

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.⁷
A61K 31/16
A61P 25/22



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 94192865.9

[43] 授权公告日 2003 年 5 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1108793C

[22] 申请日 1994.6.10 [21] 申请号 94192865.9

[30] 优先权

[32] 1993.6.11 [33] US [31] 08/075,126

[86] 国际申请 PCT/US94/06356 1994.6.10

[87] 国际公布 WO94/28888 英 1994.12.22

[85] 进入国家阶段日期 1996.1.24

[71] 专利权人 NPS 药物有限公司

地址 美国犹他州

[72] 发明人 M·F·巴兰德林

B·C·范韦根伦

[56] 参考文献

CURR, THER, RES., 1960, 2(5) 1960-01-01

DEUT. MET. WOCHSCHR., 1912, 38 1912-01-01

INT. J. NEUROPHARMACOL., 1962, 1 1962-01-01

审查员 张 伟

[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 谭明胜

权利要求书 1 页 说明书 19 页 附图 4 页

[54] 发明名称 应用异戊酰胺作为温和的抗焦虑剂和温和的镇静剂

[57] 摘要

现已发现, 异戊酰胺在低~中等剂量水平下具有温和的抗焦虑(减轻焦虑)作用, 在较高剂量水平下具有温和的镇静作用。与某些其他的药物相比, 虽然某些其他药物具有抗焦虑作用或温和的镇静作用, 但是异戊酰胺没有细胞毒性, 也没有不合理的刺激中枢神经系统的作用。因此, 异戊酰胺可用作出售给公众的温和抗焦虑剂和温和镇静剂。

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

1. 异戊酰胺在制备用于需要所述治疗的病体产生抗焦虑作用的药物中的应用，其中所述异戊酰胺能有效减轻焦虑而不引起极度的镇静。

5 2. 按照权利要求 1 所述的应用，其中所述异戊酰胺的剂量为 1.5 ~ 20mg/kg 体重。

3. 按照权利要求 2 所述的应用，其中所述异戊酰胺剂量为 1.5 ~ 10mg/kg 体重。

10 4. 按照权利要求 1 所述的应用，其中所述病体是人，并且所述抗焦虑作用是对轻度焦虑、戒烟后的症状、酒精中毒和其他药物滥用、月经前综合症、月经期不安和儿童过度兴奋的治疗作用。

5. 按照权利要求 1 所述的应用，其中病体是家养动物和驯养动物，并且所述抗焦虑作用是对不希望兴奋的动物的有效作用。

15 6. 异戊酰胺在制备用于 促使需要所述治疗的病体睡眠的药物中的应用，其中所述异戊酰胺能有效促进睡眠。

7. 按照权利要求 6 所述的应用，其中异戊酰胺的剂量为 10-20mg/kg 体重。

8. 按照权利要求 6 所述的应用，其中病体是人。

9. 按照权利要求 6 所述的应用，其中病体是家养动物或驯养动物。

20 10. 一种药物组合物，其含有单元剂量形式的 100-1000mg 的异戊酰胺。

11. 权利要求 10 所述药物组合物，该组合物适合于口服给药。

12. 权利要求 10 所述药物组合物，该组合物适合于注射给药。

25 13. 权利要求 10 所述药用组合物，该组合物适合于经皮或经粘膜给药。

应用异戊酰胺作为温和的 抗焦虑剂和温和的镇静剂

本发明的背景

本发明涉及减少动物（包括人）的焦虑同时又不产生不希望的程度镇静作用的方法。更具体地说，本发明涉及应用异戊酰胺作为温和的抗焦虑剂和温和的镇静剂。

影响中枢神经系统（CNS）的受体、神经递质和电脉冲的复杂的相互关系远未被充分地了解。但是，可以区别各种药物和其他药物对中枢神经系统行为显示的影响。

尤其是可以区别抗焦虑作用（减少焦虑）与镇静作用（即经典的CNS抑制作用）。常用的行为试验例如下面叙述的探索行为试验和福格尔争斗模型（Vogel Conflict Paradigm）可用于检测、说明和定量表示各种药物的抗焦虑作用。其他的试验（包括巴比妥酸盐引起的睡眠时间的延长和诱导的睡眠）分别表明镇静和催眠作用。

虽然一些药物对诱导抗焦虑和镇静作用是有效的，但是结构上有关的其他药物通常主要地仅具有一种或另一种作用。然而，常用的抗焦虑药物主要地显示抗焦虑或者镇静作用通常与剂量有关。参见Wolff, M. E. (Ed.) *Burger's Medicinal Chemistry, Part III*, 第4版(1981), Wiley - Interscience, p. 981 - 986; Foye, W. O. (Ed.) *Principles of Medicinal Chemistry*, 第3版(1989), Lea and Febiger, p. 143 - 237。此外，还有对中枢神经系统另外可能的作

用，例如诱导或抑制惊厥。另外，各种结构上有关的化合物可以具有或者不具有上述性能。从目前现有的技术明白，似乎没有明确的结构—功能关系来预言具体化合物以规定的方式影响或不影响中枢神经系统。

自古以来全世界许多不同栽培物中的某些药用植物的提取物已用于缓解紧张和治疗焦虑，并且从较高等的植物中已分离出许多抗焦虑剂和镇静剂的成分并且在近代已具有特色。的确，苯并二氮革类安定剂如地西洋（安定）、奥沙西洋（舒宁）和劳拉西洋（氯羟去甲安定）被认为是典型的合成的抗焦虑剂，现在明确地表明从植物中得到的天然化合物也是卓越的，从植物中得到的天然化合物已在马铃薯、大豆、小扁豆、玉米、小麦、荞麦、水稻、燕麦、大麦和小米中发现

