

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780022967.8

[51] Int. Cl.

*A61K 31/137 (2006.01)*

*A61K 31/343 (2006.01)*

*A61K 31/381 (2006.01)*

*A61K 31/403 (2006.01)*

*A61K 31/405 (2006.01)*

*A61K 31/445 (2006.01)*

[43] 公开日 2009年7月1日

[11] 公开号 CN 101472575A

[22] 申请日 2007.5.11

[21] 申请号 200780022967.8

[86] 国际申请 PCT/US2007/011362 2007.5.11

[87] 国际公布 WO2008/140448 英 2008.11.20

[85] 进入国家阶段日期 2008.12.19

[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 C·S·莫里洛 T·D·沃林斯基

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张轶东 李炳爱

权利要求书4页 说明书21页 附图1页

[54] 发明名称

5 - HTP 组合疗法

[57] 摘要

本发明涉及组合疗法和包含 5 - 羟色氨酸和血清素再摄取抑制剂的组合的药物组合物。本发明提供了包含(i)血清素再摄取抑制剂和(ii)5 - 羟色氨酸的药物组合物。本发明还提供了包含(i)范围从约 1mg 到约 75mg 量的 5 - 羟色氨酸;和(ii)血清素再摄取抑制剂的药物组合物。本发明还提供了包含(i)亚临床剂量的血清素再摄取抑制剂;和(ii)5 - 羟色氨酸的药物组合物。

1. 药物组合物，其包含(i)血清素再摄取抑制剂或其可药用盐，其是血清素双重作用化合物；和(ii)5-羟色氨酸。
2. 权利要求1的组合物，其中所述血清素再摄取抑制剂是选择性的血清素再摄取抑制剂。
3. 权利要求1的组合物，其中所述血清素再摄取抑制剂选自依他普仑和帕罗西汀或其可药用盐。
4. 权利要求1到3中任一项的组合物，其中所述组合物含有约1mg到约75mg量的5-羟色氨酸。
5. 权利要求1到3中任一项的组合物，其中所述组合物含有范围从约1mg到约600mg量的5-羟色氨酸。
6. 权利要求1到3中任一项的组合物，其中所述组合物含有范围从约25mg到约300mg量的5-羟色氨酸。
7. 权利要求1到3中任一项的组合物，其中所述组合物含有范围从约50mg到约200mg量的5-羟色氨酸。
8. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约5mg到约30mg量的依他普仑或其可药用盐和(ii)约1mg到约600mg量的5-羟色氨酸。
9. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约5mg到约30mg量的依他普仑或其可药用盐和(ii)约25mg到约300mg量的5-羟色氨酸。
10. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约5mg到约30mg量的依他普仑或其可药用盐和(ii)约50mg到约200mg量的5-羟色氨酸。
11. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约10mg到约60mg量的帕罗西汀或其可药用盐和(ii)约1mg到约600mg量的5-羟色氨酸。
12. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约10mg到约60mg量的帕罗西汀或其可药用盐和(ii)约25mg到约300mg量的5-羟色氨酸。
13. 权利要求3的组合物，其中所述组合物包含(i)约10mg到约60mg量的帕罗西汀或其可药用盐和(ii)约50mg到约200mg量的5-羟色

氨酸。

14. 权利要求 3 的组合物，其中所述组合物包含小于约 5 mg，如约 0.1 mg 到约 4.9 mg 量的依他普仑或其可药用盐。

15. 权利要求 3 的组合物，其中所述组合物包含小于约 10 mg，如约 0.1 mg 到约 9.9 mg 量的帕罗西汀或其可药用盐。

16. 权利要求 1 到 3 中任一项的组合物，其还包含外周脱羧抑制剂。

17. 权利要求 16 的组合物，其中所述外周脱羧抑制剂是卡比多巴。

18. 权利要求 17 的组合物，其中所述组合物含有约 100 mg 到约 150 mg 量的卡比多巴。

19. 权利要求 18 的组合物，其中所述组合物选自片剂和胶囊。

20. 权利要求 1 到 19 中任一项的组合物用于治疗情感障碍，如抑郁症和焦虑症的用途。

21. (i) 血清素再摄取抑制剂或其可药用盐，其是血清素双重作用化合物；和(ii) 5-羟色氨酸用于制备组合物的用途，所述组合物用于施用于需要其的人类患者以治疗情感障碍，如抑郁症和焦虑症。

22. 权利要求 21 的用途，其中所述血清素再摄取抑制剂是选择性的血清素再摄取抑制剂。

23. 权利要求 21 的用途，其中所述血清素再摄取抑制剂选自依他普仑和帕罗西汀或其可药用盐。

24. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途，其中以范围从约 1mg 到约 75mg 的量施用 5-羟色氨酸。

25. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途，其中以范围从约 1mg 到约 600mg 的量施用 5-羟色氨酸。

26. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途，其中以范围从约 25mg 到约 300mg 的量施用 5-羟色氨酸。

27. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途，其中以范围从约 50mg 到约 200mg 的量施用 5-羟色氨酸。

28. 权利要求 23 的用途，其中以约 5 mg 到约 30 mg 的量施用依他普仑或其可药用盐和(ii)以约 1mg 到约 600 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

29. 权利要求 23 的用途，其中以约 5 mg 到约 30 mg 的量施用依他普仑或其可药用盐和(ii)以范围从约 25mg 到约 300 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

30. 权利要求 23 的用途, 其中以约 5 mg 到约 30 mg 的量施用依他普仑或其可药用盐和(ii)以范围从约 50mg 到约 200 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

31. 权利要求 23 的用途, 其中以约 10 mg 到约 60 mg 的量施用帕罗西汀或其可药用盐和(ii)以范围从约 1mg 到约 600 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

32. 权利要求 23 的用途, 其中以约 10 mg 到约 60 mg 的量施用帕罗西汀或其可药用盐和(ii)以范围从约 25 mg 到约 300 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

33. 权利要求 23 的用途, 其中以约 10 mg 到约 60 mg 的量施用帕罗西汀或其可药用盐和(ii)以范围从约 50 mg 到约 200 mg 的量施用 5-羟色氨酸。

34. 权利要求 23 的用途, 其中以小于约 5 mg, 如约 0.1 mg 到约 4.9 mg 的量施用依他普仑或其可药用盐。

35. 权利要求 23 的用途, 其中以小于约 10 mg, 如约 0.1 mg 到约 9.9 mg 的量施用帕罗西汀或其可药用盐。

36. 权利要求 23 到 27 中任一项的用途, 其中以单位剂型施用血清素再摄取抑制剂和 5-羟色氨酸。

37. 权利要求 36 的用途, 其中所述单位剂型选自片剂和胶囊。

38. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途, 其中以分立的单位剂型施用血清素再摄取抑制剂和 5-羟色氨酸。

39. 权利要求 38 的用途, 其中所述分立的单位剂型选自片剂和胶囊。

40. 权利要求 38 或 39 的用途, 其中同时、分开或者顺序地施用所述分立的单位剂型。

41. 权利要求 21 到 23 中任一项的用途, 其还包含外周脱羧抑制剂。

42. 权利要求 41 的用途, 其中所述外周脱羧抑制剂是卡比多巴。

43. 权利要求 42 的用途, 其中以范围从约 100 mg 到约 150 mg 的量施用卡比多巴。

44. 权利要求 41 到 43 中任一项的用途, 其中以单位剂型施用血清素再摄取抑制剂、5-羟色氨酸和外周脱羧抑制剂。

45. 权利要求 44 的用途, 其中所述单位剂型选自片剂和胶囊。

46. 权利要求 41 到 43 中任一项的用途, 其中以分立的单位剂型施用血清素再摄取抑制剂、5-羟色氨酸和外周脱羧抑制剂。

47. 权利要求 46 的用途, 其中所述分立的单位剂型选自片剂或胶囊。

48. 权利要求 46 或 47 的用途, 其中同时、分开或者顺序地施用所述分立的单位剂型。

## 5-HTP 组合疗法

### 发明领域

本发明涉及组合疗法和具有改善的功效的包含 5-羟色氨酸和血清素再摄取抑制剂的药物组合物。

### 发明背景

5-羟色氨酸(5-HTP)是血清素(5-羟色胺; 5-HT)的直接前体。在体内, 5-HTP 被羧化而产生 5-HT。脑中 5-HT 的水平取决于中枢神经系统(CNS)中 5-HTP 的水平。不需要转运分子将 5-HTP 运输穿过血脑屏障。在临床上已经显示 5-HTP 增加脑中血清素的产生并且因此已经提出 5-HTP 施用作为具有轻微或中度抑郁症患者的治疗(综述参见 Meyers, S., *Altern Med Rev.* 2000 Feb, 5(1): 64-71; 和 Birdsall, T.C., *Altern Med Rev.* 1998 Aug; 3(4): 271-80)。

