



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 88108574.X

[51] Int.Cl⁴
A61K 31/675

[43] 公开日 1989年8月2日

[22]申请日 88.12.14
[30]优先权 87.12.14 US 132,457
88.5.2 US 188,827
[71]申请人 E.R 斯奎布父子公司
地址 美国新泽西州
[72]发明人 阿伯拉罕·苏迪洛夫斯基
佐拉·菲利普·霍罗威茨

[74]专利代理机构 中国专利代理有限公司
代理人 马崇德 王 巍

A61K 37/02
// (A61K 31/675,31:44)

说明书页数: 33 附图页数:

[54]发明名称 用血管紧张肽转化酶 (ACE) 抑制剂防治焦虑的方法。

[57]摘要

本发明提供了一种抑制焦虑发作或治疗焦虑的方法, 通过单独服用 ACE 抑制剂, 如甲硫丙脯酸, fosinopril, zofenopril 或 SQ29852; 或与钙 (离子) 通道阻滞剂, 如硫氮革酮或硝苯吡啶一起服用, 经延长周期达到治疗目的。

△
4
▽

权 利 要 求 书

1. 单独的或与钙(离子)通道阻滞剂结合的血管紧张肽转化酶抑制剂的應用, 其特征在于用来制备一种治疗焦虑的药物。

2. 单独的或与钙(离子)通道阻滞剂结合的血管紧张肽转化酶抑制剂在治疗焦虑中用作为抗焦虑剂。

3. 一种治疗焦虑的组合物, 其特征在于含有 单独的或与钙(离子)通道阻滞剂结合的血管紧张肽转化酶抑制剂。

4. 一种制备用于治疗焦虑的药物组合物的方法, 其特征在于将单独的或与钙(离子)通道阻滞剂结合的血管紧张肽转化酶抑制剂与其药学上可接受的载体混合。

5. 根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明, 其特征在于其中的血管紧张肽转化酶抑制剂为磷酸酯(或盐)取代的氨基或亚氨基酸或其盐、脯氨酸衍生物、取代的脯氨酸衍生物、羧烷基二肽衍生物、氧磷基烷氧基脯氨酸衍生物或磷酰胺化物的衍生物。

6. 根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明, 其特征在于所述血管紧张肽转化酶抑制剂为脯氨酸衍生物或取代的脯氨酸衍生物。

7. 根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明, 其特征在于所述的血管紧张肽转化酶抑制剂为 captopril、enalapril、lisinopril、zofenopril、fosinopril 或 (s)-1-[6-氨基-2-[羟基(4-苯基丁基)氧磷基]氧]-1-氧己基]-L-脯氨酸。

8. 根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明, 其特征在于所述的血管紧张肽转化酶抑制剂按每天约 0.1~500mg/1~4 次的单

次量或均分量给药，而其中的钙（离子）通道阻滞剂按每天约 1 ~ 300 mg / 1 ~ 4 次的单次量或均分量给药。

9。根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明，其特征在于血管紧张肽转化酶抑制剂与钙（离子）通道阻滞剂一起给药。

10。根据权利要求 9 的发明，其特征在于其中的钙（离子）通道阻滞剂为硫氮卓酮、4-苯基-1,4-二氢吡啶或戊脉安。

11。根据权利要求 10 的发明，其特征在于其中的 4-苯基-1,4-二氢吡啶为硝苯吡啶或硝吡乙甲酯。

12。根据权利要求 9 的发明，其特征在于血管紧张肽转化酶抑制剂与钙（离子）通道阻滞剂按药 0.1 : 1 ~ 10 : 1 的重量比使用。

13。根据权利要求 1、2、3 或 4 的发明，其特征在于焦虑与戒除药物依赖性和/或成瘾性有联系。

14。根据权利要求 13 的发明，其特征在于焦虑与尼古丁戒除、酒精戒除、安定戒除或可卡因戒除有联系。

15。根据权利要求 14 的发明，其特征在于焦虑与尼古丁戒除有联系，其中所给的血管紧张肽转化酶抑制剂为 captopril、SQ 29,852、fosinopril、zofenopril、enalapril 或 lisinopril。

16。根据权利要求 14 的发明，其特征在于焦虑与酒精戒除有联系，其中所给的血管紧张肽转化酶抑制剂为 SQ 29,852、zofenopril、enalapril 或 lisinopril。

17。根据权利要求 14 的发明，其特征在于焦虑与安定戒除有联系，其中所给的血管紧张肽转化酶抑制剂为 captopril、

SQ 29,852, fosinopril, zofenopril,
enalapril 或 lisinopril。

用血管紧张肽转化酶(ACE)抑制剂

防治焦虑的方法

本发明涉及通过单独地服用ACE抑制剂,如甲硫丙脯酸, SQ 29852、zofenopril、fosinopril或enalapril,或与钙(离子)通道阻滞剂,如硫氮革酮、硝苯吡啶或戊脉安一起服用,来预防或治疗焦虑的方法。

根据本发明,一种预防或治疗哺乳动物焦虑的方法被提供,该方法就是给哺乳动物系统地经口服或非肠道单独服用有效抗焦虑量的血管紧张肽转化酶抑制剂;或与钙(离子)通道阻滞剂结合使用。

本发明方法可用于治疗和预防包括慢性和急性焦虑病症(或焦虑性和恐慌性神经机能病)的焦虑症,它包括伴随有或不伴随有广场恐怖的恐慌病症、广场恐怖症、社交恐怖症、原始恐怖症(simple phobia)、强迫观念与行为的病症(或强迫观念与行为的神经机能病)、外伤后的紧张病症、全身化焦虑病症、非其它专一性的焦虑病症以及混合的焦虑—抑郁症。

此外,本发明的方法可用于治疗或预防与戒除药物依赖性和/或成瘾性有关的焦虑症。这样,本发明的方法可用于减少焦虑,从而便于戒除酒精依赖性,尼古丁依赖性,可卡因依赖性和苯并二氮革依赖性以及戒除其它药物依赖性。

当ACE抑制剂和钙(离子)通道阻滞剂结合使用时,所使用的ACE抑制剂与钙(离子)通道阻滞剂的重量比约为0.1:1~

10: 1, 最好约为 0.4: 1~2.5: 1。

可用于本发明的血管紧张肽转化酶 (ACE) 抑制剂包括取代的脯氨酸衍生物, 如 Ondetti 等人在美国专利 4,046,889 或 4,105,776 中发表的一些, 其中硫氮草酮即 1-[(2S)-3-巯基-2-甲基丙酰基]-L-脯氨酸最好; 羧烷基二肽衍生物, 如美国专利 4,374,829 中发表的一些, 其中最好的是 N-(1-乙氧羰基-3-苯基丙基)-L-丙氨酰-L-脯氨酸, 即 enalapril。

适用于本发明的 ACE 抑制剂的其它例子包括: 美国专利 4,452,790 中发表的一些磷酸盐 (或酯) 取代的氨基或亚氨基酸或盐, 其中最好的是 (S)-1-[6-氨基-2-[[[羟基-(4-苯基丁基)氧磷基]氧]-1-氧己基]-L-脯氨酸 (SQ 29,852); 美国专利 4,168,267 中发表的氧磷基链烷氧基脯氨酸, 其中最好的为 fosinopril; 美国专利 4,316,906 中发表的取代的脯氨酸的巯基酰基衍生物, 其中最好的为 zofenopril; 美国专利 4,337,201 中发表的一些氧磷基链烷氧取代的脯氨酸以及美国专利 4,432,971 中发表的磷酰胺化物 (phosphonamides)。

可用于本发明的 ACE 抑制剂的其它例子包括: 欧洲专利 80822 和 60668 中发表的 Beecham's BRL 36,378; CA. 102: 72588V 及 Jap. J. Pharmacol. 40: 371 (1986) 中发表的 Chugai's MC-838; 英国专利 2103614 中发表的 Ciba-Geigy's CGS 14824 (3-[[[1-乙氧羰基-3-苯基-(1S)-丙基]氨基]-2,3,

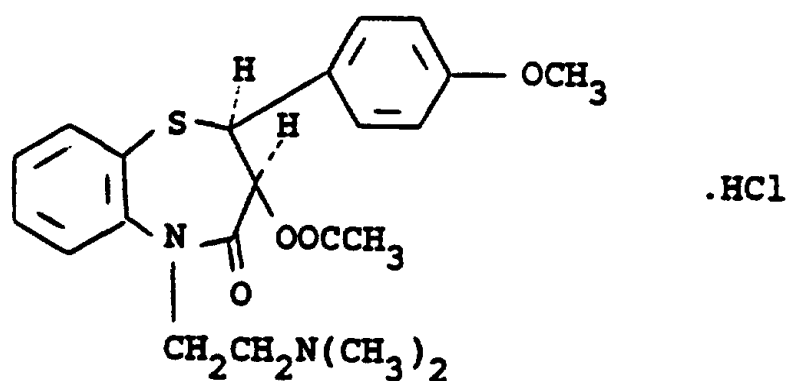
4, 5-四氢-2-氧-1-(3S)-苯并氮杂草-1-乙酸盐酸盐) 以及美国专利 4, 473, 575 中发表的 CGS 16, 617 (3(S)-[[(1S)-5-氨基-1-羧戊基] 氨基]-2, 3, 4, 5-四氢-2-氧-1H-苯并氮杂草-1-乙酸); Eur. Therap. Res. 39: 671(1986) 及 40: 543(1986) 上发表的 cetapril(alacepril, Dainippon); 欧洲专利 79-022 中发表的和 Curr. Ther. Res. 40: 74(1986) 上发表的 ramipril(Hoechst); Arzneimittelforschung 35: 1254(1985) 上发表的 Ru 44570(Hoechst); J. Cardiovasc. Pharmacol. 9: 39(1987) 上发表的 cilazapril(Hoffman - La Roche); FEBS Lett. 165: 201(1984) 上发表的 R. 31-2201 (Hoffman - La Roche); Curr. Therap. Res. 37: 342(1985) 和欧洲专利申请 12-401 中发表的 lisinopril (Merck); 美国专利 4, 385, 051 中发表的 indalapril (delapril); Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 10: 131(1983) 上发表的 rentiapril(fentiapril, Santen); J. Cardiovasc. Pharmacol. 5: 643, 655(1983) 上发表的 indolapril(Schering); Acta. Pharmacol. Toxicol. 59(Supp. 5): 173(1986) 上发表的 Spirapril(Schering); Eur. J. Clin. Pharmacol. 31: 519(1987) 上发表的 perindopril (Servier); 美国专利 4, 344, 949 中发表的 quinapril (Warner - Lambert) 和 Pharmacologist 26: 243, 266

(1984) 上发表的 CI 925 (Warner — Lambert)
 ([3S-[2[R(*)R(*)]]3R(*)]-2-[2-
 [[1-(乙氧羰基)-3-苯基丙基]氨基[—1-氧代丙基]
 —1,2,3,4-四氢-6,7-二甲氧基-3-异喹啉羧酸盐
 盐); J. Med. Chem. 26:394(1983) 上发表的 WY-
 44221 (Wyeth)。

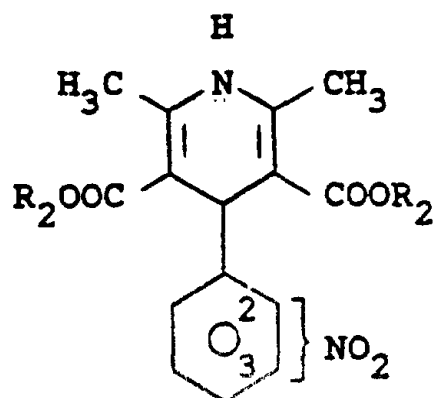
较好的 ACE 抑制剂为脯氨酸或取代的脯氨酸衍生物。

上述收编的专利和文献出处作为本发明的参考文献。

用于本发明的钙拮抗剂可以是美国专利 3,562,257 中公开的
 硫氮卓酮, 其化学名称为 3(乙酰氧基)-5-[2-(二甲基胺
 基)乙基-2,3-二氢-2-(4-甲氧苯基)-1,5-苯并硫
 氮杂草-4(5H)-酮], 其结构为



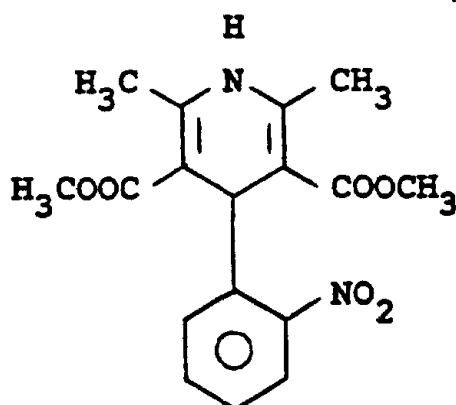
具有下式结构的 4-苯基-1,4-二氢吡啶类钙拮抗剂可以使
 用:



其中 R_1 和 R_2 可为相同或不同的，它们为低级烷基或低级烷氧基（低级烷基），所述低级烷基和低级烷氧基含有 1~4 个碳原子。

美国专利 3,644,627; 3,485,847; 3,488,359; 3,574,843; 3,799,934; 3,932,645 及 4,154,839 中公开了上述化合物及其制备方法，这些专利作为参考文献引入本发明。

本发明的复方中的二氢吡啶类钙拮抗剂最好为硝苯吡啶，即 R_1 为 CH_3 、 R_2 为 CH_3 和硝基在 2 位的式 (C) 化合物，也就是：



美国专利 3,644,627 和 3,485,847 中公开了该化合物。

适用于本发明的其它较好的 4-苯基-1,4-二氢吡啶类钙拮抗剂包括：硝基吡双酯，即 R_1 为 $-(CH_2)_2OC_3H_7$ 、 R_2 为 $-(CH_2)_2OC_3H_7$ 和硝基在 3 位的式 (C) 化合物（公开在美国专利 3,488,359 和 3,574,843 中）；硝基吡酯，即 R_1 为 $-(CH_2)_2OCH_3$ 、 R_2 为 $-CH(CH_3)_2$ 和硝基在 3 位的式 (C) 化合物（公开在美国专利 3,799,934 和 3,932,645 中）；硝吡乙甲酯，即 R_1 为 $-CH_2CH_3$ 、 R_2 为 $-CH_3$ 和硝基在 3 位的式 (C) 化合物（公开在美国专利 3,799,934 和

3,932,645 中)；以及硝基丁甲酯，即 R_1 为 $-CH_3$ 、 R_2 为 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 和硝基在 2 位的式 (C) 化合物 (公开在美国专利 3,799,934, 3,932,645 和 4,154,839 中)。

此外，也可以使用戊脉安。

已公开的上述收编的专利和文献出处作为本发明的参考文献。

在进行本发明的方法时，对于各种哺乳动物如猴子、狗、猫、大鼠和人，可将 ACE 抑制剂单独给药，也可将其与钙 (离子) 通道阻滞剂结合起来给药，这样，可以把它们掺入常规系统的剂型中，例如片剂、胶囊、酏剂或可注射剂型。上述剂型中也可以包括必要的载体物质、赋形剂、润滑剂、缓冲剂、抗菌剂、膨胀剂 (如甘露醇)、抗氧剂 (重亚硫酸钠的抗坏血酸) 等。最好使用口服给药剂型，虽然非肠道给药剂型，如肌内的、腹膜内的或静脉给药剂型也是十分满意的。

给药剂量必须根据病人的年龄、体重和状况，以及给药途径、剂型和治疗方案和所期望的结果进行仔细调整。

这样，对于口服给药，为了获得满意结果，可以单独地使用 ACE 抑制剂，其用量约为 $0.01 - 100 \text{ mg/Kg}$ ，最好约为 $0.1 \sim 25 \text{ mg/Kg}$ ，或与钙 (离子) 通道阻滞剂结合起来用，其用量约为 $0.01 \sim 100 \text{ mg/Kg}$ ，最好约为 $0.1 \sim 25 \text{ mg/Kg}$ ，ACE 抑制剂和钙 (离子) 通道阻滞剂可以在同一口服剂型中一起使用，也可以做成分开的口服剂型同时服用。

较好的口服剂型如片剂或胶囊，可以只含有 ACE 抑制剂，其含量约为 $0.1 \sim 500 \text{ mg}$ ，最好约为 $5 \sim 200 \text{ mg}$ ，约 $25 \sim 150 \text{ mg}$ 则更好；或者兼含钙 (离子) 通道阻滞剂，其含量约为

1~350mg，最好约为2~200mg，约为30~150mg则更好。

对于非肠道给药，可以单独地使用ACE抑制剂，其用量约为0.005~10mg/kg，最好约为0.01~1mg/kg；或者与钙（离子）通道阻滞剂一起，用其量约为0.005~20mg/kg，最好约为0.01~2mg/kg。

可将上述复方，以上述剂型，按每日1~4次的单次量或均分量给药。可取的办法是在开始时让病人服用低剂量复方，然后逐渐地达到高剂量复方。

可将药物做成各种大小，如总重量约为50—700mg的片剂，根据药理学上的惯例，这些片剂可以含有一种或两种上述范围内的活性物质，剩余成分为生理学上可接受的其它载体物质。当然，可以将这些片剂划痕，以分成几份剂量。明胶胶囊可以按相似方法配制。

也可以将一种活性物质或多种活性物质通过溶解或悬浮于常规的，服药时可接受的液体赋形剂制成液体配方，以提供1~4茶匙的所需剂量。

这些剂型可按每日1~4次量的方案使病人服用。

按其他改良方法，为了更好地调整剂量表，可以将活性物质以个别的剂量单位在相同时间或仔细协调过的时间内单独给药。因为用调整过的给药方案可以建立并维持血药浓度，所以两种物质同时存在可达到同样的结果。按照与上述相似的方式，可以将各个物质分别配制成独立的单位剂型。

ACE抑制剂和钙（离子）通道阻滞剂的固定复方是更方便和优先的，特别是做成供口服用的片剂或胶囊形式。

配制复方时，可将上述用量范围内的活性物质，按照药理学上的

可接受的惯例与生理学上可接受的赋形剂，载体，粘合剂、防腐剂、稳定剂、调味香料等组合，制成特殊类型的单位剂型。

可以组合到片剂中的辅药的例子有：粘合剂如西黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂如磷酸二钙或纤维素；崩解剂如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等；润滑剂如硬脂酸或硬脂酸镁；甜味剂如蔗糖、乳糖或糖精；调味剂如橙、欧薄荷、冬青油或樱桃。当剂型单位为胶囊时，除了上述类型物质外，它可以含有液体载体如脂肪油。各种其它物质可以作为包衣而存在，要不然就是用于修饰剂型单位的物理形态。例如，可以用虫胶、糖或两者一起对片剂或胶囊包衣。酞剂糖浆可以含有活性化合物，水、醇等作为载体，甘油作为增溶剂，蔗糖作为甜味剂，对羟苯甲酸甲酯和丙酯作为防腐剂，染料以及调味剂如樱桃或橙。

上述许多活性物质通常形成已知的药学上可接受的盐如碱金属盐和其它普通的碱性盐类或酸加成盐等。对碱性物质的参考材料打算包括那些已知与母体化合物实际上相当的普通盐类。

上述各种制剂应长期服用，也就是说，只要焦虑发作的可能性存在或焦虑症状继续存在，就应服用。可以使用这些配方的缓释剂型，可以提供这样的量，即每两周一次、每周一次，每月一次等。为了获得最低限度的益处，需要有至少1—2周的剂量周期。

所有附图都是从下述实施例中获得的实验数据标绘图。

图1表示在黑白试验箱中，安定对小鼠行为的作用。 $n = 5$ 。
 $S.E.M. s < 12.1\%$ 。* $p < 0.001$ 。0 = 镇静；

图2表示在黑白试验箱中，captopril对小鼠行为的作用。
 $n = 5$ 。 $S.E.M. s < 12.6\%$ 。* $p < 0.001$ ；

图 3 表示在黑白试验箱中, SQ 29,852 对小鼠行为的作用。
 $n=5$ 。S. E. M. $s < 12.5$ 。* $p < 0.001$;

图 4 表示在黑白试验箱中, fosinopril 对小鼠行为的作用。
 $n=5$ 。S. E. M. $s < 12.9\%$ 。[*] $p < 0.05$; * $p < 0.01 - p < 0.001$;

图 5 表示在黑白试验箱中, zofenopril 对小鼠行为的作用。
 $n=5$ 。S. E. M. $s < 13.1\%$ 。[*] $p < 0.05$, * $p < 0.01 - p < 0.001$;

图 6 和图 7 表示口服给药后 captopril, zofenopril, SQ 29,852 和 fosinopril 对小鼠的抗焦虑强度。图 6 中 S. E. M. $s < 11.3\%$, 而图 7 中 S. E. M. $s < 12.2\%$ 。在图 6 和 7 中, $n=5$ 。* $p < 0.01 - p < 0.001$;

图 8 表示在黑白试验箱中, epicaptopril 对小鼠行为的作用。 $n=5$ 。S. E. M. $s < 12.2\%$;

图 9 和图 10 表示在黑白试验箱中 enalapril 对小鼠行为的作用。 $n=5$ 。对于图 9, S. E. M. $s < 11.6\%$ 。* $p < 0.001$ 对于图 10, S. E. M. $s < 10.3\%$ 。* $p < 0.001$;

图 11 和 12 表示在黑白试验箱中, lisinopril 对小鼠行为的作用。 $n=5$ 。对于图 11, S. E. M. $s < 10.9\%$ 。* $p < 0.001$ 。对于图 12, S. E. M. $s < 11.2\%$ 。* $p < 0.001$;

图 13 和 14 表示在小鼠黑白试验箱中, 评价 ACE 抑制剂在亚慢性治疗时的抗焦虑强度。 $n=5$ 。[*] $p < 0.05$ 。* $p < 0.01 - p < 0.001$ 。图 13 中 S. E. M. $s < 12.0\%$ 而在图

14中 S. E. M. $s < 11.6\%$ 。0 = 镇静;

图15和16表示在小鼠黑白试验箱中, 评价ACE抑制剂在亚慢性治疗时的抗焦虑强度和突然停药时的影响, 经过每天两次共6天处理后停药24小时。在图15中 S. E. M. $s < 12.0\%$ 而在图

16中 S. E. M. $s < 12.7\%$ 。在图15和16中, $n = 5$ 。

* $p < 0.05$ - $p < 0.001$ (抗焦虑) • + $p < 0.05$ - $p < 0.001$ (焦虑产生);

图17、18、19、20和21表示摄入尼古丁期间的抗焦虑作用, 停药后的焦虑产生以及安定对停药后焦虑产生的对抗作用。

$n = 5$ 。S. E. M. $s < 12.9\%$ 。[*] $p < 0.05$, * $p < 0.01$ - $p < 0.001$ (与C相比) + $p < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生); 图17、18、19、20和21分别对应安定、

Captopril, SQ 29,852, fosinopril 和 zofenopril。

图22和23表示摄入乙醇期间的抗焦虑作用、停药后的焦虑产生以及SQ 29,852, zofenopril 和安定对停止摄入乙醇后焦虑产生的对抗作用。

图24和25表示亚慢性情况下给安定时的抗焦虑作用, 停止给药后的焦虑产生以及ACE抑制剂对焦虑产生的对抗作用。

图26、27和28表示在小鼠黑白试验箱中, ACE抑制剂对抗由FG 7142引起的焦虑产生的能力。

图29表示进行大鼠群居相互作用试验观察到的, ACE抑制剂的抗焦虑作用; 以及

图30、31和32表示在人对绒猴的恐吓试验 (marmoset human threat test) 中检测到的抗焦虑强度。

下述实施例代表本发明较好的实施方案。

实施例 1

下面给出了适用于口服给药来抑制焦虑发作或治疗焦虑的 captopril 制剂。

从下述成分生产出 1000 片药物，每片含有 100mg 1—
【(2S)—3—巯基—2—甲基丙酰基】—L—脯氨酸。

1—【(2S)—3—巯基—2—甲基丙酰基】—

L—脯氨酸 (captopril) 100 g

玉米淀粉 50 g

明胶 7.5 g

微晶纤维素 (Avicel) 25 g

硬脂酸镁 2.5 g

将 captopril 和玉米淀粉与明胶水溶液混合。混合物经干燥并研磨后得到细粉。将其先后与微晶纤维素和硬脂酸镁混合成粒。然后压片，得到 1000 片药片，每片含有 100mg 活性成分，该药片用来抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 2

用 100 g 1—(3—巯基—2—D—甲基丙酰氧基)—L—脯氨酸代替实施例 1 中 captopril 生产 1000 片药片，每片含有 100 mg 1—(3—巯基—2—D—甲基丙酰氧基)—L—脯氨酸，将其用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 3

用下列成分生产 1000 片药片，每片含有 200mg captopril。

captopril	0 0 g
乳糖	0 0 g
微晶纤维素	1 5 0 g
玉米淀粉	5 0 g
硬脂酸镁	5 g

将captopril、乳糖和微晶纤维素混合，再与玉米淀粉混和。加入硬脂酸镁。将干燥混合物压片后，得到1000片药片，每片505mg，内含200mg活性成分。将药片用含有作为色料主，含黄色#6的色淀的Methocel E 15（甲基纤维素）溶液进行包衣。所得药片使用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 4

用下述成分填充双套管#1明胶胶囊，每个胶囊含250mg

captopril:

captopril	2 5 0 m g
硬脂酸镁	7 m g
U S P 乳糖	1 9 3 m g

所得胶囊使用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 5

如下制备用来抑制焦虑发作或治疗焦虑用的注射液:

captopril	5 0 0 m g
对羟苯甲酸甲酯	5 m g
对羟苯甲酸丙酯	1 m g
氯化钠	2 5 g
适量注射用水	5 l .

