



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2358675 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 211/22 (2006.01)
A61K 31/4409 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.02.25
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2012.10.03
(86)	Europeisk søknadsnr	09752688.3
(86)	Europeisk innleveringsdag	2009.11.13
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2011.08.24
(30)	Prioritet	2008.11.14, US, 114541 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 SM TR
(73)	Innehaver	Theravance, Inc., 901 Gateway Boulevard, South San Francisco, CA 94080, USA
(72)	Oppfinner	PATTERSON, Lori Jean, 3 Whitney Street, San FranciscoCalifornia 94131, USA STANGELAND, Eric L., 896 Corona Drive, PacificaCalifornia 94044, USA ZIPFEL, Sheila, 112 E. Middlefield RoadUnit B, Mountain ViewCalifornia 94043, USA LONG, Daniel D., 4358 23rd Street, San FranciscoCalifornia 94114, USA
(74)	Fullmektig	Håmsø Patentbyrå ANS, Postboks 171, 4302 SANDNES, Norge

(54)	Benevnelse	4-[2-(2-fluorfenoksymetyl)fenyl]piperidinforbindelser
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A-2004/087155 GRAY D L ET AL: "Discovery and pharmacological characterization of aryl piperazine and piperidine ethers as dual acting norepinephrine reuptake inhibitors and 5-HT1A partial agonists" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 19, no. 23, 1 December 2009 (2009-12-01), pages 6604-6607, XP026736066 ISSN: 0960-894X [retrieved on 2009-10-12]

4-[2-(2-FLUORFENOKSYMETYL)FENYL]PIPERIDINFORBINDELSER

Beskrivelse

OPPFINNELSENS BAKGRUNN

OPPFINNELSENS OMRÅDE

5 Foreliggende oppfinnelse angår 4-[2-(2-fluorfenoksymetyl)fenyl]piperidinforbindelser med aktivitet som serotonin (5-HT)- og norepinefrin-(NE-)gjenopptaksinhibitorer. Oppfinnelsen angår også farmasøytiske preparater omfattende slike forbindelser samt fremgangsmåter og mellomprodukter for fremstilling av slike forbindelser. Det beskrives videre fremgangsmåter for å benytte slike forbindelser for å behandle en smerte-
10 forstyrrelse som nevropatisk smerte, og andre plager.

KJENT TEKNIKK

Smerte er en ubehagelig følelse og emosjonell erfaring forbundet med reelle eller potensielle vevsskader, eller beskrevet uttrykt ved slik skade (International Association for the Study of Pain (IASP), Pain Terminology). Chronic pain persists beyond acute
15 pain or beyond the expected time for an injury to heal (American Pain Society. "Pain Control in the Primary Care Setting." 2006:15). Nevropatisk smerte er smerte som initieres av eller forårsakes av en primær lesjon eller dysfunksjon i nervesystemet. Perifer, nevropatisk smerte inntreer når lesjonen eller dysfunksjonen påvirker det perifere nervesystemet og sentral nevropatisk smerte når lesjonen eller dysfunksjonen
20 påvirker det sentrale nervesystemet (IASP).

Flere typer terapeutiske midler benyttes for å behandle nevropatisk smerte inkludert for eksempel trisykliske antidepressiva (TCA-er), serotonin- og norepinefringjenopptaksinhibitorer (SNRI-er), kalsiumkanalligander (f.eks. gabapentin og pregabalin), topisk lidokain, og opioidagonister (f.eks. morfin, oksykodon, metadon, levorfanol og
25 tramadol). Imidlertid kan nevropatisk smerte være meget vanskelig å behandle der ikke mer enn 40-60 % av pasientene oppnår delvis lindring av smerten (Dworkin et al. (2007) Pain 132:237-251). Videre har alle de terapeutiske midlene som i dag benyttes

for å behandle nevropatisk smerte, forskjellige bivirkninger (f.eks. kvalme, sedasjon, uklarhet og søvnløshet) som kan begrense effektiviteten hos enkelte pasienter (Dworkin *et al.* supra).

5 WO 2004/087155 beskriver norepinefringjenopptaksinhibitorer. SNRI-er som duloksetin og venlafaksin, benyttes ofte som førstelinjeterapi for behandling av nevropatisk smerte. Disse midlene inhiberer gjenopptaket av både serotonin (5-hydroksytryptamin, 5-HT) og norepinefrin (NE) ved binding til serotonin- og norepinefrintransportørene (SERT, henholdsvis NET). Imidlertid har både duloksetin og venlafaksin høyere affinitet for SERT i forhold til NET (Vaishnavi *et al.* (2004) *Biol. Psychiatry* 55(3):320-10 322).

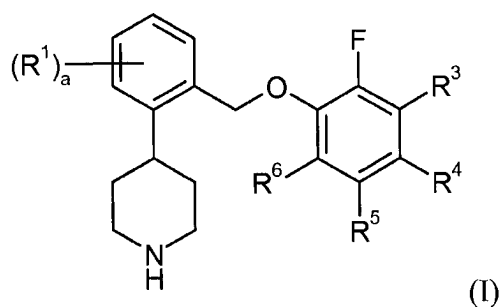
Prekliniske studier antyder at inhibering av både SERT og NET kan være nødvendig for maksimal effektiv behandling av nevropatisk og andre kroniske smertetilstander (Jones *et al.* (2006) *Neuropharmacology* 51(7-8): 1172-1180; Vickers *et al.* (2008) *Bio-15 org. Med. Chem. Lett.* 18:3230-3235; Fishbain *et al.* (2000) *Pain Med.* 1(4):310-316; og Mochizucki (2004) *Human Psychopharmacology* 19:s. 15-S19). I kliniske studier er imidlertid inhibering av SERT rapportert å være relatert til kvalme og andre bivirkninger (Greist *et al.* (2004) *Clin. Ther.* 26(9): 1446-1455). Således er terapeutiske midler med en mer avbalansert SERT- og NET-affinitet eller noe høyere NET-affinitet ventet å være spesielt nyttige for behandling av kronisk smerte under samtidig dan-20 nelse av færre bivirkninger som kvalme.

Det foreligger således et behov for nye forbindelser som er nyttige for behandling av kronisk smerte som nevropatisk smerte. Særlig foreligger det et behov for nye forbindelser som er nyttige for behandling av kronisk smerte og som har reduserte bivirkninger som kvalme. Videre foreligger det et behov for nye dualvirkende forbindelser 25 som inhiberer både SERT og NET med høy affinitet (f.eks. $pK > 8,0$ eller $K_1 < 10$ nM) og balansert inhibering (f.eks. et SERT:NET-bindings- K_1 -forhold på 0,1 til 100).

OPPSUMMERING AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer nye forbindelser som er funnet å ha serotonin-30 gjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet. I henhold til dette er forbindelser ifølge oppfinnelsen ventet å være nyttige og fordelaktige som terapeutiske midler for de sykdommene og forstyrrelsene som kan behandles ved inhibering av serotonin- og/eller norepinefrintransportører, slik som nevropatisk smerte.

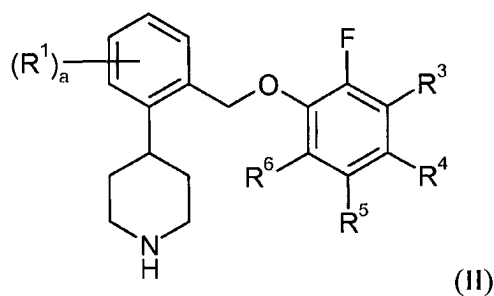
Ett aspekt ved oppfinnelsen angår forbindelser med formel I:



der:

a er 0, 1, 2, 3 eller 4; hver R^1 uavhengig er halogen eller trifluormetyl; R^3 er hydrogen, halogen eller $-C_{1-6}$ alkyl; R^4 , R^5 og R^6 uavhengig er hydrogen eller halogen; eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Ett ytterligere aspekt ved oppfinnelsen er forbindelser med formel II:



der:

(a) R^3 og R^5 er hydrogen, og

10

(i) R^4 er fluor, R^6 er fluor og a er 0;

(ii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;

15

(iii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-difluor;

(iv) R^4 er fluor, R^6 er klor og a er 0;

(v) R^4 er klor, R^6 er fluor og a er 0; eller

(vi) R^4 er brom, R^6 er klor og a er 0; eller

20

(b) R^3 og R^4 er hydrogen, R^5 er fluor, R^6 er klor, og:

(i) a er 0;

(ii) a er 1 og R¹ er 5-fluor eller 6-fluor; eller

(iii) a er 2 og R¹ er 4,6-difluor; eller

(c) R⁴ og R⁵ er hydrogen, R⁶ er fluor og;

(i) R³ er fluor og a er 0;

5 (ii) R³ er fluor, a er 1 og R¹ er 3-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;

(iii) R³ er fluor, a er 2 og R¹ er 4,6-difluor; eller

(iv) R³ er klor eller metyl, og a er 0; eller

(d) R³, R⁴ og R⁵ er hydrogen og:

(i) R⁶ er H og a er 0;

10 (ii) R⁶ er H, a er 1 og R¹ er 5-fluor eller 6-fluor;

(iii) R⁶ er fluor og a er 0;

(iv) R⁶ er fluor, a er 1 og R¹ er 4-fluor, 5-fluor eller 6-fluor;

(v) R⁶ er fluor, a er 2 og R¹ er 4,5-difluor eller 4,6-difluor;

(vi) R⁶ er klor og a er 0;

15 (vii) R⁶ er klor, a er 1 og R¹ er 4-fluor, 6-fluor eller 5-trifluormetyl;

(viii) R⁶ er klor, a er 2 og R¹ er 4,5-difluor; eller

(ix) R⁶ er brom og a er 0;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen angår farmasøytiske preparater omfattende en
 20 farmasøytisk akseptabel bærer og en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Slike preparater
 kan eventuelt inneholde andre aktive midler som anti-Alzheimersmidler, antikonvulsi-
 va, antidepressiva, anti-Parkinsonsmidler, dual-serotonin-norepinefringjenopptaks-
 inhibitorer, ikke-steroid antiinflammatoriske midler, norepinefringjenopptaksinhibito-
 25 rer, opioidagonister, opioidantagonister, selektive serotoningjenopptaksinhibitorer,
 natriumkanalblokkere, sympatolytika og kombinasjoner derav. I henhold til dette om-
 fatter i et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen et farmasøytisk preparat en forbindelse
 ifølge oppfinnelsen, et andre, aktivt middel og en farmasøytisk akseptabel bærer. Et
 annet aspekt ved oppfinnelsen angår en kombinasjon av aktive midler omfattende en
 30 forbindelse ifølge oppfinnelsen og et andre, aktivt middel. Forbindelsene ifølge oppfin-
 nelsen kan formuleres sammen eller separat fra ett eller flere av de ytterligere midle-
 ne. Formulert separat kan en farmasøytisk akseptabel bærer være inkludert med det
 eller de ytterligere midlene. Således angår nok et aspekt ved oppfinnelsen en kombi-
 nasjon av farmasøytiske preparater der kombinasjonen omfatter: et første farmasø-
 ytisk preparat omfattende en forbindelse med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt

salt derav og en farmasøytisk akseptabel bærer, og et andre farmasøytisk preparat omfattende et andre, aktivt middel og en andre farmasøytisk akseptabel bærer. Oppfinnelsen kan også angå et sett inneholdende slike farmasøytiske preparater, for eksempel der de første og andre farmasøytiske preparatene er separate, farmasøytiske preparater.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen har serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet og er derfor ventet å være nyttige som terapeutiske midler for behandling av pasienter som lider av en sykdom eller forstyrrelse som behandles ved inhibering av serotonin- og/eller norepinefrintransportøren. Således finner ett aspekt ved oppfinnelsen nytte ved en fremgangsmåte for å behandle: en smerteforstyrrelse som nevropatisk smerte eller fibromyalgi; en depressiv forstyrrelse som en tung depresjon; en affektiv forstyrrelse som angstforstyrrelse; ADHD; en kognitiv forstyrrelse som demens; stressurinær inkontinens; kronisk tretthetssyndrom; fedme; eller vasomotorsymptomer assosiert med menopausen, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

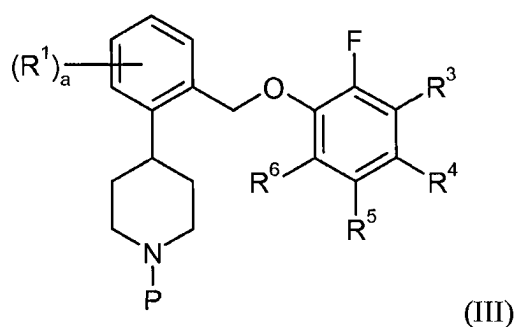
Oppfinnelsen finner også nytte ved en fremgangsmåte for inhibering av serotoningjenopptaket hos et pattedyr omfattende administrering til pattedyret av en serotonintransportørinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen; en fremgangsmåte for inhibering av norepinefringjenopptaket hos et pattedyr omfattende administrering til pattedyret av en norepinefrintransportørinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen; og en fremgangsmåte for inhibering av serotoningjenopptak og norepinefringjenopptak hos et pattedyr, omfattende administrering til pattedyret av en serotonintransportør- og norepinefrintransportørinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

Blant forbindelsene med formel I er forbindelser av spesiell interesse de som har en inhibitorisk konstant (pK_i) ved SERT lik større enn rundt 7,9, og en inhibitorisk konstant (pK_i) ved NET lik større enn rundt 8,0. I en annen utførelsesform har forbindelser av interesse en balansert SERT- og NET-aktivitet, dvs. har den pK_i -verdi ved både SERT og NET $\pm 0,5$. Ytterligere forbindelser av spesiell interesse er de som har en serotoningjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi på lik større enn rundt 7,0 og en norepinefringjenopptaks- pIC_{50} -verdi på lik større enn rundt 7,0.

Fordi forbindelser ifølge oppfinnelsen har serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet, er slike forbindelser også nyttige som forskningsverktøy. I henhold til dette finner oppfinnelsen nytte ved metoder for å be-

nytte forbindelsen ifølge oppfinnelsen som forskningsverktøy, omfattende gjennomføring av en biologisk analyse ved bruk av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også benyttes for å evaluere nye, kjemiske forbindelser. Således finner oppfinnelsen nytte ved en fremgangsmåte for å evaluere en testforbindelse i en biologisk analyse omfattende: (a) å gjennomføre en biologisk analyse med en testforbindelse for å gi en første analyseverdi; (b) å gjennomføre den biologiske analysen med en forbindelse ifølge oppfinnelsen for å tilveiebringe en andre analyseverdi; hvori trinn (a) gjennomføres enten før, etter eller samtidig med trinn (b); og (c) sammenlikning av den første analyseverdien fra trinn (a) med den andre analyseverdien fra trinn (b). Eksempler på biologiske analyser inkluderer en serotoningjenopptaksanalyse og en norepinefringjenopptaksanalyse. Oppfinnelsen finner videre anvendelse ved en fremgangsmåte for studering av et biologisk system eller en prøve omfattende serotonintransportører, norepinefrintransportører, eller begge deler, der metoden omfatter: (a) å bringe det biologiske systemet eller en tilsvarende prøve i kontakt med en forbindelse ifølge oppfinnelsen; og (b) å bestemme effektene forårsaket av forbindelsen på det biologiske systemet eller på prøven.

Foreliggende oppfinnelse angår også prosesser og mellomprodukter som er nyttige for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen. I henhold til dette angår et første aspekt ved oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formel I der fremgangsmåten omfatter debeskyttelse av en forbindelse med formel III:



eller et salt derav, der P er en aminobeskyttende gruppe for å gi forbindelser med formel I eller II, der a, R¹ og R³⁻⁶ er som angitt for formlene I, henholdsvis II. I andre aspekter angår oppfinnelsen nye mellomprodukter som er nyttige i slike prosesser.

Nok et aspekt ved oppfinnelsen angår forbindelser ifølge oppfinnelsen for bruk i terapi, særlig for behandling av smerteforstyrrelser, depressive forstyrrelser, affektive forstyrrelser, ADHD, kognitive forstyrrelser og stressurinær inkontinens. Forbindelsene kan benyttes for inhibering av serotoningjenopptak hos pattedyr, eller for inhibering

av norepinefringjenopptak hos pattedyr. Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også benyttes som forskningsverktøy. Andre aspekter og utførelsesformer av oppfinnelsen er beskrevet heri.

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

5 DEFINISJONER

Ved beskrivelse av forbindelsene, preparatene, metodene og prosessene ifølge oppfinnelsen har de følgende uttrykk de følgende betydninger hvis ikke annet er sagt. I tillegg, og som benyttet her, inkluderer entallsformene "en" og "ett" de tilsvarende flertallsformene hvis ikke sakens kontekst klart sier noe annet. Uttrykkene "omfattende", "inkludert" og "med" er ment å være inkluderende og betyr at det kan være ytterligere elementer andre enn de anførte elementene. Alle tall som uttrykker mengder av bestanddeler, egenskaper som molekylvekt, reaksjonsbetingelser og så videre slik de benyttes her, skal tolkes til å være modifisert i alle tilfeller ved uttrykket "rundt" hvis ikke annet er sagt. I tillegg er tallene slik de angis her omtrentlige tall som kan variere avhengig av de ønskede egenskapene man søker å oppnå ifølge oppfinnelsen. I det minste, og ikke som et forsøk på å begrense anvendelsen av ekvivalensdoktrinen til kravenes ramme, skal hvert tall i det minste tolkes i lys av de angitte, signifikante desimalene og ved å anvende vanlige avrundingsteknikker.

Uttrykket "alkyl" betyr en enverdig, mettet hydrokarbongruppe som kan være rett eller forgrenet. Hvis ikke annet er sagt, inneholder slike alkylgrupper typisk fra 1 til 10 karbonatomer og inkluderer for eksempel $-C_{1-2}$ alkyl, $-C_{1-3}$ alkyl, $-C_{1-4}$ alkyl, $-C_{1-6}$ alkyl og $-C_{1-8}$ alkyl. Representative alkylgrupper inkluderer som eksempel metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, *sec*-butyl, isobutyl, *tert*-butyl, *n*-pentyl, *n*-heksyl, *n*-heptyl, *n*-oktyl, *n*-nonyl, *n*-decyl og liknende.

Når et spesifikt antall karbonatomer er ment for et spesielt uttrykk som benyttes heri, er antallet karbonatomer vist foran uttrykket som subskript. For eksempel betyr uttrykket " $-C_{1-6}$ alkyl" en alkylgruppe med 1 til 6 karbonatomer, og uttrykket " $-C_{1-4}$ alkylen" betyr en alkylengruppe med fra 1 til 4 karbonatomer der karbonatomene er i en hvilken som helst akseptabel konfigurasjon.

Uttrykket "alkylen" betyr en toverdig, mettet hydrokarbongruppe som kan være rett eller forgrenet. Hvis ikke annet er sagt, inneholder slike alkylengrupper typisk fra 0 til 10 karbonatomer og inkluderer for eksempel $-C_{0-1}$ alkylen, $-C_{0-2}$ alkylen, $-C_{0-3}$ alkylen, $-C_{0-6}$ alkylen, $-C_{1-4}$ alkylen, $-C_{2-4}$ alkylen og $-C_{1-6}$ alkylen. Representative alkylengrupper inkluderer som eksempel metylen, etan-1,2-diyl ("etylen"), propan-1,2-diyl, propan-

1, 3-diyl, butan-1,4-diyl, pentan-1,5-diyl og liknende. Det skal være klart at når alkyl-
lenuttrykket inkluderer null karbonatomer som $-C_{0-1}$ alkylen-, $-C_{0-3}$ alkylen- eller $-C_{0-6}$ alkylen-,
er slike uttrykk ment å inkludere fraværet av karbonatomer, dvs. at alkyl-
lengruppen ikke er til stede bortsett fra når det gjelder en kovalent binding bundet til
5 gruppen som skilles av alkylenuttrykket.

Uttrykket "alkynyl" betyr en enverdig, umettet hydrokarbongruppe som kan være rett
eller forgrenet og som har minst ett og typisk 1, 2 eller 3 karbon-karbon trippelbin-
dinger. Hvis ikke annet er sagt, inneholder slike alkynylgrupper typisk fra 2 til 10 kar-
bonatomer og inkluderer for eksempel $-C_{2-4}$ alkynyl, $-C_{2-6}$ alkynyl og $-C_{3-10}$ alkynyl. Re-
10 presentative alkynylgrupper inkluderer som eksempel etynyl, n-propynyl, n-but-2-
ynyl, n-heks-3-ynyl og liknende.

Uttrykket "halo" eller "halogen" betyr fluor, klor, brom og jod.

Som benyttet her er uttrykkene "med formelen" eller "med strukturen" ikke ment å
være begrensende og benyttes på samme måte som uttrykket "omfattende" vanligvis
15 benyttes.

Uttrykket "farmasøytisk akseptabel" henviser til et materiale som ikke er biologisk
eller på annen måte er uakseptabelt ved anvendelse ifølge oppfinnelsen. For eksempel
henviser uttrykket "farmasøytisk akseptabel bærer" til et materiale som kan innarbei-
des i et preparat og administreres til en pasient uten å forårsake uakseptable, biolo-
20 giske effekter eller interagere på uakseptabel måte med andre komponenter i prepara-
tet. Slike farmasøytisk akseptable materialer tilfredsstiller typisk de kravene som er
satt opp for standarder for toksikologisk og fremstillingstesting og inkluderer de mate-
rialene som er identifisert som egnede, inaktive bestanddeler av U.S. Food and Drug
Administration.

