



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2252581 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

C07D 207/08 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61P 25/32 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2012.10.01
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2012.06.20
(86)	Europeisk søknadsnr	09703808.7
(86)	Europeisk innleveringsdag	2009.01.13
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.11.24
(30)	Prioritet	2008.01.22, EP 08380012 2008.03.25, US 39121 P
(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 MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
	Utpekte samarbeidende stater	AL BA RS
(73)	Innehaver	ELI LILLY AND COMPANY, Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, USA
(72)	Oppfinner	DIAZ BUEZO, Nuria, Lilly S.A. Avenida de la Industria 3028108 Alcobendas, Madrid, Spania MCKINZIE, David, Lee, Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, USA MITCH, Charles, Howard, Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, USA PEDREGAL-TERCERO, Concepcion, Lilly S.A. Avenida de la Industria 3028108 Alcobendas, Madrid, Spania
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54) Benevnelse **Kappa- opioidreseptor selektiv antagonist**

(56) Anførte publikasjoner WO-A-2004/026305

Tittel: Kappa-opioidreseptor selektiv antagonist

Beskrivelse

5 Lidelse knyttet til etanolforbruk er et vesentlig og vanlig helseproblem i hele verden og en årsak til alvorlige medisinske tilstander og atferder, slik som cirrhose, leverkreft, koronar hjertesykdom, iskemisk slag, føtalt alkoholsyndrom, ulykker og dødsfall i trafikken samt vold i hjemmet.

10 Etanolavhengighet er en kronisk, tilbakevendende lidelse, og tilbakefall er en stor utfordring for forsøk på behandling. Per dags dato finnes det ingen terapeutisk intervensjon som er påvist å være tilfredsstillende for å forhindre tilbakefall og varig abstinens. Det er behov for nye og mer virkningsfulle legemiddelbe-

15 handlinger som setter pasientene i stand til bedre å styre sitt etanolforbruk og bekjempe farene for tilbakefall.

De nåværende farmakologiske standardene for behandling av etanolavhengighet hos mennesker i USA er naltrekson (en opioidantagonist), akamprosat (en funksjonell glutamatantagonist) og disulfiram (en aldehyddehydrogenaseinhibitor). I

20 kombinasjon med atferdshåndtering er disse stoffene godkjent for å opprettholde abstinens. Selv om det er observert beskjedne virkning med disse behandlingene, lider alle under etterlevelsesproblemer, i hvert fall delvis, hvilket bidrar til et klinisk udekket behov. Mange pasienter som diagnostiseres med etanolavhengighet, har for eksempel samtidige symptomer på angst og/eller depresjon

25 eller schizofreni. De nåværende behandlingene beskrevet ovenfor gir ingen fordel for disse komorbide symptomene som kan spille en rolle i senere tilbakefall av lidelse knyttet til etanolforbruk. Den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer et slikt stoff som vil sette pasienten i stand til å avstå fra eller redusere omfattende etanolforbruk og lette samtidige symptomer på angst og/eller depresjon eller

30 schizofreni.

Naltrekson er en mu-reseptorforetrekkende opioidreseptorantagonist med antagonistaktivitet ved hver av de tre opioidreseptorene, mu, kappa og delta. Klinisk har naltrekson vist virkning ved å opprettholde etanolabstinens og redusere etanol-

35 nolsug. Men naltrekson kan forårsake hepatotoksisitet ved doser over 50 mg per dag, og egnet overvåkning er nødvendig. Denne hepatotoksisiteten er særlig

bekymringsfull hos en pasientpopulasjon med økt mottagelighet for leverskade på grunn av etanolforbruk.

5 Avhengig av forsøksbetingelsene er selektiv aktivering av kappa-opioidreseptorer påvist enten å øke eller redusere etanolforbruket. Avvikene i litteraturen kan være knyttet til ytterligere farmakologiske virkninger (f.eks. dysfori og kognitiv forstyrrelse) ved kappa-agonister. På den annen side er selektiv farmakologisk kappa-reseptorantagonisme eller genetisk delesjon av kappa-reseptorer påvist å øke selvadministreringen av etanol i dyrealkoholismemodeller. Dette antyder at
10 et farmasøytisk stoff som er en selektiv antagonist for kappa- sammenlignet med mu- og delta-opioidreseptorer, kan fylle et vesentlig behov ved behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk.

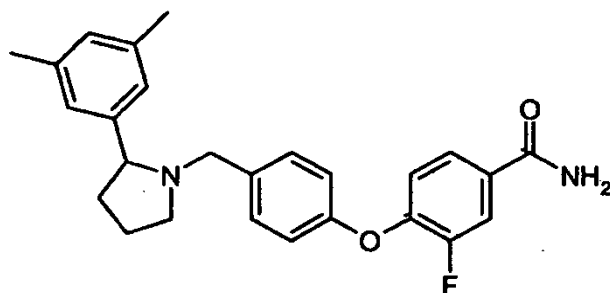
15 Det er et behov for et farmasøytisk stoff for behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk som viser kappa-opioidreseptorantagonistselektivitet. Det er også et behov for et farmasøytisk stoff som vil forbedre resultatene i ett eller flere av: antall dager med abstinens per måned, antall dager med omfattende forbruk per måned og antall enheter per dag med forbruk per måned. Det er videre et behov ved behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk for et stoff som viser virkning
20 for angst og depresjon eller schizofreni, eller begge, hvilke ofte er uavhengige komorbide tilstander hos pasienter med lidelse knyttet til etanolforbruk.

Opioidreseptorantagonister, slik som forbindelsene i WO 2004/026305, er beskrevet.

25

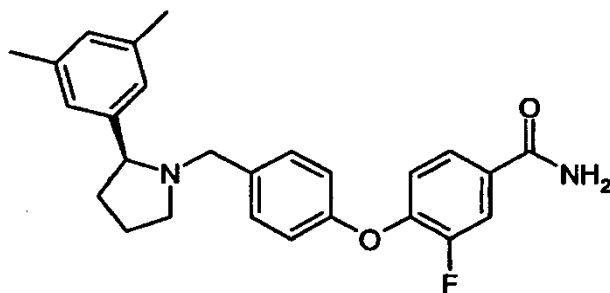
Den heri beskrevne forbindelse er en kappa-opioidreseptorantagonist. Denne forbindelsens egenskaper gjør den egnet som et terapeutisk stoff for å lette abstinens ved lidelse knyttet til etanolforbruk slik som å redusere mengden av etanol som brukes ved hver forbruksøkt i et definert tidsrom, redusere hyppigheten
30 av dager med etanolforbruk i et definert tidsrom, opprettholde redusert mengde og/eller hyppighet av bruk i et definert tidsrom eller abstinens fra etanolforbruk i et definert tidsrom. Forbindelsenes egenskaper som påvist i små dyremodeller gjør den egnet til å behandle angst- og/eller depresjons- eller schizofrenilidelser hos pasienter som har denne lidelsen, eller som en uavhengig komorbid lidelse
35 hos pasienter som også har lidelse knyttet til etanolforbruk.

Ett aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer:



3-Fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Et andre aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer:



(S)-3-Fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Et tredje aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en farmasøytisk formulering omfattende 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i forbindelse med et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff.

Et fjerde aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en farmasøytisk formulering omfattende (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i forbindelse med et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff.

Et femte aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en forbindelse 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller (S)-

3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse i terapi.

5 Et sjette aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en forbindelse 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse i behandlingen av lidelse knyttet til etanolforbruk.

10 Et sjuende aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en forbindelse av 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av:

15

a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, eller

20

b) en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse, eller

c) en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

d) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a), eller

e) lidelse knyttet til etanolforbruk og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

25

f) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

g) schizofreni, eller

h) lidelse knyttet til etanolforbruk og schizofreni.

30

Et åttende aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer anvendelse av en forbindelse av 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-

yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til produksjon av et legemiddel for behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk.

5 Et niende aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer anvendelse av en forbindelse av 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid eller (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for produksjon av et legemiddel for behandling av:

- 10 a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, eller
- b) en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse, eller
- 15 c) en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller
- d) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a), eller
- e) lidelse knyttet til etanolforbruk og en depressiv sykdom valgt fra b), eller
- f) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller
- 20 g) schizofreni, eller
- h) lidelse knyttet til etanolforbruk og schizofreni.

25 Et tiende aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk virkningsfull mengde av (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og en terapeutisk virkningsfull mengde av en tertiær amin trisyklisk norepinefrin reopptaksinhibitor valgt fra amitriptylin, kломipramin, doksepin, imipramin og (+)-trimipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i kombinasjon med et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff. En foretrukket utførelsesform av denne

30 sammensetning omfatter (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-

metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og imipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

5 Et ellevte aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer anvendelse av en forbindelse av (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og en ter-
tiær amin trisyklisk norepinefrin reopptaksinhibitor valgt fra amitriptylin, klo-
mipramin, doksepin, imipramin og (+)-trimipramin, eller et farmasøytisk aksep-
tabelt salt derav, for produksjon av et legemiddel for behandling av:

10

a) lidelse knyttet til etanolforbruk, eller

b) en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidel-
se, eller

15

c) lidelse knyttet til etanolforbruk og en depressiv sykdom valgt fra b). En fo-
retrukket utførelsesform av dette aspektet ved den foreliggende oppfinnelse
omfatter (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-
metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og
imipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

20

Et tolvte aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en forbindelse av
(S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid,
eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av:

25

a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial
fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse,
eller

b) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a).

30

Et trettende aspekt ved den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en anvendel-
se av en forbindelse av (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-
metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for pro-
duksjon av et legemiddel for behandling av:

a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, eller

b) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a).

5

Selektiv kappa-opioidreseptorantagonisme er påvist å redusere avhengighetsindusert selvadministrering av etanol hos etanolavhengige Wistar-rotter, mens ikke-avhengige dyr ikke ble berørt, Walker og Koob, Neuropsychopharmacology, advance online publication, 2. mai 2007, s. 1–10. Mus som mangler genet som produserer kappa-opioidreseptor eller det endogene ligandforløperpreprodynorfinet, forbruker likeledes vesentlig mindre alkohol enn villtypemus (Kovacs et al., Alcohol: Clin & Exp. Res. 2005, 29: 730–739; Blednov et al., Alcohol 2006, 40: 73–86).

