



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101076340 B

(45) 授权公告日 2011. 01. 12

(21) 申请号 200580039488. 8

A61P 25/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2005. 11. 07

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

60/629, 511 2004. 11. 18 US

W0 03059357 A1, 2003. 07. 24, 权利要求 1、
21, 说明书第 9 页表 2.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

审查员 肖西祥

2007. 05. 18

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/SE2005/001671 2005. 11. 07

(87) PCT 申请的公布数据

W02006/054938 EN 2006. 05. 26

(73) 专利权人 梅克劳股份公司

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 T·巴克斯特龙 P·隆德格伦

王明德

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 刘健 刘玥

(51) Int. Cl.

A61K 31/56 (2006. 01)

A61K 31/57 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 15 页 附图 2 页

(54) 发明名称

GABA- 类固醇拮抗剂及其治疗 CNS 障碍的用途

(57) 摘要

提供了表现出 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇阻断作用而没有或仅有较低 γ -氨基丁酸(A)受体(GABA-A)拮抗作用的化合物,和表现出抗所述受体的部分拮抗作用的化合物。提供了预防、治疗和/或缓解各种 CNS 障碍的方法,以及用于该用途的药物组合物。

1. 用作药物的选自 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇和 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇的物质。
2. 用作预防、治疗和 / 或缓解由 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇作用引起的 CNS 障碍的药物的选自 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇和 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇的物质, 所述治疗具有低的 GABA-A 受体拮抗作用。
3. 选自 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇 ; 和 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇的物质在制备以下药物中的应用 : 用于预防、治疗和 / 或缓解由 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇对 GABA-A 受体的作用引起的 CNS 障碍的药物, 所述治疗具有低的 GABA-A 受体拮抗作用。
4. 根据权利要求 3 的应用, 其中所述物质是 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇。
5. 根据权利要求 3 的应用, 其中所述物质是 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇。

GABA- 类固醇拮抗剂及其治疗 CNS 障碍的用途

[0001] 本发明涉及与 GABA- 类固醇相关和 / 或诱导的中枢神经系统 (CNS) 障碍的治疗、缓解或预防, 尤其涉及用于该目的特定类固醇化合物, 用于制备所述治疗药物的用途, 以及涉及其使用的治疗方法。

[0002] 发明背景

[0003] 已知为孕烷醇酮化合物的孕烯醇酮、孕酮、脱氧皮质酮、可的松及皮质醇的性激素和应激激素代谢物; 以及睾酮、雄烯二酮及脱氢表雄酮的代谢物一直以来都是各种研究的对象, 这至少在一定程度上说明了它们在哺乳动物神经学信号系统中所起的作用。

[0004] 在本申请所关注的诱导 CNS 症状和障碍的类固醇都具有结构相似性, 含有 3 α -羟基基团, 5 α 或 5 β 孕烷类固醇主体, 和在 17 位、20 位或 21 位上的酮基或羟基基团。

[0005] 含有 3 α -羟基-5 α / β 孕烷-20-酮 / 醇或 3 α -羟基-5 α / β -雄烷-17-酮 / 醇的类固醇已被证实是 γ -氨基丁酸 (A) 受体 (GABA-A) 重要的特异增强剂。它们与 GABA-A 受体结合并通过增强 GABA 对 GABA-A 受体开放频率和开放时间的作用发挥作用。该作用与苯二氮~~革~~类和巴比妥盐的相似。然而所述类固醇化合物的结合位点与这两类化合物的不同。表 1 中给出所述 GABA 增强型类固醇的例子及其 Chemical Abstracts Registry/Chicago Academy of Science (CAS) 编号。

[0006] 由于目前类固醇的命名方法还不完全一致, 因此本申请将通篇采用由国际理论和应用化学联合会 (IUPAC) 制定的命名法。

[0007] 表 1. GABA- 类固醇的命名

[0008]

IUPAC- 命名	CAS 编号
3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮	516-54-1
3 α -羟基-5 β -孕烷-20-酮	128-20-1
3 α , 21-二羟基-5 α -孕烷-20-酮	567-02-2
3 α , 21-二羟基-5 β -孕烷-20-酮	567-03-3
3 α , 11 β , 17 α , 21-四羟基-5 β -孕烷-20-酮	53-02-1
3 α , 11 β , 17 α , 21-四羟基-5 α -孕烷-20-酮	302-91-0
3 α , 17 α , 21-三羟基-5 α -孕烷-11, 20-二酮	547-77-3
3 α , 17 α , 21-三羟基-5 β -孕烷-11, 20-二酮	53-05-4
3 α -羟基-5 α -雄烷-17 β -醇	1852-53-5
3 α -羟基-5 β -雄烷-17 β -醇	-
3 α -羟基-5 α -雄烷-17-酮	53-41-8
3 α -羟基-5 β -雄烷-17-酮	53-42-9

[0009] * 没有建立 CAS 编号

[0010] 上述中的一些类固醇已被证实高药理学剂量下具有诱导麻醉的作用。它们还可被用作镇痫药或催眠药使用。上述中的一些化合物在动物实验中还证实具有抗焦虑作用。但是高浓度或高剂量对于实现上述这些作用是必需的。另外, 它们表现为急性作用。

[0011] 至于上述这些化合物的直接 CNS 作用, 与苯二氮~~革~~类和巴比妥盐类相似。然而,

它们同样也具有与苯二氮䓬类和巴比妥盐类通常相关的不良作用。内源性 3α -羟基-孕烷-20-酮-类固醇或 3α -羟基-雄烷-类固醇的不良作用是由这些类固醇诱导的阴性 CNS 作用的基础。由于 3α -羟基-孕烷-类固醇和 3α -羟基-雄烷-类固醇是内源产生的并是其中一些为生命要素的类固醇激素的代谢物,它们的产生是无法轻易阻断的。这些类固醇在月经周期的黄体期的几天到几周的时间里大量生成,也就是该过程发生于妊娠和紧张的期间,卵子从成熟卵泡释放之后。上述类固醇也在脑部生成。

[0012] 3α -羟基-类固醇引起的疾病

[0013] 由内源性 3α -羟基 5α -类固醇或 3α -羟基 5β -类固醇对 GABA-A 受体的作用导致的障碍被充分的描述和被人熟知。还已知 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇在其暴露后能够诱导对自身和其他相似物的耐受性,和发生在 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇戒除时的戒断综合征。总之,通过以上现在已知的 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇引发 CNS 障碍,描述了三个可能的作用机理:a) 直接作用,b) 诱导耐受,和 c) 戒断作用。这些机理将在下文中进一步阐述。

[0014] a) 直接作用

[0015] 已经确认 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇能直接引起 CNS 功能的抑制。由 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇直接作用导致的症状实例有镇静、疲倦、记忆障碍、学习障碍、运动功能障碍、笨拙、胃口增加和对食物的强烈欲望、情绪消极如紧张、易怒和抑郁,这些都是月经前焦虑障碍、经前综合征和癫痫小发作恶化的主要症状。这些直接作用实例也可分为镇静和麻醉作用;运动功能障碍;对认知功能、记忆和学习的影响;癫痫小发作恶化;经前综合征;情绪改变;引发实验动物焦虑;摄食过量和食欲增加;对食物的强烈欲望等。

[0016] b) 耐受性

[0017] 持续和长时间暴露 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇导致 GABA-A 受体系统发生功能障碍。耐受性发展,并且所述耐受性是最终导致压力敏感、注意力集中困难和冲动失控与抑郁的一个过程中的初始阶段。 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇的作用已被证实是增强药物依赖性的因素。这一直以来是大量研究的焦点。迄今为止以下的题目已成为主要的研究课题:在长期分泌大量 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇后向下调节和降低 GABA 功能;在 PMS 期间降低苯二氮䓬和 3α -羟基- 5β -类固醇敏感性;和依赖性诱导。