25 Uttrykket "farmasøytisk akseptabelt salt" betyr et salt som er fremstilt fra en base
eller en syre som er akseptabel for administrering til en pasient, for eksempel et pat-
tedyr (f.eks. salter som har akseptabel pattedyrsikkerhet for et gitt doseringsregime).
Imidlertid er det klart at saltene som dekkes av oppfinnelsen, ikke nødvendigvis behø-
ver å være farmasøytisk akseptable salter, dette gjelder for eksempel salter av mel-
30 lomprodukter som ikke er ment for administrering til en pasient. Farmasøytisk aksep-
table salter kan avledes fra farmasøytisk akseptable, uorganiske eller organiske baser
og fra farmasøytisk akseptable, uorganiske eller organiske syrer. I tillegg, og når en
forbindelse med formel I inneholder både en basisk del som et amin, og en sur del
som en karboksylsyre, kan zwitterioner dannes og er inkludert innen uttrykket "salt",

slik det benyttes heri. Salter avledet fra farmasøytisk akseptable, uorganiske baser inkluderer ammonium-, kalsium-, kobber-, jern III-, jern II-, litium-, magnesium-, mangan IV-, mangan II-, kalium-, natrium- og sink-salter og liknende. Salter avledet fra farmasøytisk akseptable, organiske baser inkluderer salter av primære, sekundære og tertiære aminer, inkludert substituerte aminer, sykliske aminer, naturlig forekommende aminer og liknende som arginin, betain, kaffein, kolin, N,N-dibenzyletylen-diamin, dietylamin, 2-dietylamoetanol, 2-dimetylamoetanol, etanolamin, etylen-diamin, N-etylmorfolin, N-etylpiiperidin, glukamin, glukosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, metylglukamin, morfolin, piperazin, piperadin, polyaminharpik-ser, prokain, puriner, teobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, trometamin og liknende. Salter avledet fra farmasøytisk akseptable, uorganiske syrer inkluderer salter av bor-, karbon-, hydrohalo- (hydrobrom-, hydroklorid-, hydrofluor- eller hydro-jod-), salpeter-, fosfor-, sulfamin- og svovelsyrer. Salter avledet fra farmasøytiske akseptable, organiske syrer inkluderer salter av alifatiske hydroksylsyrer (f.eks. sitron-, glukon-, glykol-, melke-, laktobion-, eple- og vinsyre), alifatiske monokarboksylysyrer (f.eks. eddik-, smør-, maur-, propion- og trifluoreddiksyrer), aminosyrer (f.eks. aspar-tin- og glutaminsyrer), aromatiske karboksylsyrer (f.eks. benzo-, p-klorbenzo-, dife-nyleddik-, gentisin-, hippur- og trifenyleddiksyrer), aromatiske hydroksylsyrer (f.eks. o-hydroksybenzo-, p-hydroksybenzo-, 3-hydroksynaftalen-2-karboksylysyre), askor-bin- og dikarboksylysyrer (f.eks. fumar-, malein-, oksal- og ravsyre), glukuron-, man-del-, mucin-, nikotin-, orotin-, pamoin-, pantoten- eller svovelsyrer (f.eks. benzensul-fon-, kamforsulfon-, edisyl-, etansulfon-, isetion-, metansulfon-, naftalensulfon-, naftalen-1,5-disulfon-, naftalen-2,6-disulfon- og p-toluensulfonsyrer), xinafonsyre og liknende.

Uttrykket "solvat" betyr et kompleks eller aggregat som dannes av ett eller flere mo-lekyler av en solutt, f.eks. en forbindelse med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og ett eller flere molekyler av en solvent. Slike solvater er typisk krys-tallinske faststoffer med et i det vesentlige fast molforhold mellom solutt og solvent. Representative solventer er som eksempler vann, metanol, etanol, isopropanol, eddik-syre og liknende. Når solventen er vann, er det dannede solvatet et hydrat.

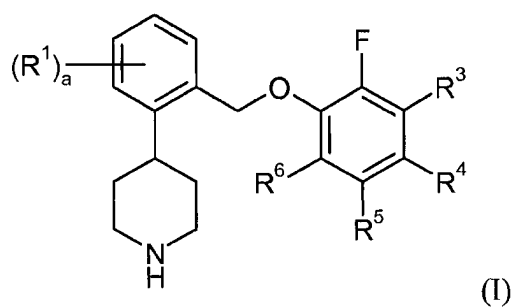
Uttrykket "terapeutisk effektiv mengde" betyr en mengde som er tilstrekkelig til å be-virke behandling ved administrering til en pasient som trenger det, dvs. den mengden av et medikament som er nødvendig for å oppnå den ønskede, terapeutiske effekten. For eksempel er en terapeutisk effektiv mengde for behandling av nevropatisk smerte en mengde av en forbindelse som er nødvendig for for eksempel å redusere, under-trykke, eliminere eller forhindre symptomene av nevropatisk smerte eller å behandle

den underliggende årsaken til den nevropatiske smerten. På den annen side betyr uttrykket "effektiv mengde" en mengde som er tilstrekkelig til å oppnå et ønsket resultat og som ikke nødvendigvis behøver å være et terapeutisk resultat. Ved studier av et system som omfatter en norepinefrintransportør kan for eksempel en "effektiv mengde" være den mengden som er nødvendig for å inhibere norepinefringjenopptak.

Uttrykket "behandle" eller "behandling" som benyttet her betyr å behandle eller behandling av en sykdom eller en medisinsk tilstand (som nevropatisk smerte) hos en pasient, for eksempel et pattedyr (spesielt et menneske) og som inkluderer én av de følgende: (a) å forhindre at sykdommen eller den medisinske tilstanden inntreffer, dvs. profylaktisk behandling av en pasient; (b) lindring av sykdommen eller den medisinske tilstanden, dvs. eliminering eller å forårsake regresjon av sykdommen eller den medisinske tilstanden hos en pasient; (c) å undertrykke sykdommen eller den medisinske tilstanden, dvs. å senke eller stanse utviklingen av sykdommen eller den medisinske tilstanden hos en pasient; eller (d) å lindre symptomene på sykdommen eller den medisinske tilstanden hos pasienten. For eksempel vil uttrykket "behandling av nevropatisk smerte" inkludere å forhindre at nevropatisk smerte inntreffer, å lindre den nevropatiske smerten, å undertrykke nevropatisk smerte og lindre symptomene på den nevropatiske smerten. Uttrykket "pasient" er ment å inkludere pattedyr som mennesker som trenger behandling eller sykdomsprevensjon, som er under løpende behandling for sykdomsprevensjon eller behandling av en spesifikk sykdom eller medisinsk tilstand, så vel som testindivider der forbindelser ifølge oppfinnelsen evalueres eller benyttes i en analyse, for eksempel en dyremodell.

Alle andre uttrykk som benyttes heri er ment å ha sin vanlige betydning slik fagmannen på området det gjelder vil vite.

I et aspekt angår oppfinnelsen forbindelser med formel I:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Som benyttet heri inkluderer "oppfinnelsens forbindelse" eller "oppfinnelsens forbin-

delser" alle forbindelser som omfattes av formlene I, II og III, samt de spesiene som er omfattet av formlene IIa, IIb, IIc og IId, og alle andre subspecies av slike formler. Når i tillegg en forbindelse ifølge oppfinnelsen inneholder en basisk eller sur gruppe (f.eks. amino- eller karboksylgrupper), kan forbindelsen eksistere som en fri base, fri syre, et zwitterion eller i forskjellige saltformer. Alle slike saltformer er inkludert innenfor oppfinnelsens ramme. I henhold til dette vil fagmannen på området erkjenne at henvisning til forbindelser heri, for eksempel henvisning til en "forbindelse ifølge oppfinnelsen" eller en "forbindelse med formel I" inkluderer en forbindelse med formel I så vel som farmasøytisk akseptable salter av en slik forbindelse hvis ikke annet er sagt. Videre er solvater også inkludert innenfor oppfinnelsens ramme.

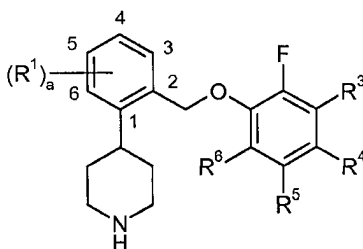
Forbindelser ifølge oppfinnelsen så vel som de forbindelsene som benyttes for deres syntese, kan også inkludere isotopiskmerkede forbindelser, dvs. der ett eller flere atomer er anrikt med atomer som har en atommasse forskjellig fra den atommassen som overveiende finnes i naturen. Eksempler på isotoper som kan innarbeides i forbindelsene ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{36}Cl og ^{18}F . Av spesiell interesse er de forbindelsene med formel I som er anrikt på tritium eller karbon-14 som for eksempel kan benyttes i vevsfordelingsstudier; forbindelser med formel I som er anrikt på deuterium spesielt på et metabolismesete som for eksempel resulterer i forbindelser med større metabolsk stabilitet; og forbindelser med formel I som er anrikt på en positronemitterende isotop som ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O og ^{13}N som for eksempel kan benyttes ved positronemisjonstopografi (PET)-studier.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er funnet å ha serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet. Blant andre egenskaper er slike forbindelser ventet å være nyttige som terapeutiske midler for behandling av kronisk smerte, som nevropatisk smerte. Ved å kombinere dualaktivitet i en enkelt forbindelse kan man oppnå dobbeltterapi, dvs. serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet, ved bruk av kun én enkelt aktiv komponent. Siden farmasøytiske preparater som inneholder én aktiv komponent, er typisk lettere å formulere enn preparater inneholdende to aktive komponenter, gir slike enkeltkomponentpreparater en signifikant fordel i forhold til preparater inneholdende to aktive komponenter.

Mange kombinerte serotonin- og norepinefringjenopptaksinhibitorer (SNRI-er) er mer selektive overfor SERT enn overfor NET. For eksempel viser milnasipran, duloksetin og venlafaksin en 2,5 ganger, 10 ganger, henholdsvis 100 ganger økt selektivitet for

SERT i forhold til NET (målt som P_{Ki}). Noen er imidlertid mindre selektive, som bicifadin som har en pK_i ved SERT på 7,0 og en pK_i ved NET på 6,7. Fordi det kan være ønskelig å unngå selektive forbindelser har forbindelsene i en utførelsesform av oppfinnelsen en mer balansert SERT- og NET-aktivitet, dvs. at de har den samme pK_i -verdi på både SERT og NET $\pm 0,5$.

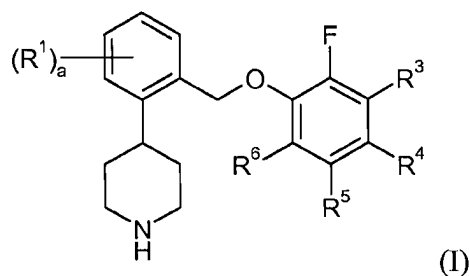
Forbindelsene som er beskrevet heri er typisk navngitt ved bruk av AutoNom-trekket av kommersielt tilgjengelige MDL[®] ISIS/Draw-programmet (Symyx, Santa Clara, California). Typisk er forbindelsene ifølge oppfinnelsen gitt navnet 4-[2-(2-fluorfenoksy-metyl)fenyl]piperidiner. Nummereringen av forbindelsene som beskrevet heri er som følger:



REPRESENTATIVE UTFØRELSESFORMER

De følgende substituentene og verdiene er ment å gi representative eksempler på forskjellige aspekter og utførelsesformer av oppfinnelsen. Disse representative verdiene er ytterligere ment å definere og illustrere slike aspekter og utførelsesformer og er ikke ment å utelukke andre utførelsesformer eller å begrense oppfinnelsens ramme. I denne forbindelse er representasjonen at en spesiell verdi eller substituent er foretrukket, ikke på noen måte ment å utelukke andre verdier eller substituenten fra oppfinnelsen hvis ikke annet spesielt er sagt.

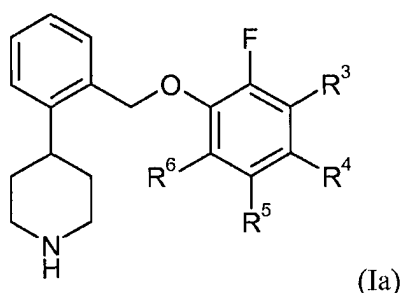
I et aspekt angår oppfinnelsen forbindelser med formel I:



I forbindelser med formel I kan det hele tallet være 0, 1, 2, 3 eller 4. Hver R^1 er uavhengig halo eller trifluormetyl. R^3 er hydrogen, halo eller $-C_{1-6}$ alkyl. R^4 , R^5 og R^6 er

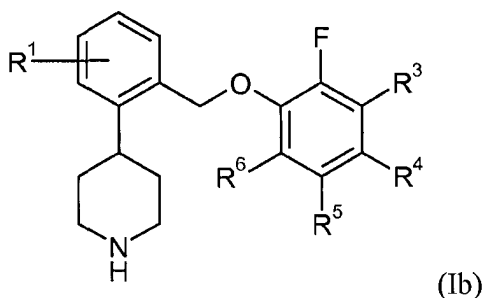
uavhengig hydrogen eller halo. Eksempler på halogrupper inkluderer fluor, klor, brom og jod. Eksempler på $-C_{1-6}$ alkylgrupper inkluderer $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ og $-CH(CH_3)_2$. I en utførelsesform er R^3 hydrogen, fluor, klor eller metyl. I en utførelsesform er R^4 hydrogen, fluor, klor eller brom. I en utførelsesform er R^5 hydrogen eller fluor. I en utførelsesform er R^6 hydrogen, fluor, klor eller brom.

I en utførelsesform av forbindelser med formel I er a 0. Dette kan angis som formel Ia:



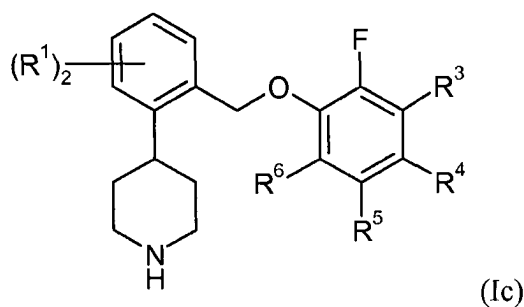
I en utførelsesform av forbindelser med formel Ia er R^3 hydrogen, fluor, klor eller metyl; R^4 er hydrogen, fluor, klor eller brom; R^5 er hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor, klor eller brom.

I en annen utførelsesform av forbindelser med formel I er a 1. Dette kan angis som formel Ib:



I en utførelsesform av forbindelser med formel Ib er R^1 3-fluor, 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor. I en annen utførelsesform av forbindelser med formel Ib er R^3 hydrogen eller fluor; R^4 er hydrogen eller fluor; R^5 er hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor eller klor.

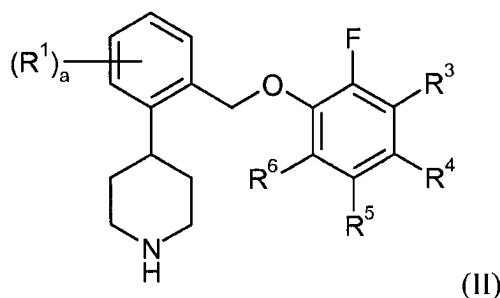
I nok en utførelsesform av forbindelser med formel I er a 2. Dette kan angis som formel Ic:



I en utførelsesform av forbindelsene med formel Ic er R^1 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-difluor. I en annen utførelsesform av forbindelsene med formel Ib er R^3 hydrogen eller fluor; R^4 er hydrogen eller fluor; R^5 er hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor eller klor.

I et spesielt aspekt ved oppfinnelsen oppviser forbindelsene med formel I en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET $pK_i \geq 8$.

I et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen angår den forbindelser med formel II:



10 der:

(a) R^3 og R^5 er hydrogen og:

(i) R^4 er fluor, R^6 er fluor og a er 0;

(ii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;

15 (iii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-difluor;

(iv) R^4 er fluor, R^6 er klor og a er 0;

(v) R^4 er klor, R^6 er fluor og a er 0; eller

(vi) R^4 er brom, R^6 er klor og a er 0; eller

20 (b) R^3 og R^4 er hydrogen, R^5 er fluor, R^6 er klor, og:

(i) a er 0;

(ii) a er 1 og R¹ er 5-fluor eller 6-fluor; eller

(iii) a er 2 og R¹ er 4,6-difluor; eller

(c) R⁴ og R⁵ er hydrogen, R⁶ er fluor og;

5 (i) R³ er fluor og a er 0;

(ii) R³ er fluor, a er 1 og R¹ er 3-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;

(iii) R³ er fluor, a er 2 og R¹ er 4,6-difluor; eller

(iv) R³ er klor eller metyl, og a er 0; eller

(d) R³, R⁴ og R⁵ er hydrogen og:

10

(i) R⁶ er H og a er 0;

(ii) R⁶ er H, a er 1 og R¹ er 5-fluor eller 6-fluor;

(iii) R⁶ er fluor og a er 0;

(iv) R⁶ er fluor, a er 1 og R¹ er 4-fluor, 5-fluor eller 6-fluor;

15

(v) R⁶ er fluor, a er 2 og R¹ er 4,5-difluor eller 4,6-difluor;

(vi) R⁶ er klor og a er 0;

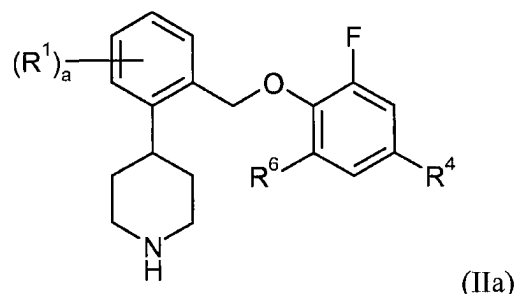
(vii) R⁶ er klor, a er 1 og R¹ er 4-fluor, 6-fluor eller 5-trifluormetyl;

(viii) R⁶ er klor, a er 2 og R¹ er 4,5-difluor; eller

(ix) R⁶ er brom og a er 0;

20 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

I en utførelsesform av forbindelsene med formel II er R³ og R⁵ hydrogen. Dette kan angis som formel IIa:

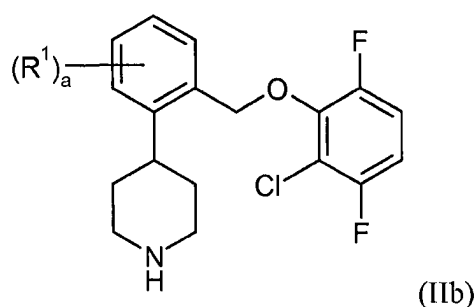


25 I en utførelsesform av forbindelser med formel IIa er R⁴ fluor, R⁶ er fluor og a er 0. I en annen utførelsesform er R⁴ fluor, R⁶ er fluor, a er 1 og R¹ er 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor. I en annen utførelsesform er R⁴ fluor, R⁶ er fluor, a er 2 og R¹ er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-difluor. I en utførelsesform er R⁴ fluor, R⁶ er klor

og a er 0. I nok en utførelsesform er R^4 klor, R^6 er fluor og a er 0. I nok en utførelsesform er R^4 brom, R^6 er klor og a er 0. I nok en utførelsesform viser disse forbindelsene med formel IIa en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET $pK_i \geq 8$.

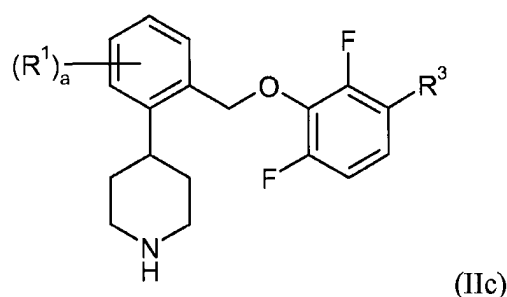
I en annen utførelsesform av forbindelser med formel II er R^3 og R^4 hydrogen, R^5 er fluor og R^6 er klor.

5 Dette kan angis som formel IIb:



I en utførelsesform av forbindelser med formel IIb er a 0. I nok en utførelsesform er a 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor. I en annen utførelsesform er a 2 og R^1 er 4,6-difluor. I nok en utførelsesform har disse forbindelsene med formel IIb en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET- $pK_i \geq 8$.

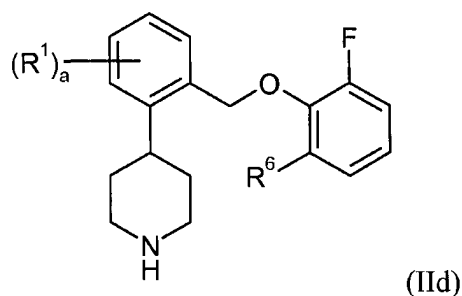
I nok en ytterligere utførelsesform av forbindelser med formel II er R^4 og R^5 hydrogen og R^6 er fluor. Dette kan angis som formel IIc:



15 I en utførelsesform av forbindelser med formel IIc er R^3 fluor og a er 0. I nok en utførelsesform er R^3 fluor, a er 1 og R^1 er 3-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor. I nok en utførelsesform er R^3 fluor, a er 2 og R^1 er 4,6-difluor. I nok en utførelsesform er R^3 klor eller metyl og a er 0. I nok en utførelsesform har disse forbindelsene med formel IIc en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET $pK_i \geq 8$.

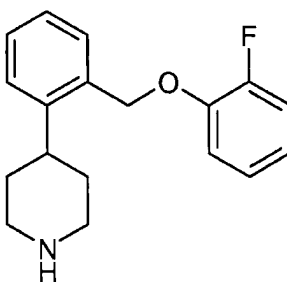
20 I nok en utførelsesform av forbindelser med formel II er R^3 , R^4 og R^5 er hydrogen.

