模型中, ELB139 没有对活动能力表现出显著的降低(Langen,2002; Langen,2003a+b)。与氟西汀相反, ELB139 也没有增加大鼠的总活动性。

总之, 鉴于 30 mg/kg 经口给药的剂量下游泳行为的显著增加, 认为 ELB139 可作为抗抑郁治疗的候选者。

实施例 6

苯并二氮杂萘拮抗剂氟马西尼对 ELB139 对 5-羟色胺水平作用的逆转

6.1.材料和方法

20 动物

该试验使用重 200 至 260 g 的雄性 Wistar 大鼠 (Cri : (Wl)BR, Charles River, Sulzfeld, 德国)。将其以每组 5 只的数量在 12 小时光/暗循环(在 0600 h 开灯)下在标准条件下饲养, 使其自由进食食物(Pellets, ssniff M/R 15, Spezialdiät GmbH, Soest/Westfalen)和水。

25 化学药品

ELB139(1-(对-氯苯基)-4-哌啶-1-基-1,5-二氢-咪唑-2-酮, MW277.75)由 elbion AG 制造。氟马西尼(8-氟-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-4H-2,5,10b-三氮杂-苯并[e]环戊并环庚五烯-3-甲酸乙酯)得自 Tocris, 由 Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, 德国分销。所用的所有其它化学药品都得自 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 德国或得自 Merck, 德国

给药时间表和剂量

应用途径: 腹膜内

应用体积: 0.5 ml/100g

物质	剂量[mg/kg]	预处理时间[min]	应用次数[n]
氟马西尼	10	在 ELB139 给药后 40 分钟	1
ELB139	30	0	1

6.2. 化合物的制备

将 E131-00139 新混悬于 90 % 0.5 %-羟乙基纤维素和 10 % PEG 300 中从而使得各物质和剂量达到 0.5 ml/100 g 的给药体积。将氟马西尼注射液用生理盐水稀释从而达到 0.5 ml/100 g 的给药体积。在给药操作之前和期间将该混悬液放置在磁力搅拌器上。将羟乙基纤维素溶解于蒸馏水中。

6.3.实验操作

手术

在实验的前一天，将雄性大鼠用水合氯醛(3.6 %,1ml/100 g, 腹膜内给药)麻醉并将其放置在立体定位架上来给其植入一种微量透析引导套管(CMA/12,Carnegie Medicine,瑞典)。切开人字点和前卤点之间从前到后方向上正中间的头皮并在头颅上钻一个小孔。该趋实体的坐标是根据 Paxions 和 Watson,(1986)(1)的图谱的纹状体,从前卤点开始 AP= +1.0 mm, L =-3.0 mm 和离颅骨表面 1.5 mm。用牙科粘固粉(Sinfony(2))将该导入套管和锚凹螺丝固定到头盖骨上。在手术期间，用加热毯将直肠温度维持在 37℃。

微量透析

在实验的前一天，通过导入套管将微量透析探针(CMA/12,膜长度为 4mm,Carnegie Medicin,瑞典)插入到纹状体中。在实验的当天，用林格氏溶液(148 mM NaCl,4 mM KCl,2,4 mM CaCl₂,pH = 6,0)对该探针进行灌注。其流速(1 μl/min)使得可以每隔 20 分钟在微量小瓶中收集到 20 μl 样品。将这些微量小瓶在 8℃ 下储存在分段收集器(CMA/170)中直至进行分析。使用旋转接头，该灌注布置使得动物可以在半球形碗中自由移动。在 1 小时的调节时间后，收集连续 3 个 20-分钟的部分以建立一种稳定的神经递质释放的基准水平。

其后，分别以 30 mg/kg 的剂量给予 ELB139 或等体积的 0.5 % 的 tylose。继续进行至少 220 分钟 的样品收集。

透析液的分析

用使用电化学检测的反相高效液相色谱(HPLC-EC)直接对透析液进行分析。用 ZORBAX SB-Aq 2.1 mm 内径 (ID) x 100 mm 柱(Agilent Technologies)对样品进行分离。向该 20-分钟部分中加入 1 μ l 1% 的高氯酸并将 10 μ l 这种混合物注射到该 HPLC 系统中。

流动相包含:

	KH ₂ PO ₄	50mM
	Octan-1-sulfonsäure Natriumsalz(NOS)	2,2mM
	EDTA	0.086mM
10	2MH ₃ PO ₄	5ml
	甲醇(MeOH)	83ml
	乙腈	10ml
		pH 3.5

该方法(5-羟色胺)在 0.23 ml/min 的流速下运行, 柱温为 38℃, 样品恒温器为 8℃。

在晚上, 将流速降至 0.1 ml/min。在 500 mV 下对儿茶酚胺类物质进行氧化(Model5014B 微量透析池,esa)。在 200 nA 下测量 Dopac, 在 2 nA 下测量多巴胺, 在 100 nA 下测量 HIAA, 在 2 nA 下测量 HVA, 和在 500 pA 下测量 5-羟色胺。

为了对该系统进行校正, 用 5 种浓度的外标规则地进行运行:

	DOPAC(3,4-二羟基苯乙酸)	1000,500,250,125,62.5 nM
	多巴胺(3-羟基酪胺盐酸盐)	8,4,2,1,0.5 nM
	HIAA(5-羟基-3-吲哚乙酸)	200,100,50,25,12.5 nM
	HVA(高香草酸)	800,400,200,100,50 nM
25	5-羟色胺(5-羟基色胺-肌酸酐硫酸盐)	0.15,0.075,0.0375,0.01875, 0.009375 nM

在植入该微量透析探针前和将其取出后, 用包含 2000 nM DOPAC、40 nM 多巴胺、1000 nM HIAA、2000 nM HVA 和 0.8 nM 5-羟色胺的溶液进行回收。该探针层的回收率为 5 至 20%。

组织学

在该实验结束后, 取出大鼠的脑并将其在福尔马林(10%)中后固定约 10 天。用 vibroslice(TSE)对这些脑进行切割并用 toluidin 蓝对其进

行染色以查验探针的正确位置。

统计学

5-HT 释放的基准水平表现出个体间差异。因此，将各动物的数据表示为百分比。将由给予所说这些物质前的透析液获得的数据平均，并将该均值设定为 100 %；相应地计算所有个体的值。

用双因素方差分析(ANOVA)对结果进行分析，用时间和药物作为两个因素。用 tuckey 检验进行个体比较。P<0.05 被认为具有显著差异。

6.5.结果

与平均基准水平相比，ELB139 使得大鼠纹状体中细胞外的 5-羟色胺显著增加。当在以 30 mg/kg 的剂量腹膜内给予 ELB139 后以 10 mg/kg 的剂量腹膜内给予氟马西尼时，细胞外 5-羟色胺的增加不仅被逆转，而且 5-羟色胺水平甚至也被降低到该平均基准水平之下。在该记录期结束(3 小时)时，5-羟色胺水平又恢复至平均基准水平。

实施例 7

15 苯并二氮杂革拮抗剂氟马西尼对 ELB139 抗精神病作用的逆转

7.1.材料和方法

动物

该试验使用重 168 至 217 g 的雌性 Wistar 大鼠 (Cri :(W)BR,Charles River,Sulzfeld,德国)。将其以每组 5 只的数量在 12 小时光/暗循环(在 0600 h 开灯)下在标准条件下饲养，使其自由进食食物(Pellets,ssniff M/R 15,Spezialdiät GmbH,Soest/Westfalen)和水。

化学药品

ELB139(1-(对-氯苯基)-4-哌啶-1-基-1,5-二氢-咪唑-2-酮,MW 277.75)由 elbion AG 制造。氟哌啶醇(4-(4-[4 -氯苯基]-4-羟基-1-哌啶基)-1-(4-氯苯基)-1-nutanone,MW 375.9)得自 ratiopharm GmbH,Ulm,德国,MK-801(地佐环平,MW 337.37)和氟马西尼(8-氟-5-甲基-6-氧代-5,6-二氢-4H-2,5,10b-三氮杂-苯并[e]环戊并环庚五烯-3-甲酸乙酯)得自 Tocris,由 Biotrend Chemikalien GmbH,Köln,德国分销。所用的所有其它化学品都得自 Sigma-Aldrich Chemie GmbH,德国或得自 Merck,德国。

30 7.2.给药时间表和剂量

应用体积: 0.5 ml/100g

物质	动物数 [n]	剂量 [mg/kg]	预处理时间 [min]	应用次数 [n]	给药途径
MK-801	6	0.1	10	1	腹膜内
ELB139	6	30	60	1	经口
ELB139+	6	30	60	1	经口
氟马西尼		5	20	1	腹膜内
氟哌啶醇	9	0.5	30	1	腹膜内
氟哌啶醇+	4	0.5	60	1	腹膜内
氟马西尼		5	20	1	腹膜内

7.3.化合物的制备:

将 ELB139 新混悬于 90 % 0.5 % -羟乙基纤维素和 10 % PEG 300 中从而使各物质和剂量达到 0.5 ml/100 g 的给药体积。将氟哌啶醇注射液用生理盐水稀释从而达到 0.5ml/100 g 的给药体积。将氟马西尼和 MK-801 用生理盐水稀释从而达到 0.5ml/100 g 的给药体积。在给药操作之前和期间将该混悬液放置在磁力搅拌器上。将羟乙基纤维素溶解于蒸馏水中。

除在试验前 30 分钟接受氟哌啶醇和在试验前 10 分钟接受 MK-801 的氟哌啶醇大鼠外，其它试验组在试验前 60 分钟接受氟哌啶醇、ELB139 或赋形物，在试验前 20 分钟接受生理盐水或氟马西尼和在试验前 10 分钟接受 MK-801。

7.4.实验操作

NMDA 拮抗剂 MK-801 诱导的行为通常被看成精神病的大鼠模型。在腹膜内给药后，MK-801 在大鼠体内诱导了刻板症、活动过度和共济失调。

用 MotiTest Apparatus(TSE,Bad Homburg,德国)记录大鼠的活动能力。试验区域由具有保护性有机玻璃墙(20 cm 高)的正方形舞台(45 × 45 cm)所组成，大鼠在其中自由活动。用沿着该舞台各壁底部排列的 32 根红外光电管记录其水平活动。用在地板上面 12 cm 水平成行排列的 32 根红外光电管记录其垂直活动(直立)。用计算机程序 “ActiMot” (TSE,Bad Homburg,德国)对下面的参数进行测量:

- 1.活动时间[s]
- 2.前进的总距离[m]

每隔五分钟，由实验人员根据 Andiné 等人(1999)所述的方法对被分成刻板地用力嗅和其它刻板症的刻板症、以及共济失调进行评分，对其评价 1 小时(12 个时间间隔)。对于各参数而言，将这 12 个间隔的得分相加。

得分	刻板地用力嗅	其它刻板症	共济失调
0	没有刻板地用力嗅	没有其它刻板症	正常的身体控制
1	不连续地用力嗅(不嗅的时间间隔>5 秒)	不连续的刻板症(无刻板症的时间间隔>5 秒)	在运动时有跌倒的倾向
2	连续用力嗅	连续的刻板症	在运动时跌倒
3	—	—	几乎不能移动