将captopril、防腐剂和氯化钠溶解于3升注射用水中，然后稀释至5升。用无菌滤器过滤溶液，再在无菌条件下装入预先灭菌过的药瓶中，用预先灭菌过的橡皮塞密封。每个药瓶装有5ml溶液，其浓度为每ml注射液含100mg活性成分。

实施例 6

用N—(1—乙氧基羰基—3—苯基丙基)—L—丙氨酰—L—脯氨酸(enalapril)代替captopril、按实施例1的方法制备供抑制焦虑发作或治疗焦虑用的药片。

实施例 7

用N—(1—乙氧基羰基—3—苯基丙基)—L—丙氨酰—L—脯氨酸(enalapril)代替captopril、按实施例5的方法制备供抑制焦虑发作或治疗焦虑用的注射液。

实施例 8

适于口服的，供抑制焦虑发作或治疗焦虑使用的zofenopril制剂处方列出于下。

用下列成分生产1000片药片，每片含100mg zofenopril。

[1(s), 4(s)]—1—[3—(苯甲酰硫基)—2—

甲基—1—氧丙基—4—(苯硫基)—L—

脯氨酸(zofenopril)

100g

玉米淀粉

50g

明胶

7.5g

微晶纤维素

25g

硬脂酸镁

2.5g

将zofenopril和玉米淀粉与明胶水溶液混合，混合物经干燥

和研磨后得到细粉。将细粉先后与微晶纤维素和硬脂酸镁混合后进行粒化。然后压片，得到1000片药片，每片含100mg活性成分，这种药物使用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 9

用100g fosinopril 代替实施例 8 中的zofenopril，制备1000片药片，每片含100mg fosinopril，这些药物使用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 10

用下列成分生产1000片药片，每片含200mg fosinopril:

Fosinopril	200g
乳 糖	100g
微晶纤维素	150g
玉米淀粉	50g
硬脂酸镁	5g

将fosinopril、乳糖和微晶纤维素混合，再与玉米淀粉混和。加入硬脂酸镁。将干燥混合物压片，得到1000片药片，每片重505mg，内含200mg活性成分。将这些药片用含有作为色料的含黄色#6的色淀的Methocel E 15（甲基纤维素）溶液进行包衣。所得药片使用于抑制焦虑发作或治疗焦虑。

实施例 11

用1-【N-【羟基（4-苯基丁基）氧磷基】-L-丙氨酰】-L-脯氨酸的二钠盐（按美国专利4,432,971中所述方法制备）代替captopril，按实施例1制备用于抑制焦虑发作或治疗焦虑的片剂。

实施例 1 2

用 1—【N—【羟基(4—苯基丁基)氧磷基】—L—丙氨酰】—L—脯氨酸的二钠盐(按美国专利 4,432,971 中所述方法制备)代替 captopril, 按实施例 5 的方法制备用于抑制焦虑发作或治疗焦虑的注射液。

实施例 1 3

适于口服的、供治疗焦虑使用的 captopril—硫氮草酮制剂处方列出于下。

用下列成分生产 1000 片药片, 每片含 100mg 1—【(2S)—3—巯基—2—甲基丙酰基】—L—脯氨酸和 100mg 硫氮草酮:
1—(2S)—3—巯基—2—甲基丙酰基】—

L—脯氨酸 (captopril)	100g
硫氮草酮	100g
玉米淀粉	50g
明胶	7.5g
微晶纤维素	25g
硬脂酸镁	2.5g

将 captopril、硫氮草酮和玉米淀粉与明胶水溶液混合。混合物经干燥和研磨后得到细粉。将其先后与微晶纤维素和硬脂酸镁混合后进行粒化。再经压片, 得到 1000 片药片, 每片含 200mg 活性成分, 这些药片使用于预防或治疗焦虑。

实施例 1 4

用 100g 1—(3—巯基—2—D—甲基丙氧基)—L—脯氨酸代替实施例 1 3 中的 captopril, 生产 1000 片药片, 使每

片中含有 100mg 1—(3—巯基—2—D—甲基丙氧基)—L—脯氨酸。这些药物使用于预防或治疗焦虑。

实施例 15

用下列成分生产 1000 片药片，使每片含有 200mg captopril 和 200mg 硝苯吡啶：

captopril	2 0 0 g
硝苯吡啶	2 0 0 g
乳 糖	1 0 0 g
微晶纤维素	1 5 0 g
玉米淀粉	5 0 g
硬脂酸镁	5 g

将 captopril、硝苯吡啶、乳糖和微晶纤维素混合后，再与玉米淀粉混和。加入硬脂酸镁。将干燥的混合物压成片，得到 1000 片药片，每片 505mg，含有每种活性成分各 200mg。将药片用含有作为色料的，含黄色 # 6 的色淀的 Methocel E 15 (甲基纤维素) 溶液进行包衣。所得片剂使用于预防或治疗焦虑。

实施例 16

用下述各成分的混合物填充双套管 # 1 胶囊，使每个胶囊含有 250mg enalapril 和 150mg 硝吡乙甲酯：

Enalapril	2 5 0 m g
硝吡乙甲酯	1 5 0 m g
硬脂酸镁	7 m g
U S P 乳糖	1 9 3 m g

将得到的胶囊用于预防或治疗焦虑。

实施例 17

制备用于治疗或预防焦虑的注射液如下：

captopril	5 0 0 m g
硫氮草酮	3 0 0 m g
对羟苯甲酸甲酯	5 g
对羟苯甲酸丙酯	1 g
氯化钠	2 5 g
适量注射用水	5 l .

将captopril、硫氮草酮、防腐剂和氯化钠溶解于3 l。注射用水中，然后稀释至5 l。将溶液用无菌滤器过滤后，在无菌条件下装入预先灭菌过的药瓶中，再用预先灭菌过的橡皮塞密封。每个药瓶装5 m l溶液，其浓度为每m l注射液含1 0 0 m g活性成分。

实施例 18

用N—(1—乙氧羰基—3—苯基丙基)—L—丙氨酰基—L—脯氨酸(enalapril)代替captopril、用硝苯吡啶代替硫氮草酮，按实施例13所述方法制备供预防治疗焦虑用的药片。

实施例 19

用zofenopril代替captopril、用硝吡丁甲酯代替硫氮草酮，按实施例13的方法制备供治疗或预防焦虑用的药片。

实施例 20

用fosinopril代替captopril，按实施例13的方法制备供治疗或预防焦虑用的药片。

实施例 21

用 alacepril 代替 captopril，按实施例 13 的方法，制备供治疗或预防焦虑用的药片。

实施例 22

用 (S)-1-[[6-氨基-2-[[[羧基-(4-苯基丁基)氧磷基]氧]-1-氧己基]-L-脯氨酸或 lisinopril 代替 captopril，按实施例 13 的方法制备供治疗或预防焦虑用的药片。

实施例 23

按下述试验步骤，在小鼠黑白试验箱中对 captopril，SQ 29,852，fosinopril 及 zofenopril、和安定（作为阳性对照）进行抗焦虑效果试验。

小鼠黑白试验箱（用小鼠对光亮、白色环境的厌恶，进行的抗焦虑能力试验）

用首次用来试验的 B K W 小白鼠作为研究对象，小白鼠重量为 25—30g。通常，将 10 只小鼠装在每一个能够随意地得到食物和水的笼子中。使小鼠保持在 12 小时的明暗循环中，在 10:00 点时停止光照。

为了评价焦虑反应，将动物置于黑暗的容器中，从暗室转移到光线暗淡的试验室中，在 13:00—18:00 点之间进行试验。用于检测焦虑变化的设备包括顶部开口的箱子（45×27×27cm 高），它的一小部分被涂成黑色（占 40% 区域）并用暗红色灯（1×60W）照射，与箱子的剩余部分分隔，剩余部分涂成白色，并用位于箱子上方 17cm 处的 60W 白色光源照射。将箱底部划分成 9cm² 的方块。通过位于底平面的在分隔中心的 7.5×7.5cm

的开口，可以实现在这些区域之间进出。将已经接受药物或赋形剂注射的动物，分别置于白色区域的中心，并通过遥控录象，记录观察其行为5分钟。当黑暗环境可同时利用时，用在光照环境中动物探测性活动的增加（用后脚站起（rearing），越线活动（line crossing））作为抗焦虑作用的指数。抗焦虑活性也与从白色到黑色环境的延迟潜伏状态，在黑色环境中耗费的时间的减少百分率有关。因此，每分钟得记录四个行为参数：在白色和黑色区域中探测性后脚站起次数、在白色和黑色区域中越线次数、从白色移动到黑色区域的潜伏状态，以及在黑色区域耗费的时间百分数。试验者对药物治疗自始至终不知道，当分析完成后才公开代码。

在5个试验组（ $n=5$ ）中，动物仅使用一次。每天试验中都进行赋形剂治疗对照。试验是在腹膜内（i.p.）和口服（p.o.）给药后进行的。估计药物作用的时间进程时，每次试验都使用新的动物组。为了测定在亚慢性治疗时药物作用是否保持，将小鼠按每日二次，给药6天，并在最后一次给药后45或60分钟时进行试验（见下）。为了测定亚慢性治疗停药后是否出现焦虑或产生其它有害影响，可用药物按一日两次治疗6天，然后在停药后24小时，在黑色箱中进行评价（戒除效应是否存在通过在停药后48小时和96小时，试验其它各组小鼠来确证）。

整个研究都是以安定（Roche）作为阳性对照。制备方法是溶于最少量聚乙二醇（PEG）中，再用蒸馏水稀释到一定体积（i.p.途径，预先给药60分钟）。captopril（i.p.途径，预先给药45分钟）、fosinopril（i.p.途径，预先给药60分钟），SQ 29,852（i.p.途径，预先给药60分

钟)、enalapril (p. o. 途径, 预先给药 2 小时)、
lisinopril (p. o. 途径, 预先给药 2 小时) 及
epicaptopril (p. o. 途径, 预先给药 2 小时) 是用蒸馏水
制备的, zofenopril (i. p. 途径, 预先给药 60 分钟) 是
用磷酸盐缓冲液 (pH 6.0) 制备的。氢化麦角碱 (商业制剂,
p. o. 途径, 预先给药 60 分钟) 被制成 0.1% 羧甲基纤维素
悬浮液。

结果:

安定在小鼠反应方面引起的变化与按 0.125—1 mg 剂量 i. p. 给药时的抗焦虑强度一致。在 10 mg/Kg 时出现镇静作用。抗焦虑作用的特征是: 在试验箱白色区域内探测性后脚站起次数增加和越线次数增加 (与在白色区域中的减少相当); 耗费在黑色区域内的时间减少的百分率以及从白色区域移动到黑色区域时的迟延潜伏状态 (图 1)。

Captopril 引起与安定相似的行为改变, 但或多或少需要较大一些剂量 (1—50 mg/Kg i. p.), 并且在最大剂量时没有镇静作用 (图 2)。相似地, 用 SQ 29,852 治疗后, 导致在白色的通常不愉快的环境中后脚站起次数和越线次数的增加 (与在黑色环境中的减少相当); 耗费在黑色环境中的时间减少的百分率以及移动到黑色环境中的迟延潜伏状态。后一个参数在 1 和 10 mg/Kg 剂量时变化很大, 而其它参数在 0.01—10 mg/Kg 剂量范围时变化很大 (图 3)。当 fosinopril 以 0.01—1 mg/Kg 剂量给药时, 可以得到探测性的后脚站起和越线活动的特征化的重新分布。这些抗焦虑强度的特征也反应在耗费在黑色环境中的时间减少百

分率上，尽管惊奇地发现，用 fosi nopr il 治疗时从黑色环境移动到白色环境时的潜伏状态从来不发生变化（图 4）。并且，当增加 fosi nopr il 剂量时，抗焦虑强度降低（图 4）。

Zofenopr il 在 0.1—1.0 m g / K g 剂量范围以抗焦虑剂特有的方式，改变探测性的后脚站起和越线活动的次数（因药物制剂问题，限制使用较大剂量），但是不能改变在黑色区域内的耗费时间减少的百分率，并且只有在最高剂量 1 m g / K g（i. p. 给药）时才迟延从白色区域移动到黑色区域时的潜伏状态（图 5）。

口服处理时，可以保持 captopr il、zofenopr il、SQ 29,852 和 fosi nopr il 的抑焦虑作用。这样，通过将 captopr il（1—100 m g / K g）、zofenopr il（0.01—1 m g / K g）、SQ 29,852（0.1—10 m g / K g）和 fosi nopr il（0.1—10 m g / K g）口服给药，能够降低动物对白色光照环境的厌恶情绪（图 6 和 7）。当口服给药时，又一次看到 zofenopr il 不能影响在系统注射时所见到的，从白色区域向黑色区域移动时的潜伏状态（图 7）。

与 captopr il、SQ 29,852、zofenopr il 及 fosi nopr il 相比，epicaptopr il 在黑白试验箱中不能改变小鼠行为。因此，在这种试验中对于这种动物，epicaptopr il 可以认为没有抗焦虑能力（图 8）。

将 enalapril 口服给药并在治疗后 1 小时和 2 小时对不同组小鼠进行评价。最大抗焦虑强度在两个时间里都是明显的（图 9），因此 enalapril 在 1 小时之内就起作用了，并且在 2 小时时维持有最大活性，所以 enalapril 的剂量—反应曲线在 2 小时时完全实

现。enalapril 的剂量—反应曲线是陡斜的，enalapril 在 $0.01-1\text{ mg/Kg}$ p.o. 剂量范围内具有最大抗焦虑作用（从在白色区域内后脚站起次数的增加以及越线活动次数的增加；在黑色区域内耗费的时间的减少百分率及从白色区域移出时的潜伏状态的显著迟延看出）（图 10）。enalapril 阈量约为 0.005 mg/Kg ，在成瘾试验中将这一剂量按每日二次给药（见后）。用这种治疗方案经过 7 天后，只在 1—2 只动物中发现有抗焦虑能力。

与 enalapril 相比，lisinopril 开始作用时间晚 2 小时：此时抗焦虑作用达到最大。预先给药 2 小时后进行的剂量—反应分析表明，lisinopril 与 enalapril 几乎是等效的。在随后的成瘾试验中发现其阈量也为 0.005 mg/Kg ，而且按 0.005 mg/Kg （口服每日二次）治疗 5—7 天后，在 1—2 只动物中出现了一些蓄积效应，表现出抗焦虑能力。

在随后的研究中，将 captopril、SQ 29,852、fosinopril 和 zofenopril 按每日二次给药，共治疗 6 天，并且用安定进行抗焦虑强度对照。captopril 和 SQ 29,852 在亚慢性治疗时保持了抗焦虑作用，而 fosinopril 和 zofenopril 的作用变弱了（图 13 和 14）。试验是在给完最后一次剂量后 45 分钟（captopril）或 60 分钟（其它 ACE 抑制剂及安定）进行的。当用安定进行的亚慢性治疗（ 10 mg/Kg 腹腔注射，每日二次，共 6 天）停止后，出现有焦虑（特征表现为在黑色区域内的探测性的后脚站起次数增加；在黑色区域内的越线活动次数增加；在黑色区域内停留时间的增加百分率以及从白色区域到黑色区域移动的潜伏状态缩短，图 15 和 16）。相反，captopril 停药后的小鼠恢

复了正常的对照反应（难以与赋形剂对照组动物的反应区别开来），并且在 24 小时时，SQ 29,852 仍有抗焦虑活性。SQ 29,852 的这种活性在 48 小时时，与正常对照值相比变得低了，随后的测定没有表示出有反跳焦虑产生。对于长期治疗，fosinopril 失去其抗焦虑活性，动物行为保持在对照水平，甚至停药时的水平。相反，在亚慢性治疗时，消失了的 zofenopril 抗焦虑活性在停药后可重新获得。这种抗焦虑活性在停药 96 小时之后减弱，并且不再能观察到焦虑产生（停药 10 天以后，对动物行为的观察）（图 15 和 16）。

上述试验结果清楚地表明 ACE 抑制剂具有抗焦虑活性，它们可用于减少焦虑。

实施例 2.4

对用尼古丁进行亚慢性治疗停药后引起的焦虑的拮抗作用。

将实施例 2.3 中所述同样的试验方法，应用于依赖性研究，其中给试验动物服从 ACE 抑制剂以减少焦虑，并由此促进戒除对尼古丁的依赖性。

方法：

以小鼠为研究对象，通过实施例 2.3 所述的黑白试验箱系统进行。把抗焦虑作为对白色光照区域的厌恶减少来测定（在白色区域后脚站起次数和越线活动次数增加（与在黑色区域内的减少相当）；从白色区域移出时的迟延潜伏状态以及在黑色区域耗费时间的减少百分率）；而焦虑产生是作为对白色光照区域的厌恶增加来测定的（在白色区域内后脚站起和越线活动次数减少，而在黑色区域内显著增加。从白色环境中快速移出，以及在黑色环境中停留时间增加）。

将尼古丁按 0.1 mg/Kg 腹腔注射，每日二次 (i. p. b. d.) 方案给药 7 天 (从广泛的初步研究中仔细挑选的一个剂量) (治疗 5 天时进行试验)，停药 24 小时 (最大焦虑产生的时间，重新从广泛的初步研究中建立)。在图 17 中将安定按 1.0 mg/Kg i. p. b. d. 给药 (3 个剂量) 后作为阳性对照。在图 18 中，将 captopril 按 10 mg/Kg i. p. b. d. 给药 (3 个剂量) 后作为阳性对照。在图 19 中，将 SQ 29,852 按 1 mg/Kg i. p. b. d. 给药 (3 个剂量) 后作为阳性对照。在图 20 中，将 fosinopril 按 0.5 mg/Kg i. p. b. d. 给药 (3 个剂量) 后作为阳性对照。在图 21 中，将 zofenopril 按 1.0 mg/Kg i. p. b. d. 给药 (3 个剂量) 后作为阳性对照。

结果:

小鼠在用尼古丁治疗期间表现出抗焦虑，而当尼古丁戒除后则出现焦虑。将安定按 1.0 mg/Kg i. p. 在尼古丁戒除时给药，然后再按 b. d. 给药，可以拮抗戒除尼古丁后引起的焦虑 (3 个剂量，最后一个剂量是在试验前 45 分钟时给的) (图 17)。同样的行为改变图可从使用下述药物的试验中得到: captopril (先按 10 mg/Kg 量在尼古丁戒除时给药，然后按 b. d. 给药 (共 3 个剂量，最后一剂量是在试验前 60 分钟时给的))、SQ 29,852 (先按 1 mg/Kg 量在尼古丁戒除时给药，然后按 b. d. 给药 (3 个剂量，最后一剂是在试验前 60 分钟给的))、fosinopril (先按 0.5 mg/Kg 在尼古丁戒除时给药，然后再按 b. d. 给药 (3 个剂量，最后一次在试验前 60 分钟时给))

以及zofenopril (先按 1 mg/Kg 量在尼古丁戒除时给药, 然后按b. d. 给药(3个剂量, 最后一剂在试验前60分钟时给))。这样, 在每个试验中, 用尼古丁治疗期间出现有抗焦虑作用, 用尼古丁进行亚慢性治疗被停止后出现焦虑, 而停止尼古丁治疗后产生的焦虑被下述药物拮抗: captopril (10 mg/Kg b. d.), SQ 29,852 (1.0 mg/Kg b. d.) fosiopril (0.5 mg/Kg b. d.) 以及zofenopril (1.0 mg/Kg b. d.)。在每一种情况下, 都把焦虑产生转化成了抗焦虑。这种在反应方面的显著变化(从焦虑产生到抗焦虑)对安定也可以看出(参见图17、18、19、20和21)。在所有图中 $n=5$ 。

在图17中, S. E. M. 's $< 12.9\%$ 。[*] $p < 0.05$
* $p < 0.01 - p < 0.001$ (与C(对照)比较) + $p < 0.001$
(逆转停止治疗后的焦虑产生)。

在图18中, S. E. M. 's $< 12.3\%$ 。* $p < 0.001$
(与C比较) + $p < 0.001$ (逆转停止治疗后的焦虑产生)。