Dette kan angis som formel IIId:

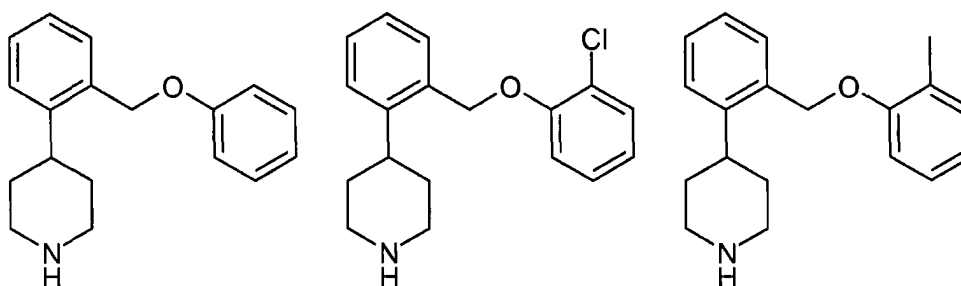


I en utførelsesform av forbindelser med formel IIId er R^6 H og a er 0. I nok en utførelsesform er R^6 H, a er 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor. I nok en utførelsesform er R^6 fluor eller klor, og a er 0. I nok en utførelsesform er R^6 fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor eller 6-fluor. I nok en utførelsesform er R^6 klor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 6-fluor eller 5-trifluormetyl. I en utførelsesform er R^6 fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor eller 4,6-difluor. I en utførelsesform er R^6 klor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor. I nok en utførelsesform er R^6 brom, og a er 0. I nok en utførelsesform oppviser disse forbindelsene med formel IIId en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET $pK_i \geq 8$.

I en utførelsesform har forbindelsene ifølge oppfinnelsen en høy affinitet for NET og en relativt balansert affinitet for SERT i forhold til NET, og i en utførelsesform en høyere affinitet for NET i forhold til SERT. I en spesiell utførelsesform oppviser forbindelsene ifølge oppfinnelsen en SERT $pK_i \geq 7,9$ og en NET $pK_i \geq 8$. Overraskende er denne balansen mellom SERT- og NET-aktivitet ikke funnet i noen strukturelt like forbindelser. For eksempel viser den følgende forbindelsen ifølge oppfinnelsen:



en SERT pK_i på 7,9 og en NET pK_i på 8,3, som bestemt i analyse 1. Evaluert i den samme analysen oppviser de følgende forbindelsene enten lav binding på begge mål (usubstituerte) eller større binding på SERT enn på NET (2-klor og 2-metyl):



Forbindelse	SERT pK _i	NET pK _i
usubstituert	7,5	7,4
2-klor	8,4	7,5
2-metyl	8,8	7,5

GENERELLE, SYNTETISKE PROSEDYRER

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan fremstilles fra lett tilgjengelige utgangsmaterialer ved bruk av de følgende, generelle metodene og prosedyrene som er angitt i eksemplene eller ved å benytte andre metoder, reagenser og utgangsmaterialer som er velkjente for fagmannen. Selv om de følgende prosedyrene kan illustrere en spesiell utførelsesform av oppfinnelsen skal det være klart at andre utførelsesformer av oppfinnelsen tilsvarende kan fremstilles ved bruk av de samme eller tilsvarende metodene eller ved bruk av andre metoder, reagenser eller utgangsmaterialer som er velkjente for fagfolk på området. Det vil også erkjennes at der typiske eller foretrukne prosessbetingelser (dvs. reaksjonstemperaturer, -tider, molforhold mellom reaktanter, solventer, trykk osv.) er gitt, kan andre prosessbetingelser også benyttes hvis ikke annet er sagt. Mens optimale reaksjonsbetingelser typisk vil variere når det gjelder forskjellige reaksjonsparametere som spesielle reaktanter, solventer og benyttede mengder, vil fagmannen på området lett kunne bestemme egnede reaksjonsbetingelser ved bruk av rutineoptimaliseringsprosedyrer.

I tillegg, og slik det vil være klart for fagmannen, kan konvensjonelle beskyttende grupper være nødvendige eller ønskelige for å forhindre at visse funksjonelle grupper undergår uønskede reaksjoner. Valget av en egnet beskyttende gruppe for en spesiell funksjonell gruppe så vel som egnede betingelser og reagenser for beskyttelse og de-
 beskyttelse av slike funksjonelle grupper, er velkjente på området. Beskyttende grupper, andre enn de som er vist i prosedyrene som beskrives her, kan benyttes hvis ønskelig. For eksempel er tallrike beskyttende grupper og deres innføring og fjerning

beskrevet av T. W. Greene og G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tredje utgave, Wiley, New York, 1999, og de deri angitte referansene.

Mer spesielt representerer i reaksjonsskjemaene nedenfor P en "aminobeskyttende gruppe", et uttrykk som benyttes her for å angi en beskyttende gruppe som er egnet til å forhindre uønskede reaksjoner på en aminogruppe. Representative aminobeskyttende grupper inkluderer, men er ikke begrenset til, t-butoksykarbonyl (Boc), trityl (Tr), benzyloksykarbonyl (Cbz), 9-fluorenylmetyloksykarbonyl (Fmoc), formyl, benzyl og liknende. Standard debeskyttelsesteknikker og reagenser som TFA i DCM eller HCl i 1,4-dioksan, metanol eller etanol, benyttes for å fjerne beskyttende grupper, hvis disse er til stede. For eksempel kan en Boc-gruppe fjernes ved bruk av en sur reagens som saltsyre, trifluoreddiksyre og liknende; mens en Cbz-gruppe kan fjernes ved å benytte katalytiske hydrogeneringsbetingelser som H₂ (1 atm), 10 % Pd/C i et alkoholisk oppløsningsmiddel. Skjemaene er illustrert med Boc som beskyttende gruppe.

I skjemaene nedenfor representerer L en "avspaltbar gruppe", et uttrykk som her benyttes for å angi en funksjonell gruppe eller et atom som kan fortrenkes av en annen funksjonell gruppe eller et atom i en substitusjonsreaksjon, for eksempel en nukleofil substitusjonsreaksjon. Som eksempler inkluderer representative, avspaltbare grupper klor-, brom- og jodgrupper; sulfonsyreestergrupper som mesylat, tosylat, brosylat, nosylat og liknende; og acyloksygrupper som acetoksy, trifluoracetoksy og liknende.

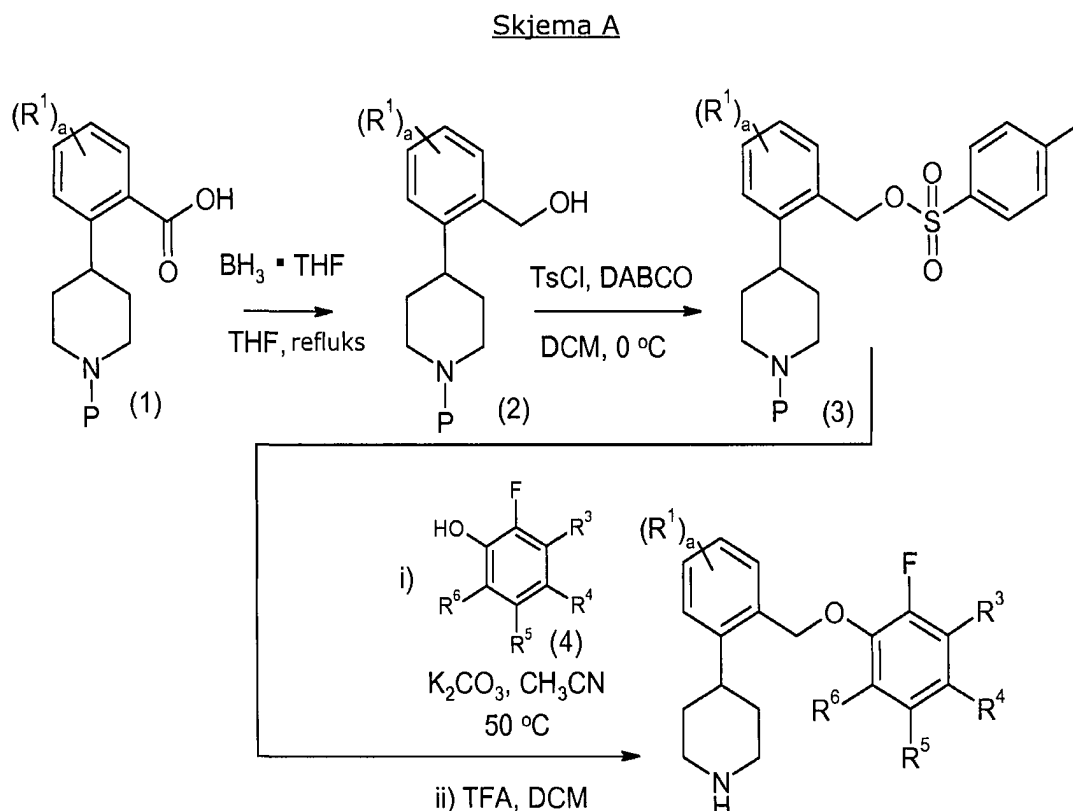
Egnede inerte diluenter eller solventer for anvendelse i disse skjemaene inkluderer som illustrasjon og uten begrensning tetrahydrofuran (THF), acetonitril, N,N-dimetylformamid (DMF), dimetylsulfoksid (DMSO), toluen, diklormetan (DCM), kloroform (CHCl₃) og liknende.

Alle reaksjoner gjennomføres typisk ved en temperatur innen området rundt -78 °C til 110 °C, for eksempel ved romtemperatur. Reaksjoner kan følges ved bruk av tynnsjikt-kromatografi (TLC), høytrykkesvæskrokromatografi (HPLC) og/eller LCMS til fullføring. Reaksjoner kan være ferdig i løpet av minutter, de kan ta timer, typisk fra 1-2 timer og opp til 48 timer, eller dager, som opptil 3-4 dager. Ved ferdig reaksjon kan den resulterende blandingen eller reaksjonsproduktet behandles videre for å oppnå det ønskede produktet. For eksempel kan den resulterende blandingen eller reaksjonsproduktet underkastes én eller flere av de følgende prosedyrene: fortykning (for eksempel med mettet NaHCO₃-er); ekstrahering (for eksempel med etylacetat, CHCl₃, DCM, vandig HCl); vasking (for eksempel med DCM, mettet vandig NaCl eller mettet vandig NaHCO₃); tørking (for eksempel over MgSO₄ eller Na₂SO₄, eller under vakuum); filtrering; konsentrering (for eksempel under vakuum); gjenoppløsning (for ek-

sempel i eddiksyre:H₂O-oppløsning 1:1); og/eller rensing (for eksempel ved preparativ HPLC, reversfase preparativ HPLC, eller krystallisering).

Som illustrasjon kan forbindelser ifølge oppfinnelsen fremstilles ved ett eller flere av de følgende skjemaene som er detaljert i eksemplene.

5

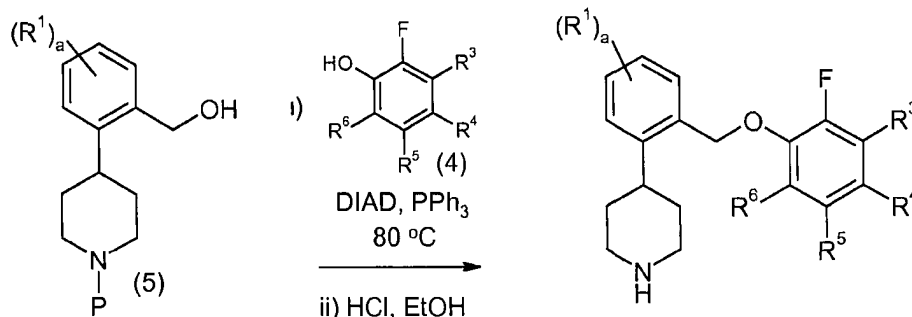


Utgangsmaterialet, for eksempel for 4-(2-karboksyfenyl)piperidin-1-karboksylysyre-t-butylester (P=Boc) er kommersielt tilgjengelig og undergår en boranreduksjon for å danne forbindelse 2. Egnede reduksjonsreagenser inkluderer borandimetylsulfidkompleks, 9-borabisyklo[3.3.1]nonan, boran 1,2-bis(*t*-butyltio)etankompleks, boran *t*-butylaminkompleks, boran di(*t*-butyl)fosfinkompleks, borantetrahydrofurankompleks og så videre. Det neste trinnet involverer konvertering av hydroksylgruppen av forbindelse 2 til en avspaltbar gruppe. For eksempel kan forbindelse 2 undergå tosylering med en egnet reagens som *p*-toluensulfonylchlorid (TsCl) i en egnet base som trietylen-diamin for derved å danne tosylatesteren, forbindelse 3. Se for eksempel Hartung et al. (1997) *Synthesis* 12:1433-1438. Alternativt kan forbindelse 2 kombineres med metansulfonsyreanhydrid i *N,N*-diisopropyletylamin.

2-fluorfenolforbindelsen 4 kobles med forbindelse 3 ved nukleofil fortregning. Det

beskyttede aminet blir så debeskyttet for å gi en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Forbindelse 4 er enten kommersielt tilgjengelig eller kan lett syntetiseres ved teknikker som er velkjente på området.

Skjema B

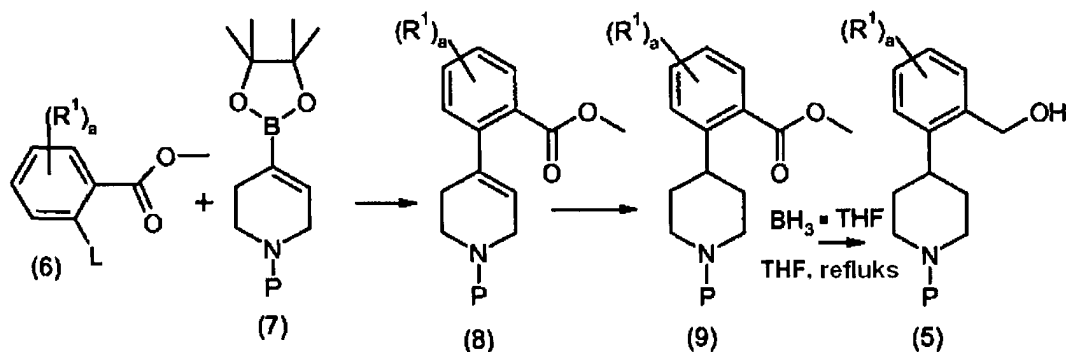


5

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også fremstilles ved å benytte Mitsunobu-koblingsreaksjonen (Mitsunobu and Yamada (1967) M. Bull Chem. Soc. JPN. 40:2380-2382), fulgt av debeskyttelse av aminet. Denne reaksjonen gjennomføres typisk ved bruk av standard Mitsunobu-koblingsbetingelser ved bruk av et redokssystem inneholdende et azodikarbonylat som dietylazodikarbonylat (DEAD) eller diisopropylazodikarbonylat (DIAD), og en fosfinkatalysator som trifenyfosfin (PPh₃).

10

Utgangsmaterialet, forbindelse 5, kan syntetiseres som følger:



15

Forbindelse 6 og forbindelse 7 kobles ved bruk av Suzuki-koblingsreaksjonsbetingelser for å danne forbindelse 8. Representative katalysatorer inkluderer palladium- og nikkelkatalysatorer som *bis*(trifenyfosfin)palladium(II), tetrakis(trifenyfosfin)palladium(0), [1,1'-bis(difenyfosfino)ferrocen]diklorpalladium(II), bis[1,2-bis(difenyfosfino)propan]palladium(0), palladium(II) acetat, [1,1'-bis(difenyfosfino)ferrocen]diklornikkel(II) og liknende. Eventuelt benyttes en base i denne reaksjonen, for eksempel natriumkarbonat eller -bikarbonat, kaliumfosfat, trietylamin og liknende. Forbin-

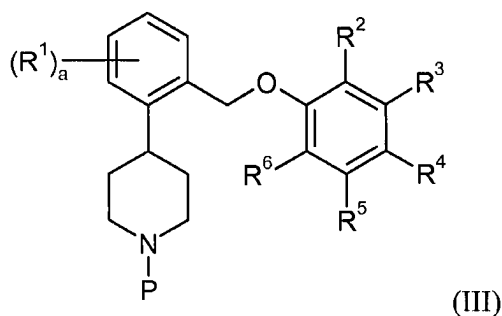
20

delse 8 blir så hydrogenert, typisk ved bruk av Pearlmans katalysator (våt Pd(OH)₂/C) for å danne forbindelse 9, som så underkastes en boranreduksjon for å danne forbindelse 5.

Utgangsmaterialene 6 og 7 er enten kommersielt tilgjengelige eller de kan lett syntetiseres ved teknikker som er velkjente på området. Foretrukne avspaltbare grupper (L) inkluderer halogener og triflat, og eksempler på forbindelse 6 er metyl 2-brom-5-fluorbenzoat. Eksempler på forbindelse 7 inkluderer 4-(4,4,5,5-tetrametyl-[1,3,2]dioxaborolan-2-yl)-3,6-dihydro-2H-pyridin-1-karboksylysyre t-butylester.

Hvis ønskelig kan farmasøytisk akseptable salter av forbindelsene med formel I eller II fremstilles ved å bringe den frie syre- eller baseform av en forbindelse med formel I henholdsvis II i kontakt med en farmasøytisk akseptabel base eller syre.

Visse mellomprodukter som er beskrevet her antas å være nye, og i henhold til dette er slike forbindelser også tilveiebrakt som ytterligere aspekter ved oppfinnelsen, inkludert for eksempel forbindelser med formel III



eller et salt derav, der P representerer en aminobeskyttende gruppe, spesielt som angitt i krav 21, spesielt t-butoksykarbonyl (Boc) der a, R¹ og R³⁻⁶ er som angitt for formlene I eller II. I en utførelsesform av oppfinnelsen kan forbindelser ifølge oppfinnelsen fremstilles ved å debeskytte forbindelser med formel III for å gi forbindelser med formel I eller II, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Ytterligere detaljer når det gjelder spesifikke reaksjonsbetingelser og andre prosedyrer for fremstilling av representative forbindelser ifølge oppfinnelsen eller mellomprodukter derav, er beskrevet i eksemplene nedenfor.

ANVENDELIGHET

Forbindelser ifølge oppfinnelsen har serotonin- og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet. Således er disse forbindelsene ventet å ha terapeutisk nytte som kombinerte

serotonin- og norepinefringjenopptaksinhibitorer (SNRI-er). I en utførelsesform har forbindelsene ifølge oppfinnelsen lik eller omtrent lik serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet og norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet.

Inhiberingskonstanten (K_i) for en forbindelse er konsentrasjonen av en konkurrerende ligand i en konkurranseanalyse som vil oppta 50 % av transportørene hvis ingen radioligand var til stede. K_i -verdiene kan bestemmes fra radioligandkonkurransebindingsstudier med ^3H -nisoksetin (for norepinefrintransportøren, NET) og ^3H -citalopram (for serotonintransportøren, SERT), som beskrevet i analyse 1. Disse K_i -verdiene er avledet fra IC_{50} -verdier i bindingsanalysen ved bruk av Cheng-Prusoff-likningen og K_d -verdien for radioliganden (Cheng & Prusoff (1973) *Biochem. Pharmacol.* 22(23):3099-3108). Funksjonelle IC_{50} -verdier kan bestemmes i den funksjonelle inhiberingen av opptaksanalyser som beskrevet i analyse 2. Disse IC_{50} -verdiene kan konverteres til K_i -verdier ved bruk av Cheng-Prusoff-likningen og K_m -verdien for transmitteren for transportøren. Det skal imidlertid påpekes at opptaksanalysebetingelsene som er beskrevet i analyse 2 er slik at IC_{50} -verdiene er meget nær K_i -verdiene skulle en matematisk konvertering være ønskelig, fordi nevrotransmitterkonsentrasjonen (5-HT eller NE) som benyttes i analysen er godt under dens K_m for den respektive transportøren.

Et mål på affiniteten for en forbindelse for SERT eller NET er den inhibitoriske konstanten ($\text{p}K_i$) for binding til transportøren. $\text{p}K_i$ -verdien er den negative logaritmen til basis 10 for K_i . Forbindelser ifølge oppfinnelsen som er av spesiell interesse er de som har en $\text{p}K_i$ på SERT større enn eller lik rundt 7,5, og i en spesiell utførelsesform lik større enn rundt 7,9. Forbindelser ifølge oppfinnelsen som er av spesiell interesse inkluderer også de som har en $\text{p}K_i$ -verdi på NET lik større enn rundt 7,5, og i en spesiell utførelsesform, lik større enn rundt 8,0. I en annen utførelsesform har forbindelser av interesse en $\text{p}K_i$ på NET i området 8,0 til 9,0. I nok en utførelsesform av interesse har de en $\text{p}K_i$ på SERT som er lik større enn rundt 7,9 og en $\text{p}K_i$ på NET som er lik større enn rundt 8,0. I nok en utførelsesform har forbindelser av interesse en $\text{p}K_i$ på SERT og på NET som er lik større enn rundt 8,0. Slike verdier kan bestemmes ved teknikker som er velkjente på området så vel som i de analysene som er beskrevet her.

I en utførelsesform viser forbindelser ifølge oppfinnelsen en NET $\text{p}K_i \geq 8,0$ og: et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,1 til 100; et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,3 til 100; et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,3 til 10; eller et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,1 til 30. I nok en utførelsesform viser forbindelser ifølge oppfinnelsen en NET $\text{p}K_i \geq 9$ og: et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,1 til 100; et SERT K_i :NET K_i -

forhold i området 0,3 til 100; et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,3 til 10; eller et SERT K_i :NET K_i -forhold i området 0,1 til 30.

