

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/517



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00818827.0

A61K 31/519 A61K 31/55
A61K 31/135 A61K 31/137
A61K 31/15 A61K 31/343
A61K 31/4525 A61K 31/496
A61K 31/451 A61K 31/55
C12Q 1/00 G01N 33/50
[11] 公开号 CN 1433313A

[43] 公开日 2003 年 7 月 30 日

[22] 申请日 2000.12.6 [21] 申请号 00818827.0

[30] 优先权

[32] 1999.12.6 [33] US [31] 60/169,245

[86] 国际申请 PCT/DK00/00671 2000.12.6

[87] 国际公布 WO01/41701 英 2001.6.14

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.5

[71] 申请人 H. 隆德贝克有限公司

地址 丹麦哥本哈根

[72] 发明人 T·I·F·H·克雷默斯

H·W·维克斯特伦

J·A·登贝尔 F·J·波斯克尔

B·H·C·维斯特林克

K·P·波格索 S·霍格

A·莫克

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 关立新 杨九昌

G01N 33/00

权利要求书 3 页 说明书 19 页

[54] 发明名称 血清素再摄取抑制剂与 5-HT_{2c} 拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的组合

[57] 摘要

本发明涉及具有血清素再摄取抑制活性和 5-HT_{2c} 拮抗、部分激动或反向激动活性的化合物和化合物的组合物在治疗抑郁症和其它情感性精神病中的应用。组合的血清素再摄取抑制作用和 5-HT_{2c} 拮抗、部分激动或反向激动作用可存在于同一化合物中或两个不同的化合物中。

ISSN 1008-4274

1. 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂在制备用于和血清素再摄取抑制剂联合使用的药物组合物中的应用。

2. 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂在制备用于增强和/或提供加快开始的血清素再摄取抑制剂的效力的药物组合物中的应用。

3. 权利要求 1 或 2 的应用，其中所述血清素再摄取抑制剂是用于治疗抑郁症，焦虑症，和其它情感性精神病，包括泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症或社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用和对 SRI 起反应的任何其它病症。

4. a) 是血清素再摄取抑制剂和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物，或

b) 是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物的组合

在制备用于治疗下列病症的药物组合物中的应用：抑郁症，焦虑症，和其它情感性精神病，例如泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症和社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用或对血清素再摄取抑制剂起反应的任何其它病症。

5. 权利要求 4 的应用，其中是血清素再摄取抑制剂和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物用于制备药物组合物。

6. 权利要求 4 的应用，其中使用是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体配体的另一化合物的组合。

7. 权利要求 1-6 的应用，其中使用选择性血清素再摄取抑制剂。

8. 权利要求 1-6 的应用，其中使用对 5-HT_{2C} 受体有选择性的化合物。

9. 权利要求 1-6 的应用，其中使用 5-HT_{2C} 受体的拮抗剂或反向激动剂。

10. 权利要求 1-4 和 6-9 的应用, 其中 SRI 选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西丁、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明。

5 11. 权利要求 1-4 和 6-9 的应用, 其中 5-HT_{2C} 受体配体选自酮舍林、SB 242084、SB 206553、SB 243213、SB 228356、利坦色林、德伦环烷、米氮平、米塞林、舍吲哚、YM 35992、Ro 60-0795、Org 38457、Org 12962、EGIS 8465 和 RS 102221。

12. 药物组合物, 其中包含:

- 10 a) 是血清素再摄取抑制剂、和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物, 或
- b) 是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的另一化合物的组合, 和任选含有的可药用载体或稀释剂。

15 13. 权利要求 12 的药物组合物, 其中包含是血清素再摄取抑制剂、和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物。

14. 权利要求 12 的药物组合物, 其中包含是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的另一化合物的组合。

20 15. 权利要求 12-14 的药物组合物, 其中所述血清素再摄取抑制剂是选择性血清素再摄取抑制剂。

16. 权利要求 12-14 的药物组合物, 其中所述 5-HT_{2C} 拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂对 5-HT_{2C} 受体有选择性。

17. 权利要求 12-14 的药物组合物, 其中所述 5-HT_{2C} 配体是作为 5-HT_{2C} 受体拮抗剂或反向激动剂的化合物。

25 18. 权利要求 14 的药物组合物, 其特征在于, 所述血清素再摄取抑制剂选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西丁、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明。

30 19. 权利要求 14 的药物组合物, 其特征在于, 所述 5-HT_{2C} 配体选自酮舍林、SB 242084、SB 206553、SB 243213、SB 228356、利坦色林、德伦环烷、米氮平、米塞林、舍吲哚、YM 35992、Ro 60-0795、Org 38457、Org 12962、EGIS 8465 和 RS 102221。

20. 权利要求 12 的药物组合物，其中所述药物组合物适于同时施用活性组分。

21. 权利要求 20 的药物组合物，其中所述活性组分包含在同一单位剂型中。

5 23. 权利要求 12 的药物组合物，其中所述药物组合物适于顺序施用活性组分。

24. 权利要求 20 或 23 的药物组合物，其中活性组分包含在不连续的剂型中。

25. 鉴定可用于治疗下列病症的化合物的方法：抑郁症，焦虑症，
10 和其它情感性精神病，例如泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症和社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用或对血清素再摄取抑制剂起反应的任何其它病症，包括以任意顺序

15 (a) 测定测试化合物抑制血清素再摄取的能力，并选择 IC_{50} 值低于 20 nM 的化合物；

(b) 测定测试化合物对 5-HT_{2C} 受体的亲和力，并选择 K_i 值低于 30 nM 的化合物；

20 然后测定所选的化合物对 5-HT_{2C} 受体的效力，并选择是该受体的拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物。

