

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/565

A61P 9/10



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98804209.6

[45] 授权公告日 2004 年 7 月 28 日

[11] 授权公告号 CN 1159014C

[22] 申请日 1998.3.3 [21] 申请号 98804209.6

[30] 优先权

[32] 1997. 3. 5 [33] EP [31] 97200646.4

[86] 国际申请 PCT/EP1998/001293 1998.3.3

[87] 国际公布 WO1998/039012 英 1998.9.11

[85] 进入国家阶段日期 1999.10.15

[71] 专利权人 阿克佐诺贝尔公司

地址 荷兰阿纳姆

[72] 发明人 D·G·米尤莱曼 P·赞德伯格

审查员 于 杰

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

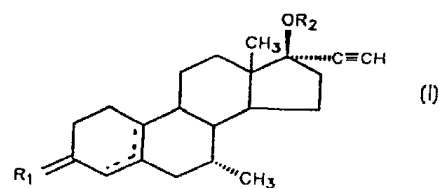
代理人 唐伟杰

权利要求书 1 页 说明书 14 页

[54] 发明名称 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷
衍生物在制备用于预防或治疗动脉
粥样硬化的药物中的应用

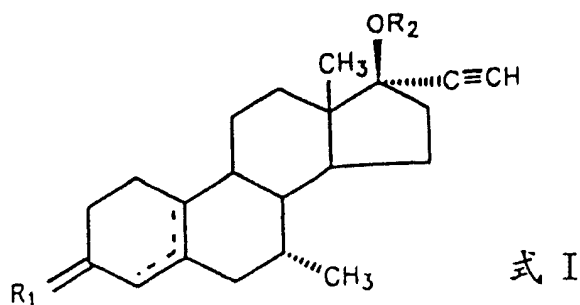
[57] 摘要

本发明涉及通式(I)的7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物在制备用于预防或治疗动脉粥样硬化的药物中的应用,其中R₁=(H, OR₃)或O; R₂=H或(C₁₋₁₈)酰基; R₃=H或(C₁₋₁₈)酰基;并且虚线表示位于4,5位或5,10位中的双键。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 具有通式 I 的 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物在制备用于预防或治疗动脉粥样硬化的药物中的应用:



其中

$R_1 = (H, OR_3)$ 或 O ;

$R_2 = H$ 或 (C_{1-18}) 酰基

$R_3 = H$ 或 (C_{1-18}) 酰基

并且虚线表示位于 4, 5 位或 5, 10 位中的双键。

2. 权利要求 1 所述的应用, 其中 $R_1 = (H, OH)$ 或 O 。

3. 权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中 $R_2 = H$ 并且虚线表示位于 5, 10 位中的双键。

4. 权利要求 1 所述的应用, 其中 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物为 7α -甲基- 17α -乙炔基- 17β -羟基-雌-5(10)-烯-3-酮。

7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物 在制备用于预防或治疗动脉粥样硬化的药物中的应用

本发明涉及 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物在制备预防和治疗动脉粥样硬化的药物中的应用。

动脉粥样硬化的恶化始于胆固醇在血管壁脂蛋白内的蓄积，并由此继发脂肪纹加厚(似乎是最早可以肉眼观察到的可识别病灶)，它出现在动脉血管壁的内膜中，成为充满脂质的巨噬细胞(“泡沫细胞”)的病灶聚集处。该过程可以在深度病灶形成期间继续发展；泡沫细胞坏死和内皮损伤可能会导致平滑肌细胞的迁移和增殖，并且诱使胞外基质形成。因此，动脉粥样硬化是不同类型的细胞在血管壁内相互作用的结果，其中，血浆胆固醇的增高推动了这种相互作用(Davies. M. J., & Woolf, N.; “动脉粥样硬化：它是什么以及如何发生”；英国心脏学杂志，1993，69，(增刊)，S3-S11)。