在图19中, S. E. M. 's $< 11.7\%$ 。* $p < 0.001$
(与C比较) + $p < 0.001$ (逆转停止治疗后的焦虑产生)。

在图20中, S. E. M. 's $< 12.6\%$ 。* $p < 0.01 -$
 $p < 0.001$ (与C比较) + $p < 0.001$ (逆转停止治疗后的焦虑产生)。

在图21中, S. E. M. 's $< 12.2\%$ 。* $p < 0.001$
(与C比较) * $p < 0.001$ (逆转停止治疗后的焦虑产生)。

实施例 25

对用酒精进行亚慢性治疗停药后引起的焦虑的拮抗作用

将在实施例 2 3 中描述的同样试验方法，用于依赖性研究，其中给试验动物服以 A C E 抑制剂以减少焦虑，并由此促进酒精依赖性的戒除。

以小鼠作为研究对象，通过在实施例 2 3 中描述的黑白试验箱系统进行研究，抗焦虑作用是作为对白色光照区域的厌恶情绪降低（在白色区域内后脚站起次数和越线活动次数增加（与在黑色区域内的减少相当），移出白色区域的迟延潜伏状态以及黑色区域内耗费的减少百分率）被测定的；而焦虑产生是作为对白色光照区域的厌恶情绪增加（在白色区域内的后脚站起次数和越线活动次数减少，（与在黑色区域内显著增加相当），快速移出白色环境以及在黑色区域停留时间增加）被测定的。

酒精以 8 % 重量 / 体积的浓度存在于饮用水中（无选择地） 7 天（试验在治疗的第 5 天和停药后 24 小时进行）。大量研究表明这种方法是可接受的（自由选择，小鼠接受 2 % 重量 / 体积的酒精），能在治疗期间引起抗焦虑作用，而在停药后 24 小时内引起焦虑。将特抗剂先在停药时给予，然后再按 b. d. 给药（3 个剂量）。以 captopril (10 mg / Kg i. p. b. d.), SQ 29,852 (1.0 mg / Kg i. p. b. d.), fosinopril (0.5 mg / Kg i. p. b. d.), zofenopril (1.0 mg / Kg i. p. b. d.) 和安定 (1.0 mg / Kg i. p. b. d.) 作为阳性对照。

结果:

小鼠在摄入酒精期间显示出抗焦虑作用（在第 5 天测定），在 7 天酒精治疗停药后 24 小时内显示出明显的焦虑产生。captopril

(10 mg/Kg i. p. b. d.) 或 fosinopril (0.5 mg/Kg i. p. b. d.) 不能拮抗停药后的焦虑产生, 而 SQ 29,852 (1.0 mg/Kg i. p. b. d.), zofenopril (1.0 mg/Kg i. p. b. d.) 以及安定 (1.0 mg/Kg i. p. b. d.) 具有拮抗作用 (图 2 2 和 2 3)。在图 2 2 和 2 3 中 $n=5$ 。在图 2 2 中, S. E. M. 's $< 11.6\%$ 。
 $* p < 0.05 - p < 0.001$ (与 C 比较) + $p < 0.01 - p < 0.001$ (逆转戒除)。在图 2 3 中, S. E. M. 's $< 12\%$ 。
 $* p < 0.05 - p < 0.001$ (与 C 比较) + $p < 0.01 - p < 0.001$ (逆转戒除)。

实施例 2 6

对用安定进行亚慢性治疗停药后引起的焦虑的拮抗作用

方法:

将在实施例 2 3 中描述的同样的试验方法用于依赖性的研究, 其中给试验动物服以 ACE 抑制剂以减少焦虑, 并由此促进安定依赖性的戒除。

以小鼠为研究对象, 通过在实施例 2 3 中描述的黑白试验箱系统进行研究。抗焦虑作用是作为对白色光照区域的厌恶情绪降低 (在白色区域内的后脚站起次数和越线活动次数增加 (与在黑色区域内的减少相当), 移出白色区域的潜伏状态迟延以及黑色区域内耗费的时间的减少百分率) 被测定的; 而焦虑产生是作为对白色光照区域的厌恶情绪增加 (在白色区域内的后脚站起次数和越线活动次数减少 (与在黑色区域内显著增加相当)、快速移出白色环境以及在黑色区域停留时间增加) 被测定的。

将安定按 $10\text{ mg/Kg i.p. b.d.}$ 给药 7 天。3 天内出现了镇静作用耐受性，5 天时测定完全的抗焦虑反应（图 2 4 和 2 5）。在停止安定治疗后，8 小时内出现了焦虑，并且在停药后 2 4 小时内焦虑产生变得明显（图 2 4 和 2 5）。在安定治疗中止后 2 4 小时评价潜在的拮抗剂的效能。将拮抗剂先在停药时给予，然后再按 b.d. 给药（3 个剂量）。以 $\text{captopril (10mg / Kg i.p. b.d.)}$ 、 $\text{SQ 29,852 (1mg / Kg i.p. b.d.)}$ 、 $\text{fosinopril (0.5mg / Kg i.p. b.d.)}$ 、 $\text{zofenopril (1mg / Kg i.p. b.d.)}$ 和安定（ $10\text{mg / Kg i.p. b.d.}$ ）作为阳性对照。

结果

$\text{captopril (10mg / Kg i.p. b.d.)}$ 、 $\text{SQ 29,852 (1.0mg/Kg i.p. b.d.)}$ 、 $\text{fosinopril (0.5mg/Kg i.p. b.d.)}$ 和 $\text{zofenopril (1.0mg/Kg i.p. b.d.)}$ 能够拮抗戒除安定而引起的焦虑。确实，在每一种情况下，都把焦虑产生变成了完全的抗焦虑作用（图 2 4 和 2 5）。在图 2 4 和 2 5 中， $n=5$ 。S.E.M.'s $< 9.6\%$ （图 2 4）和 $< 10.1\%$ （图 2 5）， $*p < 0.001$ （与 C 比较）， $+p < 0.001$ （逆转戒除）。

实施例 2 7

将在实施例 2 3 中描述的同样的试验步骤用于依赖性研究，其中给试验动物服 ACE 抑制剂以减少焦虑，并由此促进 β -卡波林依赖性的戒除。

在每一天的试验中都进行赋形剂治疗对照。所有试剂用如在附图

说明中所限定的30~60分钟预先给药时间，通过i. p. 途径。用β—卡波林FG 7142 (1mg/Kg i. p. 30分钟)来诱导焦虑产生。给予下述药剂作为阳性对照，并测定其拮抗由FG 7142引起的焦虑的强度：安定captopril、epicaptopril SQ 29,852 fosinopril 和 zofenopril。

结果：

用FG 7142按1mg/Kg i. p. 30分钟处理后，引起焦虑，其特征为：在黑白试验箱中，在白色区域内后脚站起次数减少，而在黑色区域内增加（图26）；在白色区域内越线活动次数减少，而在黑色区域内相应增加（图27），在黑色区域内耗费的时间的减少百分率（图28）以及从试验箱中的白色区域到黑色区域移动的潜伏状态缩短（图28）。

下列药剂可以抗FG 7142的焦虑产生效应：安定(1mg/Kg i. p. 30分钟) captoril(10mg/Kg i. p. 45分钟)、SQ 29,852(1mg/Kg i. p. 60分钟)、fosinopril (0.5mg/Kg i. p. 60分钟)、enalapril (0.1mg/Kg i. p. 60分钟)、lisinopril (0.1mg/Kg i. p. 60分钟)和zofenopril (1mg/Kg i. p. 60分钟)（图26、27和28）。而epicaptopril (10mg/Kg i. p. 60分钟)和对照（赋形剂1ml/100g i. p. 30分钟）不能影响FG 7142引起的焦虑产生（图26、27和28）。图26、27和28所示的试验是在三种不同情况下进行的，所以给出了三组比较对照（赋形剂）的数据和FG 7142的数据。

结论:

A C E 抑制剂如安定一样能够拮抗 β -卡波林 F G 7 1 4 2 引起的焦虑。epicaptopril 没有作用,证实了 A C F 抑制剂反应的特异性。在图 2 6、2 7 和 2 8 每一个中, $n = 5$ 。S. E. M. 's $< 7.6 \sim 11.8\%$ (图 2 6)、 $< 10.3 \sim 12.1\%$ (图 2 7) 以及 $< 9.4 \sim 12.7\%$ (图 2 8)。 $^0 p < 0.1 - p < 0.001$ (焦虑产生), $^* p < 0.001$ (抗焦虑作用), $^+ p < 0.001$ (对 F G 7 1 4 2 的拮抗作用)。

实施例 2 8

用大鼠群居相互干扰试验测试的抗焦虑强度

通常将雄性 Sprague - Dawley 大鼠 (重 225—227 g) 5 个一组分成数组,并保持在 12 小时的亮/暗循环中 (8:00 开灯)。试验是在光照的箱子里于 13:00—18:00 之间进行的。用于检测大鼠群居相互干扰作用的变化和探测行为的设备,包括一个不透光白色有机玻璃制成的顶部开口箱子 (45×32 cm, 20 cm 高),其底面上有 15×16 cm 的面积被做上标记。将来自不同笼子中的两只首次用于试验的大鼠装入箱子中 (在箱子上方 17 cm 处装有一个 100 W 明亮的白色照明灯),并通过遥控录像记录观察其行为 10 分钟。两种行为被记录: (a) 通过记录同伴的嗅闻、从同伴上下爬过、同伴的生殖器观察、跟随同伴的时间 (秒) 来测量动物之间群居相互干扰作用, (b) 将探测性行进力通过越过试验箱底面上标记线条的次数进行测定。对个体动物,测定其群居相互干扰作用中耗费的时间以及围绕观察笼移动的数值。首次用于试验的动物以 6 个为一组,分组进行药物治疗后,配对进行试验。

如同对小鼠进行的研究一样，用变异的单因素分析法分析获得的数据，接着进行Dunnett t-试验。药物配制的方法如同小鼠试验中所描述的那样。预先给药时间为45~60分钟。

结果：

安定对大鼠的抗焦虑作用可被看作为群居相互干扰作用的增加。 $(0.125-1\text{ mg/Kg i.p.})$ 。在高于 1 mg/Kg 剂量 $(2.5\text{ 和 }10\text{ mg/Kg i.p.})$ 时，行进活性被抑制。经安定治疗后，所看到的大鼠群居相互干扰作用的显著增加，也可以在服用captopril $(1-50\text{ mg/Kg i.p.})$ 和SQ 29,852 $(0.01-10\text{ mg/Kg i.p.})$ 后看到。口服给药 $(1-50\text{ mg/Kg p.o. captopril, }0.1-10\text{ mg/Kg p.o. SQ 29,852})$ 时，可以保持这两种化合物的活性。群居相互干扰作用的增加也可以在用fosinopril $(0.01\text{ mg/Kg}$ ，但在 1 mg/Kg 时失去作用)或zofenopril (0.1 mg/Kg) 进行治疗后看到，虽然反应强度没有象安定、captopril或SQ 29,852的反应强度那样显著(图29)。 $n=5$ 。S.E.M.
 $'s < 13.6\%$ ， $[\ast] p < 0.05$ ， $\ast p < 0.01 - p < 0.001$ 。

实施例 29

用人恐吓绒猴试验进行抗焦虑强度评价

将重量为350~400g的雄性和雌性实验室饲养的普通绒猴(Callithrix jacchus)按单一性别对安置。使试验箱的温度保持在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，湿度保持在55%，并将试验箱保持在7:00开灯的12小时的明/暗循环中(在黎明和黄昏时用红色灯照明)。

试验于13:30—15:30在通常装动物的箱子中进行(以避免移动到新的箱子或笼子中时不希望出现的行为间断)。装动物的笼子大小为75cm高、50cm宽和60cm厚。由紧靠着笼子前面站着的观察者引发一种行为变化,这种变化被对人恐吓后的退却和采取某种姿势特征化。观察者记录行为变化2分钟。选自本研究的行为测量是:(a)直接面对人的恐吓时,在笼子前面停留的时间百分率,(b)身体姿态的数目,主要表现为随着体毛竖立的程度变化而尾巴抬起,暴露出生殖器区域,肛臭显著以及带有扁平耳丛的裂隙凝视。

在整个研究中,将12只绒猴以7天间隔使用,并使之经受随机交叉处理。按照它们的基础焦虑反应将它们分开。用变异的单因素分析进行统计学分析,接着进行Dunnett t—试验。按照对小鼠研究所描述的方法配制供绒猴研究需用的药物(除了用普通盐水代替蒸馏水)。对绒猴总是采用皮下(s.c.)途径给药。

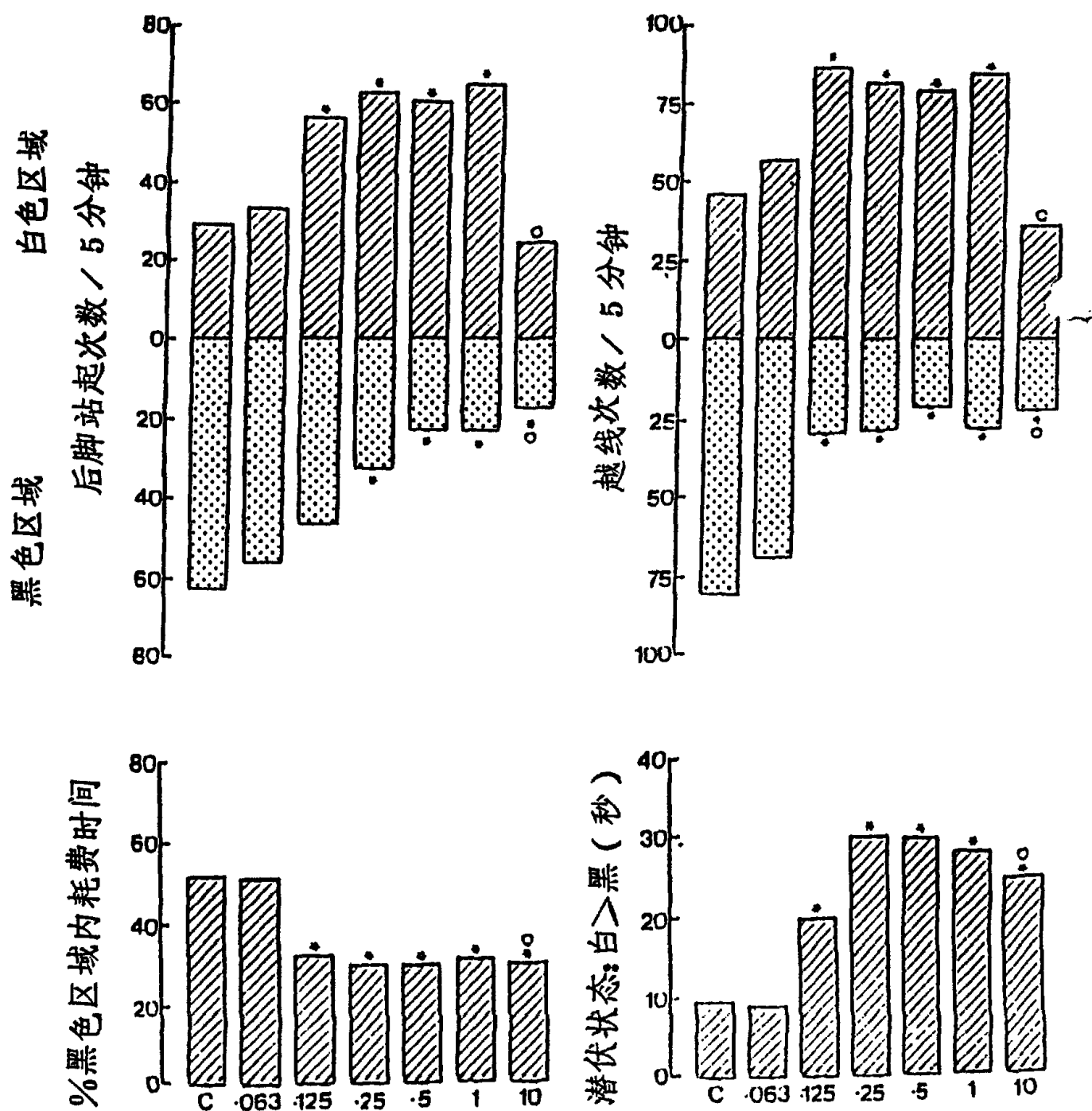
结果:

绒猴显示出的焦虑减少,表现为其在固定时间内姿态数目减少和直接面对人的恐吓时,在笼子前面停留的时间增加,对安定来说,这种作用可以明显看出(图30),在10—25mg/Kg s.c.时存在着剂量—依赖效应。用于评价ACE抑制剂的潜在抗焦虑作用的第一组绒猴,具有相对低的基准焦虑反应。然而,安定(0.25mg/Kg s.c.)、captopril(1.0mg/Kg s.c.)和SQ 29,852(0.1mg/Kg s.c.)的抗焦虑作用明显的表现为姿态减少,并且对于安定和captopril,表现为在笼子前面停留的时间增加(图31)。

在第二组绒猴中,基本焦虑反应较高(图32)。在这些动物中

安定 (0.1 mg/Kg s.c.), captopril (1.0 mg/Kg s.c.) 和 zofenopril (0.1 mg/Kg s.c.) 都被显示出发挥显著的抗焦虑作用, 表现为姿态减少和在笼子前面停留的时间增加 (zofenopril 除外)。在所有这些化合物中, zofenopril 是活性最低的抗焦虑剂。然而, 与安定和所试验的 ACE 抑制剂相比, 象对小鼠那样, epicaptopril 被证明对绒猴没有抗焦虑能力 (图 3 2)。

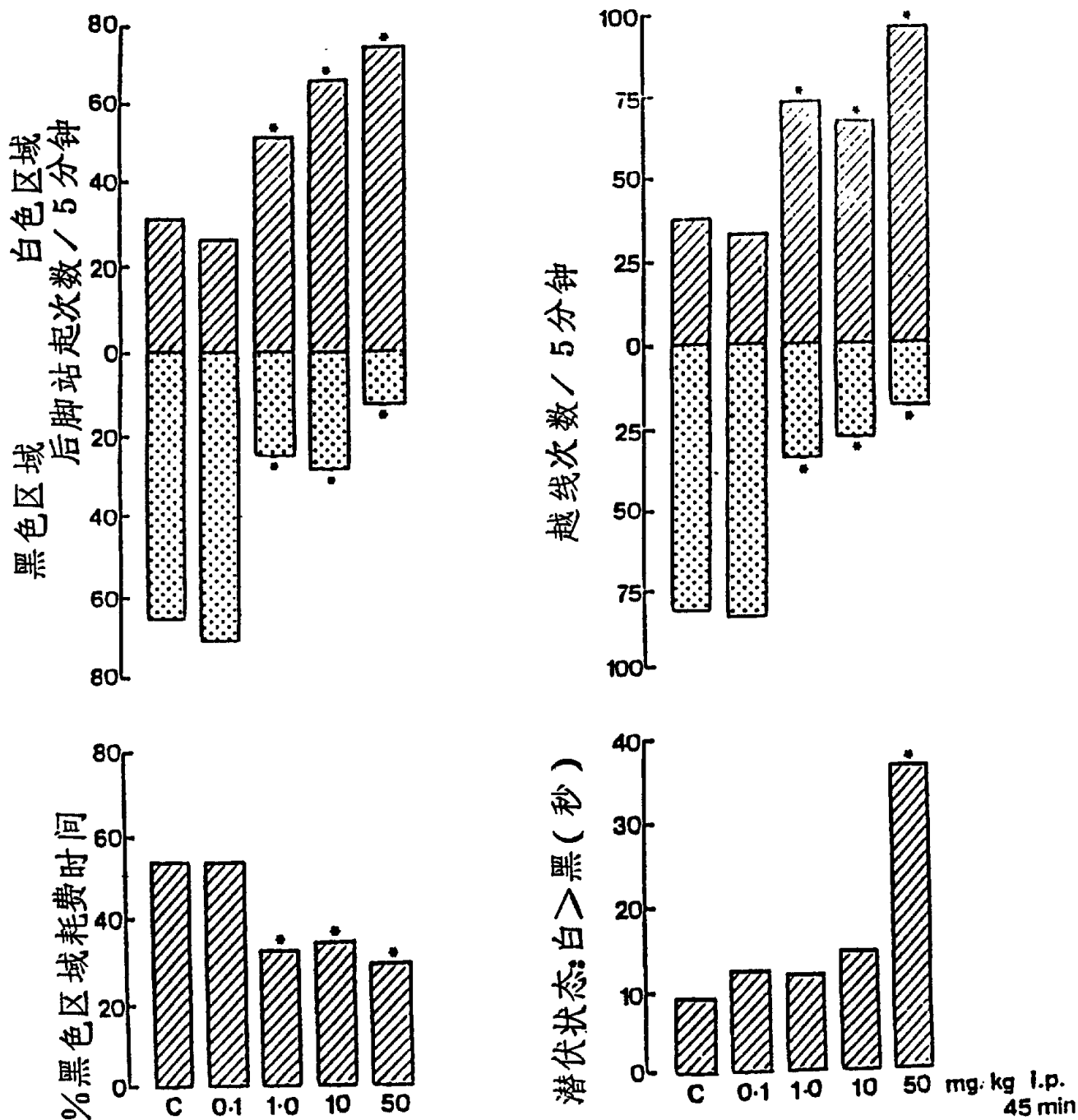
在图 3 0、3 1 和 3 2 中, $n = 4$ 。S. E. M. 's < 10.9% * $p < 0.01$ — $p < 0.001$ (图 3 0), S. E. M. 's < 11.7% * $p < 0.001$ (图 3 1) 及 S. E. M. 's < 10.3% * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ (图 3 2)。



