



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2142193 B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

A61P 25/26 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

C07D 295/08 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2011.05.09
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet:	2011.01.19
(86)	Europeisk søknadsnr:	08715617.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.03.14
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.01.13
(30)	Prioritet	2007.03.20 DK 200700427 2007.06.15 PCT/DK2007/050075
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
	Utpekte samarbeidende stater:	AL BA MK RS
(73)	Innehaver	H. Lundbeck A/S, Ottiliavej 92500 Valby-Copenhagen, Danmark
(72)	Oppfinner	MOORE, Nicholas, 441 George StRidgewood, New Jersey 07450, USA STENSBØL, Tine, Bryan, Evavej 21DK-3500 Værløse, Danmark
(74)	Fullmektig	Plougmann & Vingtoft, Postboks 1003 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	I-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)fenyl]piperazin som en forbindelse med kombinert serotonin-reopptak, 5-HT3- og 5-HT1A-aktivitet for behandlingen av smerte eller residuale symptomer ved depresjon relatert til søvn og kognisjon
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A-03/029232 B1, WO-A-2007/144005 B1, WO-A-03/053942 B1

Bakgrunn

Forbindelsen 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin er beskrevet i den internasjonale patentsøknaden WO 03/029232. Forbindelsen er angitt å være en inhibitor av serotonintransporteren samt å ha affinitet for serotoninreseptoren 2C (5-HT_{2C}), og som sådan være nyttig i behandlingen av sinnsstemningslidelser, slik som depresjon og angst.

Som vist i eksemplene, har imidlertid forbindelsen en bredere farmakologisk profil som også gjør forbindelsen nyttig i behandlingen av andre sykdommer. Denne farmakologiske profilen har også blitt beskrevet i den internasjonale patentsøknaden WO 2007/144005 sammen med anvendelsen av nevnte forbindelse for behandlingen av ytterligere sykdommer.

Oppfatningen av smerte er mer komplisert enn en direkte overføring av signaler fra en skadet del av kroppen til spesifikke reseptorer i hjernen, og hvor den opplevde smerten er proporsjonal med skaden. Snarere kan skade på perifert vev og skade på nerver forårsake endringer i de sentrale nervestrukturene som er involvert i smerte-persepsjon og påvirke etterfølgende smertefølsomhet. Denne nevroplastisitet kan fremkalle en sentral sensibilisering som svar på lengre varende skadelige stimuli, som kan manifestere seg som f.eks. kronisk smerte, dvs. at persepsjonen av smerte blir værende selv etter at den skadelige stimulus har stoppet, eller som hyperalgesi, dvs. en økt respons på en stimulus, som er normalt smertefull. Et av de mer mystiske og dramatiske eksempler på dette er "fantomlemsyndromet", dvs. vedvarenheten av smerte som eksisterte i et lem før dets amputasjon. For en nyere oversikt over sentral nevroplastisitet og smerte se Melzack et al in *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 933, 157-174, 2001.

Kronisk smerte, slik som nevropatisk smerte manifesterer seg annerledes enn andre typer smerte, f.eks. somatisk eller visceral smerte. Smerten beskrives ofte som skytende, brennende, stikk og nåler, nummenhet eller stikkende. Vanlige årsaker til nevropatisk smerte inkluderer alkoholisme, amputasjon, rygg-, ben- og hofte-

problemer, kjemoterapi, diabetes, HIV, multippel sklerose, ryggradskirurgi og herpes zoster-virusinfeksjon.

Den sentrale komponenten i kronisk smerte kan forklare hvorfor kronisk smerte, slik som f.eks. nevropatisk smerte ofte reagerer dårlig på klassiske analgetika, slik som ikke-steroidale antiinflammatoriske legemidler (NSAIDS) og opioide analgetika. Tricykliske antidepressiva (TCA), eksemplifisert ved amitrylin, har blitt standard for behandlingen av nevropatisk smerte, og virkningen er antatt å være mediert av den kombinerte hemmende effekten på serotonintransporteren og norepinefrin-transporteren [*Clin Ther.*, 26, 951-979, 2004]. Mer nylig har de såkalte dobbelt virksomme antidepressiva som har en hemmende virkning på både serotonin- og norepinefrin-reopptaket blitt anvendt klinisk for behandlingen av nevropatisk smerte [*Human Psychopharmacol.*, 19, S21-S25, 2004]. Eksempler på dobbelt virksomme antidepressiva er venlafaxin og duloksetin, og denne klassen antidepressiva vises ofte til som SNRI.

Data på anvendelsen av selektive serotonin-reopptaksinhibitorer (SSRI) for nevropatisk smerte er knappe, men antyder generelt en begrenset virkning [*Bas. Clin. Pharmacol.*, 96, 399-409, 2005]. Faktisk har det blitt antatt at SSRI'er bare er svakt antinociseptive i og av seg selv, men at hemming av serotonintransporteren forsterker den antinociseptive virkningen av norepinefrin-reopptakshemming. Denne forestillingen støttes av en oversikt over 22 dyre- og fem humanstudier som viser at SNRI'er har bedre antinociseptiv virkning sammenlignet med norepinefrin-reopptaksinhibitorer, som igjen er bedre enn SSRI [*Pain Med.* 4, 310-316, 2000].

Anvendelsen av tricykliske antidepressiva er imidlertid forbundet med kjente, antikolinergiske bivirkninger, slik som f.eks. døsighet, angst, rastløshet, og kognitive og hukommelsesvansker. Således er det et behov i faget for å finne alternative måter for behandling av smerte.

Deprimerte pasienter som mottar antidepressiva, slik som f.eks. SSRI'er reagerer ofte bare delvis på behandlingen i den forstand at symptomer, som spesielt vedrører

søvn og kognisjon, blir værende [*J.Psychopharmacol.*, 20(3), 29-34, 2006]. Disse resterende symptomene øker risikoen for tilbakefall og er til generell forstyrrelse for pasienten.

Oppsummering av oppfinnelsen

I en utførelsesform vedrører oppfinnelsen 1-[2-(2,4-dimetylphenyl-sulfanyl)fenyl]-piperazin og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav for anvendelse i behandlingen av smerte.

Figurer

Figur 1: XRPD av krystallinsk base av forbindelse I

Figur 2: XRPD av alfaformen av hydrobromidsalt av forbindelse I

Figur 3: XRPD av betaformen av hydrobromidsalt av forbindelse I

Figur 4: XRPD av gammaformen av hydrobromidsalt av forbindelse I

Figur 5: XRPD av hemihydrat av hydrobromidsalt av forbindelse I

Figur 6: XRPD av blandingen av etylacetatsolvatet og alfaformen av hydrobromidsaltet av forbindelse I

Figur 7: XRPD av hydrokloridsalt av forbindelse I

Figur 8: XRPD av monohydrat av hydrokloridsalt av forbindelse I

Figur 9: XRPD av mesylatsalt av forbindelse I

Figur 10: XRPD av fumaratsalt av forbindelse I

Figur 11: XRPD av maleatsalt av forbindelse I

Figur 12: XRPD av meso-tartratsalt av forbindelse I

Figur 13: XRPD av L-(+)-tartratsalt av forbindelse I

Figur 14: XRPD av D-(-)-tartratsalt av forbindelse I

Figur 15: XRPD av sulfatsalt av forbindelse I

Figur 16: XRPD av fosfatsalt av forbindelse I

Figur 17: XRPD av nitratsalt av forbindelse I

Figur 18: Virkning av forbindelse I i den intradermale formalintesten. X-akse viser mengden av administrert forbindelse; Y-akse viser omfanget av tid (sek) brukt på

slikking av poten. Figur 18a: Respons i 0-5-minutters perioden; Figur 18b: Respons i 20-30-minutters perioden.

Figur 19a: Ekstracellulære acetylkolinnivåer i prefrontal cortex hos frittgående rotter ved administrasjon av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt.

Figur 19b: Ekstracellulære acetylkolinnivåer i ventral hippocampus hos frittgående rotter ved administrasjon av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt.

Figur 20: Virkning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt på kontekstuell fryktbehandling i Sprague-Dawley-rotter når gitt 60 minutter før akkvisisjon. Frysende atferd ble bedømt under 58-s tilvenningsperiode før fotsjokket US (pre-sjokk-akkvisisjon) (*hvite stolper*). Frysende atferd ble målt 24 h etter treningen (retensjonstest) (*svarte stolper*).

Figur 21: Virkning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt på kontekstuell fryktbehandling i Sprague-Dawley-rotter når gitt 1 t før retensjonstest. Frysende atferd ble bedømt under 58-s, før fotsjokket US (akkvisisjon) (*hvite stolper*). Frysende atferd ble målt 24 h etter treningen (retensjonstest) (*svarte stolper*).

Figur 22: Virkning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt på kontekstuell fryktbehandling i Sprague-Dawley-rotter når gitt umiddelbart etter akkvisisjonen. Frysende atferd ble bedømt under 58-s, før fotsjokket US (pre-sjokk akkvisisjon) (*hvite stolper*). Frysende atferd ble målt 24 h etter treningen (retensjonstest) (*svarte stolper*).

Figur 23: Endring i HAM-D-vurderingen punkt 4 (Insomni Tidlig) for placebo, 5 mg og 10 mg forbindelse I (HBr-salt) over 6 uker. Det var omtrent 100 pasienter i hver gruppe

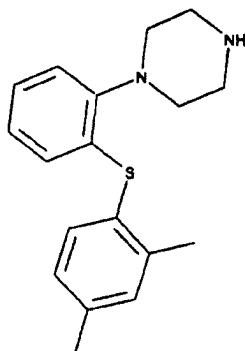
Figur 24: Endring i HAM-D-vurderingen punkt 5 (Insomni Midt) for placebo, 5 mg og 10 mg forbindelse I (HBr-salt) over 6 uker. Det var omtrent 100 pasienter i hver gruppe

Figur 25: Endring i HAM-D-vurderingen punkt 6 (Insomni Sen) for placebo, 5 mg og 10 mg forbindelse I (HBr-salt) over 6 uker. Det var omtrent 100 pasienter i hver gruppe.

Figur 26: Virkning av forbindelse I på tilbaketrekkingsterskel i en kronisk konstriksjonsskademodell for rotte

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Oppfinnelsen vedrører anvendelsen av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]-piperazin og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav (forbindelse I). Strukturen til 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin er



I en utførelsesform er nevnte farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter syreaddisjonssalter av syrer som er ikke-toksiske. Nevnte salter inkluderer salter laget av organiske syrer, slik som malein-, fumar-, benzo-, askorbin-, rav-, oksal-, bis-metylen-salisyl-, metansulfon-, etandisulfon-, eddik-, propion-, vin-, salisyl-, sitron-, glukon-, melke-, eple-, mandel-, kanel-, metylmalein-, aspargin-, stearin-, palmitin-, itakon-, glykol-, p-aminobenzo-, glutamin-, benzensulfon-, teofyllineddiksyrer, samt 8-haloteofylliner, for eksempel 8-bromteofyllin. Nevnte salter kan også lages fra uorganiske salter, slik som salt-, hydrobrom-, svovel-, sulfamid-, fosfor- og salpetersyrer. Spesielt skal nevnes salter laget fra metansulfonsyre, maleinsyre, fumarsyre, meso-vinsyre, (+)-vinsyre, (-)-vinsyre, saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, fosforsyre og salpetersyre. Særsilt skal det nevnes hydrobromidsaltet.

Orale doseringsformer, og spesielt tabletter, foretrekkes ofte av pasientene og den praktiserende legen på grunn av administrasjonslettheten og den konsekvent bedre overensstemmelsen. For tabletter er det foretrukket at de aktive ingredienser er krystallinske. I en utførelsesform er forbindelsen I krystallinsk.

I en utførelsesform er krystallene anvendt i foreliggende oppfinnelse solvater, dvs. krystaller hvori løsningsmiddel-molekyler danner del av krystallstrukturen. Solvatet kan være dannet fra vann, i hvilket tilfelle solvatene ofte vises til som hydrater. Alternativt kan solvatene være dannet fra andre løsningsmidler, slik som f.eks. etanol, aceton eller etylacetat. Den nøyaktige mengden solvat avhenger ofte av betingelsene. For eksempel vil hydrater typisk miste vann når temperaturen økes eller når den relative fuktigheten minskes.

I en utførelsesform er forbindelsen I en usolvatisert krystall.

Noen forbindelser er hygroskopiske, dvs. de absorberer vann når de eksponeres for fuktighet. Hygroskopisitet anses generelt som en uønsket egenskap for forbindelser som skal fremstilles i en farmasøytisk formulering, spesielt i en tørr formulering, slik som tabletter. I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen anvendelsen av krystaller med lav hygroskopisitet. For orale doseringsformer som anvender krystallinske aktive ingredienser er det også fordelaktig hvis nevnte krystaller er veldefinerte. I den foreliggende kontekst betyr uttrykket "veldefinert" spesielt at støkiometrien er veldefinert, dvs. at forholdet mellom ionene som danner saltet er forholdet mellom små heltall, slik som 1:1, 1:2, 2:1, 1:1:1, etc. I en utførelsesform danner forbindelse I veldefinert krystaller.

Den krystallinske forbindelse I kan eksistere i mer enn én form, dvs. de kan eksistere i polymorfe former. Polymorfe former eksisterer hvis en forbindelse kan krystallisere i mer enn én form. Foreliggende oppfinnelse er tiltenkt å omfatte alle slike polymorfe former, enten som rene forbindelser eller som blandinger derav.

I en utførelsesform er forbindelsene av foreliggende oppfinnelse i en renset form. Uttrykket "renset form" er ment å indikere at forbindelsen i hovedsak er fri for andre forbindelser eller andre former av den samme forbindelsen, alt etter som.

I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen anvendelsen av krystallinske salter av forbindelse I med XRDP som vist i figurene 1-17, og spesielt figur 2, 3, 4 og 5.

Tabellen under viser de vesentligste XRDP-refleksjonene for forbindelse I.

Utvalgte røntgentopposisjoner ($^{\circ}2\theta$), alle verder $\pm 0,1^{\circ}$

Krystallinsk base	11,10	16,88	17,42	22,23	
-hydrobromid (α)	5,85	9,30	17,49	18,58	
-hydrobromid (β)	6,89	9,73	13,78	14,62	
-hydrobromid (γ)	11,82	16,01	17,22	18,84	
-hydrobromid (hydrat)	10,69	11,66	15,40	17,86	
-hydrobromid (etylacetatsolvat)	8,29	13,01	13,39	16,62	
-hydroklorid	9,41	12,37	19,66	22,55	
-hydroklorid (monohydrat)	7,72	13,45	15,39	17,10	
-mesylat	8,93	13,39	15,22	17,09	
-hydrogenfumarat	5,08	11,32	17,12	18,04	
-hydrogenmaleat	9,72	13,19	14,72	17,88	
-mesohydrogentartrat	9,51	10,17	16,10	25,58	
-L-(+)-hydrogentartrat	13,32	13,65	14,41	15,80	
-D-(-)-hydrogentartrat	13,32	13,65	14,41	15,80	
-hydrogensulfat	11,82	17,22	17,72	20,13	
-dihydrogenfosfat	7,91	11,83	15,69	17,24	
-nitrat	12,50	17,41	18,12	18,47	

Som vist f.eks. i figur 2-5, kan forbindelser av foreliggende oppfinnelse, *in casu* hydrobromidsaltet, eksistere i flere former, dvs. være polymorfe. De polymorfe formene har forskjellige egenskaper som vist i eksemplene. Betaformen av hydrobromidsaltet er den mest stabile som demonstrert ved det høyere DSC smeltepunktet og den lavere løseligheten. Videre har betaformen en attraktiv kombinasjon av lav hygroskopisitet og løselighet, hvilket gjør denne forbindelsen spesielt egnet for å lage tabletter. Derfor tilveiebringer oppfinnelsen i en utførelsesform hydrobromidsaltet av 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulphanyl)-fenyl]-

piperazin med XRDP-refleksjoner ved omtrent 6,89, 9,73, 13,78 og 14,62 (°2θ), og spesielt med et XRPD som vist i figur 3.