（Wildmann 等，J. Neural Transm. (1987) 70 : 383 - 398；Wildmann, J. Biochem. Biophys. Res. Commun. (1988) 157 : 1436 - 1443；Wildmann等，Biochem. Pharmacol. (1988) 37 : 3549 - 3559；Unseid等，Biochem. Pharmacol. (1989) 38 : 2473 - 2478；Klotz, U., Life Sci. (1991) 48 : 209 - 215；Bringmann, G., J. Neural Transm. (1992) 88 : 77 - 82）。

应用缬草根提取物作为药用目的已有多个世纪的历史，但是镇静有效的成分仍不清楚或未确定地被鉴定（Krieglstein等，Deut. Apoth. Ztg. (1988) 128 : 2041 - 2046），提取物作用的特征也不清楚，但已分离成在行为上有不同作用的部分。缬草的根含有 3 类化合物的成分：（a）挥发油，它主要是由异戊酸和挥发性的单萜和倍半萜衍生物，（b）非挥发性的单萜环烯醚萜类或缬草三酯类，以及（c）单萜生物碱类。单萜生物碱类仅占极少量的成分，因此不认为对于缬草的作用有明显的贡献；同样，挥发油部分看来仅有弱的作用。因此

注意力集中在缬草三酯部分，它通常由单萜（环烯醚萜）酯类组成。该类酯是水不溶的，它不能完全地对植物的镇静作用产生影响，因为缬草根的水提取物（假定它没有缬草三酯类化合物）依然具有镇静作用。缬草三酯类还是有毒的（见下述）。

近来对缬草三酯类的研究表明，所述化合物能不可逆地烷基化DNA和蛋白质，并且口服给药少量的缬草三酯类化合物实际上可达到鼠大脑和其他的器官（Wagner, H.和 K. Jurcie, *Planta Med.* (1980) 38 : 366 - 376）。但是尽管缬草三酯类具有潜在的有害毒性，但是在欧洲它已广泛地上市作为镇静剂。

缬草根的水和水-醇提取物在欧洲和美国传统上用作为镇静制剂。但是缬草根的含氮酞剂在美国和英国也用作为镇静剂，但仅作为粗的混合物应用。仅从缬草根的含氮酞剂，本发明人可以鉴别和分离出异戊酰胺，推测起来是缬草三酯类化合物与氮的反应产物。

在实验动物中当给予很高剂量的情况下，已知异戊酸、异戊酰胺和有关的物质具有麻醉作用和催眠作用。参见Eeckhout, A. V. d., *Arch. exptle. Pathol. Pharmacol.* (1907) 57 : 338 - 57; Impens, E., *Deut. med. Wochschr.* (1912) 38 : 945 - 47; May, P., *THE CHEMISTRY OF SYNTHETIC DRUGS*, 第3版. (1921) Longmans, Green and Co., p. 24; Meyer, K. H.和 H. Hemmi, *Biochem. Z.* (1935) 277 : 39 - 71; Junkmann, K., *Naunyn - Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.* (1937) 186 : 552 - 64; Samson 等, *J. Clin. Invest.* (1956) 35 : 1291 - 98; Teychenne等, *Clin. Sci. Molec. Med.* (1976) 50 (6) : 463 - 72。此外，异戊酸的盐在20世纪早期被用作为镇静剂，但是人们认为，它们的作用是心理学的并且是由于其高度挥发性的游离酸的臭气所致（Hare等, *THE*

NATIONAL STANDARD DISPENSATORY (1905) Lea Brothers and Co., pp. 94, 159 - 160, 1619 - 1620; Grier, J., Chem. Drug. (1929) 110 : 420 - 422; Allport, N. L., THE CHEMISTRY AND PHARMACY OF VEGETABLE DRUGS (1944) Chemical Publishing Co., pp. 159 - 161; YEAR BOOK OF THE AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, 1912 (1914) 1 : 178 - 179; DE RE MEDICINA (1938) Eli Lilly and Co., p. 159)。只是在给实验动物服用很高剂量异戊酰胺时，异戊酰胺本身才具有催眠作用。Impens, E., Deut Med. Wochschr. (1912) 38 : 945 - 47; Junkmann, K., Naunyn - Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. (1937) 186 : 552 - 64。但是，一系列 α -溴化和 α -烷基化的异戊酰胺衍生物被认为作为催眠剂治疗上是有效的。参见 Volwiler, E. H. 和 D. L. Tabern, J. Am. Chem. Soc. (1936) 58 : 1352 - 54; Burger, A., MEDICINAL CHEMISTRY, Vol. 1, (1951) Interscience, pp. 131 - 132; Burger, A. (Ed.) MEDICINAL CHEMISTRY, 第2版 (1960) Interscience, pp. 357 - 375; Burger, A. (Ed.) MEDICINAL CHEMISTRY, Part II, 第3版 (1970) Wiley - Interscience, pp. 1365 - 1385; Wolft, M. E. (Ed.) BURGER'S MEDICINAL CHEMISTRY, Part III, 第4版 (1981) Wiley - Interscience, pp. 787 - 828。