26. 根据权利要求 25 鉴定的化合物。

血清素再摄取抑制剂与 5-HT_{2C} 拮抗剂、
反向激动剂或部分激动剂的组合

5 本发明涉及具有选择性血清素再摄取抑制活性和 5-HT_{2C} 拮抗、
部分激动或反向激动活性的一些化合物和化合物的组合物在治疗抑郁症和其它情感性精神病中的应用。组合的血清素再摄取抑制作用和 5-HT_{2C} 拮抗、部分激动或反向激动作用可存在于同一化学实体或两个单独的化学实体中。

10

发明背景

选择性血清素再摄取抑制剂(下文中称为 SSRIs)已成为了治疗抑郁症、一些形式的焦虑症和社交恐怖症的首选药物, 因为与经典的三环类抗抑郁药相比, 它们是有用的, 良好地耐受, 并具有良好的安全性。

15

然而, 对抑郁症的临床研究表明, 有大量抑郁症患者对 SSRIs 不起作用, 最高达 30%。在抑郁症治疗中经常被忽视的另一因素是配合性, 这对患者继续接受药物疗法的促动性有相当大的影响。

20

首先, SSRIs 的疗效有延迟。在治疗的最初几周内, 有时症状甚至会加重。其次, 性功能障碍是所有 SSRIs 共有的副作用。在没有解决这些问题的情况下, 在抑郁症和焦虑症的药物疗法中不能取得实际进展。

为了应对非反应问题, 精神病学家有时采用加强策略。加强抗抑郁药物治疗可通过联合施用情绪稳定剂例如碳酸锂或三碘甲腺原氨酸或者通过使用电击疗法来实现。

25

已经在几个实验中评价了联合施用抑制血清素再摄取的化合物与 5-HT_{1A} 受体拮抗剂的作用(Innis, R.B.等人 Eur. J. Pharmacol. 1987, 143, p. 1095-204 和 Gartside, S.E. Br. J. Pharmacol. 1995, 115, p 1064-1070, Blier, P.等人 Trends in Pharmacol. Science 1994, 15, 220)。在这些实验中发现, 5-HT_{1A} 受体拮抗剂消除了开始由血清素再摄取抑制剂引起的对 5-HT 神经传递的阻断作用, 并因此即时提高了

30

5-HT 传递以及迅速开始治疗作用。

已经提交了涉及 5-HT_{1A} 受体拮抗剂与血清素再摄取抑制剂的组

合在治疗抑郁症中的应用的几个专利申请(参见例如 EP-A2-687 472 和 EP-A2-714663)。

5 增加末端 5-HT 的另一方法是阻断 5-HT_{1B} 自身受体。在大鼠中进行的微透析实验表明, 通过西酞普兰增加海马 5-HT 的作用被 GMC 2-29——一种实验 5-HT_{1B} 受体拮抗剂加强了。

还已经提交了涉及 SSRI 与 5-HT_{1B} 拮抗剂或部分激动剂的组合的几个专利申请(WO 97/28141、WO 96/03400、EP-A-701819 和 WO 99/13877)。

10 已经证实了 5-HT_{2C} 配体可影响大鼠额皮层中多巴胺(DA)和去甲肾上腺素(NE)的释放。因此, 5-HT_{2C} 激动剂 Ro 60-0175 和选择性 5-HT_{2C} 拮抗剂 SB-242084 分别抑制和增加 DA 与 NE 的水平, 同时没有改变血清素(5-HT)的水平(Millan, M. J.等人 Neuropharmacology 1998, 37, p 953-955)。使用选择性 5-HT_{2B/2C} 拮抗剂 SB-206553 观察到了类似结果(Gobert, A.等人 Neuropharmacology 1999, 38, p 315-317)。
15 用选择性激动剂 MK-212 激活 5-HT_{2C} 受体抑制了大鼠听神经核中吗啡引起的 DA 释放(Willins, D. L.等人 Brain Res. 1998 781, p 291-299)。以前的报道证实了利坦色林拮抗了大鼠海马中喹哌嗪引起的 NE 释放下降(Done, C. J.等人 Br J Pharmacol. 1992, 107, p 240-245)。因此, 5-HT_{2C} 受体似乎影响 NE 和 DA 的释放, 但是不影响 5-HT 的
20 释放。在 Milan 等人(1998, 1999)的研究中, 单独注射了 5-HT_{2C} 配体, 但是发现对 5-HT 释放没有任何影响。

已知西酞普兰和氟西汀对 5-HT_{2C} 受体有中间介导的亲合力 (Palvimaki, E.P. Psychopharmacology (Berl.) 1996, 126, p 234-240)。此外, 据报道长期施用西酞普兰、氟西汀和帕罗西汀导致 5-HT_{2C} 受
25 体功能性失敏(Kennett, G.A.等人 Neuropharmacology 1994, 33, p 1581-1588, Maj J.等人 Psychopharmacology (Berl) 1996, 127, p 73-82, 和 Quested, D.J. Psychopharmacology (Berl.) 1997, 133, 305-308)。还已经有人提出, 该变化可有助于对抑郁症、焦虑症和 OCD (强迫观念与行为障碍)产生疗效。

30 在最近的临床实验中发现, 哌罗洛尔和米安色林增强了氟西汀治疗抗抑郁患者的疗效, 并且当与氟西汀联合使用时, 米安色林可缩短抗抑郁作用开始的潜伏期。米安色林在该实验中的作用可通过涉及米

安色林对去甲肾上腺素转换的作用、 α_2 -受体阻断作用及其对 5-HT_{2A/2C} 受体的拮抗作用的至少 4 种不同机制来解释(Maes, M.等人 J. Clin. Psychopharmacol, 1999, 19, 2, p 177-182)。

然而, 还据报道, 在小鼠强迫游泳测试中, 事先施用选择性 5-HT_{2A/2C} 拮抗剂利坦色林(4 mg/kg i.p.)或酮舍林(8 mg/kg i.p.)增强了丙咪嗪(mg/kg i.p.)和地昔帕明(16 mg/kg i. p.)的作用, 而没有增强氟西汀(16 mg/kg i.p.)、西酞普兰(16 mg/kg i.p.)或氟伏沙明(8 mg/kg i.p.)的作用(Redrobe, J. P.等人 Eur J Pharmacol. 1997, 325, 129-135)。