[0018] c) 戒断症状

[0019] 持续但较短时间暴露 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇导致这种暴露终止时发生戒断作用。举一个自然的例子,这种现象发生在行经期间,当由卵巢黄体产生 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇中断时。这种戒断现象也发生在生产之后(产后),当由胎盘产生的 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇中断后。还发现紧张阶段结束时存在相同的现象,例如,工作有关的压力在周末中断时。作为对压力的反应,肾上腺分泌 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇。当这种分泌被中断时,戒断症状可能发生。

[0020] 受戒断现象影响的病症实例是局部性癫痫,此处患者的癫痫病灶在大脑皮层,恶化发生在行经期间的戒断时期。这种现象被称为“月经性癫痫”。其他的例子有与月经相关的偏头痛、与压力相关的偏头痛和产后情绪改变。相似的症状和情形发生于用类固醇激素如作为口服避孕药和绝经后激素替代治疗的治疗期间,类固醇治疗炎症性疾病和在摄取合

成代谢 / 雄性激素类固醇期间。该机理类似于直接作用、耐受性产生和戒断。

[0021] γ -氨基丁酸 (GABA) 过度刺激引起的病症

[0022] GABA 自身的高刺激在一定情况下认为抑制学习和记忆功能。GABA 的过量产生将损坏短期学习和记忆功能。这是临床相关的,特别是在老年人中。在这种情况下,对抗 GABA 的作用是有利的,并且具有治疗记忆障碍的潜在用途。然而,如果 GABA 拮抗作用太强,对患者是危险的,例如,通过引发惊厥。因此,发现特殊的具有选择性阻断 GABA 类固醇诱导条件的拮抗剂,和同样可在 GABA-A 受体中影响 GABA 活性氯离子流出但却内源性不完全阻断 GABA-A 受体的拮抗剂非常重要。

[0023] 本发明意外的发现主要拮抗 GABA 自身作用的物质和其他主要影响 GABA-A 受体上 GABA 类固醇作用的物质。辨别这些作用非常重要,就像 GABA 类固醇作用拮抗剂显示在其它情况下而不是直接局部对抗 GABA 自身作用。

[0024] 现在,阿尔茨海默氏病 (AD) 和轻度认知损伤 (MCI) 的治疗还远没有实现,没有预防或有效的治疗。GABA 受体激动剂类似于 GABA 类固醇、苯并二氮䓬和酒精的因素是引起失忆、GABA-A 受体的大脑区域最受 AD 影响、强调 GABA-A 受体作为 AD 和 MCI 中潜在的治疗靶点。与引起失忆的 GABA 受体激动剂相对照,反向激动剂和拮抗剂将削弱 GABA-A 受体的功能。在学习和记忆动物模型中, GABA 类固醇拮抗剂和 GABA 拮抗剂已经显示出提高的能力。不幸的是,非选择性和完全阻断配体同样引起惊厥。因此,需要一种部分好选择性阻断剂 (Maubach, K., GABA-A 受体亚型选择性识别增强剂, Curr. Drug Targets CNS Neurol Disord. 2003 (2) 233-239)。现有可购的识别增强剂最小剂量具有显著的不良作用,并需要本发明所提供的新的物质。

现有技术

[0025] 据本发明人所知,在此之前尚未公开选择性抑制 GABA 类固醇作用或主要抑制 GABA-A 受体上 GABA 作用的类固醇物质。现有技术仅描述了所有 GABA 类固醇作用的普通效果。

[0026] Prince 和 Simmons (神经药理学, Vol. 32, no. 1, pp. 59-63, 1993) 使用了雄性大鼠全脑的膜部分构成的模型。在全脑匀浆的亚部分里,作者利用结合苯并二氮䓬、3H- 氟硝西泮作为类固醇作用模型和改变 GABA-A 受体构象。该试验被用作 GABA-A 受体变构调节的指示。在 GABA- 刺激下,氟硝西泮 (FNZ) 结合改变和氯离子流量之间的关系是不确定的并且不能将结合的改变看作是氯离子通过 GABA- 受体流量改变或 GABA-A 受体机能改变的证据。氯离子流量的改变是重要的作用。

[0027] 所述核心问题,即是否在 FNZ- 结合改变和神经细胞兴奋性之间存在关系,还不清楚并且该结论不能从 FNZ- 结合的结果得到。FNZ- 结合性质的改变或结合性质没有改变并不意味着神经活性或 GABA-A 介导的氯离子流量改变或没有改变。

[0028] 众所周知 GABA-A 受体包含几个亚单位,所述亚单位可通过多种方式结合。有趣的是,某些结合缺乏类固醇识别位点。还已知类固醇对引起惊厥的物质 TBPS (叔丁基二环磷硫代硫酸盐 -t-butylbicyclo-phosphorothionate) 结合的作用在大脑的不同区域是不一样的。另外,已知 TBPS 的结合随雌性大鼠发情周期变化。当然这些与发情周期有关的改变

在 Prince 和 Simmons(上述) 研究中使用的雄性大鼠身上没有发现。

[0029] U. S. 5, 232, 917 (Bolger 等人) 和 U. S. 5, 939, 545 (Upasani 等人) 公开了许多 3 α -羟基类固醇。这些专利都涉及 GABA-A 受体的拮抗调节。换句话说, 这些专利集中在 3 α -羟基-5 α / β -类固醇的苯二氮~~革~~样作用。所有作为 GABA-A 受体调节剂的类固醇具有相同的特性, 即一个 3 α -羟基结构。在这些文件中提及的 3 α -羟基类固醇仅作为对照, 用以说明 3 α -羟基类固醇是特殊的。只具有 3 α -羟基结构的类固醇不具有 GABA-A 受体调控作用。在所有显示有效的 GABA-A 受体调控作用的例子中, 该类固醇具有 3 α -羟基基团。

[0030] W099/45931 (Blackström & Wang) 公开了一种特定类固醇的拮抗作用, 命名为 3 β -羟基-5 α -孕烷-20-酮, 但关于其他 3 β -羟基类固醇是没有记载的。

[0031] 首次由 Wang 等人 (Wang M. D., Blackström T. 和 Landgren (2000) The inhibitory effects of allopregnanolone and pregnanolone on the population spike, evoked in the rat hippocampal CA1 stratum pyramidale in vitro, can be blocked selectively by epiallopregnanolone. Acta Physiol Scand 169, 333-341) 公开了 3 β -羟基-5 α -孕烷-20-酮对 3 α -羟基-5 α / β -孕烷-20-酮的拮抗作用。在该文章中, 描述了 3 β -羟基-5 α -孕烷-20-酮对两种 3 α -羟基-5 α / β -类固醇的剂量依赖性拮抗作用。

[0032] W003/059357 (Blackström 等人) 公开了在 CNS 障碍的治疗中孕烷类固醇的用途。该文件没有涉及有效的抑制 GABA 类固醇作用或对 GABA 本身作用的可能性。

[0033] 由 Wang 等人 (Mingde Wang, Yejun He, Lawrence N. Eisenman, Christopher Fields, Chun-Min Zeng, Ann Benz, Tao Fu, Erik Zorumski, Joe Henry Steinbach, Douglas F. Covey, Charles F. Zorumski, 和 Steven Mennerick. 3 β -羟基孕烷类固醇是孕烯醇酮硫酸盐样 GABA_A 受体拮抗剂。神经科学期刊, May 1, 2002, 22 (9) : 3366-3375) 公开了 3 β 类固醇也可对 GABA 自身作用起作用。在该文章中, 作者描述了 GABA-A 受体的最大刺激由 GABA 引起时, 特定的 3 β -羟基孕烷类固醇能抑制 GABA 自身作用。但是上述特定 3 β -羟基孕烷类固醇将主要通过 GABA 控制的氯离子流量抑制 GABA 类固醇作用, 并且没有发现其他类固醇也可抑制 GABA 自身作用。