10

15

Det er blitt fastslått at det er en sammenheng mellom lidelse knyttet til etanolforbruk og angst- og/eller depresjonslidelser, som uavhengige komorbide tilstander, hos de samme pasientene. Arch. Gen. Psychiatry, 61, 807–816 (2004). Denne sammenhengen peker på hvor ønskelig det er å behandle både lidelsen knyttet til etanolforbruk og de uavhengige komorbide angst- og/eller depresjonslidelser hos pasienter med et enkelt farmasøytisk virkestoff. Det er også blitt fastslått at det er en sammenheng mellom lidelse knyttet til etanolforbruk og schizofreni, som uavhengige komorbide tilstander hos de samme pasientene. Gregg et al., Clinical Psychology Review, 27, 494–510 (2007). Denne sammenhengen peker på hvor ønskelig det er å behandle både lidelsen knyttet til etanolforbruk og den uavhengige komorbide schizofrenien hos pasienter med ett enkelt farmasøytisk virkestoff.

20

25

30

Lidelse knyttet til etanolforbruk er en gruppe av kognitive, atferdsmessige og fysiologiske symptomer som viser at det er et varig forbruk av stoffet tross vesentlige forbruksrelaterte problemer. Det er et mønster med gjentatt selvadministrering som resulterer i toleranse, abstinens og kompulsiv stoffadministrerende atferd. Problemene forbundet med lidelse knyttet til etanolforbruk varierer. Det kan være gjentatt svekkelse av evnen til å oppfylle større forpliktelser, gjentatt forbruk i situasjoner hvor det er fysisk farlig, en rekke juridiske problemer

og hyppige sosiale og mellommenneskelige problemer. Disse problemene inn-
treffer gjentatte ganger i løpet av samme 12-månedersperiode.

5 Toleranse er behovet for at økte mengder av etanol skal oppnå ønsket virkning,
eller en redusert virkning ved fortsatt bruk av samme mengde av etanol.

10 Abstinens er alminneligvis en atferdsendring som har fysiologiske og kognitive
komponenter som skjer når konsentrasjonene av etanol i blodet eller vevet faller
hos en person som har hatt omfattende forbruk av etanol over lengre tid. Etter å
ha utviklet abstinenssymptomer vil vedkommende sannsynligvis forbruke etanol
for å lette eller unngå disse symptomene.

15 Betegnelsen "pasient" betyr som anvendt heri pattedyr. "Pattedyr" betyr patte-
dyrklassen av høyere virveldyr, og betegnelsen "pattedyr" inkluderer blant annet
mennesker.

20 Lidelse knyttet til etanolforbruk inkluderer etanolmisbruk og etanolavhengighet.
Betegnelsen "avhengighet" vil si en psykologisk og/eller fysiologisk manifesta-
sjon av avhengigheten av etanol. Betegnelsen "lidelse knyttet til etanolforbruk"
inkluderer særlig abstinenslidelser slik som etanolabstinens med eller uten per-
septuelle forstyrrelser og etanolabstinensdelirium. Se DSM-IV-TR., Diagnostic
and Statistical Manual of Mental Disorders. Revised, 4. utg., Text Revision
(2000). International Classification of Diseases, Tenth Revision, (ICD-10) med
oppdateringer tilveiebringer dessuten en klassifisering for mange av de heri
25 beskrevne lidelsene. Fagpersonen vil erkjenne at det finnes alternative nomen-
klaturer og klassifiseringssystemer for de heri beskrevne lidelsene og lidelsene
beskrevet i DMS-IV-TR og ICD-10, og at terminologien og klassifiseringssyste-
mene utvikler seg etter hvert som det gjøres medisinske vitenskapelige frem-
skritt.

30 Betegnelsen "terapeutisk virkningsfull mengde" som anvendt heri er synonym
med "terapeutisk virkningsfull dose" og betyr en mengde av forbindelsen eller et
farmasøytisk akseptabelt salt som er tilstrekkelig i én eller flere administreringer
for å behandle lidelse knyttet til etanolforbruk, en angstlidelse som beskrevet
35 ovenfor, en depressiv sykdom som beskrevet ovenfor, en kombinasjon av lidelse
knyttet til etanolforbruk og én eller begge av en angstlidelse og en depressiv

sykdom, schizofreni, eller en kombinasjon av lidelse knyttet til etanolforbruk og schizofreni.

5 Betegnelsen "behandling" og "behandle" som anvendt heri betyr håndtering og pleie av en pasient for å redusere eller stoppe selvadministrering og forbruk av etanol. Betegnelsen er beregnet på å inkludere hele spekteret av intervensjon for lidelsen knyttet til etanolforbruk som pasienten lider av, slik som administrering av den virksomme forbindelsen for å lette symptomene eller komplikasjonene, forsinke progresjonen av lidelsen knyttet til etanolforbruk og redusere 10 mengden av etanol som forbrukes per dag med drikking per måned eller dager med omfattende drikking per måned, eller begge. Håndtering og pleie av en pasient for å bekjempe lidelsen knyttet til etanolforbruk inkluderer administrering av den virksomme forbindelsen for å inhibere den fysiologiske eller psykologiske forekomst av symptomer for gjenopptatt forbruk, fortsatt forbruk eller økt forbruk. Pasienten som skal behandles, er fortrinnsvis et pattedyr, særlig et men- 15 neske. Betegnelsen "behandling" og "behandle" som anvendt heri betyr også håndtering og pleie av en pasient for en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse, eller begge, schizofreni, og kan videre inkludere lidelse knyttet til etanolforbruk hos denne pasienten. 20

Betegnelsen er beregnet på å inkludere hele spekteret av intervensjon for lidelsene som pasienten lider av, slik som administrering av den virksomme forbindelse for å lette symptomene eller komplikasjonene, og forsinke progresjonen av lidelsen. Pasienten som skal behandles, er fortrinnsvis et pattedyr, særlig et menneske. 25

Spekteret av etanolforbruk går fra ingen (abstinens) til lavrisikoforbruk, deretter usunt forbruk (for stort) som omfatter risikabelt forbruk og problematisk forbruk, 30 til lidelse knyttet til etanolforbruk som inkluderer etanolmisbruk og etanolavhengighet. Etanolforbruket er for stort når det forårsaker eller forhøyer risikoen for etanolrelaterte problemer eller kompliserer håndteringen av andre helseproblemer. Det bør være underforstått at stadig mer omfattende forbruk (dager med omfattende forbruk per måned, mengden forbrukt per dag med forbruk per måned, eller begge) korrelerer med økende negative konsekvenser for pasienten og 35

høyere terskler langs spekteret for etanolforbruk til mønsteret når definitive stadier med tilstander av etanolsykdom (etanolmisbruk og etanolavhengighet). I USA er menn som forbruker fem eller flere standardenheter per dag (eller femten eller mer per uke), og kvinner som forbruker fire eller mer per dag (eller åtte eller mer per uke), utsatt for etanolrelaterte problemer (dvs. risikabel bruk). I Europa er menn som forbruker 4 enheter (32 g) per dag, og kvinner som forbruker 3 enheter (24 g) per dag, utsatt for etanolrelaterte problemer (risikabel bruk). Individuelle reaksjoner på etanol varierer imidlertid, og etanolforbruk på et nivå med risikabelt forbruk kan være et problem som krever behandling avhengig av mange faktorer, slik som alder, samtidig eksisterende tilstander og legemiddelbruk.

En standardenhet i USA er en enhet som inneholder cirka fjorten gram ren etanol (cirka 0,6 fluid ounces eller 1,2 tablespoons). Standardenhetsekvivalenter er: 12 oz. øl eller kald drikk, 8–9 oz. maltøl, 5 oz. bordvin, 3–4 oz. hetvin (slik som sherry eller portvin), 2–3 oz. sprit, likør eller aperitiff, 1,5 oz brandy (et enkelt glass) og 1,5 oz. brennevin (et enkelt glass med 40 % gin, vodka, whisky osv.). Dette er omtrentlige tall, siden forskjellige merker og typer av drikker varierer i sitt faktiske etanolinnhold. I Europa er én enhet en standarddrikk og omfatter én halv pint øl av alminnelig styrke, ett enkelt oppmålt glass brennevin og et standardglass vin. Som med amerikanske måleenheter er disse omtrentlige, siden forskjellige merker og typer av drikk varierer i sitt faktiske etanolinnhold.

Farmasøytisk akseptable salter av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse og alminnelig metodologi for fremstilling av dem er velkjent i teknikken. Se for eksempel P. Stahl, et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, bd. 66, nr. 1, januar 1977.

Betegnelsen "formulering", som i farmasøytisk formulering, eller "farmasøytisk sammensetning" er beregnet på å omfatte et produkt omfattende (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller blandet med sin enantiomer, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og de inerte ingrediensene som utgjør bærestoffet. De farmasøytiske formuleringene omfatter følgelig enhver sammensetning fremstilt ved blanding av (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-

metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, alene eller blandet med sin enantiomer, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og et farmasøytisk bærestoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff.

- 5 Sammensetninger ifølge den foreliggende oppfinnelse omfattende en terapeutisk virkningsfull mengde av (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og en te-
 10 rapeutisk virkningsfull mengde av en tertiær amin trisyklisk norepinefrin reopp-taksinhibitorvalgt fra amitriptylin, klomipramin, doksepin, imipramin og (+)-trimipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav kan passende administ-
 15 reres i en farmasøytisk sammensetning inneholdende de virksomme komponentene i kombinasjon med et passende (farmasøytisk akseptabel) bærestoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff. Slike farmasøytiske sammensetninger kan fremstilles ved fremgangsmåter og inneholde et bærestoff, fortynningsmiddel
 20 og/eller hjelpestoffer som er velkjent i teknikken. Et alminnelig anerkjent kompendium over slike fremgangsmåter og ingredienser er Remington: The Science and Practice of Pharmacy Mack Publishing Co., 19. utg., 1995). Sammensetningene kan administreres parenteralt (f.eks. intravenøst) eller oralt. Mengden av virksam forbindelse i slike terapeutisk nyttige sammensetninger er slik at et virkningsfullt dosenivå vil bli tilbudt for hver virksam ingrediens.

