



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94119735.2

[51]Int.Cl⁶

A61K 31/445

[43]公开日 1995年9月13日

[22]申请日 94.12.19

[30]优先权

[32]93.12.21 [33]US [31]168,482

[71]申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72]发明人 J·A·道奇

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 谭明胜 王景朝

A61K 31/38

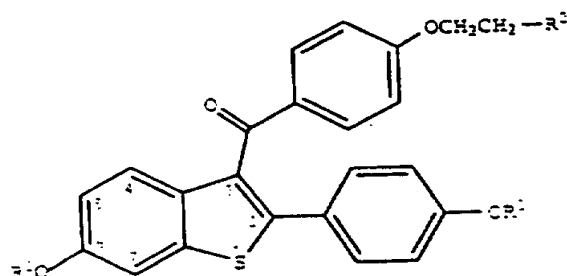
说明书页数:

附图页数:

[54]发明名称 抑制男性不育症的方法

[57]摘要

本发明提供了抑制男性不育症的方法,该方法包括给需要该治疗的人施用有效量的式 I 化合物及其可药用盐和溶剂化物,其中 R^1 和 R^3 独立地为氢, $-CH_3$, $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ (C_1-C_6 烷基) 或 $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-Ar$, 其中 Ar 是任意取代的苯基; R^2 选自吡咯烷基、六亚甲基亚氨基和哌啶子基。

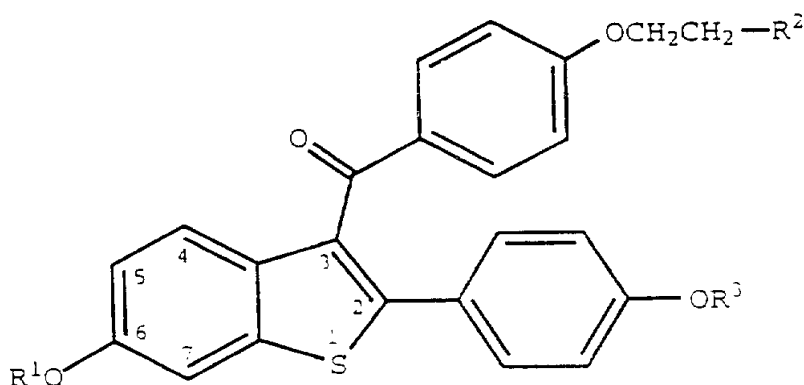


(I)

(BJ)第 1456 号

权利要求书

1. 适于抑制男性不育症的药物组合物, 它包含式 I 化合物或其可药用盐或溶剂化物作为活性成分,



(二)

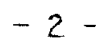
其中 R^1 和 R^3 独立地为氢、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ ($\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基) 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{Ar}$, 其中 Ar 是任意取代的苯基;