血清素再摄取抑制剂(SRIs)已经成为情感障碍、特别是抑郁症的治疗中首选的疗法, 因为它们与典型的三环抗抑郁剂相比是有效的、良好耐受的并且具有有利的安全性谱。

然而, 基本上没有已知的药物治疗除了它对患者的益处外也不带有一定程度的不利副作用危险。在用人类患者进行的开放研究中, 5-HTP 单一疗法已经与胃肠副作用(恶心、呕吐、腹泻)和精神病理学副作用(急性焦虑状态、轻躁狂)相关(Zmilacher, K., Battegay, R. and Gastpar, M., *Neuropsychobiology.* 1988, 20(1): 28-35; Gijsman, H.J., et al., *J Clin Psychopharmacol.* 2002 Apr, 22(2): 183-9)。5-HTP 施用与嗜酸细胞增多性肌痛综合征的可能的原因相关(综述参见 Das, Y.T., et al., *Toxicol Lett.* 2004 Apr 15; 150(1): 111-22.)。控制这些副作用风险的一种方法可以是降低 5-HTP 的剂量。

关于 SRI, 将要针对 SRI 的可能的益处平衡和被控制的可能的副作用可以包括性功能障碍和睡眠干扰。许多患者在 SRI 单一疗法期间经历治疗效果的延迟发作。对抑郁症和焦虑症的进一步临床研究表明用 SRI 单一疗法治疗的 30% 以上的患者作为一个类别是非应答的。

已经提到当在多种动物模型中施用 5-HTP 时, 对不同 SRI 的不同

加强效果的观察。例如, Sanchez, C. 和 Hyttel, J., *European Journal of Pharmacology* (1994) 264: 241-247 观察到 L, 5-HTP 的次有效剂量在隔离诱导的攻击小鼠模型中极大地加强了西酞普兰和帕罗西汀的攻击效果。

C. Sanchez, *European Journal of Pharmacology* (2003) 464: 155-158 也测试了在焦虑症的超声发声大鼠模型中 L, 5-HTP 与西酞普兰或依他普仑的共同施用。在该模型中 (其中超声发声被理论化以模拟大鼠中的惊恐焦虑), 观察到对 L, 5-HTP 与西酞普兰的共同治疗的抗焦虑应答被轻微减弱, 并且 L, 5-HTP 与依他普仑的共同治疗被显著增强。用 R-西酞普兰的相伴治疗导致与对照相比超声发声的显著增加。

从而, 患者可以从较低剂量的 5-HTP 施用中受益。患者可以从较低剂量 SRI 的施用中受益。此外, 不应答 SRI 的患者可以从 SRI 与 5-HTP 的组合疗法中受益。此类组合疗法包括较低剂量的 SRI 或者 5-HTP, 然而与 SRI 或 5-HTP 单一疗法相比可以实现更大的功效或者更早出现治疗效果。

#### 发明概述

本发明的一个目的是提供药物组合物, 其包含(i)约 1mg 到约 75mg 量的 5-羟色氨酸; 和 (ii) 血清素再摄取抑制剂。

本发明的另一目的也是要提供药物组合物, 其包含 (i) 亚临床剂量的血清素再摄取抑制剂; 和(ii) 5-羟色氨酸。

本发明的另一目的是提供药物组合物, 其包含 (i) 血清素再摄取抑制剂和 (ii) 5-羟色氨酸。

#### 附图简述

图 1. 单独的依他普仑和氟西汀及其与 5-HTP 的组合对自由活动的大鼠的额皮质中细胞外 5-HT 的影响。注射依他普仑(0.5 mg/kg 皮下注射) (n=7)或氟西汀(10 mg/kg, 皮下注射) (n=6)后 60 分钟给大鼠施用 5-HTP (25 mg/kg, 皮下注射)。

#### 发明详述

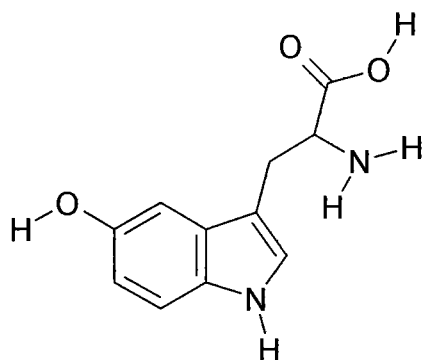
本发明涉及包含 5-羟色氨酸和血清素再摄取抑制剂的药物组合物。

如本文所用，“亚临床剂量”将意指小于最低剂量的剂量，所述最低剂量为到本申请的优先权日为止被政府管理部门批准作为单一疗法上市的剂量。

如本文所用，“变构调节剂”将意指具有大于0的Z因子的SRI，所述Z因子将通过本文所述的方法来测定。

如本文所用，“血清素双重作用化合物”将意指这样的化合物，其1)以小于约50 nM的 $IC_{50}$ 值结合血清素转运蛋白的主要结合位点，和2)以大于0的Z因子(如通过本文所述的方法测定)结合到血清素转运蛋白的变构位点。在进一步的实施方案中，所述血清素双重作用化合物进一步以小于约10 nM的 $IC_{50}$ 值结合血清素转运蛋白的主要结合位点。

5-羟色氨酸(5-HTP)是在身体中从氨基酸L-色氨酸天然产生的芳族氨基酸。5-HTP是5-HT的直接前体。5-HTP的结构式被显示在下面式I中。



式 I

5-HTP 也被称作 2-氨基-3-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)-丙酸( $C_{11}H_{12}N_2O_3$ )。在说明书和权利要求书全文中，“5-HTP”和“5-羟色氨酸”意在包括任何形式的氨基酸 5-羟色氨酸，包括碱(两性离子)、该碱的可药用盐、水合物或溶剂合物以及无水合物和无定形或结晶形式。如本文所用，“可药用盐”包括与可药用酸或碱形成的盐。对于 5-HTP，这种盐可以用可药用碱，尤其强碱如氢氧化钠、氢氧化钾或氢氧化铵形成。5-HTP 的此类盐也可以用可药用酸形成，所述酸为例如盐酸、氢溴酸、磷酸、马来酸、草酸、酒石酸等等。因此，5-HTP 可以以酸

加成盐的形式或者以两性离子水合物、两性离子一水合物或者两性离子无水合物的形式被使用。

为了本发明的目的，5-HTP 可以为外消旋混合物或者作为基本上纯的 D-对映异构体、D-5-羟色氨酸或作为基本上纯的 L-对映异构体、L-5-羟色氨酸。

本发明的一方面涉及包含 5-HTP 的药物组合物，其与 SRI 一起被用于组合疗法中。

本发明的另一方面提供了药物组合物，其包含(i)数量范围为从约 1mg 到约 75mg 的 5-羟色氨酸；和(ii)血清素再摄取抑制剂。

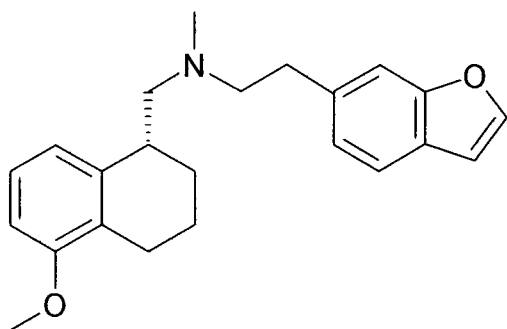
根据本文所述的本发明，5-HTP 可用于增强和/或提供血清素再摄取抑制剂的治疗效果更早发生。此外，作为本发明的部分，当用于组合疗法时，较低剂量的 5-HTP 可以增强和/或提供 SRI 的治疗效果的较早产生。在本发明的一个实施方案中，将范围从约 1mg 到约 75mg 量的 5-HTP 与 SRI 共同施用。在本发明的另一实施方案中，将范围从约 3mg 到约 50mg 量的 5-HTP 与 SRI 共同施用。在本发明的再一个实施方案中，将范围从约 10mg 到约 50mg 量的 5-HTP 与 SRI 共同施用。