Et ytterligere mål på serotonin- og norepinefringjenopptaksinhibering er pIC_{50} -verdien. I en utførelsesform har forbindelser av interesse en serotoningjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 7,0, og en norepinefringjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 7,0; og i en ytterligere utførelsesform har forbindelser av interesse en serotoningjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 7,5 og en norepinefringjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 7,5. I en spesiell utførelsesform har forbindelsene en serotoningjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 8,0 og en norepinefringjenopptaksinhiberende pIC_{50} -verdi større enn eller lik rundt 8,0. I en spesiell utførelsesform har forbindelsene ifølge oppfinnelsen balanserte pIC_{50} -verdier, dvs. at de har den samme pIC_{50} -verdien på både SERT og NET $\pm 0,6$.

I en annen utførelsesform er forbindelser ifølge oppfinnelsen selektive for inhibering av SERT og NET i forhold til dopamintransportøren (DAT). For eksempel er i denne utførelsesformen forbindelser av spesiell interesse de som viser en bindingsaffinitet for SERT og NET som er minst 5 ganger høyere enn bindingsaffiniteten for DAT, eller som er minst 10 ganger høyere enn for DAT, eller minst 20 eller 30 ganger høyere enn for DAT. I en annen utførelsesform viser forbindelsene ingen signifikant DAT-inhibering. I nok en utførelsesform viser forbindelsene mindre enn 50 % inhibering av DAT-aktiviteten, målt ved en konsentrasjon på 794 nM. Under de benyttede analysebetingelsene vil en forbindelse som viser < 50 % inhibering ha en estimert pK_i -verdi på DAT på $\leq 6,1$.

I nok en utførelsesform har forbindelser ifølge oppfinnelsen dopamingjenopptaksinhibitorisk aktivitet så vel som SERT- og NET-aktivitet. I denne utførelsesformen er for eksempel forbindelser av spesiell interesse de som viser en pK_i på SERT og NET som er større enn eller lik rundt 7,5 og en pK_i på DAT som er større enn eller lik rundt 7,0.

Det skal påpekes at i visse tilfeller kan forbindelser ifølge oppfinnelsen ha enten svak serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet eller svak norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet. I disse tilfellene vil fagmannen med vanlig kunnskap på området erkjenne at slike forbindelser fremdeles har anvendelse som primært enten en NET-inhibitor eller henholdsvis en SERT-inhibitor, eller vil ha anvendelse som forskningsverktøy.

Eksempler på analyser for å bestemme den serotonin- og/eller norepinefringjenopptaksinhiberende aktiviteten for forbindelser ifølge oppfinnelsen inkluderer som illustra-

sjon, uten begrensning, analyser som måler SERT- og NET-binding, for eksempel som beskrevet i analyse 1. I tillegg er det nyttig å forstå nivået av DAT-binding og opptak i en analyse som det som er beskrevet i analyse 1. Brukbare sekundæranalyser inkluderer neurotransmitteropptaksanalyser for å måle konkurranseinhivering av serotonin- og norepinefrinopptak i celler som uttrykker den respektive humane eller rotte-rekombinante transportør (hSERT, hNET eller hDAT) som beskrevet i analyse 2, og *ex vivo* radioligandbinding og neurotransmitteropptaksanalyser som benyttes for å bestemme *in vivo*-okkupansen av SERT, NET og DAT i vev som beskrevet i analyse 3. Andre analyser som er nyttige for å evaluere farmakologiske egenskaper for testforbindelser inkluderer de som er angitt i analyse 4. Eksempler på *in vivo*-analyser inkluderer formalinpotetesten som beskrevet i analyse 5, som er en pålitelig prediktor for klinisk effektivitet for behandling av nevropatisk smerte, og spinalnerveligeringsmodellen som beskrevet i analyse 6. De ovenfor nevnte analysene er nyttige med henblikk på å bestemme den terapeutiske nytten, for eksempel den nevropatiske smertelindringsaktiviteten for forbindelser ifølge oppfinnelsen. Andre egenskaper og nytter for forbindelser ifølge oppfinnelsen kan påvises ved bruk av forskjellige *in vitro*- og *in vivo*-analyser som er velkjente for fagfolk på området.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen er ventet å være nyttige for behandling og/eller prevensjon av medisinske tilstander der regulering av monoamintransportørfunksjonen er implisert, særlig de tilstander som medieres av eller er ansvarlig for inhibering av serotonin- og norepinefrinopptak. Således er det ventet at pasienter som lider av en sykdom eller forstyrrelse som behandles ved inhibering av serotonin- og/eller norepinefrintransportøren kan behandles ved administrering av en terapeutisk effektiv mengde av en serotonin- og norepinefrinopptaksinhibitor ifølge oppfinnelsen. Slike medisinske tilstander inkluderer som eksempel: smerteforstyrrelser som nevropatisk smerte, fibromyalgi, og kronisk smerte; depressive forstyrrelser som tung depresjon; affektive forstyrrelser som en angstforstyrrelse; ADHD; kognitive forstyrrelser som demens; stressurinærinkontinens; kronisk korsryggsmerte; og osteoartritt.

Mengden aktivt middel som administreres per dose eller den totale dosen som administreres per dag, kan bestemmes på forhånd eller kan bestemmes på individuell pasientbasis ved å ta med i betraktning tallrike faktorer inkludert art og alvor av pasientens tilstand, tilstanden som behandles, pasientens alder, vekt og generelle helse, pasientens toleranse overfor det aktive midlet, administreringsveien, farmakologiske betraktninger som aktivitet, effektivitet, farmakokinetikk og toksikologi for det aktive midlet, og også for eventuelle sekundærmidler som administreres, og liknende. Behandling av en pasient som lider av en sykdom eller en medisinsk tilstand (som nev-

ropatisk smerte) kan starte med en på forhånd bestemt dose eller en dose som bestemmes av den behandlende legen, og vil fortsette i et tidsrom som er nødvendig for å forhindre, forbedre, undertrykke eller lindre symptomene for sykdommen eller den medisinske tilstanden. Pasienten som undergår slik behandling, vil typisk følges på

5 rutinebasis for å bestemme effektiviteten for terapien. Ved behandling av nevropatisk smerte kan for eksempel et mål på behandlingens effektivitet involvere bedømmelse av pasientens livskvalitet, for eksempel forbedringer i pasientens sovemønstre, arbeidsoppmerksomhet, tjeningssevne og muligheten for å være ambulatorisk, osv. Smerteskalaer som arbeider på poengbasis kan også benyttes for å understøtte evaluering av en pasients smertenivå. Indikatorer for de andre sykdommene og tilstandene som er beskrevet her er alle velkjente for fagfolk på området og er lett tilgjengelige for den behandlende legen. Kontinuerlig overvåking fra legens side vil sikre at den optimale mengden aktivt middel vil administreres til ethvert gitt tidsrom og vil videre

10 lette bestemmelsen av behandlingens varighet. Dette er av spesiell verdi der sekundærmedler også administreres da deres valg, dosering og terapivarighet også kan kreve justering. På denne måten kan behandlingsregimet og doseringsopplegget justeres i løpet av terapien slik at den lavest mulige mengden aktivt middel som viser den ønskede effektivitet administreres, og videre at administreringen fortsetter kun så lenge det er nødvendig for med hell å behandle sykdommen eller den medisinske tilstanden.

20 den.

Smerteforstyrrelser

SNRI-er er påvist å ha en fordelaktig virkning på smerte som smertefull diabetisk nevropati (duloksetin, Goldstein et al. (2005) Pain 116:109-118; venlafaksin, Rowbotham et al. (2004) Pain 110:697-706), fibromyalgi (duloksetin, Russell et al. (2008) Pain

25 136(3):432-444; milnacipran, Vitton et al (2004) Human Psychopharmacology 19: s. 27-35), og migrene (venlafaksin, Ozyalcin et al. (2005) Headache 45(2):144-152). Således finner en utførelsesform av oppfinnelsen nytte i en metode for behandling av en smerteforstyrrelse, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Typisk vil den terapeutisk effektive mengden være den mengden som er tilstrekkelig til å lindre smerten. Eksempler på smerteforstyrrelser inkluderer som illustrasjon akutt smerte, persistent smerte, kronisk smerte, inflammatorisk smerte og nevropatisk smerte. Mer spesifikt inkluderer disse smerte assosiert med eller forårsaket av: artritt; ryggsmerte inkludert korsryggsmerte; cancer inkludert tumorrelatert smerte (f.eks. beinsmerte, hodepine, ansikts-

35 smerte eller visceral smerte) og smerte assosiert med cancerterapi (f.eks. post-kjemoterapisyndrom, kronisk post-kirurgisk smertesyndrom og post-strålingsyndrom); karpaltunnelsyndrom; fibromyalgi; hodepiner inkludert kronisk spennings-

hodepiner; inflammasjon assosiert med polymyalgi, reumatoid artritt og osteoartritt; migrene; nevropatisk smerte inkludert kompleksregionalt smertesyndrom; total smerte; postoperativ smerte; skuldersmerte; sentralsmertesyndromer, inkludert post-slag smerte og smerte assosiert med spinalstrengskader og multippel sklerose; fantom-

5 lemsmerte; smerte assosiert med Parkinsons sykdom; og visceral smerte (f.eks. irritabelt tarmsyndrom). Av spesiell interesse er behandlingen av nevropatisk smerte som inkluderer diabetisk perifer nevropati (DPN), HIV-relatert nevropati, post-herpetisk neuralgi (PHN) og kjemoterapi-indusert perifer nevropati. Benyttet for å behandle

10 smerteforstyrrelser som nevropatisk smerte kan forbindelser ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler inkludert anti-konvulsiva, anti-depressiva, muskelrelaksanter, NSAID-er, opioidagonister, opioidantagonister, selektive serotoningjenopptaksinhibitorer, natriumkanalblokkere og sympatolytika. Eksempler på forbindelser innen disse klassene er beskrevet her.

Depressive forstyrrelser

15 En annen utførelsesform av oppfinnelsen finner nytte i en fremgangsmåte for behandling av en depressiv forstyrrelse, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Typisk vil den terapeutisk effektive mengden være en mengde som er tilstrekkelig til å lindre depresjon og tilveiebringe en følelse av generelt velvære. Eksempler på depressive forstyrrelser

20 inkluderer som ikke-begrensede eksempler: depresjon assosiert med Alzheimers sykdom, bipolar forstyrrelse, cancer, barnemisbruk, infertilitet, Parkinsons sykdom, postmyokardialt infarkt og psykose; dystymi; irritabelt gammelmannsyndrom; induert depresjon; tung depresjon; pediatrik depresjon; postmenopausal depresjon; postpartumdepresjon; rekurrent depresjon; enkelepisodedepresjon; og subsyndromal symptomatisk depresjon. Av spesiell interesse er behandlingen av tung depresjon. Benyttet for å behandle depressive forstyrrelser kan forbindelser ifølge oppfinnelsen

25 administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler, inkludert antidepressiva og dualserotonin-norepinefringjenopptaksinhibitorer. Eksempler på forbindelser innen disse klasene er beskrevet her.

Affektive forstyrrelser

30 En annen utførelsesform av oppfinnelsen finner anvendelse ved en fremgangsmåte for behandling av en affektiv forstyrrelse, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Eksempler på affektive forstyrrelser inkluderer som illustrasjon og uten begrensning: angstforstyrrelser

35 som generell angstforstyrrelse; unnvikende personlighetsforstyrrelse; spiseforstyrrelser som anoreksia nervosa, bulimia nervosa og fedme; obsessiv-kompulsiv forstyrrel-

se; panisk forstyrrelse; personlighetsforstyrrelser som unnvikende personlighetsforstyrrelse og ADHD; posttraumatisk stressyndrom; fobier som agorafobi, så vel som enkle og andre spesifikke fobier, og sosial fobi; premenstruelt syndrom; psykotiske forstyrrelser som schizofreni og mani; sesongaffektiv forstyrrelse; seksuell dys-

5 funksjon, inkludert prematur ejakulasjon, mannlig impotens og kvinnelig seksuell dysfunksjon som kvinnelig seksuell pirringsforstyrrelse; sosial angstforstyrrelse; og stoffmisbruksforstyrrelser inkludert kjemiske avhengigheter som addiksjon til alkohol, benzodiazepiner, kokain, heroin, nikotin og fenobarbital, så vel som avvenningssyndromer som kan oppstå etter slike avhengigheter. Under anvendelse for å behandle

10 affektive forstyrrelser kan forbindelser ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler inkludert antidepressiva. Eksempler på forbindelser innen disse klassene er beskrevet her.

Atomoksetin, som er 10-ganger NET selektiv, er godkjent for terapi mot ADHD og kliniske studier har vist at SNRI, venlafaksin, også kan ha fordelaktige effekter ved be-

15 handling av ADHD (Mukaddes et al. (2002) Eur. Neuropsychopharm. 12(Supp 3):421). Således er forbindelsene ifølge oppfinnelsen ventet å være nyttige i metoder for å behandle ADHD-forstyrrelser ved administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Benyttet for å behandle depresjon, kan

20 forbindelser ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler, inkludert antidepressiva. Eksempler på forbindelser innen disse klassene er beskrevet her.

Kognitive forstyrrelser

En annen utførelsesform av oppfinnelsen finner anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av en kognitiv forstyrrelse, omfattende administrering til en pasient av en

25 terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Eksempler på kognitive forstyrrelser inkluderer, som ikke-begrensede illustrasjoner: demens som inkluderer degenerativ demens (f.eks. Alzheimers sykdom, Creutzfeldt-Jakobs sykdom, Huntingtons korea, Parkinsons sykdom, Picks sykdom og senil demens), vaskulær demens (f.eks. multi-infarkt demens), og demens assosiert med intrakraniale rom-

30 okupperende lesjoner, traumer, infeksjoner og relaterte tilstander (inkludert HIV-infeksjon), metabolisme, toksiner, anoksi og vitaminmangel; og mild kognitiv forringelse assosiert med aldring, som aldersassosiert hukommelsesforringelse, amnesial forstyrrelse og aldersrelatert kognitiv reduksjon. Ved anvendelse for å behandle kognitive forstyrrelser kan forbindelser ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med

35 andre terapeutiske midler, inkludert anti-Alzheimers midler og anti-Parkinsons midler. Eksempler på forbindelser innen disse klassene er beskrevet her.

Andre forstyrrelser

SNRI-er har også vært påvist å være effektive for behandling av stressurinærinkontinens (Dmochowski (2003) Journal of Urology 170(4): 1259-1263). Således finner en ytterligere utførelsesform av oppfinnelsen anvendelse i en fremgangsmåte for å be-
5 handle stressurinærinkontinens, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Anvendt for å behandle stressurinærinkontinens kan forbindelser ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre terapeutiske midler, inkludert antikonvulsiva. Eksempler på forbindelser innen disse klassene er beskrevet her.

10 Duloksetin, en SNRI, undergår for tiden kliniske prøver for evaluering av effektivitet ved behandling av kronisk tretthetssyndrom og er nylig påvist å være effektiv ved behandling av fibromyalgi (Russell et al. (2008) Pain 136(3):432-444). Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er, på grunn av evnen til å inhibere SERT og NET, også ventet å ha denne evnen og en annen utførelsesform av oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for
15 behandling av kronisk tretthetssyndrom, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

Sibutramin, en norepinefrin- og dopamingjenopptaksinhibitor, har vist seg å være nyttig ved behandling av fedme (Wirth et al. (2001) JAMA 286(11): 1331-1339). Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er, på grunn av evnen til å inhibere NET, også ventet å ha
20 denne evnen, og en annen utførelsesform av oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for behandling av fedme, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

Desvenlafaksin, en SNRI, er påvist å lindre vasomotorsymptomer assosiert med menopausen (Deecher et al. (2007) Endocrinology 148(3):1376-1383). Forbindelsene
25 ifølge oppfinnelsen er, på grunn av evnen til å inhibere SERT og NET, også ventet å ha denne evnen, og en ytterligere utførelsesform av oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for behandling av vasomotorsymptomer assosiert med menopausen, omfattende administrering til en pasient av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

Forskningsverktøy

Fordi forbindelser ifølge oppfinnelsen har både serotoningjenopptaksinhiberingsaktivitet og norepinefringjenopptaksinhiberingsaktivitet, er slike forbindelser også nyttige som forskningsverktøy for å undersøke eller studere biologiske systemer eller prøver som har serotonin- eller norepinefrintransportører. Ethvert egnet biologisk system
35 eller en tilsvarende prøve med serotonin- og/eller norepinefrintransportører kan be-

nyttes i slike studier som kan gjennomføres enten *in vitro* eller *in vivo*. Representative, biologiske systemer eller prøver som er egnet for slike studier inkluderer, men er ikke begrenset til, celler, celleekstrakter, plasmamembraner, vevsprøver, isolerte organer, pattedyr (som mus, rotter, marsvin, kaniner, hunder, svin, mennesker og så videre), og liknende, der pattedyret er av spesiell interesse. I en spesiell utførelsesform av oppfinnelsen blir serotoningjenopptaket i et pattedyr inhibert ved administrering av en serotoningjenopptaksinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. I en annen, spesiell utførelsesform, blir norepinefringjenopptaket i et pattedyr inhibert ved administrering av en norepinefringjenopptaksinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også benyttes som forskningsverktøy ved å gjennomføre biologiske analyser ved bruk av slike forbindelser.

Ved anvendelse som et forskningsverktøy blir et biologisk system eller en prøve omfattende en serotonintransportør og/eller en norepinefrintransportør typisk brakt i kontakt med en serotoningjenopptaksinhiberende eller norepinefringjenopptaksinhiberende mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Etter at det biologiske systemet eller prøven er eksponert til forbindelsen blir effektene av inhibering av serotoningjenopptak og/eller norepinefringjenopptak bestemt ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og utstyr. Eksponering omfatter å bringe cellene eller vevet i kontakt med forbindelsen, administrering av forbindelsen til et pattedyr, for eksempel ved i.p.- eller i.v. administrering, og så videre. Bestemmelsestrinnet kan omfatte måling av en respons, dvs. en kvantitativ analyse, eller kan omfatte en observasjon, dvs. en kvalitativ analyse. Måling av en respons involverer for eksempel bestemmelse av effektene av forbindelsen på det biologiske systemet eller prøve, ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og utstyr, som serotonin- og norepinefringjenopptaksanalyser. Analyseresultatene kan benyttes for å bestemme aktivitetsnivået så vel som den mengden av forbindelse som er nødvendig for å oppnå det ønskede resultatet, dvs. en serotoningjenopptaksinhiberende og en norepinefringjenopptaksinhiberende mengde.

I tillegg kan forbindelser ifølge oppfinnelsen benyttes som forskningsverktøy for å evaluere andre kjemiske forbindelser, og er således nyttig i screeningsanalyser for å finne for eksempel nye forbindelser med både serotoningjenopptaksinhiberende aktivitet og norepinefringjenopptaksinhiberende aktivitet. På denne måten blir forbindelser ifølge oppfinnelsen benyttet som standarder i en analyse for å tillate sammenlikning av resultatene som oppnås med en testforbindelse og med forbindelser ifølge oppfinnelsen for å identifisere de testforbindelsene som har omtrent lik eller høyere gjenopptaksinhiberende aktivitet, hvis over hodet. For eksempel blir gjenopptaksdata for en testfor-

bindelse eller en gruppe testforbindelser sammenliknet med gjenopptaksdata for en forbindelse ifølge oppfinnelsen for å identifisere de testforbindelsene som har de ønskede egenskapene, f.eks. testforbindelser med gjenopptaksinhiberende aktivitet som er omtrent lik eller overlegen en forbindelse ifølge oppfinnelsen, hvis over hodet. Dette aspektet ved oppfinnelsen inkluderer, som separate utførelsesformer, både genereringen av sammenlikningsdata (ved bruk av de egnede analysene) og analysen av disse testdataene for å identifisere testforbindelser av interesse. Således kan en testforbindelse evalueres i en biologisk analyse, ved en metode som omfatter trinnene (a) å gjennomføre en biologisk analyse med en testforbindelse for å tilveiebringe en første analyseverdi; (b) å gjennomføre den biologiske analysen med en forbindelse ifølge oppfinnelsen for å tilveiebringe en andre analyseverdi; der trinn (a) gjennomføres enten før, etter eller samtidig med trinn (b); og (c) sammenlikning av den første analyseverdi fra trinn (a) med den andre analyseverdi fra trinn (b). Eksempler på biologiske analyser inkluderer serotonin- og norepinefringjenopptaksanalyser.

15 FARMASØYTISKE PREPARATER OG FORMULERINGER

Forbindelser ifølge oppfinnelsen blir typisk administrert til en pasient i form av et farmasøytisk preparat eller en formulering. Slike farmasøytiske preparater kan administreres til pasienten på en hvilken som helst akseptabel administreringsvei inkludert, men ikke begrenset til, oral, rektal, vaginal, nasal, inhalasjons-, topisk (inkludert transdermal) og parenteral administrering. Videre kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen administreres for eksempel oralt, i flere doser per dag (f.eks. to, tre eller fire ganger daglig), i en enkelt daglig dose, i to daglige doser, i en enkelt ukentlig dose, og så videre. Det skal være klart at enhver form av forbindelsene ifølge oppfinnelsen (dvs. fri base, farmasøytisk akseptabelt salt, solvat, osv.) som er egnet for den spesielle administreringsvei, kan benyttes i de farmasøytiske preparatene som diskuteres her.