乙甲戊酰胺 (见图 1) 是异戊酰胺的高级同系物。乙甲戊酰胺是一合成的、巴比妥酸盐衍生物的、 α -支链的、水不溶的化合物，它具有安定和减轻焦虑的作用，它能使攻击性的实验动物和焦虑的人安定下来 (Stepansky, W., Curr. Therap. Res. (1960) 2 : 144 - 47; Goldberg, M., Dis. Nerv. Syst. (1961) 22 : 346 - 48;

Roszkowski, A. P.和 W. M. Govier, *Int. J. Neuropharmacol.* (1962) 1 : 423 - 30), 大鼠按250mg/kg剂量经腹腔内 (I P) 给药, 可产生催眠作用。虽然表面上看来乙甲戊酰胺结构上与异戊酰胺是相似的, 但是在它们之间存在着相当大的物理和化学性质和药理作用的差别。例如, 乙甲戊酰胺是水不溶的, 而异戊酰胺基本上是水可溶的。此外, 乙甲戊酰胺在较低的剂量 (例如250mg/kg [1.75mM/kg], I P) 下对大鼠具有明显的催眠作用, 而异戊酰胺即使在1000mg/kg (9.90mM/kg), I P 对小鼠也不具有催眠作用, 只是在接近中毒的剂量 (2000mg/kg I P 和更高剂量) 下才具有催眠作用。因此, 乙甲戊酰胺的药理特性看来更接近于其合成的巴比妥酸盐前体而不是异戊酰胺。

乙甲戊酰胺在下述方面也不同于异戊酰胺: 它含有 2 个 (手性的) 立构中心 (支链 α 和 β 碳); 而异戊酰胺不具有 (手性的) 立构中心。因此, “乙甲戊酰胺” 实际上是由 4 个立体异构体以对映体的 2 组非对映体组成的外消旋体混合物。全部 4 个所述立体异构形式药理学上是否等效是不清楚的。本发明人通过 C - 13 核磁共振谱 (^{13}C - NMR) 测定表明, 所述对映体的 2 组非对映体以不同数量的 “乙甲戊酰胺” 存在。由于异戊酰胺不具有旋光活性 (手性) 的立构中心, 因此它以单一的、十分确定的分子整体存在, 并且不存在对映形式或非对映形式, 并且实验测定的药理学性质和作用 is 单一的纯的分子整体的结果。

异戊酰胺在较低剂量 30 - 100mg/kg (I P) 时, 对小鼠具有定量的 CNS - 抑制作用。由于异戊酰胺对小鼠的 LD_{50} 值大于 4000mg/kg (I P), 因此该化合物的治疗指数看来至少为 40。而乙甲戊酰胺的治疗指数为 11.4。Roszkowski, A. P. 和 W. M. Govier, *Int. J.*

Neuropharmacol. (1962) 1 : 423 - 30。因此，乙甲戊酰胺是异戊酰胺的巴比妥酸盐衍生物的高级同系物，它具有某些巴比妥酸盐的性质，例如确切的催眠作用，这种作用在抗焦虑的情况下是不希望有的。

此外，其结构上与乙甲戊酰胺有密切关系的某些有 α -支链的异戊酰胺衍生物（即高级同系物）对肝脏的卟啉病有效，这是某些巴比妥酸盐所共有的作用。例如参见Schmid, R. 和S. Schwartz, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. (1952) 81 : 685 - 89; Case等, loc. Cit. (1953) 83 : 566 - 68; Goldberg, A., Biochem. J. (1954) 57 (1) : ii; Goldberg等, Proc. Roy. Soc., Ser. B. (Biol. Sci.) (1955) 143 : 257 - 80; Talman等, J. Biol. Chem. (1955) 212 : 663 - 75; Talman等, Arch. Biochem. Biophys. (1957) 66 : 289 - 300; Goldberg, A. 和C. Rimington, DISEASES OF PORPHYRIN METABOLISM (1962) Charles C. Thomas, pp. 175 - 99; Granick, S., Ann. N. Y. Acad. Sci. (1965) 123 : 188 - 97; Marks等, Biochem. Pharmacol. (1965) 14 (7) : 1077 - 84; de Barreiro, O. C., Biochem. Pharmacol. (1965) 14 : 1694 - 96; Hirsch等, loc. Cit. (1966) 15 (7) : 1006 - 08; Hirsch等, loc. Cit. (1967) 16 (8) : 1455 - 62; Schneck等, loc. Cit. (1968) 17 (7) : 1385 - 99; Schneck, D. W. 和G. S. Marks, loc. Cit. (1972) 21 (18) : 2509 - 518。相反，异戊酰胺对肝脏的卟啉病没有作用，这可能是因为 α -位没有位阻，结果容易被肝脏酶进行酰胺水解。参见Hirsch等, Biochem. Pharmacol. (1966) 15 (7) : 1006 - 08; Hirsch等, loc. Cit. (1967) 16 (8) : 1455 - 62; Schneck等, loc. Cit. (1968) 17 (7) : 1385 - 99; Schneck, D. W. 和G. S. Marks, loc. Cit. (1972) 21 (18) : 2509 - 18。

异丙溴丁酰胺是异戊酰胺溴化的高级同系物（见图 1），它也作为镇静—催眠剂在市场销售。见YEAR BOOK OF THE AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, 1929 (1931) 18 : 154) ; loc. Cit. 1931 AND 1932 (1934) 20, 21 : 154。有几篇报告错误地把异丙溴丁酰胺认为是 α - 乙基异戊酰胺；但是，已知图 1 所示 α - 溴代的结构事实上才是正确的结构。