如本文所用，增强将意指提高 SRI 的治疗效果和/或加强效果。

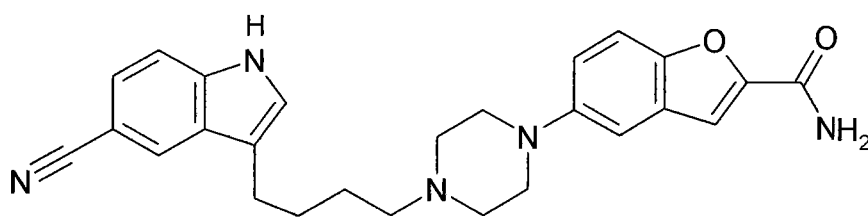
在文献中已经描述了许多具有血清素再摄取抑制效果的化合物。任何药学活性化合物可以从 5-HTP 的增强中受益，所述化合物主要或部分通过结合到血清素转运蛋白的主要配体结合位点以抑制中枢神经系统 (CNS) 中的血清素再摄取而发挥其治疗效果。

下面的列表含有可以从 5-HTP 的增强或组合施用中受益的多种血清素再摄取抑制剂：西酞普兰、依他普仑、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、奈法唑酮、丙咪嗪、N-氧化丙咪嗪、地昔帕明、吡喃达明、氯萘尼尔、奈福泮、苯味拉林、非唑拉明、非莫西汀、氯米帕明、cianoimipramine、利托西汀、西文氯胺、塞罗西汀、WY 27587、WY 27866、imeldine、伊福西汀、替氟卡宾、维喹啉、米那普仑、巴嗪普令、YM 922、S 33005、F 98214-TA、OPC 14523、阿拉丙酯、氰基度硫平、曲米帕明、奎纽帕明、度硫平、阿莫沙平、硝化氧杂氮杂萘、McN 5652、McN 5707、O1 77、Org 6582、Org 6997、Org 6906、阿米替林、N-氧化阿米替林、去甲替林、CL 255.663、吡啶啉、茚达曲林、LY 113.821、LY 214.281、

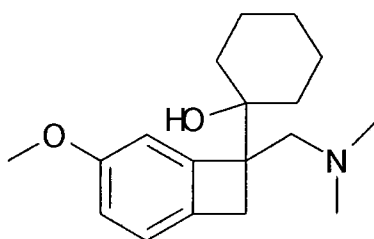
CGP 6085 A、RU 25.591、奈帕咪唑、双氯奋兴、曲唑酮、EMD 68.843、  
 BMY 42.569、NS 2389、斯克罗明、硝基喹吡啶、腺苷蛋氨酸、西布曲  
 明、氯伏胺、去甲西布曲明、二去甲西布曲明、氯伏胺、维拉佐酮、  
 N-[(1-[(6-氟-2-萘基)甲基]-4-哌啶基]氨基]羰基]-3-吡啶甲酰胺、[反式  
 -6-(2-氯苯基)-1,2,3,5,6,10b-六氢吡咯并-(2,1-a)异喹啉] (McN 5707)、  
 (dl-4-外-氨基-8-氯-苯并-(b)-二环 [3.3.1] 壬-2-6  $\alpha$  (10  $\alpha$ )-二烯盐酸  
 盐) (Org 6997)、(dl)-(5  $\alpha$ , 8  $\alpha$ , 9  $\alpha$ )-5,8,9,10-四氢-5,9-亚甲基苯并环辛-8-  
 胺盐酸盐 (Org 6906)、-[2-[4[(6-氟-1H-吡啶-3-基)-3,6-二氢-1(2H)-吡啶  
 基]乙基]-3-异丙基-6-(甲基磺酰基)-3,4-二氢-1H-2,1,3-苯并噻二嗪-2,2-  
 二氧化物 (LY393558)、[4-(5,6-二甲基-2-苯并呋喃基)-哌啶] (CGP  
 6085)、二甲基-[5-(4-硝基-苯氧基)-6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚烯-7-基]  
 胺 (RU 25.591)、



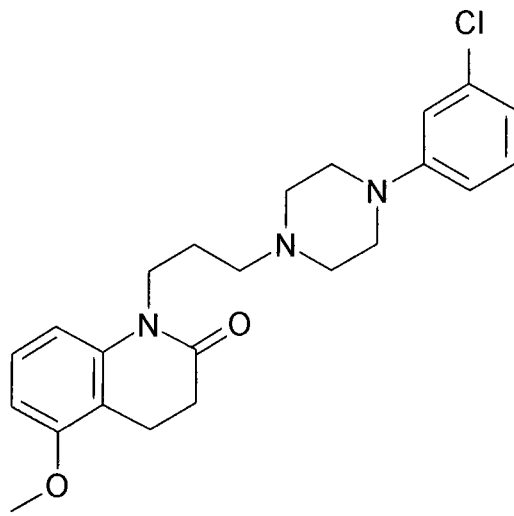
(A 80426)、



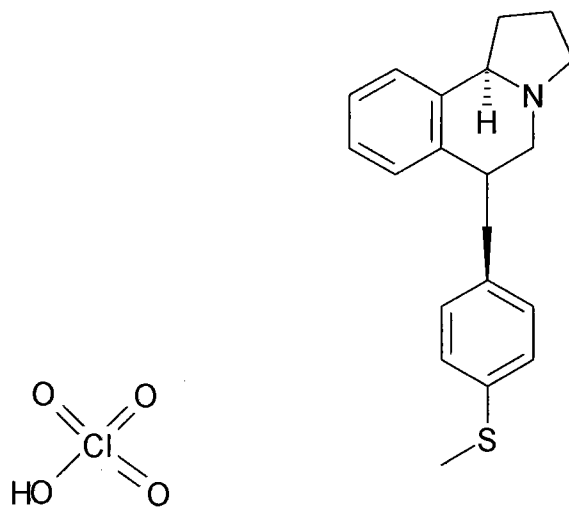
(EMD 86006)、



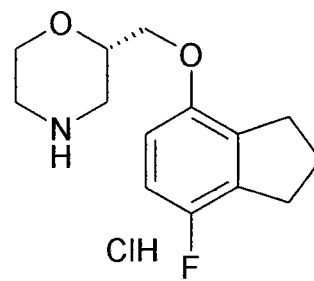
(S33005)、



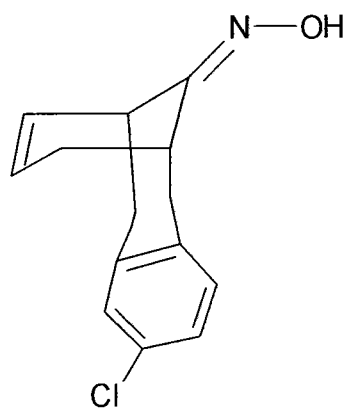
(OPC 14523)、



(McN 5652)、



(YM 35992)、



(Org 6582).