现在已经发现, 血清素再摄取抑制剂与具有 5-HT_{2C} 拮抗或反向激动作用的化合物(对 5-HT_{2C} 受体具有负性效力的化合物)的组合显著提高了如在微透析实验中测定的末端区域中的 5-HT 水平。

特别是已经发现, 与 SSRI 联合使用的酮舍林、利坦色林、RS 102221、((+)-反式-1-(5-氯-3-(4-氟苯基)-1-二氢茛基)-4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)哌嗪和 2,5-二甲基-3-(4-氟苯基)-1-[1-[2-(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]哌啶-4-基]-1H-吡啶协同作用提高了细胞外血清素水平。在给人施用, 这意味着在临床上缩短了抗抑郁作用开始所需的时间, 以及加强或增强血清素再摄取抑制剂(SRI)的疗效。

本发明

因此本发明提供了:

5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂在制备用于和血清素再摄取抑制剂联合使用的药物组合物中的应用。

本发明特别涉及 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂在制备用于增强和/或提供加快开始的血清素再摄取抑制剂的效力的药物组合物中的应用。

在优选的实施方案中, 本发明涉及上述应用, 其中血清素再摄取抑制剂是用于治疗抑郁症, 焦虑症, 和其它情感性精神病, 包括泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症或社交焦虑症, 饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症, 恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用和对 SRI 起反应的任何其它病症。

在另一个实施方案中, 本发明涉及

a) 是血清素再摄取抑制剂和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分

激动剂的化合物，或

b) 是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物的组合

5 在制备用于治疗下列病症的药物组合物或药盒中的应用：抑郁症，焦虑症，和其它情感性精神病，例如泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症和社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用或对血清素再摄取抑制剂起反应的任何其它病症。

10 在另一实施方案中，本发明涉及药物组合物或药盒，其中包含：

a) 是血清素再摄取抑制剂、和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物，或

b) 是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的另一化合物的组合，

15 和任选含有的可药用载体或稀释剂。

在另一实施方案中，本发明涉及治疗下列病症的方法：抑郁症，焦虑症，和其它情感性精神病，例如泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症和社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用或对血清素再摄取抑制剂起反应的任何其它病症，包括给需要治疗的人施用治疗有效量的

20 a) 是血清素再摄取抑制剂、和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物，或

25 b) 是血清素再摄取抑制剂的化合物与是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物的组合。

在一个特别的实施方案中，依据本发明使用选择性血清素再摄取抑制剂。

30 在另一个特别的实施方案中，依据本发明使用对 5-HT_{2C} 受体有选择性的化合物。

在另一实施方案中，依据本发明使用是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂的化合物。

可使本发明药物组合物或药盒适于同时施用活性组分，或者使其适于顺序施用活性组分。

当使药物组合物适于同时施用时，活性组分可包含在同一单位剂型中。

5 当使药物组合物或药盒适于顺序施用时，活性组分包含在不连续的剂型中，这些剂型任选包含在同一容器或包装中。

本发明特别涉及下列组合的应用和包含下列组合的药物组合物或药盒：

10 酮舍林与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

SB 242084 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

15 SB 206553 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

20 SB 243213 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

SB 228356 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

25 利坦色林与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

德伦环烷与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

30 米氮平与选自西酞普兰、escitalopram、氟伏沙明、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，

米塞林与选自西酞普兰、escitalopram、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙

- 明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- 舍咧啉与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- 5 YM 35 992 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- Ro 60-0795 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- 10 Org 38457 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- 15 Org 12962 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，
- EGIS 8465 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合，和
- 20 RS 102221 与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合。
- (+)-反式-1-(5-氟-3-(4-氟苯基)-1-二氢茛基)-4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)-哌嗪与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合。
- 25 2,5-二甲基-3-(4-氟苯基)-1-[1-[2-(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]-哌啶-4-基]1H-吡啶与选自西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明的 SRI 组合。
- 30

在另一实施方案中，本发明涉及鉴定可用于治疗下列病症的化合

物的方法：抑郁症，焦虑症，和其它情感性精神病，例如泛化性焦虑症、恐慌性焦虑症、强迫观念与行为障碍、急性紧张症、创伤后紧张症和社交焦虑症，饮食障碍例如食欲过盛、厌食和肥胖症，恐怖症、精神抑郁症、月经前综合征、认知障碍、冲动控制障碍、注意力不足活动过强病症、药物滥用或对血清素再摄取抑制剂起反应的任何其它病症，包括以任意顺序

5 (a) 测定测试化合物抑制血清素再摄取的能力，并选择 IC_{50} 值低于 20 nM 的化合物；

10 (b) 测定测试化合物对 5-HT_{2C} 受体的亲和力，并选择 K_i 值低于 30 nM 的化合物；

然后测定所选的化合物对 5-HT_{2C} 受体的效力，并选择是该受体的拮抗剂、反向激动剂的化合物。

本发明还涉及依据该方法鉴定的化合物。

15 依据本发明，已经发现，与仅施用血清素再摄取抑制剂相比，联合施用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂或反向激动剂和血清素再摄取抑制剂显著提高了如在微透析实验中测定的末端区域中的血清素水平。

20 单独施用 RS 102221、(+)-反式-1-(5-氯-3-(4-氟苯基)-1-二氢茚基)-4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)-哌嗪、2,5-二甲基-3-(4-氟苯基)-1-[1-[2-(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]-哌啶-4-基]-1H-吡啶和酮舍林不能引起如在微透析实验中测定的血清素水平的任何提高。

依据本发明，动物实验已经发现，5-HT_{2C} 受体拮抗剂或反向激动剂可使血清素再摄取抑制剂的疗效更快地开始，并增强血清素再摄取抑制剂的抗焦虑能力。

25 使用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂与血清素再摄取抑制剂的组合可大大地降低治疗抑郁症和其它情感性精神病所需的血清素再摄取抑制剂的量，并因此可减小由血清素再摄取抑制剂引起的副作用。特别是，减少量的 SRI 与 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的组合可减小 SSRI 引起性功能障碍和睡眠失调的危险性。