Løseligheten til en aktiv ingrediens er også av betydning for valget av doseringsform siden den kan ha en direkte innvirkning på biotilgjengelighet. For orale doseringsformer er en høyere løselighet av den aktive ingrediensen generelt antatt å være fordelaktig fordi det øker biotilgjengeligheten.

Den farmakologiske profilen til forbindelse I er gitt i eksemplene, men kan oppsummeres som følger. Forbindelse I er en inhibitor av serotonintransporteren, den antagoniserer serotoninreseptor 3 (5-HT₃) og den er en partiell agonist av serotoninreseptor 1A (5-HT_{1A}).

Dataene rapportert i eksempel 14 og 17 viser at forbindelse I er nyttig i behandlingen av smerte, og at de til og med kan ha en smertestillende virkning.

I en utførelsesform er nevnte smerte kronisk smerte inkludert fantomlemsmerte, nevropatisk smerte, diabetisk nevropati, post-herpetisk neuralgi (PHN), karpaltunnelsyndrom (CTS), HIV nevropati, komplekst regionalt smertesyndrom (CPRS), trigeminusneuralgi, tic douloureux, kirurgisk intervensjon (f.eks. postoperative analgetika), diabetisk vaskulopati, kapillarresistans, diabetiske symptomer forbundet med insulitt, smerte forbundet med menstruasjon, smerte forbundet med cancer, dental smerte, hodepine, migrene, spenningstype hodepine, trigeminal neuralgi, temporomandibulært leddsyndrom, myofaskial smerte, muskulær skade, fibromyalgisyndrom, ben- og leddsmerte (osteoartritt), revmatoid artritt, revmatoid artritt og ødem som skyldes traume forbundet med forbrenninger, strekk eller brudd bensmerte som skyldes osteoartritt, osteoporose, benmetastaser eller ukjente grunner, gikt, fibrositt, myofaskial smerte, toraksutgangs-syndromer, øvre ryggsmerte eller nedre ryggsmerte (hvor ryggsmerten skyldes systematisk, regional eller primær ryggradssykdom (radikulopati), bekkensmerte, hjertebrystsmerte, ikke-hjertebrystsmerte, ryggmargsskade (SCI)-assosiert smerte, sentral postslagsmerte,

cancernevropati, AIDS-smerte, sigdcellesmerte eller geriatrisk smerte. I en utførelsesform er smerten irritabelt tarmsyndrom (IBS).

Forbindelse I har blitt testet i kliniske forsøk i pasienter ved å anvende HAM-D (Hamilton Rating Scale for Depression) som klinisk endepunkt. HAM-D-skalaen kan brukes for å vurdere alvorlighet av depresjon hos pasienter ved hjelp av en 24 punkters spørreskjema. Punkt 4, 5 og 6 på skalaen vedrører hvordan pasienten sover, dvs. er det lett å falle i søvn (Insomni Tidlig), våkner pasienten opp i løpet av natten (Insomni Midt) og våkner pasienten opp tidlig om morgenen (Insomni Sen). Forbindelsen ble testet ved 5 og 10 mg daglig mot placebo med omtrent 100 pasienter per del. Dataene i figur 23-25 viser tydelig at forbindelse I forårsaker en stor og doseavhengig forbedring av søvnmønsteret som er bedre enn den tilveiebrakt med placebo. Det er velkjent at søvnforstyrrelser er en generell ugunstig virkning av de fleste antidepressiva. Spesielt SSRI'er og forbindelser som hemmer noradrenalintransporteren er rapportert å forårsake problemer med søvninitiering og opprettholdelse og problemer med insomni rapporteres også ofte [*Int. Clin. Psychophann.*, 21 (suppl 1), S25-S29, 2006]. Andre rapporterer at slike forbindelser forårsaker undertrykket REM-søvn, økt søvnlatens, mindre effektiv søvn, økning i nokturnale oppvåkninger og fragmentering av søvn [*Hum. Psychophann. Clin. Exp.*, 20, 533-559, 2005]. Det er derfor et overraskende resultat at administrasjonen av forbindelse I ikke er forbundet med ugunstige søvneffekter, men faktisk gir en forbedring av søvnmønsteret.

Det er velkjent at behandling med antidepressiva generelt og SSRI'er spesielt kan assosieres med seksuell dysfunksjon, som hyppig fører til avbrytelse av behandlingen. Så mye som 30-70 % av pasienter på SSRI'er rapporterer mangler i seksuell funksjon [*J. Clin. Psych.*, 66, 844-848, 2005], hvilke mangler inkluderer nedsatt libido, forsinkede, reduserte eller fraværende orgasmer, minsket tenning og erektil dysfunksjon.

Totalt 114 friske individer har blitt eksponert for forbindelse I i kliniske forsøk; av disse 114 individene, rapporterte bare ett individ om seksuell dysfunksjon. Disse

dataene antyder at klinisk intervensjon som anvender forbindelse I er forbundet med overraskende få mangler på seksuell funksjonering.

Denne oppfatningen ble ytterligere støttet av kliniske forsøk utført i pasienter. Det ovennevnte kliniske forsøket i pasienter fanget også seksuelt ugunstige effekter rapportert av pasientene. Tabellen under viser antallet pasienter som rapporterte de spesifiserte typene med seksuelt relaterte ugunstige effekter.

Ugunstige effekt rapportert	Placebo	5 mg	10 mg
Anorgasmi	0	0	0
Ejakulasjon forsinket	0	0	0
Erekttil dysfunksjon	0	0	0
Libido nedsatt	0	1	1
Orgasme abnormal	2	0	0
Tap av libido	0	1	0
Orgasmesansning redusert	0	0	0

Resultatene over viser at den seksuelt ugunstige effekten av forbindelse I er lik placebo og således mye bedre enn det som normalt ville være forventet fra et antidepressiv, og spesielt et SSRI. Derfor er en klinisk intervensjon omfattende administrasjonen av forbindelse I antatt å være spesielt fordelaktig for pasienten ved at seksuelt beslektede ugunstige hendelser er redusert (eller til og med fraværende) sammenlignet med en klinisk intervensjon omfattende administrasjonen av et SSRI.

Uttrykket "behandling" og "å behandle" som anvendt heri betyr håndteringen og omsorgen for en pasient med det formål å bekjempe en tilstand, slik som en sykdom eller en lidelse. Uttrykket er ment å inkludere det fulle spekter av behandlinger for en gitt tilstand fra hvilken pasienten lider, slik som administrasjon av den aktive forbindelsen for å lindre symptomene eller komplikasjonene, for å forsinke utviklingen av sykdommen, lidelsen eller tilstanden, for å lindre eller lette symptomene og komplikasjonene, og/eller for å helbrede eller eliminere sykdommen, lidelsen eller

tilstanden samt for å forebygge tilstanden, hvori forebygging skal forstås som håndteringen og omsorgen for en pasient med det formål å bekjempe sykdommen, tilstanden eller lidelsen og inkluderer administrasjonen av de aktive forbindelsene for å forebygge inntredenen av symptomene eller komplikasjonene. Ikke desto mindre er profylaktisk (preventiv) og terapeutisk (behandlende) behandling to separate aspekter av oppfinnelsen. Pasienten som skal behandles er fortrinnsvis et pattedyr, spesielt et menneske.

Typisk vil behandlingen av foreliggende oppfinnelse involvere daglig administrasjon av forbindelse I. Dette kan involvere administrasjon en gang daglig, eller administrasjon to ganger om dagen eller til og mer hyppig.

I en utførelsesform vedrører oppfinnelsen 1-[2-(2,4-dimetylphenyl-sulfanyl)fenyl]-piperazin og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav (forbindelse I) for anvendelse i en fremgangsmåte for behandlingen av smerte.

De farmasøytiske formuleringene inneholdende forbindelse I kan fremstilles ved konvensjonelle metoder i faget. Spesielt skal det nevnes tabletter, som kan fremstilles ved å blande den aktive ingrediensen med vanlige adjuvantia og/eller fortynningsmidler og deretter sammenpresse blandingen i en konvensjonell tablettingsmaskin. Eksempler på adjuvantia eller fortynningsmidler omfatter: vannfri kalsiumhydrogenfosfat, PVP, PVP-VA-kopolymerer, mikrokrySTALLinsk cellulose, natriumstivelseglykolat, maisstivelse, mannitol, potetstivelse, talkum, magnesiumstearat, gelatin, laktose, gummier og lignende. Alle andre adjuvantia eller additiver vanligvis brukt for slike formål slik som fargestoffer, smaksstoffer, preservativer etc. kan anvendes forutsatt at de er kompatible med de aktive ingrediensene.

Løsninger for injeksjoner kan fremstilles ved å oppløse den aktive ingrediensen og eventuelle additiver i en del av løsningsmidlet for injeksjon, fortrinnsvis sterilt vann, justere løsningen til ønsket volum, sterilisere løsningen og fylle den i passende ampuller eller flasker. Ethvert passende additiv konvensjonelt anvendt i faget kan tilsettes, slik som tonisitettsmidler, preservativer, antioksidanter, etc.

De farmasøytiske sammensetningene inneholdende forbindelse I kan administreres ved enhver passende rute, for eksempel oralt i form av tabletter, kapsler, pulvere, siruper, etc., eller parenteralt i form av løsninger for injeksjon. For fremstilling av slike sammensetninger kan velkjente metoder i faget anvendes, og alle farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler, eksipienser eller andre additiver normalt anvendt i faget kan anvendes.

Beleilig skal forbindelse I administreres i enhetsdoseringsform inneholdende nevnte forbindelser i en mengde på omkring 1 til 50 mg. En øvre grense er antatt å bli satt av konsentrasjonsavhengigheten til 5-HT₃-aktiviteten. Den totale daglige dosen er vanligvis i området fra omkring 1-20 mg, slik som omkring 1 til 10 mg, omkring 5-10 mg, omkring 10-20 mg, eller omkring 10-15 mg av forbindelsen av oppfinnelsen. Særskilt skal det nevnes daglig doser på 1, 2,5, 5, 10, 15 eller 20 mg.

Tabletter omfattende forbindelse I kan beleilig fremstilles ved våtgranulering. Når denne metoden anvendes, blandes de tørre faste stoffer (aktive ingredienser, fyllstoffer, bindemidler etc.) og fuktes med vann eller andre fuktemidler (f.eks. en alkohol) og agglomerater eller granuler bygges opp av de fuktete faste stoffene. Våt knaing fortsettes inntil en ønsket homogen partikkelstørrelse har blitt oppnådd hvorpå det granulerte produktet tørkes. Forbindelse I blandes typisk med laktose-monohydrat, maisstivelse og copovidon i en høyskjærsblander sammen med vann. Etter dannelse av granulater, kan disse granulatene siktes i en sikt med en passende siktstørrelse, og tørkes. De resulterende, tørkede granulatene blandes deretter med mikrokrySTALLinsk cellulose, krosskarmellose-natrium og magnesiumstearat, hvorefter tablettene presses. Alternativt kan våtgranulering av forbindelse I oppnås ved å anvende mannitol, maisstivelse og copovidon, hvilke granulater blandes med mikrokrySTALLinsk cellulose, natriumstivelseglykolat og magnesiumstearat før tabletter presses. Alternativt kan våtgranulering av forbindelsene av foreliggende oppfinnelse oppnås ved å anvende vannfri kalsiumhydrogenfosfat, maisstivelse og copovidon, hvilke granulater blandes med mikrokrySTALLinsk cellulose, natrium-

stivelseglykolat (type A), talk og magnesiumstearat før tabletter presses. Copovidon er en PVP-VA-kopolymer.

Den frie base av forbindelsen I kan fremstilles som beskrevet i WO 2003/029232. Salter av foreliggende oppfinnelse kan fremstilles ved å oppløse den frie basen i et formålstjenlig løsningsmiddel, tilsette den relevante syren, etterfulgt av presipitasjon. Presipitasjon kan oppnås enten ved tilsetningen av et andre løsningsmiddel, og/eller fordamping og/eller avkjøling. Alternativt kan den frie basen av foreliggende oppfinnelse og til sist forbindelsene av foreliggende oppfinnelse syntetiseres i en palladiumkatalysert reaksjon som beskrevet i WO 2007/144005.

Anvendelsen av uttrykkene "en" og "et" og "det/den" og lignende referenter i konteksten for å beskrive oppfinnelsen skal fortolkes å dekke både entall og flertall, med mindre annet er indikert heri eller tydelig motsis av sammenhengen. For eksempel skal frasen "forbindelsen" forstås å henvise til forskjellige forbindelser av oppfinnelsen eller det spesielt beskrevne aspektet, med mindre annet er indikert.

Med mindre annet er indikert er alle eksakte verdier gitt her representative for tilsvarende tilnærmede verdier (f.eks. kan alle eksakte mønstergyldige verdier gitt med hensyn på en spesiell faktor eller måling anses og også gi en tilsvarende omtrentlig måling, modifisert ved "omkring," hvor passende).

Beskrivelsen heri av ethvert aspekt eller aspekt av oppfinnelsen som anvender uttrykk slik som "omfattende", "som har", "inklusive" eller "inneholdende" med henvisning til et element eller elementer er ment å gi støtte for et lignende aspekt eller aspekt av oppfinnelsen som "består av", "består hovedsakelig av" eller "hovedsakelig omfatter" dette spesielle element eller elementer, med mindre annet er erklært eller tydelig motsis av sammenhengen (f.eks. bør en sammensetning beskrevet heri som omfattende et spesielt element forstås og også beskrive en sammensetning bestående av dettet elementet, med mindre annet er erklært eller tydelig motsis av sammenhengen).

Eksempler

Analytiske metoder

^1H NMR-spektra er tatt opp ved 500,13 MHz på et Bruker Avance DRX500-instrument. Dimetylsulfoksid (99,8 % D) anvendes som løsningsmiddel, og tetrametylsilan (TMS) anvendes som intern referansestandard.

Smeltepunktene er målt ved å bruke differensiell skanning kalorimetri (DSC). Utstyret er et TA-Instruments DSC-Q1000 kalibrert ved $5^\circ/\text{min}$ for å gi smeltepunktet som en begynnelsesverdi. Omkring 2 mg prøve varmes $5^\circ/\text{min}$ i en løst lukket digel under nitrogenstrøm.

Termogravimetrisk analyse (TGA) anvendt for beregning av løsningsmiddel/vanninnhold av tørket materiale utføres ved å bruke et TA-instruments TGA-Q500. 1-10 mg prøve varmes $10^\circ/\text{min}$ i en åpen digel under nitrogenstrøm.