在一个实施方案中，血清素再摄取抑制剂选自西酞普兰、依他普仑、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、奈法唑酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明或这些化合物任一种的可药用盐。

如本文所用，术语选择性血清素再摄取抑制剂 (SSRI)指单胺转运蛋白的抑制剂，其对血清素血清素转运蛋白 (SERT)比对去甲肾上腺素转运蛋白有更强的抑制效应，如通过体外再摄取抑制能力测量。

将认为 SSRI 是血清素再摄取抑制剂类别的部分并且因此可以根据本发明使用。从而，在另一实施方案中，SRI 可以是 SSRI，如西酞普兰、依他普仑、氟西汀、氟伏沙明、舍曲林或帕罗西汀。

上述化合物可以以外消旋体或纯的对映异构体的形式使用。在本发明的一些实施方案中，西酞普兰为外消旋体或 *R*-(-)-对映异构体 (*R*-西酞普兰)和 *S*-(+)-对映异构体 (*S*-西酞普兰) 的外消旋混合物使用。

在另一实施方案中，*S*-西酞普兰，也称作依他普仑，是纯的对映异构体。依他普仑的 IUPAC 名称是 *S*-(+)-1-[3-(二甲基氨基)丙基]-1-(对-氟苯基)-5-异苯并呋喃脲草酸盐。

在另一实施方案中，帕罗西汀是纯的对映异构体。帕罗西汀的 IUPAC 名称是 (3*S*, 4*R*)-3-((1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基氧基)甲基)-4-(4-氟苯基)-哌啶。

上述化合物可以以游离碱的形式或者可药用盐，如酸加成盐的形式使用，后者可以通过碱形式与合适的酸反应得到。上述每种血清素再摄取抑制剂意在为单独实施方案。因此，可以单独要求保护每种化合物。

例如，西酞普兰可以以氢溴酸盐或游离碱的形式使用；依他普仑以草酸盐、氢溴酸盐或游离碱的形式使用；氟西汀和舍曲林以盐酸盐的形式使用；帕罗西汀以盐酸盐或甲磺酸盐的形式使用；氟伏沙明以马来酸盐的形式使用。

在本发明的另一实施方案中，SRI可以是变构调节剂。

如本文所用，“变构调节剂”将指具有大于0的Z因子的SRI，所述Z因子将通过本文所述的方法测定。

在进一步的实施方案中，变构调节剂可以选自依他普仑和帕罗西汀。

在更进一步的实施方案中，SRI可以是血清素双重作用化合物。

如本文定义，“血清素双重作用化合物”将指这样的化合物，其1)以小于约50 nM的 $IC_{50}$ 值结合血清素转运蛋白的主要结合位点，和2)以大于0的Z因子(如通过本文所述的方法测定)结合到血清素转运蛋白的变构位点。

在进一步的实施方案中，所述血清素双重作用化合物进一步以小于约10 nM的 $IC_{50}$ 值结合血清素转运蛋白的主要结合位点。

在另一实施方案中，血清素双重作用化合物可以选自依他普仑和帕罗西汀。

如上面提到的，5-HTP与SRI的组合出乎意料地显示出对中枢神经系统的协同作用。从而，在本发明的一个实施方案中，比单一疗法中通常所用的更低剂量的5-HTP可以与单一疗法中的通常所用的血清素再摄取抑制剂的剂量组合而增强5-HT的输出，从而可以提供血清素再摄取抑制剂的治疗效果的更早产生。

在一些实施方案中，将用于组合疗法中的5-HTP的量可以在每天约1到约75mg，如每天约3到约50mg，或每天约10到约50mg的范围。本发明的药物组合物因此可以包含约1到约75mg，如约3到约50mg，或约10到约50mg 5-HTP。

血清素再摄取抑制剂和血清素双重作用化合物，包括SSRI和上面特别提到的变构调节剂在分子量和活性方面都不同。结果，用于组合疗法中的血清素再摄取抑制剂或血清素双重作用化合物取决于所述血清素再摄取抑制剂的性质。在一个实施方案中，以治疗有效量施用血清素再摄取抑制剂、血清素双重作用化合物、SSRI或变构调节剂。

在本发明的另一个实施方案中，药物组合物含有治疗有效量的依他普仑。在本发明的进一步的实施方案中，药物组合物含有 5 mg 到 30 mg 依他普仑。本发明还包括对需要其的患者施用此类药物组合物，从而依他普仑的日剂量范围为每天 5 mg 到 30 mg。

在本发明的另一个实施方案中，药物组合物含有治疗有效量的帕罗西汀。在本发明的进一步的实施方案中，药物组合物含有 10 mg 到 60 mg 帕罗西汀。本发明还包括对需要其的患者施用此类药物组合物，从而帕罗西汀的日剂量范围为每天 10 mg 到 60 mg。

根据本发明，使用 5-HTP 与通常用于单一疗法的 SRI 的亚临床剂量的组合疗法可以具有如下优点：可以在用 SRI 的常规单一疗法中不应答的许多患者中得到有益的中枢神经系统效果。

已经出乎意料地显示 SRI 的亚临床剂量可以与 5-HTP 组合使用而增强和/或提供 SRI 的治疗效果的更早产生。

在本发明的另一方面，使用 5-HTP 与亚临床剂量的血清素再摄取抑制剂的组合疗法可以用于增强治疗效果 /或减小与单一疗法中使用的 SRI 的较大剂量相关的副作用。

因此，本发明的一方面涉及药物组合物，其包含(i) 亚临床剂量的血清素再摄取抑制剂；和 (ii) 5-羟色氨酸。

如本文所用，“亚临床剂量”将意指小于最低剂量的剂量，所述最低剂量为到本申请的优先权日为止被政府管理部门批准作为单一疗法上市的剂量。

在本发明的进一步的实施方案中，将用于组合疗法的 5-HTP 的量可以为每天约 1mg 到约 600mg，如每天约 25mg 到约 300mg，或每天约 50mg 到约 200mg。本发明的药物组合物因此可以包含约 1mg 到约 600mg，如约 25mg 到约 300mg，或约 50mg 到约 200mg 5-HTP。

在另一实施方案中，血清素再摄取抑制剂选自西酞普兰、依他普仑、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、奈法唑酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明或这些化合物中任一种的可药用盐。

在进一步的实施方案中，SRI 可以是 SSRI，如西酞普兰、依他普仑、氟西汀、氟伏沙明、舍曲林或帕罗西汀。

在本发明的另一实施方案中，SRI 可以是变构调节剂。

在进一步的实施方案中，变构调节剂可以选自依他普仑和帕罗西汀。

在其他实施方案中，SRI 可以是血清素双重作用化合物。在其他实施方案中，血清素双重作用化合物可以选自依他普仑和帕罗西汀。

因此，本发明的一个实施方案包括包含亚临床剂量的变构调节剂和 5-HTP 的药物组合物，其中该组合物包含约 1mg 到约 600mg，约 25mg 到约 300mg，或约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。另一个实施方案包括包含亚临床剂量的血清素双重作用化合物和 5-HTP 的药物组合物，其中该组合物包含约 1mg 到约 600mg，约 25mg 到约 300mg，或约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。本发明还包括对需要其的患者施用此类药物组合物，因此日剂量范围为每天约 1mg 到约 600mg，或每天约 25mg 到约 300mg，或每天约 50mg 到约 200mg。

在本发明的一方面，该药物组合物包含亚临床剂量的依他普仑。例如，该药物组合物可以包含小于 5 mg 量的依他普仑。

在本发明的再一个方面，该药物组合物包含小于 5 mg 量的依他普仑和约 1mg 到约 600mg 量的 5-HTP。在本发明的另一实施方案中，该药物组合物包含小于 5 mg 量的依他普仑和约 25mg 到约 300mg 量的 5-HTP。在本发明的再一个实施方案中，该药物组合物包含小于 5 mg 量的依他普仑和约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

在本发明的另一实施方案中，该药物组合物包含约 0.1 mg 到约 4.9 mg 量的依他普仑。在另一实施方案中，该药物组合物包含约 0.5 mg 到约 4.5 mg 量的依他普仑。在另一实施方案中，该药物组合物包含约 1 mg 到约 4 mg 量的依他普仑。