30 联合施用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂和血清素再摄取抑制剂还可用于治疗顽固性抑郁症，即不能通过仅施用血清素再摄取抑制剂而适当治疗的抑郁症。一般情况下，在其中用 SRI 治

疗的最初 6 周内不能使症状减轻 40 - 60% 的患者当中, 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂可用作追加治疗来增强对 SRI 的反应。

5 既是血清素再摄取抑制剂又是 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的化合物可具有与血清素再摄取抑制剂和 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的组合相同的药理优点, 即减小副作用、迅速开始疗效、和治疗抗治疗患者。

文献中已经描述了很多具有血清素再摄取抑制作用的抗抑郁剂。主要或部分通过抑制 CNS 中血清素再摄取来产生疗效的任何药理活性化合物都可有益用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂增强其作用。

下面列出其作用可用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂有益地增强的多种血清素再摄取抑制剂: 西酞普兰、escitalopram、氟西汀、R-氟西汀、舍曲林 帕罗西汀、氟伏沙明、文拉法辛、度洛西汀、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、丙咪嗪 N-氧化物、地昔帕明、吡喃茛胺、氮卓尼尔、奈福泮、苯哌啶嗪、非唑拉明、非莫西汀、氟米帕明、氟丙咪嗪、利托西汀、西克拉明、塞罗西汀、WY 27587、WY 27866、imeldine、伊福西汀、替氟卡宾、维喹啉、米那普仑、巴喹普令、YM 922、S 33005、F 98214-TA、OPC 14523、丙氨苯丙酯、cyanodothepine、曲米帕明、奎纽帕明、度硫平、阿莫沙平、nitroxazepine、McN 5652、McN 5707、VN 2222、L 792339、罗克咧啉、YM 35992、Ol 77、Org 6582、Org 6997、Org 6906、阿米替林、阿米替林 N-氧化物、去甲替林、CL 255.663、吡啶啉、茛达曲林、LY 113.821、LY 214.281、CGP 6085 A、RU 25.591、奈帕咪啉、diclofensine、曲唑酮、EMD 68.843、BMY 42.569、NS 2389、serclorephine、nitroquipazine、腺苷蛋氨酸、西布茶明、氟伏草胺。上述化合物可以以碱或其可药用酸加成盐的形式使用。

其作用可用 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂有益地增强的其它治疗化合物包括虽然不是血清素再摄取抑制剂、但是能引起突触裂口中细胞外 5-HT 水平增加的化合物。一种这样的化合物是噻萘普汀。

因此, 在如本文所述的本发明的每一个方面中, 可使用引起细胞

外血清素水平提高的不是 SRI 的化合物来代替 SRI。

上面列举的血清素再摄取抑制剂和引起细胞外血清素水平提高的其它化合物不应理解为限制性的。

5 根据本发明特别优选的 SRI 包括西酞普兰、escitalopram、氟西汀、舍曲林、帕罗西丁、氟伏沙明、文拉法辛、达泊西汀、萘发扎酮、丙咪嗪、非莫西汀和氟米帕明。

术语选择性血清素再摄取抑制剂(SSRI)是指对血清素转运蛋白的抑制作用比对多巴胺和去甲肾上腺素转运蛋白的抑制作用强的一元胺转运蛋白的抑制剂。根据本发明特别优选的 SSRI 是西酞普兰、
10 escitalopram、氟西汀、氟伏沙明、舍曲林和帕罗西丁。

下面列出可依据本发明使用的多种 5-HT_{2C} 拮抗剂、部分激动剂或反向激动剂：酮舍林、利坦色林、RS 102221、SB 242084、SB 206553、SB 200646A、SB 221284、SB 204741、SB 228357、SB 243213、SB 200646、azamianserine、(+)-反式-1-(5-氯-3-(4-氟苯基)-1-二氢茛基)-
15 4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)-哌嗪和 2,5-二甲基-3(4-氟苯基)-1-[1-[2-(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]-哌啶-4-基]-1H-吡啶、氟西汀、德伦环烷、米氮平、米塞林、萘发扎酮、曲唑酮、YM 35992、Ro 60-0759、Org 38457、Org 12962、EGIS 8465、EGIS-9933、在 5-HT_{2C} 受体产生作用的抗精神病药物例如舍吡啶、奥氮平和利哌酮、LY 53857 甲
20 麦角林、哌仑哌隆、spiroperone、氟氮平、达泊西汀、二甲麦角新碱、舍氮平、Ro 600491、S16924、氟甲丙嗪、SDZ NVI-085。

在优选的实施方案中，依据本发明使用选自下列的 5-HT_{2C} 受体配体：酮舍林、SB 242084、SB 206553、SB 243213、SB 228356、利坦色林、德伦环烷、米氮平、米塞林、舍吡啶、YM 35 992、Ro 60-0795、
25 Org 38457、Org 12962、EGIS 8465 和 RS 102221。

某些上面列出的化合物对于 5-HT_{2C} 受体的 Ki 值如下表所示：

化合物	Ki(nM)
酮舍林	14
茚达酮	19
Lu 29066	6.9
Lu 27121M	5.1
氟西汀	80
萘发扎酮	33
RS 102221	0.56
利坦色林	0.19
米安色林	1.1

在上表中给出的 Ki 值是用在实验部分中描述的 5-HT_{2C} 结合分析测定的。应当指出，其它测试、改变的测试或由其它工作组进行的测试可获得与上表给出的数据多少有几分不同的数据。