R^2 选自吡咯烷基、六亚甲基亚氨基和哌啶子基。

2. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述化合物是其盐酸盐。

3. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述组合物适用于预防性给药。

4. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述化合物是下式化合物或其盐酸盐。



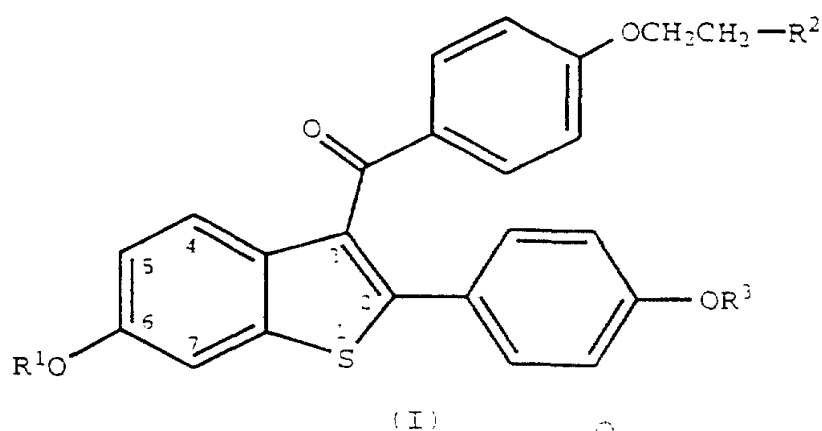
说明书

抑制男性不育症的方法

在美国估计五对夫妇中即有一对具有某种程度的不育症。不育症的定义是：在无保护性交一年内异性配偶不能实现怀孕 (Cecil Textbook of Medicine, W. B. Saunders Company, 第 19 版, 1339 - 1340 页, (1992))。主要的病因学因素包括排卵机能障碍、输卵管机能异常、宫颈因素和男性精子等因素 (The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck Research Laboratories, 第 16 版, 1768 - 1770 页, (1992))。估计在生殖年龄的男性中有 5 - 6% 不能生育。男性不育症的大多数原因是精子数异常或精液质量低。

与男性生育力有关的主要问题起源于睾酮含量发生变化。尤其是, 这种类固醇浓度的降低会导致不育症和阳萎。文献中已详细报道了内源性雌激素通过与雌激素受体相互反应可作为睾酮产生的调节因子 (Nozu, K. 等, J. Biol. Chem. 256, 1915 (1981); Brinkman, A. 等人, Endocrinology, 110, 1834 (1982))。因此, 随着抑制睾酮产生的雌激素含量的增加, 睾丸内的雌激素在睾酮甾类产生中起着重要作用 (Cigorraga, S. B. 等人, J. Clin. Invest. 65, 699 (1982); Padron, R. S. J., Clin. Endocrinol. Metab. 50, 1100 (1980))。需要新的治疗或预防男性不育症的方法。

本发明提供了抑制男性不育症的方法, 该方法包括给需要该治疗的人施用有效量的式 I 化合物及其可药用盐和溶剂化物,



其中 R^1 和 R^3 独立地为氢、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ ($\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基) 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{Ar}$ ，其中 Ar 是任意取代的苯基；

R^2 选自吡咯烷基 (pyrrolidino)、六亚甲基氨基和哌啶基。

本发明涉及发现所选的一组 2-苯基-3-芳酰基苯并噻吩类化合物 (各种苯并噻吩)，即式 I 化合物，可用于抑制男性不育症。本发明提供的治疗方法可进行如下：给需要治疗的人施用抑制男性不育症有效剂量的式 I 化合物或其可药用盐或溶剂化物。术语抑制定义为包括其通常可接受的含义，它包括对易患上述疾患的人预防性地治疗、控制和/或治疗已存在的疾患。就其本身而言，本发明方法包括医疗和/或(如果需要)预防性治疗。

本发明优选的化合物雷洛昔芬是其中 R^1 和 R^3 为氢且 R^2 为 1-哌啶基的式 I 化合物的盐酸盐，并且该化合物是核调节分子。雷洛昔芬已表明与雌激素受体结合，并且最初被认为是这样一种分子：即其功能和药理学是抗雌激素的功能和药理学，因为它阻断雌激素激活子宫组织和雌激素依赖型乳腺癌的能力。实际上，在某些细胞中雷洛昔芬的确阻断了雌激素的作用；然而在其他各类细胞中，雷洛昔芬激活了与雌激素激活的基因相同的基因并显示出同样的药理学（例如

骨质疏松、高脂血)。与通过雌激素-雌激素受体复合物活化和/或抑制基因相反, 雷洛昔芬所显示和不同于雌激素的独特的特征目前被认为是由于通过雷洛昔芬-雌激素受体复合物独特地活化和/或抑制了各种基因功能。因此, 尽管雷洛昔芬和雌激素利用和竞争同样的受体, 但是这两者调节基因的药理学结果是难以预见的并且是彼此不同的。据信, 本发明所述化合物阻断了雌激素对睾酮产生的抑制作用。

通常可以将本发明化合物与普通的赋形剂、稀释剂或载体一起配制, 并压成便于口服的片剂、或者配制成便于口服的酏剂或溶液剂; 或者通过肌肉或静脉途径给药。该化合物可以经皮给药, 并且可以配制成缓释剂型等剂型。