- Det vil være underforstått at forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse finnes som en stereoisomer. Som anvendt heri er henvisninger til forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse beregnet på også å inkludere racemiske
 25 blandinger derav. Cahn-Ingold-Prelog-betegnelsene (R)- og (S)- anvendes heri for å henvise til spesifikke isomerer. Spesifikke stereoisomerer kan fremstilles ved stereospesifikk syntese ved hjelp av enantiomerisk rene eller anrikede utgangsmaterialer. De spesifikke stereoisomerene i enten utgangsmaterialene eller forbindelsene kan oppløses ved teknikker som er velkjent i teknikken, slik som
 30 dem i Stereochemistry of Organic Compounds, E. I. Eliel og S. H. Wilen (Wiley 1994) og Enantiomers, Racemates, and Resolutions, J., Jacques, A. Collet og S. H. Wilen (Wiley 1991), herunder kromatografi på kirale stasjonære faser, enzy-matiske oppløsninger eller fraksjonell krystallisering eller kromatografi av diaste-reomerer dannet for det formål, slik som diastereomeriske salter. Hvis en kiral
 35 forbindelse oppløses til sine isomerer, men absolutte konfigurasjoner eller optiske rotasjoner ikke bestemmes, betegnes isomerene vilkårlig som isomer 1, iso-

mer 2 osv. Mens alle blandinger inneholdende forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse er tenkt omfattet av den foreliggende oppfinnelse, er den foretrukne utførelsesformen en enkelt enantiomer.

5 Forbindelsene benyttet som første utgangsmaterialer i syntesen av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse er velkjent og, så vidt den ikke er kommersielt tilgjengelig, kan enkelt syntetiseres ved hjelp av spesifikke tilveiebrakte henvisninger, ved standardprosedyrer som vanligvis benyttes av fagpersoner, eller som finnes i alminnelige referansetekster.

10

Eksempler på kjente prosedyrer og fremgangsmåter inkluderer dem beskrevet i alminnelige referansetekster slik som Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers Inc, 1989; Compendium of Organic Synthetic Methods, bind 1–10, 1974–2002, Wiley Interscience; Advanced Organic Chemistry, Reactions Mechanisms, og Structure, 5. utgave, Michael B. Smith og Jerry March, Wiley Interscience, 2001; Advanced Organic Chemistry, 4. utgave, del B, Reactions and Synthesis, Francis A. Carey og Richard J. Sundberg, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2000 osv., og deri nevnte henvisninger.

15

20

De trisykliske tertiæramininhibitorene mot reopptak av norepinefrin amitriptylin, klomipramin, doksepin og imipramin er kommersielt tilgjengelige som hydrokloridsalter. Forbindelsen (+)-trimipramin er kommersielt tilgjengelig som et maleatsalt. Fremstillingen av alternative farmasøytisk akseptable salter fra den kommersielt tilgjengelige saltformen skjer ved standardprosedyrer som vanligvis benyttes av fagpersoner.

25

Som anvendt heri er "ekviv" ekvivalenter, "mg" er milligram, "g" er gram, "kg" er kilogram, "mmol" er millimol, "ml" er milliliter, "µm" er mikrometer, "cm" er centimeter, "l" er liter, "°C" er grader Celsius; "M" er mol, "Å" er Ångström, "h" er time eller timer, "v/v" er "volum" for å beskrive konsentrasjonen av et stoff i en blanding eller løsning, "DMA" er dimetylacetamid, "DCE" er dikloreten, "AcOH" er eddiksyre, "DCM" er diklormetan, "EtOH" er etanol, "MS" er massepekter, "APCI" er kjemisk ionisering ved atmosfærisk trykk, "API" er ionisering ved atmosfærisk trykk, "EIC" er ekstrahert ionekromatografi, "t_R" er oppholdstid, betegnelsen "enantiomerisk overskudd" eller "ee" er prosentandelen hvorved én enantiomer, E1, er i overskudd i en blanding av to enantiomerer, E1 pluss E2,

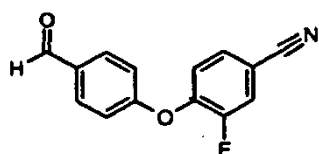
30

35

slik at $\{(E1-E2)/(E1+E2)\} \times 100 = \%ee$; "DTT" er ditiotreitol eller Clelands reagens, "HEPES" er N-(2-hydroksyetyl)piperazin-N'-(2-etansvovelsyre), "EDTA" er etylendiamintetraeddiksyre, "GTP" er guanosin-5'-trifosfat, "GDP" er guanosin-5'-difosfat, "MTEP" er 3-[(2-metyl-1,3-tiazol-4-yl)etynyl]pyridin, "sc" er subkutan; "ip" er intraperitoneal, "po" er per os (oral), "i.v." er intravenøs.

Fremstilling av mellomprodukt 1

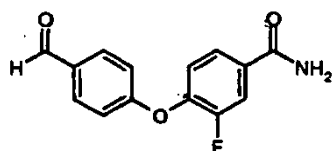
3-Fluor-4-(4-formyl-fenoksy)-benzonitril



Omrør en blanding av 4-hydroksy-benzaldehyd (50 g, 1,00 ekv., 409,4 mmol) og 3,4-difluor-benzonitril (56,96 g, 1,00 ekv.) i DMA (750 ml) ved 23 °C inntil det er fullstendig oppløst. Tilsett kaliumkarbonat (1,5 ekv., 84,88 g) og oppvarm blandingen ved 100 °C i 3 h. Avkjøl til romtemperatur. Hell reaksjonsblandingen over H₂O-is (1,5 L). Filtrer det faste stoffet over filterpapir, vask det faste stoffet med vann to ganger og tørk under redusert trykk for å oppnå mellomprodukt 1. (82,40 g, 83 % utbytte). MS (APCI): (M⁺-1) 240,0

Fremstilling av mellomprodukt 2

3-Fluor-4-(4-formyl-fenoksy)-benzamid

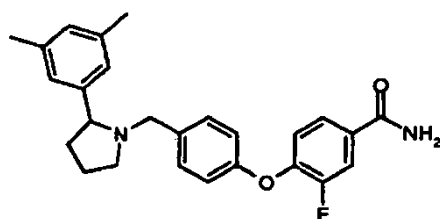


Til en omrørt løsning av 3-fluor-4-(4-formyl-fenoksy)-benzonitril (17,72 g, 1,00 ekv.; 73,460 mmol) i dimetylsulfoksid (75 ml) tilsettes kaliumkarbonat (0,5 ekv., 5,08 g). Avkjøl blandingen til 10 °C og tilsett hydrogenperoksid (35 % i vann, 7,4 ml, 1,05 ekv.) dråpevis mens den interne temperaturen holdes under 40 °C. Etter tilsetningen omrøres reaksjonsblandingen i 3 h. Hell blandingen over

H₂O-is (300 ml). Filtrer det faste stoffet over filterpapir, vask det faste stoffet med vann to ganger og tørk under redusert trykk for å oppnå mellomprodukt 2. (17,30 g, 91 % utbytte). MS (APCI): (M⁺+1)260,1

5 Eksempel 1

4-{4-[2-(3,5-Dimetyl-fenyl)-pyrrolidin-1-ylmetyl]-fenoksy}-3-fluor-benzamid



Del 1- Racemisk 4-{4-[2-(3,5-Dimetyl-fenyl)-pyrrolidin-1-ylmetyl]-fenoksy}-3-fluor-benzamid

15 Tilsett en løsning av 3-fluor-4-(4-formyl-fenoksy)benzamid i DCE: AcOH, 25:2 (100 mg, 1 ekv. i 6,7 ml, 0,06 M) til 2-(3, 5-dimetyl-fenyl)-pyrrolidin (70 mg, 0,4 mmol, 1 ekv.) i et forseglet rør. Omrør blandingen orbitalt i 16 h ved romtemperatur. Tilsett natriumtriacetoksyborohydrid (1,5 ekv.; 127 mg) i to porsjoner. Omrør blandingen ved romtemperatur i 10 h. Fjern løsningsmidlet under en

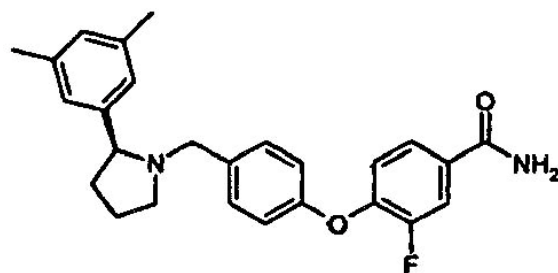
20 strøm av N₂-gass ved 40°C natten over. Oppløs den ubearbeidede reaksjonsblanding i DCM og adsorber på Stratta-NH₂[®] (55 mikron, 70ÅA) Fenomenex, Inc., 411 Madrid Avenue, Torrance, California, 90501-1430, U.S.A. Rens ved flashkromatografi på SiO₂-kassett ved anvendelse av en gradient av CHCl₃: EtOH: NH₄OH (97:3:0,3 til 88:12:1,2) for å gi tittelforbindelsen (100 mg, 60 %) som en racemisk blanding. MS(EIC): (M+1) 419

25

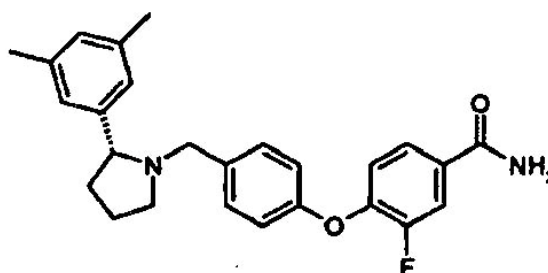
Del 2

4-{4-[2-(3,5-Dimetyl-fenyl)-pyrrolidin-1-ylmetyl]-fenoksy}-3-fluor-benzamid

30

Isomerer 1 og 2

Isomer 1
Eksempel 1A



Isomer 2
Eksempel 1B

5 A racemisk blanding (40 mg) av enantiomerer fra eksempel 1, del 1, renses ved kiral kromatografi ved anvendelse av Chiralpak AD (250 mm X 4,6mm, 10µm) eluerende med Hex-0,2 %DMEA/EtOH 90/10; Strømningshastighet 1 ml/min; t_R =6,7 min, for å gi isomer 1-forbindelsen (9,6 mg). Renhet (%) ved LC/MS: 99 %, ee(%) 98 %; MS(EIC): (M+1) 419 (henvist heri som eksempel 1A). En and-
10 re eluerende enantiomer (9,7 mg), t_R =12,9 min. betegnes som isomer 2-forbindelsen (henvist heri som eksempel 1B). Renhet (%) ved LC/MS: 99 %, ee(%) 98 %; MS(EIC): (M+1) 419.