Røntgenpulverdiffraktogrammer ble målt på et PANalytical X'Pert PRO røntgen diffraktometer ved anvendelse av $\text{CuK}_{\alpha 1}$ -stråling. Prøvene ble målt i refleksjonsmodus i 2θ -området $5-40^\circ$ ved bruk av en X'celerator-detektor.

Eksempel 1 In vitro-reseptorfarmakologi

Rotte serotonintransporter: IC_{50} 5,3 nM (blokade av 5-HT-opptak)

Human serotonintransporter: IC_{50} 40 nM (blokade av 5-HT-opptak)

Human 5-HT_{1A}-reseptor: K_i ; 40 nM med partiell agonisme (virkning 85 %)

Rotte 5-HT₃-reseptor: IC_{50} 0,2 nM (antagonisme i funksjonelt assay)

Human 5-HT_{3A}-reseptor: IC_{50} rundt 20 nM (antagonisme i funksjonelt assay). Ved høyere konsentrasjon foreviser forbindelsen agonistisk aktivitet med en ED_{50} på 2,1

μM . Forbindelsen ifølge oppfinnelsen viste også høy affinitet for den humane 5HT3-reseptoren i et in vitro-bindingsassay (K_i 4,5 nM).

Eksempel 2a Fremstilling av den frie basen av forbindelse

10 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-hydrobromid ble behandlet med en omrørt blanding av 100 ml 3 M NaOH og 100 ml etylacetat i 10 minutter. Den organiske fasen ble separert, vasket med 100 ml 15 vekt% NaCl (aq), tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert i vakuum hvilket frembrakte 7,7 gram (98 %) av forbindelse I base som en klar fargeløs olje.

NMR stemmer overens med struktur.

Eksempel 2b Fremstilling av krystallinsk base av forbindelse I

3,0 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin fargeløs olje ble behandlet med 70 ml acetonitril og varmet til reflux. Den nesten klare løsningen ble filtrert og det klare filtratet ble avkjølt spontant hvorved presipitasjon begynte kort etter filtrering. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur (22 °C) i 2 timer og produktet ble isolert ved filtrering og tørket i vakuum (40 °C) natten over. Den krystallinske basen ble isolert som et hvitt fast stoff i 2,7 gram (90 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 72,40 %C, 9,28 %N, 7,58 %H (teoretisk: 72,26 %C, 9,36 %N, 7,42 %H)

Eksempel 2c Karakterisering av krystallinsk base av forbindelse I

Basen, som fremstilt i eksempel 2b, er krystallinsk (XRPD) - se figur 1. Den har et smeltepunkt på ~ 117 °C. Den er ikke hygroskopisk og har en løselighet på 0,1 mg/ml i vann.

Eksempel 3a Fremstilling av alfaformen av hydrobromidsaltet av forbindelse I

2,0 gram av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin ble oppløst i varm 30 ml etylacetat og tilsatt 0,73 ml 48 vekt% HBr (aq). Denne tilsetningen forårsaket dannelse av en tykk slurry og ytterligere 10 ml etylacetat ble tilsatt for å ha skikkelig omrøring. Slurryen ble omrørt ved romtemperatur i en time. Filtrering og tørking i vakuum (20 °C) natten over frembrakte 2,0 gram av produktet som et hvitt fast stoff (80 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 57,05 %C, 7,18 %N, 6,16 %H (Teoretisk for 1:1-salt: 56,99 %C, 7,39 %N, 6,11%H)

Eksempel 3b Karakterisering av alfaformen av hydrobromidet av forbindelse I

Alfaformen av hydrobromidet, som fremstilt i eksempel 3a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 2. Den har et smeltepunkt på -226 °C. Den absorberer omkring 0,3 % vann når den eksponeres for høy relativ fuktighet og har en løselighet på 2 mg/ml i vann.

Eksempel 3c Fremstilling av betaformen av hydrobromidsaltet av forbindelse I

49,5 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin fargeløs olje ble oppløst i 500 ml etylacetat og tilsatt 18,5 ml 48 vekt% HBr (aq). Denne tilsetningen forårsaket dannelse av en tykk slurry som ble omrørt natten over ved romtemperatur. Filtrering og tørking i vakuum (50 °C) natten over frembrakte produktet i 29,6 gram som hvitt fast stoff (47 %).

NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 56,86 %C, 7,35 %N, 6,24 %H (teoretisk for 1:1-salt: 56,99 %C, 7,39 %N, 6,11 %H)

Eksempel 3d Karakterisering av betaformen av hydrobromidet av forbindelse I

Betaformen av hydrobromidet, som fremstilt i eksempel 3c, er krystallinsk (XRPD) se figur 3. Den har et smeltepunkt på ~231 °C. Den absorberer omkring 0,6 % vann når den eksponeres for høy relativ fuktighet og har en løselighet på 1,2 mg/ml i vann.

Eksempel 3e Fremstilling av gammaformen av hydrobromidsaltet av forbindelse I

1 g 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-hydrobromid som fremstilt i eksempel 4a ble tilsatt 20 ml vann og varmet til 85 °C. Løsningen var nesten klar. Tilsetning av 1 dråpe HBr gjorde den klar. HBr ble tilsatt inntil blakkingspunkt ble observert. Løsningen ble avkjølt til romtemperatur og tørket. NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 56,63 %C, 7,18 %N, 6,21 %H (Teoretisk for 1:1-salt: 56,99 %C, 7,39 %N, 6,11 %H)

Eksempel 3f Karakterisering av gammaformen av hydrobromidet av forbindelse I

Hydrobromidet, som fremstilt i eksempel 3e, er krystallinsk (XRPD) - se figur 4. DSC-kurven viser noen termiske hendelser ved omkring 100 °C; sannsynligvis endring i krystallform. Deretter smelter den ved omkring 220 °C. Den absorberer omkring 4,5 % vann når den eksponeres for høy relativ fuktighet og ved 30 %RH ved romtemperatur absorberes omkring 2 % vann.

Eksempel 3g Fremstilling av hydrobromidhydratet av forbindelse I

1,4 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble tilsatt 20 ml vann, og varmet til 60 °C. pH ble justert til 1 ved anvendelse av 48 % HBr. Løsningen ble avkjølt til romtemperatur og tørket. NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 55,21 %C, 7,16 %N, 6,34 %H (Teoretisk for 1:1-salt hemihydrat: 55,68 %C, 7,21 %N, 6,23 %H)

Eksempel 3h Karakterisering av hemihydratet av hydrobromidet av forbindelse I

Hydratet som fremstilt i eksempel 3g er krystallinsk (XRPD) - se figur 5.

Vanninnholdet avhenger sterkt av den relative fuktighet. Ved romtemperatur og 95 %RH er vanninnholdet omkring 3,7 %. Dehydratisering skjer ved oppvarming til omkring 100 °C.

Eksempel 3i Fremstilling av etylacetatsolvatet av hydrobromidsaltet av forbindelse I

0,9 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble oppløst i 35 ml etylacetat og tilsatt 0,5 ml 48 vekt% HBr (aq). Denne tilsetningen forårsaket dannelse av en tykk slurry som ble omrørt natten over ved romtemperatur. Filtrering og vasking med 30 ml dietyleter etterfulgt av tørking i vakuum (50 °C) natten over frembrakte 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-HBr-EtOAc-solvat i 1,0 gram (65 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 56,19 %C, 6,60 %N, 6,56 %H (Teoretisk for 1:1-salt når korrigert for 8 % etylacetat og 0,5 % vann som bestemt ved TGA og KF: 56,51 %C, 6,76 %N, 6,38 %H)

Eksempel 3j Karakterisering av etylacetatsolvatet av hydrobromidet av forbindelse I

Etylacetatsolvatet, som fremstilt i eksempel 3i, er krystallinsk (XRPD) - se figur 6. Batchen inneholder en blanding av solvatet og alfaformen av forbindelse I, sannsynligvis fordi tørkingen har forårsaket delvis desolvatisering. Desolvatiseringen starter ved ~75 °C når varmet 10°/min. Etter desolvatisering dannes alfaformen.

Hvis eksponert for høy relativ fuktighet, erstattes etylacetat av vann, som frigjøres når fuktigheten deretter senkes. Det resulterende faste stoffet er hygroskopisk og absorberer 3,2 % vann ved høy relativ fuktighet.

Eksempel 4a Fremstilling av hydrokloridsalt av forbindelse I

1,0 gram 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble oppløst i 20 ml etylacetat ved anvendelse av forsiktig oppvarming (30 °C). Da en klar løsning ble oppnådd ble en løsning av 2 M HCl i dietyleter tilsatt langsomt til pH var omtrent 1-2. Under tilsetningen ble spontan presipitasjon observert. Etter endelig tilsetning ble suspensjonen omrørt i 1 time før det hvite presipitatet ble isolert ved filtrering og tørket i vakuum (40 °C) over natten. 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)fenyl]piperazin hydroklorid ble isolert i 1,1 gram (99 %).

NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 64,18 %C, 8,25 %N, 6,96 %H (Teoretisk for 1:1-salt når korrigert for 0,66 % vann som bestemt ved TGA: 64,13 %C, 8,31 %N, 6,95 %H)

Eksempel 4b Karakterisering av hydrokloridet av forbindelse I

Hydrokloridet, som fremstilt i eksempel 4a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 7. Det har et smeltepunkt på ~236 °C. Det absorberer omkring 1,5 % vann når det eksponeres for høy relativ fuktighet og har en løselighet på 3 mg/ml in vann.

Eksempel 4c Fremstilling av hydroklorid-monohydratet av forbindelse I

11,9 gram 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble oppløst i 100 ml etanol ved anvendelse av oppvarming. Da en homogen løsning var oppnådd, fant tilsetning av 3,5 ml kons. HCl (aq) sted og forårsaket den umiddelbare presipitasjon av et hvitt fast stoff. Suspensjonen ble omrørt i 5 minutter først og deretter på isbad ytterligere en time før filtrering. Det hvite faste stoffet ble vasket ved anvendelse av 100 ml nyavkjølt etanol (plassert i fryser ved -18 °C i 2 timer), 50 ml aceton og til sist 50 ml dietyleter før det ble tørket i vakuum (50 °C) over natten. 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HCl ble isolert i 5,1 gram (38 %).

NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 61,23 %C, 7,91 %N, 7,16 %H (Teoretisk for 1:1-salt monohydrat: 61,26 %C, 7,94 %N, 7,14 %H)

Eksempel 4d Karakterisering av hydroklorid-monohydratet av forbindelse I

Hydroklorid-monohydratet, som fremstilt i eksempel 4c, er krystallinsk (XRPD) - se figur 8. Det dehydratiserer startende ved omkring 50 °C. Noen termiske hendelser, sannsynligvis omleiring, skjer ved ytterligere oppvarming, og det smelter ved omkring 230 °C etterfulgt av omkrystallisasjon og smelting ved omkring 236 °C. Det absorberer ikke ytterligere mengder vann når det eksponeres for høy relativ fuktighet og det hydratbundne vannet frigjøres ikke før den relative fuktigheten er redusert til under 10 %RH ved romtemperatur. Det har en løselighet på omkring 2 mg/ml i vann.

Eksempel 5a Fremstilling av mesylatsalt av forbindelse I

1,0 gram 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble oppløst i 20 ml etylacetat ved oppvarming (70 °C). Da en klar løsning var oppnådd, ble 0,35 gram metansulfonsyre (1,1 ekv.) langsomt tilsatt. Etter siste tilsetning ble løsningen avkjølt på is og dietyleter ble tilsatt langsomt og forårsaket presipitasjonen av produktet. Suspensjonen ble omrørt i 2 timer på is før det hvite presipitatet ble isolert ved filtrering og tørket i vakuum (40 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-mesylat ble isolert i 1,1 gram (85 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 57,81 %C, 6,81 %N, 6,68 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 57,81 %C, 7,10 %N, 6,64 %H)

Eksempel 5b Karakterisering av mesylatet av forbindelse I

Mesylatet, som fremstilt i eksempel 5a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 9. Det har et smeltepunkt på ~163 °C. Det er hygroskopisk (absorberer omkring 8 % vann når det eksponeres for 80 % relative fuktighet og transformeres derved til en hydratisert form). De siste 6 % av det absorberte vannet frigjøres ikke før den relative fuktigheten er under 10 %RH. Det har en svært høy løselighet i vann (>45 mg/ml).

Eksempel 6a Fremstilling av fumarat av forbindelse I

5,5 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble varmet til reflux i en blanding av 50 ml metanol og 50 ml etylacetat. Løsningen ble etterlatt for å avkjøle litt før tilsetning av 2,1 gram fumarsyre fant sted og forårsaket en eksoterm reaksjon og presipitasjon av et hvitt fast stoff. Suspensjonen ble omrørt mens den ble tillatt å avkjøle til romtemperatur etterfulgt av 2 timer i fryseren ved -18 °C. Det hvite faste stoffet ble samlet ved filtrering og vasket med 20 ml kald etylacetat før tørking i vakuum (50 °C) natten over. Produktet ble isolert i 3,1 gram (44 %).

NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 63,42 %C, 6,64 %N, 6,42 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 63,74 %C, 6,76 %N, 6,32 %H)

Eksempel 6b Karakterisering av fumaratet av forbindelse I

Fumaratet, som fremstilt i eksempel 6a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 10. Det har et smeltepunkt på ~194 °C. Løseligheten i vann er 0,4 mg/ml.

Eksempel 7a Fremstilling av maleat av forbindelse I

2,5 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin olje ble oppløst i 50 ml etylacetat og varmet til 60 °C etterfulgt av tilsetning av 1,1 gram maleinsyre. Blandingen ble varmet igjen til reflux i 5 minutter og etterlatt for å avkjøle til romtemperatur under omrøring. Under kjølingen startet presipitasjon og ble avsluttet ved 4 timer i fryseren (-18 °C). Det hvite faste stoffet ble samlet ved filtrering og vasket med 50 ml dietyleter før tørking i vakuum (50 °C) natten over. Dette frembrakte 1,3 gram 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-maleat (38 %) som ble omkrystallisert ved behandling med 40 ml etylacetat og 5 ml metanol ved reflux. Den klare løsningen ble avkjølt til romtemperatur etterfulgt av 2 timer i fryseren (-18 °C) før filtering og vasket to ganger med 10 ml kald etylacetat etterfulgt av tørking i vakuum (50 °C) i to dager. 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-maleat ble isolert i 0,9 gram (69 %). NMR

stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 63,57 %C, 6,79 %N, 6,39 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 63,74 %C, 6,76 %N, 6,32 %H)

Eksempel 7b Karakterisering av maleatet av forbindelse I

Maleatet, som fremstilt i eksempel 7a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 11. Det har et smeltepunkt på ~152 °C. Løseligheten i vann er -1 mg/ml.

Eksempel 8a Fremstilling av meso-tartrat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 0,5 gram meso-vinsyre oppløst i 5 ml aceton. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter hvorunder presipitasjon fant sted. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter frembrakte produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-meso-vinsyre ble isolert i 1,4 gram (93 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 58,58 %C, 6,29 %N, 6,40 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 58,91 %C, 6,25 %N, 6,29 %H)

Eksempel 8b Karakterisering av meso-tartratet av forbindelse I

Meso-tartratet, som fremstilt i eksempel 8a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 12. Det har et smeltepunkt på ~164 °C. Løseligheten i vann er ~0,7 mg/ml.