在本发明的另一个方面，该药物组合物包含亚临床剂量的帕罗西汀。在本发明的一个方面，该药物组合物包含小于 10 mg 的帕罗西汀。

在本发明的另一个方面，该药物组合物包含小于 10 mg 量的帕罗西汀和约 1mg 到约 600mg 量的 5-HTP。在本发明的另一实施方案中，该药物组合物包含小于 10 mg 量的帕罗西汀和约 25mg 到约 300mg 量的 5-HTP。在本发明的再一个实施方案中，该药物组合物包含小于 10 mg 量的帕罗西汀和约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

在本发明进一步的实施方案中，该药物组合物包含约 0.1 mg 到约 9.9 mg 量的帕罗西汀。在另一实施方案中，该药物组合物包含约 0.5 mg

到约 9.5 mg 量的帕罗西汀。在再一个实施方案中，该药物组合物包含约 1 mg 到约 9mg 量的帕罗西汀。

本发明的另一实施方案涉及包含(i)血清素再摄取抑制剂；和(ii) 5-羟色氨酸的药物组合物。

在本发明进一步的实施方案中，将用于组合疗法中的 5-HTP 的量为每天约 1mg 到约 600mg, 如每天约 25mg 到约 300mg, 或每天约 50mg 到约 200mg。本发明的药物组合物因此可以包含约 1mg 到约 600mg, 如约 25mg 到约 300mg, 或约 50mg 到约 200mg 5-HTP。

在另一实施方案中，血清素再摄取抑制剂选自西酞普兰、依他普仑、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、奈法唑酮、丙咪嗪、非莫西汀和氯米帕明或这些化合物中任一种的可药用盐。

在进一步的实施方案中，SRI 可以是 SSRI，如西酞普兰、依他普仑、氟西汀、氟伏沙明、舍曲林或帕罗西汀。

在本发明的另一实施方案中，SRI 可以是变构调节剂。

在进一步的实施方案中，变构调节剂可以选自依他普仑和帕罗西汀。

在其他实施方案中，SRI 可以是血清素双重作用化合物。在其他实施方案中，血清素双重作用化合物可以选自依他普仑和帕罗西汀。

因此，本发明的一个实施方案包括包含变构调节剂和 5-HTP 的药物组合物，其中该组合物包含约 1mg 到约 600mg, 约 25mg 到约 300mg, 或约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。本发明还包括对需要其的患者施用此类药物组合物，因此，日剂量范围为每天约 1mg 到约 600mg, 或每天约 25mg 到约 300mg, 或每天约 50mg 到约 200mg。

在本发明的一方面，药物组合物包含依他普仑。例如，药物组合物可以包含约 5mg 到约 30mg 量的依他普仑。

在本发明的再一个方面，药物组合物包含约 5mg 到约 30mg 量的依他普仑和约 1mg 到约 600mg 量的 5-HTP。在本发明的另一实施方案中，药物组合物包含约 5mg 到约 30mg 量的依他普仑和约 25mg 到约 300mg 量的 5-HTP。在本发明的再一个实施方案中，药物组合物包含约 5mg 到约 30mg 量的依他普仑和约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

在本发明的一方面，药物组合物包含帕罗西汀。在本发明的一方

面，药物组合物包含约 10mg 到约 60mg 量的帕罗西汀。

在本发明的另一方面，药物组合物包含约 10mg 到约 60mg 量的帕罗西汀和约 1mg 到约 600mg 量的 5-HTP。在本发明的另一方面，药物组合物包含约 10mg 到约 60mg 量的帕罗西汀和约 25mg 到约 300mg 量的 5-HTP。在本发明的再一个方面，药物组合物包含约 10mg 到约 60mg 量的帕罗西汀和约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

将 5-HTP 降解为血清素的芳族氨基酸脱羧酶广泛地分布在整个身体中。外周脱羧抑制剂可以与 5-HTP 组合施用以防止 5-HTP 降解为血清素。

从而，药物组合物还可以包含外周脱羧抑制剂。外周脱羧抑制剂包括但不限于卡比多巴、L- $\alpha$ -甲基多巴、单氟甲基多巴、二氟甲基多巴和苄丝肼。

本发明的药物组合物可以含有约 100mg 到约 150mg 量的卡比多巴。

根据本发明，本文所述的药物组合物可以以任何合适的方式被施用，如经口或肠胃外施用，并且它可以以任何合适的形式存在用于此类施用，例如，以片剂、胶囊、粉末、糖浆或用于注射的溶液或分散体存在。在本发明的一个实施方案中，组合物以固体药物实体的形式，适宜地作为片剂或胶囊或者以悬浮液、用于注射的溶液或分散体形式施用。

用于制备固体药物组合物的方法是本领域公知的。例如，通过将活性成分与普通佐剂和/或稀释剂混合并随后在常规制片机中压缩混合物来制备片剂。佐剂或稀释剂的实例包括：玉米淀粉、乳糖、滑石粉、硬脂酸镁、明胶、树胶，等等。也可以使用其他佐剂或添加剂，如着色剂、芳香剂、防腐剂等等，条件是它们与活性成分相容。

药物组合物可以作为要求保护的本发明的部分，例如口服剂型，如固体剂型，通常片剂或胶囊，或液体口服剂型被施用。本文所述的药物组合物最方便地以单位剂型，如片剂或胶囊被施用。例如，此类片剂或胶囊可以含有约 1mg 到约 600mg，或约 25mg 到约 300mg，或约 10mg 到约 50mg 量的 5-HTP。

为了制备本发明的药物组合物，将合适量的盐形式或碱形式的 5-HTP 和/或血清素再摄取抑制剂与可药用载体充分混合，其可以取决

于施用所希望的形式而采取多种形式。那些药物组合物可以呈适于经口、直肠、经皮或通过肠胃外注射施用的单位剂型形式。例如，在制备口服剂型的组合物中，任何常规的药物介质，如水、甘油、油类、醇类等等可以以口服液体制剂的形式被掺入。口服液体制剂可以为悬浮液、糖浆、酏剂和溶液。在制备口服剂型的组合物时，任何常规的药物介质，如淀粉、糖类、高岭土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等等可以以固体载体的形式被掺入。口服固体制剂可以为粉剂、丸剂、胶囊和片剂的形式。因为它们容易被施用，所以片剂和胶囊可以代表最有利的口服剂型，在该情况下将使用固体药物载体。

特别有利的是，为了容易施用和剂量的均一性而以单位剂型施用前述药物组合物。如本文所用，单位剂型是指适于作为单一剂量的物理上分立的单位，每个单位含有预定量的 5-HTP 和/或血清素再摄取抑制剂，所述量经计算与所需的药物载体缔合而产生希望的治疗效果。单位剂型的实例是片剂（包括带压痕的包衣片剂）、胶囊、丸剂、粉末包、糯米纸囊剂、注射溶液或悬浮液，等等，及其组合。

5-HTP 可以在 SRI 施用之前、期间或之后施用，条件是在施用 5-HTP 和施用 SRI 之间的时间允许所述成分协同作用于中枢神经系统。当设想同时施用 5-HTP 和 SRI 时，含有 SRI 和 5-HTP 两者的单一组合物是尤其方便的。备选地，可以以合适的组合物形式分别施用血清素再摄取抑制剂和 5-HTP。此类药物组合物还可以包含外周羧化抑制剂。可以如上文描述的那样制备组合物。从而，此类组合物可以包含 SRI 和外周羧化抑制剂，如卡比多巴。其他组合物可以包含 5-HTP 和外周羧化抑制剂，如卡比多巴。此类组合物可以被同时施用，如以单个片剂等形式被施用，或者可以分别被施用，如以分开的组合物或片剂等形式被施用。

本发明还包含作为组合制剂的 5-HTP 和 SRI，用于在精神病药物治疗中用于同时、分开或者顺序使用。此类组合物可以包含例如药盒，其包含分立单位剂型的 5-HTP 和分立单位剂型的 SRI，所有都包含在相同容器或包装，例如泡罩包装中。此类药物组合物还可以包含外周羧化抑制剂。根据本文所述的本发明的任一方面制备上述组合物。