化学活性上定义的试剂的作用对中枢神经系统的影响显示缺少有兴趣的典范。例如酰胺基团氮原子的（N - 烷基化）衍生作用得到的化合物如 N, N - 二乙基异戊酰胺（A. Liebrecht, 德国专利 129, 967, 1902 年颁布），据报告具有镇静作用并且已作为镇静剂销售。Budavari 等 (Eds.), THE MERCK INDEX, 第 11 版, p. 824, no. 5122 (Merck & Co., 1989)（见图 1 中“Valyl”）。但是下述事实表明，该化合物具有 CNS 兴奋作用，引起焦虑（即诱导焦虑）和惊厥的作用。N - 甲基化的酰胺衍生物确实具有 CNS 兴奋作用或者 CNS 抑制作用，而 N - 乙基和更大的烷基衍生物一般具有 CNS 兴奋作用。Volwiler, E. H. 和 D. L. Tabern, J. Am. Chem. Soc. (1936) 58 : 1352 - 54; Nelson 等, J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. (1941) 30 : 180 - 82。这与其他 CNS 药物例如类似儿茶酚胺和 5 - 羟色胺药物（F. W. Schueler (Ed.) MOLECULAR MODIFICATION IN DRUG DESIGN, ADVANCES IN CHEMISTRY SERIES NO. 45 (1964) American Chemical Society pp. 114 - 139），巴比妥酸盐（Burger, A. (Ed.) MEDICINAL CHEMISTRY, Part II, 第 3 版 (1970) Wiley - Interscience, pp. 1365 - 85）以及其他类化合物（Slater 等, J. Pharmacol. Exptl. Therap. (1954) 111 : 182 - 196）中增加或减少甲基或亚甲基的作用是类似的，它们显示 CNS 抑制作用或兴奋作用。

其他有关的化合物如丙戊酸和丙戊酰胺〔异戊酰胺的高级同系物（见图1）〕，它们已用作抗癫痫（抗惊厥）药物。Gilman等，(Eds.) GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 第8版（1990）Pergamon Press, pp. 436 - 62。相反，异戊酰胺本身没有抗惊厥作用。

因此以前的研究表明，不清楚的可预言试验化合物对中枢神经系统有无影响的结构-作用关系。尤其是不可能预言那种烷基酰胺类衍生物可以提供作为治疗上有用的抗焦虑和镇静的药物。

本发明的概述

本发明涉及应用异戊酰胺作为药用组合物中的活性成分，在低剂量它是温和的抗焦虑剂和较高剂量它是温和的镇静剂。在较低剂量下，异戊酰胺不产生不希望的镇静作用，也不产生催眠表现，并且基本上它还是无毒的。

令人惊奇的是，本发明已发现了在异戊酰胺类同系物中一般的活性模式。例如，在异戊酰胺引起抗焦虑作用的剂量下，正丁基酰胺（异戊酰胺的低级同系物）没有明显的抗焦虑作用，而作为镇静-催眠剂，乙甲戊酰胺（异戊酰胺的高级同系物）与异戊酰胺相比作用强约10倍以上（见下面实施例2）。因此，异戊酰胺的低级同系物作为临床应用，它们的镇静作用太弱，而异戊酰胺的高级同系物可诱导镇静-催眠作用，这使得该类化合物不适合作为非处方药物应用。相反，异戊酰胺具有所希望合适平衡的药理作用，因此使得该化合物尤其适合作为温和的精神治疗药物以非处方药物应用。

因此，一方面本发明涉及应用一定剂量的异戊酰胺于药物制剂中，以便用于需要所述治疗的患者产生抗焦虑作用，其中异戊酰胺的剂量对于减轻焦虑有效而不引起过度的镇静作用。另一方面，本发明还涉

及应用一定剂量的异戊酰胺于药物制剂，以便用于需要所述治疗的患者促使睡眠的方法。本发明也涉及用于上述方法中的药用组合物，尤其是口服组合物。

附图的简要说明

图 1 表示异戊酰胺和结构上有关化合物的化学结构、通用名称和商品名。

图 2 表示用雄性大鼠从福格尔（Vogel）试验得到的异戊酰胺和结构上有关化合物以及对照化合物的抗焦虑作用，并且以抗焦虑指数表示。

图 3 表示与乙甲戊酰胺不同的异戊酰胺一般的镇静作用，它是在雄性大鼠中通过电测量药物诱导的自发性运动活性减少来表明的。

图 4 表示与对照的小鼠相比较，异戊酰胺处理过的小鼠的戊巴比妥诱导的睡眠时间平均相对百分比的增加。

优选实施例的详细叙述

按照本发明，应用异戊酰胺作为温和的抗焦虑剂，在较高剂量下作为温和的镇静剂。因此，根据剂量，本发明将异戊酰胺的上述 2 个作用区分开来并着重进行叙述。

异戊酰胺发挥上述作用而没有不希望的副作用的性能是其应用的主要特征。因此，重要的是区别由于服药影响中枢神经系统的、能够经试验测定的各种行为的结果。一些行为和试验的评价叙述如下。

抗焦虑作用

抗焦虑作用可以应用探索行为试验或福格尔争斗模型（Vogel Conflict Paradigm）进行测定。

按Christmas, A. J.和D. R. Maxwell（Neuropharmacology (1970) 9 : 17 - 29）和Sepinwall, J. 和L. Cook（Handbook of

Psychopharmacology (1978) 13 : 345 - 93) 所述方法进行探索行为试验, 该试验是当动物被置于新的或熟悉的环境中时通过测定运动活性增加或减少来进行的。抗焦虑剂在新环境中增加了探索行为(因为它们减少了恐惧和焦虑), 但是在熟悉环境中它们不影响行为。