15 Den absolutte konfigurasjonen av isomer 1 (eksempel 1A) og isomer 2 (eksempel 1B) bestemmes til henholdsvis (S) og (R) ved hjelp av den velkjente Mosher-metoden. Denne metoden omfatter alminneligvis derivivering av et kiralt substrat med de to enantiomerene i det kirale reagenset alfa-metoksy-
20 alfa(trifluormetyl)fenyleddiksyre (MTPA), etterfulgt av den komparative analysen av ^1H NMR-spektrene for de resulterende diastereomerene. Det er også mulig å bestemme den absolutte konfigurasjon av 2-fenylpyrrolidiner ved H2-signalets multiplisitet. Hvis konfigurasjonen av MTPA-enheten i Moshers amid er (R) og H2-signalet er en dublett av dubletter (den ene koblingen er cirka det dobbelte av den andre), er den absolutte konfigurasjon av aminet under undersøkelse (S). Hvis dette signalet er en tilsynelatende triplett (begge koblinger er lik), er
25 den absolutte konfigurasjon (R). Hvis konfigurasjonen av MTPA-enheten derimot er (S), vises H2 som en triplett i (S)-2-fenylpyrrolidinet og som en dublett av dubletter i (R)-2-fenylpyrrolidinet. Ytterligere opplysninger finnes i P. Vidal, et al., Organic Letters, 9 (21), 4123-4126 (2007).

Som beskrevet ovenfor fremstilles og separeres en racemisk blanding av enantiomerer til eksempel 1A og 1B ved kiral kromatografi. En foretrukket fremgangsmåte for fremstilling av eksempel 1A er enantioselektiv syntese ved hjelp av enantiomerisk rent 2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin og i det vesentlige ved å følge prosedyrene beskrevet ovenfor i eksempel 1, del 1.

Som angitt ovenfor er forbindelsen i eksempel 1A, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, en selektiv antagonist, eller i selektiv blokkering av virkningen til agonister, ved kappa-opioidreseptoren. Trekk ved forbindelsen i eksempel 1A er ett eller flere av dens strukturelle trekk og biologiske egenskaper ved disse trekkene, herunder kappa-reseptorselektivitet (bindingsaffinitet), kappa-reseptoraktivitet (antagonistpotens), virkning ved å redusere etanolinntak i smådyrmodeller, biotilgjengelighet i smådyrmodeller og tolerabilitet vedrørende uønskede bivirkninger i smådyrmodeller. I tillegg viser forbindelsen i eksempel 1A anksiolytisk, antidepressiv og antipsykotisk aktivitet i smådyrmodellassayer.

Som anvendt heri betyr kappa-opioidreseptorselektivitet in vitro-bindingsaffinitet ved kappa-reseptoren på mindre enn 1 nM og nærmere bestemt mindre enn eller lik 0,6 nM.

Til sammenligning er in vitro-bindingsaffiniteten ved mu- og delta-opioidreseptorene mer enn 5 nM og alminneligvis mer enn 8 nM.

Som anvendt heri betyr også selektiv kappa-opioidreseptorantagonistpotens kompetitiv bindingsfortrengning in vitro av en kjent agonist ved mindre enn 6 nM og nærmere bestemt mindre enn 3 nM.

Til sammenligning er kompetitiv bindingsfortrengning in vitro av kjente mu- og delta-reseptoragonister mer enn 15 nM og alminneligvis mer enn 20 nM.

Forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse er beskrevet som en selektiv kappa-opioidreseptorantagonist. Denne beskrivelsen er beregnet på å inkludere både "nøytral antagonist" og "inversagonist". En "nøytral antagonist" er en reversibel reseptorligand uten iboende aktivitet. Den påvirker ikke reseptorens egen basale aktivitet (konstitutiv reseptoraktivitet) og forhindrer binding, på

kompetitivt vis, av en agonist (endogen eller ikke-endogen) til reseptoren. En "inversagonist" er en ligand med negativ iboende aktivitet. Den inhiberer reseptorens egen aktivitet (konstitutiv reseptoraktivitet) ved å forskyve reseptorkonformasjonens likevekt til dens inaktive tilstand og inhiberer binding av en agonist til reseptoren. I et miljø med høy konstitutiv reseptoraktivitet vil en inversagonist skille seg fra en nøytral antagonist.

Forbindelsen i eksempel 1A eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav er virkningsfull over et bredt doseområde for behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk og behandling av uavhengig komorbid angst og/eller depresjon eller schizofreni som også kan være til stede. Dosene per dag vil for eksempel normalt falle innenfor området fra cirka 0,05 til cirka 50 mg/kg kroppsvekt. I behandlingen av voksne mennesker er området fra cirka 0,5 til cirka 50 mg/kg, i enkle eller delte doser, typisk. Men det vil være underforstått at mengden av forbindelsen som faktisk administreres, vil bli bestemt av en lege i lys av de relevante omstendighetene, herunder tilstanden eller de komorbide tilstandene som skal behandles, den enkelte pasientens alder, vekt og reaksjon, alvorlighetsgraden i pasientens symptomer og den valgte administreringsveien, og derfor er ovenstående doseområder ikke beregnet på å begrense omfanget. Det bør også være underforstått at mengden av administrert forbindelse bør være innenfor et doseområde som gir selektiv sentral kappa-reseptorutnyttelse og ikke merkbart blokkerer mu- eller delta-opioidreseptorer, eller andre. Forbindelsen kan administreres ved en serie veier, slik som oral, transdermal, subkutan, sublingval, intranasal, intramuskulær eller intravenøs vei.

Det er jo velkjent at dosen av hver komponent i et legemiddel med to komponenter avhenger av en rekke faktorer slik som den valgte spesifikke forbindelsens potens, administreringsmåte, pasientens alder og vekt, alvorlighetsgraden i tilstanden som skal behandles, og lignende. Dette anses for å være innenfor fagpersonens område, og det er mulig å granske eksisterende litteratur for å bestemme optimal dosering for den trisykliske tertiæramininhibitorkomponenten mot reopptak av norepinefrin.

Den gjennomsnittlige daglige voksendosen av inhibitorer mot gjenopptak av norepinefrin er:

	Bred dose mg/dag	Vanlig dose mg/dag
amitriptylin	25–300	100–200
klomipramin	25–250	100–200
doksepin	25–300	100–200
imipramin	25–300	100–200
(+)-trimipramin	25–300	75–200

De sammensetningene som inneholder to virksomme komponenter, kan administreres i samme fysiske form eller samtidig ifølge ovennevnte doseringer. Doser-
 5 ringene for hver virksom komponent kan måles separat og gis som en enkelt kombinert dose eller separat. De kan gis på samme eller forskjellig tidspunkt så lenge begge virkestoffer er i pasienten samtidig én eller annen gang i løpet av en 24-timersperiode. Samtidig administrering betyr at pasienten tar det ene legemiddelet innen cirka 5 minutter etter at det andre legemiddelet er tatt. Siden
 10 målet er å gi hurtig symptomatisk lettelse for pasienten, ville de to legemidlene, i de fleste tilfeller når behandling startes, bli administrert til pasienten tett etter hverandre og typisk samtidig. Deretter kan tidspunktet for administrering av hvert legemiddel justeres så lenge begge stoffer er virksomme i pasienten samtidig i løpet av en 24-timersperiode.

Kriteriene for etanolavhengighet fastsatt i DSM-IV-TR er et mønster av etanolforbruk, hvilket fører til klinisk vesentlig svekkelse eller besvær som manifesterer seg ved minst tre elementer valgt fra følgende gruppe, og som inntreffer når som helst innenfor samme tolv månedersperiode: 1) toleranse som definert ved
 20 enten a) et behov for vesentlig økte mengder av etanol for å oppnå intoksikasjon eller ønsket virkning, eller b) vesentlig redusert virkning med fortsatt forbruk av samme mengde av etanol, 2) abstinens, som demonstrert ved enten a) det karakteristiske abstinenssyndromet for etanol, eller (b) samme, eller et nært beslektet stoff tas for å lette eller unngå abstinenssymptomer, (3) etanol tas ofte i
 25 større mengder eller over en lengre periode enn planlagt, 4) det er et vedvarende ønske om eller mislykkede forsøk på å kutte ned eller styre etanolforbruket, 5) mye tid brukes på aktiviteter som er nødvendige for å skaffe etanol, forbruke etanol eller komme seg etter dens virkninger, 6) viktige sosiale, yrkesmessige

eller fritidsmessige aktiviteter oppgis eller reduseres på grunn av etanolforbruk og 7) etanolforbruket fortsetter selv om man er klar over at man har et vedvarende eller tilbakevendende fysisk eller psykologisk problem som sannsynligvis er forårsaket eller forverret av etanol.

5

Etanolavhengighet kan være fysiologisk avhengighet, dvs. tegn til toleranse eller abstinens er til stede, eller uten fysiologisk avhengighet, hvor det ikke er tegn til toleranse eller abstinens til stede. Men det bør være underforstått at såkalt "psykologisk avhengighet" kan være resultatet av en forlenget abstinens hvor fysiske symptomer ikke er lett å oppdage og ofte manifesterer seg som psykologiske klager som dysfori eller anhedoni.