在黑白试验箱中安定对小鼠行为的作用

$n=5$. S. E. M. $s < 12.1\%$. * $P < 0.001$. ° 镇静

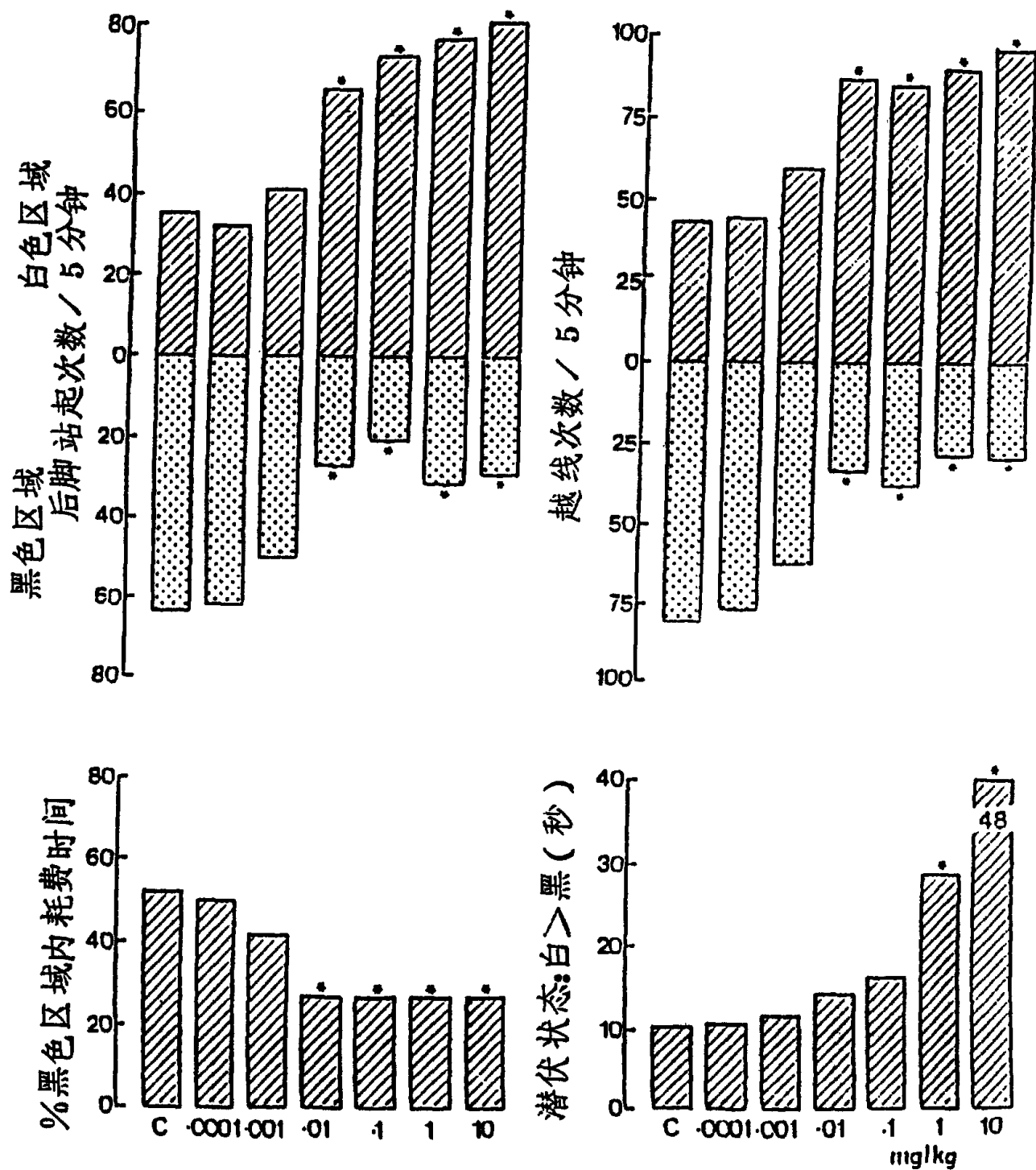
图 1



在黑白试验箱中 Captopril 对小鼠行为的作用

$n=5$. S.E.M.s < 12.6%. * $P < 0.001$

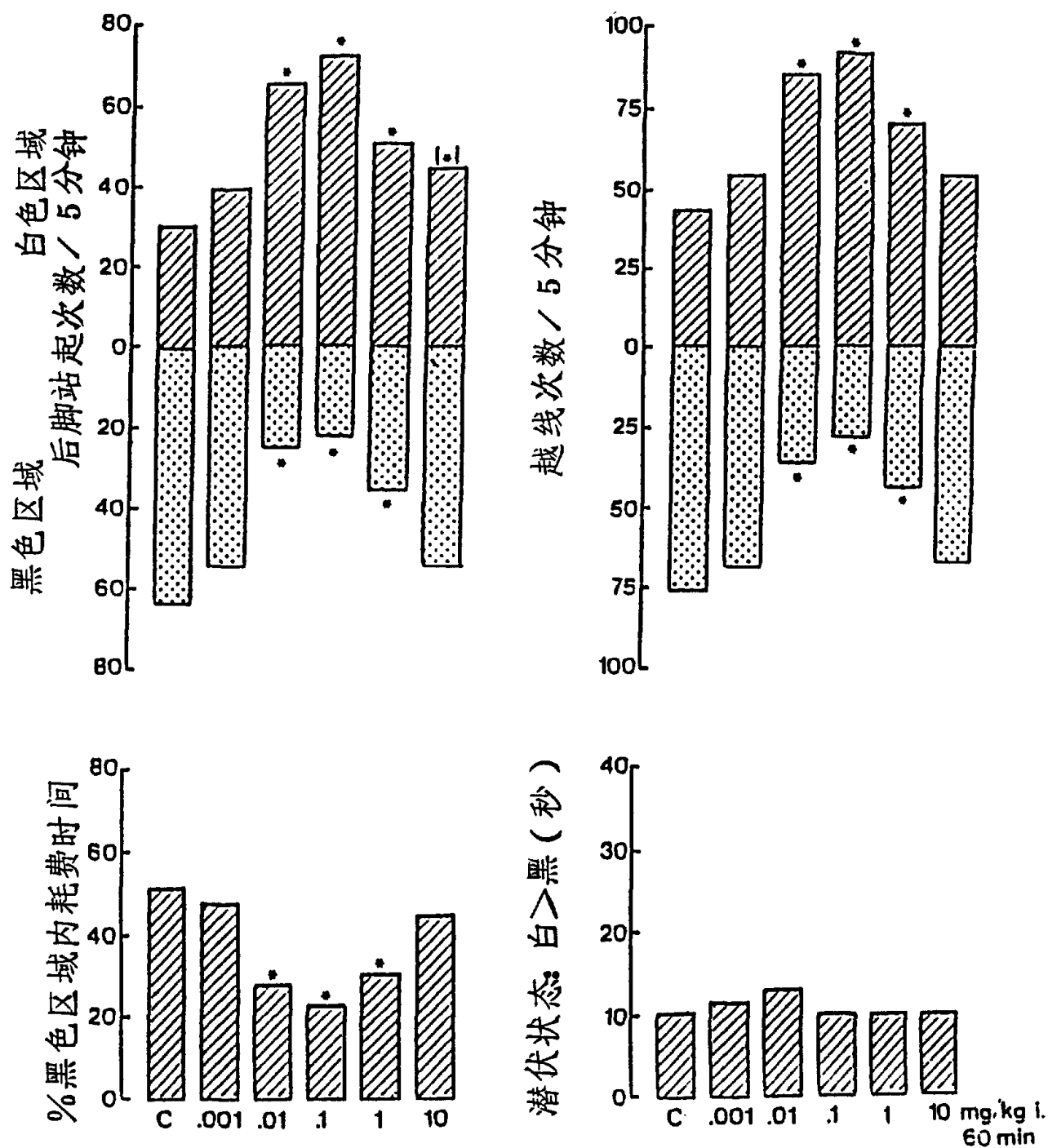
图 2



在黑白试验箱中 SQ 29,852 对小鼠行为的作用

n=5. S.E.M.s<12.5%. *P<0.001

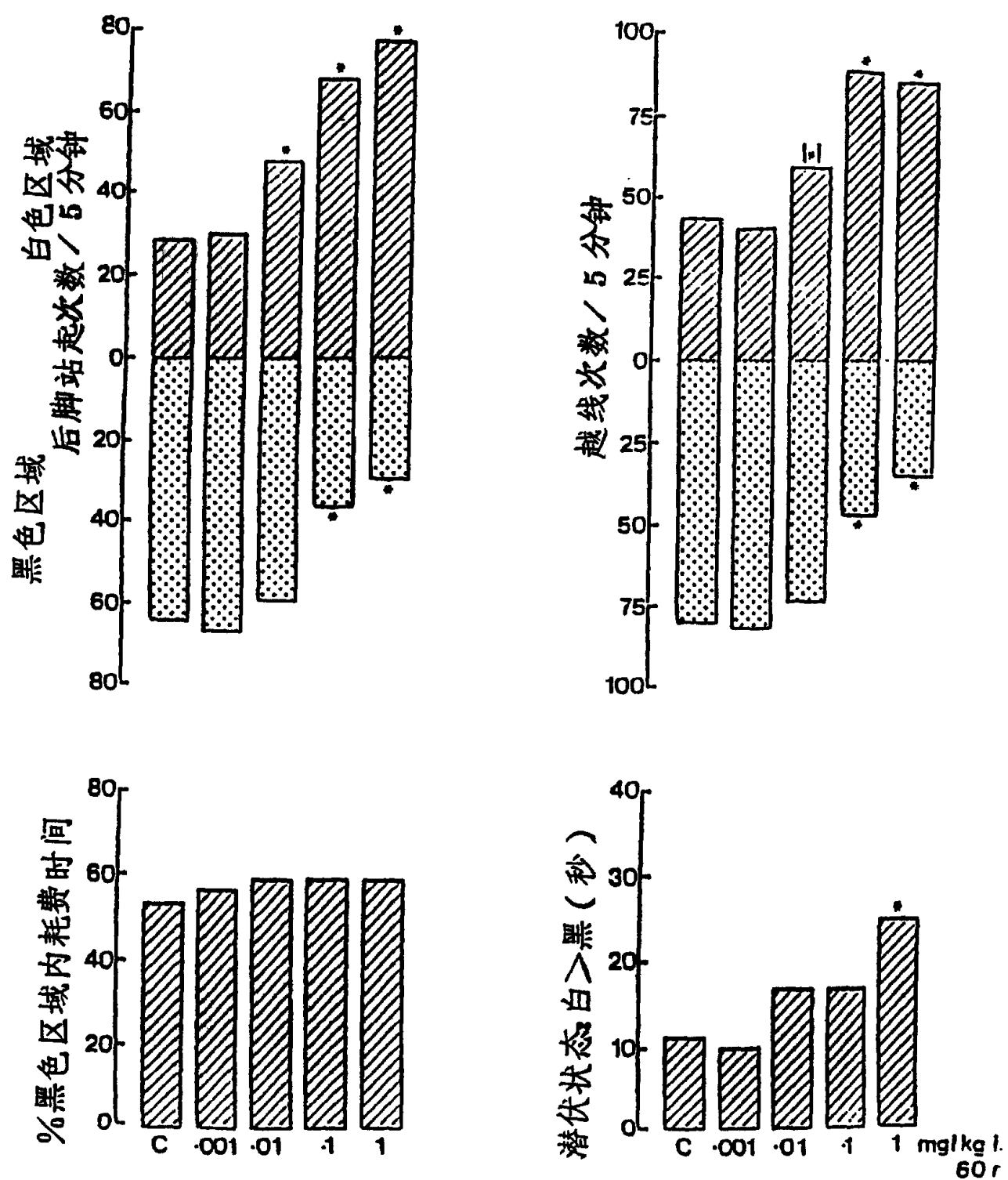
图 3



在黑色试验箱中 fosinopril 对小鼠行为作用

$n=5$. S.E.M.s < 12.9%. * $P < 0.05$; * $P < 0.01$; * $P < 0.001$

图 4



在黑白试验箱中 zofenopril 对小鼠行为的作用

n=5. S.E.M.s<13.1% *P<0.05, *P<0.01-P<0.001

图 5

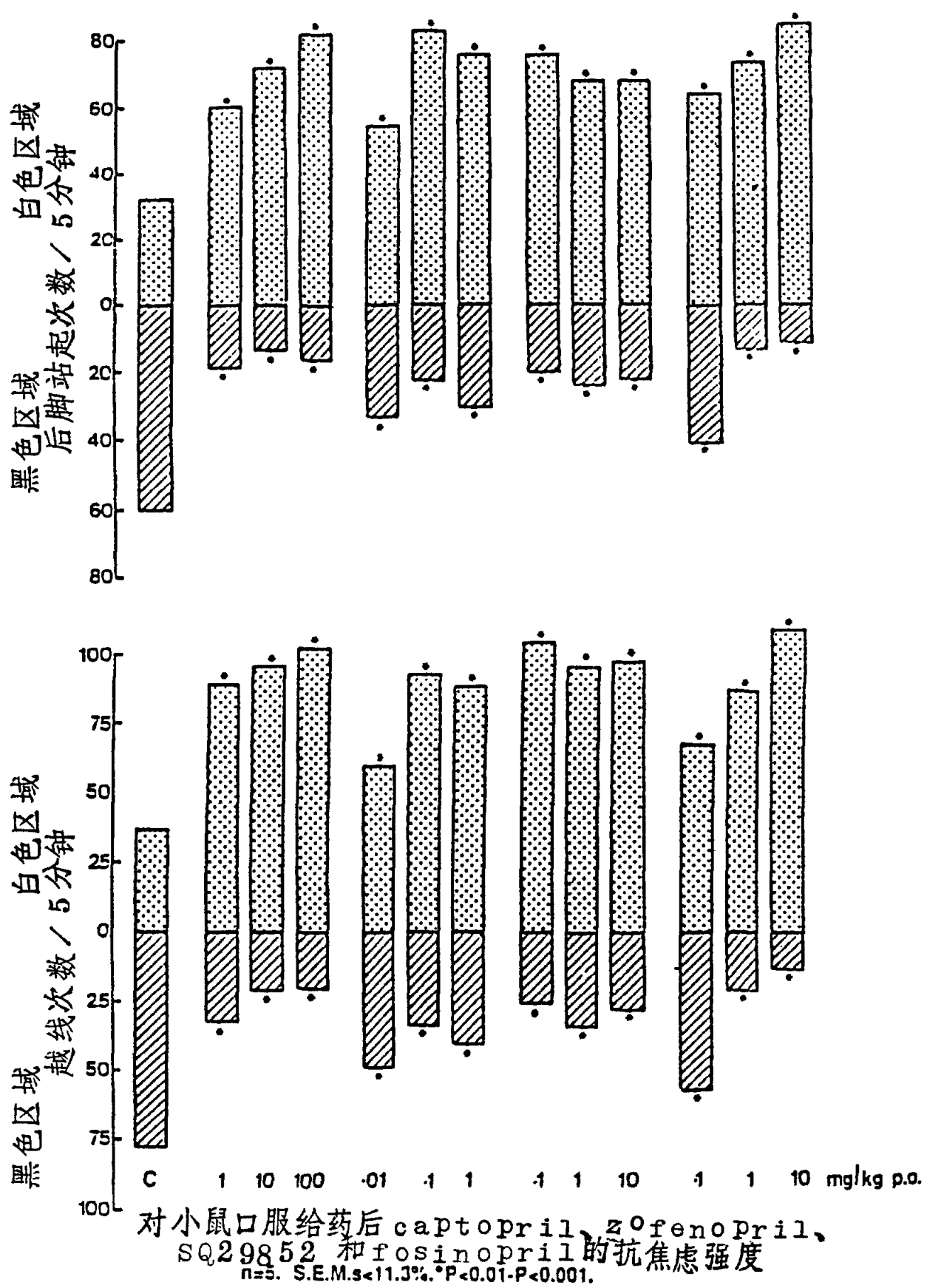
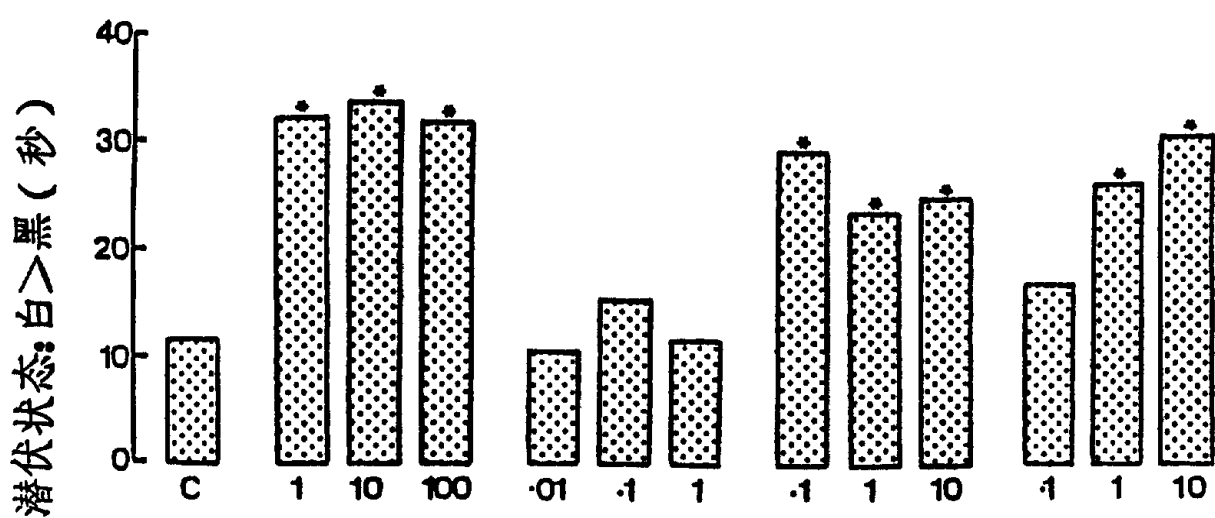
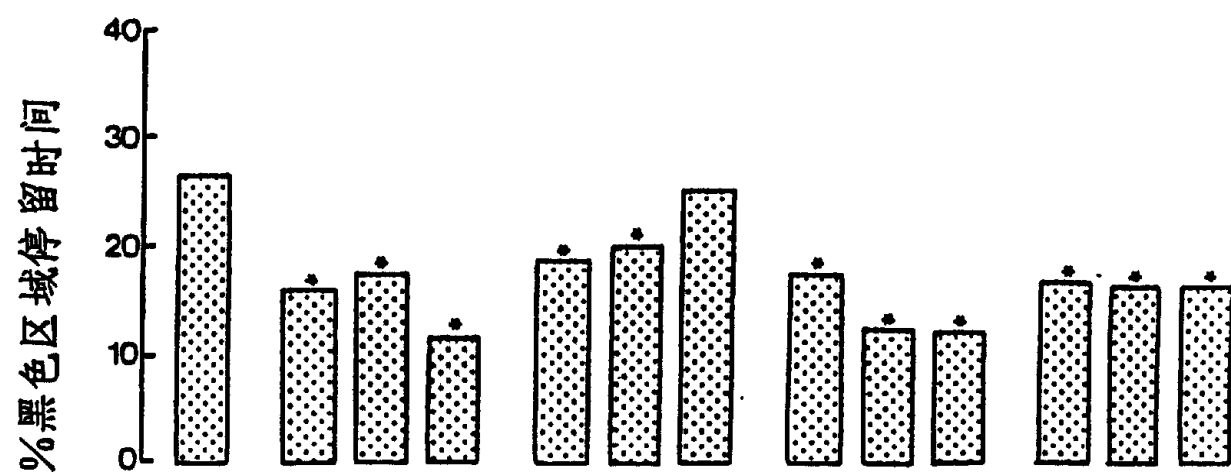


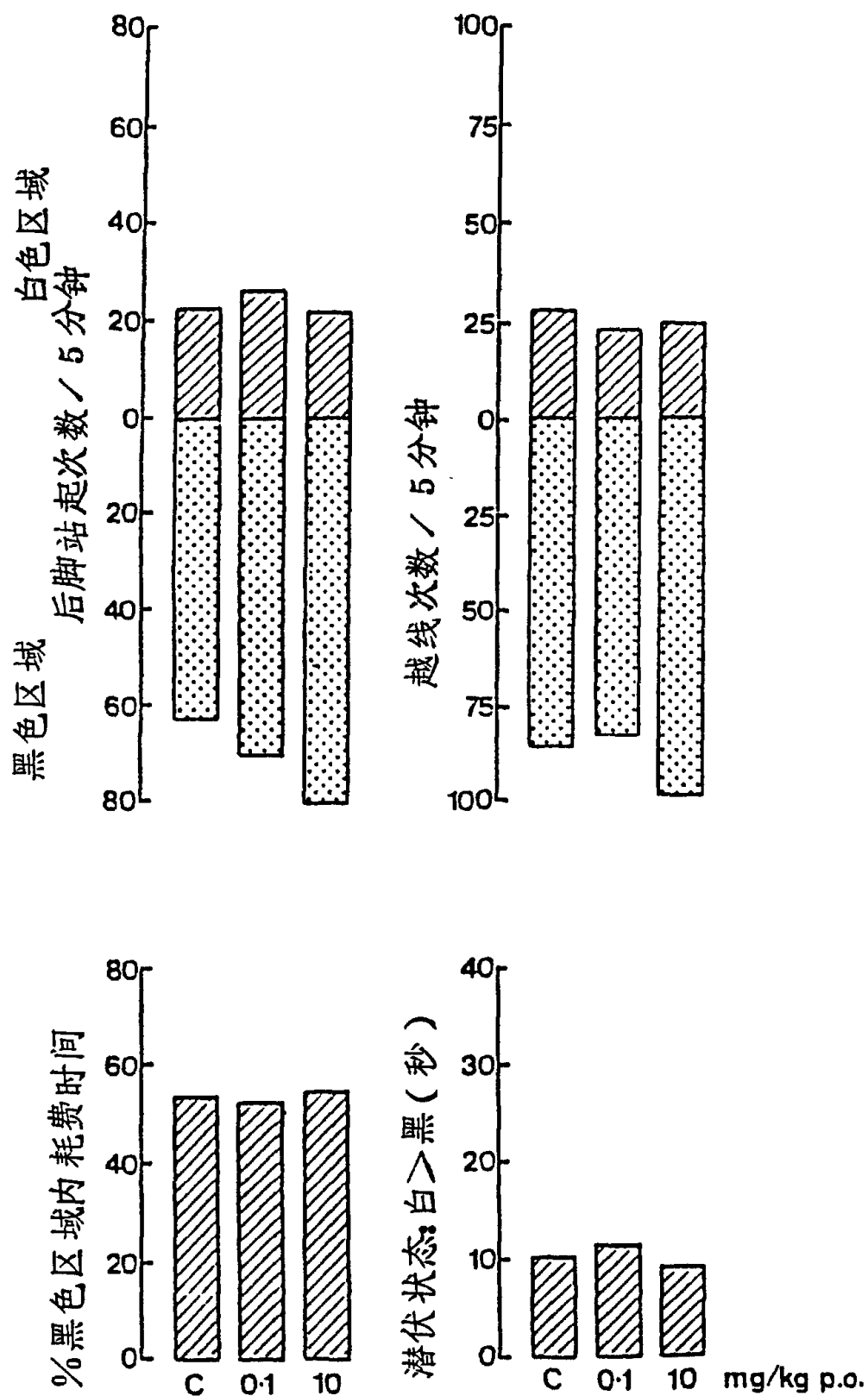
图 6



对小鼠口服给药后 captopril、zofenopril、
SQ29852 和 fosinopril 的抗焦虑强度

n=5. S.E.M.s<12.2%.*P<0.01-P<0.001.