在一些实施方案中，本发明涉及包含亚临床剂量的 SRI 和 5-HTP 的药盒。在一些实施方案中，本发明涉及药盒，其包含亚临床剂量的

血清素再摄取抑制剂和约 1mg 到约 600mg、约 25mg 到约 300mg，或约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

在一些实施方案中，本发明涉及药盒，其包含 SRI 和约 1mg 到约 75mg、约 3mg 到约 50mg，或约 10mg 到约 50mg 量的 5-HTP。

在其他实施方案中，本发明涉及包含 SRI 和 5-HTP 的药盒。在一些实施方案中，本发明涉及药盒，其包含 SRI 和约 1mg 到约 600mg、约 25mg 到约 300mg，或约 50mg 到约 200mg 量的 5-HTP。

在其他方面，本发明涉及如本文所述的药物组合物，其包含用于组合疗法中以治疗情感障碍的 5-HTP 和 SRI。在本发明的另一方面，本发明涉及如本文所述的药物组合物，其包含用于组合疗法中以治疗抑郁症的 5-HTP 和 SRI。在再一方面，本发明涉及如本文所述的药物组合物，其包含用于组合疗法中以治疗焦虑症的 5-HTP 和 SRI。

此类药物组合物还可以包含外周羧化抑制剂。

在其他方面，本发明涉及 5-HTP 用于制备将与 SRI 组合使用的药物组合物的用途。在另一方面，本发明涉及 5-HTP 用于制备药物组合物的用途，所述药物组合物用于增强和/或提供 SRI 的治疗效果的更早产生。

在进一步的方面，本发明涉及治疗应答 SRI 的疾病或病症的方法，包括对需要其的人类患者施用 5-HTP 和 SRI。

本发明的另一方面涉及 5-HTP 和 SRI 用于制备药物组合物的用途，所述药物组合物用于治疗响应 SRI 的治疗效果的疾病或病症。

另一方面，本发明涉及 5-HTP 用于制备药物组合物的用途，所述药物组合物用于治疗将使用 SRI 治疗或正经历 SRI 治疗的个体，其中所述个体患有响应 SRI 的治疗效果的疾病或病症。在一些方面，本发明涉及 5-HTP 用于制备药盒的用途，所述药盒用于治疗将使用 SRI 治疗或正经历 SRI 治疗的个体，其中所述个体患有响应 SRI 的治疗效果的疾病或病症。

在其他实施方案中，本发明涉及增强和/或提供 SRI 的治疗效果更早产生的方法，其包括对将使用 SRI 治疗或正经历 SRI 治疗的人类患者施用 5-HTP。

在另一实施方案中，如本文所述的药物组合物用于治疗抑郁症、焦虑症和其他情感障碍、进食障碍，如食欲亢进、厌食症和肥胖、恐

怖症、心境恶劣、经前期综合征、认识病、冲动控制障碍、注意缺陷多动症和药物滥用，尤其是抑郁症。

在进一步的实施方案中，如本文所述的药物组合物用于治疗焦虑症，包括一般焦虑症、惊恐焦虑症、强迫性障碍、急性应激障碍、创伤后应激障碍或社交焦虑障碍。

## 实验细节

### 小鼠强迫游泳试验

使用雄性 NMRI/BOM 小鼠 (18-25 g; Bomholtgaard, Denmark)。将小鼠圈养在塑料笼子(35 x 30 x 12 cm)中，每笼 10 只并且在测试前适应动物设施至少一周。自动控制室温(21 +/- 2°C)、相对湿度(55 +/- 5%)和空气交换(每小时 16 次)。动物在试验前自由获得商业食品和自来水。

被在空间受限的容器中强迫游泳的小鼠将产生特征性不动的姿势。用抗抑郁剂预处理将抵消该效果。如 Sanchez 和 Meier (*Psychopharmacol.* 129: 197-205; 1997)详述的那样进行试验。简言之，使用具有 6 个游泳单元的完全自动化测试系统(装有 1200 ml 土壤水(23 - 25°C)的 2000 ml 玻璃罐，其中事先已经放置了小鼠)。通过图像分析进行不动性评估。

在药物或载体处理后 30 分钟，用 5-HTP 处理小鼠并且在 20 分钟后将小鼠置于玻璃罐中并在水中放置共 6 分钟。在最后 3 分钟内测量不动的累计持续时间。每个剂量测试共 9 - 18 只小鼠。

### 大鼠微量透析

如 Mørk, A., Kreilgaard, M. 和 Sanchez, C. (*Neuropharmacology.* 2003 Aug, 45(2): 167-73)详述的那样，用自由活动的大鼠进行微量透析以研究单独的依他普仑和氟西汀及其与 5-HTP (25 mg/kg, 皮下注射)组合对细胞外血清素水平的影响。

简言之，将雄性 Sprague-Dawley 大鼠通过手术植入大脑内引导套管用于微量透析。将微量透析探针通过引导套管插入。在插入探针前进行用过滤后的林格氏溶液(146 mM NaCl, 3 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.2 mM CaCl<sub>2</sub>)进行微量透析探针的灌注并在实验的持续时间内继续以

1  $\mu$ l/分钟的恒定流速灌入额皮质。在稳定动物后，通过注射测试化合物(依他普仑 0.5 mg/kg, 皮下注射或氟西汀 10 mg/kg 皮下注射)来启动测试。在整个实验中使用 20 分钟取样方案。在注射测试化合物后注射 5-HTP (25 mg/kg, 皮下注射)60 分钟。通过 HPLC 用电化学检测测量在每种样品中在透析物中 5-HT 水平。

#### 小鼠大理石埋藏行为

将雄性 BALB/cByJ 小鼠(Jackson labs, Bar Harbor, ME)在到达时以每笼 5 只圈养，此时它们为 7-8 周龄。在测试前在标准实验室条件下使动物适应圈养设施至少 1 周(在早晨 6 点照明)。

在适应试验室 1 小时后，用载体(盐水)或依他普仑 (0.0625, 0.125, 或 0.25 mg/kg, 静脉内注射)对动物给药。30 分钟后，动物接受载体或 5-HTP (2.5 mg/kg, 静脉内注射)注射。第二次注射后 15 分钟，将动物单独置于新的笼子中，其中放置一层 Aspen Pine 垫层，在该垫层上放置两个平行的行，每行 10 块大理石(共 20 块)。30 分钟过去后，将小鼠从它们的试验笼子取出并返回到它们的居住笼子中。对完全可见的大理石的数目(小于 2/3 用垫层覆盖)计数并从 20 中减去以得到被埋藏的大理石数目。

#### 在大鼠脑突触体中 $^3\text{H}$ -血清素摄入的抑制

为了测试在血清素转运蛋白的主要的高亲和性结合位点处的化合物，即，测定化合物是否为血清素再摄取抑制剂，测定对血清素(5-HT)摄入的抑制。

通过下面的方法，在体外测定试验化合物对大鼠脑突触体中  $^3\text{H}$ -血清素摄入( $^3\text{H}$ -5-HT) (10 nM)的抑制。该方法以及对特定 SRI 的血清素摄入结果被描述在 Hyttel, J., *Psychopharmacology* 1978, 60: 13-18; Hyttel, J., *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol.Psychait.* 1982, 6: 277-295; Hyttel, J. & Larsen, *Acta Pharmacol. Tox.* 1985, 56(suppl. 1): 146-153; Sanchez, C.和 Hyttel, J. *European J. Pharm.* 1994, 264: 241-247; 和 Bøgesø, K., 等, 美国专利号 4,943,590 (1990 年 7 月 24 日公布)中。

步骤：通过断头处死雄性 Wistar (Mol: Wist) 大鼠 (125-250 g)并

放血。将脑组织（除去小脑）在 40 体积(w/v)的含有 1mM 丙酰苄胺异烟肼的冰预冷的 0.32M 蔗糖溶液中匀浆（玻璃特氟隆匀浆器）。通过离心(600 x g, 10 min 和 25000 x g, 55 min, 4° C)得到 P2 级分（突触体级分）并将其悬浮在 800 体积的改良的克雷布斯-林格-磷酸缓冲液, pH 7.4 中。