在试验的一个形式中, 应用具有金属丝网地板和离开地板 3 cm 的光电管的木质小笼 (65 cm × 100 cm × 20 cm)。该光电管放置在框格中并在光路中通过断路器自动记录动物的横越(测量运动活性大小)。光电管输出端接到计算机 (IBM) 上以进行数据贮存和分析。通过计数横越的总数和单位时间内横越的次数进行活动性定量。

给 Sprague - Dawley 雄性大鼠腹腔内 (IP) 注射试验化合物和对照物质, 然后将其置于活动笼内。观察 1 小时。这对动物来讲是新的环境。在开始 5 分钟的时候运动活性增加, 这是由于抗焦虑剂“脱抑制”的结果。

在第 1 次试验结束时, 将动物移出并使其重新回到动物群体中 7 天, 然后在第 8 和第 9 天将其置于同一活动笼中 1 小时。在这个时候, 该环境对试验动物来讲是熟悉的。在第 10 天注射试验化合物和对照物质, 重复该试验得到在熟悉环境中的结果。

在福格尔争斗模型 (Vogel Conflict Paradigm) 中, 通过金属的水分配器在大鼠试图饮水时给口渴的大鼠轻度的电击。该电击是不愉快的, 但未足以严重的引起明显的疼痛。与对照相比, 给予抗焦虑剂的大鼠更经常地舔该分配器(这也是由于减少焦虑的“脱抑制”的结果)。以增加舔分配器的次数评价抗焦虑剂的效果。

如以下所述, 应用标准的福格尔试验的改进形式, 例如应用由 Petersen, E. N. 和 J. B. Lassen 改进的方法 (Psychopharmacology (1981) 75 : 236 - 39)。动物 (雄性 Sprague - Dawley 大鼠, 250

- 300 g) 禁水 2 4 小时, 然后置于有不锈钢条格子供动物休息的清洁的有机玻璃箱 (4 5 cm × 2 5 cm × 2 0 cm) 中。在条格横杠和饮水嘴之间有一银电极圆环, 并且它置于笼内的饮水瓶中。使动物舐水分配器 5 分钟而不电击, 将不舐的动物排除在进一步试验之外。

将动物再送回到群体中, 再次禁水 2 4 小时, 将动物送回到活动笼中并允许在无电击情况下舐水 1 分钟。然后在饮水嘴保持 1 毫安电流 (电击) 4 分钟。与第 1 段时间相比, 在进一步试验中在舐水行为中仅有 5 0 % 的动物抑制。

在上述一段时间之后经腹膜内 (I P) 注射试验化合物, 3 0 分钟后再将动物置于活动笼中。在无电击的情况下允许动物舐水 1 分钟, 然后保持电击 4 分钟。在该期间受处罚舐水的动物数量用于评价抗焦虑作用。

上述 2 种评价试验检测、证明和量化了抗焦虑作用。在第 1 种试验条件下, 镇静剂不起作用, 而在福格尔争斗试验中镇静剂也给予阳性的结果。

镇静作用

通过延长巴比妥酸盐诱导的睡眠时间来测定镇静作用。在该试验中, 动物经腹膜内 (I P) 注射试验化合物或对照物质, 1 5 或 3 0 分钟之后经 I P 按 5 0 mg / kg 注射戊巴比妥钠。然后将动物置于行为试验室内小的有机玻璃笼中, 人工记录潜在睡眠时间和睡眠的持续时间。当将动物侧着放置时, 假如动物本身失去翻正的能力, 那么认定为睡眠开始发生 (Irwin, S., Psychopharmacologia (1968) 13 : 222 - 257)。在失去和恢复翻正反射之间发生的间隔认定为睡眠的持续时间。

催眠作用

可以通过简单地测定足以引起丧失翻正反射（见上）以及明显的丧失意识和应答的试验化合物的剂量来评价催眠作用。这被认为表示“诱导睡眠”，并且明显地不同于镇静作用，在镇静作用中实验动物的行为只是缓慢和变得不活泼，但仍保持一定程度的翻正反射以及一些应答方式。

异戊酰胺的特征

在对各种CNS作用的试验中，异戊酰胺的效果以及它没有毒性，使得它成为理想的温和抗焦虑剂，并且在较高剂量下为温和的镇静剂。例如，异戊酰胺可用于治疗患有紧张、轻度焦虑的症状（包括紧张、坐立不安、神经过敏、注意力不能集中、易怒、进取心过度 and 失眠）。异戊酰胺的抗焦虑作用可以治疗的其他疾病和治疗的范围包括治疗戒烟出现的症状、治疗酒精中毒和其他的药物滥用、月经前综合症、月经期烦闷和儿童的过度兴奋。

图1表示结构上与异戊酰胺有关的各种已知化合物的结构。异戊酰胺最初由本发明人从缬草（普通名：拔地麻）的地下部分的提取液中制得（即含氮的酞剂）。缬草及其有关种属的提取物历史上已用作镇静剂和镇痉剂。但是如以上所述，关于拔地麻提取物和图1中所示化合物是已知的，但是没人提出过异戊酰胺本身是有效成分，或该化合物具有所述可用于制备药用组合物产生抗焦虑作用而又无过度镇静作用的特性，或者用较高剂量的异戊酰胺促进需要该治疗患者的睡眠。