I henhold til dette og i en utførelsesform angår oppfinnelsen et farmasøytisk preparat omfattende en farmasøytisk akseptabel bærer og en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Preparatene kan inneholde andre terapeutiske og/eller formuleringmidler hvis ønskelig. Når man diskuterer preparater kan "oppfinnelsens forbindelse" også angis som det "aktive midlet" for å skille den fra andre komponenter i formuleringen, som bæreren. Således skal det være klart at uttrykket "aktivt middel" eller tilsvarende inkluderer forbindelser med formel I så vel som farmasøytisk akseptable salter og solvater av denne forbindelsen.

35 Farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen inneholder typisk en terapeutisk effektiv

mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Fagmannen på området vil imidlertid erkjenne at et farmasøytisk preparat kan inneholde mer enn en terapeutisk effektiv mengde, dvs. bulkpreparater, eller mindre enn en terapeutisk effektiv mengde, dvs. individuelle enhetsdoser ment for multippel administrering for å oppnå en terapeutisk effektiv mengde. Typisk vil preparatet inneholde fra 0,01-95 vektprosent aktivt middel, inkludert fra rundt 0,01-30 vektprosent, for eksempel fra rundt 0,01-10 vektprosent, der den reelle mengden avhenger av selve formuleringen, administreringsveien, doseringsfrekvensen og så videre. I en utførelsesform kan for eksempel et preparat som er egnet for en oral doseringsform for eksempel inneholde fra 5-70 vektprosent, eller fra rundt 10-60 vektprosent aktivt middel. I et eksempel på en utførelsesform inneholder et farmasøytisk preparat fra rundt 1 til 20 mg aktivt middel, inkludert fra rundt 1 til 15 mg aktivt middel og fra rundt 1 til 10 mg aktivt middel. I et annet eksempel på en utførelsesform inneholder et farmasøytisk preparat fra rundt 5 til 20 mg aktivt middel, inkludert fra rundt 7,5 til 15 mg aktivt middel. For eksempel kan det aktive midlet formuleres i enhetsdoser på 1 mg og 10 mg.

En hvilken som helst konvensjonell bærer eller eksipient kan benyttes i oppfinnelsens farmasøytiske preparater. Valget av spesiell bærer eller eksipient, eller kombinasjoner av bærere eller eksipienter, vil avhenge av administreringsveien som benyttes for å behandle en spesiell pasient eller en type medisinsk tilstand eller sykdomstilstand. I denne forbindelse ligger fremstillingen av et egnet preparat for en spesiell administreringsmodul godt innenfor kunnskapsområdet for fagfolk på det farmasøytiske området. I tillegg er bærere eller eksipienter som benyttes i slike preparater kommersielt tilgjengelige. Som ytterligere illustrasjon er konvensjonelle formuleringsteknikker beskrevet hos: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20. utgave, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); og H. C. Ansel et al, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7. utgave, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Representative eksempler på materialer som kan tjene som farmasøytisk akseptable bærere, inkluderer, men er ikke begrenset til, de følgende: sukre som laktose, glukose og sukrose; stivelser som mais- og potetstivelse; cellulose som mikrokrySTALLINSK cellulose og derivater derav, som natriumkarboksymetylcellulose, etylcellulose og celluloseacetat; pulverformig tragakant; malt; gelatin; talkum; eksipienter som kakaosmør og suppositorievoks; oljer som jordnøtt-, bomullsfrø-, safran-, sesam-, oliven-, mais- og soyabønneolje; glykoler som propylenglykol; polyoler som glyserin, sorbitol, manitol og polyetylglykol; estere som etyloleat og etyllaurat; agar; buffermidler som magnesiumhydroksid og aluminiumhydroksid; alginsyre; pyrogenfritt vann; isotonisk

saltoppløsning; Ringers oppløsning; etylalkohol; fosfatbufferoppløsninger; komprimerte drivgasser som klorfluorkarboner og hydrofluorkarboner; og andre, ikke-toksiske og kompatible stoffer som benyttes i farmasøytiske preparater.

5 Farmasøytiske preparater blir typisk fremstilt ved grundig og intim blanding eller miksing av det aktive midlet med en farmasøytisk akseptabel bærer og én eller flere valgfrie bestanddeler. Den resulterende, enhetlige blandede blandingen kan så formes eller fylles til tabletter, kapsler, piller, beholdere, patroner, dispensere og liknende ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og utstyr.

10 I en utførelsesform er de farmasøytiske preparatene egnet for oral administrering. Et eksempel på et doseringsregime vil være en oral doseringsform som administreres én eller to ganger daglig. Egnede preparater for oral administrering kan foreligge i form av kapsler, tabletter, piller, pastiller, poser, drasjeer, pulvere eller granuler; oppløsninger eller suspensjoner i en vandig eller ikke-vandig væske; flytende olje-i-vann- eller vann-i-olje-emulsjoner; eliksirer eller siruper; og liknende; der hver inneholder 15 en på forhånd bestemt mengden av det aktive midlet.

Når det er ment for oral administrering i en fast doseringsform (dvs. som kapsler, tabletter, piller og liknende) vil preparatet typisk omfatte det aktive midlet og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere som natriumcitrat eller dikalsiumfosfat. Faste doseringsformer kan også omfatte: fyllstoffer eller drøyemidler som stivelses, mikro- 20 krystallinsk cellulose, laktose, sukrose, glukose, mannitol og/eller silisiumsyre; binde- midler som karboksymetylcellulose, alginater, gelatin, polyvinylpyrrolidon, sukrose og/eller akasia; fuktere som glyserol; desintegreringsmidler som agar-agar, kalsiumkarbonat, potet- eller tapiokastivelse, alginsyre, visse silikater, og/eller natriumkarbonat; oppløsningsforsinkende midler som parafin; absorpsjonsakseleratorer som kva- 25 ternære ammoniumforbindelser, fuktemidler som acetylalkohol og/eller glyserolmonostearat; absorbenter som kaolin- og/eller bentonittleire; smøremidler som talkum, kalsiumstearat, magnesiumstearat, faste polyetylenglykoler, natriumlaurylsulfat og/eller blandinger derav; fargestoffer; og buffermidler.

30 Friggjøringsmidler, fuktemidler, beleggmidler, søtnere, smaksstoffer og duftstoffer, serveringsmidler og antioksidanter kan også være til stede i de farmasøytiske preparatene. Eksempler på beleggmidler for tabletter, kapsler, piller og liknende inkluderer de som benyttes for enteriske belegg, som celluloseacetatftalat, polyvinylacetatftalat, hydroksypropylmetylcelluloseftalat, metakrylsyremetakrylsyreesterkopolymerer, celluloseacetattrimellitat, karboksymetyletylcellulose, hydroksypropylmetylcelluloseace- 35 tatsuksinat og likende. Eksempler på farmasøytisk akseptable antioksidanter inklude-

rer: vannoppløselige antioksidanter som askorbinsyre, cysteinhydroklorid, natriumbisulfat, natriummetabisulfat, natriumsulfitt og liknende; oljeoppløselige antioksidanter som askorbylpalmitat, butylert hydroksyanisol, butylert hydroksytoluen, lecitin, propylgallat, α -tokoferol og liknende; og metallgelaterende midler som sitronsyre, etylen-
5 diamintetraeddiksyre, sorbitol, vinsyre, fosforsyre og liknende.

Preparater kan også formuleres for å gi langsom eller kontrollert frigjøring av det aktive midlet, ved for eksempel å benytte hydroksypropylmetylcellulose i varierende andeler eller andre polymermatrikser, liposomer og/eller mikrosfærer. I tillegg kan de farmasøytiske preparatene ifølge oppfinnelsen inneholde opasitetsmidler og kan for-
10 muleres slik at de frigir det aktive midlet kun eller fortrinnsvis i visse deler av fordøyelseskanalen, eventuelt på forsinket måte. Eksempler på omhylling av preparater som kan benyttes, inkluderer polymerstoffer og voks. Det aktive midlet kan også foreligge i mikroinnkapslet form, hvis hensiktsmessig med én eller flere av de ovenfor beskrevne eksipientene.

15 Egnede, flytende doseringsformer for oral administrering inkluderer som illustrasjon farmasøytisk akseptable emulsjoner, mikroemulsjoner, oppløsninger, suspensjoner, siruper og eliksirer. Flytende doseringsformer omfatter typisk det aktive midlet og en inert diluent som for eksempel vann eller andre solventer, oppløseliggjørende midler og emulgatorer, som etylalkohol, isopropylalkohol, etylkarbonat, etylacetat, benzylal-
20 kohol, benzylbenzoat, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, oljer (f.eks. bomullsfrø-, jordnøtt-, mais-, germ-, oliven-, ricinus- og sesamoljer), glyserol, tetrahydrofurylalkohol, polyetylenglykoler og fettsyreestere av sorbitan, og blandinger derav. Suspensjoner kan inneholde suspenderingsmidler som for eksempel etoksylerede isostearylalkoholer, polyoksyetylenorbitol og sorbitanestere, mikrokrystallinsk cellulose,
25 aluminiummetahydroksid, bentonitt, agar-agar og tragakant og blandinger derav.

Når de er ment for oral administrering, kan de farmasøytiske preparatene ifølge oppfinnelsen pakkes i en enhetsdoseform. Uttrykket "enhetsdoseform" henviser til en fysisk diskret enhet som er egnet for dosering til en pasient, dvs. hver enhet inneholder en på forhånd bestemt mengde av det aktive midlet beregnet for å gi den ønskede,
30 terapeutiske effekten, enten alene eller i kombinasjon med én eller flere ytterligere enheter. For eksempel kan slike enhetsdoseformer være kapsler, tablett, piller og liknende.

I en ytterligere utførelsesform er preparatene ifølge oppfinnelsen egnet for inhalert administrering og vil typisk foreligge i form av en aerosol eller et pulver. Slike preparater blir generelt administrert ved bruk av velkjente avleveringsinnretninger som for-
35

støvere, tørrpulverdispensere eller tilmålte doseinhalatorer. Forstøverinnretninger gir en strøm av høyhastighetsluft som forårsaker at preparatet sprøytes som en tåke som bæres inn i pasientens luftveier. Et eksempel på en forstøverformulering omfatter det aktive midlet oppløst i en bærer for å gi en oppløsning, eller mikronisert og kombinert med en bærer for å gi en suspensjon av mikroniserte partikler av inhalerbar størrelse. Tørrpulverinhalatorer avgir det aktive midlet som et frittrislende pulver som dispergeres i pasientens luftstrøm under innånding. Et eksempel på tørrpulverformulering omfatter det aktive midlet tørrblandet med en eksipient som laktose, stivelse, mannitol, dekstrose, polymelkesyre, polylaktidkoglykolid og kombinasjoner derav. Inhalatorer for tilmålt dose avgir en tilmålt mengde av det aktive midlet ved bruk av en komprimert drivgass. Et eksempel på formulering med tilmålt dose omfatter en oppløsning eller suspensjon av det aktive midlet i et flytendegjort drivmiddel som klorfluorkarbon eller hydrofluoralkan. Eventuelle komponenter for slike formuleringer inkluderer medoppløsningsmidler som etanol eller pentan, og surfaktanter som sorbitantrioleat, oljesyre, lecitin og glyserin. Slike preparater fremstilles typisk ved tilsetning av avkjølt eller trykksatt hydrofluoralkan til en egnet beholder inneholdende den aktive bestanddelen, etanol (hvis til stede) og surfaktanten (hvis til stede). For å fremstille en suspensjon blir det aktive midlet mikronisert og så kombinert med drivmidlet. Alternativt kan en suspensjonsformulering fremstilles ved spraytørrking av et belegg av surfaktant på mikroniserte partikler av det aktive midlet. Formuleringen ble så fylt i en aerosolbeholder som utgjør en del av inhalatoren.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også administreres parenteralt (f.eks. ved subkutan, intravenøs, intramuskulær eller intraperitoneal injeksjon). For slik administrering blir det aktive midlet tilveiebrakt i en steril oppløsning, suspensjon eller emulsjon. Eksempler på oppløsningsmidler for fremstilling av slike formuleringer inkluderer vann, saltoppløsning, lavmolekylvektsalkoholer som propylenglykol, polyetylenglykol, oljer, gelatin, fettsyreestere som etyloleat og liknende. En typisk parenteral formulering er en steril vandig oppløsning med pH-verdi 4-7, av det aktive midlet. Parenterale formuleringer kan også inneholde én eller flere oppløseliggjørere, stabilisatorer, preserveringsmidler, fuktemidler, emulgatorer og dispergatorer. Disse formuleringene kan gjøres sterile ved bruk av et sterilt, injiserbart medium, et steriliseringsmiddel, ved filtrering, bestråling eller oppvarming.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan også administreres transdermalt ved bruk av kjente transdermale avleveringssystemer og eksipienter. For eksempel kan forbindelsen administreres med permeeringsforsterkere som propylenglykol, polyetylenglykolmonolaurat, azasykloalkan-2-oner og liknende, og innarbeides i en pute eller et tilsva-

rende avleveringssystem. Ytterligere eksipienter inkluderer geldannelsesmidler, emulgatorer og buffere, som kan benyttes i slike transdermale preparater, hvis dette er ønskelig.

Hvis ønskelig kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med ett eller flere andre terapeutiske midler. I en utførelsesform kan således preparatene ifølge oppfinnelsen eventuelt inneholde andre medikamenter som ko-administreres med en forbindelse ifølge oppfinnelsen. For eksempel kan preparatet videre omfatte ett eller flere medikamenter (også angitt som "ett eller flere sekundærmidler") valgt fra gruppen anti-Alzheimersmidler, antikonvulsiva (antiepileptika), antidepressiva som anti-Parkinsonsmidler, dual serotonin-norepinefringjenopptaksinhibitorer (SNRI-er), ikke-steroidiske anti-inflammatoriske midler (NSAID-er), norepinefringjenopptaksinhibitorer, opioidagonister (opioidanalgetika), opioidantagonister, selektive serotonin-gjenopptaksinhibitorer, natriumkanalblokkere, sympatolytika og kombinasjoner derav. Tallrike eksempler på slike terapeutiske midler er velkjente i denne teknikk, og eksempler er beskrevet her. Ved å kombinere en forbindelse ifølge oppfinnelsen med et sekundærmiddel kan en trippelterapi oppnås, dvs. serotoningjenopptaksinhibitorisk aktivitet, norepinefringjenopptaksinhibitorisk aktivitet og aktivitet assosiert med sekundærmidlet (f.eks. anti-depressiv aktivitet), ved bruk av kun to aktive komponenter. Fordi farmasøytiske preparater som inneholder to aktive komponenter typisk er lettere å formulere enn preparater inneholdende tre aktive komponenter, gir slike to-komponentpreparater en betydelig fordel i forhold til preparater inneholdende tre aktive komponenter. I henhold til dette, og ved et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen, omfatter et farmasøytisk preparat en forbindelse ifølge oppfinnelsen, et andre aktivt middel og en farmasøytisk akseptabel bærer. Tredje, fjerde osv. aktive midler kan også innarbeides i preparatet. Ved kombinasjonsterapi kan mengden forbindelse ifølge oppfinnelsen som administreres, så vel som mengden sekundærmidler, være mindre enn den mengden som typisk administreres ved monoterapi.

En forbindelse ifølge oppfinnelsen kan enten fysisk blandes med det andre aktive middel for å gi et preparat inneholdende begge midlene; eller hvert middel kan være til stede i separate og distinkte preparater som administreres samtidig eller sekvensielt til pasienten. For eksempel kan en forbindelse ifølge oppfinnelsen kombineres med et andre aktivt middel ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og utstyr for å gi en kombinasjon av aktive midler omfattende en forbindelse ifølge oppfinnelsen og et andre, aktivt middel. I tillegg kan de aktive midlene kombineres med en farmasøytisk akseptabel bærer for å gi et farmasøytisk preparat omfattende en forbindelse ifølge oppfinnelsen, et andre aktivt middel og en farmasøytisk akseptabel bærer. I denne utførel-

sesformen blir komponentene i preparatet typisk blandet eller mikset for å gi en fysisk blanding. Denne fysiske blandingen blir så administrert i en terapeutisk effektiv mengde ved bruk av en hvilken som helst av de her beskrevne administreringsveiene.

Alternativt kan de aktive midlene forbli separate og distinkte før administrering til pasienten. I denne utførelsesformen blir midlene ikke fysisk blandet sammen før administrering, men administrert samtidig eller til separate tidsrom som separate preparater. Slike preparater kan pakkes separat eller kan pakkes sammen i et sett. Hvis de administreres til separate tidsrom, vil sekundærmidlet typisk administreres mindre enn 24 timer etter administrering av forbindelsen ifølge oppfinnelsen og på et hvilket som helst tidspunkt fra samtidig med administrering av forbindelsen ifølge oppfinnelsen til rundt 24 timer etter denne dosen. Dette angis også som sekvensiell administrering. Således kan en forbindelse ifølge oppfinnelsen administreres oralt samtidig eller sekvensielt med et annet aktivt middel ved bruk av to tabletter med én tablett for hvert aktive middel, der sekvensielt kan bety administrering umiddelbart etter administrering av forbindelsen ifølge oppfinnelsen eller til et hvilket som helst på forhånd bestemt tidspunkt senere (f.eks. én time senere eller tre timer senere). Alternativt kan kombinasjonen administreres via forskjellige administreringsveier, dvs. en oralt og en annen ved inhalering.

I en utførelsesform omfatter settet en første doseringsform omfattende en forbindelse ifølge oppfinnelsen og minst én ytterligere doseringsform omfattende ett eller flere sekundærmidler som angitt her, i mengder tilstrekkelig til å gjennomføre oppfinnelsens fremgangsmåter. Den første doseringsformen og den andre (eller tredje, osv.) doseringsformen omfatter sammen en terapeutisk effektiv mengde av aktive midler for behandling eller prevensjon av en sykdom eller en medisinsk tilstand hos en pasient.

Ett eller flere sekundærmidler, er, hvis de innarbeides, til stede i en terapeutisk effektiv mengde, dvs. at de typisk administreres i en mengde som gir en terapeutisk fordelaktig effekt når de ko-administreres med en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Sekundærmidlet kan foreligge i form av et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat, eventuelt ren stereoisomer og så videre. Således er sekundærmidlene som er oppsummert nedenfor, ment å inkludere alle slike former og er kommersielt tilgjengelige eller kan fremstilles ved bruk av konvensjonelle prosedyrer og reagenser.

Representative anti-Alzheimers-midler inkluderer, men er ikke begrenset til: donepezil, galantamin, memantin, rivastigmin, selegilin, takrin og kombinasjoner derav.

Representative antikonvulsanter (antiepilektika) inkluderer, men er ikke begrenset til: acetazolamid, albutoin, 4-amino-3-hydroksysmørsyre, beklamid, karbamazepin, cinromid, klometiazol, klonazepam, diazepam, dimetadion, eterobarb, etadion, etosuksimid, etotoin, felbamat, fosfenytoin, gabapentin, lakosamid, lamotrigin, lorazepam, 5 magnesiumbromid, magnesiumsulfat, mefenytoin, mefobarbital, metsuksimid, midazolam, nitrazepam, oksazepam, okskarbazepin, parametadion, fenacemid, feneturid, fenobarbital, fensuksimid, fenytoin, kaliumbromid, pregabalin, primidon, progabid, natriumbromid, natriumvalproat, sultiam, tiagabin, topiramat, trimetadion, valproinsyre, valpromid, vigabatrin, zonisamid og kombinasjoner derav. I en spesiell utførelses- 10 form er den angjeldende antikonvulsanten valgt blant karbamazepin, gabapentin, pregabalin og kombinasjoner derav.

Representative antidepressiva inkluderer, men er ikke begrenset til: adinazolam, amitriptylin, klomipramin, desipramin, dotiepin (f.eks. dotiepinhydroklorid), doksepin, imipramin, lofepramin, mirtazapin, nortriptylin, protriptylin, trimipramin, venlafaksin, 15 zimelidin og kombinasjoner derav.

Representative anti-Parkinsons-midler inkluderer, men er ikke begrenset til: amantadin, apomorfin, benztropin, bromkriptin, karbidopa, difenhydramin, entakapon, levodopa, pergolid, pramipeksol, ropinirol, selegilin, tolkapon, triheksyfenidyl og kombina- sjoner derav.

20 Representative dualserotonin-norepinefringjenopptaksinhibitorer (SNRI-er) inkluderer, men er ikke begrenset til: bicifadin, desvenlafaksin, duloksetin, milnacipran, nefazodon, venlafaksin og kombinasjoner derav.

Representative ikke-steroide anti-inflammatoriske midler (NSAID-er) inkluderer, men er ikke begrenset til: acemetacin, acetaminofen, acetylsalisylsyre, alclofenac, almi- 25 noprofen, amfenac, amiprilose, amoksiptin, anriolac, apazon, azapropazon, benorilat, benoksaprofen, bezpiperylon, broperamol, bukloksinsyre, karprofen, klidanak, diklofenak, diflunisal, diftalon, enolikam, etodolak, etorikoksib, fenbufen, fenklofenak, fenklozensyre, fenoprofen, fentiazac, feprazon, flufenaminsyre, flufenisal, fluprofen, flurbiprofen, furofenac, ibufenak, ibuprofen, indometacin, indoprofen, isoksepak, isoksikam, ketoprofen, ketorolak, lofemizol, lornoksikam, meklofenamat, meklofena- 30 minsyre, mefenaminsyre, meloksikam, mesalamin, miroprofen, mofebutazon, nabumeton, naproksen, nifluminsyre, nimesulid, nitroflurbiprofen, olsalazin, oksaprozin, oksipinak, oksyfenbutazon, fenylbutazon, piroksikam, pirprofen, pranoprofen, salsalat, sudoksikam, sulfasalazin, sulindak, suprofen, tenoksikam, tiopinak, tiaprofensyre, 35 tioksaprofen, tolfenaminsyre, tolmetin, triflumidat, zidometacin, zomepirac og kombi-

nasjoner derav. I en spesiell utførelsesform er den angjeldende NSAID valgt blant etodolak, flurbiprofen, ibuprofen, indometacin, ketoprofen, ketorolak, meloksikam, naproksen, oksaprozin, piroksikam og kombinasjoner derav. I en spesiell utførelsesform er denne NSAID-en valgt blant ibuprofen, indometacin, nabumeton, naproksen (for eksempel naproksennatrium) og kombinasjoner derav.