本发明方法中所使用的化合物可以按既定的方法 (例如 US 4, 133, 814、4, 418, 068 和 4, 380, 635 中所详述的方法, 这些专利引入本文作为参考) 制备。一般, 该方法用具有 6-羟基和 2-(4-羟基苯基) 基团的苯并 [b] 噻吩开始。将起始化合物保护、酰化并脱保护, 得到式 I 化合物。在上述美国专利中提供了这些化合物的制备实例。任意取代的苯基包括苯基和由 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 烷氧基、羟基、硝基、氯、氟或三(氯或氟) 甲基一次或二次取代的苯基。

用于本发明方法的化合物可以与各种有机和无机酸和碱反应生成药学上适用的酸和碱加成盐, 药学上适用的酸和碱加成盐包括通常用于制药化学中的生理上适用的盐。所述的盐也是本发明的一部分。生成所述盐的常用无机酸包括氢氯酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、硫酸、磷酸、连二磷酸等。也可使用由有机酸得到的盐, 可以应用的有机酸有例如脂肪族一和二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸和羟基

链烷二酸, 芳香族酸、脂肪族和芳香族磺酸。因此所述药学上适用的盐包括乙酸盐、苯乙酸盐、三氟乙酸盐、丙烯酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、邻-乙酰氧基苯甲酸盐、萘-2-苯甲酸盐、溴化物、异丁酸盐、苯丁酸盐、 β -羟基丁酸盐、丁炔-1, 4-二酸盐、己炔-1, 4-二酸盐、癸酸盐、辛酸盐、氯化物、肉桂酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、富马酸盐、羟基乙酸盐、庚酸盐、马尿酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、异烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、丙炔酸盐、丙酸盐、苯丙酸盐、水杨酸盐、癸二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、焦硫酸盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磺酸盐、苯磺酸盐、对溴苯磺酸盐、氯苯磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、甲磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、对甲苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、酒石酸盐等。优选的盐是盐酸盐。

药学上适用的酸加成盐通常由式 I 化合物与等摩尔或过量的酸反应制得。通常使反应物于互溶剂如乙醚或苯中进行化合。盐通常约在约 1 小时至 10 天内从溶液中析出, 可经过滤分离, 或可按常规方法除去溶剂。

通常用于形成盐的碱包括氢氧化铵、碱金属和碱土金属氢氧化物、碳酸盐, 以及脂肪族伯、仲和叔胺, 脂肪族二胺。在制备加成盐中尤其适用的碱包括氢氧化铵、碳酸钾、甲胺、二乙胺、1, 2-乙二胺和环己胺。

与衍生它们的化合物相比较, 所述药学上适用的盐通常具有提

高溶解度的性能, 因此常常更适用于配制成液体剂或乳剂。

药用制剂可以按本领域已知的方法制备。例如, 可将该化合物与普通的赋形剂、稀释剂或载体进行配制, 并可制成片剂、胶囊、悬浮液、粉剂等。适用于上述制剂的赋形剂、稀释剂和载体的实例包括如下: 填充剂和增量剂如淀粉、糖类、甘露糖醇和硅衍生物; 粘合剂如羧甲基纤维素和其他纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮; 润湿剂如甘油; 崩解剂如碳酸钙和碳酸氢钠; 阻滞溶解剂如石蜡; 吸收促进剂如季铵化合物; 表面活性剂如鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯; 吸附载体如高岭土和膨润土; 润滑剂如滑石、硬脂酸钙和硬脂酸镁, 以及固体聚乙二醇类。

所述化合物也可以配制成便于口服给药的酏剂或溶液剂, 或适于非肠道给药的溶液剂, 例如经肌肉、皮下或静脉内途径给药。此外, 所述化合物也非常适合配制成缓释剂型等剂型。该制剂也可这样构成, 以使它们仅仅或最好在肠道的特定部位, 可能在一定的时间内释放活性成分。包衣、包膜和保护基质可以由例如聚合物物质或蜡制成。