Eksempel 9a Fremstilling av L-(+)-tartrat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 0,5 gram L-(+)-vinsyre oppløst i 5 ml aceton. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter hvorunder presipitasjon fant sted. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter ga produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylphenylsulfanyl)-fenyl]piperazin (+)-vinsyre ble isolert i 1,2 gram (81 %). NMR

stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 58,86 %C, 6,30 %N, 6,38 %H
(Teoretisk for et 1:1-salt: 58,91 %C, 6,25 %N, 6,29 %H)

Eksempel 9b Karakterisering av L-(+)-tartratet av forbindelse I

L-(+)-tartratet, som fremstilt i eksempel 9a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 13. Det har et smeltepunkt på ~171 °C. Løseligheten i vann er ~0,4 mg/ml.

Eksempel 10a Fremstilling av D-(-)-tartrat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 0,5 gram D-(-)-vinsyre oppløst i 5 ml aceton. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter hvorunder presipitasjon fant sted. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter frembrakte produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-D-(-)-vinsyre ble isolert i 1,0 gram (68 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 58,90 %C, 6,26 %N, 6,35 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 58,91 %C, 6,25 %N, 6,29 %H)

Eksempel 10b Karakterisering av D-(-)-tartratet av forbindelse I

D-(-)-tartratet, som fremstilt i eksempel 10a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 14. Det har et smeltepunkt på ~175 °C. Løseligheten i vann er ~0,4 mg/ml.

Eksempel 11a Fremstilling av sulfat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 2,2 ml av en 3 M løsning av H₂SO₄ (aq). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter og deretter på isbad i ytterligere 4 timer før presipitasjon fant sted og ble avsluttet. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter frembrakte produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin

sulfat ble isolert i 0,51 gram (39 %). NMR stemmer overens med struktur.

Elementanalyse: 54,53 %C, 7,22 %N, 6,28 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 54,52 %C, 7,07 %N, 6,10 %H)

Eksempel 11b Karakterisering av sulfatet av forbindelse I

Sulfatet, som fremstilt i eksempel 11a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 15. Det har et smeltepunkt på ~ 166 °C. Løseligheten i vann er $\sim 0,1$ mg/ml.

Eksempel 12a Fremstilling av fosfat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 0,2 ml 65 % H_3PO_4 (aq). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter hvorunder presipitasjon fant sted. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter frembrakte produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-fosfat ble isolert i 1,23 gram (94 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 54,21 %C, 7,15 %N, 6,43 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 54,53 %C, 7,07 %N, 6,36 %H)

Eksempel 12b Karakterisering av fosfatet av forbindelse I

Fosfatet, som fremstilt i eksempel 12a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 16. Det har et smeltepunkt på ~ 224 °C. Løseligheten i vann er ~ 1 mg/ml.

Eksempel 13a Fremstilling av nitrat av forbindelse I

11,1 ml av en 0,30 M løsning av 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin i aceton ble behandlet med 0,2 ml 16,5 M HNO₃ (aq). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter hvorunder presipitasjon fant sted. Filtrering og vasking først med 5 ml aceton og deretter 3 ml dietyleter frembrakte produktet som et hvitt fast stoff som ble tørket i vakuum (50 °C) natten over. 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)-fenyl]piperazin-nitrat ble isolert i 0,87 gram (73 %). NMR stemmer overens med struktur. Elementanalyse: 59,80 %C, 11,67 %N, 6,51 %H (Teoretisk for et 1:1-salt: 59,81 %C, 11,63 %N, 6,41 %H)

Eksempel 13b Karakterisering av nitratet av forbindelse I

Nitratet, som fremstilt i eksempel 13a, er krystallinsk (XRPD) - se figur 17. Det smelter ikke, men dekomponerer under en eksoterm reaksjon ved omkring 160 °C. Løseligheten i vann er ~0,8 mg/ml.

Eksempel 14 Smertevirkninger i den intradermale formalintesten for mus

I denne modellen mottar mus en injeksjon av formalin (4,5 %, 20 µl) i den venstre bakpoten. Irritasjonen forårsaket av formalininjeksjonen utløser en karakteristisk bifasisk atferdsrespons, som kvantifisert ved omfang av tid brukt på å slikke den skadde poten. Den første fasen (~0-10 minutter) representerer direkte kjemisk irritasjon og nocisepsjon, mens den andre (~20-30 minutter) er antatt å representere smerte av nevropatisk opprinnelse. De to fasene er separert av en rolig periode i hvilken atferd vender tilbake til normal. Testforbindelsenes effektivitet til å redusere de smertefulle stimuli vurderes ved å telle omfanget av tid brukt for å slikke den skadde poten i de to fasene.

Forbindelse I viste en signifikant reduksjon i andre fase smerteskår (figur 18b), som indikerer virkning mot smerte av nevropatisk opprinnelse. Videre viste forbindelsene av foreliggende oppfinnelse en signifikant reduksjon i den første faseskåren (figur

18a), som indikerer en mer smertestillende virkning ved den høyeste dosen. I korthet indikerer disse resultatene at forbindelser av foreliggende oppfinnelse sannsynligvis er effektive i behandlingen av smerteforstyrrelser.

Eksempel 15 Virkninger på ekstracellulære nivåer av acetylkolin i hjernen hos frittgående rotter – bare for referanse

Metoder

Dyrene ble administrert 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piparazin, HBr-salt.

Dyr

Sprague-Dawley-hannrotter, som innledningsvis veier 275-300 g, ble bruk. Dyrene ble huset under en 12 timer lys/mørkesyklus under kontrollerte betingelser for normal innetemperatur (21 ± 2 °C) og fuktighet (55 ± 5 %) med mat og springvann tilgjengelig ad libitum.

Kirurgi og mikrodialyseeksperimenter

Rotter ble bedøvd med hypnorm/dormicum (2 ml/kg) og intracerebrale styrekanyler (CMA/12) ble stereotaksisk implantert inn i hjernen, siktende mot posisjonering av dialyseprobetuppen i den ventrale hippocampus (koordinater: 5,6 mm bak bregma, lateral -5,0 mm, 7,0 mm ventralt til dura) eller i den prefrontale cortex (koordinater: 3,2 mm foran bregma; lateralt, 0,8 mm; 4,0 mm ventralt for dura). Ankerskruer og akrylsement ble brukt for festing av styrekanylene. Dyrenes kroppstemperatur ble overvåket med rektalprobe og holdt ved 37 °C. Rottene ble tillatt å friskne til fra kirurgi i 2 dager, huset enkeltvis i bur. På eksperimentdagen ble en mikrodialyseprobe (CMA/12, 0,5 mm diameter, 3 mm lengde) satt inn gjennom styrekanylen.

Probene ble forbundet via en dobbelt kanalsvivel til en mikroinjeksjonspumpe.

Perfusjon av mikrodialyseproben med filtrert Ringer-løsning (145 mM NaCl, 3 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1,2 mM CaCl₂ inneholdende 0,5 µM neostigmin) ble begynt kort før

innsetting av proben i hjernen og fortsatte så lenge eksperimentet varte ved en konstant strømningshastighet på 1 µl/min. Etter 180 min stabilisering ble eksperimentene startet. Dialysater ble samlet hvert 20 min. Etter eksperimentene ble dyrene avlivet, deres hjerner fjernet, frosset og skåret i skiver for probeplasseringsbekreftelse.

Forbindelsen oppløst i 10 % HPbetaCD og injisert subkutant (2,5-10 mg/kg). Doser uttrykkes som mg salt/kg kroppsvekt. Forbindelsen ble administrert i et volum på 2,5 ml/kg.

Analyse av dialysat-acetylcholin

Konsentrasjon av acetylcholin (ACh) i dialysatene ble analysert ved hjelp av HPLC med elektrokjemisk deteksjon ved anvendelse av en mobilfase bestående av 100 mM dinatriumhydrogenfosfat, 2,0 mM oktansulfonsyre, 0,5 mM tetrametyl-ammoniumklorid og 0,005 % MB (ESA), pH 8,0. En prekolonne enzymreaktor (ESA) inneholdende immobilisert kolinoksidase-eliminert kolin fra den injiserte prøven (10 µl) før separasjon av ACh på den analytiske kolonnen (ESA ACH-250); strømningshastighet 0,35 ml/min, temperatur: 35 °C. Etter den analytiske kolonnen passerte prøven gjennom en postkolonne fastfasereaktor (ESA) inneholdende immobilisert acetylcholinesterase og kolinoksidase. Den sistnevnte reaktor omdannet ACh til kolin og deretter kolin til betain og H₂O₂. Sistnevnte ble detektert elektrokjemisk ved anvendelse av en platinaelektrode (Analytisk celle: ESA, modell 5040).

Datapresentasjon

I enkeltinjeksjonseksperimenter tjente gjennomsnittsverdien av 3 etterfølgende ACh-prøver øyeblikkelig forutgående forbindelsesadministrasjon som basalnivået for hvert eksperiment og data ble omdannet til prosent av basal (gjennomsnitt basal pre-injeksjonsverdier normalisert til 100 %).

Resultater

Forbindelsen økte signifikant ekstracellulære nivåer av ACh i rottens prefrontal cortex og den ventrale hippocampus - se figur 19a og 19b.

Eksempel 16 Kontekstuell fryktbehandling i rotter – bare for referanse

Forbindelsen administrert i det foreliggende eksperiment var 1-[2-(2,4-dimetyl-fenylsulfanyl)fenyl]piperazin-HBr-salt.

Vi har studert virkningen av forbindelsen på ervervelse, konsolidering og hukommelse av kontekstuell fryktbehandling i rotter. I fryktbehandlingsparadigmet lærer dyrene å assosiere et nøytralt miljø (kontekst, treningskammeret, CS) med en negativ erfaring (et elektrisk fotsjokk, US). Ved gjeneksponering for treningskammeret uttrykker dyrene en frysende atferd, hvilken tas som et direkte mål på den fryktrelaterte hukommelsen [Pavlov *J. Biol. Sci.*, 15, 177-182, 1980].

Nevroanatomien ved kontekstuell fryktbehandling har blitt grundig undersøkt og flere studier har demonstrert at hippocampus og amygdala er nødvendige for dannelsen av denne hukommelsen [Hippocampus, 11, 8-17, 2001; *J. Neurosci.*, 19, 1106-1114, 1999; *Behav. Neurosci.*, 106, 274-285, 1992].

Dyr og legemidler

Voksne Sprague-Dawley-hannrotter (som veide 250-300 g på treningstidspunktet) fra Charles River Laboratories, huset to per bur under en 12 timer lys/mørkesyklus, ble brukt. Mat og vann var tilgjengelig *ad libitum*. Rotter ble brukt 1 uke etter ankomst. Forbindelsen ble oppløst i 10 % HPbetaCD og injisert subkutan. Legemidlet ble administrert i et volum på 2,5 ml/kg.

Apparat

Trening og testing ble utført i et lydtett kammer (30 x 20 x 40 cm) huset i et isolert rom og forbundet med et ventilasjonssystem. Opplysning ble tilveiebrakt av et hvitt lys (60 Watt). Kammerets gulv bestod av et metall rutenett tilknyttet en elektrisk sjokkgenerator. Før trening og testing ble kammeret rengjort med en 70 % etanol-løsning. Et videokamera sørget for atferdsobservasjoner og opptak av trenings-sesjonen for offline analyse.

Akkvisisjon og retensjonstest

Under akkvisisjonen ble dyrene tillatt å fritt utforske det nye miljøet i en 1 min tilvenningsperiode, som ble avsluttet samtidig med ett uunngåelig fotsjokk (betingelseløs stimulus, US) gjennom det elektrifiserbare rutenettgulvet. Fotsjokket hadde en varighet på 2 s og en intensitet på 0,75 mA. Dyr forble i behandlings-kammeret i ytterligere 60 s etter US. Frysende atferd ble bedømt i løpet av de første 58 s (presjokk akkvisisjon; eksperimenter blindet til grupper) for å bestemme grunnlinjefrysende respons på konteksten. Ved slutten av akkvisisjonen ble dyr forsiktig fjernet og plassert i sine hjembur. Etter 24 t ble de samme dyrene gjenintrodusert i treningskonteksten (fryktbehandlingsskammer) og en 2 min retensjonstest ble utført. I løpet av denne perioden ble ingen fotsjokk påført. Frysende atferd ble bedømt under hele testperioden med eksperimentene blindet til grupper og presentert som prosent av total testperiode.

Resultater og diskusjon

Virkning av forbindelsen på kontekstuell fryktkognisjon hos rotter

Virkningen av forbindelsen på kontekstuell fryktbehandling i rotter ble studert (i) på akkvisisjon (legemiddel anvendt før akkvisisjon, figur 20), (ii) på hukommelses-erindring (legemiddel brukt før test, figur 21) og (iii) på konsolidering (legemiddel brukt øyeblikkelig etter akkvisisjonen, figur 22). I det første settet med eksperimenter, ble forbindelsen (1,5 og 10 mg/kg) administrert 1 t før akkvisisjons-

sesjonen. Figur 20 viser akkvisisjonen av frysende atferd i løpet av trening (58 s før fotsjokket) og retensjonstesten 24 etter. De følgende funn ble observert:

- Forbindelsen påvirker ikke grunnlinjefrysende atferd før presentasjonen av fotsjokket ved noen testet dose.
- Forbindelsen ved 5 mg/kg har en tendens til å øke tiden brukt frysende under retensjonstesten, 24 h etter akkvisisjon ($39,24 \pm 13,76 \%$, $n = 6$, versus $24,30 \pm 4,40 \%$, $n = 16$, i de vehikkelbehandlede dyrene).
- Forbindelsen ved 10 mg/kg øker signifikant tiden brukt frysende under retensjonstest, 24 h etter akkvisisjonen ($52,15 \pm 5,68 \%$, $n = 10$, versus $24,30 \pm 4,40 \%$, $n = 16$, i de vehikkelbehandlede dyrene, $p < 0,01$).

Fryktbehandlingsmodellen, som beskrevet i figur 20, er en standardprosedyre beskrevet i litteraturen for undersøkelsen av læring og hukommelse. For å videre klarlegge de akutte effektene av dette legemidlet på hukommelsesserindring, ble forbindelsen (5, 10 og 20 mg/kg) anvendt 1 t før retensjonstesten. Det ble observert at forbindelsen hemmer ekspresjonen av frysende atferd ved 5 mg/kg under hukommelsestesten ($12,86 \pm 3,57 \%$, $n = 9$, versus $33,61 \pm 4,29 \%$, $n = 13$, i de vehikkelbehandlede dyrene, $p < 0,05$) (figur 21).

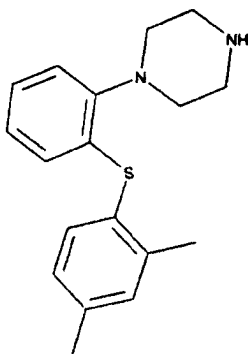
Som beskrevet over, påvirker forbindelsen i seg selv ikke grunnlinjefrysende atferd før inntreden av US (figur 20), således er den mest plausible hypotesen at den observerte effekten i figur 21 skyldes en anksiolytisk effekt. Den betingende hukommelsen er vurdert via frysende atferd, en respons som er redusert av forbindelser med potensielt anksiolytiske effekter. Dette eksperimentet demonstrerer at forbindelsen gitt akutt før hukommelsesserindring har anksiolytisk virkning, det er derfor usannsynlig at økt frysing vist i figur 20 skyldes en anksiogen effekt av forbindelsen.