向冰上的 400  $\mu$ l 突触体悬浮液(5 mg 最初的组织)中加入 100  $\mu$ l 试验化合物。在 37° C 预温育 5 分钟后,加入 100  $\mu$ l  $^3$ H-5-HT (终浓度 10 nM) 并将样品在 37° C 温育 10 分钟。通过在真空下通过 Whatman GF/F 滤器用含有 10  $\mu$ M 未标记的 5-HT 的 5 ml 缓冲液洗涤过滤来结束温育。将滤器置于计数瓶中并加入 4ml 合适的闪烁液（例如, Picofluor<sup>TM</sup>15, Packard)。摇动 1h 并在黑暗中保存 2h 后,通过液体闪烁计数测定放射性含量 (cpm)。通过扣除在 10  $\mu$ M 测试化合物存在下测量的非特异结合和被动转运而得到摄取。将测量的 cpm 对测试化合物浓度作图,并作出最佳拟合 s 形曲线。将摄取抑制能力表示为 IC<sub>50</sub> 值 (nM) (对数平均)。使用五种浓度的测试化合物以一式三份测量两个完全浓度应答曲线。将 IC<sub>50</sub> 值确定为如下浓度: 在所述浓度下摄取是在对照样品中总摄取的 50% 减去在 10  $\mu$ M 测试化合物存在下的非特异结合和吸收。

从而,如说明书和权利要求书中所用,以高亲和力结合在血清素转运蛋白主要结合位点,即具有较强摄取抑制能力的血清素再摄取抑制剂 (SRI)通过上述试验被确定为具有小于约 50 nM 的 IC<sub>50</sub> 值的化合物。

在更进一步的实施方案中,以小于约 10 nM 的 IC<sub>50</sub> 值结合血清素转运蛋白的主要结合位点的 SRI 具有甚至更强的摄入抑制能力。

### 血清素转运蛋白的变构调节

蛋白质的变构部位是额外的结合位点,其不同于主要配体结合位点。调节(例如增加和/或稳定)配体和配体结合位点之间结合的化合物通常被认为通过变构机制起作用。

尽管不希望被具体理论束缚,认为血清素转运蛋白具有至少两个单独的结合位点: 介导血清素再摄取的主要的高亲和力结合位点和变构调节配体在主要位点结合的一个或多个低亲和力结合位点(Plenge, P., 和 Mellerup, E.T. *Eur J Pharmacol.* 1985 Dec 10; 119(1-2): 1-8;

Wennogle, L.P.和 Meyerson, L.R. *Life Sci.* 1985 Apr 22; 36(16): 1541-50)。

已经在一些研究中证明了依他普仑与 SERT 上的变构结合位点的结合。依他普仑与在 COS-1 细胞膜中表达的人血清素转运蛋白的相互作用研究证明依他普仑结合到次要的低亲和力变构位点并且减慢  $^3\text{H}$ -依他普仑（以仅仅结合高亲和力主要位点的浓度使用）从转运蛋白的解离速率；即，依他普仑似乎对依他普仑：血清素转运蛋白复合体具有稳定化/自身加强作用。依他普仑的效果是浓度依赖性的(Chen, F., 等人, *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005 Mar; 15(2): 193-8)。

除了依他普仑外，已经研究了帕罗西汀、舍曲林、氟西汀、文拉法辛、度洛西汀和血清素与在 COS-1 细胞膜中表达的人血清素转运蛋白的高和低亲和力结合位点的相互作用(Chen, F., 等人, *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005 Mar; 15(2): 193-8)。该研究提示帕罗西汀（尽管在程度上低于依他普仑）在主要高亲和力位点处稳定化  $^3\text{H}$ -帕罗西汀：人血清素转运蛋白复合体。舍曲林、氟西汀、文拉法辛和度洛西汀对它们与血清素转运蛋白上该主要结合位点的结合有很小的或者没有稳定化作用(Chen, F., 等人, *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005 Mar; 15(2): 193-8)。

化合物是否通过变构机理起作用可以通过体外解离实验来确定。解离结合实验测量蛋白质的放射性配体的“解离速率”( $k_{\text{off}}$ )。允许放射性配体和转运蛋白结合（即，形成复合体）后，加入配体以进一步阻断放射性配体与转运蛋白的结合，从而可以测量解离速率。在不同时间测量结合（如通过放射性配体：转运蛋白复合体的放射性测量）以确定放射性配体从转运蛋白解离的速率。解离速率常数可以用于测定结合的复合体的半寿期。半寿期测定可以用于确定化合物是否为人 SERT 的变构调节剂。

本领域技术人员可以确定化合物，尤其 SRI 是否为如本申请的权利要求中引用的人血清素转运蛋白(hSERT)，这可以通过下面段落中所述的方法测定化合物的 Z 因子来确定。

为了首先测定解离速率，通过标准方法制备了从被 hSERT (GenBank 检索号 X70697)瞬时转染的 COS-1 细胞分离的膜。转染方法也是本领域公知的。在下文中，使用相同的转染方法，从至少三次独立的转染以一式两份进行测定。

最初，在缓冲液(50 mM Tris, pH 7.4; 120 mM NaCl, 5mM KCl) 中在 4°C 下温育表达 hSERT 的膜制备物与放射性配体（放射性标记的测试化合物）在 30 分钟期间形成放射性配体/ hSERT 复合体。放射性配体以该放射性配体  $K_d$  值的约 10 倍的浓度存在（事先在相同缓冲液中测定  $K_d$  值）。

用相同缓冲液将放射性配体/ hSERT 复合体稀释 30 倍。在单独的实验中，用含有测试化合物（冷的，非放射性标记的）的相同缓冲液将放射性配体/ hSERT 复合体稀释 30 倍。在 20°C 继续温育用有或没有测试化合物的缓冲液稀释的放射性配体/ hSERT 复合体以增加时间间隔。在每个时间间隔（例如，10 分钟、20 分钟、30 分钟，等等），从该温育中取出样品并通过在细胞收获器上通过 GF/C 玻璃纤维滤器过滤来停止反应。通过用 Packard Bell 微平板闪烁计数器对平板直接计数来测定每个样品的累积的放射性。放射性代表结合并且被表示为 fmol 复合体/mg 膜。将每个样品的结合对增加的时间作图以确定解离速率。用 GraphPad PRISM 程序(GraphPad Software, San Diego, CA)通过非线性回归测定放射性配体的解离速率( $k_{off}$ )。通过  $0.69302/k_{off}$  计算解离半寿期( $t_{1/2}$ )并以单位时间表示。

将放射性配体/ hSERT 复合体的解离半寿期（以分钟表示）对解离缓冲液中测试化合物的增加的浓度（例如，10  $\mu$ M、20  $\mu$ M、30  $\mu$ M、40  $\mu$ M 和 50  $\mu$ M 测试化合物）作图。将该图的斜率称作 Z 因子。从至少四个独立的测定中计算 Z 因子。Z 因子是放射性配体/ hSERT 复合体的稳定化程度的量度。Z 因子大于 0 表明为阳性变构调节剂。从而，如说明书和权利要求书中所用，将变构调节剂定义为根据通过上面的试验测定的具有大于 0 的 Z 因子的化合物。

认为如下本发明的化合物是血清素双重作用化合物，其中本发明的化合物 1) 以小于约 50 nM 的  $IC_{50}$  值结合血清素转运蛋白的主要结合位点，和 2) 以大于 0 的 Z 因子结合到血清素转运蛋白的变构位点。这些化合物以高亲和力结合到血清素转运蛋白的主要结合位点，即具有较强的吸收抑制能力，并且也结合到血清素转运蛋白的变构位点以稳定化或者调节配体在主要部位的结合，以进一步增强 5-HT 再摄取的抑制。血清素双重作用化合物也被称作变构血清素再摄取抑制剂，或 ASRI。