本文所用术语对 5-HT_{2C} 受体有选择性是指化合物对 5-HT_{2C} 受体的亲和力高于对其它血清素受体的亲和力。

其它 5-HT_{2C} 受体拮抗剂或反向激动剂描述在例如下列文件中：
 WO 97/39001, WO 97/37989, WO 97/08167, W096/39382, WO
 96/23769, WO 96/11930, WO 95/01976, WO 94/14801, WO 94/04533,
 Bromidge 等人, J. Med. Chem., 2000, 43, 1123-113 和 Bges 等人
 Schizophrenia 1995, Alfred Benzon Symposium 38, pp 361-374。

上文列出的 5-HT_{2C} 受体拮抗剂、反向激动剂和部分激动剂不可以理解为限制性的。

在特别的本发明实施方案中，依据本发明使用对 5-HT_{2C} 受体的 Ki 值低于 30 nM，对血清素转运蛋白的 IC₅₀ 值低于 20 nM 的化合物。

当依据本发明使用组合的血清素再摄取抑制剂与 5-HT_{2C} 拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂时，化合物优选对多巴胺受体没有亲和力，即对多巴胺受体的 IC₅₀ 值超过 100 nM。

本发明活性组分可以以游离碱形式或其可药用酸加成盐的形式使用，可药用酸加成盐可通过将游离碱与适当的酸反应而获得。本发明有机酸加成盐的实例是与下列酸形成的盐：马来酸、富马酸、苯甲酸、

抗坏血酸、琥珀酸、草酸、二亚甲基水杨酸、甲磺酸、乙二磺酸、丙酸、酒石酸、水杨酸、柠檬酸、葡糖酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、肉桂酸、柠康酸、天冬氨酸、硬脂酸、棕榈酸、衣康酸、乙醇酸、对氨基苯甲酸、谷氨酸、苯磺酸、和茶碱乙酸，以及 8-卤代茶碱例如 8-溴茶碱。本发明无机酸加成盐的实例是与盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、和硝酸形成的盐。

本文所用的上述术语加成盐还包括活性组分能够形成的溶剂化物。所述溶剂化物包括在本发明范围内。这样的溶剂化物的实例有例如水合物、醇化物等。

西酞普兰优选以氢溴酸盐或碱的形式使用，escitalopram 优选以草酸盐的形式使用，氟西汀、舍曲林和帕罗西丁优选以盐酸盐的形式使用，氟伏沙明优选以马来酸盐的形式使用。

在联合治疗中，5-HT_{2C} 拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂的用量可以为约 0.1 - 约 150 mg/天、特别是约 0.1 - 约 100 mg/天、更特别是约 0.5 - 约 50 mg/天、甚至更特别是约 1 - 约 5 mg/天。

血清素再摄取抑制剂，包括上文具体提及的 SSRIs 在分子量与活性方面都不同。因此，在联合治疗中血清素再摄取抑制剂的用量取决于所述血清素再摄取抑制剂的性质。市售 SRIs 的标准剂量范围是众所周知的。在一个本发明市售方案中，血清素再摄取抑制剂或引起 5-HT 细胞外水平提高的化合物以低于单独使用所需的剂量使用。在另一个实施方案中，血清素再摄取抑制剂或引起 5-HT 细胞外水平提高的化合物以标准剂量使用。

为了制备本发明药物组合物，将酸或碱加成盐或碱形式的活性组分与可药用载体充分混合，根据给药所需的剂型，可药用载体可呈多种形式。有利起见，这些药物组合物可制成适于经口、经鼻、直肠、经皮或通过非胃肠道注射施用的单位剂型。例如，在制备口服剂型的药物组合物时，可使用任何常用的药物介质，例如当剂型是口服液体制剂如悬浮液、糖浆剂、酏剂和溶液时，可使用水、二醇、油、醇等；对于粉剂、烷基、胶囊和片剂，可使用固体载体例如淀粉、糖、高龄土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。由于便于给药，片剂和胶囊是最合适的口服单位剂型，在这种情况下很明显要使用固体药物载体。对于非胃肠道施用的组合物，载体通常包含无菌水、至少大部分是无菌水，

虽然可以包括其它组分，例如促进溶解的组分。

为了便于给药和使剂量一致，将上述药物组合物制成单位剂型是特别有利的。在本说明书和权利要求书中使用的单位剂型是指适于用作单位剂量的物理不连续单位，每个单位含有经计算能产生所需疗效的预定量的活性组分和所需的药物载体。单位剂型的实例有片剂(包括刻痕片剂或包衣片剂)、胶囊、烷基、粉剂小包、纸囊剂、注射溶液或悬浮液、一茶匙容量的制剂、一餐匙容量的制剂等、和其隔离的复合形式。

5-HT_{2C}拮抗剂、部分激动剂或反向激动剂可在施用血清素再摄取抑制剂之前、期间或之后施用，只要5-HT_{2C}拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂给药与血清素再摄取抑制剂给药之间的时间间隔使得活性组分能协同作用于CNS即可。

当5-HT_{2C}拮抗剂、部分激动剂或反向激动剂与血清素再摄取抑制剂同时施用时，既含有血清素再摄取抑制剂又含有5-HT_{2C}拮抗剂、部分激动剂或反向激动剂的组合物是特别适宜的。这样的组合物可如上所述制得。

同时给药还可以通过施用在两个分隔的单位剂型中的活性组分来完成。

当顺序施用5-HT_{2C}受体拮抗剂、反向激动剂或部分激动剂时，药物组合物可由例如药盒构成，其中药盒包括含有5-HT_{2C}拮抗剂、部分激动剂或反向激动剂的不连续单位剂型和含有血清素再摄取抑制剂的不连续单位剂型，所有剂型都包含在同一容器或包装例如压泡包装内。

实验部分

5-HT_{2C}结合

依据下述方法通过测试化合物来测定在5-HT_{2C}的K_i值：将SR-3T3细胞(ATCC CRL 9651)生长至铺满，然后在TBS(50 mM Tris, pH 7.7, 125 mM NaCl)中破碎。将该细胞悬浮液离心，将离心团重悬在50 mM Tris, HCl, pH 7.7中，并于-80℃贮存。对于实验使用，将冷冻的细胞离心团融化，并用Ultra Turrax均化10-15秒。将1.5 mg细胞制备物与0.5 nM ³H-Mesulergine于37℃培养60分钟。通过经由