Representative muskelrelaksanter inkluderer, men er ikke begrenset til: karisoprodol, klorzoksazon, syklobenzaprin, diflunisal, metaksalon, metokarbamol og kombinasjoner derav.

Representative norepinefringjenopptaksinhibitorer inkluderer, men er ikke begrenset til: atomoksetin, bupropion og bupropionmetabolitten hydroxybupropion, maprotilin, reboksetin (for eksempel (S,S)-reboksetin), viloksazin og kombinasjoner derav. I en spesiell utførelsesform er norepinefringjenopptaksinhibitoren valgt blant atomoksetin, reboksetin og kombinasjoner derav.

Representative opioidagonister (opioidanalgetika) og -antagonister inkluderer, men er ikke begrenset til: buprenorfin, butorfanol, kodein, dihydrokodein, fentanyl, hydrokodon, hydromorfon, levallorfan, levorfanol, meperidin, metadon, morfin, nalbufin, nalmefen, nalorfin, nalokson, naltrekson, nalorfin, oksykodon, oksymorfon, pentazocin, propoksyfen, tramadol og kombinasjoner derav. I visse utførelsesformer er opioidagonisten valgt blant kodein, dihydrokodein, hydrokodon, hydromorfon, morfin, oksykodon, oksymorfon, tramadol og kombinasjoner derav.

Representative selektive serotoningjenopptaksinhibitorer (SSRI-er) inkluderer, men er ikke begrenset til: citalopram og citaloprammetabolitten desmetylcitalopram, dapoksetin, escitalopram (f.eks. escitalopramoksalat), fluoksetin og fluoksetindesmetylm metabolitten norfluoksetin, fluvoksamin (f.eks. fluvoksaminmaleat), paroksetin, sertralin og sertralinmetabolitten demetylsertralin og kombinasjoner derav. I visse utførelsesformer er den angjeldende SSRI-en valgt blant citalopram, paroksetin, sertralin og kombinasjoner derav.

Representative natriumkanalblokkere inkluderer, men er ikke begrenset til: karbamazepin, fosfentoin, lamotrigin, lidokain, meksiletin, okskarbazepin, fenitoin og kombinasjoner derav.

Representative sympatolytika inkluderer, men er ikke begrenset til: atenolol, klonidin, doksazosin, guanetidin, guanfacin, modafinil, fentolamin, prazosin, reserpin, tolazolin (f.eks. tolazolinhydroklorid), tamsulosin og kombinasjoner derav.

De følgende formuleringene illustrerer representative, farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen:

Eksempler på harde gelatinkapsler for oral administrering

En forbindelse ifølge oppfinnelsen (50 g), spraytørket laktose (440 g) og magnesiumstearat (10 g) blandes grundig. Det resulterende preparatet fylles så i harde gelatinkapsler (500 mg preparat per kapsel).

Alternativt blir en forbindelse ifølge oppfinnelsen (20 mg) grundig blandet med stivelse (89 mg), mikrokrySTALLinsk cellulose (89 mg) og magnesiumstearat (2 mg). Blanding-
en føres så gjennom en US sikt mesh nr. 45, og fylles i en hard gelatinkapsel (200 mg preparat per kapsel).

Eksempel på gelatinkapsel-formulering for oral administrering

En forbindelse ifølge oppfinnelsen (100 mg) blandes grundig med polyoksyetylen-sorbitanmonooleat (50 mg) og stivelsespulver (250 mg). Blandingen fylles så i en gelatinkapsel (400 mg preparat per kapsel).

Alternativt blir en forbindelse ifølge oppfinnelsen (40 mg) grundig blandet med mikrokrySTALLinsk cellulose (Avicel PH 103; 259,2 mg) og magnesiumstearat (0,8 mg). Blandingen fylles så i en gelatinkapsel (størrelse #1, hvit, ugjennomsiktig) (300 mg preparat per kapsel).

Eksempel på tablett-formulering for oral administrering

En forbindelse ifølge oppfinnelsen (10 mg), stivelse (45 mg) og mikrokrySTALLinsk cellulose (35 mg) ble ført gjennom en US sikteduk nr. 20 og blandet grundig. De således fremstilte granuler tørkes ved 50-60 °C, og føres gjennom en US sikteduk nr. 16. En oppløsning av polyvinylpyrrolidon (4 mg som en 10 % oppløsning i sterilt vann) blandes med natriumkarboksymetylstivelse (4,5 mg), magnesiumstearat (0,5 mg) og talkum (1 mg), og denne blandingen føres så gjennom en US sikteduk nr. 16. Natriumkarboksymetylstivelsen, magnesiumstearatet og talkumet settes så til granulene. Etter blanding blir blandingen komprimert på en tablettmaskin, og man oppnår en tablett med en vekt på 100 mg.

Alternativt blir en forbindelse ifølge oppfinnelsen (250 mg) grundig blandet med mikrokrySTALLinsk cellulose (400 mg), dampet silisiumdioksid (10 mg), og stearinsyre (5 mg). Blandingen presses så for å danne tabletter (665 mg preparat per tablett).

Alternativt blir en forbindelse ifølge oppfinnelsen (400 mg) grundig blandet med maisstivelse (50 mg), kroskarmellosenatrium (25 mg), laktose (120 mg) og magnesiumstearat (5 mg). Blandingen blir så komprimert for å gi en enkeltspalttablett (600 mg preparat per tablett).

5 *Eksempel på suspensjonsformulering for oral administrering*

De følgende bestanddelene blandes for å gi en suspensjon inneholdende 100 mg aktivt middel per 10 ml suspensjon:

	Bestanddel	Mengde
	Forbindelse ifølge oppfinnelsen	1,0 g
10	Fumarsyre	0,5 g
	Natriumklorid	2,0 g
	Metylparaben	0,15 g
	Propylparaben	0,05 g
	Granulert sukker	25,5 g
15	Sorbitol (70 % oppløsning)	12,85 g
	Veegum [®] K (magnesiumaluminiumsilikat)	1,0 g
	Smaksstoffer	0,035 ml
	Fargestoffer	0,5 mg
	Destillert vann	q.s. til 100 ml

20 *Eksempel på injiserbar formulering for administrering ved injeksjon*

En forbindelse ifølge oppfinnelsen (0,2 g) blandes med 0,4 M natriumacetatbufferoppløsning (2,0 ml). pH-verdien for den resulterende oppløsningen justeres til pH 4 ved bruk av 0,5 N vandig saltsyre eller 0,5 N vandig natriumhydroksid etter behov, og deretter tilsettes tilstrekkelig vann for injeksjon for å gi et totalvolum på 20 ml. Blandingen filtreres så gjennom et sterilfilter (0,22 mikron) for å oppnå en steril oppløsning som er egnet for administrering ved injeksjon.

Eksempel på preparater for administrering ved inhalering

En forbindelse ifølge oppfinnelsen (0,2 mg) mikroniseres og blandes så med laktose (25 mg). Denne blandede blanding fylles så i en gelatininhaleringspatron. Innholdet i patronen administreres ved bruk av for eksempel en tørrpulverinhalator.

Alternativt blir en mikronisert forbindelse ifølge oppfinnelsen (10 g) dispergert i en oppløsning fremstilt ved oppløsning av lecitin (0,2 g) i demineralisert vann (200 ml). Den resulterende suspensjonen spraytørkes og mikroniseres så for å danne et mikronisert preparat omfattende partikler med en midlere diameter mindre enn rundt 1,5

µm. Det mikroniserte preparatet fylles så i inhalatorpatroner for tilmålte doser inneholdende trykksatt 1,1,1,2-tetrafluoretan i en mengde tilstrekkelig til å gi rundt 10 µg til rundt 500 µg av forbindelsen ifølge oppfinnelsen per dose ved administrering ved hjelp av inhalatoren.

- 5 Alternativt blir en forbindelse ifølge oppfinnelsen (25 mg) oppløst i citratbufret (pH 5) isotonisk saltoppløsning (125 ml). Blandingen omrøres og sonikeres inntil forbindelsen er oppløst. pH-verdien for oppløsningen undersøkes og justeres hvis nødvendig til pH 5 ved langsom tilsetning av vandig 1N natriumhydroksid. Oppløsningen administreres ved bruk av en forstøverinnretning som gir rundt 10 µg til rundt 500 µg av forbindelsen ifølge oppfinnelsen per dose.
- 10

EKSEMPLER

De følgende fremstillingene og eksemplene er gitt for å illustrere spesifikke utførelsesformer av oppfinnelsen. Disse spesifikke utførelsesformene er imidlertid ikke ment å begrense oppfinnelsens ramme på noen måte, hvis ikke annet spesifikt er antydnet.

- 15 De følgende forkortelsene har de følgende betydningene, hvis ikke annet er antydnet og alle andre forkortelser som benyttes her og ikke er videre definert, har sin vanlige betydning:

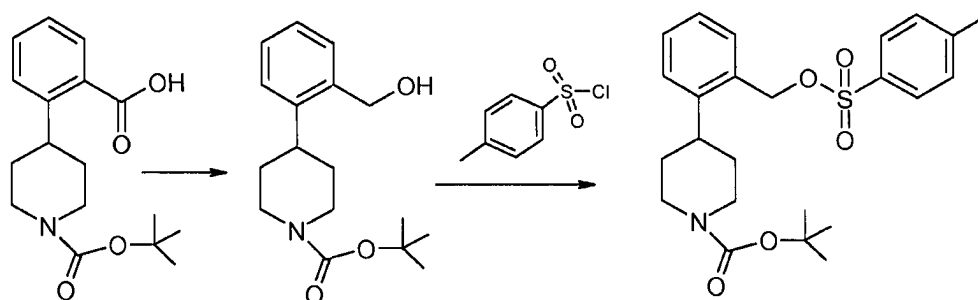
	AcOH	eddiksyre
	Boc	t-butoksykarbonyl
20	BSA	bovinserumalbumin
	DCM	diklormetan (dvs. metylenklorid)
	DIAD	diisopropylazodikarboksylat
	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyletylamin
	DMEM	Dulbeccos modifiserte eagles medium
25	DMSO	dimetylsulfoksid
	EDTA	etylendiamintetraeddiksyre
	EtOAc	etylacetat
	EtOH	etanol
	FBS	føtalbovinserum
30	hDAT	humandopamintransportør
	HEPES	4-(2-hydroksyetyl)-1-piperazinetansulfonsyre
	hNET	humannorepinefrintransportør
	hSERT	humanserotonintransportør
	5-HT	5-hydroksytryptamin
35	IPA	isopropylalkohol

	IPAc	isopropylacetat
	MeCN	acetonitril (CH ₃ CN)
	MeOH	metanol
	NA	noradrenalin
5	PBS	fosfatbufret saltoppløsning
	PPh ₃	trifenylfosfin
	TFA	trifluoreddiksyre
	THF	tetrahydrofuran
	TsCl	<i>p</i> -toluensulfonylklorid eller 4-metylbenzensulfonylklorid

10 Alle andre forkortelser som benyttes her, men som ikke er definert, har sine vanlige, aksepterte standardbetydninger. Hvis ikke annet er sagt, ble alle materialer, som reagenser, utgangsmaterialer og solventer, ervervet fra kommersielle leverandører (som Sigma-Aldrich, Fluka Riedel-de Haen og liknende) og ble benyttet uten ytterligere rensing.

15 Fremstilling 1

4-[2-(toluen-4-sulfonyloksymetyl)fenyl]piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester



4-(2-karboksyfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (5,0 g, 160 mmol, 1,0 ekv.) og THF (130 ml, 1,7 mmol) ble kombinert ved romtemperatur under nitrogen. Borandimetylsulfidkompleks (2,9 ml, 33 mmol, 2,0 ekv.) ble dråpevis tilsatt og blandingen
 20 omrørt i 5 minutter og deretter varmet opp til tilbakebøp i 1 time. Blandingene ble omrørt ved romtemperatur i 5 minutter og så varmet opp til 50 °C i 1 time. Blandingene ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen quenched dråpevis med MeOH (40 ml), så konsentrert ved rotasjonsfordamping. Materialet ble azeotropert med MeOH (2 x 40
 25 ml). Blandingene ble så fortynnet med EtOAc (100 ml) og vasket med 1 M HCl (2 x 50 ml), deretter NaHCO₃ (2 x 50 ml) og så mettet vandig NaCl (1 x 50 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under vakuum, og man oppnådde 4-(2-hydroksymetylphenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (4,8 g) som en klar, lysegul olje som størknet ved henstand.

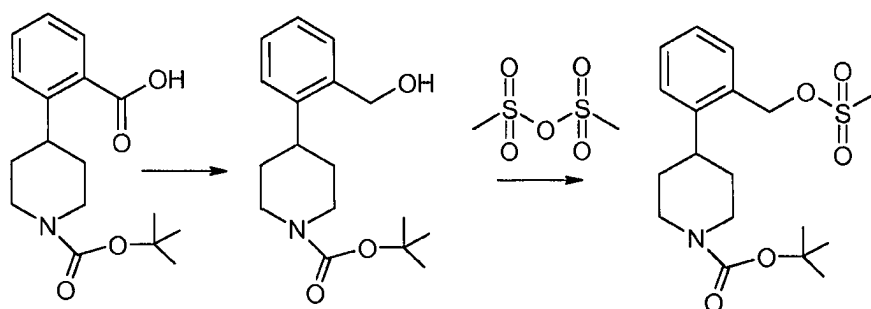
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) 7,34-7,22 (m, 3H); 7,19 (dt, $J=1,6$ Hz, 7,2, 1H); 4,73 (s, 2H); 4,32-4,14 (m, 2H); 3,00 (tt, $J=4,0$ Hz, 12,0, 1H); 2,80 (t, $J=11,6$ Hz, 2H); 1,78-1,56 (m, 4H); 1,47 (m, 9H).

4-(2-hydroksymetylfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (0,4 g, 1,0 mmol, 1,0 ekv.) og trietylendiamin (220 mg, 2,0 mmol, 1,4 ekv.) ble oppløst i DCM (11 ml, 170 mmol). Blandingen ble avkjølt til 0 °C under nitrogen, TsCl (290 mg, 1,5 mmol, 1,1 ekv.) ble tilsatt og blandingen omrørt ved 0 °C i ytterligere 60 min. Blandingen ble fortynnet med EtOAc (50 ml) og vasket med vann (2 x 25 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert ved rotasjonsfordamping, og man oppnådde tittelforbindelsen (500 mg) som ble benyttet uten ytterligere rensing.

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) 7,81 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H); 7,79 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H); 7,37-7,32 (m, 4H); 7,25-7,21 (m, 1H); 7,21-7,13 (m, 1H), 5,12 (s, 2H); 4,34-4,12 (m, 2H); 2,81-2,61 (m, 3H); 2,45 (s, 3H); 1,70-1,52 (m, 4H); 1,48 (s, 9H).

Fremstilling 2

15 4-(2-metansulfonyloksymetylfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester



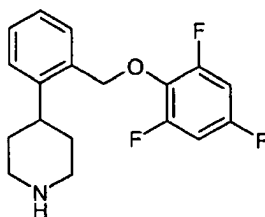
4-(2-karboksyfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (5,0 g, 160 mmol, 1,0 ekv.) og THF (100 ml, 1,0 mol) ble kombinert ved romtemperatur under nitrogen. 1,0 M boran-THF kompleks i THF (32,7 ml, 32,7 mmol, 2 ekv.) ble dråpevis tilsatt i løpet av 10 min (5 °C eksoterm, gassutvikling). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 5 minutter og så varmet opp til 50 °C i 1 time. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur og reaksjonen quenched langsomt med MeOH (30 ml) (mild eksoterm, signifikant gassutvikling), så konsentrert ved rotasjonsfordamping. Materialet ble azeotropert med MeOH (2 x 50 ml). Råproduktet ble oppløst i EtOAc (100 ml, 1 mol), vasket med NaHCO_3 (50 ml) og så mettet vandig NaCl (50 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over vannfri Na_2SO_4 , filtrert og konsentrert under vakuum for å gi 4-(2-hydroksymetylfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (4,4 g) som en klar, lysegul olje som størknet ved henstand.

4-(2-hydroksymetylfenyl)piperidin-1-karboksyisyre *t*-butylester (50,0 g, 172 mmol, 1,0 ekv.) ble oppløst i DCM (500 ml, 8000 mmol). Blandingen ble avkjølt til 0 °C under nitrogen, og metansulfonsyreanhydrid (44,8 g, 257 mmol, 1,5 ekv.) ble tilsatt i en porsjon. DIPEA (47,8 ml, 274 mmol, 1,6 ekv.) ble dråpevis tilsatt i løpet av 5 min og blandingen omrørt ved 0 °C i 90 min. Vann (400 ml, 20 mol) ble tilsatt og blandingen omrørt i 5 min. Fasene ble separert, og det organiske siktet ble vasket med vann (300 ml), tørket over Na₂SO₄, og oppløsningsmidlet ble fjernet for å gi tittel forbindelsen (70 g) som en tykk olje som ble benyttet uten ytterligere rensing.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 7,37-7,43 (m, 3H), 7,31 (d, 1H), 7,22 (m, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,28 (m, 2H), 2,92-3,10 (m, 1H), 2,92 (s, 3H), 2,80-2,92 (m, 2H), 1,63-1,81 (m, 4H), 1,51 (s, 9H).

EKSEMPEL 1

4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin



4-[2-(toluen-4-sulfonyloksymetyl)fenyl]piperidin-1-karboksyisyre *t*-butyl ester (2,1 g, 4,7 mmol, 1,0 ekv.) ble oppløst i MeCN (46 ml, 890 mmol) og satt til K₂CO₃ (1,9 g, 14 mmol, 3,0 ekv.) og 2,4,6-trifluorfenol (1,0 g, 7,0 mmol, 1,5 ekv.). Blandingen ble ristet ved 50 °C over natten og så avkjølt til romtemperatur. Supernatanten ble separert fra K₂CO₃ og andre faststoffer. TFA (7 ml, 90 mmol, 20,0 ekv.) ble satt til supernatanten, og blandingen ble ristet over natten ved romtemperatur. Oppløsningen ble så konsentrert for å gi en rå rest. Resten ble oppløst i 5,0 ml 1:1 AcOH:H₂O, deretter i ytterligere 2,0 ml AcOH, så filtrert og rensert ved preparativ HPLC for å gi tittel forbindelsen som et TFA-salt (1,3 g, 97,5 % renhet). MS *m/z*: [M+H]⁺ beregnet for C₁₈H₁₈F₃NO, 322,13; funnet 322,2.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 9,83 (br.s, 1H); 9,32 (br.s, 1H); 7,46-7,39 (m, 2H); 7,32 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H); 7,26-7,21 (m, 1H); 6,76-6,66 (m, 2H); 5,07 (s, 2H); 3,69-3,50 (m, 2H); 3,38 (t, *J* = 11,6 Hz, 1H); 3,20-3,02 (m, 2H); 2,19 (q, *J* = 12,8 Hz, 2H); 2,12-2,01 (m, 2H).

Syntese av 4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin som et krystallinsk HCl-salt

4-(2-metansulfonyloksymetylphenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (27,0 g, 60,6 mmol, 1,0 ekv.) ble oppløst i MeCN (540 ml) og satt til K₂CO₃ (25 g, 180 mmol, 3,0 ekv.) og 2,4,6-trifluorfenol (13,5 g, 90,9 mmol, 1,5 ekv.). Blandingen ble kraftig omrørt ved 50 °C i 6 timer, fjernet fra varmen og omrørt over natten. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur og fortynnet med EtOAc (700 ml) og vann (700 ml). Fasene ble separert og det organiske sjiktet vasket to ganger med 1,0 M NaOH i vann (2 x 400 ml) og mettet vandig NaCl (1 x 400 ml), så tørket over Na₂SO₄ og oppløsningsmidlet fjernet for å gi uren 4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)-fenyl]piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (25,0 g). Råproduktet ble kombinert med forsøk i mindre skala for til sammen 30 g og renses ved kromatografi (0-10 % EtOAc i heksaner) for å gi 4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (22,0 g).

t-butylesteren (22,0 g, 31,3 mmol, 1,0 ekv.) ble kombinert med 1,25 M HCl i EtOH (250 ml, 310 mmol, 10,0 ekv.). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 8 timer og så lagret ved -10 °C i rundt 48 timer. Mesteparten av oppløsningsmidlet ble fjernet ved rotasjonsfordamping. Til den resulterende, tykke oppslemmingen ble det satt EtOAc (20 ml), fulgt av omrøring ved romtemperatur i 2 timer. Den første avlingen ble isolert ved filtrering, filterkaken vasket med EtOAc (20 ml) og tørket for å gi tittelforbindelsen som et hvitt, fast hydrokloridsalt (8,5 g, >99 % renhet). HPLC-verdien for filtratet viser ~25 % produktareal. For den andre avlingen ble oppløsningsmidlet fjernet ved rotasjonsfordamping, og det resulterende faststoffet (~10 g) ble oppslemmet i EtOAc (40 ml), først ved romtemperatur, og så ved 60 °C, og så nok en gang ved romtemperatur for å gi tittelforbindelsen som et hydrokloridsalt (1,7 g, >99 % renhet).