5

在实验当天，将雌性大鼠放到实验室中并使其在试验前的适宜时间接受试验化合物、参照物质或赋形物。在试验前 10 分钟，将 MK-801 以 0.2 mg/kg 的剂量腹膜内给药。

10 在该试验开始时，将这些大鼠放到该 MotiTest 装置正方形舞台的中央。对大鼠的行为记录一小时。其后，将各动物取出并对这些盒子仔细进行清理和干燥。

7.5.统计学

15 用单因素方差分析(ANOVA)对用力嗅、其它刻板症和共济失调的结果进行分析。用 tukey 检验来进行个体的比较。用双因素方差分析(ANOVA)(化合物 × 时间)来对活动性和前进总距离的结果进行分析。用 Student-Newman-Keuls 检验来进行个体的比较。认为 P < 0.05 有显著差异。

7.6.结果

20 氟哌啶醇以 0.5 mg/kg 的剂量腹膜内给药时显著逆转了 MK-801 诱导的活性的增加、前进距离的增加和用力嗅(刻板症)(图 1)。氟哌啶醇以 0.5 mg/kg 的剂量给药时略微降低了 MK-801 诱导的其它刻板症。氟马西尼在 5 mg/kg 的剂量下不会影响氟哌啶醇的这些作用。氟哌啶醇仅少量降低了 MK-801 诱导的共济失调，但是将氟哌啶醇和氟马西尼联合给药时却显著逆转了 MK-801 诱导的共济失调(图 8)。

25 ELB139 的数据是由两名不同的实验室助理在两个独立试验中获

得的(2003年11月和2004年1月)。在图9以及10a和b中描述和表示了这两个独立的试验和这两个试验的加和。

在以30mg/kg的剂量经口给药时,ELB139显著逆转了不连续试验中和当将两组试验的数据被加和时的刻板地用力嗅。在第二组试验中,ELB139的作用明显被氟马西尼所拮抗并且在第一组试验和在两组试验的加和中显著被其逆转(图9)。

在以30 mg/kg的剂量将ELB139经口给药时,在第一组试验中,MK-801诱导的其它刻板症被轻微降低,在第二组试验和将两组试验的数据加和时其被显著逆转。在第一组试验中,在5 mg/kg的剂量下,氟马西尼相当大地放大了ELB139的这种作用,并且在第二组试验中显著逆转了其这种作用,从而使得在将数据相加时没有看到氟马西尼对ELB139的作用有任何改变。这些有争论的结果可能是由于在第一组试验中“其它刻板症”的定义不严密造成的(图9)。

在以30 mg/kg的剂量经口给药时,ELB139在第一组试验(2003年11月)中对MK-801诱导的共济失调几乎没有影响。在第二组试验中(2004年1月),这种作用更明显,但是仍然不显著,从而使得当将两组试验加和时,仅仅看到共济失调略微降低。在氟马西尼以5 mg/kg的剂量腹腔内给药时,其逆转了ELB139对共济失调作用的降低。当将这两组试验的数据加和时,氟马西尼的逆转作用微小(图9)。

以活动性和前进距离的形式记录MK-801-诱导的活动过度并以5-分钟的时间间隔对其进行描述。当就整个时间曲线而言时,ELB139以30 mg/kg的剂量经口给药时,其在第二组试验中明显降低了MK-801诱导的活动性,在第一组试验中和当将这两组试验的数据加和显著降低了这种活动性(双因素ANOVA,图10a)。在两组试验中和在将两组试验加和时,在氟马西尼以5 mg/kg的剂量腹腔内给药时,其显著逆转了ELB139对活动性的影响(图10a)。

当考虑整个时间曲线时,在两组试验和两组试验的加和中,ELB139显著降低了MK-801诱导的前进距离的增加(双因素ANOVA,图10a)。在所有的试验中和当将两组试验的数据加和时,氟马西尼都显著逆转了这种作用(图10a)。

当考虑单个时间点时,在前半个小时中,ELB139对活动性和前进距离的作用更明显(图10b)。

参考资料

Abi-Saab WM,D'SouzaDC,Moghaddam B,和 Krystal JH(1998).精神分裂症的 NMDA 拮抗剂 (anatonist) 模型: 前景和困难.Pharmacopsychiatry 31 Suppl 2: 104 109.

- 5 American Psychiatric Association(1994).精神障碍的诊断和统计手册,第 4 版. American Psychiatric Press,Washington,DC.

Anderson IM,Tomenson BM. 选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂在抑郁中的功效:三环抗抑郁剂研究的 meta-分析. J Psychopharmacol 1994; 4: 238-249

- 10 Andiné P,Widermark N,Axelsson R,Nyberg G,Olofsson U,Martensson E,Sandberg M(1999).作为公认得精神病大鼠模型的 MK-801-诱导的行为的特性. J Pharmacol Exp Ther 290:1393-1408.

Arnold,SE(1999).精神分裂症的神经发育异常: 从神经病理学方面透视. Dev Psychopathol11 : 439-56.

- 15 Atack JR(2003).作用于 GABA(A)受体苯并二氮杂革结合部位的 Anxiorelctive 化合物. Curr Drug Target CNSNeurol Disord2 : 213-232.

Bailer J,Thurm-MussgayI,ReyER(1999). 精神分裂症 . In :H.Reinecker (Hrsg.), Fallbuch der klinischen Psychologie, kap20,Göttingen :Hogrefe-Verlag :343-66.

- 20 Beique J,Blier P,Debonnel G. 5-羟色胺和去甲肾上腺素再吸收抑制剂文拉法辛持续给药的作用: I.大鼠的体内电生理学研究. Neuropharmacology 2000; 39: 1800-1812

- 25 Benavides,J. ,Peny,B.,Durand,A.,Arbilla,S. ,和 Scatton,B.(1992).中枢 ω (苯并二氮杂革)部位配体在抑制[3H]氟马西尼在大鼠中枢神经系统中的结合方面区域选择性的体内和体外比较. J Pharmacol Exp Ther 263,884-896.

Benes,FM(1993).精神分裂症研究中脑结构成像和组织病理学调查结果间的关系. Harv Rev Psychiatry 1: 100-109.

- 30 Blier P. 快速开始的抗抑郁治疗策略的药理学. J Clin Psychiat 2001; 62 Suppl 15: 12-17Atack JR(2003).作用于 GABA(A)受体苯并二氮杂革结合部位的 Anxiorelctive 化合物. Curr Drug Target CNS Neurol Disord 2: 213-232.

Borsini F,Meli A. 强迫游泳试验是否是用于揭示抗抑郁剂活性的适宜模型 *Psychopharmacology* 1988; 94: 147-60

Capuano B,CrosbyIT,Lloyd EJ(2002). 精神分裂症: 起源, 受体学和当前的治疗学. *Curr Med Chem* 9: 521-48.

- 5 Chambers MS,Collins IJ,Goodacre SC,Hallett DJ,Jones P,Keown LE,Maxey RJ,StreetLJ(14. 09.2001). W02001044249. 用于治疗例如焦虑、神经官能症、大笑、偏头痛、抑郁、精神障碍、神经变性疼痛、呕吐或进食病症的作为 GABA_A 受体配体的新三唑并-嘧啶化合物.

- Costa E and Guidotti A(1996).进行试验的苯并二氮杂革类物质: 其机能恢复的研究策略. *Trends Pharmacol Sci* 17 : 192-200.

Crestani F,Martin JR,Mohler H,Rudolph U(2000).安眠药唑吡坦的体内作用机理. *Br J Pharmacol* 131:1251-1254.

Cryan JF,Markou A,LuckiI. 用啮齿动物进行的抗抑郁活性评估: 最新进展和未来的需要. *Trends PharmacolSci*2002; 23 : 238-245

- 15 Davidson GC,Neale JM(1988)*Klinische Psychologie*, Kap.14, München: PsychologischeVerlags Union: 429-74.

Dawson,GR(23.01.1998). WO9937370. 用于治疗例如中枢神经系统病症的产品.

DDG eV = Deutsche Dystoniegesellschaft eV

- 20 Delgado P,Moreno F(1999). 抗抑郁剂和大脑. *Int Clin Psychopharmacol* 14 增刊 1:S9-S16.

Detke MJ,Rickels M,LuckiI. 大鼠强迫游泳试验中 5-羟色胺能和去甲肾上腺素能抗抑郁剂所产生的主动行为的差异. *Psychopharmacology* 1995; 121: 66-72

- 25 Dresser D,MunchauA,Bhatia KP,Quinn NP,Bigalke H(2002). 抗体诱导的肉毒杆菌毒素疗法的不足: 能否通过增加肉毒杆菌毒素剂量来进行克服? *Eur neuron* 47:118-21.

- Dubinsky B,Vaidya AH,Rosenthal DI,HochmanC,Crooke JJ,DeLuca S,DeVine A,Cheo-Isaacs CT,CarterAR,Jordan AD,Reitz AB,Shank RP(2002).5-乙氧基甲基-7-氟-3-氧代-1,2,3,5-四氢苯并[4,5]咪唑并[1,2a]吡啶-4-N-(2-氟苯基)甲酰胺(RWJ-51204), 一种新型非苯并二氮杂革抗焦虑剂. *J Pharmacol Exp Ther* 303 : 777-790.

- Fahn S(1987).张力障碍的系统疗法. *Can J NeuroSci* 14 : 528-32.
- Fredow G,Loscher W(1991).在突发性张力障碍的新突变型仓鼠模型中对 GABA 能神经传递进行药物控制的影响. *Eur J Pharmacol* 192 : 207-219.
- 5 Friedman J,Standaert DG(2001).张力障碍以及其病症. *Neurol Clin* 19:681-705.
- Gao B,Fritschy JM,Benke D,Mohler H(1993). GABA_A-受体亚型的神经元特异性表达: $\alpha 1$ -和 $\alpha 3$ -亚基与 5-羟色胺能和 GABA 能神经元的差别缔合. *Neuroscience* 54:881-892.
- 10 Gerlach J(2002).生活并不容易... *Psychopharmacology* 162: 1-2.
- Gernert M,Bennay M,Fedrowitz M,Rehders JH,Richter A(2002).自发性张力障碍动物模型中基底神经节输出神经元放电模式的变化. *J Neurosci* 22: 7244-53.
- Goodacre SC,Hallett DJ,StreetLJ(07.02. 2002).WO2002010170. 用于作用于治疗例如焦虑、惊厥、恐慌症、社交恐怖症、强迫症、焦虑、偏头痛和精神分裂症的 GABA 受体配体的新型咪唑并吡嗪衍生物.
- 15 Graeff FG,Guimaraes FS,DeAndrade TG,Deakin JFW(1996). 5-HT 在应激、焦虑和抑郁中的作用. *Pharmacol Biochem Behav* 54: 129-141.
- Greene P(1992).用于治疗张力障碍的巴氯芬. *Clin Neuropharmacol* 15 :276-88.
- 20 Guyon A,Laurent S,Paupardin-Tritsch D,Rossier J,Eugene D(1999).大鼠黑质致密部中多巴胺能神经元中 GABA_A 受体电导水平的增加. *J Physiol* 516 :719-737.
- Hamann M,Richter A(2002).突发性张力障碍的遗传学动物模型中纹状体注射 GABA_A 受体激动剂和拮抗剂的作用. *Eur J Pharmacol* 443: 59-70.
- 25 Hamill,O. P. ,Marty,A. ,Neher,E. ,Sakmann,B. ,和 Sigworth,F. J.(1981).用于由细胞和不含细胞的膜片进行高分辨电流记录的改良的膜片钳技术. *Pfugers Arch* 391,85-100.
- 30 Herrero MT,Barcia C,Navarro JM(2002).丘脑和基底神经节的功能解剖学. *Childs Nerv Syst* 18:386-404.
- Hevers,W. ,和 Lüddens,H.(1998).GABA_A 受体的多样性. GABA_A

通道亚型的药理学和电生理学性质. *Mol Neurobiol* 18,35-86.