Filtermat B 滤器快速过滤来终止培养，并在 Tricarb 闪烁计数器中测定结合的放射性。

5-HTT 抑制

- 5 如下面的测试所述测定血清素再摄取抑制的 IC_{50} 值：将雄性大鼠 (125-225 g) 斩首处死，切开脑，并转移到 $0^{\circ}C$ 的 0.9% NaCl 中。称重脑，并在玻璃/塔夫纶均化器内在含有 1 nM 尼阿拉米的 40 体积的 0.32 蔗糖中于 $0^{\circ}C$ 均化。将均化物以 600 g 于 $4^{\circ}C$ 离心 10 分钟。将上清液/S1 以 20000 g 于 $4^{\circ}C$ 离心 55 分钟。将上清液/S2 弃去，并将离心团重悬
- 10 在 360 体积的改性 Krebs Ringer 磷酸盐缓冲液，pH 7.4 (充氧 10 分钟) 中。将悬浮液保持在冰上。在 Krebs Ringer 缓冲液中将组织与 3H -5-HT 于 $37^{\circ}C$ 培养 15 分钟。将样本经由 0.1% PEI 浸泡过的 Filtermat C 滤器过滤以洗掉溶液中的 3H -5-HT。在样本过滤前和过滤后用 $10 \mu M$ 5-HT 洗涤滤器。在 Tricarb 闪烁计数器中计数突触小体捕获的放射
- 15 性。

测试人 5-HT_{2C} 受体的 PI 测定：

- 方法：在实验当天将细胞接种在 96 孔平板中，使密度为 7×10^4 个细胞/孔(200 l 培养基)。在进行实验前 24 小时，向细胞中加入含有 PT6-271 稳定剂(amersham pharmacia biotech)的 $4 \mu Ci$ myo-[2- 3H]肌醇(每个孔)。
- 20

- 柱制备：用 1 mL 1.0 M $KHCO_3$ 将具有 SAX Quaternary 胺 RPN.1908 的 Amiprep 微型柱活化。通过用 1 mL 水经由柱洗涤 2 次来除去过量的 $KHCO_3$ ，向准备加入 200 μL 样本的每个柱中加入 0.9 mL 水。
- 25

- 细胞平板操作：用 200 μl KRH-缓冲液 (KCl (5 mM), NaCl (124 mM), 葡萄糖(8 mM) BSA (0.5 g/升), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (1.25 mM), HEPES (25 mM), KH_2PO_4 (1.25 mM), $CaCl_2$ (1.45 mM)) 将细胞洗涤 3 次。将细胞在 200 μl KRH-LiCl-缓冲液(KRH-缓冲液 10 mM LiCl)中于 $37^{\circ}C$
- 30 培养 30 分钟。

1. 为了测试激动剂，用激动剂(200 μl 在 KRH-LiCl 缓冲液中稀释的激动剂)代替缓冲液，并在 $37^{\circ}C$ 培养 10 分钟。进入步骤# 6。

2. 为了测试反向激动剂, 用反向激动剂(200 μ l 在 KRH-LiCl 缓冲液中稀释的反向激动剂)代替缓冲液, 并在 37 $^{\circ}$ C 培养 30 分钟。进入步骤 # 6。
 3. 为了测试拮抗剂, 用拮抗剂(200 μ l 在 KRH-LiCl 缓冲液中稀释的拮抗剂)代替缓冲液, 并在 37 $^{\circ}$ C 培养 10 分钟。然后向除了用于限定基底活性的孔之外的每个孔中加入激动剂, 并在 37 $^{\circ}$ C 培养 10 分钟。
 4. 将溶液从各个孔中抽吸出来, 并加入 200 μ L 冷的 PCA (4% HClO₄)。
 5. 在 4 $^{\circ}$ C 培养 15 - 30 分钟以使得细胞释放肌醇磷酸。
 6. 加入 46 μ L KOH-HEPES 缓冲液(1.5 mM KOH - 60 mM HEPES 缓冲液, pH~7.5), 并在 4 $^{\circ}$ C 培养 10 分钟。
 7. 将 200 μ L 各个孔的中和的肌醇磷酸加到制备的柱中, 并经由柱洗涤。
 8. 用 1 μ L 水洗涤柱。
 9. 加入 1 mL 0.05 M KHCO₃, 并收集在闪烁管中。
- 加入 4 mL 闪烁计数液体(得自 Packard 的 Ultima Gold™ 闪烁计数液)
 10. 在 Packard Tri-carb 2100TR 液体闪烁分析器(Program 4)上计数 5 分钟。总活性 - 由 10 nM 5-HT 限定。基底活性 - 由缓冲液限定。
- 在鉴定可用于治疗对血清素再摄取抑制剂起反应的疾病或病症的化合物的本发明方法中可使用上述 3 种方法。然而, 也可以使用其它方法和这些方法的变型。

微透析实验

- 25 在实验中使用源自 Wistar 种的雄性大白鼠(285-320 g; Harlan, Zeist, The Netherlands)。将大鼠在塑料笼子(35 \times 35 \times 40 cm)中饲养, 让它们自由摄取食物和水。实验符合赫尔辛基宣告的规定, 并得到了 Animal Care Committee of the Faculty of Mathematics and Natural Science of the University of Groningen 的批准。
- 30 使用下列药物: 西酞普兰氢溴酸盐和内标(Lundbeck (Copenhagen, Denmark)友情赠送, 感谢 Dr. Sanchez), 利坦色林和酮舍林酒石酸盐(RBI, Natick, USA)。将西酞普兰和酮舍林溶解在盐

水中，将利坦色林溶解在 30% solutol/盐水中。酮舍林和西酞普兰皮下注射(联合给药期间在不同位置注射)，利坦色林腹膜内注射。所有药物都是以 1 mL/kg 的体积施用。