[0034] 目前仍然需要寻找具有较低 GABA 抑制作用的 3 α -羟基-孕烷类固醇作用的特异性拮抗剂, 并寻找 GABA 作用的部分拮抗剂, 该化合物要求在生理学上是安全和适宜药学使用的, 另外要求其适用于生理学上可接受的剂量。

[0035] 因而本发明的一个目的在于鉴定上述具有 GABA-类固醇拮抗作用和 GABA 本身的部分拮抗作用的特异性阻断剂, 并制造出有效的治疗、缓解或预防与类固醇有关的和 / 或由类固醇引发的 CNS 障碍的新的药物和方法。

[0036] 通过理解说明书、实施例和权利要求书, 本领域技术人员可以清楚本发明的进一步目的、其相关技术方案及其优点。

[0037] 发明概述

[0038] 本发明人发现在 3 β 位有以羟基形式存在的氢供体, 且另外在 20 位有羟基的类固醇化合物, 具有令人吃惊的作为 3 α -羟基-孕烷-类固醇作用的有效阻断剂的功能, 但是抗 GABA 本身活性最低。因此其可作为预防和 / 或治疗与类固醇有关或类固醇诱导的 CNS 障碍的治疗物质的应用。

[0039] 而且, 本发明人惊奇的发现, 在 3 位或在 3、20 和 21 位具有乙酸酯基团的孕烷类固

醇,能部分抑制 GABA 自身对于 GABA 介导的氯离子流量的作用。因此,其可作为治疗物质应用,例如预防和 / 或治疗其中 GABA 功能自身被过度刺激的病症,就像在阿尔茨海默氏病症中。

[0040] 本发明人提出四 (4) 种化合物,其呈现出对 GABA 作用的低拮抗作用,但是具有抗 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇 (GABA-类固醇) 作用的显著作用,用于预防和治疗与类固醇有关或类固醇诱导的 CNS 障碍和用于制备用于该目的的药物,命名为 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇; 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇 (参见表 2)。

[0041] 表 2. 在本发明中测试的,具有拮抗 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮增强 GABA 介导的氯离子流量,但具有低的 GABA 拮抗作用的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷类固醇的目录列表。

[0042]

物质*	产品名称
5α -孕烷- 3β , 20β -二醇	UC1011
5β -孕烷- 3β , 20α -二醇	UC1013
5α -孕烷- 3β , 20α -二醇	UC1019
5β -孕烷- 3β , 20β -二醇	UC1020

[0043] * 所述物质来自 Steraloids 公司, USA 和 Sigma 化学公司。

[0044] 此外,本发明人提出十 (10) 种化合物,呈现出抗 GABA 作用的部分拮抗作用,用于预防和 / 或治疗由 GABA 过度刺激引起的病症以及由此诱导的 CNS 障碍,和用于制备用于该目的的药物,命名为 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯; 5β -孕烷- 3β -醇-20-酮; 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮 21 乙酸酯 (参见表 3)。

[0045] 本发明的一个方面是上述化合物作为抗 3α -羟基-孕烷-类固醇作用和 GABA 作用的阻断物质的治疗用途。而且,根据在此引入的附加权利要求作为参考,提议的用于药物制备的这些物质,治疗多种特定的与类固醇有关或类固醇诱导的 CNS 障碍和在治疗方法中的应用。

[0046] 表 3. 本发明测试的具有高 GABA 拮抗作用的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷类固醇的目录列表

[0047]

物质*	产品名称
1) 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯	UC1012
2) 5β -孕烷- 3β -醇-20-酮	UC1014
3) 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮	UC1015
4) 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯	UC1021
5) 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯	UC1022
6) 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇 3-乙酸酯	UC1023
7) 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯	UC1024
8) 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇二乙酸酯	UC1025
9) 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯	UC1026
10) 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮 21 乙酸酯	UC1030

[0048] * 所述物质来自 Steraloids 公司, USA 和 Sigma 化学公司。

[0049] 附图简述

[0050] 本发明将在下面的描述和例子中更详细的说明, 在此引入表格说明和附图。其中

[0051] 图 1 显示, 在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的重组 GABA 受体 ($\alpha 1, \beta 2, \gamma 2L$) 中, 最大 GABA 介导氯离子流量 ($30 \mu M$ GABA) 抑制与 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮增强的 GABA 介导的氯离子流量抑制之间的关系。数据点的标注用产品序号标记, 但是, 与全名相关的序号显示于表 2 和 3 中。黑色的叉号 (X) 突出显示了抑制 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮 ($3 \mu M$) 所增强的 GABA ($3 \mu M$) 反应的类固醇拮抗剂。黑色的点 (•) 突出显示了抑制直接 GABA 反应 ($30 \mu M$) 和 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮 ($3 \mu M$) 增强的 GABA 反应的类固醇拮抗剂。

[0052] 图 2 显示, 在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的重组 GABA 受体 ($\alpha 1, \beta 2, \gamma 2L$) 中, 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮增强的 GABA 介导的氯离子流量的抑制作用, 与在得自雄性大鼠皮层的皮质 microsacs 中 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮增强的 GABA 介导氯离子摄取的抑制作用之间的关系。数据点用产品名标记, 其全名显示于表 2 和 3 中。

[0053] 发明详述

[0054] 在描述本发明前, 需要理解的是, 因为本发明的范围将由所附权利要求和其相等物所限定, 在此使用的术语仅用于描述特别的实施方案, 而不在于限制。

[0055] 尤其需要指出的是, 在本说明书和所附权利要求书中使用的单数形式“一”“一种”“该”也都包括复数指代, 除非本文另有明确规定。

[0056] 在下面的描述中, 如在“类固醇有关的病症”中的术语“与类固醇有关的”和“由类固醇诱导的”的意思是, 包含类固醇作用于中枢神经系统的三种可能的机理: a) 直接作用, b) 诱导耐受, c) 戒断作用。该病症的例子已经在上文给出, 但这些例子是说明每种机理, 而不是解释为限制本发明。

[0057] 术语“阻断”的意思是, 一种阻止 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇作用于 GABA-A 受体的作用。需要理解的是, “阻断”是一种与“调节”或“抑制”或类似术语完全不同的作用, 这些术语暗示作用仍在发生, 只是以较少的程度或较低的速率进行。

[0058] 术语“拮抗剂”意思是, 一种能阻碍另一种物质即激动剂引发其作用的物质。在本申请中同时使用术语拮抗剂和阻断剂。

[0059] 术语“药物组合物”使用其广义, 包括所有含有至少一种活性物质和任选的载体、辅料、组分等的药学可用的组合物。术语“药物组合物”也包括一种组合物, 含有以衍生物或前药形式存在的活性物质, 如药学可接受盐、硫酸盐和酯。不同给药途径的药物组合物的制备, 应为制剂化学领域技术人员熟知。

[0060] 用其广义使用术语“给药”和“给药方式”以及“给药途径”。本发明的药物组合物可通过多种途径给药, 给药途径主要依据局部、表面或全身给药哪个最适合所治疗的病症。这些不同的给药方式, 如表面 (例如在皮肤上给药)、局部 (包括眼部给药和向各种黏膜给药如阴道和直肠给药)、口服或肠胃外和包括上、下呼吸道的肺部给药。