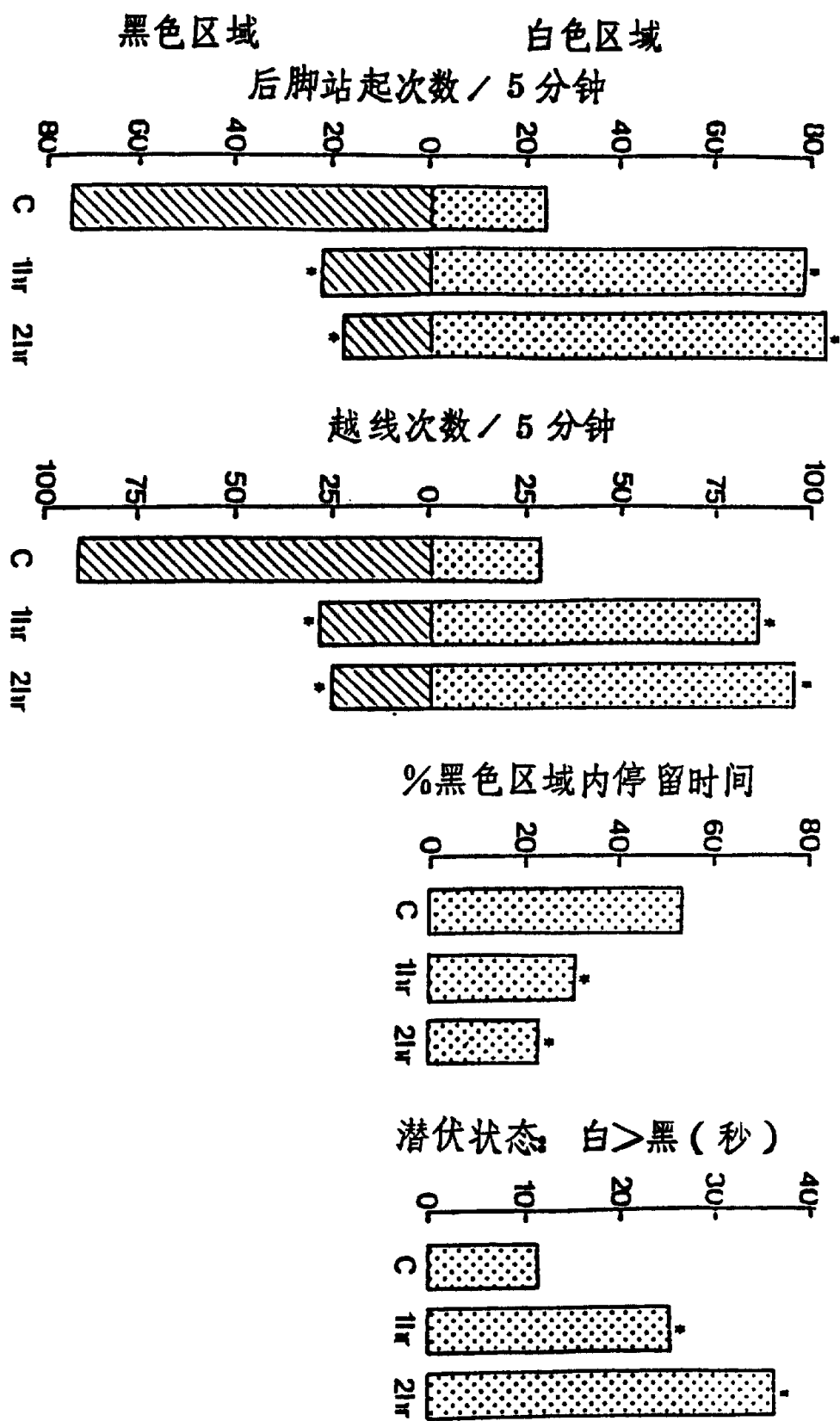
图 7



在黑白试验箱中 epricaptopril 对小鼠行为的作用

n=5. S.E.M.s<12.2%.

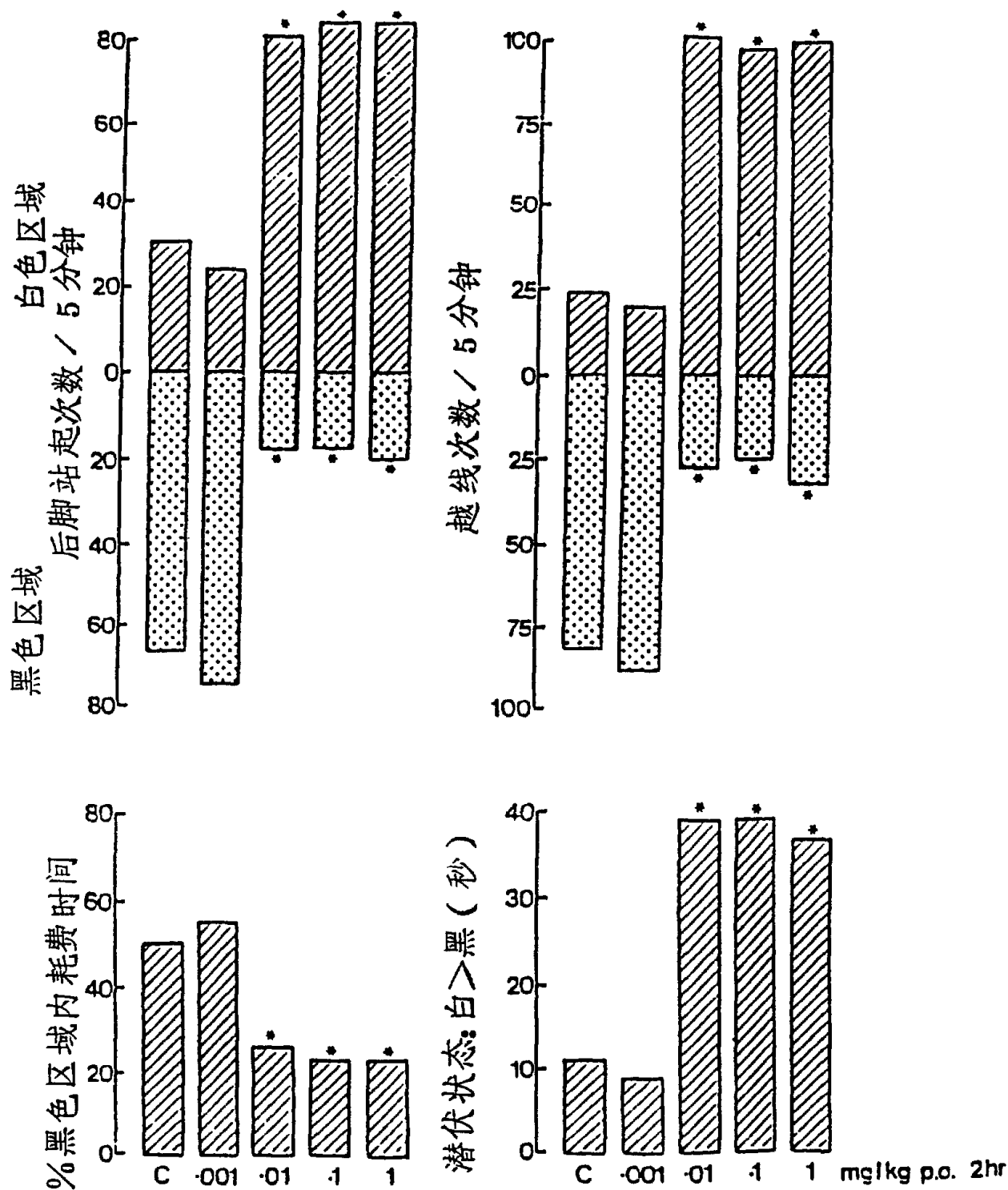
图 8



在小鼠黑白试验箱中 enalapril 按 0.1 mg/kg P.O. 给药时的作用

$n=5$. S.E.M.s $< 11.6\%$. * $P < 0.001$

图 9



在黑白试验箱中 enalapril 对小鼠行为的作用

n=5. S.E.M.s<10.3%. *P<0.001

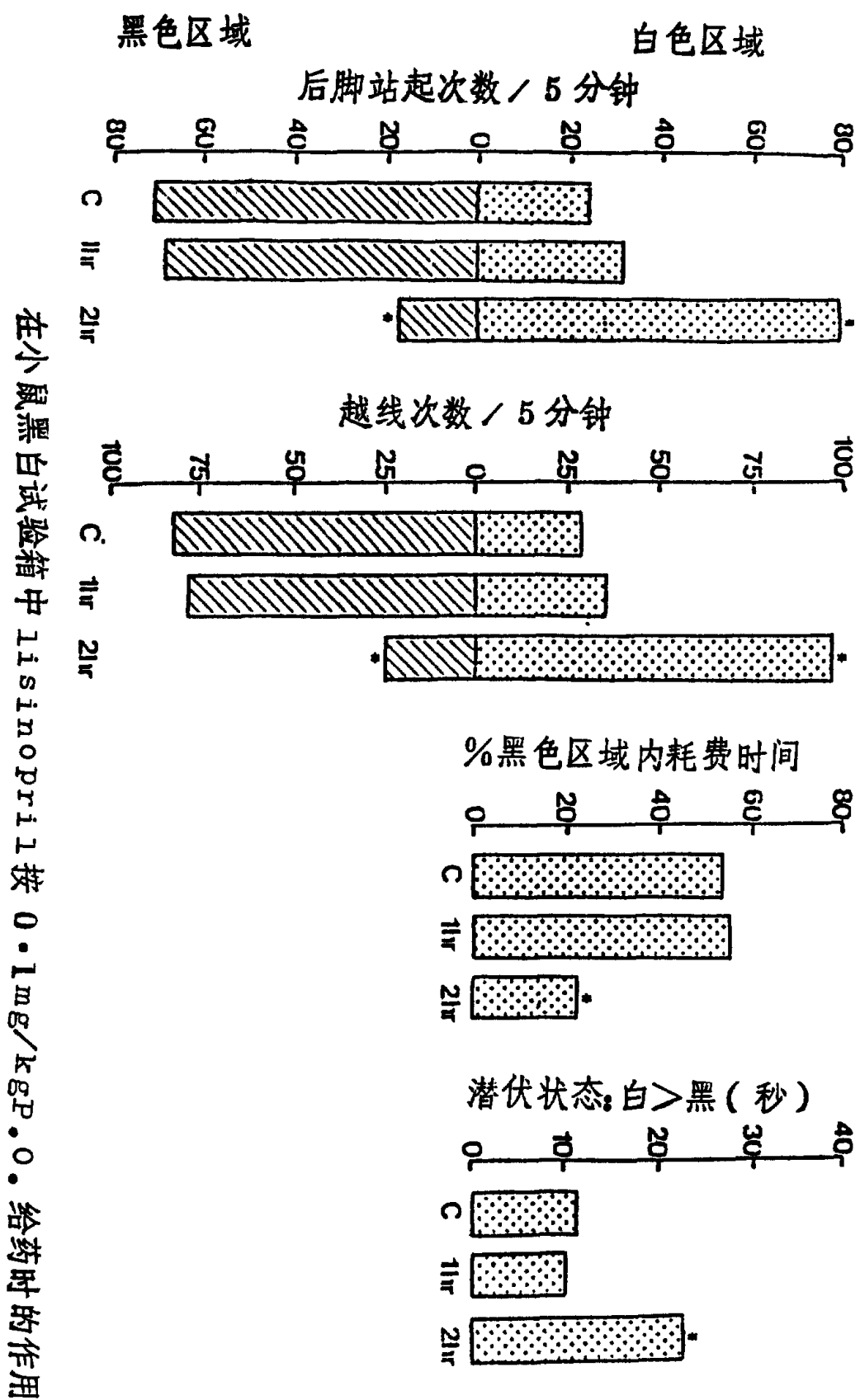
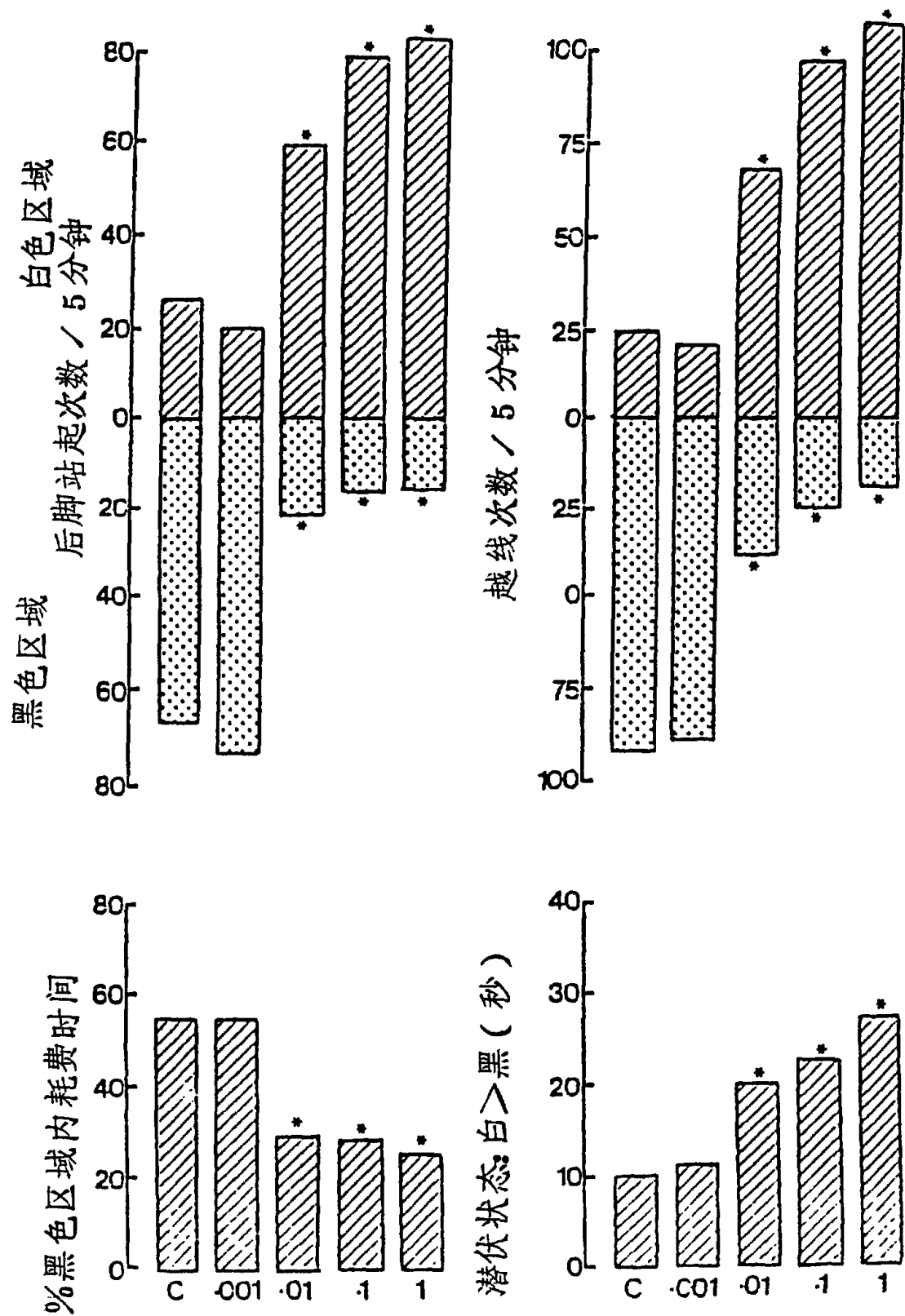


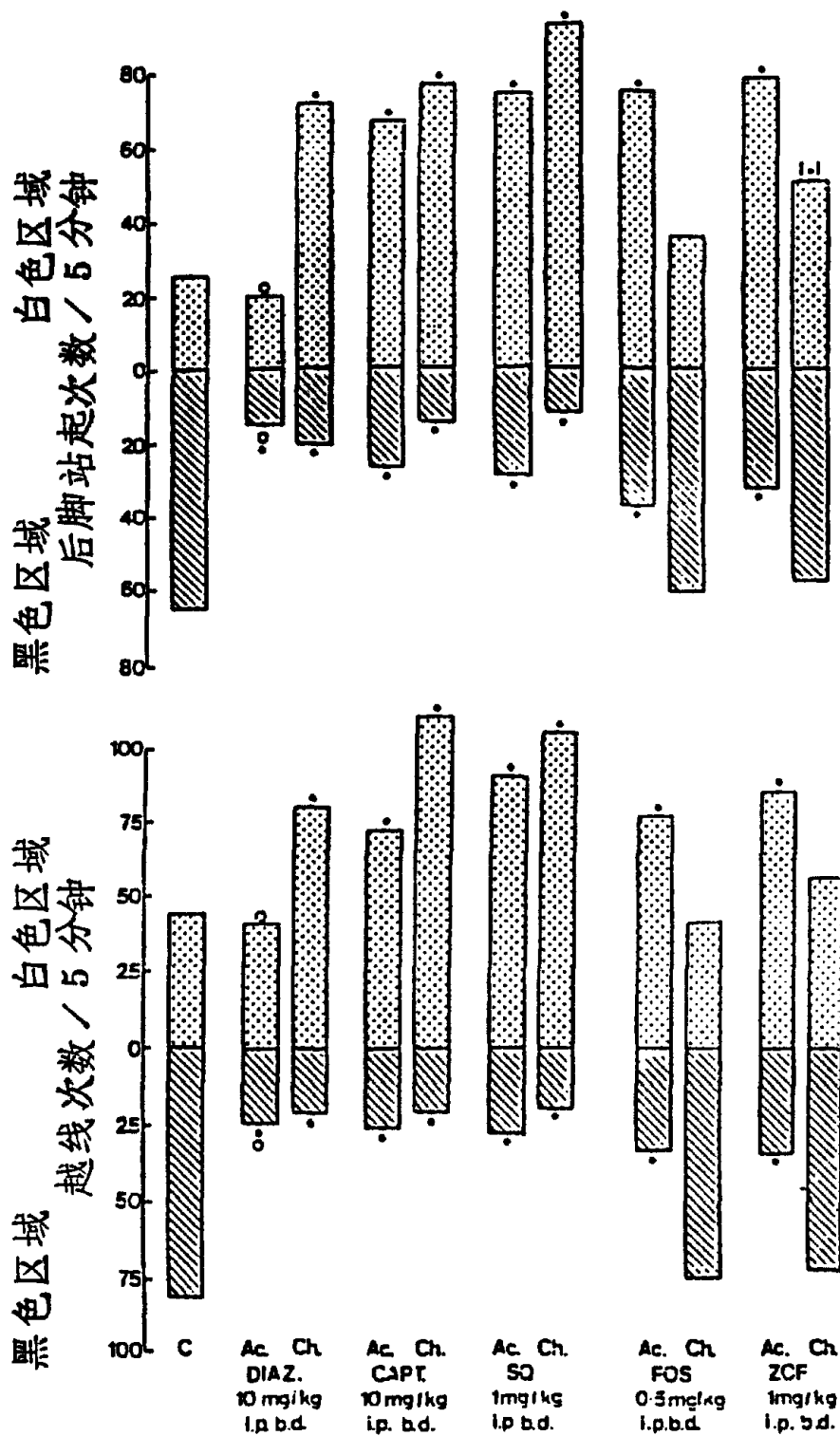
图 1 1



在黑白试验箱中 lisinopril 对小鼠行为的作用

n=5. S.E.M.s<11.2%. *P<0.001

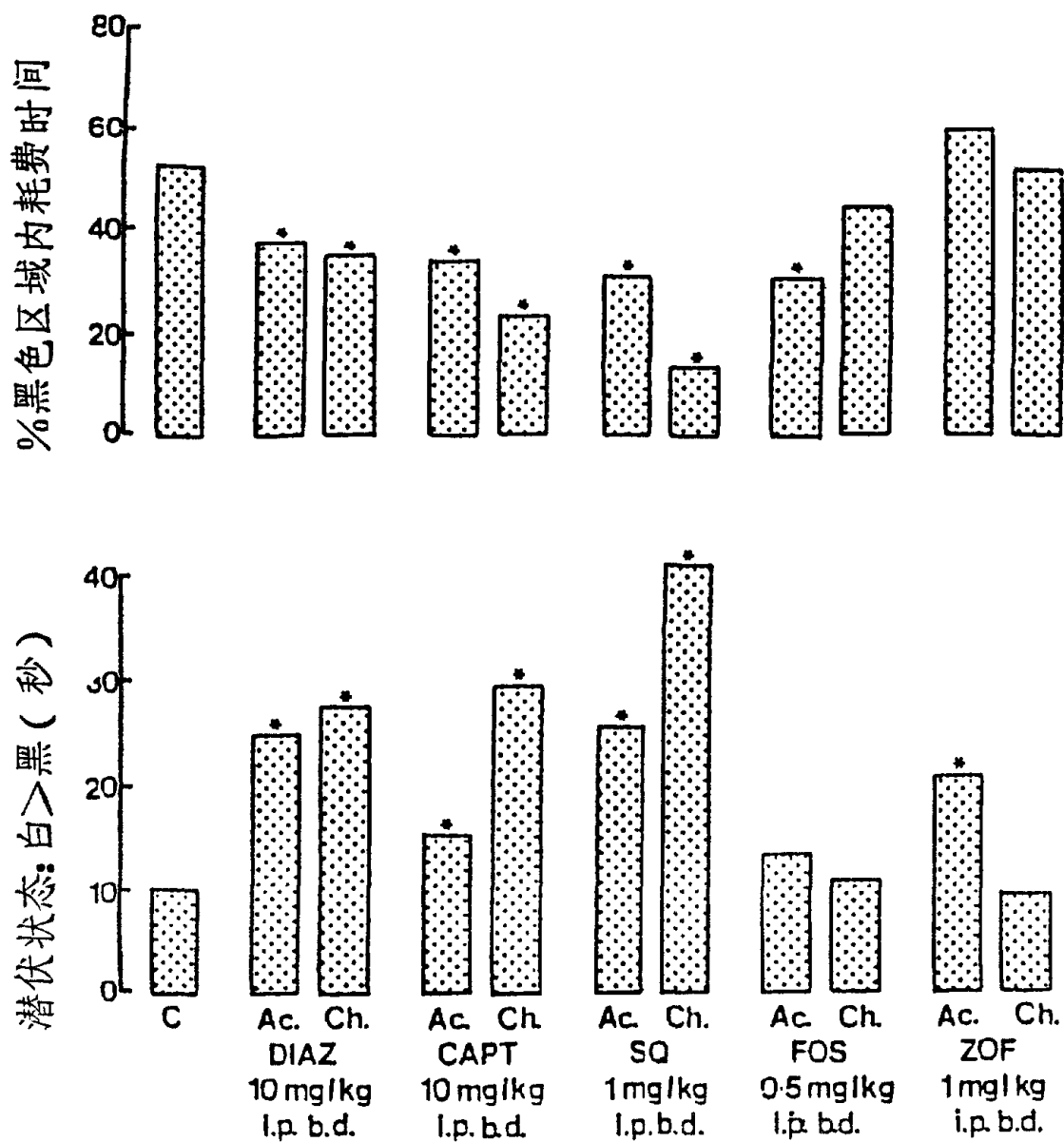
图 13



n=5, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, S.E.M.≤12.0%.