冠心病(CHD)是一种动脉血管壁内粥样硬化恶化的后果。已知CHD 在生命处于生育阶段的妇女中的发生率要比同年龄的男子低，但绝经后的发病风险却急剧上升。

许多血管舒缩性、心理学和妇科学症状与绝经有关，其中部分症状为绝经前期(更年期)的特征。已发现绝经是慢性疾病如骨质疏松症和动脉粥样硬化等的一个风险因素。人们认为绝经后妇女中雌激素尤其是雌二醇(雌-1, 3, 5(10)-三烯-3, 17-二醇)和雌酮(3-羟基-雌-1, 3, 5(10)-三烯-17-酮)的急剧减少与此类症状有关。雌激素替代疗法通过纠正主要雌激素的生理性不足来提高雌激素，该疗法在绝经前和绝经后妇女中成为一种逐渐被接受的用于缓解更年期症状和预防骨质疏松症的方式。此外，有报导说外源性雌激素具有降低血浆胆固醇和 LDL(低密度脂蛋白)胆固醇和/或提高血浆 HDL(高密度脂蛋白)胆固醇的作用。该雌激素样作用意味着对动脉粥

样硬化病灶的形成产生全面防护作用。

然而，临床上无异议的雌激素替代疗法可增大绝经后妇女子宫内膜增生和子宫内膜癌的发病风险性。因此，目前绝大多数处于研究中的疗法是用雌激素组分和孕激素组分联合治疗，由此消除雌激素造成的危险(激素替代疗法)。但孕激素可能对血浆脂蛋白浓度产生副作用，并且拮抗雌激素对动脉血管的有益效果。

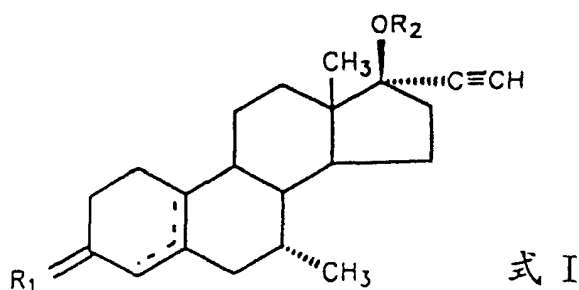
Organon(荷兰)制造了一种合成类固醇， 7α -甲基- 17α -乙炔基- 17β -羟基-雌-5(10)-烯-3-酮(Org OD-14; 替勃龙)，其特征在于具有微弱的雌激素、孕激素和雄激素性质的结合性能，在临床上对减轻绝经前妇女的更年期综合征表现得如同雌二醇戊酸酯或结合型孕马雌激素类般有效。像长时间施用雌激素一样，替勃龙还为对抗绝经后妇女骨质疏松症的恶化提供实质性保护作用(Hannover, N. 等人，临床内分泌学和新陈代谢杂志(1996), 81, 2419-2422)。

此外，替勃龙对血浆脂蛋白浓度的作用已经成为若干研究的试验对象。在早期的研究中，有报导称用替勃龙治疗 6 个月后，总胆固醇、总甘油酯或 LDL 和 HDL 的水平并没有发生显著的总体变化，这意味着没有与 CHD 早期发展有关的有害副作用。因此，该化合物在绝经后妇女的常规激素替代疗法中被认为是适合选用的对象。(发育期(Maturitas)，第 8 卷，第 4 期，1986，第 327-334 页)。就替勃龙对脂质代谢的长效作用的评估已经证实了上述发现(参见：发育期，12 卷，1 期，1990，37-42 页)。其他研究着重于替勃龙对 HDL 的副作用(降低作用，与 CHD 风险性的增加有关)，但也公开了该化合物提高脂蛋白(a) (Lp(a)) 水平的有益作用，据作者说可以恢复替勃龙疗法所致危险造成的(心血管)平衡。(内分泌学学报，第 128 卷，1993，259-262 页；欧洲临床化学和临床生物化学杂志，第 31 卷，1993，645-650 页)。〔Lp(a)是一种富含胆固醇的类 LDL 的脂蛋白，但它在多数个体中仅以痕量存在。当血清 Lp(a)浓度升高(>300mg/l)时，CHD 的风险也高。Lp(a)是依赖 CHD 的风险标识〕。然而，与雌激素替代疗法相比，人们认为长期的替勃龙治疗对 HDL-