Hsiung GY, Das SK, Ranawaya R, Lafontaine AL, Suchowersky O(2002). 在 10-年内, 肉毒杆菌毒素 A 在各种运动失调治疗中的长期功效. *Mov Disord* 17: 1288-93.

- 5 Jentsch JD, Roth RH(1999). 苯环利定的神经精神药理学: 从 NMDA 受体机能减退到精神分裂症的多巴胺假说. *NeuroPsychopharmacology* 20 : 201-25.

- Jones N, King SM, Duxon MS(2002). 不稳定的高架暴露十字迷宫 (elevated exposed plus-maze) ——一种大鼠严重焦虑的行为模型预测效度的另一种证据 : 氟西汀和利眠宁的作用差异. *Behav Pharmacol* 13 : 525-535.

Kawata Y, Okada M, Murakami T, Kamata A, Zhu G, Kaneko S(2001). 卡马西平对海马基底、Ca(2+)-和 K(+)-引起的 5-羟色胺释放的作用的药理学差异. *Br J Pharmacol* 133:557-567.

- 15 Klein C, Ozeilius LJ(2002). 张力障碍: 临床特征, 遗传学, 和治疗. *Curr Opin Neurol* 15 : 491-7.

Korpi, E.R., 和 Luddens, H.(1993). 依赖于 γ -氨基丁酸 A 受体 α 亚基的叔-丁基二环偶磷 [^{35}S] 硫代硫酸盐结合的 γ -氨基丁酸区域敏感性. *Mol Pharmacol* 44,87-92.

- 20 Krack P, Vercueil L(2001). 张力障碍的功能性手术治疗综述. *Eur J Neurol* 8 :389-99.

Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, 和 Tamminga CA(2001). 氯胺酮在正常和精神分裂症志愿者中的作用. *NeuroPsychopharmacology* 25 : 455-467.

- 25 Langen B(2002). AWD 131-139、131-175 和 34-117 对不同的焦虑动物模型中与焦虑有关的行为的影响. elbion AG, Pharmacological Research, Study report no. : E131-00139/PH-16/02, 2002 年 10 月 17 日

- Langen B(2003a). E131-00139 在两种焦虑啮齿动物模型中对与焦虑有关的行为的影响. elbion AG, Pharmacological Research, Study report no.: E131-00139/PH-27/03, 2003 年 9 月 15 日

- 30 Langen B(2003b). 氟马西尼在大鼠高架十字迷宫试验中对 E131-00138 的抗焦虑活性的影响. elbion AG, Pharmacological

Research, Study report no.:E131-00139/PH-28/03, 2003 年 9 月 15 日

Li XM, Perry KW, Fuller RW(1996). 氟西汀和 5-羟基-L-色氨酸在清醒大鼠中对新纹状体多巴胺释放的体内调节. *J Pharm Pharmacol* 48 :825-828.

- 5 Lindenmayer JP, Czobor P, Volavka J, Lieberman JA, Citrome L, Sheitman B, Chakos, M, McEvoy JP(2002). 在用典型或非典型的抗精神病药治疗失败后用奥氮平对难以治疗的精神分裂症进行治疗: 一种开放标记的转换研究. *J Clin Psychiatry* 63 : 931-5

- Lopez-Rubalcava C, Lucki I. 在大鼠强迫游泳试验中抗抑郁药行为作用的品系差异. *NeuroPsychopharmacology* 2000; 22: 191-199

Low K, Crestani F, Keist R, Benke D, Brunig I, Benson JA, Fritschy JM, Rulic T, Bluethmann H, Mohler H, Rudolph U(2000). 用于焦虑的选择性衰减的分子和神经元底物. *Science* 290 : 131-134.

- Lucki I. 作为抗抑郁药核心和组成行为作用的模型的强迫游泳试验. *Behav Pharmacol* 1997; 8: 523-532

Lüddens, H., 和 Korpi, E. R.(1995). GABA 拮抗剂在重组的 GABA_A/苯并二氮杂革受体亚型之间的差异. *J Neurosci* 15, 6957-6962.

Lüddens, H., Korpi, E. R., 和 Seeburg, P. H.(1995). GABA_A/苯并二氮杂革受体异质性: 神经生理学推断. *Neuropharmacol* 34, 245-254.

- 20 McKernan R(30.09. 1998). GB2342043. 三唑并-咪唑啉衍生物用于治疗听力丧失, 特别是与年龄有关的听力受损和耳鸣的应用.

Murakami T, Okada M, Kawata Y, Zhu G, Kamata A, Kaneko S(2001). 用体内微量透析来确定抗癫痫药对 SNAREs-介导的海马单胺释放的影响. *Br J Pharmacol* 134 : 507-520.

- 25 Nutt DJ, Forshall S, Bell C, Rich A, Sandford J, Mash J, Argyropoulos S(1999). 选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂在精神病学病症治疗中的作用机理. *Eur Neuropsychopharmacol* 9 增刊 3: S81-S86.

- Nyberg S, Olsson H, Nilsson U, Maehlum E, Halldin C, farde L(2002). 在用非典型的抗精神病药舍吩啉进行治疗期间下纹状体(Low striatal)和外纹状体(extra-striatal)的 D2 受体占用. *Psychopharmacology* 162: 37-41.

Okada M, Kawata Y, Kiryu K, Mizuno K, Wada K, Inomata H, Tasaki

H,Kaneko S(1997).苯妥英在无毒的浓度和有毒的浓度下对大鼠脑内单胺水平的影响. *Epilepsy Res* 28: 155-163.

Owens MJ,Nemeroff CB(1994).5-羟色胺在抑郁的病理生理学中的作用: 着眼于 5-羟色胺运载体. *Clin Chem* 40: 288-295.

- 5 Pauls DL,Korczyn AD(1990).张力障碍谱系的复杂的分离分析表明常染色体显性遗传. *Neurology* 40:1107-10.

Paxinos G 和 Watson C(1986).趋实体坐标中的大鼠脑.第 2 版. Academic Press inc. 伦敦.

- 10 Pei Q,Zetterstrom T,Fillenz M(1989).苯并二氮杂革激动剂的全身和局部给药都可抑制前侧海马 5-HT 的体内释放.*Neuropharmacology* 28 : 1061-1066.

Platt DM,Rowlett JK,Spealman RD,Cook J,Ma C(2002). GABA_A/α1-优选拮抗剂 β-CCt 对唑吡坦和三唑仑在松鼠猴体内的共济失调作用的选择性拮抗. *Psychopharmacology(Berl)*164: 151-159.

- 15 Porsolt RD,Bertin A,Blavet N,Deniel M,Jalfre M.在大鼠强迫游泳试验中诱导的不动性: 可改变中枢儿茶酚胺和 5-羟色胺活性的物质的作用. *Eur J Pharmacol* 1979; 57 : 201-210

Porsolt RD,Le PichonM,Jalfre AA. 抑郁: 一种对抗抑郁治疗敏感的新动物模型. *Nature*1977 ;266 : 730-732

- 20 Porsolt RD.抑郁的动物模型: 对于转基因研究的实用性. *Rev Neurosci* 2000; 11: 53-58

Prasad S,Semwal P,Deshpande S,Bhatia T,Nimgaonkar VL,Thelma BK(2002).精神分裂症的分子遗传学: 过去, 现在和未来. *J Biosci* 27: 35-52.

- 25 Pritchett,D. B. ,和 Seeburg,P. H.(1990).产生了新的 II 型苯并二氮杂革受体药理学的 γ-氨基丁酸 A 受体 α 5-亚基. *J Neurochem*54,1802-1804.

Pritchett,D.B.,Lüddens,H. ,和 Seeburg,P. H.(1989).在转细胞中产生的 I 型和 II 型 GABA_A-苯并二氮杂革受体. *Science* 245,1389-1392.

- 30 Pritchett,D. B. ,Sontheimer,H. ,Shivers,B. D. ,Ymer,S. , Kettenmann, H.,Schofield,P. R. ,和 Seeburg,P. H.(1989).新型 GABA_A 受体亚基对苯并二氮杂革药理学的重要性. *Nature* 338,582-585.

Rawicki B (1999). 通过用可植入的泵连续向鞘内传递巴氯芬对脑源性痉挛状态进行治疗: 18 名患者的长期随访综述. *J Neurosurg* 91:733-6.

5 Rex A, Schickert R, Fink H. 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)在大鼠强迫游泳试验中的抗抑郁剂样作用. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; in press

Richter A, Loscher W (1999). 加巴喷丁在低剂量下降低了突发性张力障碍舞蹈徐动症的遗传学动物模型中张力障碍的严重程度. *Eur J Pharmacol* 369: 335-8.

10 Richter A, Loscher W (2000). 在遗传学啮齿动物模型中用苯巴比妥长期进行治疗期间突发性张力障碍奇异的恶化. *Eur J Pharmacol* 397 : 343-50.

Rodriguez-Pallares J, Caruncho HJ, Lopez-Real A, Wojcik S, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL (2001). 大鼠脑胆碱能、多巴胺能、去甲肾上腺素能和 5-羟色胺能神经元表达得自 $\alpha 3$ 亚基的 GABA_A 受体. *Receptors Channels* 7: 471-478.

Sams-Dodd F (1998). 地西洋、西酞普兰、美沙酮和纳洛酮对大鼠社会相互作用试验中 PCP-诱导的刻板行为和社会隔离的影响. *Neurosci Biobehav Rev* 23: 287-93.

20 Sawa A, Snyder SH (2002). 精神分裂症: 治疗复杂疾病的各种方法. *Science* 296: 692-695.

Siep E, Richter A, Loscher W, Speckmann EJ, Kohling R (2002). 张力障碍的 dt(sz) 仓鼠纹状体神经元的钠电流: 对拉莫三嗪响应的变化. *Neurobiol Dis* 9 : 258-68.

25 Stokes PE, Holtz A (1997). 氟西汀第十周年的最新资料: 继续发展. *Clin Ther* 19: 1135-1250.

Tao R, Auerbach SB (2000). GABA 以及刺激性氨基酸对 5-羟色胺释放的调节. *J Psychopharmacol* 14: 100-113.

30 Tauber M, Calame-Droz E, Prut L, Rudolph U, Crestani F (2003). 与地西洋和酒精在体内联用时, $\alpha 2$ - γ -氨基丁酸(GABA)_A 受体是介导出现麻醉而不是镇静的分子底物. *Eur J Neurosci* 18 : 2599-2604.