在进一步的实施方案中，血清素双重作用化合物进一步以小于约 10 nM 的  $IC_{50}$  值结合血清素转运蛋白的主要结合位点。

作为进一步举例说明血清素双重作用化合物的上面定义的非限制性实例，*R*-西酞普兰不落入血清素双重作用化合物的定义中，因为 *R*-西酞普兰以大于 50 nM 的报导的  $IC_{50}$  值结合血清素转运蛋白的主要结合位点。参见，例如，Sanchez, C. 等人 *Psychopharmacology* 2003; 167: 353-362。

### 结果和讨论

在小鼠强迫游泳试验中，预期通过共同施用 5-HTP 加强 SRIs 在小鼠强迫游泳试验中的效果，如通过表 1 中单独的 SRI 及其与 5-HTP 组合的  $ED_{50}$ -值的改变所反映的。5-HTP 的加强效果（表示为单独的 SRI 和 SRI 及其与 5-HTP 组合的  $ED_{50}$ -值之间的比率）对于变构调节剂依他普仑和帕罗西汀比其他 SRI 更显著（表 1 的右列）。

表 1. 单独的及其与 5-HTP(25 mg/kg, 皮下注射)组合血清素再摄取抑制剂 (SRIs)在小鼠强迫游泳试验中的效果

	ED <sub>50</sub> (mg/kg)		加强
	SRI	SRI + 5-HTP (25 mg/kg)	
依他普仑	12	0.42	29
帕罗西汀	6.5	0.64	10
氟西汀	>8.9	5.4	>1.6
文拉法辛	>10	3.9	>2.6

5-HTP 在小鼠强迫游泳试验中的最小有效剂量为 10 mg/kg 并且在 50 mg/kg 5-HTP 与对应于临床有效浓度的剂量的依他普仑相组合的情况下实现最大的加强效果。

在小鼠强迫游泳试验中，以 10、15 和 50 mg/kg 剂量共同施用 5-HTP 显著加强对于在产生临床相关的血浆水平的剂量(0.5 mg/kg)下的依他普仑的应答(Sanchez, C.和 Kreilgaard, M., *Pharmacol Biochem Behav.*

2004 Feb; 77(2): 391-8)。25 和 50 mg/kg 5-HTP 的剂量（其自身在小鼠强迫游泳试验中不是有效的）分别对应于 17 和 41 ng/ml 的小鼠血浆水平(Magnussen, I., *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1984 Sep; 55(3): 199-202)。在人类中,已经显示 5-HTP 在减轻抑郁症状中是有效的(综述参见, Birdsall, T.C., *Altern Med Rev*. 1998 Aug; 3(4): 271-80)。对于该适应症, 100 - 200 mg 5-HTP 的典型剂量得到 50-100 ng/ml 的血浆水平(Gijsman, H.J., 等人, *J Clin Psychopharmacol*. 2002 Apr, 22(2): 183-9)。从而, 在比在人类中实现临床功效所需的血浆水平低至少 3 倍的血浆水平下实现在小鼠强迫游泳试验中 5-HTP 对依他普仑的功的显著加强效果。因此, 给予人类的约 34 mg (30-35 mg)的 5-HTP 剂量可以实现约 17 ng/ml 的血浆水平并且仍然加强依他普仑。此外, 甚至低 2.5 倍, 或者约 13 mg (10-15 mg)剂量的 5-HTP 剂量仍然可以实现对依他普仑的强烈的加强效果。

在大鼠微量透析模型中, 在机械水平上证明了变构调节剂与非变构 SRI 相比更大的 5-HTP 加强效果。使用变构调节剂依他普仑比用氟西汀所产生的 5-HTP 加强效果明显更高, 所述 5-HTP 加强效果被测量为额皮质中细胞外 5-HT 的增加 (图 1), 认为氟西汀不是变构调节剂。

在小鼠大理石埋藏测定中, 不用 5-HTP, 以 0.25 mg/kg 剂量腹腔内施用的依他普仑是无活性的。然而, 当对用 0.0625 - 0.25 mg/kg 依他普仑治疗的小鼠施用 2.5 mg/kg 5-HTP 时, 观察到大理石埋藏的显著降低。在该剂量下仅仅 5-HTP 没有行为影响。在 0.0625 - 0.25 mg/kg 依他普仑的剂量范围内实现的血浆水平对应于充分低于实现临床功效所需的血浆水平和转运蛋白占用的血浆水平和转运蛋白占用(Sanchez, C. 和 Kreilgaard, M., *Pharmacol Biochem Behav*. 2004 Feb; 77(2): 391-8; Larsen, A. K. 等人, *Br J Pharm*. 2004, 141: 1015-23)。依他普仑的临床使用的剂量范围（对应于约 70%的受体占用）(Klein, N.等人, *Eur Neuropsychopharmacol* 2005, 15 (Suppl 3): S387)为 5- 20 mg 依他普仑。从而, 在依他普仑和 5-HTP 之间甚至在低于这两种化合物的临床使用的剂量的剂量下实现了显著的协同作用。

自由活动的大鼠的额皮质  
SSRI ± 5-HTP

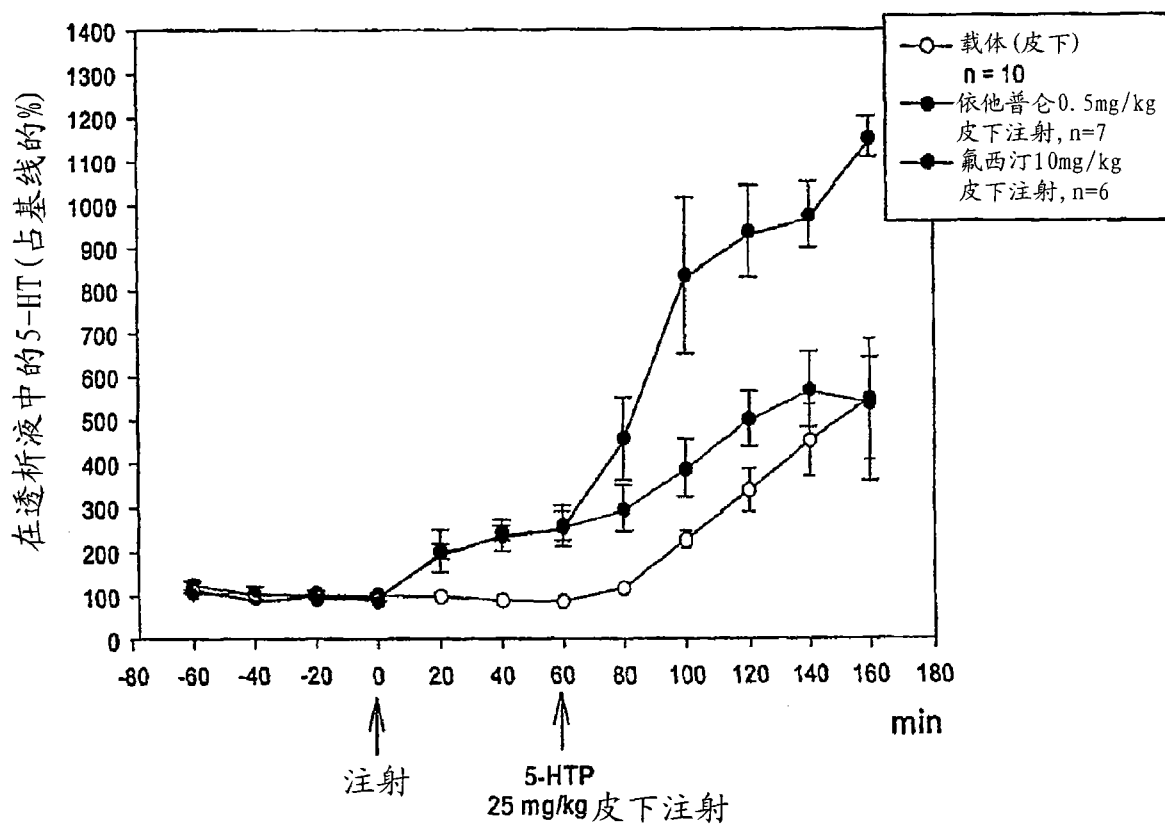


图 1