[0061] 上述组合物和制剂的制备通常是制药和制剂领域的技术人员熟知的, 并且可以应用于本发明的组合物制剂。

[0062] 本发明人令人吃惊地揭示, 在 3β 位有氢供体和 20 位有羟基的类固醇在药学上适

宜的和实际可应用的剂量下,能在体外抑制 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇作用,但对 GABA 本身作用有很低的拮抗作用。因此其阻断了 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇的消极作用的发展,但对 GABA 自身作用有最低的作用。提出了 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇在 CNS 障碍的发展中的机理作用和 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷或 3β -硫酸- $5\alpha/\delta 5$ -孕烷/孕烯类固醇与 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇相互作用的作用机理。该化合物的例子见表 2。

[0063] 另外,本发明人令人吃惊地的揭示,在 3 位和 / 或 3、20 和 21 位有乙酸酯基团的类固醇在药学上适宜的和实际可应用的剂量下,能部分抑制在 GABA 介导的氯离子流量上的 GABA 自身作用。因此,这些类固醇可作为治疗物质应用,病症的预防和 / 或治疗是 GABA 功能本身过度刺激所致,就像在阿尔茨海默氏病中一样。该化合物的例子见表 3。

[0064] 本发明涉及所有在 3β 位含有氢供体特别是羟基或硫酸酯基的类固醇,和 20 位有羟基的类固醇。举例说明在表 2 中的 3β -羟基-孕烷-20-醇类固醇。本发明人揭示,这些类固醇是拮抗剂并能阻断 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇对中枢神经系统 (CNS) 的作用,但很少影响 GABA 自身作用。令人吃惊的是,同时用 3α -羟基-孕烷-类固醇和表 2 提到的 3β -羟基-孕烷-类固醇治疗,抑制在通过在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中重组表达的 GABA-A 受体的由 3α -羟基-孕烷-类固醇诱导的氯离子流量,但对由单独 GABA 诱导的氯离子流量影响很低。

[0065] 本发明的一个优点是, 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇,特别是 5α -孕烷- 3β , 20 β -二醇、 5β -孕烷- 3β , 20 α -二醇、 5α -孕烷- 3β , 20 α -二醇、 5β -孕烷- 3β , 20 β -二醇,可有效地拮抗 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇对 GABA-A 受体的调节作用,但对 GABA-A 受体的 GABA 活性影响程度很低。特别的优点是,上述阻断是在药理学和生理学适宜的浓度下获得的。

[0066] 因此本发明之后的新的和令人吃惊地发现是,通过 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇在药理学和生理学可接受的量给药,可以由 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇选择性阻断 GABA-活性通路的增加,而没有或仅有最小量的对 GABA 作用的作用。

[0067] 本发明的其他新的和令人吃惊地发现是,在 3、20 和 21 位具有乙酸酯基团的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇,特别是 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20 β -二醇 3-乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20 β -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20 α -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20 β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20 α -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20 β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 21-二醇-20-酮 21-乙酸酯;和一些 3β - 5β -类固醇,特别是 5β -孕烷- 3β -醇-20-酮和 5β -孕烷- 3β , 21-二醇-20-酮,能部分的抑制在 GABA-A 受体上的直接 GABA 反应。特别的优点是,上述阻断是在药理学和生理学适宜的浓度下达到的。

[0068] GABA-A 受体是一种氯离子通道, GABA-A 受体通过流经通道的氯离子流量来行使其作用。本领域众所周知的是,在 GABA-A 受体打开,大量的氯离子流入细胞时大脑中的神经活动降低。同样众所周知的是,氯离子的流入量与 GABA-A 受体活性药物的临床作用有关。

[0069] 苯二氮~~革~~类、巴比妥类和在某种程度上、酒精、通过上述机理产生它们的作用。然而,这也导致了这些药物的不利作用。关于 GABA-A 受体的问题是,其在大脑的大部分发挥

作用。因此, GABA 作用的完全阻断剂是危险的, 并且可能引起精神症状和惊厥。当将要拮抗 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇时, 人们想使用特定对抗 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇作用且其不拮抗 GABA 自身作用的物质。然而, 情况是当病症的病因为由 GABA 自身活性引起的常规 GABA 体系过度激活时, 优选更加常规的对 GABA 自身作用作用的拮抗剂。但是如果这些常规拮抗剂完全阻断 GABA-A 受体, 则他们是危险的。

[0070] 因此, 优选类似本发明中所述部分拮抗剂。

[0071] 如上述讨论的, 有许多与 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇有关的症状和疾病, 阻断 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇作用将是一种治疗讨论中疾病的方法。本发明人现在制造可用于该阻断的有用的物质和方法。

[0072] 此外, 存在与 GABA-A 系统常规过度刺激相关的症状, 并有 GABA 作用的部分阻断剂可用于治疗该症状。本发明人现在制造可用于该部分阻断 GABA 作用的有用物质和方法。

[0073] 在 Prince 和 Simmons (上述) 所报道的实验工作中使用了间接配体结合分析。然而通过研究单独的 FNZ- 结合, 不能确认相同的作用将会在体内神经活性中测到。Prince 和 Simmons 在他们的论文中也没有声明这点。他们只是讨论了类固醇结合位点的推论以及这些位点是否相同。这不是新的讨论, 且在更早的文献中就有说明类固醇的几个可能的结合位点。他们得出的仅有的结论和使用他们的实验设计和模型得出的可能的结论是, 类固醇有差别的改变 FNZ 的结合并与 FNZ 的结合有相互关系。从 Prince 和 Simmons 的结果中无法得出对神经活性或临床推论的作用的结论。

[0074] 本发明人令人吃惊的揭示, 药学上适宜的和可用剂量的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇, 特别是 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇; 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇; 和 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇, 可选择性阻断 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇的作用, 从而阻断了 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇的消极作用的发展但具有微小的 GABA 抑制作用。本发明人也令人吃惊的揭示了, 药学上适宜的和实际可用剂量的在 3、20 或 21 位具有乙酸酯基团的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇是 GABA 作用的部分阻断剂, 特别是 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮 21-乙酸酯; 和一些 3β - 5β -类固醇, 特别是 5β -孕烷- 3β -醇-20-酮和 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮。

[0075] 本发明人确定了由 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇和 GABA 本身引起的病症的作用机理。在本领域中也确定了 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇通过三种可能的机理引发 CNS 障碍, 三种可能的机理为 a) 直接作用, b) 诱导耐受和 c) 戒断作用。此外完全公开了, 用 GABA 过度刺激大脑会完全损坏 GABA-A 体系的机能, 并且恶化的功能是记忆和学习能力, 众所周知发生在例如阿尔茨海默氏病症中。

[0076] 比较先前公开的发明, 如 Bolger 等人, U. S. 专利 No. 5, 232, 917 和 Upasani 等人, U. S. 专利 No. 5, 939, 545, 即没有在专利中也没在相关的科学文献中 (Lan N. C., Gee K. W., Bolger M. B. & Chen J. S. (1991), Differential responses of expressed recombinant human gamma-aminobutyric acidA receptors to neurosteroids. Journal of Neurochemistry, 57(5):1818-1821), 公开过任何作为 GABA-A 受体调节剂的 3β -羟

基-5 α /3 β -孕烷-类固醇。

[0077] 因此,作为本发明的一般方面,本发明人提供了能阻断 3 α -羟基-孕烷-类固醇对 GABA-A 受体的作用但不是 GABA 作用的化学化合物,和对 GABA 作用的部分拮抗剂。