Taylor CP, Gee NS, Su TZ, Kocsis JD, Welty DF, Brown JP, Dooley

DJ,Boden P,Singh L(1998).加巴喷丁药理学机械假设的概述. *Epilepsy Res*29 :233-249.

Thyagarajan D(2001).运动失调的遗传学: 简略概述. *Stereotact Funct Neurosurg* 77 : 48-60.

- 5 Vercueil L,Krack P,Pollak P(2002).张力障碍进行深部脑刺激的结果: 关键的重新评估. *Mov Disord* 17:S89-93.

Wither P.抑郁的动物模型: 综述. *Pharmacol Ther* 1990; 45 : 425-455

- Willner P. 抑郁动物模型的有效性. *Psychopharmacology* 1984; 83: 1-16

Wisden,W. ,Herb,A.,Wieland,H. ,Keinänen,K. ,Lüddens,H. ,和 Seeburg,P. H.(1991).大鼠 GABA_A 受体 $\alpha 4$ 亚基的克隆、药理学特性和表达模式. *FEBS Lett* 289,227-230.

- 15 Ziprasidone(CP-88,059): 一种结合了多巴胺和 5-羟色胺受体拮抗剂活性的新型抗精神病药. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 101-13.

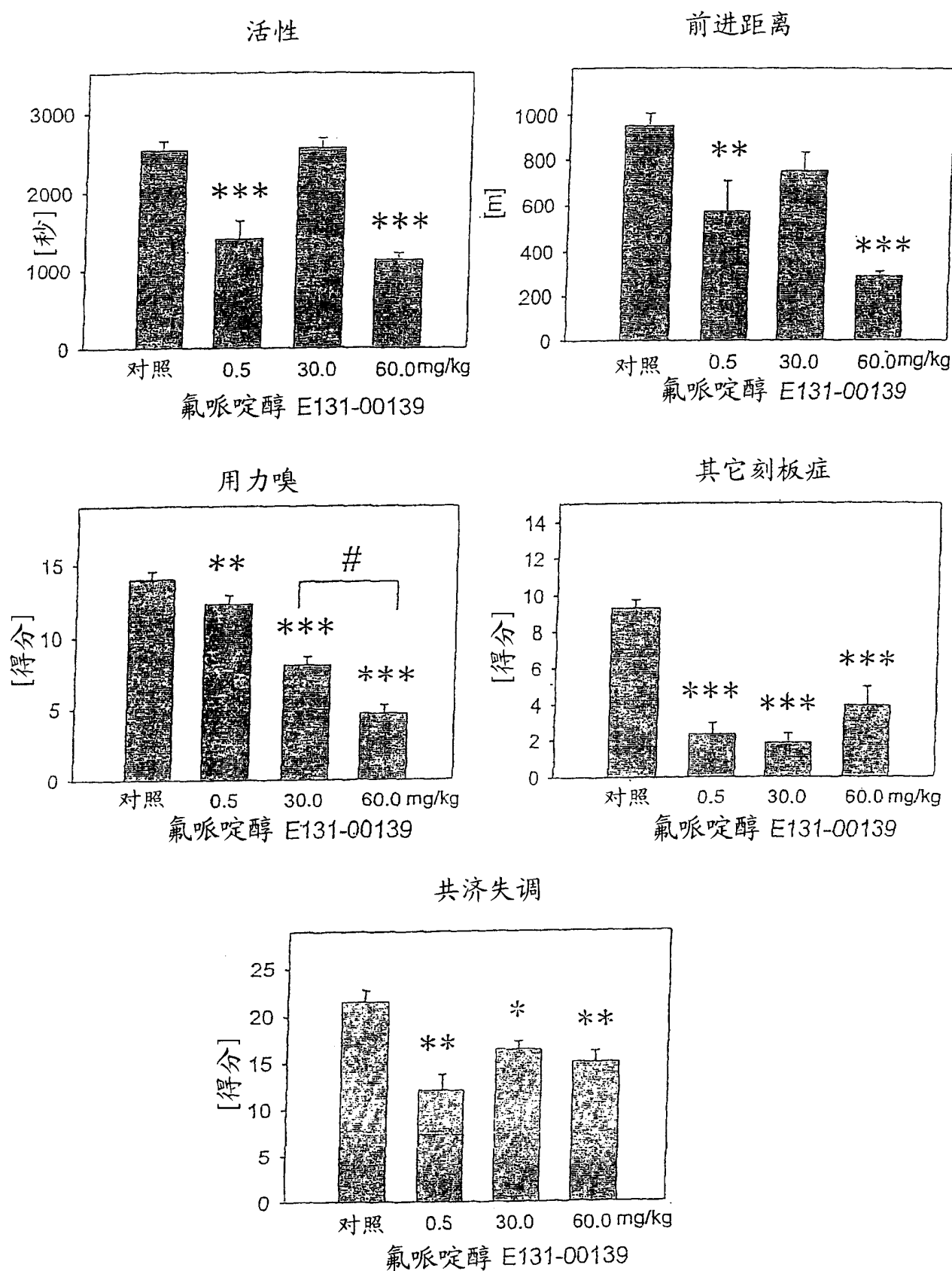


图 1

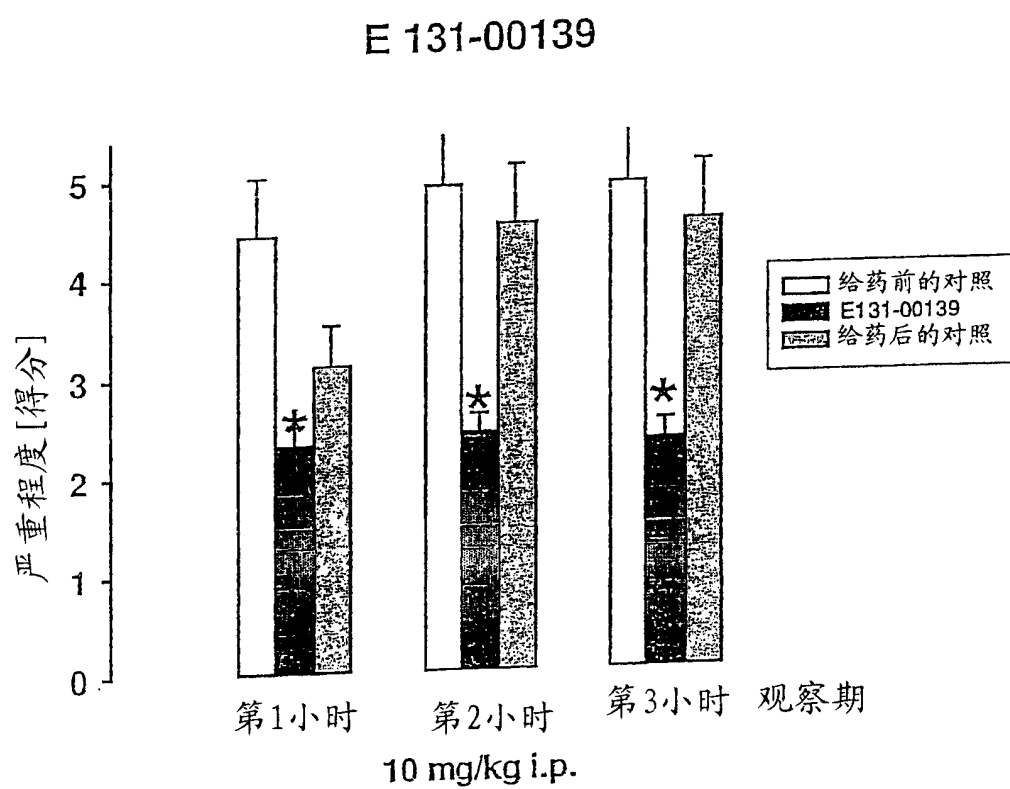


图 2

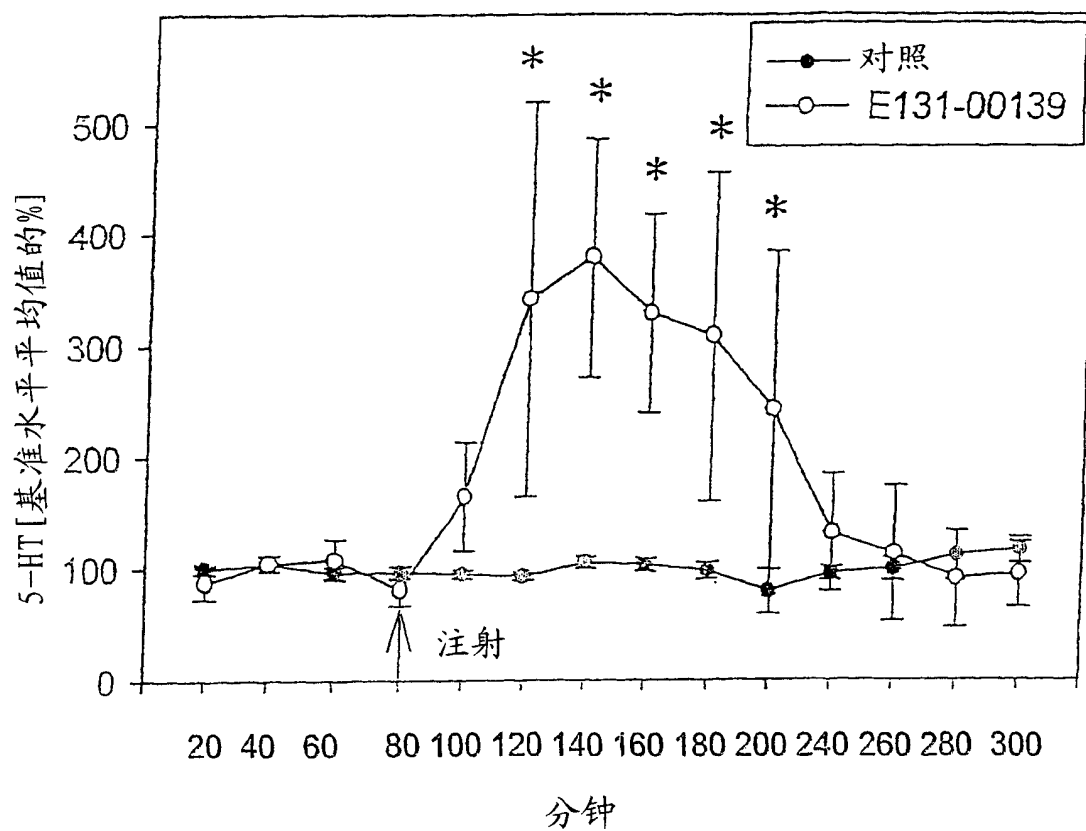


图 3

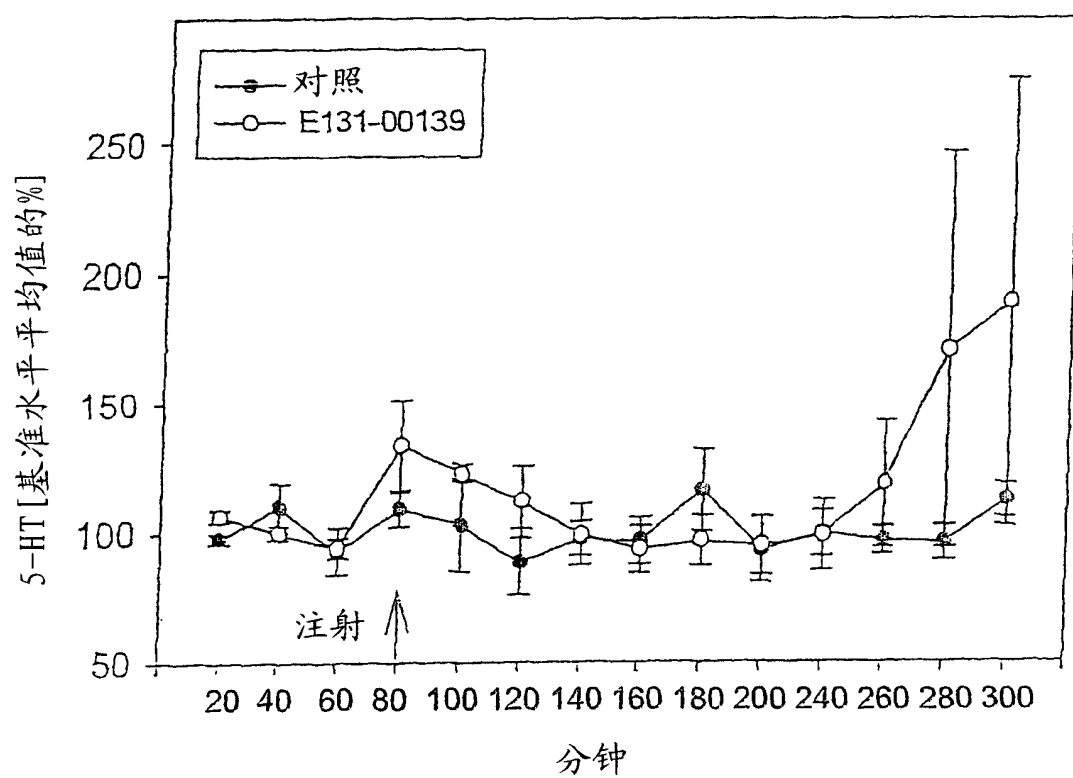


图 4

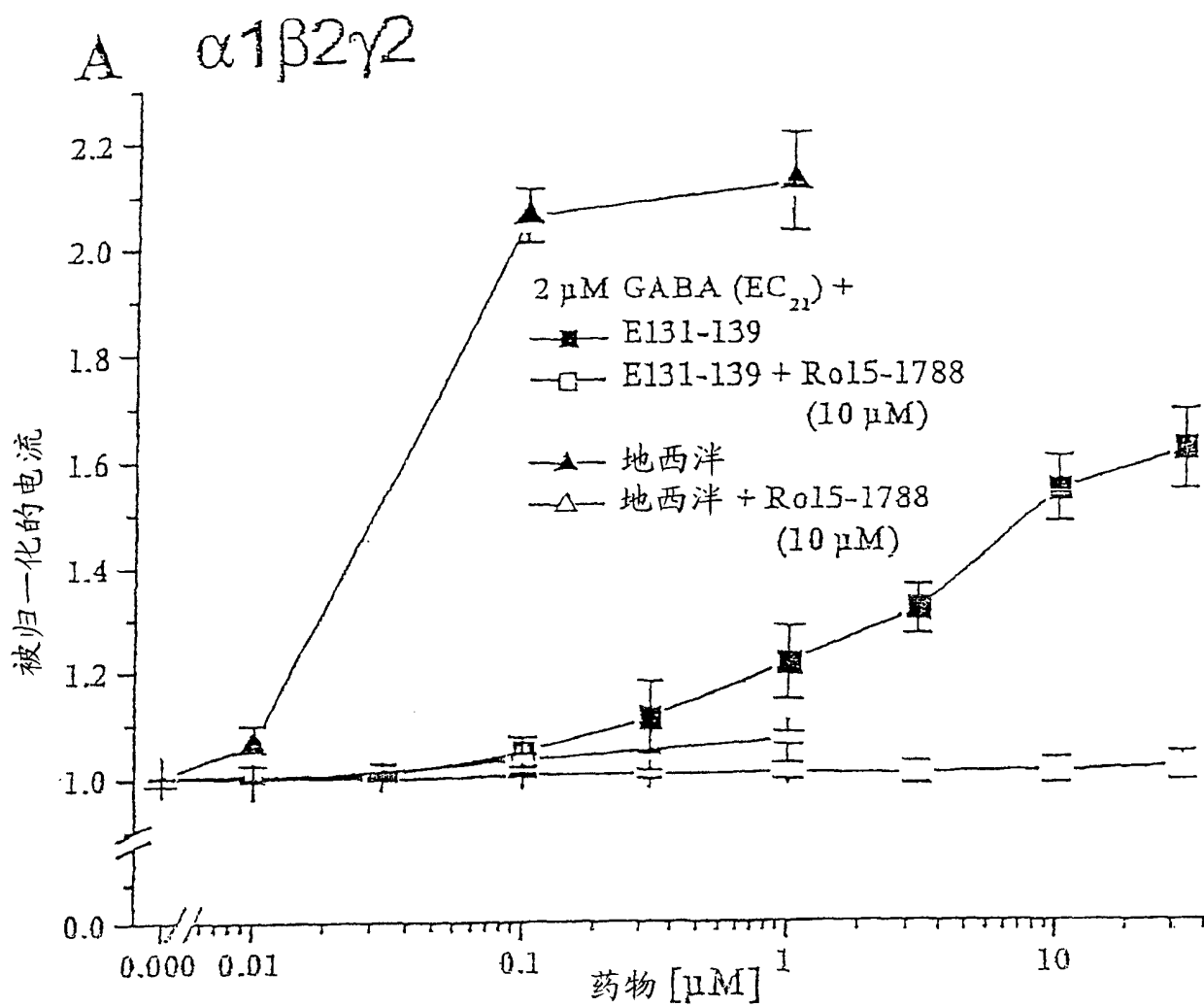


图 5

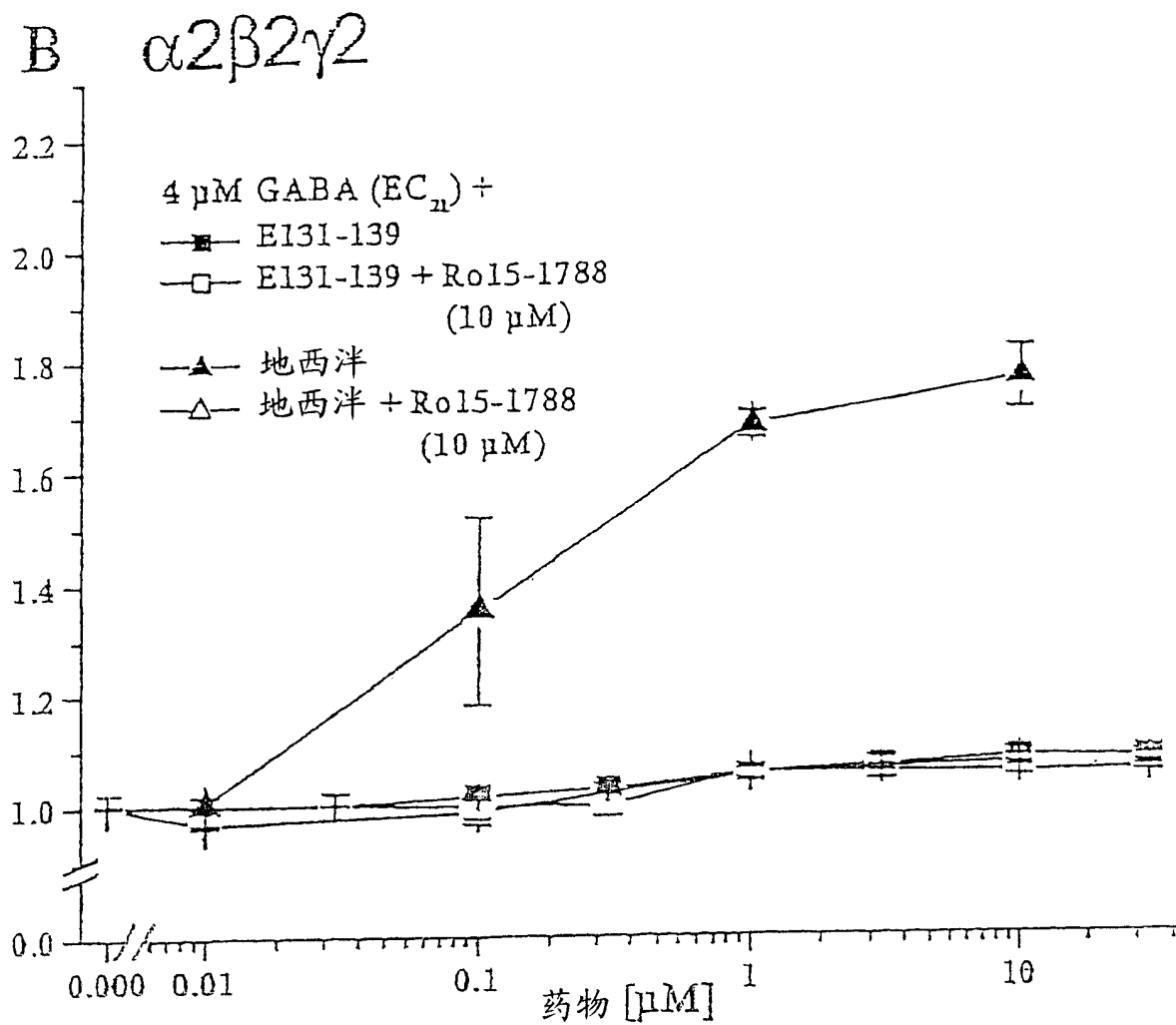


图 5(续)