To lotter av hydrokloridsaltet (18,5 g, 51,7 mmol) ble kombinert med EtOAc (75 ml, 770 mmol). Den resulterende tykke, men frittrislende oppslemmingen ble varmet opp til 65 °C i 30 minutter, avkjølt til romtemperatur og filtrert. Kolben og filterkaken ble vasket med EtOAc (20 ml), og faststoffene tørket under høyvakuum ved romtemperatur over natten for å gi det krystallinske hydrokloridsaltet (18,2 g, 99,3 % renhet).

God krystallinitet ble observert ved XRPD. LC-MS (2 mg i 2 ml 1:1 MeCN:1M vandig HCl; API 150EX LC/MS-system) ble funnet å være konsistent med strukturen. NMR (DMSO-d₆, Varian VnmrJ 400) ble funnet å være konsistent med strukturen og saltformen.

Alternativ syntese av 4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin som et krystallinsk HCl-salt

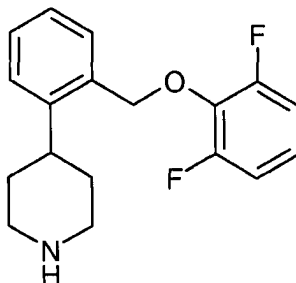
Acetylklorid (83,5 ml, 1 170 mmol) ble langsomt satt til EtOH (140 ml, 2,4 mol). 4-[2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (55,0 g, 117 mmol) oppløst i EtOH (100 ml, 2,0 mol) ble tilsatt, og den resulterende blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 6 timer. Mesteparten av oppløsningsmidlet ble fjernet ved rotasjonsfordamping. Til den resulterende, tykke oppslemmingen ble det satt EtOAc (300 ml), fulgt av delvis oppløsningsmiddelfjerning til ~100 ml. Frisk EtOAc (200 ml) ble tilsatt, og den resulterende oppslemmingen ble omrørt i 1 time, filtrert og tørket for å gi et hydrokloridsalt (28,0 g, ~99 % renhet). Filtratet ble konsentrert til en tykk pasta, og IPAc (100 ml) ble tilsatt, det hele omrørt i 1 time, filtrert og tørket for å gi ytterligere 5,0 g av hydrokloridsaltet (~99 % renhet).

To lotter av hydrokloridsaltet (83,0 g, 230 mmol, ~99 % renhet) ble kombinert med EtOAc (250 ml, 2,6 mol). Den resulterende oppslemmingen ble varmet opp til 70 °C og så langsomt avkjølt til romtemperatur, fulgt av omrøring over natten. Den resulterende, frittrislende oppslemmingen ble filtrert og filterkaken vasket med EtOAc (50 ml) og så tørket under høyvakuum i rundt 48 timer for å gi et krystallinsk hydrokloridsalt (81,0 g, >99 % renhet). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400Hz) ble funnet å være konsistent med strukturen og saltformen ifølge eksempel 1.

Det krystallinske hydrokloridsaltet (50,0 g, 1,40 mol, >99 % renhet) ble oppløst i IPA (250 ml, 3,3 mol), og den resulterende oppslemmingen ble varmet opp til 75 °C. Vann (25 ml, 1,4 mol) ble tilsatt. Fullstendig oppløsning ble observert i løpet av 5 minutter, og den indre temperaturen av oppløsningen var 65 °C. Oppløsningen ble langsomt avkjølt til romtemperatur og så omrørt ved romtemperatur over natten. De resulterende faststoffene ble filtrert og tørket under luft i 2 timer for å gi et halvtørt produkt. Faststoffene ble så tørket under høyvakuum ved romtemperatur i rundt 48 timer for å gi tittelens krystallinske hydrokloridsalt (44,1 g, 99,5 % renhet). Materialet viste god krystallinitet ved XRPD og DSC.

Tittelens krystallinske hydrokloridsalt (151,1 g, 99,5 % renhet) ble også fremstilt på tilsvarende måte ved bruk av 176,0 g av hydrokloridsaltet og 10 volumer 5 % vann i IPA (til sammen 90 ml vann og 1,8 l IPA).

EKSEMPEL 2

4-[2-(2,6-difluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin

4-[2-(toluen-4-sulfonyloksymetyl)fenyl]piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester (225
 5 mg, 505 μ mol, 1,0 ekv.) ble oppløst i MeCN (5,0 ml, 97 mmol) og satt til K_2CO_3 (210
 mg, 1,5 mmol, 3,0 ekv.) og 2,6-difluorfenol (98 mg, 760 μ mol, 1,5 ekv.). Blandingen
 ble ristet ved 50 °C over natten og så avkjølt til romtemperatur. Supernatanten ble
 separert fra K_2CO_3 og andre faststoffer.

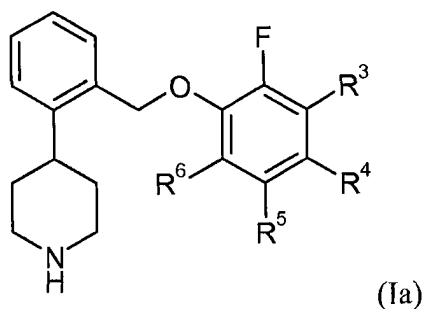
TFA (800 μ l, 10 mmol, 20,0 ekv.) ble satt til supernatanten, og blandingen ble ristet
 10 over natten ved romtemperatur. Oppløsningen ble så konsentrert for å gi en uren rest.
 Resten ble oppløst i 1,5 ml 1:1 AcOH:H₂O, og så i ytterligere 0,3 ml AcOH, filtrert og
 rensset ved preparativ HPLC for å gi tittelforbindelsen som et TFA-salt (115 mg, 95 %
 renhet). MS *m/z*: [M+H]⁺ beregnet for C₁₈H₁₉F₂NO, 304,14; funnet 304,2.

De følgende NMR-dataene ble oppnådd for en separat lott av materialet som ble frem-
 15 stilt på en måte tilsvarende det som er beskrevet ovenfor:

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 9,60 (br.s, 1H); 9,25 (br.s, 1H); 7,42-7,37 (m, 2H); 7,33 (d,
 J = 7,6 Hz, 1H); 7,26-7,20 (m, 1H); 7,03-6,86 (m, 3H); 5,11 (s, 2H); 3,64-3,50 (m,
 2H); 3,38 (t, J = 11,0 Hz, 1H); 3,16-3,00 (m, 2H); 2,18 (q, J = 12,4 Hz, 2H); 2,10-
 2,01 (m, 2H).

20 EKSEMPEL 3

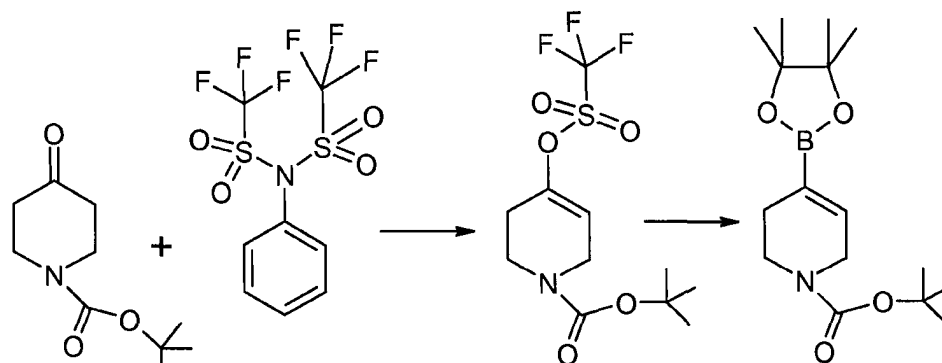
Ved å følge prosedyrene som beskrevet i eksemplene ovenfor og ved i stedet å benyt-
 te de egnede utgangsmaterialene og reagensene, ble forbindelsene 3-1 til 3-10 med
 formel Ia også fremstilt:



Forbindelse	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	Formel	MS m/z: [M+H] ⁺	
						beregnet	funnet
3-1	H	H	H	H	C ₁₈ H ₂₀ FNO	286,15	286,2
3-2	H	Cl	H	F	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0
3-3	F	H	H	F	C ₁₈ H ₁₈ F ₃ NO	322,13	322,2
3-4	Cl	H	H	F	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0
3-5	-CH ₃	H	H	F	C ₁₉ H ₂₁ F ₂ NO	318,16	318,2
3-6	H	H	F	Cl	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0
3-7	H	H	H	Cl	C ₁₈ H ₁₉ ClFNO	320,11	320,0
3-8	H	H	H	Br	C ₁₈ H ₁₉ BrFNO	364,06	364,0
3-9	H	Br	H	Cl	C ₁₈ H ₁₈ BrClFNO	398,02	398,0
3-10	H	F	H	Cl	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0

Fremstilling 3

4-(4,4,5,5-tetrametyl-[1,3,2]dioksaborolan-2-yl)-3,6-dihydro-2H-pyridin-1-karboksylyl-
syre t-butylester



Boc-4-piperidon (1,99 g, 10 mmol) ble oppløst i THF (10 ml, 0,2 mol) og avkjølt til -20 °C. 1,0 M natrium bis(trimetylsilyl)amid i THF (11,0 ml, 11 mmol) ble langsomt tilsatt. Blandingen ble omrørt ved -30 °C til -20 °C i 30 minutter. N-fenyl-bis(trifluor-

metansulfonimid) (3,57 g, 10 mmol) ble tilsatt i THF (7 ml). Den resulterende blandingen ble omrørt ved -20 °C til -10 °C i 60 minutter, og deretter ble 1,0 M NaOH i vann (9,4 ml, 9,4 mmol) tilsatt. Blandingen ble tillatt oppvarming til romtemperatur. EtOAc (60,0 ml) og heptan (30 ml) ble satt til blandingen og omrørt i 5 minutter. Sjiktene ble separert og det organiske sjiktet vasket med 1N NaOH (5 x 25 ml), mettet vandig NaCl (10,0 ml), tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert for å gi 4-trifluor-

5 metansulfonyloksy-3,6-dihydro-2H-pyridin-1-karboksylysyre *t*-butyl ester (3,1 g) som en gulaktig olje som ble benyttet uten ytterligere rensing.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 5,76 (m, 1H); 4,04 (m, 2H); 3,62 (m, 2H); 2,45 (m, 2H);

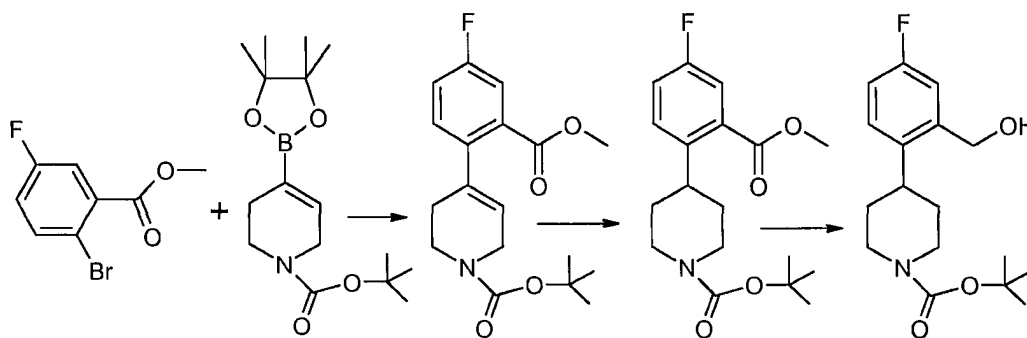
10 1,48 (s, 9H).

4-trifluormetansulfonyloksy-3,6-dihydro-2H-pyridin-1-karboksylysyre *t*-butyl ester (990 mg, 3,0 mmol) ble oppløst i 1,4-dioksan (9 ml, 100 mmol), og kaliumacetat (883,3 mg, 9,0 mmol), *bis*(pinakolato)dibor (788 mg, 3,1 mmol), 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen-palladium(II)dikloriddiklormetankompleks (52 mg, 63 μmol) og 1,1'-

15 *bis*(difenylfosfino)ferrocen (38 mg, 68 μmol) ble tilsatt. Blandingen ble avgasset og spylt 4 ganger med nitrogen, fulgt av oppvarming til 80 °C i 17 t. Blandingen ble tillatt avkjøling til romtemperatur og filtrert gjennom Celite[®] ved bruk av EtOAc (25 ml) for å vaske produktet, hvorefter man oppnådde tittelforbindelsen (296 mg) som et delvis voksaktig hvitt faststoff.

20 Fremstilling 4

4-(4-fluor-2-hydroksymetylfenyl)piperidin-1-karboksylysyre *t*-butylester



Metyl 2-brom-5-fluorbenzoat (1,8 g, 7,5 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametyl-[1,3,2]dioksaborolan-2-yl)-3,6-dihydro-2H-pyridin-1-karboksylysyre *t*-butyl ester (2,3 g, 7,5 mmol),

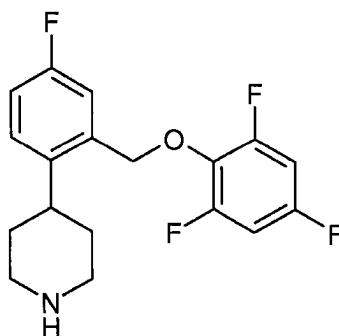
25 THF (69 ml, 850 mmol) og 2 M natriumkarbonat i vann (15,0 ml, 30,0 mmol) ble kombinert og blandingen avgasset og spylt med nitrogen. *Bis*(trifenylfosfin)palladium(II) klorid (158 mg, 225 μmol) ble tilsatt og blandingen nok en gang avgasset og spylt med nitrogen. Blandingen ble varmet opp til 80 °C i 1 time. Blandingen ble så

avkjølt og sjiktene separert, fortynnet med EtOAc (50 ml) og vasket med mettet vandig NaCl (30 ml), tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert under vakuum. Råproduktet ble rensert ved flashkromatografi (0-50 % EtOAc i heksaner). En oppløsning av råmaterialet og Pearlmans katalysator (0,1:0,4 palladiumhydroksid:svart karbon 1,1 g, 1,5 mmol) i MeOH (60,8 ml, 150 mmol) ble hydrogenert ved 1 atmosfære ved romtemperatur over natten. Blandingen ble så evaluert, spylt med nitrogen, filtrert gjennom Celite[®] og konsentrert, og man oppnådde en fargeløs olje. Denne ble oppløst i THF (30 ml, 400 mmol) og behandlet med boran-dimetylsulfidkompleks (1,3 ml, 15,0 mmol) ved romtemperatur. Blandingen ble varmet opp til tilbakeløp i 5 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble MeOH (20 ml) langsomt tilsatt og fjernet ved rotasjonsfordampning. Ytterligere 20 ml MeOH ble tilsatt og fjernet ved rotasjonsfordampning. Resten ble så oppløst i EtOAc (100 ml) og vasket med 1N HCl og mettet NaHCO₃, tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert. Materialet ble så rensert ved silikagelkromatografi (0-50 % EtOAc i heksaner) for å gi tittelforbindelsen (924 mg) som et fargeløst, klebrig faststoff.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7,21 (br.s, 1H); 7,16 (m, 1H); 6,98 (m, 1H); 4,76 (br.s, 2H); 4,24 (m, 2H); 2,89 (m, 1H); 2,80 (m, 2H); 1,72 (m, 2H); 1,60 (m, 2H); 1,47 (s, 9H).

EKSEMPEL 4

4-[4-fluor-2-(2,4,6-trifluorfenoksymetyl)fenyl]piperidin



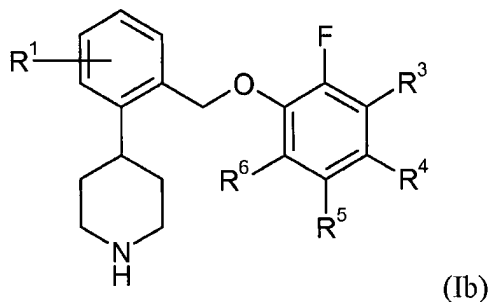
20

DIAD (23,6 µl, 120 µmol) ble satt til en oppløsning av PPh₃ (28,9 mg, 110 µmol) i toluen (533 µl, 5 mmol). Blandingen ble kort omrørt, og 4-(4-fluor-2-hydroksymetyl-fenyl)piperidin-1-karboksylysyre-*t*-butyl ester (30,9 mg, 100 µmol) ble tilsatt. Denne blandingen ble kombinert med 2,4,6-trifluorfenol (14,8 mg), varmet opp til 80 °C i 4 timer og så konsentrert. Det urene materialet ble debeskyttet ved bruk av 1,25 M HCl i EtOH (1 ml) over natten ved romtemperatur. Materialet ble så konsentrert og resten rensert ved preparativ HPLC, og man oppnådde tittelforbindelsen som et TFA-salt (7,8 mg, 100 % renhet). MS *m/z*: [M+H]⁺ beregnet for C₁₈H₁₇F₄NO, 340,12; funnet 340,0.

25

EKSEMPEL 5

Ved å følge prosedyrene som beskrevet i eksemplene ovenfor og ved å benytte de egnede utgangsmaterialene og reagensene ble forbindelsene 5-1 til 5-17 med formel Ib, også fremstilt:

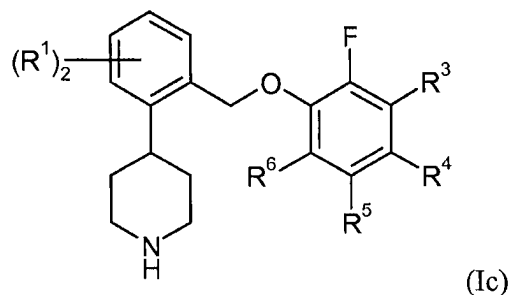


5

Forb.	R ¹	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	Formel	MS m/z: [M+H] ⁺	
							beregnet	funnet
5-1	5-fluor	H	H	H	H	C ₁₈ H ₁₉ F ₂ NO	304,14	304,2
5-2	4-fluor	H	H	H	F	C ₁₈ H ₁₈ F ₃ NO	322,13	322,0
5-3	5-fluor	H	H	H	F	C ₁₈ H ₁₈ F ₃ NO	322,13	322,2
5-4	6-fluor	H	F	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
5-5	5-fluor	H	F	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
5-6	3-fluor	F	H	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
5-7	5-fluor	F	H	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
5-8	5-fluor	H	H	F	Cl	C ₁₈ H ₁₇ ClF ₃ NO	356,10	356,0
5-9	4-fluor	H	H	H	Cl	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0
5-10	6-fluor	H	H	H	Cl	C ₁₈ H ₁₈ ClF ₂ NO	338,10	338,0
5-11	6-fluor	H	H	H	H	C ₁₈ H ₁₉ F ₂ NO	304,14	304,2
5-12	6-fluor	H	H	H	F	C ₁₈ H ₁₈ F ₃ NO	322,13	322,2
5-13	5-CF ₃	H	H	H	Cl	C ₁₉ H ₁₈ ClF ₄ NO	388,10	388,0
5-14	5-CF ₃	F	H	H	F	C ₁₉ H ₁₇ F ₆ NO	390,12	390,0
5-15	6-fluor	F	H	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
5-16	5-CF ₃	H	F	H	F	C ₁₉ H ₁₇ F ₆ NO	390,12	390,0
5-17	6-fluor	H	H	F	Cl	C ₁₈ H ₁₇ ClF ₃ NO	356,10	356,0

EKSEMPEL 6

Ved å følge de prosedyrene som er beskrevet i eksemplene ovenfor og ved å benytte de egnede utgangsmaterialene og reagensene ble forbindelsene 6-1 til 6-7 med formelen II-3 også fremstilt:



5

Forb.	R ¹	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	Formel	MS m/z: [M+H] ⁺	
							beregnet	funnet
6-1	4,5-difluor	H	H	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
6-2	4,5-difluor	H	F	H	F	C ₁₈ H ₁₆ F ₅ NO	358,12	358,0
6-3	4,5-difluor	H	H	H	Cl	C ₁₈ H ₁₇ ClF ₃ NO	356,10	356,0
6-4	4,6-difluor	H	H	H	F	C ₁₈ H ₁₇ F ₄ NO	340,12	340,0
6-5	4,6-difluor	F	H	H	F	C ₁₈ H ₁₆ F ₅ NO	358,12	358,0
6-6	4,6-difluor	H	F	H	F	C ₁₈ H ₁₆ F ₅ NO	358,12	358,3
6-7	5,6-difluor	H	F	H	F	C ₁₈ H ₁₆ F ₅ NO	358,12	358,2
6-8	4,6-difluor	H	H	F	Cl	C ₁₈ H ₁₆ ClF ₄ NO	374,09	374,0

ANALYSE 1*hSERT-, hNET- og hDAT-bindingsanalyser*

Membranradioligandbindingsanalyser ble benyttet for å måle kompetitiv inhibering av merket ligand (³H-citalopram eller ³H-nisoksetin eller ³H-WIN35428) binding til membraner fremstilt fra celler som uttrykker den respektive humanrekombinante transportøren (hSERT eller hNET eller hDAT) for å bestemme pK_i-verdiene for testforbindelsene på transportørene.