胆固醇产生的作用不利于其对心血管疾病的防护作用(Riggs, B. L., 临床内分泌学和新陈代谢杂志(1996), 81, 2417-2418)。

令人惊奇的是, 现已发现替勃龙、其前药形式及其某些代谢产物具有强抗动脉粥样硬化的性质。这些特性明显高于那些如 17 β 雌二醇的物质。

因此, 本发明涉及具有通式 I 的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物在制备用于预防或治疗动脉粥样硬化的药物中的应用:



其中:

$R_1 = (H, OR_3)$ 或 O ; $R_2 = H$ 或 (C_{1-18}) 酰基; $R_3 = H$ 或 (C_{1-18}) 酰基;

并且虚线表示位于 4, 5-或 5, 10-位中的双键。

本发明所述化合物, 更具体是指其中 $R_1 = (H, OH)$ 或 O 的化合物, 尤其是 $R_2 = H$ 并且其中双键位于 5, 10-位的那些式 I 化合物, 特别是其中 R_1 为 O 、 R_2 为 H 并且双键处于 5, 10 位(替勃龙; Org OD-14)的化合物具有很显著的抗动脉粥样硬化作用。

所以, 适用于本发明的、具有式 I 的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物例如是 7 α -甲基-17 α -乙炔基-17 β -羟基-雌-5(10)烯-3-酮 (Org OD-14; 替勃龙), 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌-5(10)-烯-3 α , 17 β -二醇, 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌-5(10)-烯-3 β , 17 β -二醇、7 α -甲基-17 α -乙炔基-17 β -羟基-雌-4-烯-3-酮及其酯类。优选的衍生物是替勃龙和 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌-5(10)-烯-3 α , 17 β -二醇。更优选的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物为替勃龙。

术语“酰基”是指衍生自含有 1-18 个碳原子的有机羧酸的酰基，1-18 个碳原子也可以表示为(C₁₋₁₈)。所述羧酸的例子是甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、三甲基乙酸、戊酸、己酸、癸酸、十一碳烯酸、月桂酸、棕榈酸、油酸、苯乙酸、苯丙酸、苯甲酸、富马酸、马来酸、琥珀酸和柠檬酸。优选酰基具有 1-6 个碳原子，并且最优选乙酰基。

式 I 所示的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物是已知化合物。因此，可以按照如美国专利 3,340,279 和美国专利 4,701,450 中公开的用于制备 7 α -甲基-17 α -乙炔基-17 β -羟基-雌-5(10)-烯-3-酮(替勃龙)的方法来制备这些化合物。

本发明所述化合物的用途不仅是在于不会产生某些现有药源在激素替代疗法中有损于心血管的副作用，还在于所述化合物甚至具有一种意料外的、显著而有益的动脉保护作用。本发明的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物以及基于该化合物的药物制剂对血管壁内胆固醇的蓄积、脂肪纹的消除和深度病灶的生成具有有益作用。

在普遍接受的相关而有效的兔动脉粥样硬化模型中可以观察到这些对血管壁的直接作用。与预期相反的是，就本发明所述化合物的微弱的雌激素活性而言，模型试验证实了极低量的本发明化合物就可以产生显著和出乎意料强的动脉保护作用，并且比 17 β -雌二醇的动脉防护作用更强。

虽然本发明的化合物与雌二醇相比可以降低脂蛋白 Lp(a)的血浆浓度，但这不能用来解释其较强的动脉保护作用。与人体相比，兔的血浆中不存在 Lp(a)(兔类不合成 Lp(a); 参见《科学》，第 246 卷，1989，第 904-910 页)。所以，本发明所述化合物在兔子中的强动脉保护作用不依赖于对 Lp(a)的作用。因此，当人体中 Lp(a)的减少产生一个附加的动脉保护作用时，没有意料到在兔子中可观察到比人体中较强的动脉保护作用。