10

Det vesentlige trekket ved etanolmisbruk er et dårlig tilpasset mønster av etanolforbruk som manifesterer seg ved tilbakevendende og vesentlig negative konsekvenser forbundet med det gjentatte forbruket av etanol. For at et misbrukskriterium skal oppfylles, må det etanolrelaterte problemet ha inntruffet gjentatte ganger i løpet av samme 12-månedersperiode eller være vedvarende. Det kan være gjentatt svekkelse av evnen til å oppfylle større forpliktelser, gjentatt forbruk i situasjoner hvor det er fysisk farlig, en rekke juridiske problemer og hyp-

20 pige sosiale og mellommenneskelige problemer. I motsetning til kriteriene for etanolavhengighet inkluderer ikke kriteriene for etanolmisbruk toleranse, abstinens eller et mønster av kompulsivt forbruk og inkluderer i stedet bare de skadelige konsekvensene av gjentatt forbruk. En etanolmisbrukdiagnose er foregrevet av diagnosen etanolavhengighet hvis pasientens mønster av etanolforbruk

25 noensinne har oppfylt kriteriene for avhengighet.

15

20

25

Ytterligere opplysninger om lidelse knyttet til etanolforbruk som behandles ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, finnes i DSM-IV-TR.

30

De uavhengige komorbide angstlidelsene som behandles ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse. Disse lidelsene kan behandles alene eller samtidig med lidelse knyttet til etanolforbruk hos en pasient. De særlige angstlidelsene som anses for å være komorbide tilstander som kan behandles, er som defi-

35

nert i DSM IV TR, og beskrevet i United States Department of Health and Human Services, National Institute of Mental Health, NIH Publication nr. 06-3879.

5 Ytterligere opplysninger om angstlidelsene beskrevet ovenfor og behandlet ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, finnes i DSM-IV-TR.

10 De uavhengige komorbide depresjonssykdommene som behandles ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse. Disse lidelsene kan behandles alene eller samtidig med lidelse knyttet til etanolforbruk hos en pasient. De særlige depressive sykdommene som anses for å være komorbide tilstander som kan behandles ved den foreliggende oppfinnelse, er som definert i DSM IV TR og beskrevet i United States Department of Health and Human Services, National
15 Institute of Mental Health, NIH Publication nr. 02-3561.

Ytterligere opplysninger om depresjonslidelsene beskrevet ovenfor og behandlet ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, finnes i DSM-IV-TR.
20

Den uavhengige komorbide schizofreni behandlet ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, inkluderer undertypene paranoid, disorganisert, kataton, udifferensiert og residual. Denne lidelsen kan behandles alene eller samtidig med lidelse knyttet til etanolforbruk hos en pasient. Schizofrenien som anses for å være en komorbid tilstand som kan behandles ved den foreliggende oppfinnelse, er som definert i DSM IV TR.
25

Ytterligere opplysninger om schizofreni behandlet ved den foreliggende forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, finnes i DSM-IV-TR.
30

Som tidligere angitt kan en angstlidelse som beskrevet ovenfor, en depresjonssykdom som beskrevet ovenfor, og lidelse knyttet til etanolforbruk behandles samtidig ved forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller schizofreni som beskrevet ovenfor og lidelse knyttet til etanolforbruk kan behandles samtidig ved forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.
35

Forbindelsen i eksempel 1A administreres fortrinnsvis i sammenheng med og/eller etter et program for utdannelses- og/eller atferdsendring for å forsterke reduksjonen i hyppighet og/eller mengde av forbruk av eller abstinens fra alkohol. Programmene kan være mer virkningsfulle ved å vektlegge mål for utdannelses- og atferdsendring, hvilket reduserer insidensen av ikke-fullførelse av program.

Som angitt ovenfor er forbindelsen i eksempel 1A en kappa-opioidreseptor selektiv antagonist. Selektiviteten er demonstrert både i assayer *in vitro* og *in vivo*. Alle forsøk *ex vivo* og *in vivo* utføres i henhold til retningslinjene fra Animal Care and Use Committee i Eli Lilly and Company, i samsvar med de godkjente retningslinjene fra American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care.

Kappa-affinitet in vitro

GTP- γ -S-bindingsassay

Et GTP- γ -S³⁵-assayformat basert på scintillasjonsproksimitetsassay (SPA) utføres i det vesentlige i samsvar med assayformatene (Emmerson et al., J. Pharm Exp Ther. 278,1121 (1996); Horng et al., Society for Neuroscience Abstracts, 434.6 (2000) og (DeLapp et al., JPET 289, 946 (1999)). Membranene resuspenderes i 20 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT og 1 mM EDTA. Femti μ l GTP- γ -[³⁵S], forbindelses-, membransuspensjons- (20 mikrogram/brønn) og hvetekimagglutininovertrukne SPA-kuler (WGA PVT SPA, GE Healthcare, 800 Centennial Avenue, Piscataway, NJ 08854) (1 mg/brønn) tilsettes til klarbunnede assayplater med 96 brønner. GDP (200 μ M for å oppnå en 50 μ M sluttkonsentrasjon per brønn) tilsettes til membranløsningen før tilsetning til assayplatene. Platene forsegles og inkuberes i fire timer ved romtemperatur og plasseres deretter over natten i et kjøleskap for å la kulene sedimentere. Signalstabilitet ved 4 °C bestemmes til > 60 timer. Platene ble oppvarmet til romtemperatur og talt i en Wallac MicroBeta®-scintillasjonsteller (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, 549 Albany Street, Boston, MA 02118 USA. For antagonistassayer tilsettes spesifikke agonister ved følgende konsentrasjoner: mu-opioidreseptor (MOR) DAMGO ([D-Ala², N-Me-Phe⁴, Gly⁵-ol]-enkefalin, Sigma-Aldrich-katalognummer E7384) 1 mikromol, delta-opioidreseptor (DOR) DPDPE ((D-Pen², D-Pen⁵)-

enkefalin, Bachem-katalognummer H-2905) 30 nM og kappa-opioidreseptor (KOR) U69593 ((+)-(5 α , 7 α , 8 β)-N-metyl-N-[7-(1-pyrrolidiny)-1-oksaspiro[4.5]dek-8-yl]-benzenacetamid, Sigma-Aldrich-katalognummer U103) 300 nM. Kb-verdiene bestemmes ved hjelp av en modifikasjon av Cheng-Prusoff-ligningen (se Cheng and Prusoff, Biochem. Pharmacol. 22, 3099 (1973) som tidligere rapportert (DeLapp et al., 1999). For n>1 I-evalueringer er de sammenfattede gjennomsnittlige verdiene et geometrisk gjennomsnitt av det angitte antallet assayserier (n=2 eller 3) beregnet som gjennomsnittlig log Kb=gjennomsnitt (Kb1 + Kb2 + Kb3), SE=STDEV (Kb1 + Kb2 + Kb3)/SQRT n (n=2 eller 3), geometrisk gjennomsnitt Kb (nM)=10[^] gjennomsnittlig log Kb, SEM=SE x geometrisk gjennomsnitt Kb (nM) x LN(10).

Tabell 1

Eksempel nr.	hMu	In vitro-opioidreseptorantagonist GTP- γ -S Kb (nM) hKappa	hDelta
1 (racemisk)	56,7 (n = 1)	5,43 (n = 1)	293 (n = 1)
1A (isomer 1)	40,1 (21,3, n = 3)	2,12 (1,06, n = 3)	264 (111, n = 3)
1B (isomer 2)	69,6 (22,8, n = 2)	44,8 (14,7, n = 2)	220 (149, n = 2)

Ki-verdiene bestemmes ved hjelp av Cheng-Prusoff-ligningen (over) $K_i = EC_{50} / (1 + [ligand] / K_{dx})$ og rapporteres nedenfor i tabell 2. For n > 1-evalueringer er de sammenfattede gjennomsnittlige verdiene et geometrisk gjennomsnitt av det angitte antallet assayserier (n = 2 eller 3) beregnet som gjennomsnittlig log Ki = gjennomsnitt (Ki1 + Ki2 + Ki3), SE = STDEV (Ki1 + Ki2 + Ki3)/SQRT n (n = 2 eller 3), geometrisk gjennomsnitt Ki (nM) = 10[^] gjennomsnittlig log Ki, SEM = SE x geometrisk gjennomsnitt Ki (nM) x LN(10). Disse dataene viser at forbindelsen ifølge eksempel 1 (racemisk) og særlig forbindelsen i eksempel 1A (isomer 1) er potente opioidreseptorantagonister som er selektive for kappa-reseptoren i forhold til mu- og delta-reseptorene.

Tabell 2

Eksempel nr.	Mu	In vitro-binding høy Na^+/GDP Ki(nM) Kappa	Delta
1 (race-misk)	12 (n = 1)	0,225 (n = 1)	170 (n = 1)
1A (isomer 1)	16,4 (8,25, n = 3)	0,597 (0,373, n = 3)	122 (38,6, n = 3)
1B (isomer 2)	101 (33,7, n = 2)	13,9 (0,293, n = 2)	165 (18,6, n = 2)

Disse dataene viser at forbindelsen ifølge eksempel 1 (racemisk) og særlig forbindelsen i eksempel 1A (isomer 1) selektivt binder kappa-opioidreseptoren i forhold til mu- og delta-reseptorene.

Opioidreseptorutnyttelse (RO) i hjernen hos rotter

For å forvandle in vitro-potens til in vivo-virkning og evaluere utnyttelsen av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse ved opioidreseptorene benyttes en in vivo-rottemodell for overvåkning av opioid-RO. I dette assayet administreres mikrodoser av naltrekson (10 µg/kg) ((5α)-17-(syklopropylmetyl)-4,5-epoksy-3,14-dihydmmorfinan-6-on), naltriben (10 µg/kg) (17-(syklopropylmetyl)-6,7-didehydro-3, 14b-dihydroksy-4,5α-epoksy-5,7-2',3'-benzo[b]furanomorfinan) og GR103545 ([(-)-(R)-metyl-4-[(3,4-diklorfenyl)acetyl]-3-1[(1-pyrrolidiny)metyl]-1-piperazinkarboksylat) (1,5 µg/kg) samtidig intravenøst i en enkelt injeksjon og benyttes som RO-sporstoffer for henholdsvis mu-, delta- og kappa-reseptorer. Administrering av de tre sporstoffene gjør det mulig å forstå den relative selektiviteten til de benyttede undertypene av opioidreseptor og graden av reseptorutnyttelse som forekommer ved en hvilken som helst spesifikk undertype ved virkning. I RO måles fordelingen av sporstoffet i forskjellige hjerneregioner ved LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex), hvilket gir en ikke-radioaktiv fremgangsmåte for påvisning av mengdene av sporstoff i hjernen med høy sensitivitet. Reseptorutnyttelse beregnes deretter som forskjellen i spesifikk akkumulering av sporstoff hos dyr som behandles med en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse, sammenlignet med dyr som behandles med bare vehikkel. I denne fremgangsmåten representerer striatum (en region med høy densitet av mu-, delta-

og kappa-opioidreseptor) spesifikk sporstoffakkumulering, mens cerebellum (en hjerneregion uten opioidreseptorer) representerer ikke-spesifikk sporstoffakkumulering. Reseptorutnyttelsen bestemmes 90 minutter etter en enkelt oral dose av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse eller 5,5 h etter administrering for evaluering av dosereaksjon. Dataene representerer gjennomsnittlig $\pm$ SEM av reseptorutnyttelse hos 3–6 rotter per dosegruppe, idet hver rotte veier cirka 230 g.