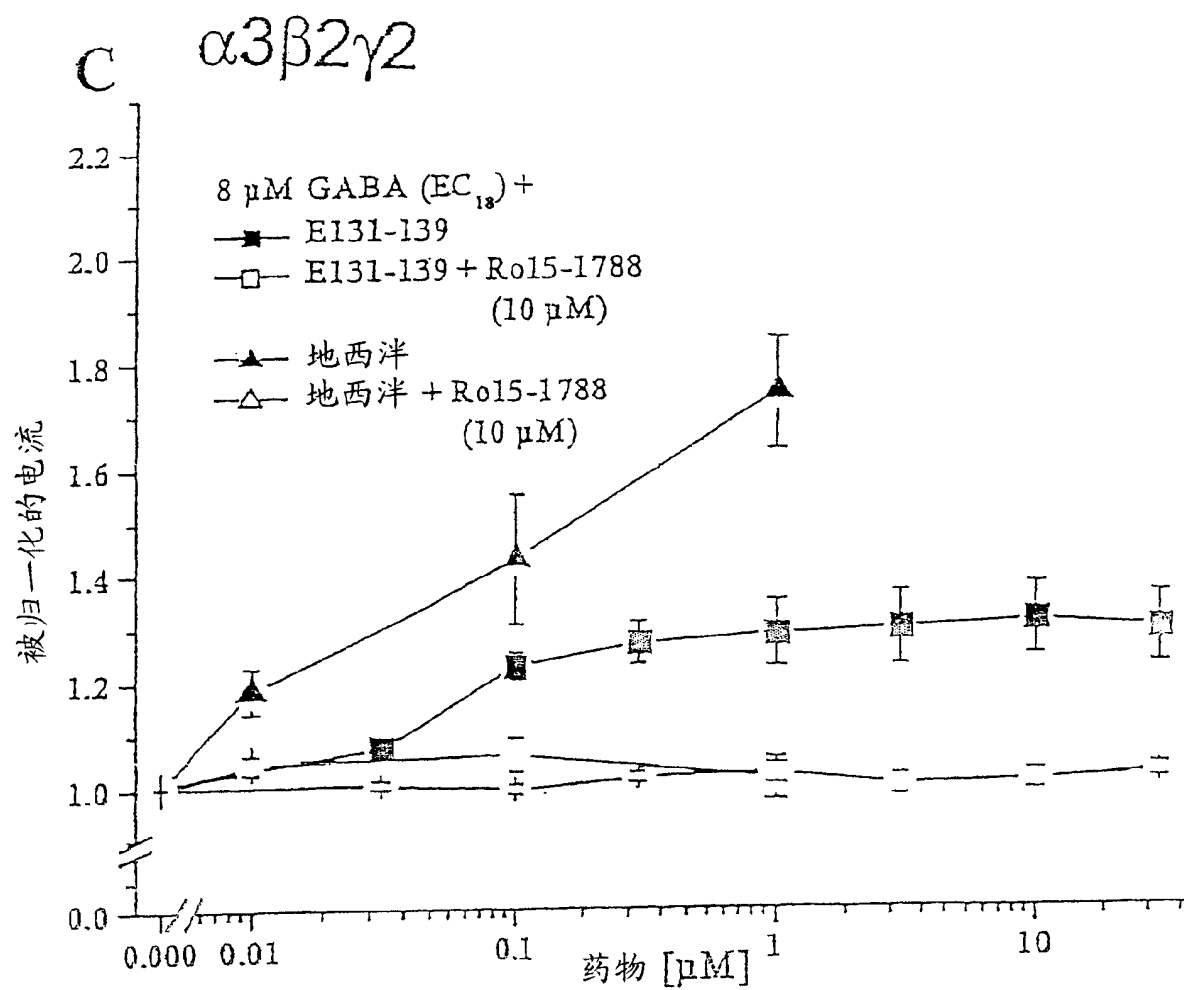


图 5(续)

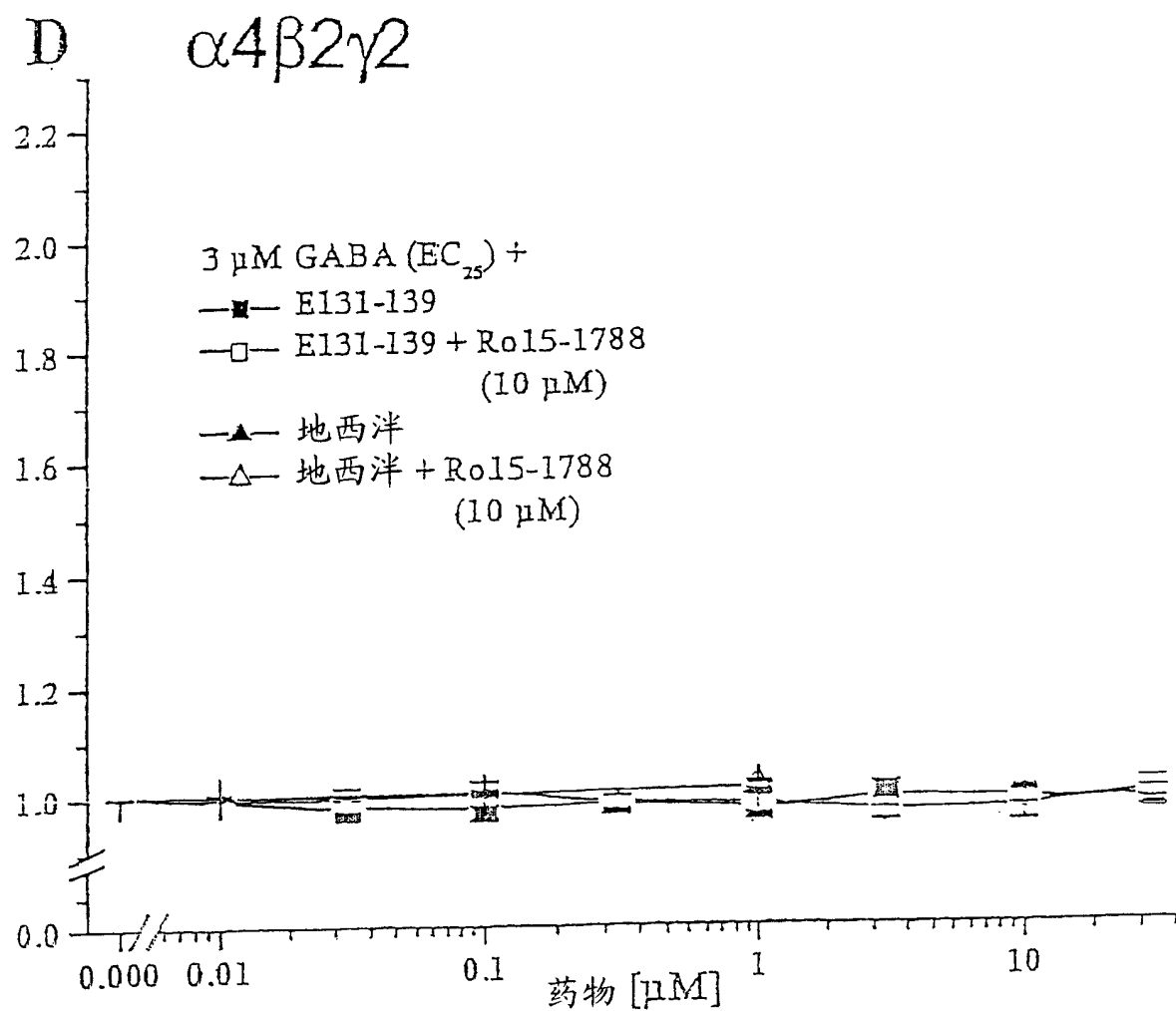


图 5(续)

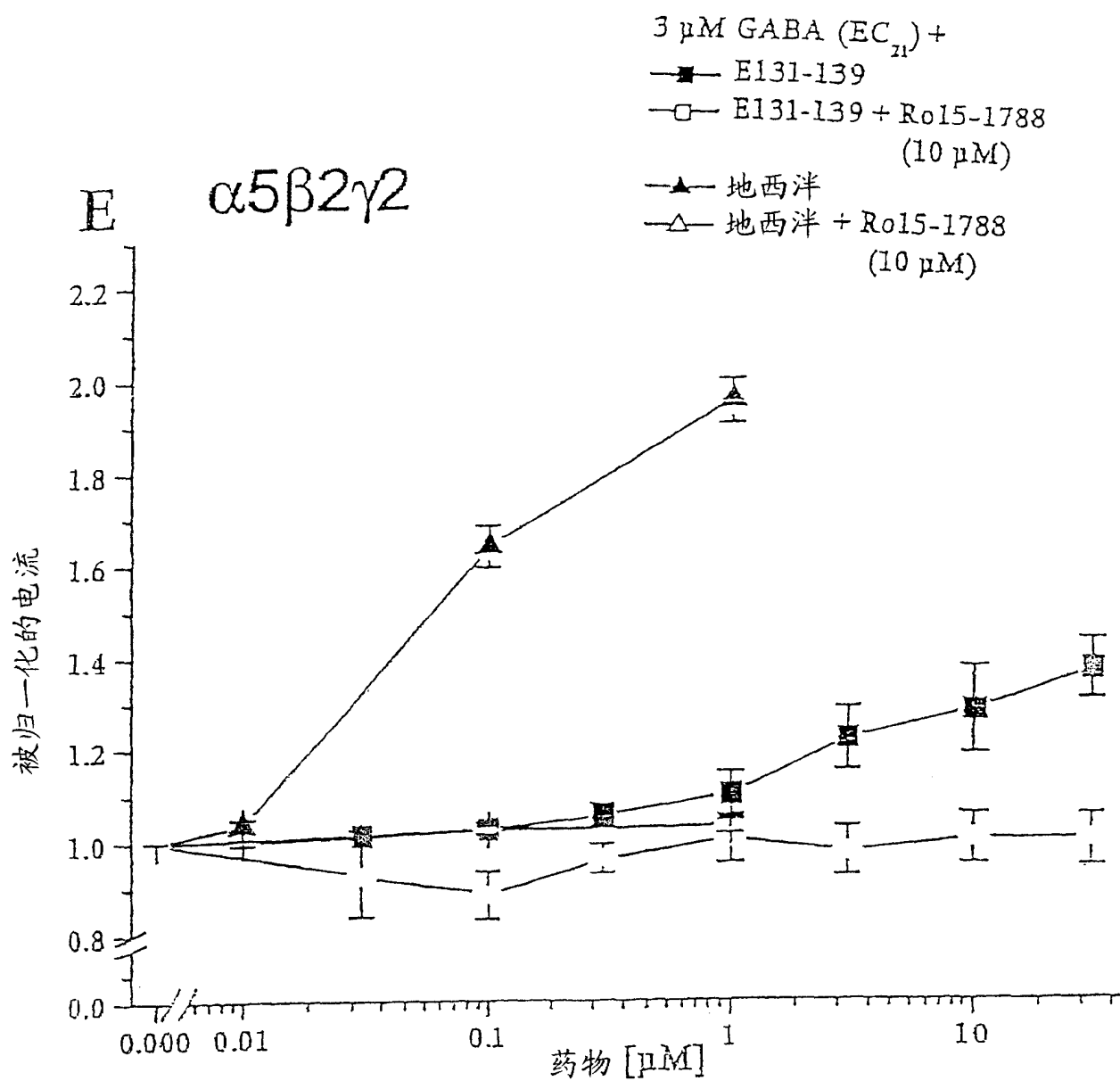


图 5(续)