用小鼠黑白试验箱评价ACE抑制剂亚慢性处理时的抗焦虑强度

Ac-急性的Ch-慢性的 Diaz=diazepam, Capt=captopril, SQ=SQ 29,852, Fos=fosinopril, Zof=zofenopril.



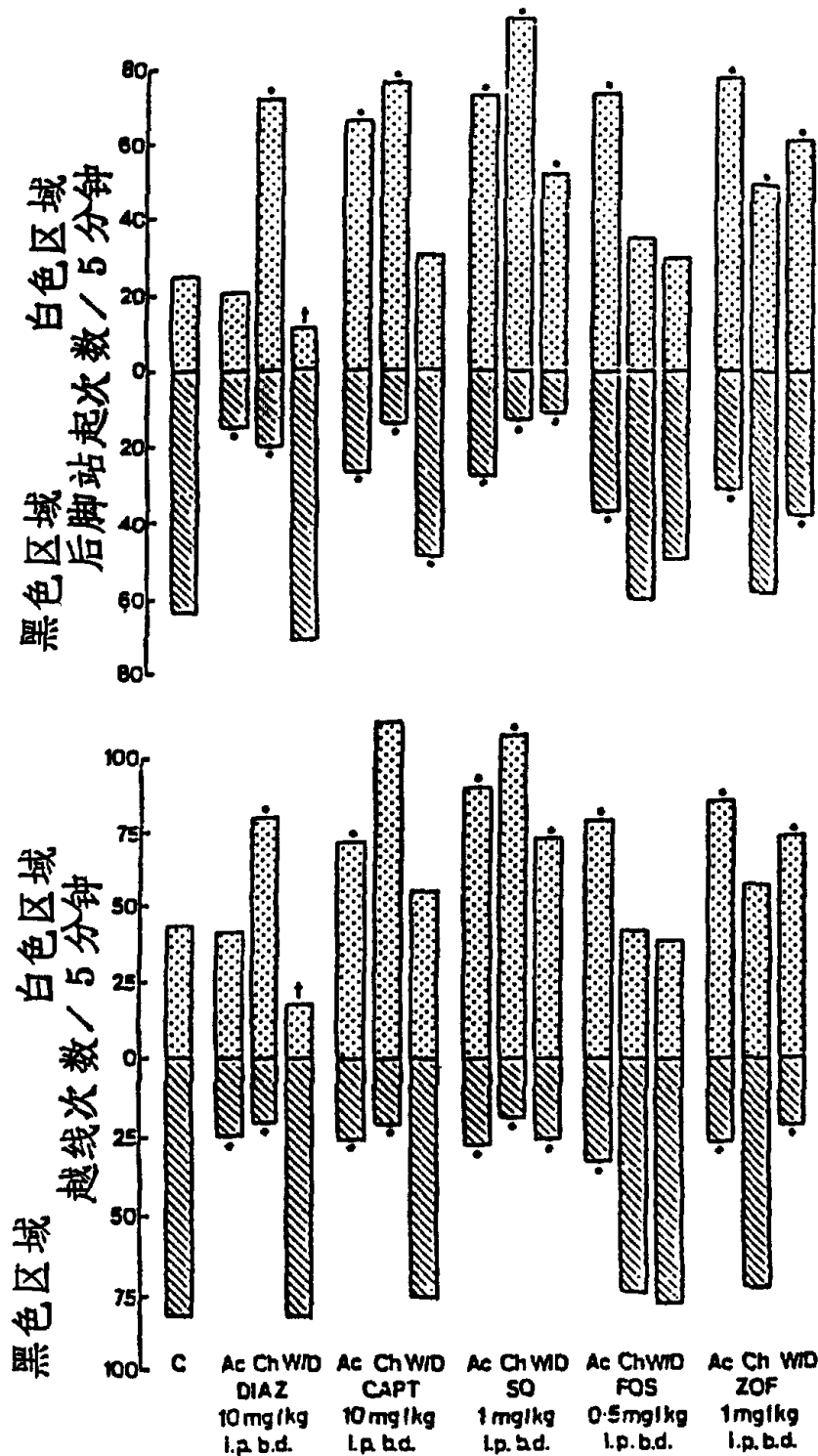
用小鼠黑白试验箱评价ACE抑制剂亚慢性
处理时的抗焦虑能力

n=5. *P<0.01-P<0.001. S.E.M.s<11.6%.

Ac-急性的 Ch-慢性的, Diaz=diazepam, Capt=captopril,
SQ=SQ 29,852, Fos=fosinopril, Zof=zofenopril.

图 1 4

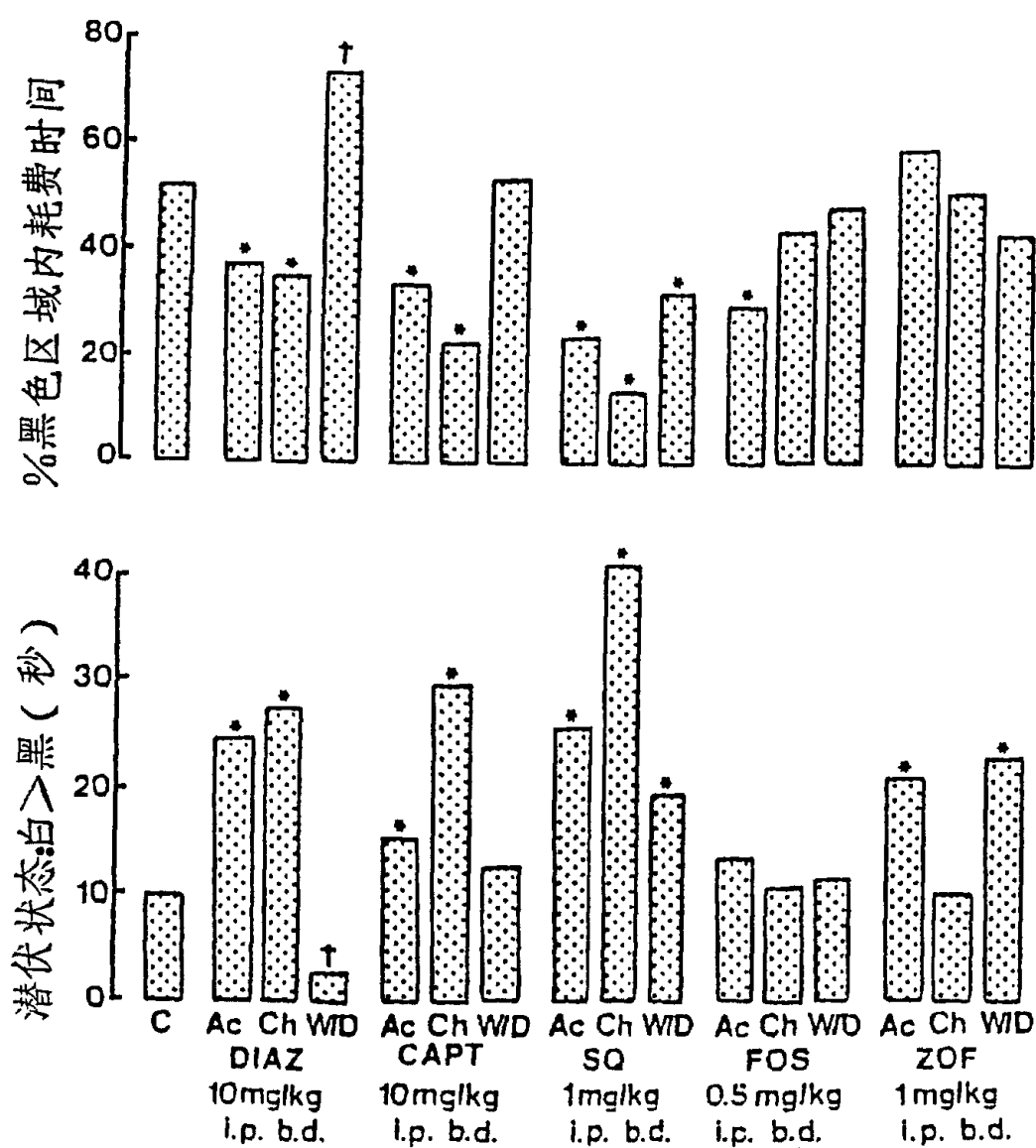
图 15



用小鼠黑白试验箱评价ACE抑制剂亚慢性处理时的抗焦虑作用和突然停药效应

$n=5$. * $P<0.05$ - $P<0.001$ (抗焦虑) $\dagger P<0.05$ - $P<0.001$ (产生焦虑).
S.E.M.s $<12.7\%$.

C=赋形剂对照Ac-急性的
Ch慢性的 Diaz=diazepam, Capt=captopril,
SQ=SQ 29,852, Fos=fosinopril, Zof=zofenopril.

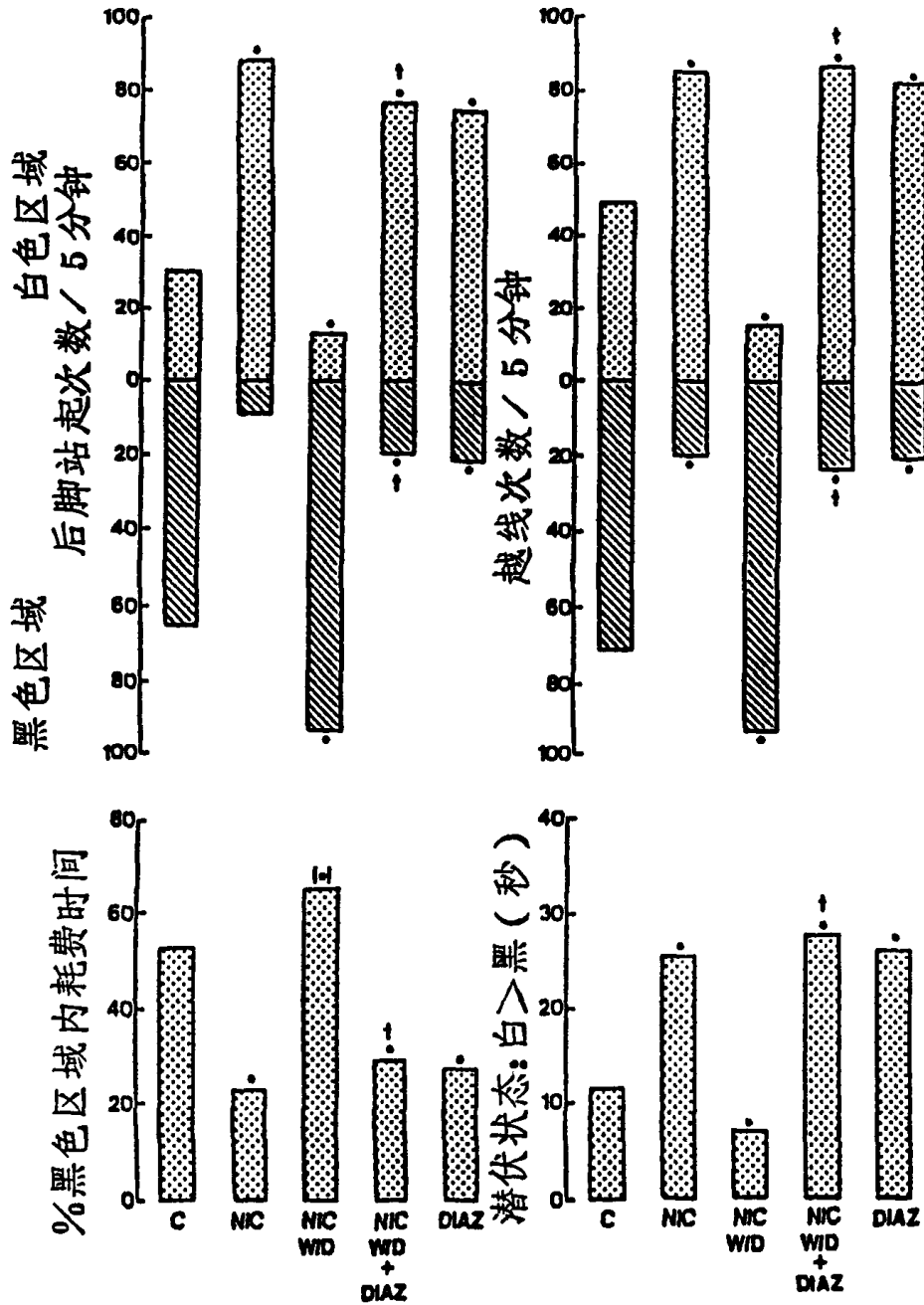


用小鼠黑白试验箱评价ACE抑制剂亚慢性处理时的
抗焦虑强度和突然停药效应

$n=5$. S.E.M.s $<12.0\%$. * $P<0.05$ - $P<0.001$ (抗焦虑) † $P<0.05$ - $P<0.001$ (产生焦虑).

图 1 6

图 1 7



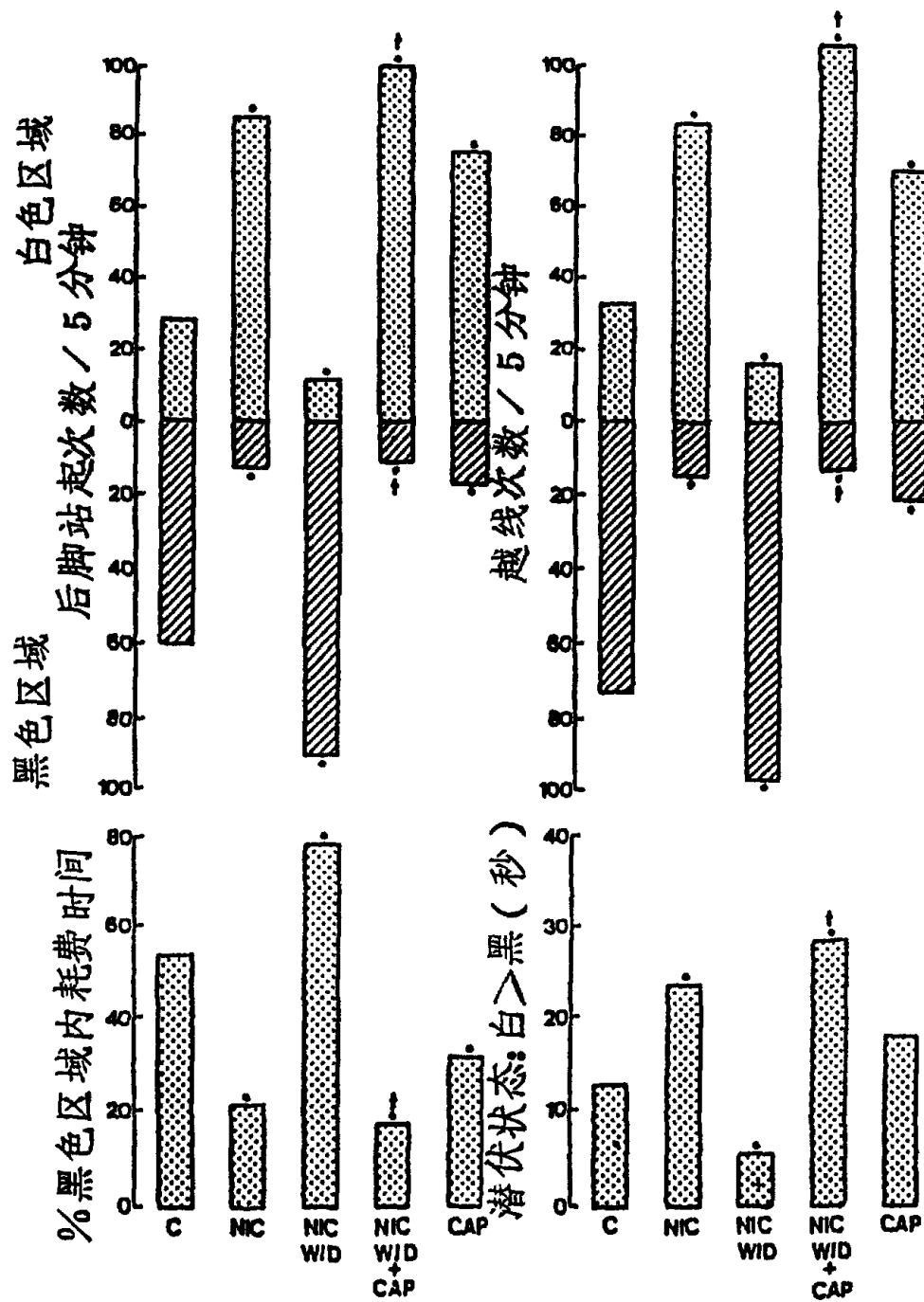
尼古丁摄入期内的抗焦虑作用、停摄后焦虑产生及安定对停摄后焦虑产生的拮抗作用

$n=5$, S.E.M.s < 12.9%, $^{\dagger}P < 0.05$, $^*P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ (与 C 比较)

$^{\dagger}P < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生)

NIC = 尼古丁

DIAZ = 安定



尼古丁摄入期的抗焦虑作用、停摄后焦虑产生及 captopril 对停摄后焦虑产生的拮抗作用

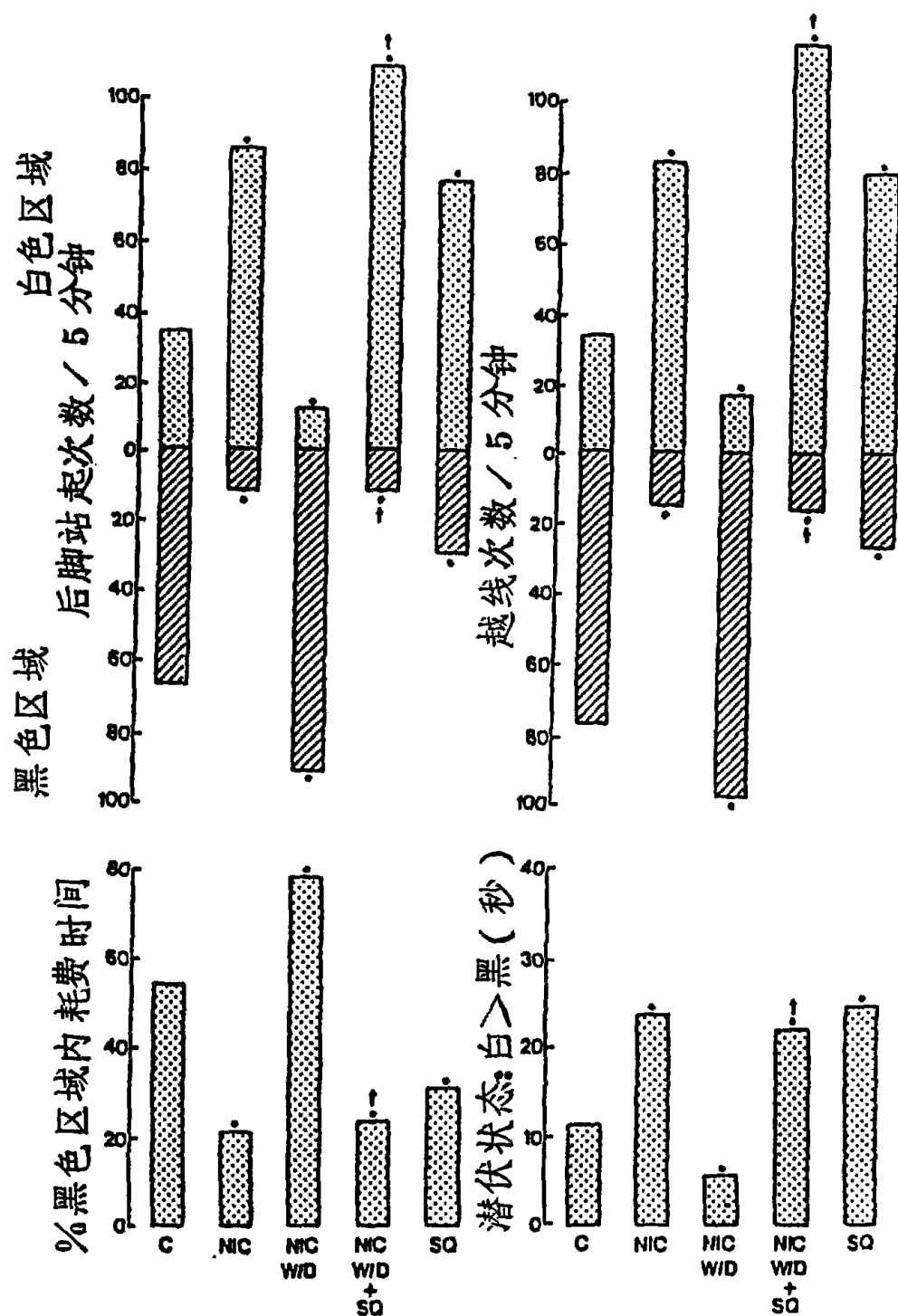
$n=5$. S.E.M.s < 12.3%. * $P < 0.001$ (与 C 比较)

$P < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生)