对于非处方药物的剂型，优选经口服途径给药，并且可以通过固体口服剂型如肠包衣片剂、caplets、gelcaps或胶囊剂实现，或通过液体剂型如糖浆剂或酞剂实现。作为抗焦虑剂，异戊酰胺的指示剂量

为每个成年人100–1000mg，优选100–500mg/60–70kg成年人。这相当于约1.5–20mg/kg，优选约1.5–10mg/kg。单位固体口服剂型通常含有约100–250mg/片或胶囊，通常为1次服1–2片或粒，每天最多服4次。也可以应用含有有效成分组合物的液体剂型，每次剂量为1–2匙。此外，还可以开发相应减少剂量的儿童口嚼片和液体口服剂型。还可以将该化合物加到食物和饮料中制成滴剂（从“浓缩液”中取一滴管）供口服。另外，还可以将异戊酰胺配制成口香糖。

有效成分异戊酰胺也可以通过注射或其他系统的途径（例如经皮或经粘膜）给药，例如经鼻、口腔含化或经栓剂直肠给药。但是，口服给药更为方便，因此是优选的。

进一步认识到，异戊酰胺可以与其他药学上有效的成分一起合并应用。

作为促进睡眠的温和镇静剂应用，剂量为每个普通的成年人约500–1000mg或10–20mg/kg，一般在希望促进睡眠之前15–30分钟服药。口服剂量可以配制在相应较高浓度的浓缩液中，或服用大量的胶囊剂或片剂。在所述情况下，也可以简单地将异戊酰胺加到食物或快消耗完的饮料中。患有失眠症的人可以从所述温和的镇静作用中获益。

除了应用异戊酰胺作为人用温和的抗焦虑剂或温和的镇静剂之外，异戊酰胺还可以用作为不希望其兴奋的家养动物或驯养动物，例如

但不限于，猫、狗、鸟、马、牛、水貂、家禽和鱼温和的抗焦虑剂或温和的镇静剂。在所述情况下，将异戊酰胺通过注射或其他系统途径如经皮或经粘膜给药（例如用栓剂直肠给药），或加到食物或饮料中口服。根据动物的种类和给药途径，给所述动物异戊酰胺的指示剂

量为约0.15~20 mg/kg体重, 优选约0.25~10 mg/kg体重。根据动物的种类和给药途径, 作为动物温和的镇静剂, 异戊酰胺的指示剂量为约1.25~20 mg/kg体重。

因此本发明设想了含有异戊酰胺作为有效成分的适合于口服、非经胃肠道、经皮、经鼻内、口腔含化或直肠给药的多种药用组合物。虽然在本发明范围之外, 异戊酰胺在某些药用组合物中可以以非主要的副产物形式存在, 但是权利要求所述组合物的一般情况是异戊酰胺以标准的剂量存在。这就是说, 权利要求所述组合物含有预先确定剂量的异戊酰胺, 以便能够确定需要获得所述异戊酰胺剂量水平的具体组合物的量。

下面实施例详细叙述本发明, 但不限制本发明。

实施例1: 化合物异戊酰胺和缬草三酯的体外细胞毒性比较

该试验比较了异戊酰胺和缬草三酯类化合物缬草三酯、双羟噁戊酯及螺呋醋戊酯对人和鼠各种瘤细胞系的作用。处于对数生长期的细胞用不同浓度的试验化合物处理48小时。然后通过细胞直接计数或蛋白测定法来测定细胞生长率。抑制50%细胞生长的试验化合物的有效浓度是受试化合物的EC₅₀。

异戊酰胺和缬草三酯类化合物的比较结果如表1所示。该表清楚表明, 当异戊酰胺浓度远远大于缬草三酯深度中毒浓度时, 也未显示出对细胞有任何毒性。这就清楚证明, 缬草三酯类化合物是有细胞毒的(毒性顺序: 缬草三酯>双羟噁戊酯>螺呋醋戊酯), 异戊酰胺是非-细胞毒的。

表 1

化合物	EC ₅₀ (μg/ml)							
	BCA-1	COL-2	HT-1080	LUC-1	KB	KB-V1	MEL-2	P388
缬草三酯	0.41	0.59	0.41	2.00	0.51	0.72	0.39	0.06
双羟噁戊酯	0.70	1.49	0.70	2.91	2.03	1.29	0.42	0.19
螺呋喃戊酯	1.94	2.89	2.05	4.30	2.70	2.26	0.75	0.88
异戊酰胺	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20

实施例 2：异戊酰胺对中枢神经系统（CNS）的作用

抗焦虑作用

用Vogel对比试验（Vogel Conflict Assay）测试异戊酰胺和另外 5 个化合物的抗焦虑作用。图 2 显示这些受试化合物在不同剂量下的抗焦虑指数，这些指数是用雄性大鼠在Vogel对比（抗焦虑）试验中得到的。“抗焦虑指数”的定义是：4 分钟内受试动物被击次数与对照动物被击次数之比。抗焦虑指数大于 1，表明受试化合物有抗焦虑（镇静）作用。实际上，当抗焦虑指数大于1.5时，就可看到明显的“镇静”作用。抗焦虑指数小于1.0，表明受试化合物有引起焦虑（中枢神经系统兴奋）作用。引起焦虑作用的化合物可提高受试动物的警觉性，表现为紧张、畏惧、惊跳反射增强等。

雄性Sprague - Dawley鼠（250~300 g），试前禁水 24 小时。然后让动物在实验笼内饮水 5 分钟，接着按预定剂量给药。30 分钟后，将动物放回实验笼，并让其在无任何惊动情况下饮水 1 分钟。在以后的 4 分钟内，给水管嘴以电击，并记录动物被击次数。实验动物每组 4 或 5 只。