For å styrke at forbindelsen ikke er anksiogen, men bærer prokognitivt potensial, ble forbindelsen administrert ved 5, 10 og 20 mg/kg etter akkvisisjonssesjonen.

Følgelig, i dette settet med eksperimenter, var forbindelsen verken under akkvisisjonen eller gjennom retensjonstesten "onboard". Her ble det observert at forbindelsen ved 5 mg/kg signifikant øker tiden brukt frysende under retensjonstesten, 24 h etter akkvisisjonssesjonen ($45,58 \pm 4,50$ %, $n = 8$, versus $25,26 \pm 3,57$ %, $n = 19$, i de vehikkelbehandlede dyrene, $p < 0,05$). Prosentdelen av tid brukt frysende i løpet av kontekstgjenesponeringen har blitt beskrevet som et mål på en fryktrelatert hukommelse [Pavlov *J. Biol. Sci*, 15, 177-182, 1980], som er økt i forbindelsesbehandlede rotter sammenlignet med vehikkelbehandlede dyr (figur 20 og 21). Tatt sammen viser dataene at forbindelsen forbedrer kontekstuell hukommelse.

Eksempel 17 Virkning av forbindelse I i den kroniske konstriksjonsnerveskade-modellen

Forbindelse I ble evaluert i den kroniske konstriksjonsskademodellen [Pain, 33, 87-107, 1988]. Denne modellen for nevropatisk smerte involverer anvendelsen av fire løse underbindinger rundt én isjiasnerve i rotten over en tidsperiode for å utvikle både hyperalgesi og allodyni. Effekten av testforbindelser i denne testen måles som tiden for tilbaketrekking poten ved en termisk stimulus. Forbindelse I (HBr-salt) ved 7,9 mg/kg s.c. 60 minutter) frembrakte en signifikant og doseavhengig tilbaketrekkinglatens etter en termisk stimulus. Disse data (se figur 26) demonstrerer at forbindelse I har en analgetikumlignende virkning.

Patentkrav**1.** 1-[2-(2,4-dimetylfenylsulfanyl)fenyl]piperazin

og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav (forbindelse I) for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av smerte.

2. Forbindelse ifølge krav 1, hvori forbindelse I er HBr-syreaddisjonssaltet.

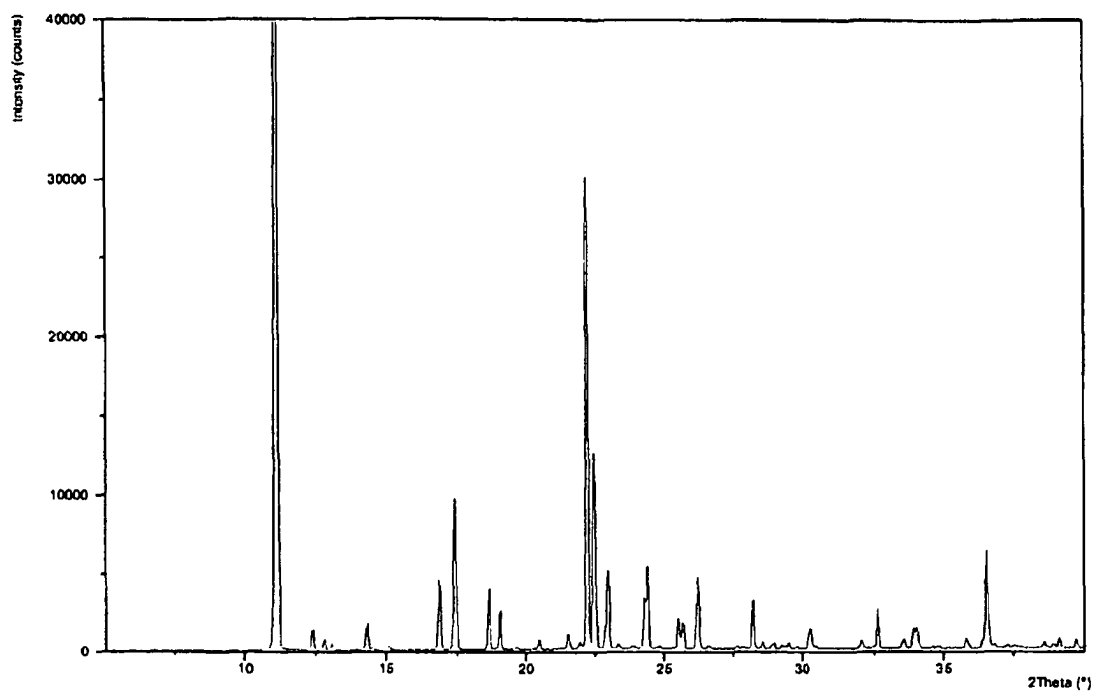
3. Forbindelse ifølge krav 2, hvori nevnte HBr-syreaddisjonssalt er krystallinsk med XRPD-refleksjoner ved 6,89, 9,73, 13,78 og 14,64 (°2θ).

4. Forbindelse ifølge krav 3, hvori nevnte HBr-syreaddisjonssalter har et XRPD som beskrevet i figur 3.

5. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvori forbindelsen skal administreres i daglig doser på omkring 1-20 mg.