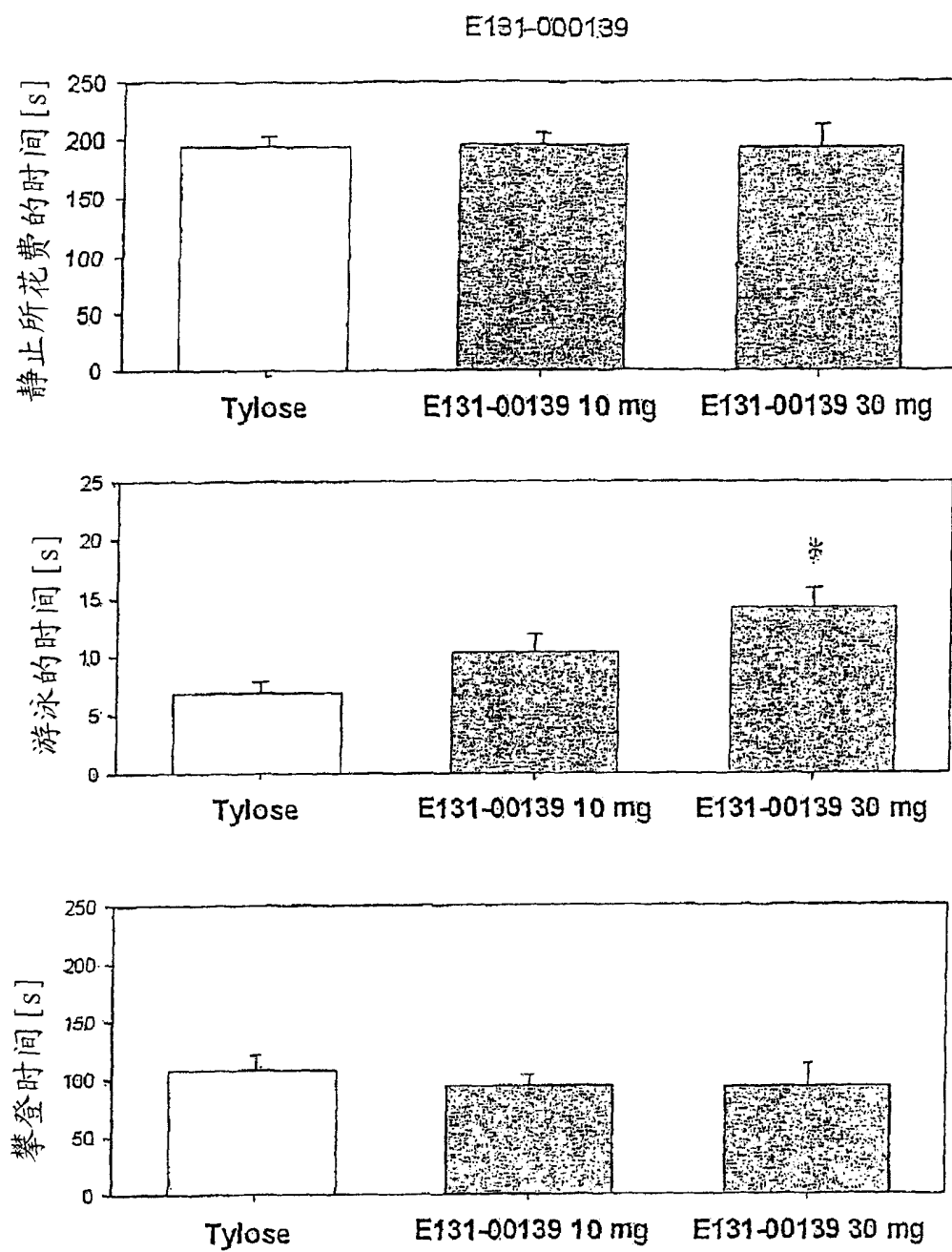


图 6

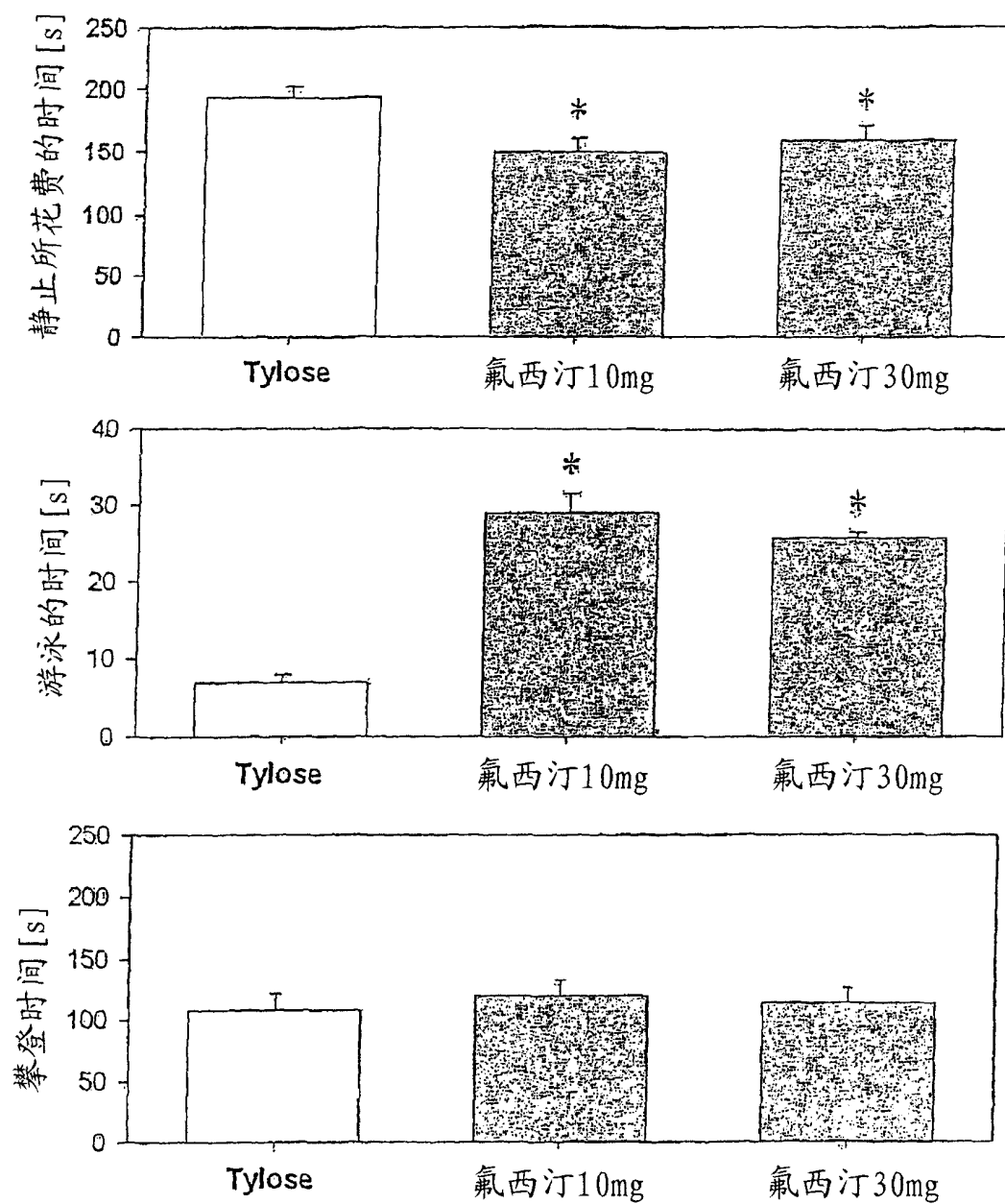


图 7

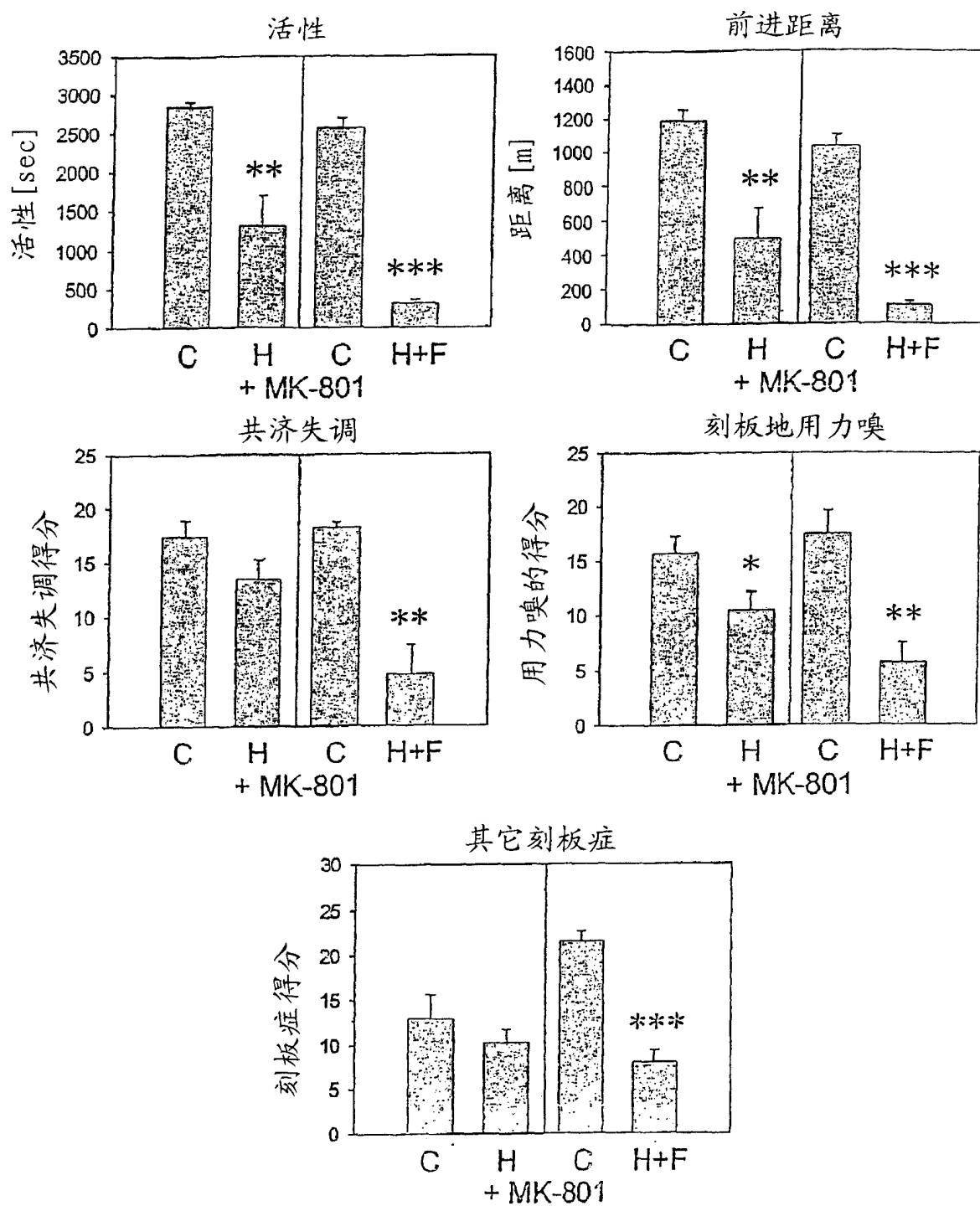


图 8