NIC = 尼古丁

CAP = 安定

图 18

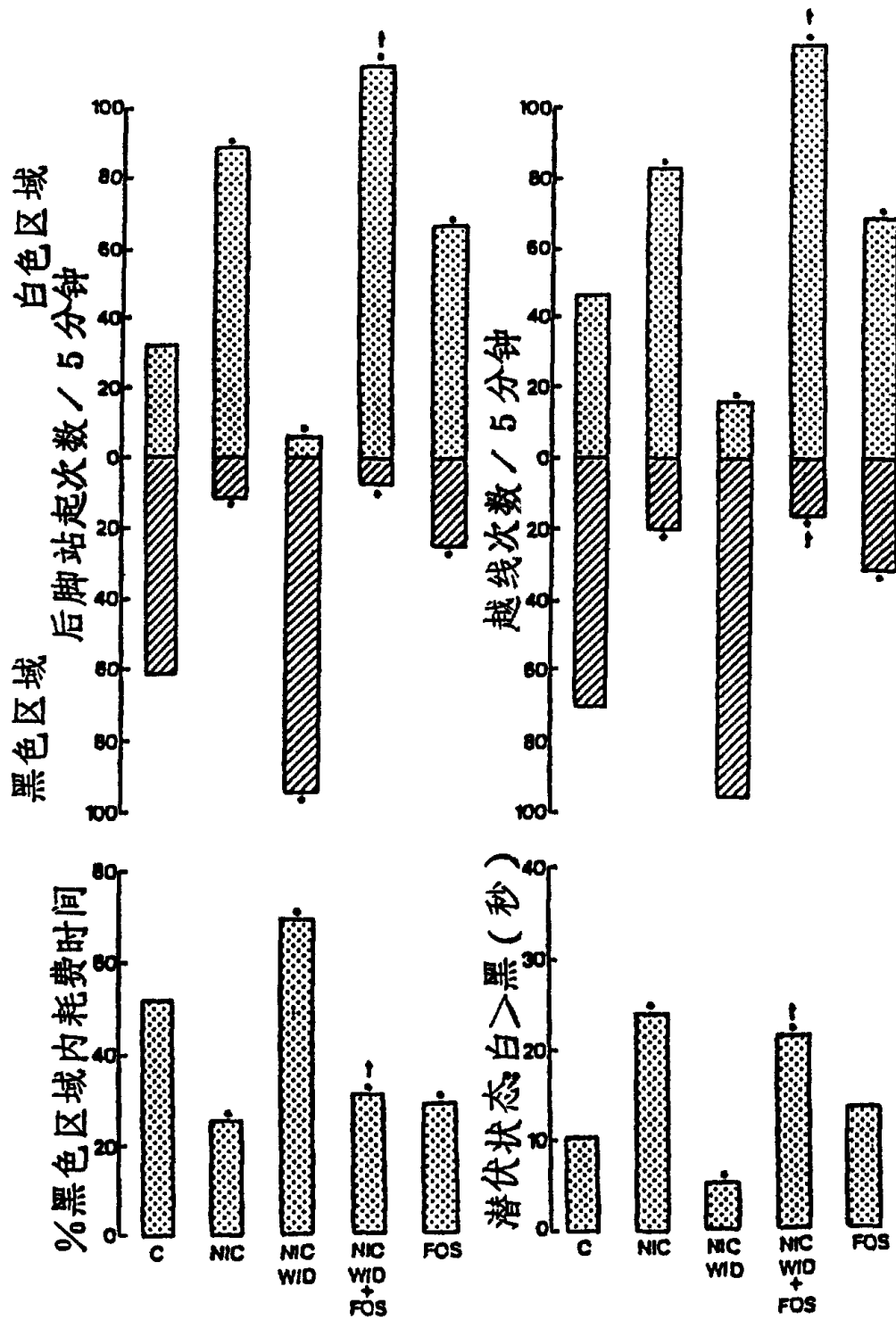


尼古丁摄入期的抗焦虑作用、停摄后焦虑产生及
SQ29852 对停摄后焦虑产生的拮抗作用

$n=5$, S.E.M.s < 11.7%, * $P < 0.001$ (与 C 比较),
† $P < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生)

图 19

图 20



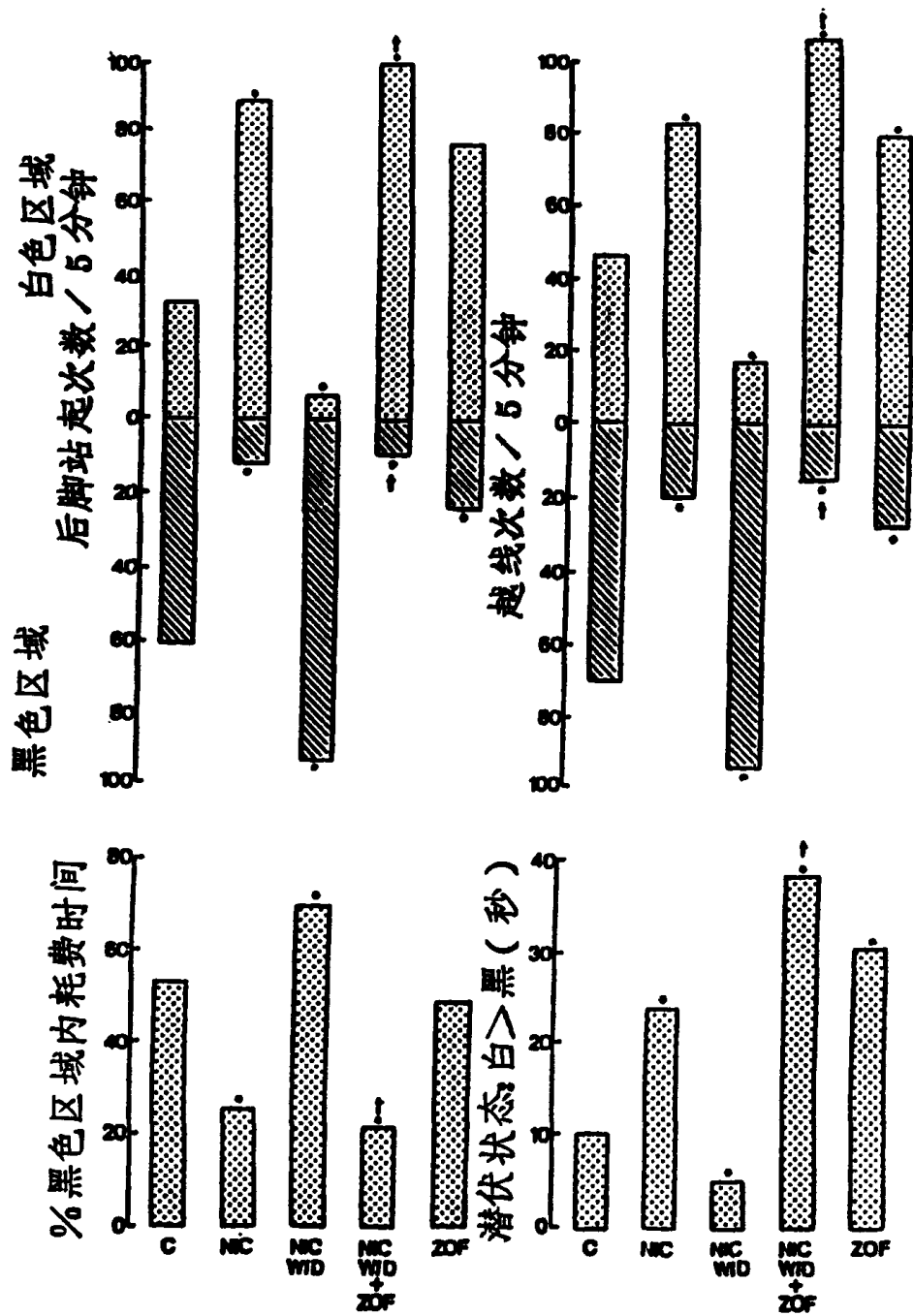
尼古丁摄入期的抗焦虑作用、停摄后焦虑产生及

fosinopril对停摄后焦虑产生的拮抗作用

n=5. S.E.M.s<12.6%. *P<0.01. P<0.001 (与C比较)

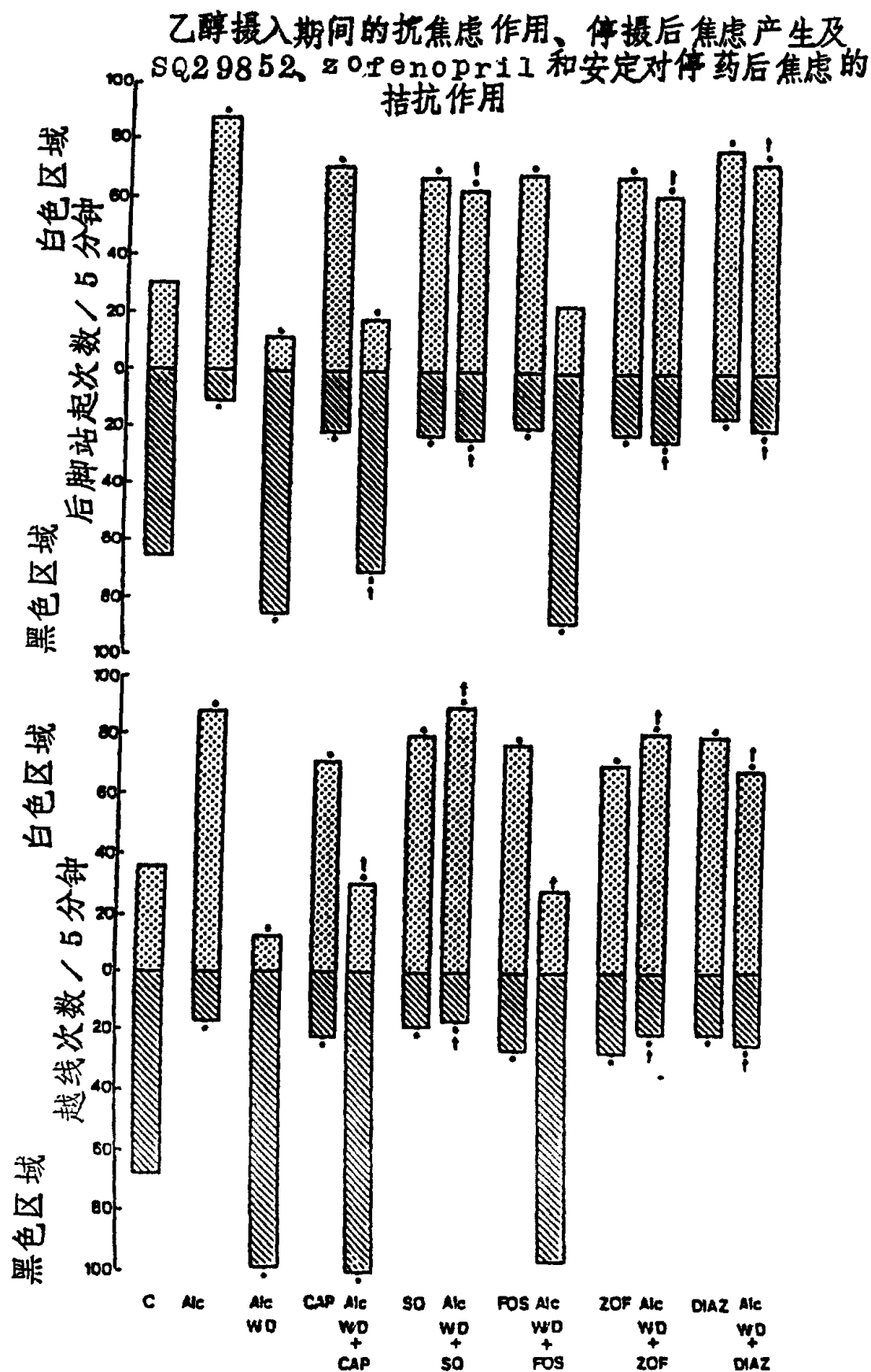
†P<0.001 (逆转停摄后焦虑产生)

图 2 1



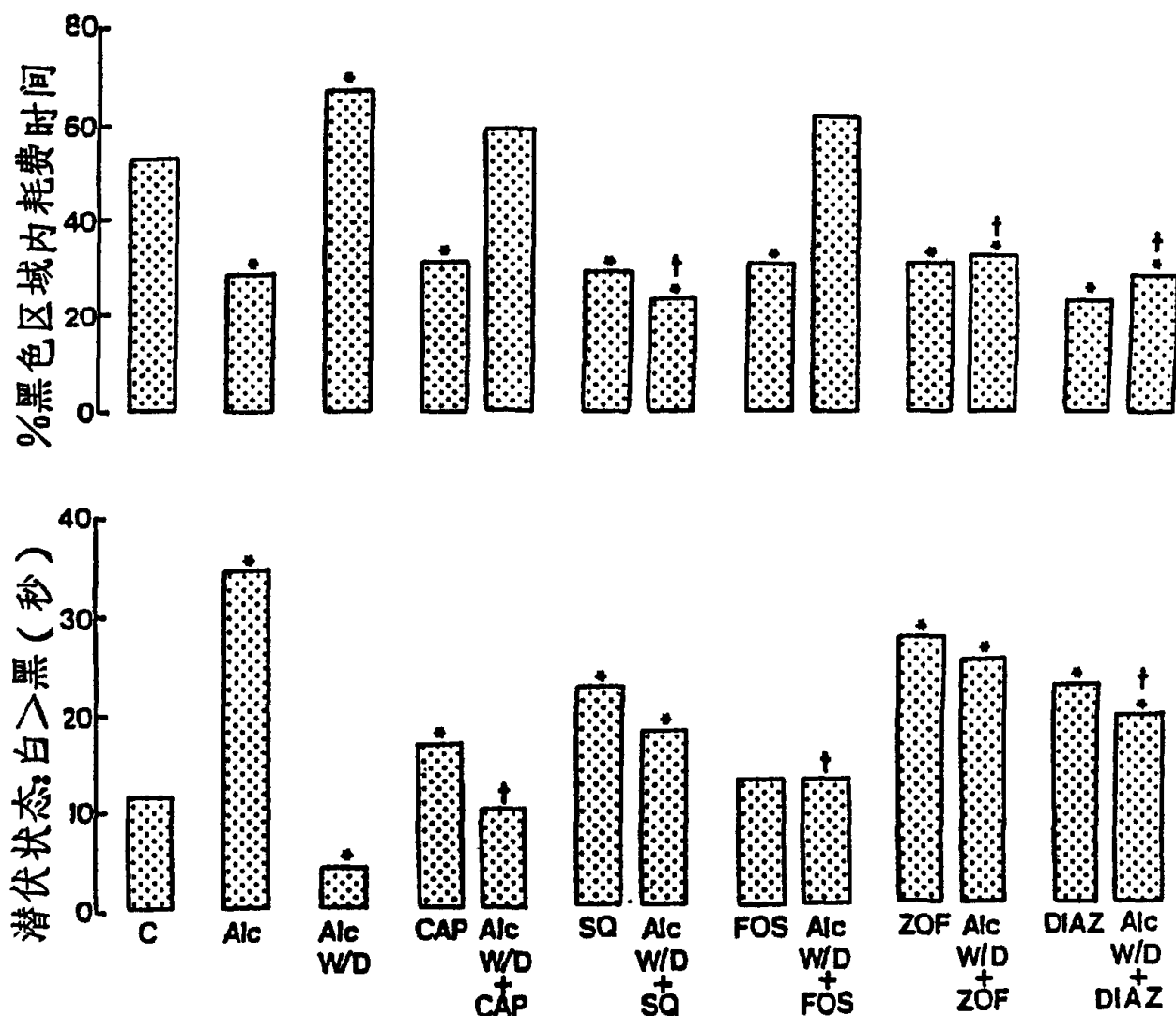
尼古丁摄入期的抗焦虑作用、停摄后焦虑产生及
zopenopril对停摄后焦虑产生的拮抗作用

n=5. S.E.M.s<12.2%. *P<0.001 (与 C 比较)
†P<0.001 (逆转停摄后焦虑产生)



$n=5$. S.E.M.s < 11.6%. * $P < 0.05$ - $P < 0.001$ (与 C 比较)
† $P < 0.01$ - $P < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生)

图 2 2

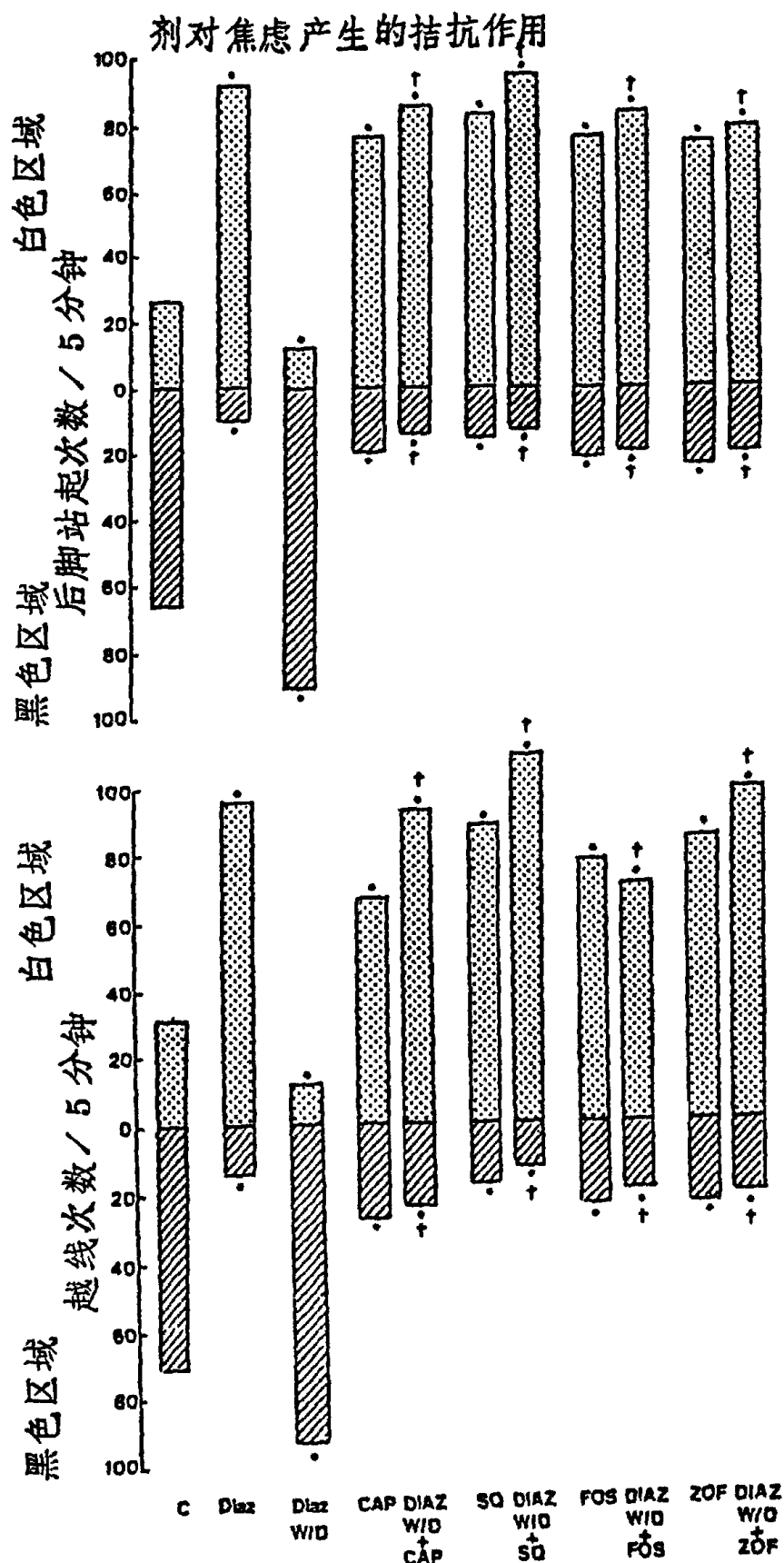


n=5. S.E.M.s<12.0%. *P<0.05-P<0.001 (与C比较)
 †P<0.01-P<0.001 (逆转停药后焦虑产生)

乙醇摄入期间的抗焦虑作用、停药后焦虑产生及SQ29852 ,
 zofenopril和安定对停药后焦虑的拮抗作用

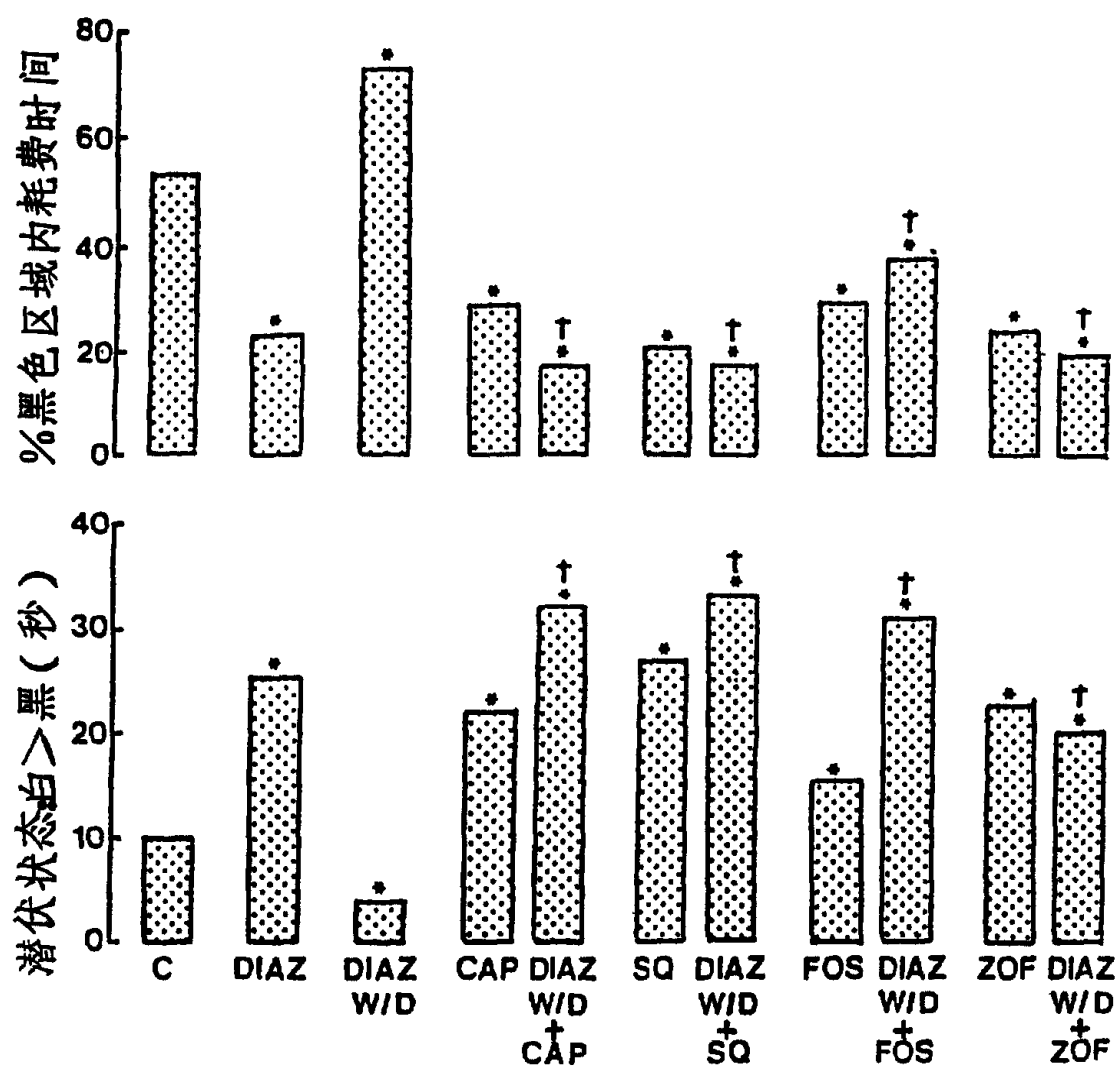
图 2 3

安定亚慢性处理时的抗焦虑作用、停药后的焦虑产生及ACE抑制



$n=5$. S.E.M.s $\leq 9.6\%$. * $P < 0.001$ (与 C 比较). † $P < 0.001$ (逆转停药后焦虑产生)

图 2 4



n=5. S.E.M.s <10.1%. *P<0.001 (与C比较). †P<0.001 (逆转停药后焦虑产生)