[0078] 本发明的另一个方面是一种药物组合物,其含有能阻断 3 α -羟基-孕烷-类固醇对人类 GABA-A 受体作用的化合物,或 GABA 作用的部分阻断剂。优选的该化合物(表 2、3)以适宜的和药学可接受盐的形式存在,更优选钠盐形式。

[0079] 本发明的另一个方面是治疗和/或预防人类患者的与类固醇有关的 CNS 障碍的常规方法,其中给予上述患者至少一种能阻断 3 α -羟基-孕烷-类固醇对人类 GABA-A 受体作用的化合物。优选所述化合物在 3 β 位具有氢供体,氢供体以选自羟基和硫酸酯基,并且 20 位存在羟基的形式。更优选的所述化合物选自表 2 所给的物质。此外,公开了治疗和/或预防人类患者的与 GABA-A 受体常规过度刺激有关的 CNS 障碍的常规方法,其中给予上述患者至少一种对人类 GABA-A 受体作用能部分阻断 GABA 的化合物。最优选的化合物选自表 3 所列的化合物。优选所述化合物以适宜的和药学可接受盐的形式使用,更优选钠盐的形式使用。

[0080] 根据本发明,所述至少一种化合物是通过以下给药途径中的一种给药:静脉内给药、经鼻给药、经直肠给药、阴道内给药、经皮给药和口服给药。根据一个优选的实施方案,所述至少一种类固醇是静脉内给药。根据另一个优选的实施方案,上述至少一种类固醇是经鼻给药。

[0081] 优选的经鼻给药是一种有希望的选择,因其提供了简单和患者能自我给药的优点。自我给药具有允许患者根据对自身病症的主观评价或根据治疗医师开具的程序表调整药物治疗的剂量或频率的优点。术语“治疗医师开具的程序表”包括在未经协助或通过问卷、范围或比例的协助下,或者使用运算法则或计算机程序情况下,患者对他/她的症状作出主观评价,确定适宜的下一个剂量。

[0082] 使用配制成乳膏、凝胶和油膏的物质,或以缓慢释放的粘性药物贴剂形式的经皮给药,是另一种可能的给药方式,其同样适合自我给药。上面所列的自我给药的优点也适用于经皮给药,同时增加的优点是,如果希望或必要,给药能方便的中止,如通过移去药物贴剂。

[0083] 在这些或其他的给药途径中,组合物的制剂可根据本领域技术人员常规使用和熟知的正常的药理学程序改造和调整,包括适于的所选途径的以化学形式存在的有效药物,以及适宜的辅剂和赋形剂。

[0084] 常规使用的用于口服给药的辅剂和赋形剂是例如填充剂或悬浮剂如二氧化钛、乳糖酐、二氧化硅、胶态二氧化硅、甲基纤维素、硬脂酸镁、微晶纤维素等。

[0085] 常规使用的静脉内给药的辅剂和赋形剂是例如无菌注射用水(WFI)、无菌缓冲液(例如将溶液缓冲至 pH7.4)、白蛋白溶液、脂质溶液等。

[0086] 常规使用的经皮给药的辅剂和赋形剂是例如凡士林、液体石蜡、甘油、水等。

[0087] 剂量将依据给药的方式、治疗的特殊病症或希望的效果、患者的性别、年龄、体重和健康状况,和其他可能的因素,由治疗医师评估作出相应变化。根据本发明,当所述至少一种类固醇静脉内给药时,适宜的区间是每公斤体重约 0.2 至 200mg,优选每公斤体重 0.2 至 2,2 至 10,10 至 20,20 至 40,40 至 80,80 至 120,120 至 160,和 160 至 200mg。在动物体

内的初步研究显示,优选的静脉内给药区间是每公斤体重约 20 至 100mg。

[0088] 其他给药方式的相应剂量区间可以容易的由本领域技术人员计算得出,并且如果需要,可通过非创造性的动物实验或临床前或临床研究验证。

[0089] 本发明的一个实施方案是治疗与类固醇有关的或类固醇诱导的 CNS 障碍,特别是经前综合征的方法,其中通过给予至少一种本发明的物质,阻止了耐受性的发展和阻止了 GABA-A 受体的向下调节。这种治疗将保持 GABA-A 系统的敏感性,并抑制在黄体期中的低敏状态的发展。在大鼠中显示,GABA-A 受体在长期的黄体酮治疗期间发生了改变。根据本发明,用 3 β -羟基-5 α / β -孕烷-类固醇或 3 β -硫酸酯基-5 α /5 β -孕烷/孕烯-类固醇治疗用以阻止耐受性的发展,并因此阻碍当 3 α -羟基-5 α / β -类固醇戒断时发生戒断作用。

[0090] 耐受性的发展将会降低内源产生的 GABA-A 增强物质如 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮或苯二氮~~革~~的敏感性。当快速撤药时,就像是在月经周期的黄体期末期,戒断 3 α -羟基-5 α -孕烷-类固醇后发生反跳作用。在人类中发现了这种情况,在类固醇停止产生和戒断后不久,经期中偏头痛和癫痫发作增加。

[0091] 本发明的另一个实施方案相应的是,通过给予至少一种本发明的物质来治疗或预防耐受性的发展和/或戒断症状的方法。

[0092] 本发明进一步涉及一种用于治疗 and/或预防上述人类患者的与类固醇有关的或类固醇诱导的情绪障碍的方法,根据该方法,给予患者至少一种 3 β -羟基-5 α / β -孕烷-20-醇-类固醇。所述类固醇化合物优选自表 2 中提到的类固醇。所述化合物最优选的以适宜的和药学可接受盐的形式使用,最优选钠盐的形式使用。

[0093] 适宜的给药途径是例如以下:静脉内给药、经鼻给药、经直肠给药、阴道内给药、经皮给药和口服给药。

[0094] 在治疗多种 CNS 障碍和作为抗麻醉剂使用时,有效化合物或多种有效化合物却优选静脉内给药。

[0095] 根据本发明适宜的静脉内给药剂量区间是每公斤体重约 0.2 至约 200mg,优选每公斤体重 0.2 至 2,2 至 10,10 至 20,20 至 40,40 至 80,80 至 120,120 至 160,和 160 至 200mg。最优选约 20 至约 100mg/kg。

[0096] 如上所述,组合物制剂可根据正常的药理学程序改造或调整。此外,剂量将依据给药的方式、治疗的特殊病症或希望的效果、患者的性别、年龄、体重和健康状况,和其他可能的因素,由治疗医师评估作出相应变化。

[0097] 此外,本发明包括一种用于治疗 and/或预防人类患者的与类固醇有关的或类固醇诱导的 CNS 障碍的方法,根据该方法,给予所述患者药理学和生理学可接受的剂量的一种或多种 3 β -羟基-5 α / β -孕烷-20-醇-类固醇(参见表 2)。所述类固醇化合物优选自表 2 中的类固醇。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,最优选钠盐的形式使用。

[0098] 由 3 α -羟基-5 α / β -类固醇直接作用导致的症状和病症的例子有镇静、疲倦、记忆障碍、学习障碍、运动功能障碍、笨拙、胃口增加和对食物的强烈欲望、情绪消极如紧张、易怒和抑郁,这些都是经前综合征和癫痫小发作恶化的主要症状。

[0099] 通过长时间(若干天)暴露 3 α -羟基-5 α / β -类固醇后耐受性发展导致的病症

和症状是,例如,压力敏感、注意力集中困难、与压力或月经周期相关的注意力集中困难、睡眠障碍、疲倦、冲动失控和抑郁。 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇也增强药物依赖性。根据本发明,通过给予患者至少一种 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇,可预防、缓解或治疗这些病症或症状。所述类固醇化合物优选自表2中的类固醇。所述化合物最优选的以适宜的和药学可接受盐的形式使用,最优选钠盐的形式使用。