根据本发明, 抑制男性不育症所需要的式 I 化合物的具体剂量取决于疾病的严重程度、给药途径和有关因素, 这些将由主治医生确定。一般来讲, 每天可接受的和有效的剂量为约 0.1 ~ 约 1000mg/天, 更通常为约 50 ~ 约 200mg/天。对需治疗的患者给药的上述剂量可为每天 1 次 ~ 约 3 次, 或为了有效地治疗所述疾患需要更经常地服用。

正如给药带有碱基 (如嘧啶子基环) 的药物所习用的那样, 通常最好给药酸加成盐形式的式 I 化合物。通过口服途径给药本发明化合物也是有利的。为此目的, 以下口服剂型是适用的。

制剂

在以下制剂中,“活性成分”是指式 I 化合物。

制剂 1: 明胶胶囊

用下列成分制备硬明胶胶囊:

成 分	用量(mg/胶囊)
活性成分	0.1-1000
淀粉,NF	0-650
可流动的淀粉粉末	0-650
硅氧烷流体(350厘施)	0-15

将各成分混合,通过美国 45 号筛,并装填入硬明胶胶囊。

已制备的其中 R^2 是哌啶子基的式 I 化合物(雷洛昔芬)的具体胶囊制剂的实例包括如下所示那些:

制剂 2: 雷洛昔芬胶囊

成 分	用量(mg/胶囊)
雷洛昔芬	1
淀粉,NF	112
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体(350厘施)	1.7

制剂 3: 雷洛昔芬胶囊

成 分	用量(mg/胶囊)
雷洛昔芬	5
淀粉,NF	108
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体(350厘施)	1.7

制剂 4: 雷洛昔芬胶囊

成 分	用量(mg/胶囊)
雷洛昔芬	10
淀粉,NF	103
可流动的淀粉粉末	225.3
硅氧烷流体(350厘施)	1.7

制剂 5: 雷洛昔芬胶囊

成 分	用量(mg/胶囊)
雷洛昔芬	50
淀粉,NF	150

可流动的淀粉粉末	397
硅氧烷流体(350厘施)	3.0

可以对上述具体的制剂进行合理的改变。

用下述成分制备片剂:

制剂 6: 片剂

成 分	用量(mg/ 片)
活性成分	0.1~1000
微晶纤维素	0~650
煅制二氧化硅	0~650
硬脂酸	0~15

将上述成分混合, 并压成片剂。

另外, 每片含 0.1~1000mg 活性成分 的片剂按以下方法制备:

制剂 7: 片剂

成 分	用量(mg/ 片)
活性成分	0.1~1000
淀粉	45
微晶纤维素	35
聚乙烯吡咯烷酮(为10%的水溶液)	4

羧甲基纤维素钠	4.5
硬脂酸镁	0.5
滑石	1

将活性成分、淀粉和纤维素通过美国 45 号筛并充分地混合。将聚乙烯吡咯烷酮溶液与得的粉末混合, 然后通过美国 14 号筛。将制备的颗粒于 $50^{\circ}\sim 60^{\circ}\text{C}$ 干燥, 并通过美国 18 号筛。然后将预先通过美国 60 号筛的羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁和滑石加入此颗粒中, 混合后将颗粒在压片机上压片, 得到片剂。

每 5ml 剂量各含 0.1~1000mg 药物的各个悬浮液按下法制备:

制剂 8: 悬浮液剂

成 分	用量(mg/5ml)
活性成分	0.1~1000mg
羧甲基纤维素钠	50mg
糖浆	1.25mg
苯甲酸溶液	0.10ml
调味剂	适量
着色剂	适量
纯化水	加至 5ml

将药物通过美国 45 号筛, 并与羧甲基纤维素钠和糖浆混合制成调匀的糊状物。苯甲酸溶液、调味剂和着色剂用一部分水稀释, 并在

搅拌下加入糊状物中。然后加入足量的水至产生所需体积。

测定法

测定法 I

在 Cigorraga 等人的 J. Clin Invest, 65, 699 - 705 (1980 年 3 月) 中描述了下列测定法, 该文献引入本文作为参考。