经腹腔给大鼠注射异戊酰胺500~1000mg/kg，结果显示试验鼠被击次数比对照鼠约高出 3 倍，证明在这个剂量下该化合物有明显的抗焦虑（“镇静”）作用（图 2）。（注射治疗量的“安定”（地西洋），被击次数增加 10 倍）正丁酰胺，异戊酰胺的低级同系物（见图 1）和葡萄糖是实验对照，在相应剂量下未显示抗焦虑作用，而异戊酰胺的结构异构体正戊酰胺和异戊酰胺的高级同系物乙甲戊酰胺（见图 1）在较低剂量（分别为250和 50 mg/kg）下也表现有显著的镇静作用。这些结果清楚证明，正戊酰胺和乙甲戊酰胺比异戊酰胺有更强的催眠作用与趋势。N,N-二乙基异戊酰胺是一个较简单的

异戊酰胺 N,N-二乙基衍生物（图 1），据报道有镇静作用，事实上，在 50 mg/kg 时，对大鼠有中枢神经刺激（兴奋）作用（图 2），在 250 mg/kg 时，则使大鼠强烈抽搐（数据未在图 2 中显示）。因此，异戊酰胺是这组受试化合物中具备药理学上所期望的最佳平衡特性的温和的“镇静”（抗焦虑）药。

镇静作用

受试药物的镇静作用可以通过直接观察到的实验动物自发活动次数的减少而予以证实，例如用自由活动观察实验。在这类实验中，先给动物施药（通常为腹腔注射），等适当时间（一般 5 ~ 30 分钟）后，将动物放入一个能自由活动的笼子内，这个笼子是一个透明塑料盒，底部划有清晰可见的格子。在一既定时间（通常为 1 ~ 3 小时）内，记录实验动物跨越的格子数，并与用盐水作类似处理的对照组动物跨越的格子数比较。记录下来的每只实验动物跨越的格子数直接表明了该动物总的活动能力（自发活动性）。药物的镇静作用，可按单位时间内跨越的格子数计算结果，表示为实验动物与对照组动物自发活动性的百分比。

直接观察实验表明，观察者凭借观察到的动物总的活动情况，能够容易地鉴别与区分异戊酰胺处理的小鼠（剂量为 250 mg/kg，腹腔注射）和生理盐水对照组小鼠的活动性，甚至不需计数小鼠跨越的格子数。（十分机敏的观察者，当剂量降至 100 mg/kg，I P，也能将实验动物和对照组动物活动性区别开）。剂量更大时，如腹腔注射 500 和 1000 mg/kg，镇静作用就更明显，实验动物（雄性小鼠）呈现为进行性的深度镇静状态。腹腔注射 1000 mg/kg 时，异戊酰胺处理的动物将一动不动，皮毛柔顺而有光泽。

镇静作用也能通过电子设备所记录的药物诱发的实验动物自发活

动的减少测量出来，如图3所示。图3资料清楚表明，异戊酰胺的高级同系物乙甲戊酰胺的镇静催眠作用比异戊酰胺强约10倍。乙甲戊酰胺在腹腔注射250mg/kg时可使雄性大鼠完全进入催眠状态，而相同剂量的异戊酰胺仅使动物的活动降至相当于腹腔注射乙甲戊酰胺25mg/kg的水平。同样地，腹腔注射异戊酰胺500mg/kg所导致的活动的降低仅相当于腹腔注射乙甲戊酰胺50mg/kg的水平。因此，异戊酰胺的镇静催眠作用只有较低剂量乙甲戊酰胺的1/10（催眠作用是不希望有的），由此可看出，异戊酰胺是一种优良的温和镇静剂。

药物对中枢神经系统的镇静作用，也可通过戊巴比妥诱导的睡眠时间的延长予以证明。在这些实验中，给予实验动物催眠剂量巴比妥酸盐（一般为戊巴比妥钠，50mg/kg，腹腔注射），如同时给予一个有镇静作用的药物，其睡眠时间将比对照组（生理盐水处理的）动物长。在我们的实验中，异戊酰胺以30~500mg/kg（腹腔注射）剂量给予雄性Swiss - Webster小鼠（30~45g），30分钟后再给戊巴比妥50mg/kg（腹腔注射），这样就可检测和定量异戊酰胺的镇静作用（见图4）。如图4所示，戊巴比妥诱导的睡眠时间显著延长，因而可证明异戊酰胺当其剂量为100~500mg/kg（腹腔注射）时，对实验动物的中枢神经系统有明显镇静作用。

微弱的催眠作用和效能

通过测定足以引起实验鼠翻正反射丧失和意识、应答明显消失（睡眠诱导）的剂量（腹腔注射）的方法，比较了异戊酰胺及其前面提到的高级同系物乙甲戊酰胺的催眠作用。虽然乙甲戊酰胺在剂量为250mg/kg（腹腔注射）时对雄性大鼠已有催眠作用（诱导睡眠），但异戊酰胺即使在1000mg/kg（腹腔注射）时对雄性大鼠也无催眠作

用。只有当其剂量接近中毒水平 $2000\text{mg}/\text{kg}$ (I P) 时对雄鼠才表现出催眠作用。这就是说, 乙甲戊酰胺的催眠作用比异戊酰胺强得多, 异戊酰胺的催眠作用微弱, 只有当其剂量很大, 接近中毒水平 (即大于 $1\text{g}/\text{kg}$) 时才产生催眠作用。