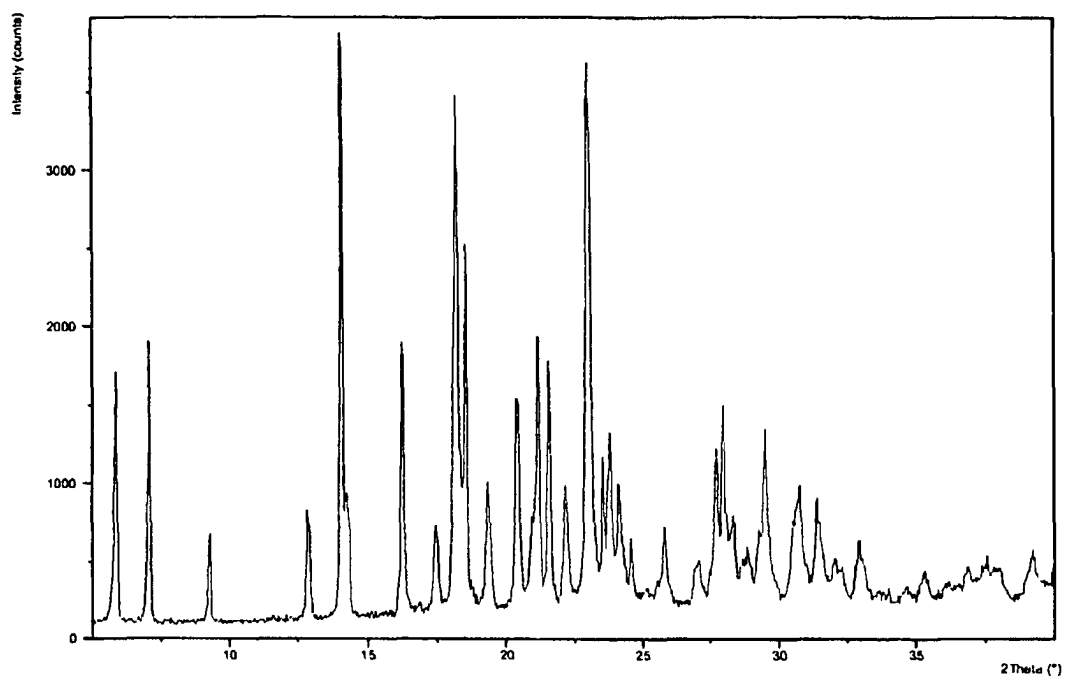
1/26

Röntgenpulverdiffraktogram av den fria krystallinske basen

**Fig. 1**

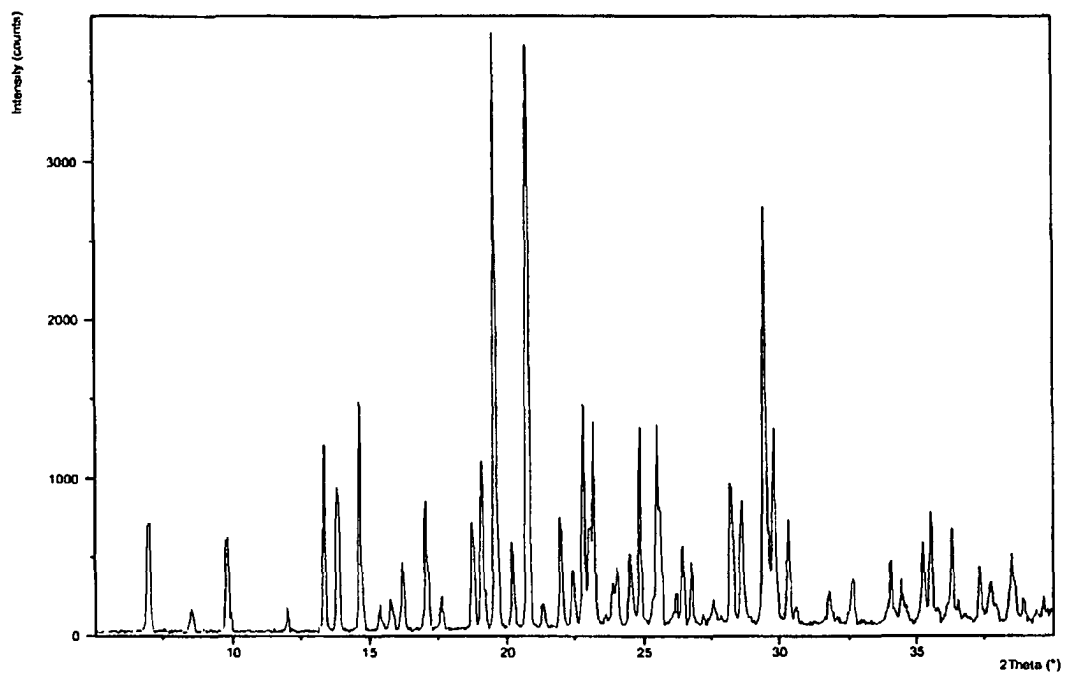
2/26

Röntgenpulverdiffraktogram av alfaformen av hydrobromidet

**Fig. 2**

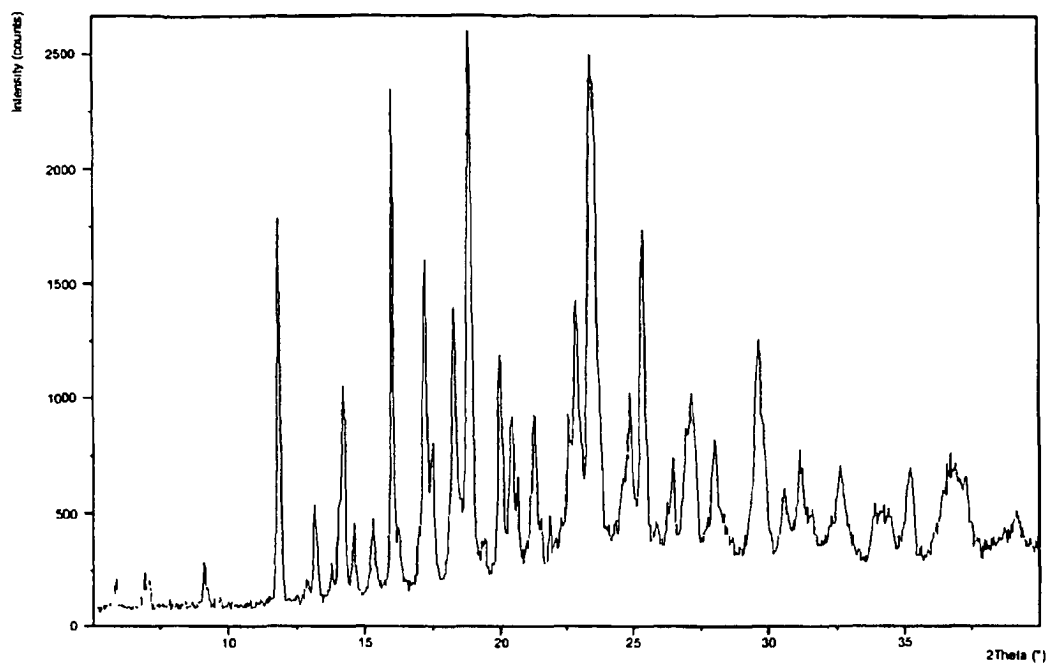
3/26

Röntgenpulverdiffraktogram av betaformen av hydrobromidet

**Fig. 3**

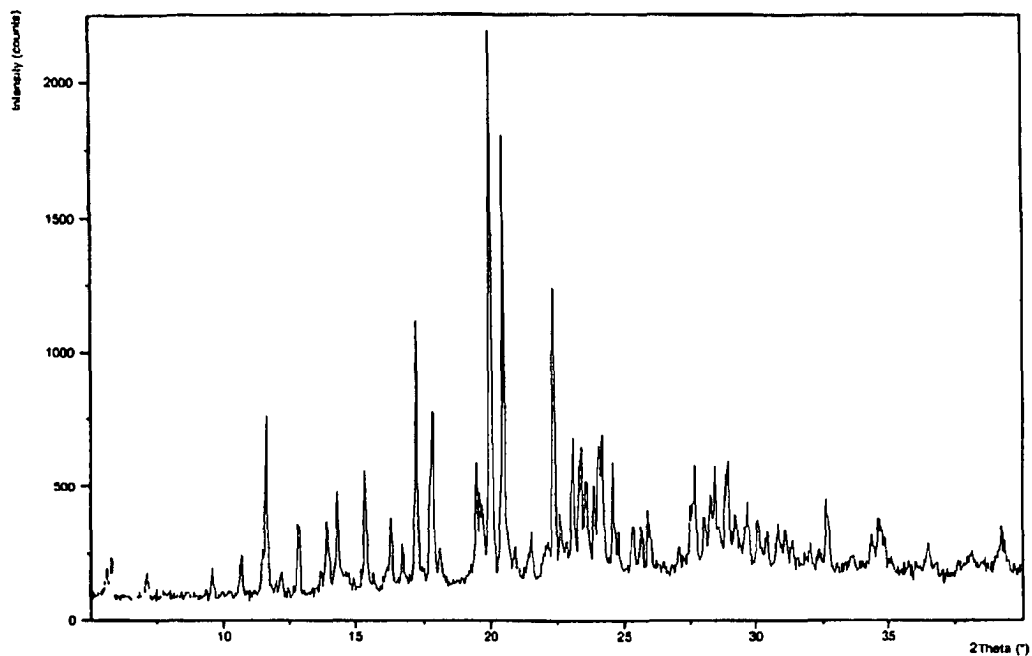
4/26

Röntgenpulverdiffraktogram av gammaformen av hydrobromidet

**Fig. 4**

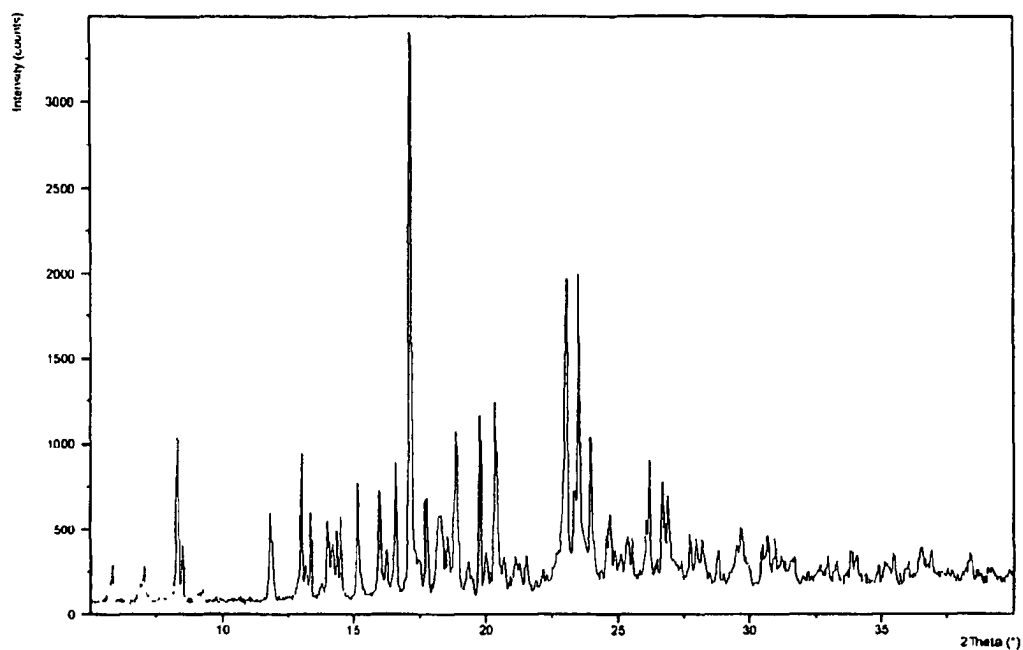
5/26

Röntgenpulverdiffraktogram av hydrobromid-hemihydratet

**Fig. 5**

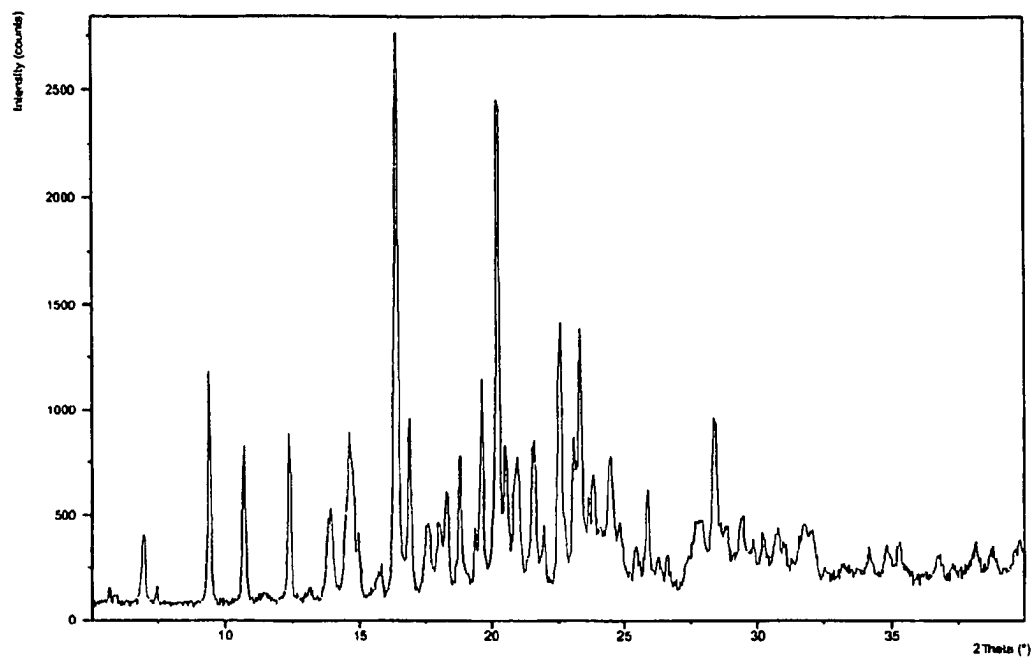
6/26

Röntgenpulverdiffraktogram av en blanding av etylacetatsolvatet og
alfaformen av hydrobromidet