Harlan Sprague Dawley-hannrotter behandles med forbindelsen i eksempel 1A ifølge den foreliggende oppfinnelse ved hjelp av en oral formulering av 3 % melkesyre/vann ved doser på 0,03, 01, 0,3, 1, 3, 10 og 30 mg/kg. Testdyrene viste et doseavhengig nivå av kappa-reseptorutnyttelse i striatum 5,5 h etter oral administrering. Beregnet ED50 for kappa-reseptorutnyttelse av forbindelsen i eksempel 1A ifølge den foreliggende oppfinnelse var 0,45 mg/kg. I samsvar med in vitro-bindingsdata viste forbindelsen ifølge eksempel 1 A ifølge den foreliggende oppfinnelse høy selektivitet for kappa-opioidreseptoren in vivo og produserte ingen vesentlig utnyttelse av verken mu- eller delta-reseptorer (målt i striatum) ved doser opp til 30 mg/kg, hvilket betyr at ED50 ved disse reseptorene er større enn 30 mg/kg. De økende nivåene av kappa-reseptorutnyttelse drives av omtrent proporsjonale økninger i plasma- og hjerneeksponering for forbindelsen ifølge eksempel 1 A ifølge den foreliggende oppfinnelse opp til en dose på 30 mg/kg. Disse dataene understøtter at etter oral administrering binder forbindelsen i eksempel 1A selektivt til kappa-opioidreseptorer i hjernen hos rotter med høy potens.

Eksponeringsnivåene av forbindelsen i eksempel 1A i striatum hos rotter etter administrering ble bestemt i de samme prøvene som ble brukt til å kvantifisere nivået av opioidreseptorutnyttelse. Nivåene av eksempel 1A påvises av LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex) og kvantifiseres fra en standardkurve med eksempel 1A fremstilt i homogenat fra hjernen hos rotter.

Tabell 3

Hjernenivåer			
Oral dose med eksempel 1A mg/kg	Eksempel 1A ng/g vev		
		SEM	n
30	265,67	46,25	3
10	171,47	78,53	3
3	39,20	8,67	3
1	19,63	11,05	3
0,3	7,23	0,42	3
0,1	15,30	7,29	3

Plasmaeksponering av eksempel 1A ifølge den foreliggende oppfinnelse hos rotter etter administrering bestemmes fra plasma isolert fra haleblodprøve tatt på tidspunktet for vevsprøvetaking for reseptorutnyttelse. Nivåene av forbindelsen ifølge eksempel 1A påvises av LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex) og kvantifiseres fra en standardkurve med eksempel 1A fremstilt i vehikkelbehandlet plasma hos rotter.

Tabell 4

Plasmanivåer			
Oral dose med eksempel 1A	Eksempel 1A ng/g		
		SEM	N
30	106,03	22,22	3
10	65,20	29,08	3
3	15,43	3,54	3
1	4,63	1,63	3
0,3	2,27	0,79	3
0,1	1,17	0,47	3

P-rotteprotokoll

12 h etanolforbruk hos P-rotter

5 Testdyrene er selektivt avlede rotter som foretrekker alkohol (P). Disse rottene forbruker frivillig mer enn 5 g/kg etanol per dag og oppfyller alle de tiltenkte kriteriene for en dyrealkoholismemodell. De når alkoholnivåer i blodet på mellom 50 og 200 mg %. De vil reagere operant for å skaffe etanol. De forbruker etanol på grunn av farmakologiske virkninger og ikke smak, lukt eller kaloriske egen-
10 skaper, og de utvikler metabolsk og fysiologisk toleranse og til slutt avhengighet med kronisk etanoltilgang.

Dyr

15 P-hunnrotter er skaffet fra et avlingsanlegg ved Indiana University Medical Center i Indianapolis, IN, USA. Rottene bor hver for seg ved et miljøkontrollert anlegg og holdes på en 12 h lys-/mørkesyklus (lyset slukkes klokken 15.00).

Forbindelser

20 Alle legemidlene nylages før bruk og administreres i et volum på 1 ml/kg. Forbindelsene oppløses i sterilt vann ved inndrypping av 85 % melkesyre. Med mindre noe annet er angitt, administreres forbindelsene p.o. før start av mørkesyklusen ved hjelp av en "counterbalanced within-subject-metode" (n = 8–11 per forsøk).
25

Forsøksprosedyre

Etter en 4-dagers akklimatisering til kolonien fikk rottene tilgang til en flaske EtOH (10 volum-%, Ancare, Bellmore, NY) i buret i tillegg til standardflasken vann. Vann og 10 % EtOH samt alminnelig laboratoriefôr er fritt tilgjengelig. Straks rottene har nådd et stabilt nivå av daglig inntak, økes EtOH-løsningen til 15 volum-%. Forbruket av EtOH og vann overvåkes i cirka 6–9 måneder før le-
30 gemiddeltesting. Mat- og fluidinntak måles via krafttransduksjon med et PC-styrt drikk- og fôrovervåkningssystem (TSE Systems, Bad Homburg, Tyskland). For-
35 bruk av mat, vann og 15 volum-% EtOH overvåkes kontinuerlig i 12 h etter le-

gemiddel- eller vehikkeladministrering. For noen forsøk foretas kontinuerlig overvåkning i 24 timer.

5 Ved 1 mg/kg og 3 mg/kg administrert oralt reduserer forbindelsen i eksempel 1A mengden av forbrukt etanol ($p < 0,05$ kontra vehikkel).

P-rotters reaksjon i et progressivt forhold for etanol

10 Denne testen vurderer motivasjonen for å arbeide for tilgang til etanol hos P-rotter etter etanolabstinens. Denne dyremodellen simulerer etanolsug.

15 P-hunnrotter (Indiana University Medical Center, Indianapolis, IN, USA) plasseres parvis i et miljøkontrollert anlegg og holdes på en 12 h lys-/mørkesyklus (lyset tennes klokken 06.00).

Forbindelsene oppløses i sterilt vann ved inndrypping av 85 % melkesyre, nylages før bruk og administreres i et volum på 1 ml/kg. Med mindre noe annet er angitt, administreres forbindelsene p.o. 60 min før forsøksøkten. Dosene tildeles ved hjelp av en "counterbalanced within-subject-metode" ($n = 8-11$ per forsøk).

20 For å redusere nyhetsindusert unngåelse av etanol (EtOH) erstattes vannflasken i buret med en flaske inneholdende 15 % EtOH (volum-%; Ancare, Bellmore, NY) i to dager før operant opplæring. Gjennom resten av forsøket får rottene fri tilgang til vann og alminnelig laboratoriefôr i buret.

25 Daglige 60 min økter gjennomføres i alminnelige operante rottekamre inne i lyd-dempede kamre (MED Associates, Inc., St. Albans, VT, USA). Stålstengene av rustfritt stål med 0,5 cm diameter i de operante kamrenes gulvgitter plasseres cirka 1,5 cm fra hverandre. To nedsenkbare operante spaker i hvert operant kammer plasseres cirka 15 cm over gittergulvet og 13 cm fra hverandre. Et forsenket kar plasseres i rommet mellom spakene, gjennom hvilket en dyppkopp (0,1 ml kapasitet) heves for å tilføre reaksjonsbetinget etanol (15 volum-% EtOH). Ved en forsterket reaksjon tennes et stimulanslys under tilgangen til dyppkoppen i 4 s. Operasjon av stimulans- og atferdsreaksjonene kontrolleres og registreres med data for frakoblet analyse. Ved slutten av hver økt slås alle
35 stimulanser av, og spakene tas ut.

Rottene læres opp til å trykke på en spak for EtOH-forsterkning. Initielt anses reaksjoner på begge spakene for å være riktige og belønnes med forsterkning. Tilgang til forsterkning signaliseres ved tenning av et stimulanslys over spaken hvor reaksjonen skjer. Straks rottene lærer å trykke på en spak for å få EtOH-belønning, endres reaksjonsbetingelsen slik at reaksjonene på én spak (aktiv spak) forsterkes ved hjelp av et (FR)-1-forsterkningstrinn i et fast forhold, mens reaksjonene på den andre spaken (inaktiv) ikke forsterkes. I en periode på 3–4 uker økes reaksjonsbetingelsen til FR-3, slik at 3 trykk på spaken kreves for hver forsterkning. Straks et stabilt reaksjonsnivå er nådd, endres reaksjonsbetingelsen til et forsterkningstrinn i et progressivt forhold. For denne prosedyren økes reaksjonskravet langsomt gjennom forsøksøkten, slik at rottene arbeider progressivt hardere for å få EtOH-belønningen. Spesifikt øker reaksjonskravet som følger: Alle rottene begynner ved et FR-1-forsterkningstrinn. Etter tre forsterkninger økes trinnet til FR-2. Etter tre forsterkninger på dette nivået økes trinnet til FR-4. Etter tre forsterkninger på FR-4 økes trinnet til FR-6 og så videre. Hver økt er planlagt å vare til sammen 60 min. Mengden av EtOH som forbrukes (i ml og g/kg), registreres, samt antallet reaksjoner på aktive og inaktive spaker, og avbrytningspunktet, som defineres som den høyeste FR-verdien som nås under økten.