所以，本发明的 7 α -甲基-17 α -乙炔基-雌烷衍生物具有一种固有的强动脉保护功效，因而其不但在绝经前后妇女的激素替代疗法

中成为有效药物，也适合在雌性和雄性中以及所有年龄段的哺乳动物中作治疗性应用。此外，它们还适用于预防性地防止动脉粥样硬化。

因此，本发明提供一种抑制动脉粥样硬化恶化的方法，该方法包括给哺乳动物优选人体施用动脉保护量的式 I 所示的 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物。

本发明所述化合物可以单独使用，或彼此间结合应用，或与一种或多种其他动脉保护药物联合使用，条件是它们互不妨碍彼此的作用。医药专业人员应懂得选择何种药物和如何联合使用。

本发明所述的 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物可以经肠道或非肠道给药，对于人类，日剂量为 0.05-10mg，优选 0.1-2.5mg。

日剂量可以以一个或多个剂量单位通过如口服、直肠、舌下途径，经鼻途径或透皮(例如透皮贴剂，或霜剂形式)给药。优选每天以一个剂量单位口服给药。此外，还可采用控释制剂，它能够释放出如上规定的每天所需的总剂量。控释制剂可以采用口服途径给药，或优选以皮下植入物形式施用。

按照如 Gennaro 等在其所编辑的 Remington 氏药物科学(第 18 版，Mack 出版公司，1990，例如第 8 章：药物制剂及其制造)的标准参考文献中所描述的标准技术可以制备适用于本发明的药物制剂。为了达到制备本发明所述药物制剂的目的，将式 I 的 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物或其可药用盐混合于或溶解在可药用载体内。所述制剂的例子是片剂、霜剂、软膏剂、混悬剂、溶液、植入物或喷剂。

可药用载体的例子是：淀粉(如土豆淀粉或玉米淀粉)、糖类(如乳糖)、润滑剂(如硬脂酸镁)、粘合剂(如支链淀粉或聚乙烯吡咯烷酮)、水、乙醇、甘油及其衍生物、植物油、动物油和矿物油和脂肪类、脂肪醇、聚硅氧烷类化合物、聚亚烷基二醇、纤维素衍生物、二氧化硅、分散剂、乳化剂、表面活性剂、抗氧剂、着色剂和防腐劑。事实上，任何不干扰活性组分性能的常规可药用载体均适用于

本发明所述制剂。

本发明的优选 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物, 即 7α -甲基- 17α -乙炔基- 17β -羟基-雌-5(10)-烯-3-酮 (Org OD-14; 替勃龙) 的药物制剂适合采用 Org OD-14 的纯净单斜晶型 ($P2_1$) 进行制备, 这归因于其改进了的稳定性、生物利用度和使用期。欧洲专利 0, 389, 035B1 公开了如何在药物制剂中合成和应用 Org OD-14 单斜晶衍生物。

通过下列实施例说明本发明。

总述

胆固醇饲养的兔子模型揭示了式 I 所示 7α -甲基- 17α -乙炔基-雌烷衍生物的动脉保护特性, 其中所述化合物在卵巢切除雌兔中对致动脉粥样化形成产生影响。所述模型被认为与人体动脉粥样硬化过程相关, 因为在致动脉粥样化饮食所致的动脉粥样硬化病灶恶化期间, 细胞活动类似于冠状动脉粥样硬化进程的不同阶段。然而, 兔子的血浆中不存在 Lp(a)。

实施例 1

由含有乳糖(100mg/片)和干燥土豆淀粉(10mg/片)基质颗粒制备片剂。通过将乳糖与一部份淀粉混合制得所述基质颗粒。将剩余的淀粉与水混合成浆液并加入到上述混合物中。将其制粒并干燥。这些基质颗粒与抗坏血酸棕榈酸酯(0.2mg/片)以及 OD14(2mg 或 6mg/片)或 17β 雌二醇(4mg/片)中的任一物质混合, 筛分, 与硬脂酸镁(0.5mg/片)仔细地混合, 随后压片。