**Fig. 6**

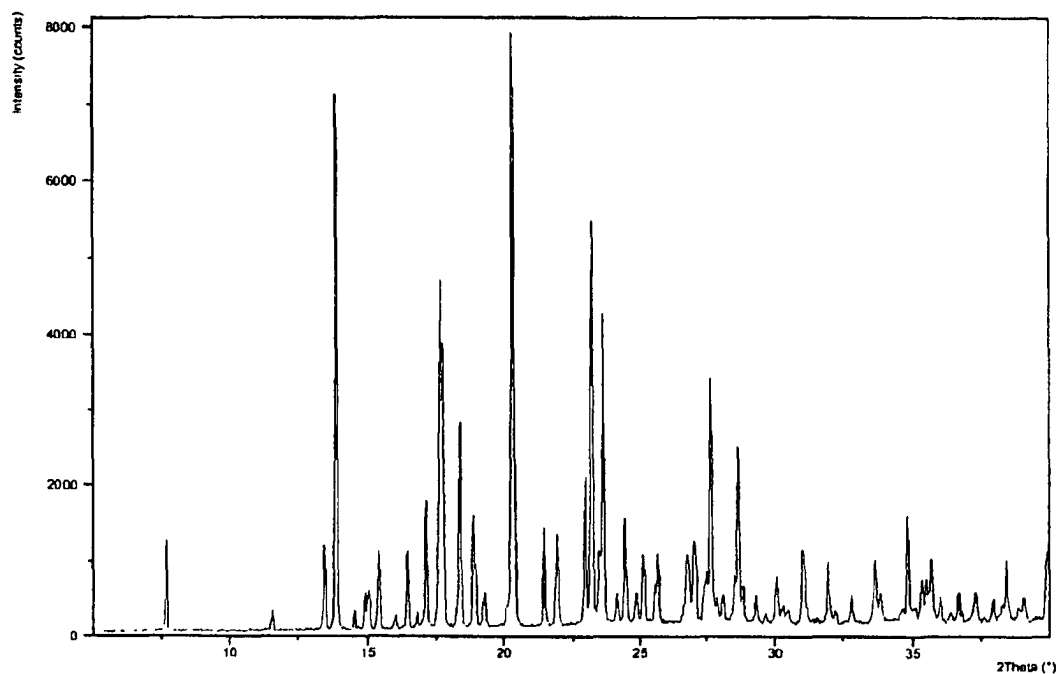
7/26

Röntgenpulverdiffraktogram av hydrokloridsaltet

**Fig. 7**

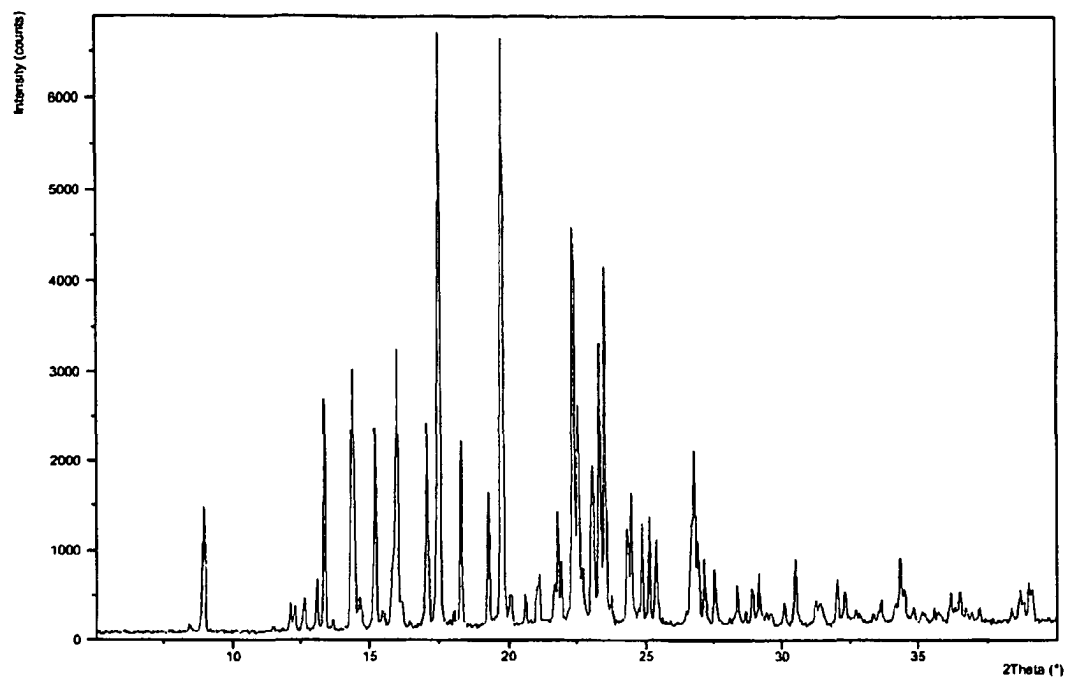
8/26

Röntgenpulverdiffraktogram av hydroklorid-monohydratet

**Fig. 8**

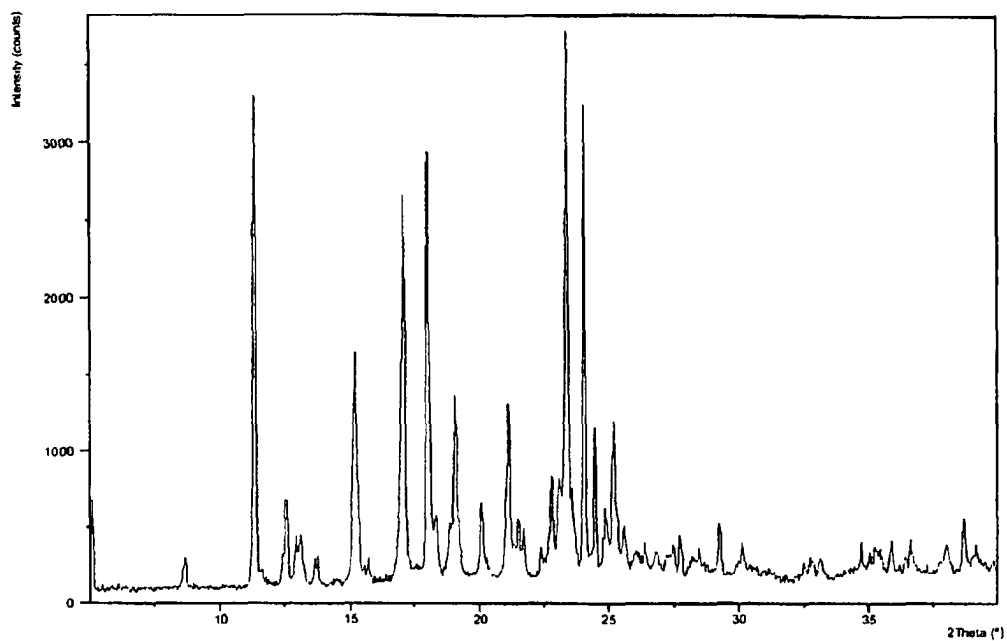
9/26

Röntgenpulverdiffraktogram av mesylatet

**Fig. 9**

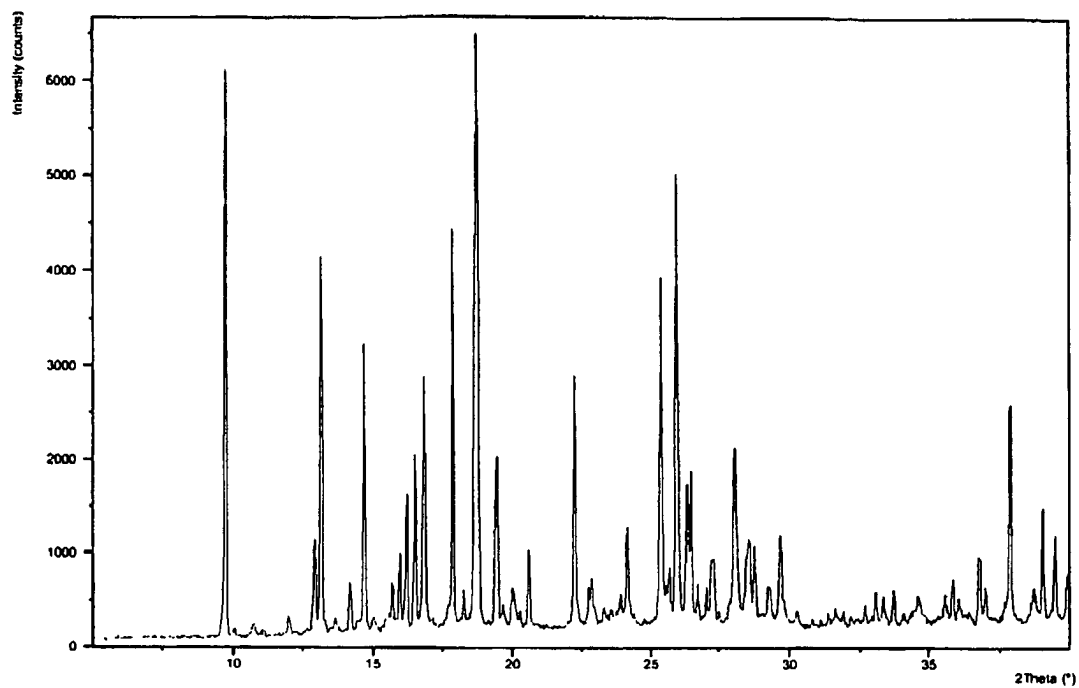
10/26

Röntgenpulverdiffraktogram av fumaratet

**Fig. 10**

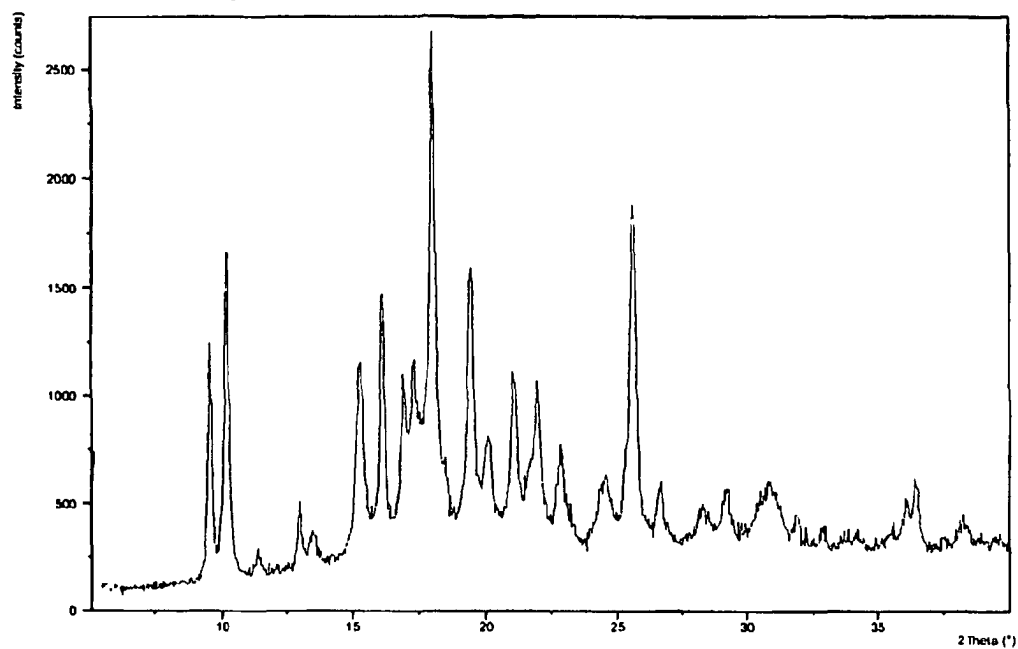
11/26

Röntgenpulverdiffraktogram av maleatet

**Fig. 11**

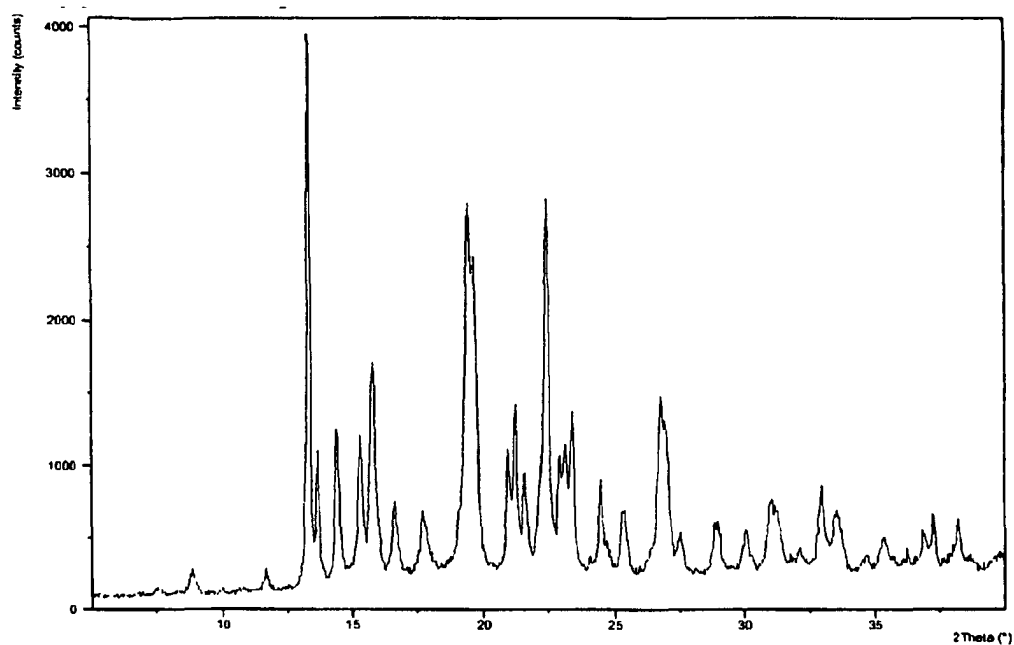
12/26

Röntgenpulverdiffraktogram av meso-tartratet

**Fig. 12**

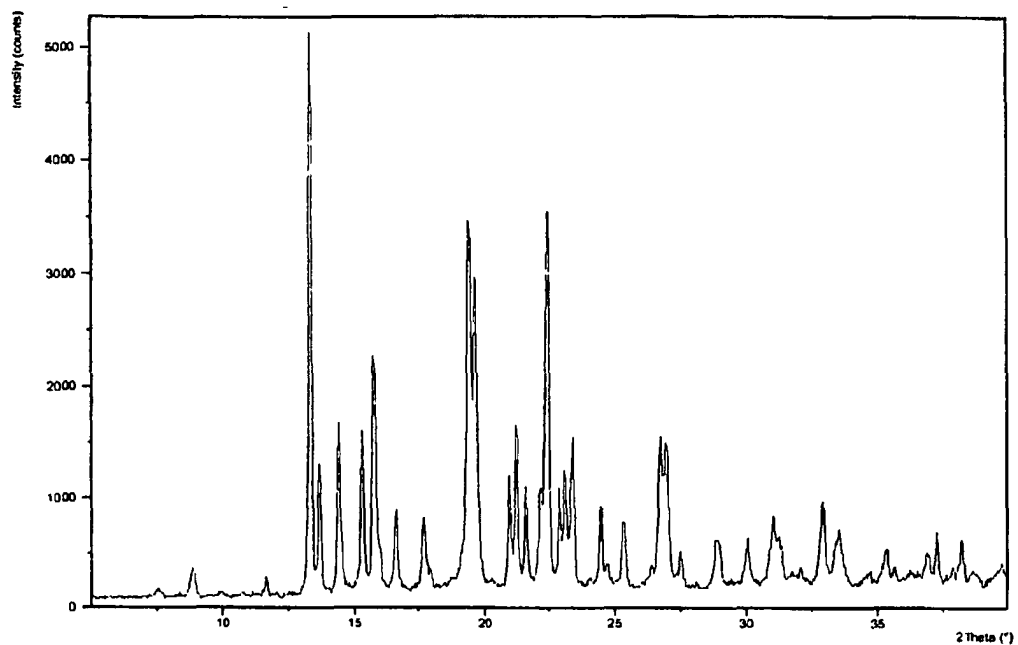
13/26

Röntgenpulverdiffraktogram av L-(+)-tartratet

**Fig. 13**

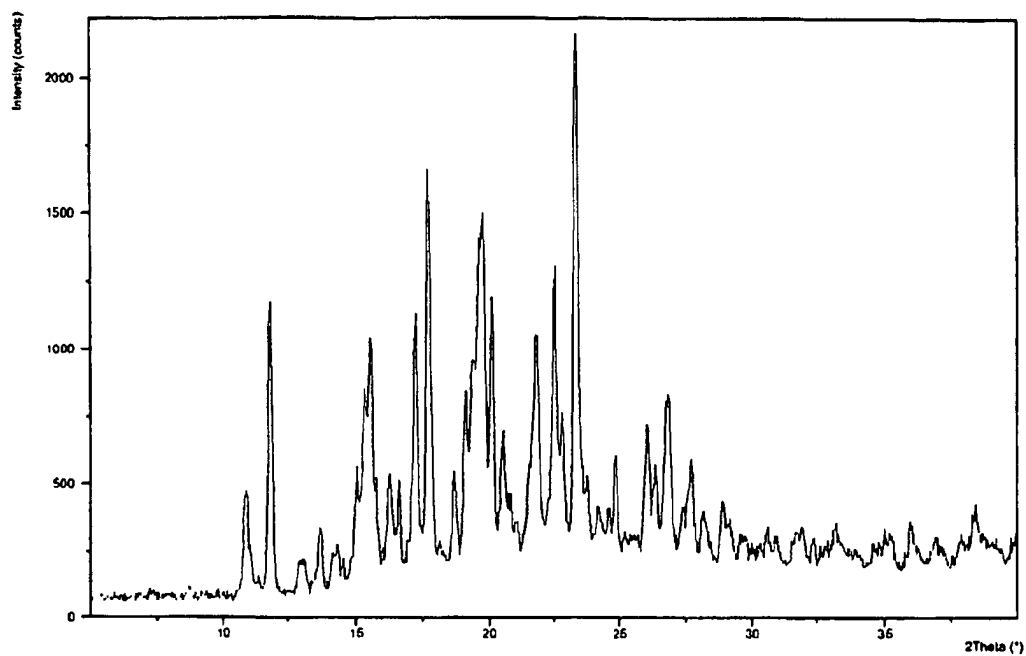
14/26

Röntgenpulverdiffraktogram av D-(-)-tartratet

**Fig. 14**

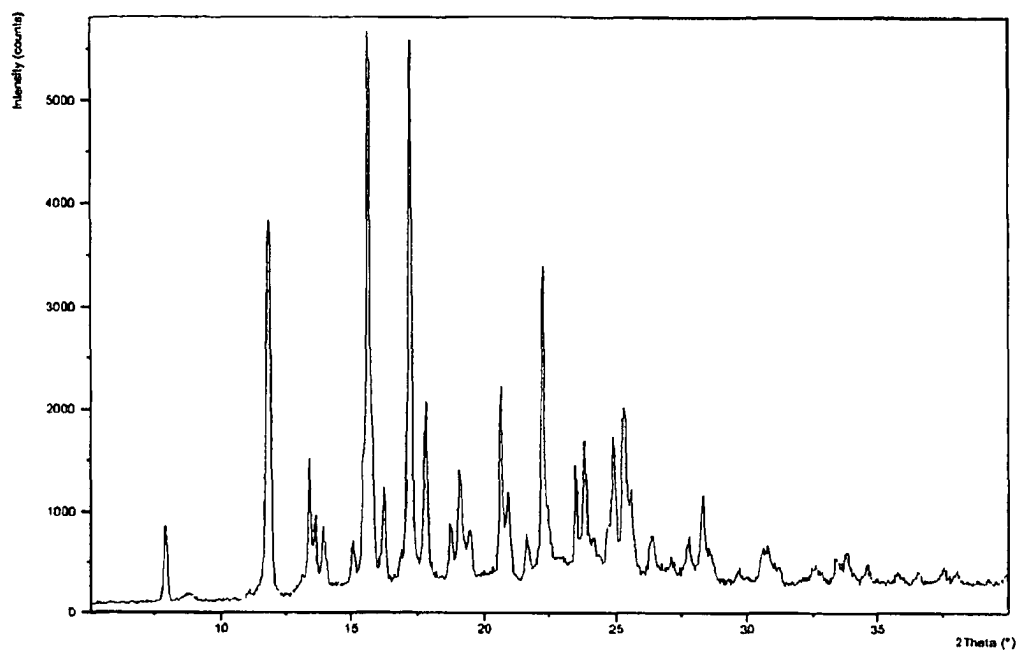
15/26

Röntgenpulverdiffraktogram av sulfatet

**Fig. 15**

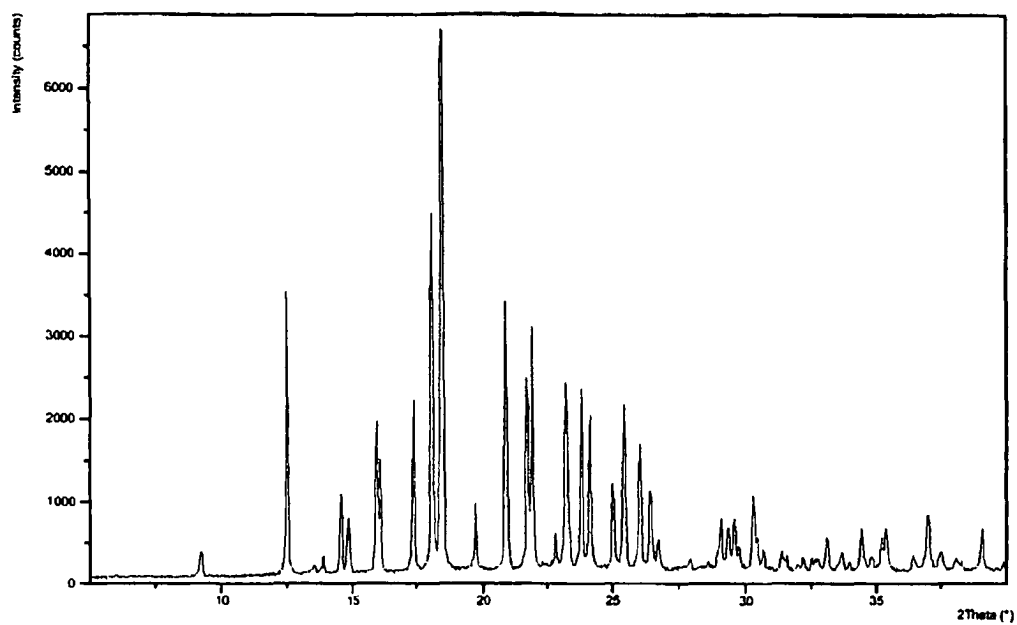
16/26

Röntgenpulverdiffraktogram av fosfatet

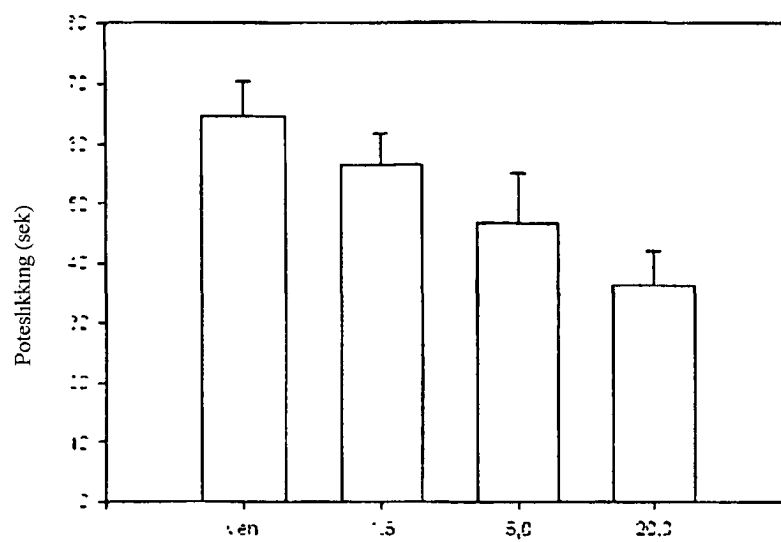
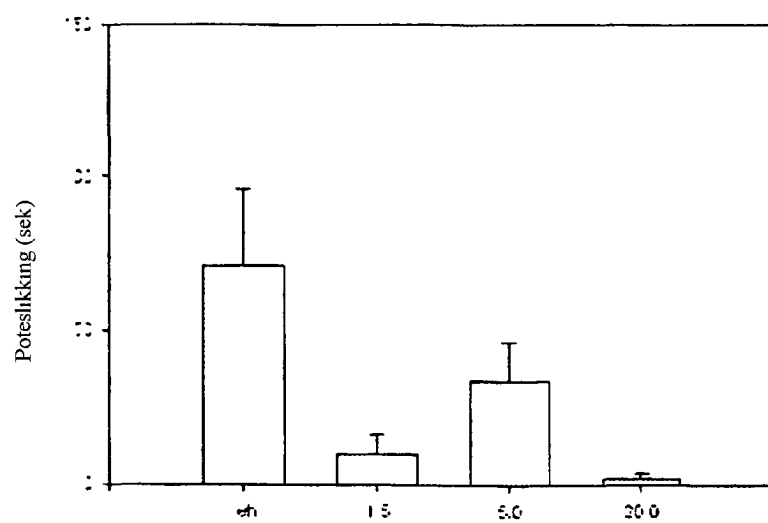
**Fig. 16**