Forbindelsen i eksempel 1A administreres p.o. 60 min. før testing ved 1, 3 og 10 mg/kg. Antallet aktive spakreaksjoner reduseres etter administrering av 10 mg/kg ($p < 0,05$ sammenlignet med vehikkel). Mengden av drukket etanol og avbrytningspunktet reduseres også ved dosen på 10 mg/kg ($p < 0,05$ sammenlignet med vehikkel). Dataene viser en reduksjon i motivasjonen for å arbeide for tilgang til etanol tross deres omfattende operante etanolhistorikk.

Stressindusert hypertermi (hos rotter)

Hypertermi er et generelt fenomen som er blitt pålitelig demonstrert hos mange arter som reaksjon på stress, og er en komponent i den velkarakteriserte "kjemp-eller-flykt"-reaksjonen. Denne testen evaluerer en testforbindelse som et mål på dens anksiolytiske virkninger. Den klassiske og minimalt invasive fremgangsmåten for analyse av stressindusert hypertermi er måling av kroppstemperatur, og stressinduserte økninger i kroppstemperatur, via rektaltermometer. Denne prosedyren innebærer å dosere dyrene før måling av utgangskroppstem-

peraturen (utgangstemperatur, T1). Den forsøksansvarliges håndtering og innføring av rektalsonden produserer en beskjeden økning i kroppstemperatur med en topp innen 10–15 minutter. En andre kroppstemperaturmåling (T2) registreres 10 minutter etter den første målingen. Endringen i kroppstemperatur (T2 minus T1) defineres som den stressinduserte hypertermiske reaksjonen.

Fischer F-344-hannrotter (Harlan, Indianapolis, IN, USA) som veier mellom 275 og 350 g, testes. Alle dyrene har hvert sitt bur med mat og automatisert vann tilgjengelig ad libitum, og holdes på en 12-timers lys-/mørkesyklus (lyset tennes klokken 06.00). Én dag før hvert forsøk fjernes maten fra rotteburene som er konstruert for testen, slik at dyrene faster i cirka 12–18 timer før forsøket. Rottene føres fra kolonirummet i grupper på $n = 10$ til et prosedyrerom for dosering. Rottene doseres po i et dosevolum på 1 ml/kg med testforbindelser i området 1, 3 og 10 mg/kg oppløst i sterilt vann ved inndrypping av 85 % melkesyre. En løsning av antagonisten for metabotropisk glutamat undertype 5 (mGlu5) 3-[(2-metyl-1,3-tiazol-4-yl)tynyl]pyridin (MTEP) (10 mg/kg) oppløst i vann anvendes som positiv kontroll. Umiddelbart etter dosering returneres rottene til sitt bur, og forsøksansvarlig slukker lyset og forlater rommet. Doseringsrommet (rom A) forblir mørklagt i resten av den 60 min forbehandlingsperioden.

Etter forbehandlingsperioden føres rottene enkeltvis til et lyst naborom (rom B) hvor utgangskroppstemperaturen bestemmes ved innføring av en rektalsonde smurt med mineralolje. Kroppstemperaturen vurderes med et Physitemp® BAT-12®-mikrosondetermometer med en Physitemp® RET-2®-rektalsonde for rotter (Physitemp Instruments Inc., 154 Huron Ave. Clifton, NJ 07013). Sonden føres cirka 2 cm inn i rektum. Kjerne kroppstemperaturen måles (dette er utgangskroppstemperaturen, T1, i grader C). Rotten plasseres deretter i buret igjen og forblir i rom B. Ti minutter senere registreres en ny kroppstemperaturmåling (T2). Forskjellen mellom den første og andre kroppstemperaturmålingen (T2 – T1) anvendes som en indeks for stressindusert hypertermi.

Det utføres en andre studie som evaluerer en kombinasjon av forbindelsen i eksempel 1A dosert sammen med en underterskeldose av klordiazepoksid (CDP).

For legemiddelkombinasjonsstudien doseres eksempel 1A (1, 3 og 10 mg/kg, po, 60 min forbehandling) sammen med klordiazepoksid 1 mg/kg, po, vannvehikkel), og 1 mg/kg klordiazepoid alene brukes som positiv kontroll.

5 Studie 1. Forbindelsen i eksempel 1A administreres p.o. 60 min. før måling av utgangskjerner kroppstemperaturen ved 1, 3 og 10 mg/kg. Forbindelsen produserer en doseavhengig, men ikke-signifikant, reduksjon i stressindusert hypertermi ($T_2 - T_1$). Det viktigste er at utgangskjerner kroppstemperaturen ikke påvirkes. Den positive kontrollforbindelsen gir vesentlig reduksjon i stressindusert hypertermi ($p < 0,05$), uten å påvirke utgangskroppstemperaturene.

15 Studie 2. Forbindelsen i eksempel 1A administreres p.o. ved 1, 3 og 10 mg/kg, sammen med 1 mg/kg klordiazepoksid, 60 min før måling av utgangskjerner kroppstemperatur. Separate grupper får enten 10 mg/kg eksempel 1A alene eller 1 mg/kg klordiazepoksid alene (p.o., 60 min før utgangskroppstemperatur). Forbindelsen i eksempel 1A øker virkningen av en underterskeldose av klordiazepoksid for å produsere en vesentlig reduksjon i stressindusert hypertermi ($p < 0,05$). Det viktigste er at utgangskjerner kroppstemperaturen ikke påvirkes.

20 Studie 1. Forbindelse i eksempel 1A alene: Vehikkel = $0,98 \pm 0,10$, 1 mg/kg eksempel 1A = $0,84 \pm 0,073$ mg/kg eksempel 1A = $0,80 \pm 0,10$, 10 mg/kg eksempel 1A = $0,75 \pm 0,11$, MTEP-kontroll = $0,42 \pm 0,09$.

25 Studie 2. Forbindelse i eksempel 1A og klordiazepoksid: Vehikkel = $0,86 \pm 0,06$, 1 mg/kg CDP alene = $0,75 \pm 0,06$, 10 mg/kg eksempel 1A alene = $0,74 \pm 0,04$, 1 mg/kg eksempel 1A og CDP = $0,68 \pm 0,06$, 3 mg/kg eksempel 1A og CDP = $0,70 \pm 0,07$, 10 mg/kg eksempel 1A og CDP = $0,57 \pm 0,07$.

30 Dataene fra studie 1 og 2 viser at forbindelsen i eksempel 1A alene har en beskjeden anksiolytisk virkning. Men i kombinasjon med et benzodiazepin ses en sterkere anksiolytisk virkning med forbindelsen i eksempel 1A ved lavere doser. Disse dataene antyder anvendelse av forbindelsen i eksempel 1A alene eller som en tilleggsbehandling med et anksiolytisk benzodiazepinstoff for angstlidelser.

Tvangssvømmetest hos mus

Denne testen evaluerer virkningene av testforbindelsen på musenes mobilitet som et mål på antidepressiv virkning. Jo mindre immobiliteten er sammenlignet med vehikkel, desto større er den antidepressivlignende virkningen.

NIH-Swiss-hannmus (25–30 g) (Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN, USA) plasseres i et vivarium i minst én uke før bruk med vann og gnagerfôr fritt tilgjengelig under denne akklimatiseringsperioden. Dyrene fjernes fra vivariumet og føres til testområdet i burene deres, hvor de får tilpasse seg det nye miljøet i minst én time før testing.

Musene plasseres i sylindere av klar plast (diameter: 10 cm, høyde: 25 cm) fylt med 6 cm vann (22–25 °C) i seks minutter. Immobilitetens varighet de fire siste minuttene av den seks minutters testperioden måles. En mus registreres som immobil når den flyter urørlig eller bare beveger seg nok til å holde hodet over vannet.

Testforbindelsen administreres p.o. 1 time før testing ved 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg og 10,0 mg/kg, n à 8 per gruppe i et vehikkel på 5 ml sterilt vann og 30 ml for-
tynnet (10x) melkesyre. Imipramin evalueres som en positiv kontroll, 15 mg/kg: p, 30 min før testing av n à 4. Ved 10,0 mg/kg viser forbindelsen i eksempel 1A antidepressivlignende aktivitet ($p < 0,05$ sammenlignet med vehikkel, Dunnetts test).

En andre studie utføres ved evaluering av 1 og 3 mg/kg doser av forbindelsen i eksempel 1A alene og i kombinasjon med 5 mg/kg imipramin. Imipramin alene evalueres ved 5 og 15 mg/kg doser, og en vehikkelkontroll inkluderes i studien. For kombinasjonsstudiene administreres forbindelsen i eksempel 1A p.o. 30 minutter før administrering av imipramin i.p., og testen ble startet 30 minutter etter imipraminadministrering. En n à 8 per gruppe evalueres for alle grupper. For evalueringene av forbindelsen i eksempel 1A alene startes testing 60 minutter etter administrering, og testing av dyr behandlet bare med imipramin startes 30 minutter etter administrering. En 3 mg/kg dose av forbindelsen i eksempel 1A og 5 mg/kg imipramin var i det vesentlige like virkningsfull som en 15 mg/kg dose av imipramin alene og statistisk signifikant over hver av en vehikkelkontroll,

5 imipramin 5 mg/kg alene og 3 mg/kg eksempel 1A alene. Dosen på 1 mg/kg forbindelse ifølge eksempel 1A og 5 mg/kg imipramin viste også statistisk signifikante antidepressiv-virkninger over hver av en vehikkelkontroll, imipramin 5 mg/kg alene og 1 mg/kg eksempel 1A alene. Som i den første studien viste imipramin 15 mg/kg statistisk signifikant antidepressiv-virkning over en vehikkelkontroll ($p < 0,05$, Dunnetts test for alle statistiske evalueringer).