实施例 2

选用 7 组性成熟、未交配、7-9 周龄并且体重约为 3kg 的雌性新西兰白兔(Harlan, Zeist, 新西兰)进行实验(每组兔子的数目: 13-14 只)。在驯化期间, 用标准的市售兔饲料 LKK20(Hope Farms, Woerden, 新西兰)作为饲料进行喂养。在实验开始的前 3 周, 将动

物麻醉并进行双侧卵巢切除(OVX)或假性处理。3周后,在实验开始时将兔子随机分为数个处理组。利用风干技术将全部动物的一段左颈动脉进行去内皮化(Fishman, J. A. 等人, “大鼠颈动脉的内皮再生作用和内皮剥落在肌内膜增厚发病机理中的重要性”, 《实验室研究》, 1975, 32, 339-351; 和 Lafont, A. 等人, “再狭窄和实验性血管成形术: 与构造改型有关的内膜、中层膜和外膜变化”, 循环研究, 1995, 76, 996-1002)。

根据随机区组设计将动物随机分配为 7 个实验组。用致动脉粥样硬化饮食饲养各组动物(每 100g 市售的兔饲料(LKK20)中含有 0.2g 胆固醇, 3.75g 椰子油和 3.75g 花生油)。取 1 组动物用标准兔饲料(LKK20)饲养。将饲料的摄入量限制在每天 80g。

所述处理(表 1)就是每天将实施例 1 中制备的片剂经口服给药。第 1、2 和 3 组每天接受安慰剂处理。第 4 和 5 组用 7 α -甲基-17 α -乙炔基-17 β -羟基-雌-5(10)-烯-3-酮(OD-14; 替勃龙; 6 或 2mg/天)处理; 第 7 组用 17 β 雌二醇癸酸酯处理(150 μ g/1ml 花生油, 每周皮下注射 1 次)。

表 I: 实验方案

组	n	处理物*	剂量	饮食	OVX
1	14	安慰剂		胆固醇	有
2	13	安慰剂		胆固醇	无
3	13	安慰剂		正常	有
4	14	Org OD 14	6mg	胆固醇	有
5	13	Org OD 14	2mg	胆固醇	有
6 E2	14	雌二醇	4mg	胆固醇	有
7 E2D	14	雌二醇癸酸酯	150 μ g	胆固醇	有

*所述剂量是指口服给药的剂量, 但第 7 组除外, 第 7 组的剂量是每周皮下注射一次的剂量

在实验期间, 在用 Hypnorm(0.1ml, 肌肉注射)(Janssen

Pharmceutics, Beerse, 比利时) 镇静后从兔子中耳动脉中取血样, 取血时间分别是实验前、实验的第 4、8、12、16 和 20 周, 目的在于监测血浆胆固醇水平, 并且在第 17 周测定血浆中的雌二醇浓度和替勃龙水平。

在实验开始后 20 周, 通过肌肉注射 Hypnorm (0.5ml/kg) 将试验动物麻醉。采集完血样后, 用驱血法将兔子处死, 取出主动脉弓、子宫和颈动脉作进一步的分析。

实施例 3

在实施例 2 以外, 进行一个附加实验, 实验采用较低剂量的 Org OD14 和较高剂量的雌二醇癸酸酯。实验包括上述两个组以及安慰剂组和由试验中第 5 组所得的空白对照组 (参见表 II)。

实验方法类似于实施例 2。

在实验开始前 3 周时将动物的卵巢切除。实验开始时利用风干技术将颈动脉去内皮化。用致动脉粥样硬化的食物代替正常的兔饲料, 但空白对照组除外, 该组在实验期间喂食正常的兔饲料。

表 II: 实验方案

组	n	处理物*	剂量	饮食	OVX
1	22	安慰剂		胆固醇	有
2	13	安慰剂		正常	有
3	13	Org OD 14	0.6mg	胆固醇	有
4	11	Org OD 14	0.15mg	胆固醇	有
5 E2D	14	雌二醇癸酸酯	300µg	胆固醇	有