[0100] 持续但较短时间暴露 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇导致该暴露终止时发生戒断作用。这种现象发生在行经期间当中断由卵巢黄体产生 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇时。这种戒断现象也发生在生产之后(产后),当中断由胎盘产生的 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇后。还发现紧张阶段结束时存在相同的现象,并且在紧张期间由肾上腺素分泌的 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -类固醇中断时,受戒断/戒瘾现象影响病症的例子是局部性癫痫,此处患者的癫痫病灶在大脑皮层,恶化发生在行经期间的戒断时期。这种现象称为“月经性癫痫”。其他的例子有与月经相关的偏头痛和与压力相关的偏头痛和产后情绪改变。戒断症状是耐受性早期发展的信号。

[0101] 认为与类固醇有关的或类固醇诱导的病症的例子包括以下:癫痫、月经周期依赖性癫痫、抑郁、与压力有关的抑郁、偏头痛、疲倦和特别是与压力有关的疲倦、经前综合征、经前烦躁症、与月经周期有关的情绪改变、与月经周期有关的记忆改变、与压力有关的记忆改变、与月经周期有关的注意力集中困难、与月经周期有关的睡眠障碍和疲倦。有强有力的证据显示肥胖和食欲增加以及一些平衡失衡形式、滥用酒精和物质也是与类固醇有关或由类固醇诱导的。因此,本发明提供了治疗、缓解或预防这些病症的物质和方法。

[0102] 本发明的一个优选的实施方案,涉及一个折磨许多妇女的问题,是一种治疗和/或预防人类患者绝经后的治疗副作用的方法,根据该方法,给予患者至少一种 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇。所述类固醇化合物优选自表2中提到的类固醇。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,最优选钠盐的形式使用。

[0103] 本发明的另一个优选的实施方案是治疗和/或预防人类患者口服避孕药的副作用,给予患者至少一种 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇。所述类固醇化合物优选自表2中的类固醇。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,最优选钠盐的形式使用。

[0104] 在本申请中,优选将至少一种上面举例的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇或 3β -硫酸酯基- $5\alpha/\delta 5$ -孕烷/孕烯-类固醇的有效组合与口服避孕药一起给药于患者。经鼻和经皮给药也是适宜的给药途径。

[0105] 因此,本发明的一个特别的实施方案是一种药物组合物,其包括一种口服避孕药和治疗学可接受的剂量的至少一种能阻断 3α -羟基-孕烷-类固醇对人类GABA-A受体作用的化学化合物。其中该化合物在 3β 位具有氢供体,氢供体以选自羟基和硫酸酯基,和在20位存在羟基的形式。优选的所述化合物选自表2的类固醇。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,更优选钠盐的形式使用。

[0106] 此外,在上述实施方案的范围中,能阻断 3α -羟基-孕烷-类固醇对人类GABA-A受体作用的化学化合物的剂量,优选调节至紧张期或经期中的内源性类固醇的水平。根据本发明,能阻断 3α -羟基-孕烷-类固醇对人类GABA-A受体作用的化学化合物可包含于口服避孕药中,不但为了减轻或消除口服避孕药的副作用,也为了减轻或消除内源性类固

醇周期性改变引发的任何不希望的效果。

[0107] 一般而言,本发明包括 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-20-醇-类固醇的用途,特别是表 2 提到的类固醇,单独或联合,用于制造药物以治疗或预防任意一种说明书中描述的与 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇有关的或诱导的病症,特别是一种或几种以下的病症:癫痫、月经周期依赖性癫痫、抑郁、与压力有关的抑郁、偏头痛、疲倦和特别是与压力有关的疲倦、经前综合征、经前烦躁症、与月经周期有关的情绪改变、与月经周期有关的记忆改变、与压力有关的记忆改变、与月经周期有关的注意力集中困难、与月经周期有关的睡眠障碍和疲倦。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,更优选钠盐的形式使用。

[0108] 本发明的另一个优选的实施方案是通过使用具有乙酸酯基团或 3、20 和 21 位基团的 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇和一些 3β -羟基- 5β -孕烷-类固醇治疗和/或预防由 γ -氨基丁酸 (GABA) 过度刺激引起的病症的方法。

[0109] GABA 自身对 GABA-A 受体的高刺激在一定情况下认为抑制学习和记忆机能。GABA-A 受体系统的过度刺激将损害短期学习和记忆机能,并且特别是在高龄人群中具有临床相关性。在这种情况下,GABA 作用的拮抗作用是有益的,并能够用做记忆损伤的治疗。然而,如果 GABA 拮抗作用太强,是危险的,并能导致惊厥。因此,优选部分拮抗 GABA 的拮抗剂,以诱导在 GABA-A 受体中的变化却不完全阻滞 GABA-A 受体。而且,本发明包含治疗和/或预防人类患者由 GABA-A 受体系统的常规过度刺激诱导的 CNS 障碍的方法,根据该方法,具有乙酸酯基团或 3、20 和 21 位基团的一种或多种 3β -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇和一些 3β -羟基- 5β -孕烷-类固醇(参见表 3)以药理和生理可接受剂量向所述患者给药。优选所述类固醇化合物选自如表 3 所列的类固醇 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇 3-乙酸酯; 5α -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 20β -二醇二乙酸酯; 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮 21-乙酸酯; 5β -孕烷- 3β -醇-20-酮,和 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮。所述化合物最优选以适宜的和药学可接受盐的形式使用,更优选钠盐的形式使用。特殊的优点是在药理和生理学适宜的浓度下实现这种阻滞。

[0110] 这些病症的例子,认为是与 GABA-A 系统的过度刺激有关或诱导的,包括特别在年长者中的阿尔茨海默氏病症 (AD) 和轻微认知损伤 (MCI)。因此本发明提供了治疗、缓解或预防这些病症的物质和方法。

[0111] 实施例

[0112] 本发明以体外实验为基础,进行以确定对 3α -羟基- $5\alpha/\beta$ -孕烷-类固醇增强 GABA 介导的氯离子流量的反向阻断作用,和对 GABA 本身作用反应的阻断作用的特异性。在 *Xenopus laevis* 卵母细胞表面表达的重组 GABA-A 受体体外测试的结果,在本发明人进行的雄性大鼠皮质组织测验中加以证实。

[0113] 使用电压钳方法,研究在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的重组 GABA-A 受体 ($\alpha 1$, $\beta 2$, $\gamma 2L$) 中的氯离子流量。

[0114] 在本发明中用于测试类固醇的 GABA-A 受体,在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中重组表达。卵母细胞具有巨大的从注射入卵母细胞 mRNA 为表面膜表达蛋白质的能力。受体含有三种不同类型的五个蛋白质,并且受体亚型 $\alpha 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 2L$ 的 mRNA 在本测试的条件下表达。