得到 5 - 50 只雄性大鼠 (200 ~ 250g)。通过静脉注射 hCG 或皮下注射 GnRH 实现促性腺激素引起的莱迪希细胞的脱敏作用。在对照组中并在皮下给药 LH 释放 - 激素前, 在静脉注射 hCG 的同时施用式 I 化合物或单独使用。在注射促性腺激素或 GnRH 后 2 或 3 天将动物断头处死, 通过胶原酶消化作用从正常的和处理过的动物的睾丸制备间质细胞。通过密度梯度离心法将细胞进一步分级, 得到含有 90% 以上莱迪希细胞的纯化的细胞制剂 (根据形态学标准和代谢应答判断)。将纯化的莱迪希细胞洗涤一次, 并再悬浮于含 0.1% 牛血清白蛋白的培养基中。培养基与细胞的比例相当于 2ml/睾丸, 得到约 10^6 个纯化的莱迪希细胞/ml。

将莱迪希细胞与纯化的 hCG 或双丁酰环 (c) AMP (Bt_2cAMP) 一起培养。当要测定孕烯醇酮累积时, 向细胞培养物中加入 3β - 羟基类固醇脱氢酶和 17 - 羟化酶, 然后加入刺激物; 对照培养物进行相似的处理。

在下列处理后还对以下各组大鼠进行研究: (a) 对照组; (b) 静脉注射 hCG 组; (c) 静脉和肌肉注射 hCG 加式 I 化合物组; (d) 皮下注射 hCG 组。在注射后在所选时间杀死大鼠。使从断头处死的动物收集的血样凝结, 并在进行睾酮分析前将所述血清贮存于 -70°C 。取出睾丸并冷冻, 直至进行雌二醇 17β 、睾酮、孕酮和 17α - 羟基孕酮的

分析。

类固醇和血清 hCG 的测定法

将剥除被膜的睾丸在 PBS/睾丸中打成匀浆,并在加入痕量 H-类固醇以对分级过程中损失的量计数之后用乙酸乙酯萃取。测量睾酮,并且在分离类固醇之后测定睾丸提取物和血清的睾酮含量。用对 11-半琥珀酸盐白蛋白衍生物高度专一性的兔抗血清测量孕烯醇酮。用 3-羧甲基脲衍生物的抗血清进行 17α -羟基孕酮的放射免疫分析。用对与牛血清白蛋白共轭的 6-酮基雌二醇高度专一性的兔抗血清进行 17β -雌二醇测定。测量免疫反应性血清 hCG 浓度。

测定分散的莱迪希细胞中 LH 受体

放射碘化 hCG 示踪物通过乳过氧化物酶方法制备并经琼脂糖-伴刀豆球蛋白 A 色谱法纯化。在 34°C 将纯化的莱迪希细胞 (5×10^5 个) 与 $5 \times 10^5 \text{ dpm } ^{125}\text{I-hCG}$ (特异活性 $40 \mu\text{Ci}/\mu\text{g}$) 一起培养 3 小时,同时加入 hCG 以确保受体饱和。在未标记的 hCG 存在下通过将细胞与标记的激素一起培养来测定非特异性结合。计算所有结合能力,以重复估计饱和时特异性 $^{125}\text{I-hCG}$ 结合,同时校正示踪物制剂的特异活性和最大结合能力。计算每一试验组的平均结合能力,并以占对照值的百分数表示,或者以每细胞的受体位点数表示。

细胞 LH 受体和/或睾酮应答的增加,或者防止 hCG 脱敏动物的莱迪希细胞中最大睾酮应答的降低说明了式 I 化合物的活性。

测定法 II

选择 5-50 名男性进行临床研究。这些男性总的来说是健康的,但是患有不育症。该研究设安慰剂对照组,即将这些男性分为两组,其中一组接受本发明的活性药剂,另一组接受安慰剂。在此项研究中

对所有男性均测定其精子的质量和数量的基准值。试验组的男性每天口服接受 50 - 200mg 该活性药剂。该治疗对其持续 3 - 12 个月。记录有关两组基准点的精确数据,并在研究结束时对其进行比较。在每组各受试者之间进行结果比较,并且还将每位患者的结果与研究开始前每位患者的基准点进行比较。

在至少一个上述测定法中所得到的本发明化合物的确定效果说明了其效用。