*所述剂量是指口服给药的剂量, 但第 5 组除外, 第 5 组的剂量是每周皮下注射一次的剂量

所述处理 (表 II) 就是每天将实施例 1 中制备的片剂经口服给予第 1、2、3 和 4 组。但是每片中 Org OD14 的剂量分别是 0.6mg 和 0.15mg。第 5 组用 17β 雌二醇癸酸酯处理 (300µg/1ml 花生油, 每周

皮下注射 1 次)。

在实验开始后 20 周采用与实施例 2 相同的方式结束试验。

对动脉粥样硬化的评估

A: 脂肪纹

解剖出游离的主动脉弓，沿轴向打开并在 2% 的低聚甲醛中固定。随后用 0.3% (w/v) 的苏丹红将组织中的脂质染色。对所有的节段进行色彩照相。用图象分析来评估动脉弓上脂肪纹的覆盖百分率 (表 II) (Context Vision Systems AB, Linköping, 瑞典)。

B: 血管壁胆固醇的测定

在脂肪纹测定结束后，在粉碎机 (Mikro-Dismembrator, B. Braun, Melsungen, Germany) 中将主动脉弓切碎，随后按照 Bligh & Dyer 所述方法萃取脂质 (加拿大生物化学和生物物理学杂志 (Can. J. Biochem. Biophys.) 1959, 37, 911-917)。在氮气下蒸发并溶于甲醇后，利用酶促 CHOD-PAP 法 (条目号: 1442341, Boehringer Mannheim, 德国) 测定氯仿/甲醇提取溶液中的胆固醇的总含量，并且在分光光度计 (波长 500nm) 中作评估。用 Lowry 法测定组织中蛋白质的含量。

C: 去内皮化后内膜的增厚

切取出左 (风干的) 颈动脉并在含有 6.8% 葡萄糖的 2% 低聚甲醛中固定。以右颈动脉作为对照。在固定后，将组织分割为长 2mm 的块并用自动组织处理机 (hypercenter XP, Shandon) 嵌入石蜡中 (Paraplast Plus®. Sherwood Medical Co, St. Louis, USA)。

为了测定内膜的增厚 (利用图像分析法)，开发出一种特殊的染色法和一种与此匹配的图像分析仪。

测定试验是在 2 μ m 的横切片上进行，该横切片先用弹性蛋白酶 (Serva Feibiochemica GmbH, Heidelberg, Germany) 处理，随后

用散沫花素溶液(Boom, Meppel, 新西兰)和亮绿(Sigma)将弹性蛋白染色。进而将切片风干并封固在 Pertex(Leica Gmnh, Nussloch, 德国)中。

在形态学研究中采用亚甲基蓝/天青 II 号和血毒蛋白(hematoxylin)/黄色曙红染色(2 μ m)的横切片。分别用 α -肌动蛋白抗体(Sigma)和抗巨噬细胞抗体(RAM11, DAKO, Glostrup, Denmark)检测平滑肌细胞和巨噬细胞。采用山羊抗小鼠的超小金结合的二次抗体(Aurion, Wageningen, 新西兰)和免疫镀金-银增强技术(SilvEnhanceOLM 试剂盒, Zymed)测定结合抗体。

用固定有光学显微镜(Axioplan, Zeiss, Jena, Germany)的黑白摄像机(MX-5, Adimec Image Systems BV, Eindhoven)得到切片的图像。将摄影图像数字化处理, 并用半自动图像分析仪(Context Vision Systems AB, Linkoping, 瑞典)测定增厚的内膜。

统计学: 将数据表示为平均值 $\pm$ S.E.M., 除非另有说明。用方差分析法(ANOVA)试验统计学意义。将数据对数化, 将其转化为标准方差。 $P < 0.05$ 时视作具有显著性差异。

结果(实施例 2, 表 III)