5 使用国产 I-型探针进行微透析实验，所述探针是用聚丙烯腈/甲基磺酸钠共聚物渗析纤维制成的(i.d. 220 μm , o.d. 0.31 μm , AN 69, Hospal, Italy)。暴露出的膜长度为 4 mm。在手术前，通过腹膜内注射 400 mg/kg 水合氯醛(利坦色林实验)或腹膜内注射氯胺酮/赛拉嗪、并用咪达唑仑作为术前用药(酮舍林实验)将大鼠麻醉。使用盐酸利多卡因 10% (m/v)进行局部麻醉。将大鼠置于趋实体框架(Kopf, USA)上，
10 将探针插到前侧海马内(坐标: IA: +3.7 mm, 外侧: +4.8 mm, 前侧: -8.0 mm, 从硬脑脊膜计起, Paxinos and Watson, 1982), 并用牙科粘固粉固定。

在药动学实验中，经由用硅管制成的插管取血，其中该插管是插到右颈静脉内 3.8 cm 深处。将插管皮下转移到大鼠的尾髓上，并将不
15 锈钢进口与插管相连。用牙科粘固粉和手术螺钉将进口固定在头部上。吹入后，用 PVP 在盐水中的溶液(55% 聚乙烯吡咯烷酮溶液，含有 500 IE/mL 肝素)填充插管以防止血液凝固。

药动学实验：让大鼠复原至少 24 小时。在注射西酞普兰或酮舍林后的第 0、15、30、60、120、240 和 360 分钟采集血样(0.30 mL)。将血
20 样转移到含有 5 μL 肝素(500 IE/mL 盐水)的 1.5 mL eppendorf 小瓶中，混合，并立即转移到冷却的离心机(MSE, England)中，以 3,000 rpm 离心 15 分钟。

25 微透析实验：让大鼠复原至少 24 小时。用含有 147 mM NaCl、3.0 mM KCl、1.2 mM CaCl_2 和 1.2 mM MgCl_2 的人造 CSF 以 1.5 μL /分钟的流速(Harvard 装置, South Natick, Ma., USA)灌注探针。在 20 μL 套圈中在线采集样本，并且每 15 分钟自动注射到柱上。

30 血清素分析：使用具有电化学检测的 HPLC 分析 5-HT。将 HPLC 泵(Shimadzu LC-10 AD 液相色谱)依次与反相柱(phenomenex hypersil 3: 3 μm , 100 \times 2.0 mm, C18, Bester, Amstelveen, the Netherlands)

和电化学检测器(Antec Leyden, Leiden, the Netherlands)相连, 该电化学检测器以 500 mV 的电位运转, 使用 Ag/AgCl 作为参照。流动相由 5 g/L 硫酸二铵、500 mg/L 乙二胺四乙酸(EDTA)、50 mg/L 庚烷磺酸和 30 μ L/L 三乙胺, pH 4.65 以及 4.5% (w/w) 甲醇和水组成。流动相的流速为 0.4 ml/分钟。检测限为 0.5 fmol 5-HT/20 μ L 样本(信噪比为 3)。

西酞普兰分析: 西酞普兰是依据作了稍许改动的 yehaug 等人(1982)的方法测定的。简言之, 向 150 μ L 血样中加入 75 μ L 内标 LU 10-202 (2 μ M)和 30 μ L 0.1N NaOH。通过与 3 mL 乙醚机械振摇 3 分钟将样本提取 2 次。然后将乙醚层转移到 10 mL 蒸发管中, 并加入 150 μ L 0.1 N HCl。在 40 $^{\circ}$ C 的水浴中于氮气流下将乙醚蒸发。用 0.5 mL 乙醚将 HCl 层洗涤一次。将 50 μ L 样本注射到柱上。对于经由 vacutainer 获得 5 mL 血浆的实验, 使用类似方案, 但是血样用 10 mL 乙醚提取 3 次。使用与荧光检测器(470 扫描荧光检测器, Waters, England)联用的 HPLC/自动注射器(1084B Liquid Chromatograph, Hewlett-Packard), 其中荧光检测器在 240 nm 的吸收波长、296 nm 的发射波长、和 12 nm 的狭缝宽度的设置下运转。使用 Supelcosil HPLC 柱(5 μ m, C18, 250 \times 46 mm, Supelco, the Netherlands)于室温下进行分离。流动相由 46 % v/v 乙腈、54 % v/v 磷酸二氢钾缓冲液(4.3 g/L)、和 30 μ L/L 三乙胺组成, pH 值为 3.0。该系统的流速为 0.75 mL/分钟。该测定的检测限为 8 nM (信噪比 = 2)。加入已知浓度的西酞普兰的样本提取表明, 该提取方法的回收率为 99%。

酮舍林分析: 酮舍林是使用液-液提取、然后通过与荧光检测联用的反相色谱法来测定的。简言之, 向 150 μ L 血样中加入 30 μ L 0.1N NaOH。通过与 3 mL 乙醚机械振摇 3 分钟将样本提取 2 次。然后将乙醚层转移到 10 mL 蒸发管中, 并加入 150 μ L 0.1 N HCl。在 40 $^{\circ}$ C 的水浴中于氮气流下将乙醚蒸发。用 0.5 mL 乙醚将 HCl 层洗涤一次。将 50 μ L 样本注射到柱上。使用与荧光检测器(470 扫描荧光检测器, Waters, England)联用的 HPLC/自动注射器(1084B Liquid Chromatograph, Hewlett-Packard), 其中荧光检测器在 240 nm 的吸收波长、370 nm

的发射波长、和 12 nm 的狭缝宽度的设置下运转。使用 Supelcosil HPLC 柱(5 μm , C18, 250 \times 46 mm, Supelco, the Netherlands)于室温下进行分离。流动相由 35 % v/v 乙腈、65 % v/v 磷酸二氢钾缓冲液(4.3 g/L)、和 30 $\mu\text{L/L}$ 三乙胺组成, pH 值为 3.0。该系统的流速为 1.0 mL/分钟。
5 该测定的检测限为 6 nM (信噪比 = 2)。加入已知浓度的西酞普兰的样本提取表明, 该提取方法的回收率为 93 %。