17/26

Röntgenpulverdiffraktogram av nitratsaltet

**Fig. 17**

18/26

**Fig.18a****Fig. 18b**

19/26

Ach i prefrontal cortex hos frittstående rotter

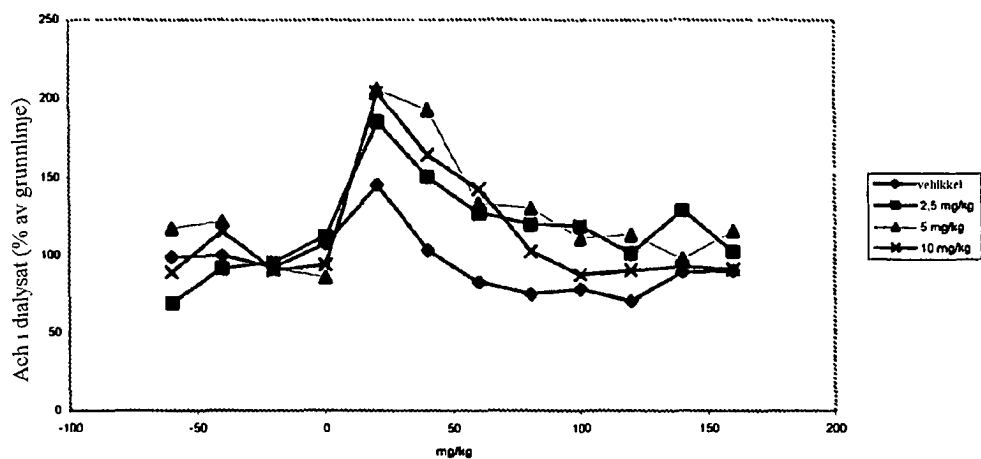


Fig. 19a

Ach i ventral hippocampus hos frittstående rotter

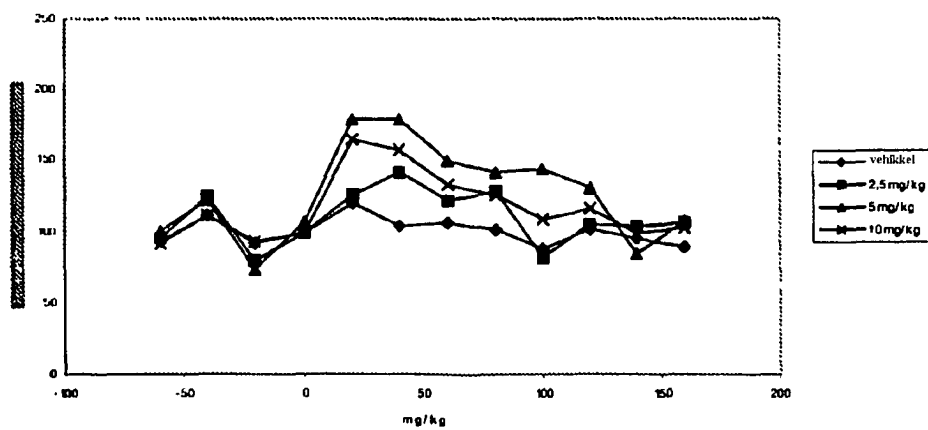


Fig. 19b

20/26

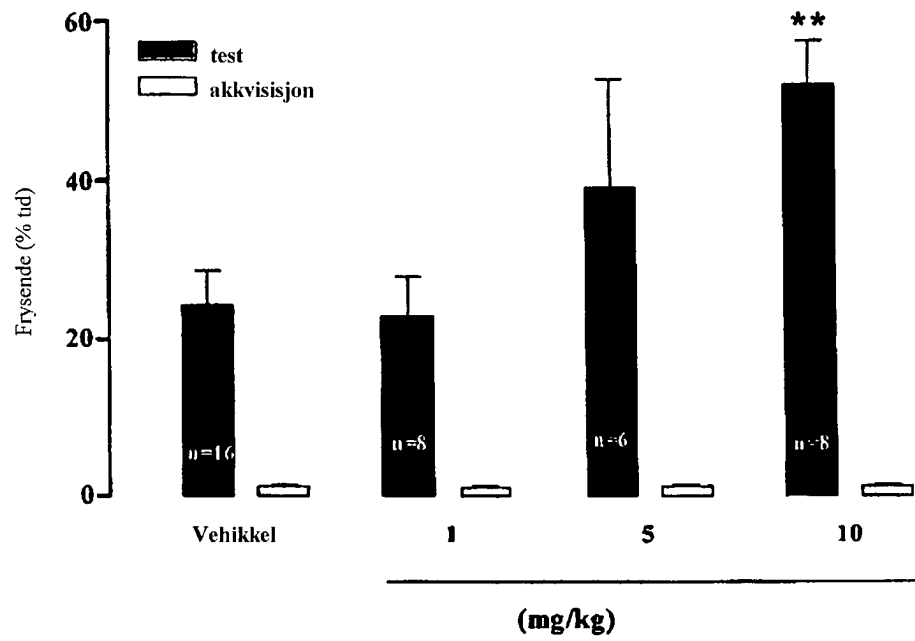


Fig. 20

21/26

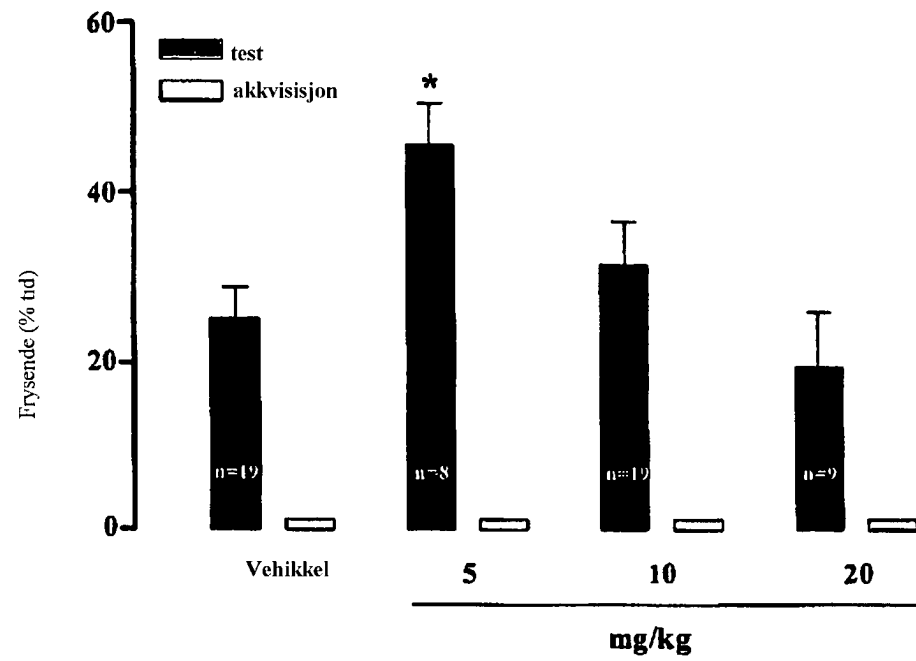


Fig. 21

22/26

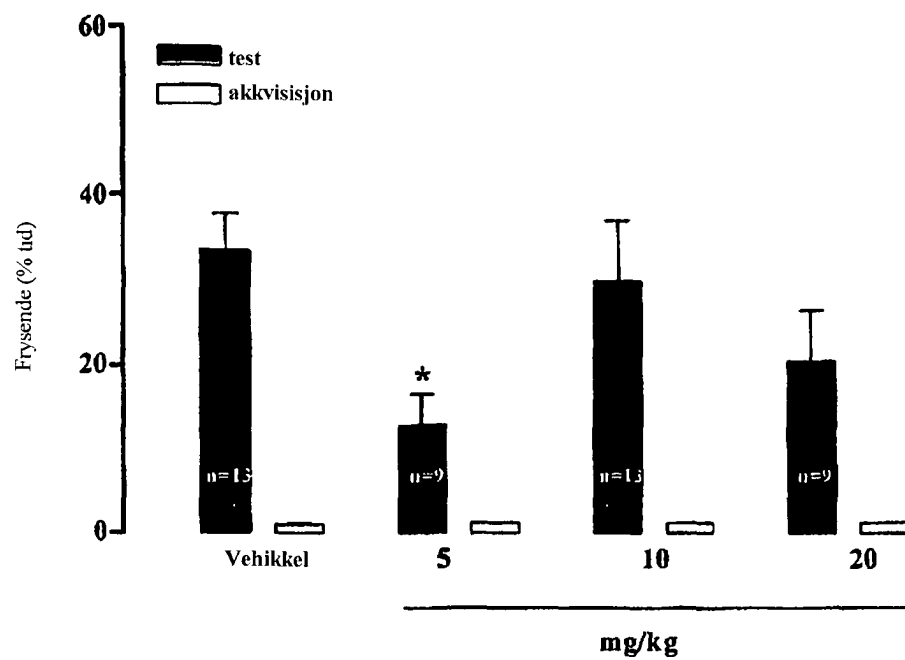
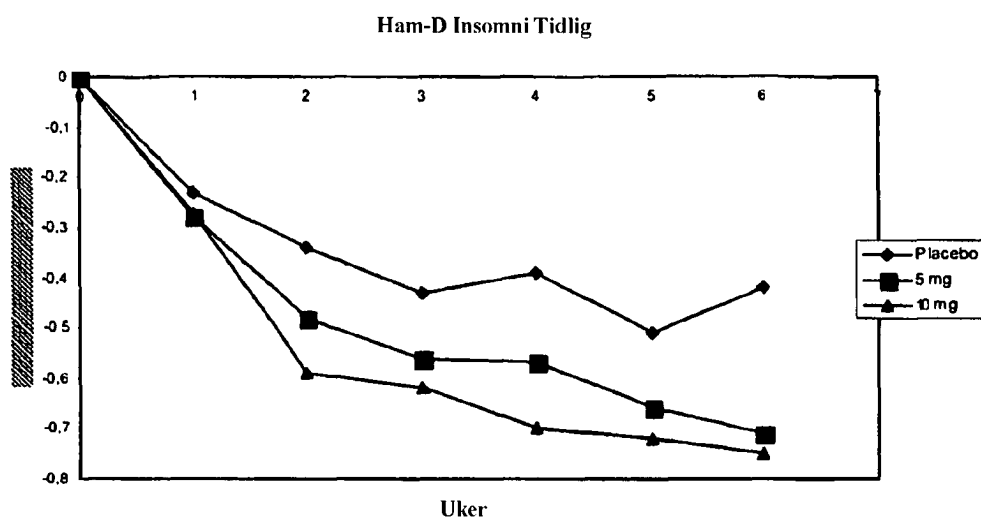
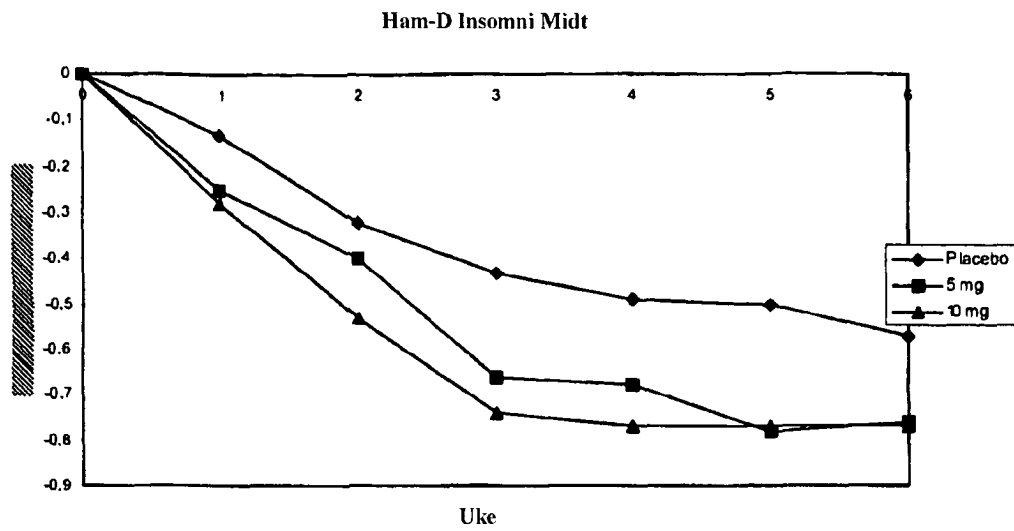


Fig. 22

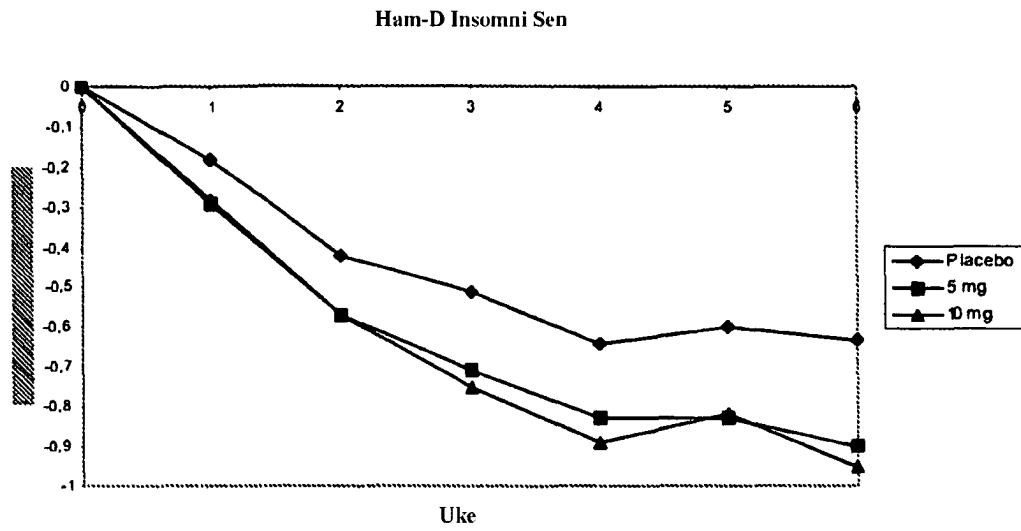
23/26

**Fig. 23**

24/26

**Fig 24**

25/26

**Fig 25**

26/26

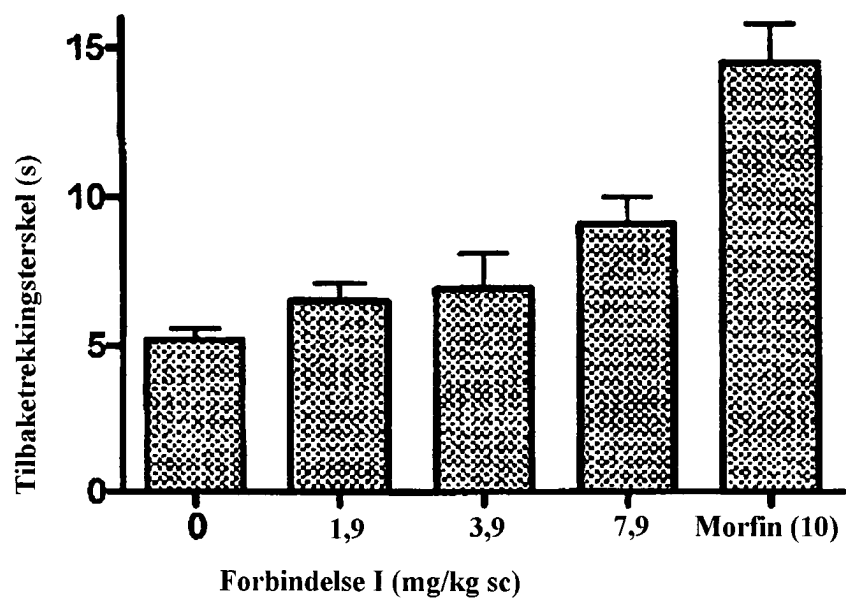


Fig 26