经过 20 周每天饲养和处理后, 将尸体剖检以便测定主动脉弓中胆固醇的蓄积作用和脂肪纹以及颈动脉内的深度病灶。此外测定子宫的重量。结果如表 III 所示。

所测变量在卵巢切除动物(第 1 组)和卵巢未切除动物(第 2 组)之间无显著性差异。这证明, 卵巢未切除雌兔的内源性雌二醇基础血浆水平较低。

17 β -雌二醇口服给药(4mg/天; 第 6 组; E2)后 1 小时时, 雌二醇达到峰血浆浓度 238pg/ml, 该峰值在 24 小时后减小到 18pg/ml。皮下给药的雌二醇癸酸酯(150 μ g/周, 第 7 组; E2D)在全天内的血浆雌激素水平相当稳定(约 60-70pg/ml)。这样的血浆水平表明雌二醇的两种给药方式均可获得有效血浆浓度。

以人体在 HRT 治疗和纠正热量摄取中所用的雌二醇和 Org OD14 剂量进行给药, 正如所预料的, 口服给予 4mg 雌二醇可在兔子中产生大致等效于 6mg Org OD14 的效果。对兔子血浆水平的测定表明, 每天给予 6mg Org OD14 可使 Org OD14 的血浆浓度达到妇女中 2.5mg 给药剂量所能达到的水平。

Org OD14 (2 和 6mg/天) 将子宫(雌激素活性)的重量增加到与上述两种雌激素处理(E2 或 E2D)相似的程度, 这证实所用剂量是等效的。

尽管雌激素和 Org OD14 对子宫具有等效作用, 但对主动脉中的胆固醇蓄积和病灶形成的作用却是不同的: 用 17β -雌二醇(E2)处理无法减少胆固醇的蓄积作用, 用 17β -雌二醇癸酸酯(ED2)处理可将主动脉弓中胆固醇的蓄积作用降低 46%。而在两个浓度试验中, Org OD14 将胆固醇在主动脉弓内的蓄积完全阻止。

17β -雌二醇(E2)和 17β -雌二醇癸酸酯(ED2)对血浆胆固醇水平没有影响, 但 Org OD14 强有力地降低了血浆胆固醇水平。

在用雌激素处理后主动脉弓中脂肪纹的形成只有轻微降低, 但 Org OD14 (几乎)彻底防止了脂肪纹的形成。

在机械性去内皮化后, 17β 雌二醇(E2)对深度病灶的形成没有影响, 但 17β -雌二醇癸酸酯(ED2)减小了深度病灶的形成。组织学研究显示, 在用安慰剂处理的胆固醇饲料喂养的动物中, 病灶是由平滑肌细胞和泡沫细胞构成, 但在用正常饲料喂养的动物中, 病灶中只有平滑肌细胞。经 E2D 处理的动物的组织学研究表明, 病灶仍然由平滑肌细胞和泡沫细胞构成。Org OD14 强有力地抑制了深度病灶的形成。甚至比正常饲料喂养的动物更不易形成病灶(空白对照组)。组织学研究表明, 病灶只由平滑肌细胞组成。

结果(实施例 3, 表 IV)

在实施例 2 中, 我们发现, 2 和 6mg 的 Org OD14 在兔子中可强有力地抑制动脉粥样硬化病灶形成的发展。该作用出乎意料地比雌

二醇或雌二醇癸酸酯的更有效，但其对子宫的雌激素作用是等效的。

在实施例 3 中，我们试验了两种较低剂量(0.6 和 0.15mg/天，口服给药)的 Org OD14，和一种较高剂量(300 μ g，皮下，每周 1 次)的雌二醇癸酸酯。目的是获得与雌二醇癸酸酯的抗动脉粥样硬化作用等效的 Org OD14 剂量。

结果表明，0.6mg 的 Org OD14 仍能近乎完全地防止动脉粥样硬化病灶的形成。当将雌二醇癸酸酯(与表 III 相比)的剂量提高两倍时，其仍然只能够部分抑制动脉粥样硬化病灶的形成。

当 Org OD14 的剂量处于 0.60mg-0.15mg 间时，其表现出与 300 μ g 剂量的雌二醇癸酸酯大致等效的抗动脉粥样硬化作用。但是，其对子宫的作用完全不同。以 100 克体重计，当 Org OD14 使子宫重量从 0.054 克增加至 0.132 克(增加 144%)时，雌二醇癸酸酯可使子宫重量增至 0.505 克(增加 835%)。