数据表示和统计学: 使用差异低于 20 % 的 4 个连续微透析样本作为对照, 并设定为 100 %。数据以占对照水平的百分比表示(平均值 \pm SEM)。使用关于窗口的 Sigmastat (Jandel Corporation)进行统计学分析。使用用于比较重复测定的双向 ANOVA、然后进行 Dunnett's 检验来比较治疗效果。显著性水平设定为 $p < 0.05$ 。使用 Multifit (版权 Dr. J. H. Proost, Dept. of pharmacokinetics and drug delivery, University of Groningen, the Netherlands)将药动学数据拟合。
10

15

结果:

利坦色林联合施用:

腹膜内施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 利坦色林对大鼠前海马中的 5-HT 水平没有任何影响。与盐水注射相比, 皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平($F(1,131)=18.8$, $p < 0.05$)。后-hoc 分析表明, 显著效
20 果在 $t=45 - 150$ 分钟之间。在皮下注射 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰之前 60 分钟施用的 10 $\mu\text{mol/kg}$ 利坦色林显著增强了西酞普兰的作用($F(1,105) = 8.90$, $p < 0.05$)。后-hoc 分析表明, 显著效果在 $t=60 - t=150$ 分钟之间。

25

酮舍林联合施用:

前海马: 皮下施用 100 $\mu\text{mol/kg}$ 酮舍林对前海马中的 5-HT 水平没有任何影响。与盐水注射相比, 皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平($F(1,143) = 13.5$, $p < 0.05$)。后-hoc 分析表明, 显著效
30 果在 $t=30 - 150$ 分钟之间。同时施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰和不同剂量的酮舍林表明了酮舍林的 SSRI 引起的 5-HT 水平增加效果有剂量依赖性增强。联合施用 1 nmol/kg 酮舍林不能增强西酞普兰的作用($F(1,118)$)

=0.574), 而联合施用 10 和 100 nmol/kg 酮舍林显著增强了西酞普兰的作用(分别是 $F(1,117)=6.95$, $p < 0.05$, $F(1,120)=5.66$, $p < 0.05$)。对于 10 nmol/kg 酮舍林联合给药, 后-hoc 分析表明显著效果在 $t=45-150$ 分钟之间, 对于 100 nmol/kg 酮舍林联合给药, 显著效果在 $t=45-150$ 分钟之间(不包括 90 和 105)。

额前皮层: 施用酮舍林对于额前皮层 5-HT 水平没有任何影响。与盐水注射相比, 皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平($F(1,159)=9.77$, $p < 0.05$)。后-hoc 分析表明显著效果在 $t=45-150$ 分钟之间。联合施用 1 nmol/kg 酮舍林不能增强西酞普兰引起的皮层 5-HT 水平提高($F(1,117)=0.2781$, $p > 0.05$)。联合施用 10 nmol/kg 酮舍林短暂地增强了西酞普兰的作用。然而, 该作用没有达到显著性($F(1,127)=1.047$, $p > 0.05$)。同时施用西酞普兰和 100 nmol/kg 酮舍林显著地增强了西酞普兰的作用($F(1,127)=2.90$, $p < 0.05$)。然而, 后-hoc 分析没有显示在不同时间点当中有任何显著差异。

药动学实验:

西酞普兰给药

皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰后, 初始血浆水平约为 0.7 μM , 之后水平下降, 明显的半衰期约为 2 小时。

酮舍林给药

皮下施用 100 nmol/kg 酮舍林后, 30 分钟后达到了约 0.2 μM 的初始血浆水平。水平下降的明显半衰期约为 1.5 小时。

如上所述测试下列化合物组合:

西酞普兰与 RS 102221 的组合, 西酞普兰与(+)-反式-1-(5-氯-3-(4-氟苯基)-1-二氢茛基)-4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)-哌嗪的组合, 西酞普兰与 2,5 二甲基-3-(4-氟苯基)-1-[1-[2-(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]-哌啶-4-基]-1H-吡啶的组合, 和氟西汀与酮舍林的组合。

结果:

皮下施用 1 $\mu\text{mol/kg}$ RS 102221 对大鼠前海马 5-HT 水平没有任

何影响。与对照相比，皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平。同时施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰和 1 $\mu\text{mol/kg}$ RS 102221 显著增强了西酞普兰的作用， $F(1,119) = 3.34$ 。

5 皮下施用 1 $\mu\text{mol/kg}$ (+)-反式-1-(5-氟-3-(4-氟苯基)-1-二氢茛基)-4-(2-(3-异丙基-2-咪唑烷酮-1-基)乙基)-哌嗪对大鼠前海马 5-HT 水平没有任何影响。与对照相比，皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平。同时施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰和 1 $\mu\text{mol/kg}$ Lu 27121 显著增强了西酞普兰的作用， $F(1,120) = 4.25$ 。

10 皮下施用 1 $\mu\text{mol/kg}$ 2,5-二甲基-3-(4-氟苯基)-1-[1-[2(咪唑烷-2-酮-1-基)乙基]-哌啶-4-基]-1H-吡啶对大鼠前海马 5-HT 水平没有任何影响。与对照相比，皮下施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰显著提高了 5-HT 水平。同时施用 10 $\mu\text{mol/kg}$ 西酞普兰和 1 $\mu\text{mol/kg}$ Lu 29066 显著增强了西酞普兰的作用， $F(1,120) = 7.29$ 。

15 皮下施用 100 nmol/kg 酮舍林对大鼠前海马 5-HT 水平没有任何影响。同时施用 5 mg/kg 氟西汀和 100 nmol/kg 酮舍林显著增强了氟西汀的作用， $F(1,69) = 2.28$ 。