Tabell 5

Virkning av eksempel 1A og imipramin på immobilitet ved tvangssvømmetest hos mus			
Behandling	Gjennomsnitt (s)	SE	n
Vehikkel	183,90	11,23	8
Eksempel 1A – 1 mg/kg	151,53	10,59	8
Eksempel 1A – 3 mg/kg	172,02	13,05	8
Imipramin 5 mg/kg	161,94	13,54	8
Eksempel 1A – 1 mg/kg og imipramin 5 mg/kg	90,93	12,35	8
Eksempel 1A – 3 mg/kg og imipramin 5 mg/kg	67,98	8,47	8
Imipramin 15 mg/kg	61,70	11,20	8

10 Dataene fra den andre studien viser en potensieringsvirkning av antidepressiv-lignende aktivitet når kombinasjonsdoser av eksempel 1A og imipramin administreres ved doser som ikke viser statistisk signifikant aktivitet når hver forbindelse administreres alene.

15 **Prepulsinhibering**

20 Prepulsinhibering (PPI) av lydalarmrefleksen brukes til å evaluere svekkelser i bearbeidelsen av sensorisk informasjon observert ved en rekke neurologiske og psykiatriske tilstander. Schizofrene pasienter viser redusert bearbeidelse av sensorisk og motorisk informasjon, hvilket gjenspeiles i en redusert prepulsinhibering (PPI) av alarmrefleksen. Denne reduserte inhiberingen kan forbedres (reverseres) ved hjelp av farmasøytiske antipsykotiske stoffer. Visse farmasøytiske forbindelser som induserer psykoselignende tilstander (f.eks., dopaminagonister,

NMDA-antagonister), forstyrrer også (undertrykker) PPI, og antipsykotiske farmasøytiske stoffer kan reversere disse svekkelsene. PPI representerer en mekanisme for bearbeidelse eller filtrering av irrelevant eller distraherende stimulans og er operasjonelt definert som reduksjon i alarmreaksjonen produsert av en lavintensiv stimulans som inntreffer før en høyintensiv, alarminduserende stimulans.

Fremgangsmåter

10 **Forsøk 1: Reversering av PPI-forstyrrelse induisert av (+)-(5 α ,7 α ,8 β)-N-metyl-N-[7-(1-pyrrolidiny)-1-oksaspiro[4,5]dek-8-yl]-benzenacetamid (U69593, en selektiv K-opioidreseptoragonist):**

15 Sprague Dawley-rotter, 40 hanner, (Harlan, Indianapolis, IN), hvilke veide cirka 250 gram og fikk ubegrenset mat og vann i buret, deles inn i fem grupper à åtte og doseres (per os) med vehikkel, 0,1, 0,3 eller 1,0 mg/kg forbindelse ifølge eksempel 1A én time før testing. Hver rotte doseres med enten 3 mg/kg U-69593 (via subkutan injeksjon) eller vehikkel femten minutter før testing.

20 Prepulsinhiberingsprosedyre: Etter en 5 minutters akklimatiseringsperiode innledes den første testen i en 40 testers økt. De fem første testene består av 115 dB alarmlyder, de 35 øvrige testene var en pseudotilfeldig kombinasjon av prepuls- og alarmtester. Prepulstestene besto av en 115 dB lyd etter en 65 dB prepuls av lyd. Alarmtestene besto av 115 dB lyder. I tillegg var det fem kontrolltester hvor
25 utgangsreaksjonen på bakgrunnsstøyen på 60 dB ble vurdert.

Intervallet mellom testene (ITI) varierte fra 15 til 45 sekunder og besto av 60 dB bakgrunnsstøy. Alarmamplitude for hver test måles via et akselerometer (Hamilton Kinder, modell SM100RP) hvor gjennomsnittskraften i newton registreres i
30 en 120 millisekunders periode som starter ved presentasjon av alarmstimulansen på 115 dB i 40 millisekunder for hver test.

Inhibering for alarmreaktivitet måles etter hvert som hver rottes prosentandel skifter fra gjennomsnittlig prepulsalarmreaktivitet til gjennomsnittlig utgangs-
35 alarmreaktivitet. [(Gjennomsnittlige utgangsalarm - gjennomsnittlig prepulsalarm) / gjennomsnittlig utgangsalarm] x 100.

Eksempel 1A fremstilles som en løsning i et vehikkel av sterilt vann med 85 % melkesyre som dryppes inn til det er løselig, og administreres ved 0,1, 0,3 og 1,0 mg/kg p.o. i et 1 ml/kg dosevolum.

- 5 U-69593 fremstilles som en løsning i et vehikkel av sterilt vann og administreres subkutan ved 3,0 mg/kg i et 1 ml/kg dosevolum.

10 Dataene analyseres med One-Way ANOVA (Treatment), med Dunnetts test for multippel sammenligning, for å vurdere post-hoc-betydning. De statistiske analysene ble utført i GraphPad Prism v.4.03.

Forsøk 2: Reversering av morfinindusert PPI-forstyrrelse:

15 Sprague Dawley-rotter, 56 hanner, (Harlan, Indianapolis, IN), hvilke veide cirka 250 gram og fikk ubegrenset mat og vann i buret, deles inn i fire grupper à 14 og doseres (per os) med enten 10 mg/kg eller 30 mg/kg eksempel 1A eller vehikkel én time før testing og doseres deretter med enten 20 mg/kg morfin (via subkutan injeksjon) eller vehikkel femten minutter før testing.

20 Prepulsinhiberingsprosedyren og fremstillingen i eksempel 1A er som beskrevet ovenfor.

25 Morfin fremstilles som en løsning i et vehikkel av sterilt vann og administreres subkutan ved 20,0 mg/kg i et 1 ml/kg dosevolum.

Dataene analyseres med One-Way ANOVA (Treatment), med Dunnetts test for multippel sammenligning, for å vurdere post-hoc-betydning. De statistiske analysene utføres i GraphPad Prism v.4.03.

30

Tabell 6

PPI-resultater fra forsøk 1; eksempel 1A sammenlignet med U-69593					
	vehik- kel/vehi kkel	vehik- kel / 3,0 m g/kg U- 69593	0,1 mg/kg ek- sem- pel 1A / 3,0 mg /kg U-69593	0,3 mg/kg ek- sem- pel 1A / 3,0 mg /kg U-69593	1,0 mg/kg ek- sem- pel 1A / 3,0 mg /kg U-69593
Inhibe- ringi %	41,36	29,60	25,88	66,71	61,05
	68,63	-24,89	31,40	71,91	59,31
	46,55	-20,28	29,86	33,74	30,08
	71,55	43	55,18	-1,75	52,23
	45,30	-10,05	22,97	52,00	24,91
	48,43	3,47	54,62	47,01	70,96
	40,55	43,66	31,90	0,52	55,10
	62,72	-3,46	9,79	42,14	71,68

Tabell 7

PPI-resultater fra forsøk 2; eksempel 1A sammenlignet med morfin				
	vehik- kel/vehik kel	vehik- kel / 20 mg/kg morfin	10 mg/kg eksem- pel 1A / 20 mg/kg morfin	30 mg/kg eksem- pel 1A / 20 mg/kg morfin
Inhibe- ring i %	62,49	4,72	18,66	57,12
	59,02	50,03	63,46	41,32
	61,78	26,99	42,77	30,93
	11,92	-12,64	21,98	6,855
	15,96	34,65	-40,70	16,56
	31,67	32,59	0,18	54,32
	63,33	5,49	21,00	18,94
	68,89	49,11	21,21	45,40

PPI-resultater fra forsøk 2; eksempel 1A sammenlignet med morfin				
	vehik- kel/vehik kel	vehik- kel / 20 mg/kg morfin	10 mg/kg eksem- pel 1A / 20 mg/kg morfin	30 mg/kg eksem- pel 1A / 20 mg/kg morfin
	61,08	53,95	50,34	42,78
	74,24	44,81	26,48	46,29
	53,15	35,01	18,04	39,26
	45,35	-9,49	21,07	20,35
	57,72	51,85	29,49	40,02
	15,10	24,04	50,16	8,61

Dataene i tabell 6 og 7 viser at forbindelsen i eksempel 1A kan reversere svek-
kelsene i bearbeidingen av sensorisk og motorisk informasjon induisert av kappa-
agonisten (U-69593; tabell 6) og Mu-agonisten (morfin; tabell 7) hos rotter. Dis-
se dataene støtter anvendelsen av forbindelsen i eksempel 1A ved behandling av
schizofreni hos pasienter.

P a t e n t k r a v

1. 3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid,
eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

5

2. Forbindelse ifølge krav 1, som er (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

10

3. Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i kombinasjon med et farmasøytisk akseptabelt bærestoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff.

15

4. Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling.

5. Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av lidelse knyttet til etanolforbruk.

20

6. Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av:

a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, eller

b) en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse, eller

25

c) en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

d) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a), eller

e) lidelse knyttet til etanolforbruk og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

f) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a) og en depressiv sykdom valgt fra b), eller

30

g) schizofreni, eller

h) lidelse knyttet til etanolforbruk og schizofreni

7. Farmasøytisk sammensetning omfattende en terapeutisk virkningsfull mengde av

35

(S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og en te-

rapeutisk virkningsfull mengde av en tertiær amin trisyklisk norepinefrin reopptaksinhibitor valgt fra amitriptylin, klomipramin, doksepin, imipramin og (+)-trimipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i kombinasjon med et farmasøytisk akseptabel bærestoff, fortynningsmiddel og/eller hjelpestoff.

5

8. (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og en tertiær amin trisyklisk norepinefrin reopptaksinhibitor valgt fra amitriptylin, klomipramin, doksepin, imipramin og (+)-trimipramin, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av:

10

- a) lidelse knyttet til etanolforbruk, eller
- b) en depressiv sykdom valgt fra alvorlig depresjon, dystymi og bipolar lidelse, eller
- c) lidelse knyttet til etanolforbruk og en depressiv sykdom valgt fra b).

15

9. Forbindelse (S)-3-fluor-4-[4-[2-(3,5-dimetylphenyl)pyrrolidin-1-yl-metyl]fenoksy]benzamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og et anksiolytisk benzodiazepinmiddel, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse ved behandling av:

20

- a) en angstlidelse valgt fra panikklidelse, obsessiv-kompulsiv lidelse, sosial fobi, generalisert angstlidelse, spesifikk fobi og posttraumatisk stresslidelse, eller
- b) lidelse knyttet til etanolforbruk og en angstlidelse valgt fra a).

10. Forbindelse ifølge krav 9 hvor det anksiolytiske middelet er klordiazepoksid.