结论

实施例 2 的结果证明，虽然临床上等价剂量的 17 β -雌二醇、17 β -雌二醇癸酸酯和 Org OD14 对兔子子宫生长的效能几乎相等，但 Org OD14 对血浆胆固醇、主动脉弓中胆固醇的蓄积作用以及颈动脉内深度病灶的形成具有有益的作用，并且这种有益作用比 17 β -雌二醇更有效。

此外，如实施例 3 证实，Org OD14 的剂量降低 10 至 14 倍(0.60-0.15mg)时具有等效于雌二醇癸酸酯剂量提高 2 倍(300 μ g)时的抗动脉粥样硬化作用。但是，雌二醇癸酸酯的雌激素作用(增加子宫重量)比 Org OD14 的强许多。

上述结果表明，Org OD14 本质上具有适合在临床有效预防和治疗动脉粥样硬化的可能性。

表 III

不同处理方式对致动脉粥样硬化饲料在主动脉弓和颈动脉中所诱发的形态学变化的作用，以及对体重、血浆胆固醇和在尸检时刻测得的子宫重量(试验开始后的第20周)的影响。

	空白对照 第3组	安慰剂 第1组	Org OD14 第4组	Org OD14 第5组	雌二醇 第6组	雌二醇癸酸酯 第7组
兔子的数目	13	9	13	12	13	11
体重(克)	2831±50	2683±95	2758±41	2815±50	2831±58	2973±52
子宫重量/100克体重	0.08±0.01	0.09±0.01	0.24±0.06*	0.29±0.003*	0.31±0.02*	0.37±0.04*
平均血浆胆固醇mmol/L/天	1.0±0.1*	26.9±3.3	11.2±1.5*	9.0±1.3*	27.7±2.8	30.0±3.7
主动脉弓的胆固醇水平 nmol/mg 蛋白质	45±5*	590±126	52±9*	61±11*	521±99	318±58*
主动脉弓内的脂肪纹占覆盖 的动脉弓%	0.3±0.2*	34.5±6.8	1.3±0.8*	1.4±0.7*	25.5±5.2	28.1±4.1
颈动脉内的深度病灶: 内膜 表面积(mm ²)	0.22±0.03*	0.44±0.10	0.13±0.03*	0.14±0.02*	0.30±0.06	0.23±0.06*

*与安慰剂组(第1组)相比 $p < 0.05$

表 IV

与剂量高两倍的雌二醇癸酸(300µg/只兔,每周皮下给药1次)(所述两倍剂量是相对于表 III 中的剂量而言)相比,OrgOD14(0.6 和 0.15mg/只兔,每天口服给药1次)对致动脉粥样硬化饲料在主动脉弓和颈动脉中所诱发的形态学变化的作用,以及对体重、血浆胆固醇和在尸检时刻测得的子宫重量(试验开始后的第 20 周)的影响。

	空白对照	安慰剂	Org OD14 0.6mg	Org OD14 0.15mg	雌二醇癸酸酯
兔子的数目	13	22	13	11	14
体重(克)	2869±38	2882±73	3008±58	2850±42	3093±60
子宫重量/100 克体重	0.051±0.009	0.054±0.007	0.224±0.016*	0.132±0.013*	0.505±0.075*
平均血浆胆固醇以 mmol/L/天计	1.3±0.4*	38.9±2.5	12.8±1.2*	20.7±1.5*	23.0±2.0*
主动脉弓的胆固醇水平 以 mmol/mg 蛋白质计	51±9*	636±53	97±23*	297±67*	225±69*
主动脉弓内的脂肪纹 以动脉弓的覆盖%计	1.0±0.7*	41.9±2.8	5.9±2.4*	23.5±5.3*	14.2±3.2*
颈动脉内的深度病灶 以内膜表面积(mm²)计	0.13±0.02*	0.31±0.07	0.14±0.01*	0.24±0.05	0.18±0.02*

*与安慰剂组(第 1 组)相比 p<0.05