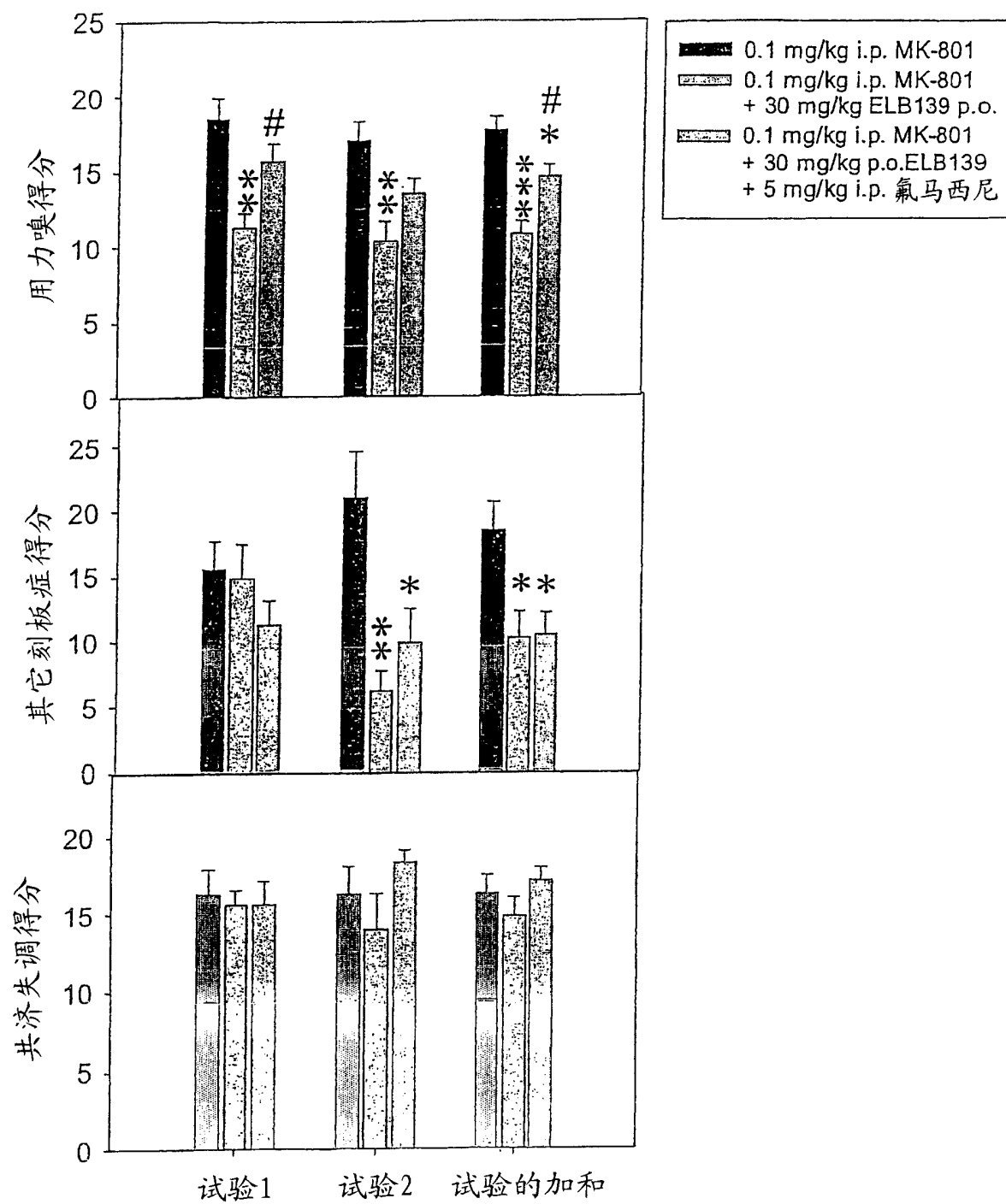


图 9

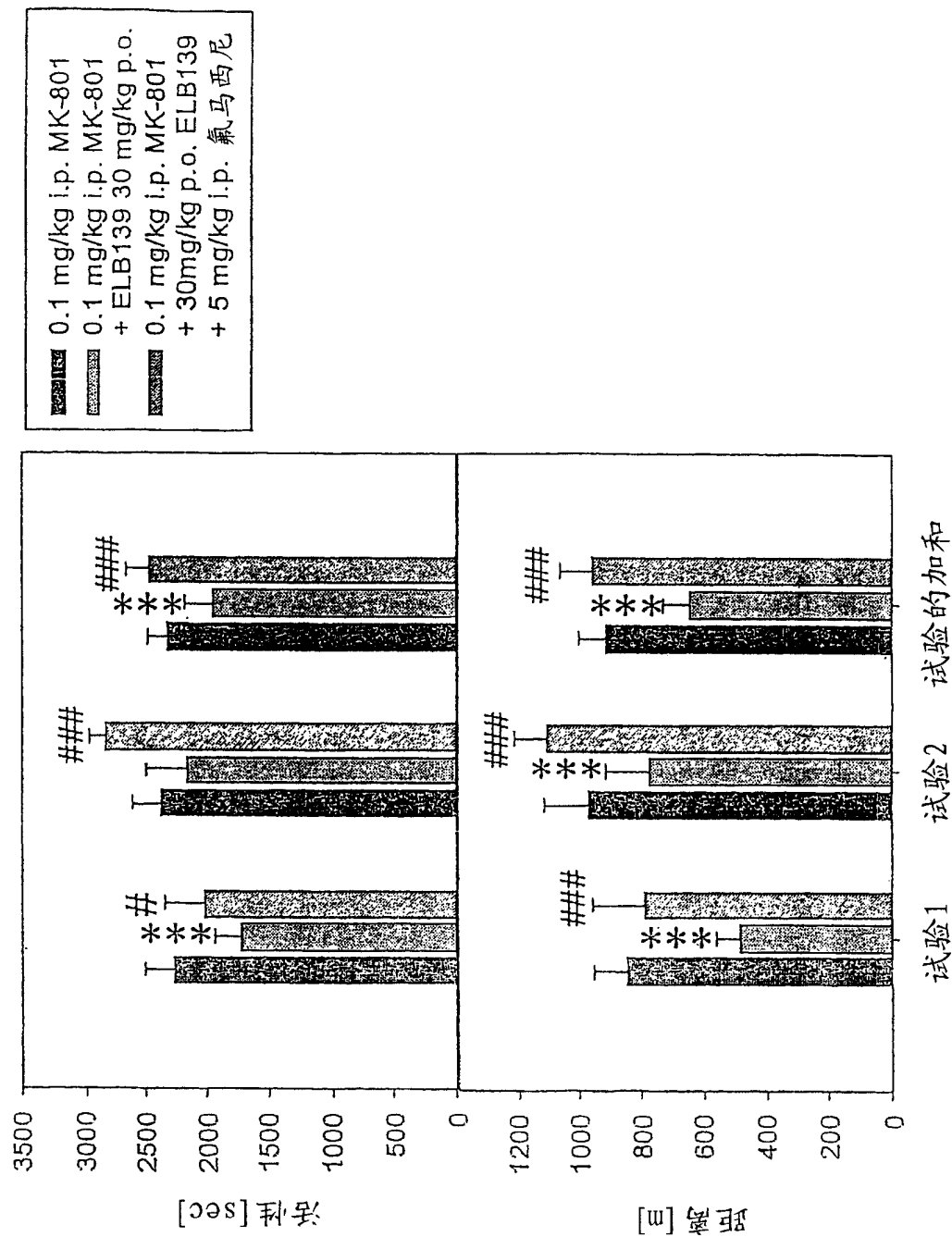


图 10a

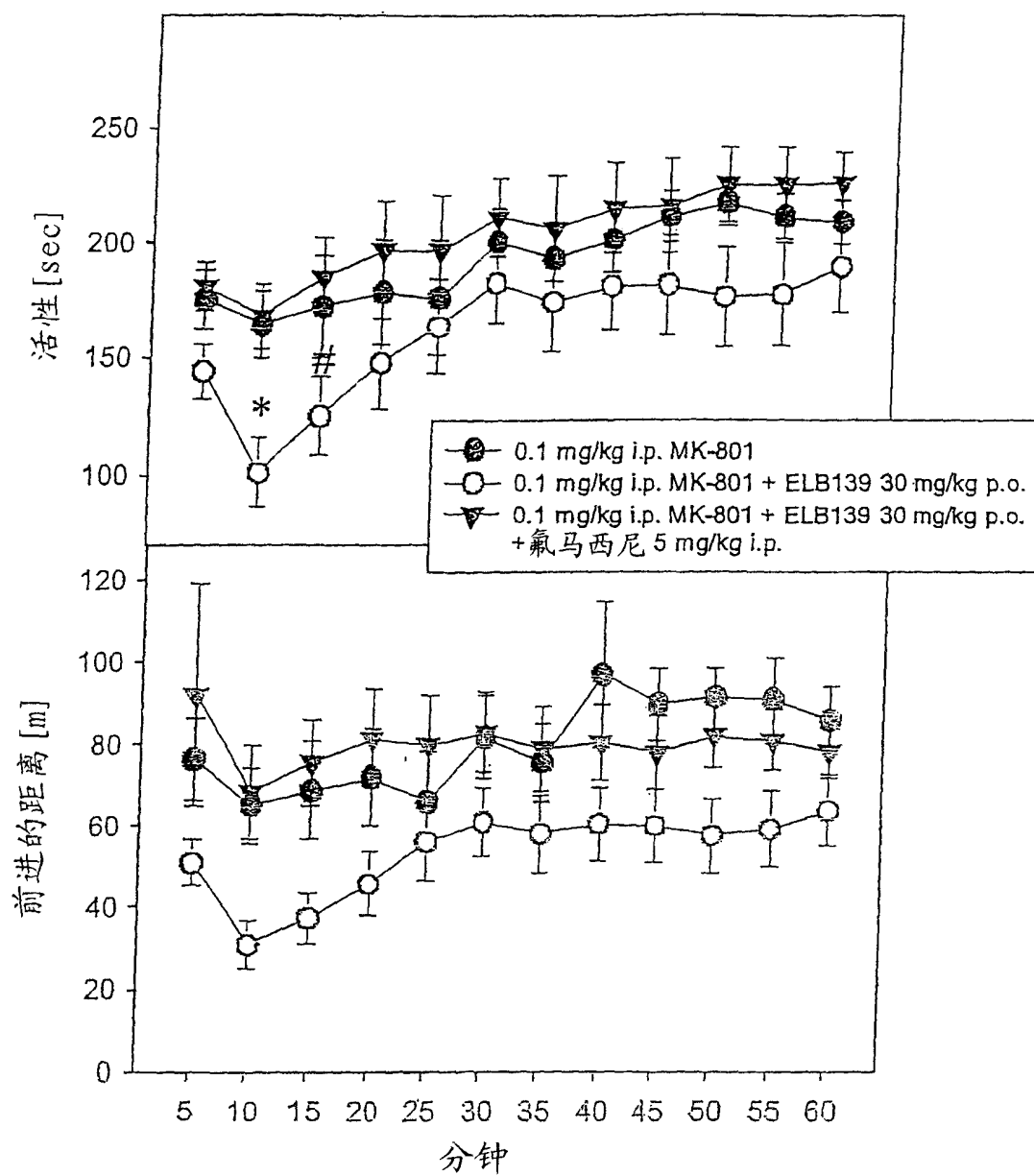


图 10b