安定亚慢性处理时的抗焦虑作用、停药后焦虑产生及ACE抑制剂对停药后焦虑产生的拮抗作用

图 2 5

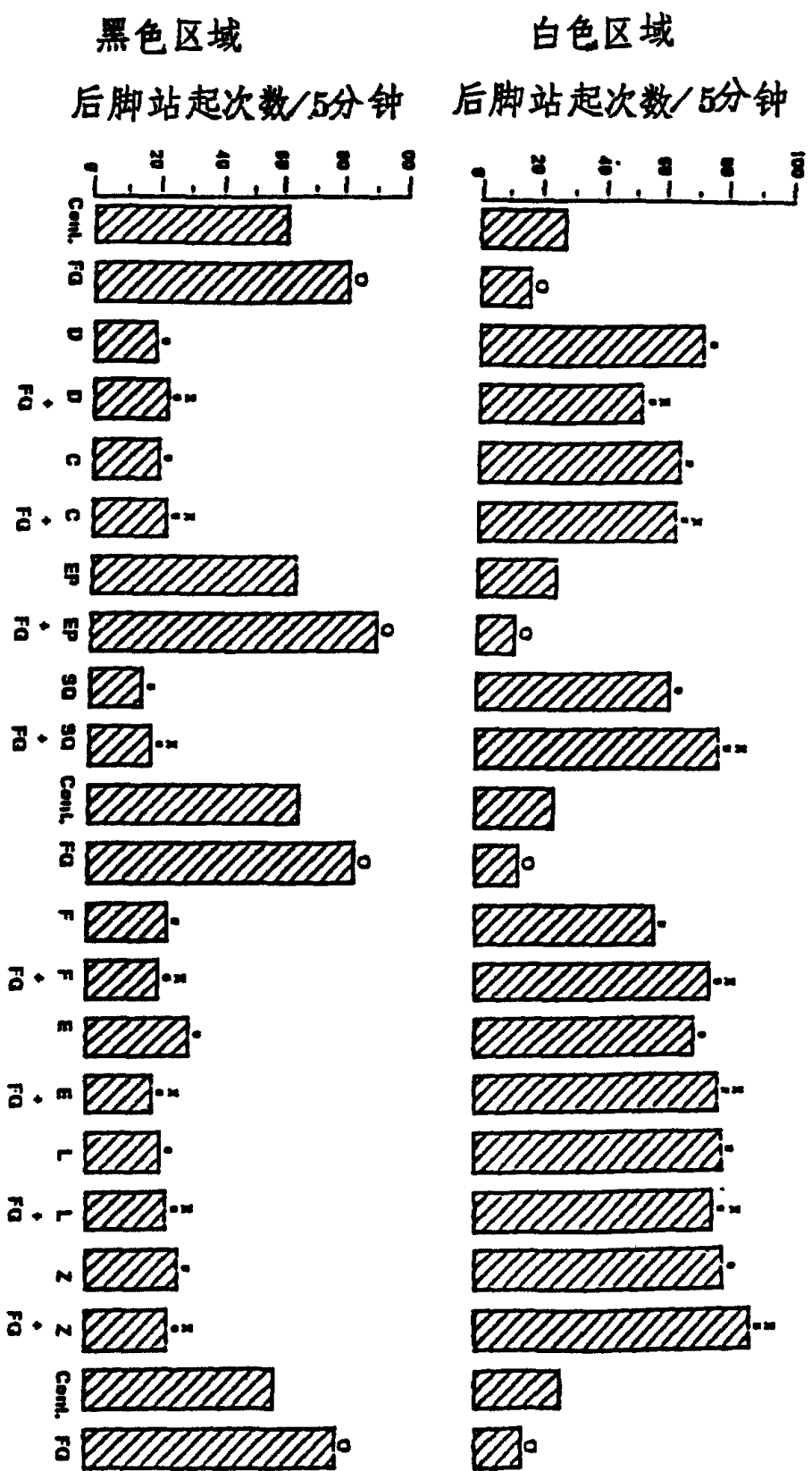


图 2 6

Cont.= 对照 (赋形剂) 1 ml/100 g i.p. 30 min, FG=FG7142 1 mg/kg i.p. 30 min, U= 安定 1 mg/kg i.p. 30 min, C=Captopril 10 mg/kg i.p. 45 min, EP=Epicaptopril 10 mg/kg i.p. 60 min, SQ=SQ29,852 1 mg/kg i.p. 60 min, F=Fosinopril 0.5 mg/kg i.p. 60 min, E=Enalapril 0.1 mg/kg i.p. 60 min, L=Lisinopril 0.1 mg/kg i.p. 60 min, Z=Zofenopril 1 mg/kg i.p. 60 min, n=5. S.E.M. 7.6-11.8%. $\circ P<0.01$ - $P<0.001$ (焦虑产生), $\ast P<0.001$ (抗焦虑), $\ast\ast P<0.001$ (拮抗 FG7142).

在小鼠黑白试验中 ACE 抑制剂拮抗 FG7142 引起焦虑的能力

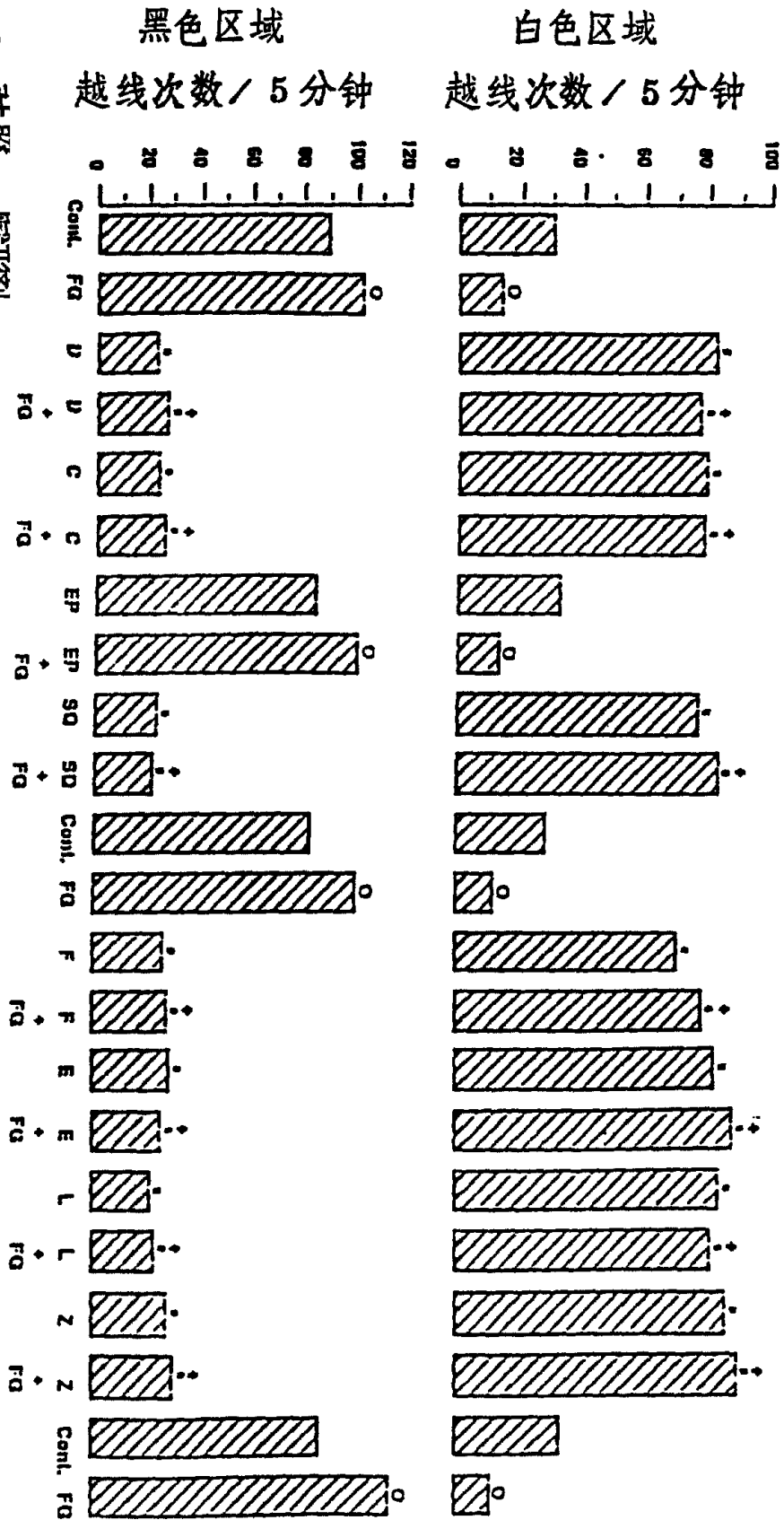


图 2 7

Cont.=对照 (麻醉剂) 1 ml/100 g (i.p. 30 min), FG=FG7142 1 mg/kg i.p. 30 min, D=安定 1 mg/kg i.p. 30 min, C=Captopril 10 mg/kg i.p. 45 min, EP=Epicaptopril 10 mg/kg i.p. 60 min, SQ=SQ29,852 1 mg/kg i.p. 60 min, F=Fosinopril 0.5 mg/kg i.p. 60 min, E=Enalapril 0.1 mg/kg i.p. 60 min, L=Lisinopril 0.1 mg/kg i.p. 60 min, Z=Zofenopril 1 mg/kg i.p. 60 min. n=5. S.E.M.s 10.3-12.1%. * $P<0.01$ - $P<0.001$ (焦虑产生), † $P<0.001$ (抗焦虑), ‡ $P<0.001$ (拮抗 FG7142).

在小鼠黑白试验中 ACE 抑制剂拮抗 FG7142 引起焦虑的能力

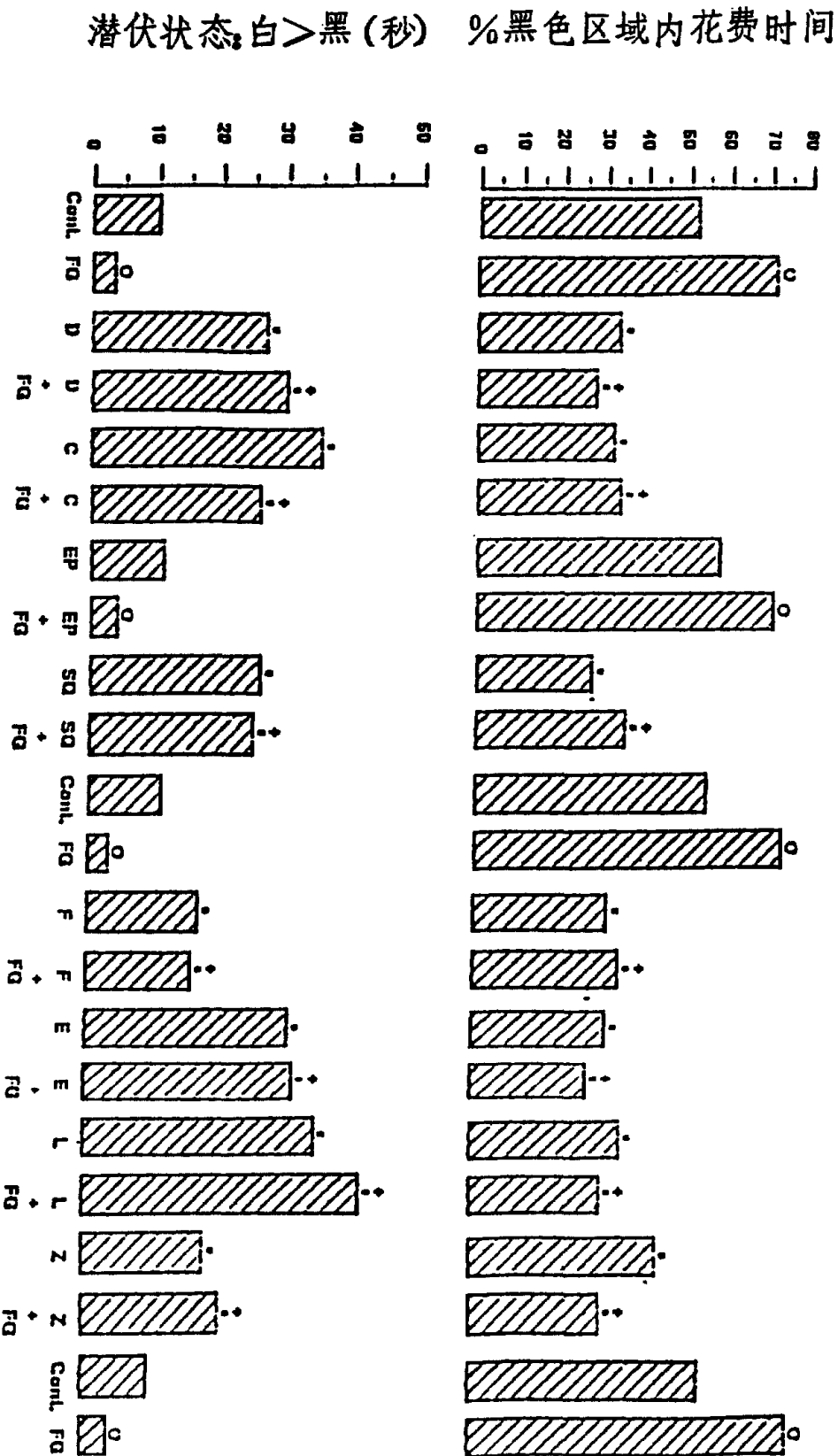
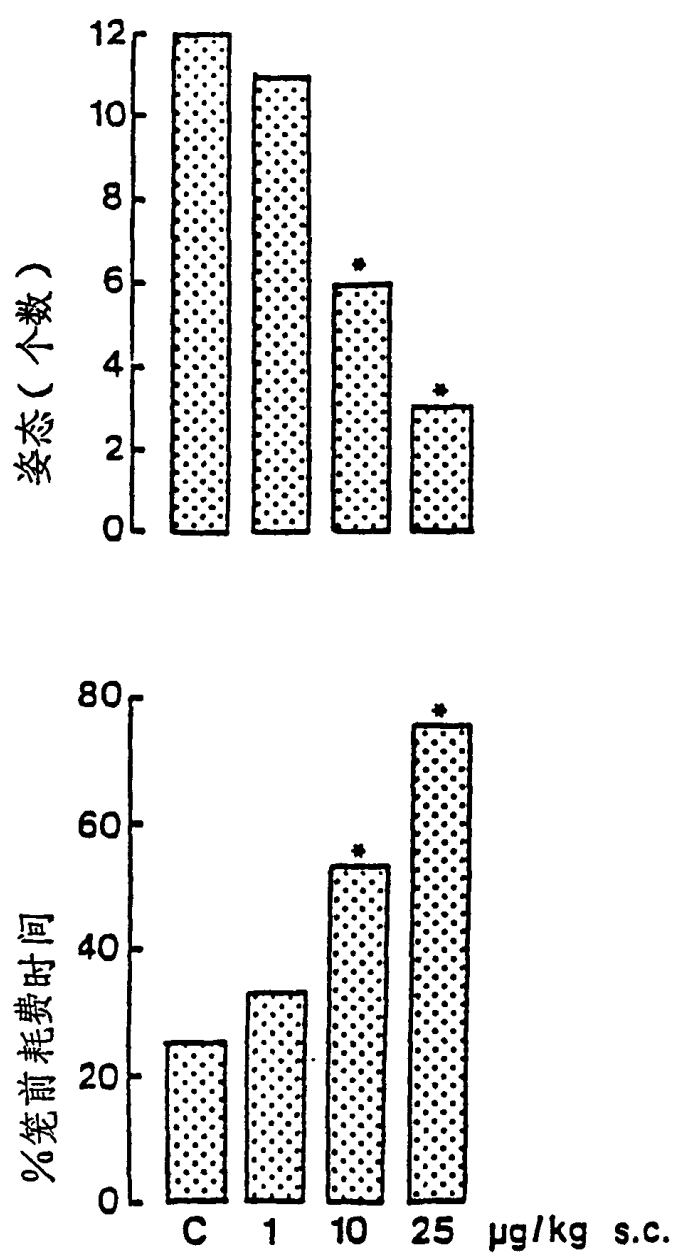


图 28

Cont.=对照 (赋形剂 1 ml/100 g l.p. 30 min), FG=FG7142 1 mg/kg l.p. 30 min, D=安定 1 mg/kg l.p. 30 min,
C=Captopril 10 mg/kg l.p. 45 min, EP=Epicaptopril 10 mg/kg l.p. 60 min, SQ=SQ29,052 1 mg/kg l.p. 60 min,
F=Fosinopril 0.5 mg/kg l.p. 60 min, E=Enalapril 0.1 mg/kg l.p. 60 min, L=Lisinopril 0.1 mg/kg l.p. 60 min,
Z=Zofenopril 1 mg/kg l.p. 60 min.
n=5. S.E.M.s 9.4-12.7%. * $P<0.01$ - $P<0.001$ (焦虑产生), * $P<0.001$ (抗焦虑), * $P<0.001$ (拮抗 FG7142).

720





在人恐吓猴试验中安定的抗焦虑强度

$n=4$

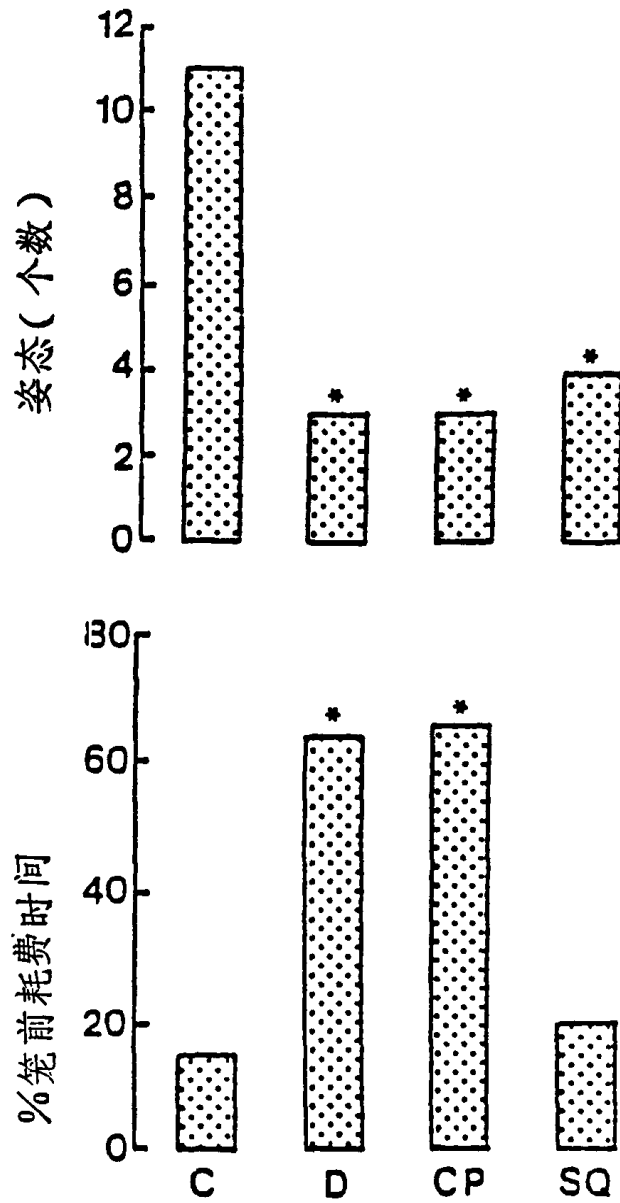
S.E.M.s < 10.9%

* $P < 0.01$ - $P < 0.001$

图 30

图 3 1

在人恐吓猴试验中检测的抗焦虑强度



C=赋形剂对照

D= 安定 0.25mg/kg s.c.

CP=Captopril 1.0mg/kg s.c.

SQ=SQ 29.852 0.1mg/kg s.c.

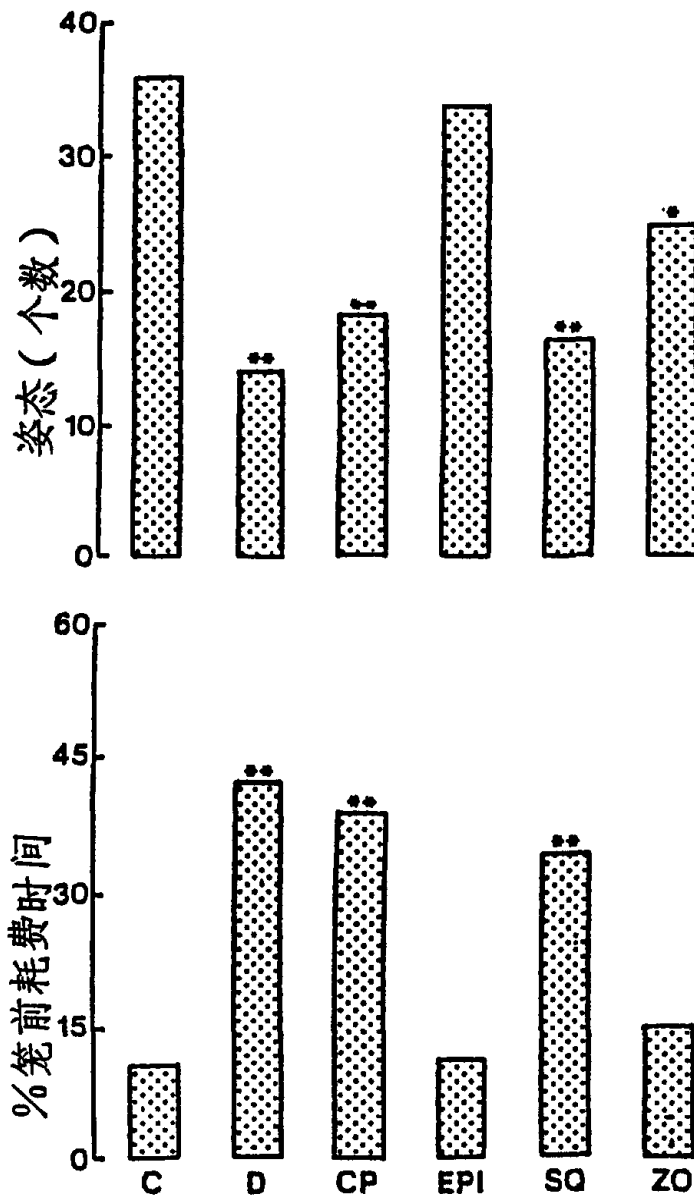
n=4

S.E.M.s<11.7%

*P<0.001

图 3 2

在人恐吓猴试验中检测的抗焦虑强度



C= 赋形剂对照

D= 安定 0.1mg/kg s.c.

CP=Captopril 1.0mg/kg s.c.

EPI=Epicaptopril 1.0mg/kg s.c.

SQ=SQ 29,852 0.1mg/kg s.c.

ZO=Zofenopril 0.1mg/kg s.c.

n=4. S.E.M.s<10.3%.

*P<0.05,**P<0.001.