在中枢神经系统中这些 GABA-A 受体亚型是最普通的。这些 GABA-A 受体含有两个 $\alpha 1$ 蛋白质,两个 $\beta 2$ 和一个 γ 蛋白质。48 小时的孵化后, GABA-A 受体跨入膜中并以与受体在原处相同的方式在体外运转。因此,该模型系统被本领域技术人员认为是一种良好的 GABA-A 受体活性药物体外测试系统。通过氯离子通道的氯离子流量是 GABA-A 受体上 GABA 作用的结果,并且 GABA-A 受体调节器例如 3α -羟基- 5α -孕烷-类固醇可增强 GABA 的作用。通过受体的氯离子流量使用电压钳技术测量为流量诱导的电流。可逐步测量激动剂和拮抗剂的剂量反应曲线,并且电流取决于 GABA-A 受体活性,其不同剂量的激动剂和拮抗剂交互作用之后获得。通过相对于精确电流,在本研究中为 $2\mu A$,将数据标准化,由不同卵母细胞获得的结果进行比较,并通过相对于特定剂量,此处为 $10\mu M$,对电流改变进行标准化,可对不同的测试物质进行比较。 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮诱导的 GABA 介导氯离子流量增强设为 1,其在体外浴中使用 $3\mu M$ 的 GABA+ $3\mu M$ 的 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮在卵母细胞中表达 GABA-A 受体溢出后获得。氯离子流量作为由通过 GABA-A 受体的氯离子流引起的流进行测量。GABA 诱导的氯离子流量设定为 1,其在体外用 $30\mu M$ 的 GABA 通过卵母细胞表达 GABA-A 受体溢出后获得。通过测试 UC-类固醇对 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮诱导的 GABA 介导氯离子流量增强的抑制作用,与相同 UC-类固醇对 GABA-A 受体的 GABA 活性抑制作用进行比较。结果显示于附图 1 和表 4 中。在附图 1 中,用 X 突出显示的是具有低 GABA 拮抗作用的 UC-类固醇,而用黑点 (•) 突出显示的是具有部分 GABA 拮抗作用的 UC-类固醇。

[0115] 附图 1 显示了在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的重组 GABA-A 受体 ($\alpha 1$, $\beta 2$, $\gamma 2L$) 的最大 GABA 介导氯离子流量抑制作用, X 轴,与 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮诱导的 GABA 介导氯离子流量抑制作用, Y 轴,之间的关系。在附图中,结果已经标准化为由 $30\mu M$ 的 GABA 或 $3\mu M$ 的 GABA+ $3\mu M$ 的 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮刺激的对照流量。不存在类固醇拮抗剂的对照流量标准化为 0。以 $10\mu M$ 测试每种类固醇拮抗剂。黑色叉号 (X) 突出显示了低 GABA 抑制性但显著抑制 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮增强的 GABA 介导反应的类固醇。黑点 (•) 突出显示了抑制直接 GABA 反应 ($30\mu M$) 和 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮所增强的 GABA 反应的类固醇。数据点用产品名标记,其全名显示于表 2 和 3 中。

[0116] 表 4 给出了所测试 UC-类固醇在 $3\mu M$ 的 GABA+ $3\mu M$ 的 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮刺激的氯离子流量以及在 $30\mu M$ 的 GABA 刺激的氯离子流量的拮抗作用概述。拮抗作用的测试为在 3, 20 和 21 位具有乙酸酯基团的 3β -羟基- 5α -孕烷-20-酮-类固醇和 3β -羟基- 5α -孕烷-类固醇和某些表 2 和 3 中显示的 3β -羟基- 5β -孕烷-类固醇。某些类固醇 (5α -孕烷- 3β -醇-20-酮) 已经在专利申请 W099/45931 和 W003/059357 中公开,仅为完整而引入此处。某些公开于 W003/059357 的类固醇现已经发现具有称为具有 GABA 自身低拮抗作用的附加作用 (5α -孕烷- 3β , 20β -二醇, UC1011; 5β -孕烷- 3β , 20α -二醇, UC1013), 而其他现在已经发现具有 GABA 作用部分拮抗作用 (5α -孕烷- 3β -醇-20-酮乙酸酯, UC1012; 5α -孕烷- 3β -醇-20-酮, UC1014; 5β -孕烷- 3β , 21 -二醇-20-酮, UC1015)。

[0117] 表 4. UC 物质的平均标准化 -1 拮抗作用, $10\mu M$, 抗 3α -羟基- 5α -孕烷-20-酮+GABA 或单独 GABA 刺激的通过在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的大鼠 GABA-A 受体如 $\alpha 1$, $\beta 2$, $\gamma 2L$ 的氯离子流。

[0118]

UC 代码	平均标准化-1	平均标准化-1
	3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮抑制作用	GABA抑制作用
仅 GABA		,00
3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮	,00	
UC1010	-,37	-,26
UC1011	-,21	-,17
UC1012	-,42	-,37
UC1013	-,30	-,23
UC1014	-,45	-,39
UC1015	-,43	-,40
UC1019	-,36	-,17
UC1020	-,41	-,10
UC1021	-,34	-,44
UC1022	-,40	-,27
UC1023	-,42	-,32
UC1024	-,36	-,59
UC1025	-,43	-,41
UC1026	-,30	-,45
UC1030	-,45	-,31

[0119] 在 3 μ M 的 GABA+3 μ M 的 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮的存在下,进行 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮抑制作用的研究。用 100 μ M 的 GABA 剂量进行 GABA 拮抗作用的研究。记录中的电流相对于 2 μ 安培的刺激进行标准化,表中所示的平均作用分别相对于 3 μ M 的 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮和 100 μ M 的 GABA 进行标准化 -1。记录细胞数 n = 3-10。

[0120] 皮质组织匀浆研究

[0121] 在 *Xenopus* 卵母细胞模型中研究的某些类固醇(参见表 2)同样经本发明根据 3 α -羟基-5 α / β -孕烷-类固醇在氯离子 GABA-A 受体模型中抑制吸收作用的能力进行测试。从大鼠皮质组织中收集用于氯离子摄取实验的 GABA-A 受体,该组织是大脑中测量 GABA-A 受体作用的代表性部分。可以假定两种技术获得的结果极其相似,具有较高的可信度,该模型获得的结果可在高级哺乳动物和人类患者中证实。

[0122] 在这些研究中,来自成年雄性大鼠的皮质组织在缓冲溶液中均质化。经此处理后

形成小囊泡的悬浮液,所述囊泡的表面具有 GABA-A 受体。当放射性的氯离子加入到该悬浮液中时,一定量的氯离子会进入所述囊泡。概述良玉 GABA-A 受体的开放程度有关。开放该受体的药物将增加氯离子进入囊泡的数量,该数量与所述药物的剂量有关。相似的,关闭 GABA-A 受体的药物将降低进入囊泡的氯离子数量。囊泡外的标记氯离子经洗涤去除,与囊泡内的氯离子分离。然后在流体闪烁器中测定囊泡内经放射标记的氯离子数量并绘制曲线图。在每个实验中,用不断增加 GABA 剂量的对照实验来确定组织样品正常。将 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮+10 μ M 的 GABA 建立的完全剂量反应曲线作为第二对照使用。

[0123] 图 2 显示,在 *Xenopus laevis* 卵母细胞表达的重组 GABA 受体 ($\alpha 1$, $\beta 2$, $\gamma 2L$) 中 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮增强 GABA 介导的氯离子流量的抑制作用,与在得自雄性大鼠皮层的皮质 microsacs 中 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮增强的 GABA 介导氯离子摄取的抑制作用之间的关系。以标准值 -1 的形式给出 X 和 Y 轴上的数据,显示了分离物质的抑制作用。在卵母细胞数据中将 3 μ M GABA+3 μ M 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮的作用设为 0。在 10 μ M 测试每种类固醇。氯离子摄取分析的数据相对于设为 = 0 的 10 μ M GABA+1 μ M 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮的作用进行标准化。在 30 μ M 测试每种类固醇。数据点的标注用产品序号标记,但是,与序号相关的全名显示于表 2 和 3 中。在卵母细胞中 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮抑制作用为标准化 -1 的关系回归线 = $-0.04+0.96 \times \text{标准化 -1}$ 皮质 microsacs 中摄取的氯离子。Pearson 校正系数 $r = 0.90$; $p < 0.002$ 。显示 UC-类固醇抑制属性的两种不同方法得到了高度一致的结果。结果表明,类固醇作用的差异是真实的。