没有中枢神经系统刺激作用和引发惊厥作用以及其他急性毒性

通过给啮齿动物 (雄性小鼠和大鼠) 腹腔注射适当剂量的方法, 评价 N,N-二乙基异戊酰胺 (文献记载是个镇静药) 和异戊酰胺可能有的中枢神经系统刺激作用与引发惊厥的作用。虽然以前有人说 N,N-二乙基异戊酰胺有镇静作用, 事实上在其剂量为 $250\text{mg}/\text{kg}$ (腹腔注射) 时对雄性小鼠和大鼠有强烈的中枢神经系统刺激作用和引发惊厥的作用, 而在剂量为 $500\text{mg}/\text{kg}$ (腹腔注射) 时, 则使雄性小鼠抽搐, 继之死亡。与之不同, 异戊酰胺本身在测试的 $10-4000\text{mg}/\text{kg}$ (腹腔注射) 范围内, 任何剂量对雄性小鼠都绝对没有显示出中枢神经刺激作用和引发抽搐的作用。在给予最高剂量 ($4000\text{mg}/\text{kg}$, 腹腔注射) 的异戊酰胺时, 虽然有些实验动物 (雄性小鼠) 在睡眠几天之后死亡, 但明显地是由于呼吸抑制所致。这个剂量仍低于异戊酰胺的半数致死量 (LD_{50}), 因为半数以上的实验动物睡眠几天之后仍存活了下来。异戊酰胺更大剂量的试验, 为其溶解度有限和需要注射过大的容量而未能进行。

图 /

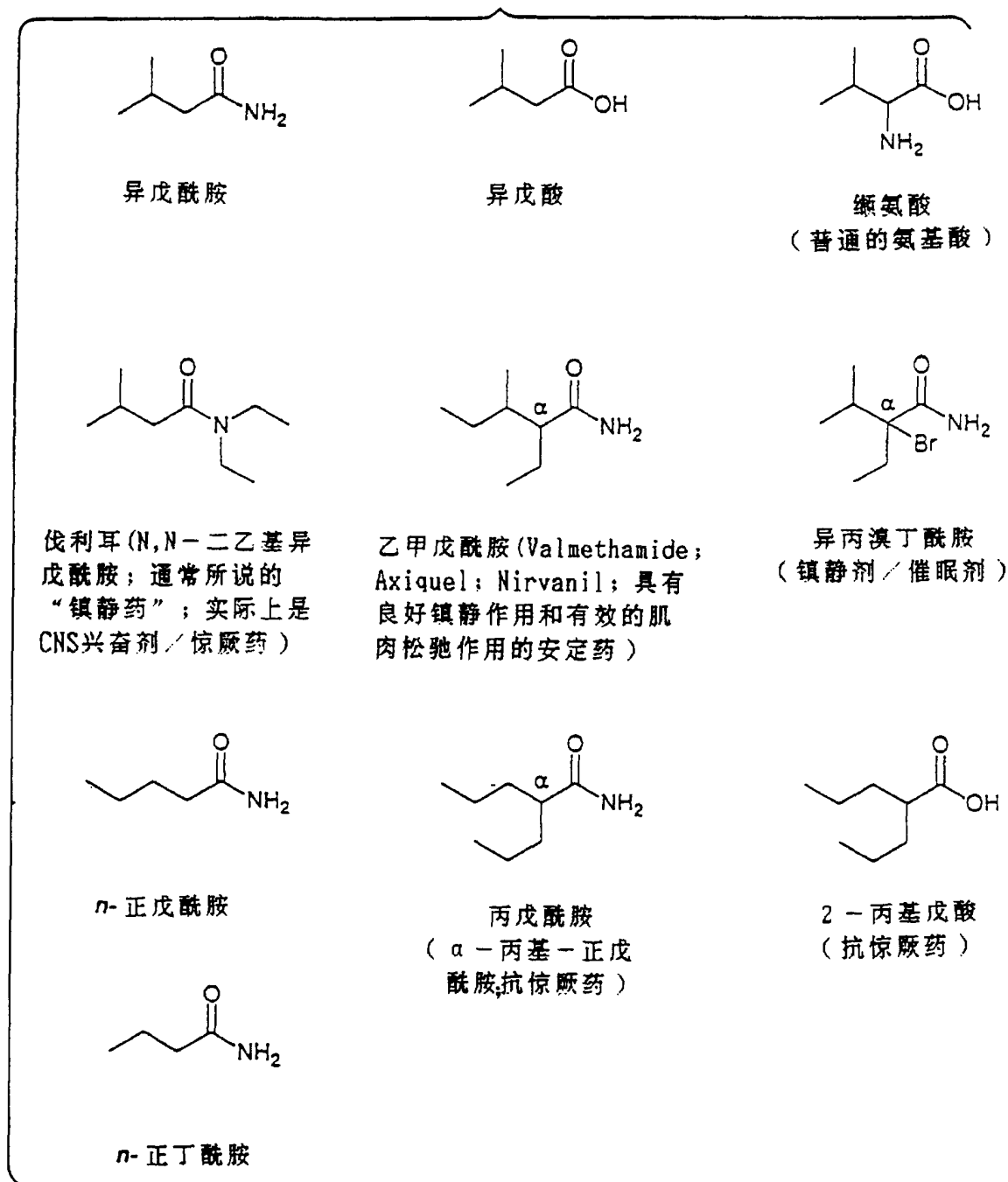


图 2