[0124] 在本发明用于测试类固醇的 GABA-A 受体,在 *Xenopus laevis* 卵母细胞中重组表达。卵母细胞具有巨大的从注射入卵母细胞 mRNA 为表面膜表达蛋白质的能力。受体含有三种不同类型的蛋白质,并且受体亚型 $\alpha 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 2L$ 的 mRNA 在本测试的条件下表达。在中枢神经系统中这些 GABA-A 受体亚型是最普通的。GABA-A 受体跨入膜中并以与受体在原处相同的方式在体外运转,因此该模型系统被本领域技术人员认为是一种良好的 GABA-A 受体活性药物体外测试系统。通过氯离子通道的氯离子流量是 GABA-A 受体上 GABA 作用的结果,并且 GABA-A 受体调节器例如 3 α -羟基-5 α -孕烷-类固醇可增强 GABA 的作用。通过受体的氯离子流量使用电压钳技术测量为流量诱导的电流。可测量剂量反应曲线,并通过相对于精确电流,在本研究中为 2 μ A,对数据进行标准化,由不同卵母细胞获得的结果进行比较,并通过相对于特定剂量,此处为 10 μ M,对电流改变进行标准化,可对不同的测试物质进行比较。通过测试 UC-类固醇对 3 α -羟基-5 α -孕烷-20-酮诱导的 GABA 介导氯离子流量增强的抑制作用,与相同 UC-类固醇对 GABA-A 受体的 GABA 活性抑制作用进行比较。用不同的标记将结果显示于附图 1 中。在 *Xenopus laevis* 卵母细胞模型中研究的某些类固醇(参见表 2),本发明人同样揭示了其在氯离子摄取 GABA-A 受体模型中的 3 α -羟基-5 α -孕烷-类固醇作用的抑制。从大鼠皮质组织中收集用于氯离子摄取实验的 GABA-A 受体,该组织是大脑中测量 GABA-A 受体作用的代表性部分。可以假定两种技术获得的结果极其相似,具有较高的可信度,该模型获得的结果可在高级哺乳动物和人类患者中证实。

[0125] 尽管本发明已经用作为其优选的实施方案描述,该方案为本发明人已知的所建立的最佳模型,需要理解的是,本领域普通技术人员所能发现的各种改变和修饰并不脱离本发明的范围,该范围在权利要求中提出,附加于此。

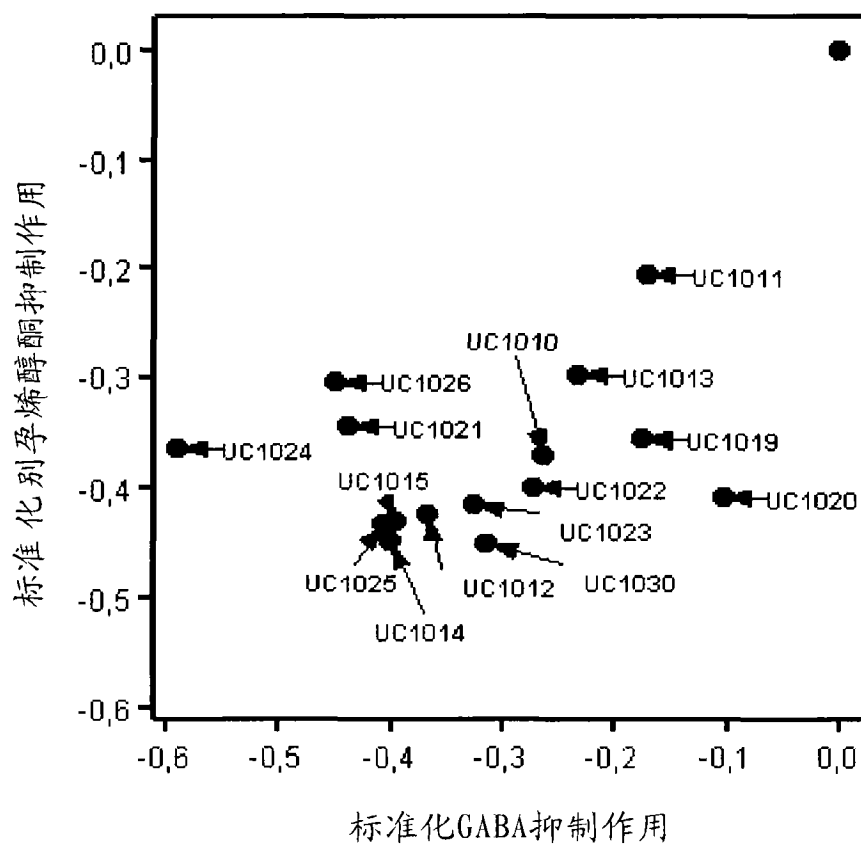


图 1

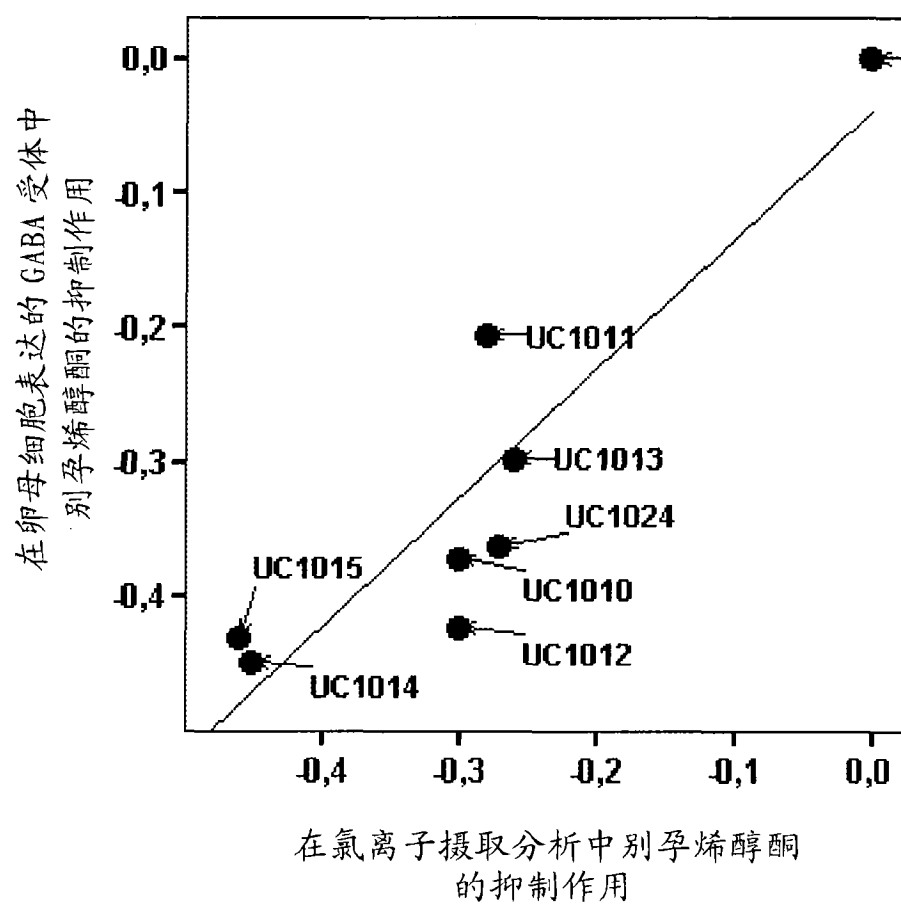


图 2