Membranfremstilling fra celler som uttrykker hSERT, hNET eller hDAT

Rekombinante, humanembryoniske nyre (HEK-293)-avledede cellerlinjer som stabilt er transfektert med hSERT, henholdsvis hNET, ble dyrket i DMEM-medium supplert med 10 % dialysert FBS (for hSERT) eller FBS (for hNET), 100 µg/ml penicillin, 100 µg/ml

streptomycin, 2 mM L-glutamin og 250 µg/ml av aminoglykosidantibiotikumet G418, i en 5 % CO₂-fuktet inkubator ved 37 °C. Når kulturene nådde 80 % konfluens, ble cellene vasket grundig i PBS (uten Ca²⁺ og Mg²⁺) og løftet med 5 mM EDTA i PBS. Celler ble pelletisert ved sentrifugering, resuspendert i lyseringsbuffer (10 mM Tris-HCl, pH 7,5 inneholdende 1 mM EDTA), homogenisert, pelletisert ved sentrifugering og så resuspendert i 50 mM Tris-HCl, pH 7,5, og 10 % sukrose, ved 4 °C. Proteinkonsentrasjonen for membransuspensjonen ble bestemt ved bruk av et Bio-Rad Bradford Protein Assay-sett. Membranene ble snappfrosset og lagret ved -80 °C. Kinesiske hamsterovariemembraner som uttrykket hDAT (CHO-DAT) ble ervervet fra PerkinElmer, og lagret ved -80 °C.

Bindingsanalyser

Bindingsanalyser ble gjennomført i en 96-brønners analyseplate i et totalvolum på 200 µl analysebuffer (50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4) med 0,5, 1, henholdsvis 3 µg membranprotein for SERT, NET henholdsvis DAT. Metningsbindingsstudier for å bestemme radioligand-K_d-verdiene for ³H-citalipram, ³H-nisoksetin henholdsvis ³H-WIN35428, ble gjennomført ved bruk av 12 forskjellige radioligandkonsentrasjoner i området 0,005-10 nM (³H-citalopram); 0,01-20 nM (³H-nisoksetin) og 0,2-50 nM (³H-WIN35428). Fortrenningsanalyser for bestemmelsen av pK_i-verdiene for testforbindelsene ble gjennomført med 1,0 nM ³H-citalopram, 1,0 nM ³H-nisoksetin eller 3,0 nM ³H-WIN35428, ved 11 forskjellige konsentrasjoner av testforbindelse i området 10 pM til 100 µM.

Forrådsoppløsninger (10 mM i DMSO) av testforbindelsen ble fremstilt og seriefortynninger laget ved bruk av fortynningsbuffer (50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4, 0,1 % BSA, 400 µM askorbinsyre). Ikke-spesifikk radioligandbinding ble bestemt i nærvær av 1 µM duloksetin, 1 µM desipramin eller 10 µM GBR12909 (hver i fortynningsbuffer) for hSERT-, hNET- henholdsvis hDAT-analyser.

Etter en 60 minutters inkubering ved 22 °C (eller en periode tilstrekkelig til å nå likevekt), ble membranene høstet ved hurtig filtrering over en 96-brønners UniFilter GF/B-plate, forbehandlet med 0,3 % polyetylenimin og vasket 6 ganger med 300 µl vaskebuffer (50 mM Tris-HCl, 0,9 % NaCl, pH 7,5 ved 4 °C). Platene ble tørket over natten ved romtemperatur, ~45 µl MicroScintTM-20 (Perkin Elmer) tilsatt og bundet radioaktivitet ble kvantitert ved hjelp av væskescintillasjonsspektroskopi. Konkurransedyktige inhiberingskurver og metningsisotermer ble analysert ved bruk av GraphPad Prism Software-pakken (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). IC₅₀-verdier ble generert fra konsentrasjonsresponskurver ved bruk av sigmoid-doserespons (variabel

helling) algoritmen i Prism GraphPad. K_d - og B_{maks} -verdier for radioliganden ble generert fra metningsisotermer ved bruk av "Saturation Binding Global Fit-algoritmen" i Prism GraphPad. pK_i (negativ dekadisk logaritme av K_i)-verdiene for testforbindelsene ble beregnet fra best-fit IC_{50} -verdiene og K_d -verdien for radioliganden ved bruk av
5 Cheng-Prusoff-likningen (Cheng & Prusoff (1973) *Biochem. Pharmacol.* 22(23): 3099-3108): $K_i = IC_{50}/(1+[L]/K_d)$, der $[L]$ = konsentrasjonen av radioligand.

Alle de ovenfor nevnte forbindelsene ble testet i denne analysen og funnet å vise en SERT- $pK_i \geq 7,9$, og en NET- $pK_i \geq 8,0$.

ANALYSE 2

hSERT-, hNET- og hDAT neurotransmitteropptaksanalyser

Nevrotransmitteropptaksanalyser ble benyttet for å måle kompetitiv inhibering av ³H-serotonin (³H-5-HT)-, ³H-norepinefrin (³H-NE)- og ³H-dopamin (³H-DA)-opptaket i celler som uttrykker den respektive transportøren (hSERT, hNET eller hDAT) for å bestemme pIC₅₀-verdiene for testforbindelsene på transportørene.

³H-5-HT-, ³H-NE- og ³H-DA-opptaksanalyser

HEK-293-avledede cellelinjer som stabilt var transfektert med hSERT, hNET, henholdsvis hDAT ble dyrket i DMEM-medium supplert med 10 % dialysert FBS (for hSERT) eller FBS (for hNET og hDAT), 100 µg/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 2 mM L-glutamin og 250 µg/ml av aminoglykosidantibiotikumet G418 (for hSERT og hNET) eller 800 µg/ml (for hDAT), i en 5 % CO₂-fuktet inkubator ved 37 °C. Når kulturrene nådde 80 % konfluens ble cellene vasket grundig i PBS (uten Ca²⁺ og Mg²⁺) og så løftet med 5 mM EDTA i PBS. Celler ble høstet ved sentrifugering ved 1 100 omdreining per minutt i 5 minutter, vasket én gang ved resuspensjon i PBS og så sentrifugert. Supernatanten ble kassert og cellepelletten resuspendert ved forsiktig triturering i Krebs-Ringer-bikarbonatbuffer ved romtemperatur, inneholdende HEPES (10 mM), CaCl₂ (2,2 mM), askorbinsyre (200 µM) og pargylin (200 µM) ved pH 7,4. Sluttkonsentrasjonen for cellene i cellesuspensjonen var 7,5 x 10⁴ celler/ml, 1,25 x 10⁵ celler/ml henholdsvis 5,0 x 10⁴ celler/ml for SERT-, NET-, henholdsvis DAT-cellelinjene.

Nevrotransmitteropptaksanalyser ble gjennomført i en 96-brønners analyseplate i et totalvolum på 400 µl analysebuffer (Krebs-Ringer-bikarbonatbuffer inneholdende HEPES (10 mM), CaCl₂ (2,2 mM), askorbinsyre (200 µM) og pargylin (200 µM), pH 7,4) med 1,5 x 10⁴ henholdsvis 2,5 x 10⁴ celler, for SERT, henholdsvis NET. Konkurransanalyser for bestemmelse av pIC₅₀-verdiene for testforbindelsene ble gjennomført med 11 forskjellige konsentrasjoner i området 10 pM til 100 µM. Forrådsoppløsninger (10 mM i DMSO) av testforbindelsen ble fremstilt og seriefortynninger fremstilt ved bruk av 50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4, 0,1 % BSA og 400 µM askorbinsyre. Testforbindelsene ble inkubert i 30 minutter ved 37 °C med de respektive cellene, før tilsetning av den radiomerkede neurotransmitteren, ³H-5-HT (20 nM sluttkonsentrasjon), ³H-NE (50 nM sluttkonsentrasjon) eller ³H-DA (100 nM sluttkonsentrasjon). Ikke-spesifikt neurotransmitteropptak ble bestemt i nærvær av 2,5 µM duloksetin eller 2,5 µM desipramin (hver i fortynningsbuffer) for hSERT-, hNET-, henholdsvis hDAT-analysene.

Etter en 10 minutters inkubering ved 37 °C med radioligand ble cellene høstet ved hurtig filtrering over en 96-brønners UniFilter GF/B-plate, forbehandlet med 1 % BSA, og vasket 6 ganger med 650 µl vaskebuffer (iskald PBS). Platene ble tørket over natten ved 37 °C, ~45 µl MicroScint™-20 (Perkin Elmer) ble tilsatt og innarbeidet radioak-

5 tivititet kvantitert via væskescintillasjonsspektroskopi. Kompetitive inhiberingskurver ble analysert ved bruk av GraphPad Prism Software-pakken (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). IC₅₀-verdiene ble generert fra konsentrasjonsresponskurvene ved bruk av sigmoid-doserespons (variabel helling)-algoritmen i Prism GraphPad.

ANALYSE 3

10 *Ex Vivo-SERT- og NET transportør-okkupansstudier*

Ex vivo-radioligandbinding og nevrotransmitteropptaksanalyser ble benyttet for å bestemme *in vivo*-okkupansen av SERT og NET, i valgte hjerneområder, etter *in vivo*-administrering (akutt eller kronisk) av testforbindelser. Etter administrering av testforbindelsen (intravenøst, intraperitonealt, oralt, subkutan eller på annen måte) av den egnede dosen (0,0001 til 100 mg/kg), ble rotter (≥ n=4 per gruppe) eutanisert ved spesifikke tidspunkter (10 minutter til 48 timer) ved dekapitering hvoretter hjernen ble dissekert på is. Relevante hjerneområder ble dissekert, frosset og lagret ved -80 °C inntil bruk.

Ex Vivo-SERT- og NET-radioligandbindingsanalyser

20 For *ex vivo*-radioligandbindingsanalyser ble initialhastighetene for assosiasjonen av SERT(³H-citalopram)- og NET(³H-nisoksetin)-selektive radioligander med rottehjerne-
råhomogenater fremstilt fra vehikkel- og testforbindelsesbehandlete dyr fulgt (se Hess et al. (2004) J. Pharmacol. Exp. Ther. 310(2):488-497). Råhjernevevhomogenater ble fremstilt ved homogenisering av frosne vevsstykker i 0,15 ml (per mg våtvekt) 50 mM
25 Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7,4 buffer. Radioligandassosieringsanalyser ble gjennomført i en 96-brønners analyseplate i et totalvolum på 200 µl analysebuffer (50 mM Tris-HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 0,025 % BSA, pH 7,4) med 650 µg våtvektvev (ekvivalent med 25 µg protein). Homogenater ble inkubert i opp til 5 minutter med ³H-citalopram (3 nM) henholdsvis ³H-nisoksetin (5 nM), før avslutning av analysen ved
30 hurtig filtrering over en 96-brønners UniFilter GF/B-plate, forbehandlet med 0,3 % polyetylenimin. Filtre ble så vasket 6 ganger med 300 µl vaskebuffer (50 mM Tris-HCl, 0,9 % NaCl, pH 7,4 ved 4 °C). Ikke-spesifikk radioligandbinding ble bestemt i nærvæ-

ret av 1 μM duloksetin eller 1 μM despiramin, for ^3H -citalopram, henholdsvis ^3H -

nisoksetin. Platene ble tørket over natten ved romtemperatur, $\sim 45 \mu\text{l}$ MicroScint[™]-20

(Perkin Elmer) ble tilsatt og bundet radioaktivitet kvantitert via væskescintillasjons-
spektroskopi. Initialhastighetene for assosiering av ^3H -citalopram og ^3H -nisoksetin ble
5 bestemt ved lineær regresjon ved bruk av GraphPad Prism Software- pakken (Graph-
Pad Software, Inc., San Diego, CA). Den midlere hastigheten for radioligandassosie-
ringen til hjernevevhomogenatene fra vehikkelbehandlede dyr ble bestemt. % okku-
pans av testforbindelsene ble så bestemt ved bruk av følgende likning:

$$\% \text{ okkupans} = 100 \times (1 - (\text{initial assosiasjonshastighet for testforbindelsesbehandlet} \\ \text{vev/midlere assosiasjonshastighet for vehikkelbehandlet vev}))$$

ED₅₀-verdiene ble bestemt ved å plote log₁₀ for dosen av testforbindelsen mot %
okkupans. ED₅₀-verdier ble generert fra konsentrasjonsresponskurver ved bruk av
sigmoid-doserrespons (variabel helling)-algoritmen i GraphPad Prism.

Ex Vivo-SERT- og NET-opptaksanalyser

15 *Ex vivo*-nevrotmitteropptaksanalyser, der opptaket av ^3H -5-HT eller ^3H -NE i rotte-
hjernehomogenater, fremstilt fra vehikkel- og testforbindelsesbehandlede dyr, ble
benyttet for å måle *in vivo*-SERT- og -NET-transportørøkkupans (se Wong et al.
(1993) Neuropsychopharmacology 8(1):23-33). Råhjernevevhomogenater ble fremstilt
ved å homogenisere frosne vevsstykker i 0,5 ml (per mg våtvekt) 10 mM HEPES-
20 buffer pH 7,4, inneholdende 0,32 M sukrose, 200 μM askorbinsyre og 200 μM pargylin,
ved 22 °C. Nevrotmitteropptaksanalyser ble gjennomført i en 96-brønners Axy-
genplate i et totalvolum på 350 μl analysebuffer (Krebs-Ringer bikarbonatbuffer med
10 mM HEPES, 2,2 mM CaCl₂, 200 μM askorbinsyre og 200 μM pargylin, pH 7,4) med
50 μg protein. Homogenater ble inkubert i 5 minutter ved 37 °C med ^3H -5-HT (20
25 nM), henholdsvis ^3H -NE (50 nM), før avslutning av analysen ved hurtig filtrering over
en 96-brønners UniFilter GF/B-plate, forbehandlet med 1 % BSA. Platene ble vasket 6
ganger med 650 μl vaskebuffer (iskald PBS) og tørket over natten ved 37 °C, før til-
setning av $\sim 45 \mu\text{l}$ MicroScint[™]-20 (Perkin Elmer) ble tilsatt. Innarbeidet radioaktivitet

ble kvantitert via væskescintillasjonsspektroskopi. Ikke-spesifikt neurotransmitteropp-
tak ble bestemt i parallellanalyser der vevhomogenater ble inkubert med ^3H -5-HT (20
nM) eller ^3H -NE (50 nM) i 5 minutter ved 4 °C.

ANALYSE 4

5 *Andre analyser*

Andre analyser som ble benyttet for å evaluere de farmakologiske egenskapene for
testforbindelsene inkluderer, men er ikke begrenset til, kaldligandbindingskinetikk-
analyser (Motulsky and Mahan (1984) Molecular Pharmacol. 25(1):1-9) med membra-
ner fremstilt fra celler som uttrykker hSERT eller hNET; konvensjonelle membranra-
dioligandbindingsanalyser ved bruk av radiomerket, for eksempel tritert, testforbin-
10 delse; radioligandbindingsanalyser ved bruk av nativ vevsform, fra for eksempel
gnager- eller menneskehjerne; neurotransmitteropptaksanalyser ved bruk av human-
eller gnagerplater; neurotransmitteropptaksanalyser ved bruk av urene eller rene sy-
naptosom-fremstillinger fra gnagerhjerne.

15 ANALYSE 5

Formalinpotetest

Forbindelser bedømmes med henblikk på deres evne til å inhibere oppførselsresponsen
som fremtvinges av en 50 µl injeksjon av formalin (5 %). Et metallbånd festes til den
venstre bakpoten på Sprague-Dawley-hannrotter (200-250 g) og hver rotte kondisjo-
20 neres til båndet i 60 minutter i en plastsylinder (15 cm diameter). Forbindelser frem-
stilles i farmasøytisk akseptable vehikler og administreres systemisk (*i.p.*, *p.o.*) ved på
forhånd bestemte tidsrom før formalinutfordringen. Spontan nociseptiv oppførsel be-
stående av rykking i den injiserte (med bånd) bakpote telles kontinuerlig i 60 minutter
ved bruk av en automatisert nocisepsjonsanalysør (UCSD Anesthesiology Research,
25 San Diego, CA). Antinociseptive egenskaper for testartiklene bestemmes ved å sam-
menlikne antall rykninger i vehikkel- og forbindelsesbehandlede rotter (Yaksh et al.,
"An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay"
(2001) J. Appl. Physiol. 90(6):2386-2402).

ANALYSE 6

30 *Spinalnerveligeringsmodell*

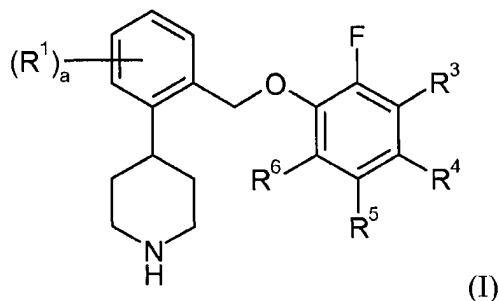
Forbindelser bedømmes med henblikk på evnen til å reversere taktilallodynı (økt sen-
sitivitet overfor en uskadelig mekanisk stimulus) indusert ved nerveskade. Sprague-
Dawley-hannrotter fremstilles kirurgisk som beskrevet av Kim og Chung i "An experi-
mental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation
35 in the rat" (1992) Pain 50(3):355-363. Mekanisk sensitivitet bestemmes som 50 %

tilbaketrekningsrespons overfor uskadelige mekaniske stimuli (Chaplan et al., "Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw" (1994) J. Neurosci. Methods 53(1):55-63) før, og etter nerveskade. Én til fire uker etter kirurgi fremstilles forbindelsene i farmasøytisk akseptable vehikler og administreres systemisk (*i.p.*, *p.o.*).

- 5 Graden av nerveskadeindusert mekanisk sensitivitet før og etter behandling tjener som en indeks for forbindelsenes antinociseptive egenskaper.

P a t e n t k r a v

1. Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d formel I:

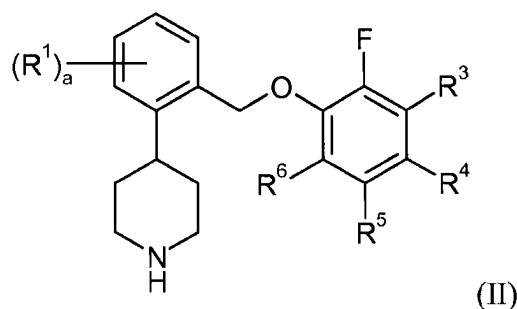


5 der:

a er 0, 1, 2, 3 eller 4; hver R^1 uavhengig er halo eller trifluormetyl; R^3 er hydrogen, halo eller $-C_{1-6}$ alkyl; R^4 , R^5 og R^6 uavhengig er hydrogen eller halo; eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

- 10 2. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er hydrogen, fluor, klor eller metyl.
3. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^4 er hydrogen, fluor, klor eller brom.
4. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^5 er hydrogen eller fluor.
- 15 5. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^6 er hydrogen, fluor, klor eller brom.
6. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at a er 0.
7. Forbindelse ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er hydrogen, fluor, klor eller metyl; R^4 er hydrogen, fluor, klor eller brom; R^5 er
20 hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor, klor eller brom.
8. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at a er 0, R^3 og R^5 er hydrogen og R^4 og R^6 er fluor.
9. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at a er 1.
- 25 10. Forbindelse ifølge krav 9, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 er 3-fluor, 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor.

11. Forbindelse ifølge krav 9, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er hydrogen eller fluor; R^4 er hydrogen eller fluor; R^5 er hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor eller klor.
12. Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at a er 2.
- 5 13. Forbindelse ifølge krav 12, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^1 er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-difluor.
14. Forbindelse ifølge krav 12, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 er hydrogen eller fluor; R^4 er hydrogen eller fluor; R^5 er hydrogen eller fluor; og R^6 er hydrogen, fluor eller klor.
- 10 15. Forbindelse med formel II ifølge krav 1:



;

k a r a k t e r i s e r t v e d at:

- (a) R^3 og R^5 er hydrogen, og
- (i) R^4 er fluor, R^6 er fluor og a er 0;
- 15 (ii) R^4 er fluor, R^5 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;
- (iii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-di-fluor;
- (iv) R^4 er fluor, R^6 er klor og a er 0;
- 20 (v) R^4 er klor, R^6 er fluor og a er 0; eller
- (vi) R^4 er brom, R^6 er klor og a er 0; eller
- (b) R^3 og R^4 er hydrogen, R^5 er fluor, R^6 er klor, og:
- (i) a er 0;
- (ii) a er 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor; eller
- 25 (iii) a er 2 og R^1 er 4,6-difluor; eller
- (c) R^4 og R^5 er hydrogen, R^6 er fluor og:
- (i) R^3 er fluor og a er 0;
- (ii) R^3 er fluor, a er 1 og R^1 er 3-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-

fluor;

(iii) R^3 er fluor, a er 2 og R^f er 4,6-difluor; eller

(iv) R^3 er klor eller metyl, og a er 0; eller

(d) R^3 , R^4 og R^5 er hydrogen og:

5

(i) R^6 er H og a er 0;

(ii) R^6 er H, a er 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor;

(iii) R^6 er fluor og a er 0;

(iv) R^6 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor eller 6-fluor;

(v) R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor eller 4,6-difluor;

10

(vi) R^6 er klor og a er 0;

(vii) R^6 er klor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 6-fluor eller 5-trifluormetyl;

(viii) R^6 er klor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor; eller

(ix) R^6 er brom og a er 0;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

15

16. Forbindelse ifølge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 og R^5 er hydrogen, og:

(i) R^4 er fluor, R^6 er fluor og a er 0;

(ii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-fluor;

20

(iii) R^4 er fluor, R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor, 4,6-difluor eller 5,6-di-fluor;

(iv) R^4 er fluor, R^6 er klor og a er 0;

(v) R^4 er klor, R^6 er fluor og a er 0; eller

(vi) R^4 er brom, R^5 er klor og a er 0.

25

17. Forbindelse ifølge krav 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^4 er fluor, R^6 er fluor og a er 0.

18. Forbindelse ifølge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 og R^4 er hydrogen, R^5 er fluor, R^6 er klor, og:

(i) a er 0;

30

(ii) a er 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor; eller

(iii) a er 2 og R^1 er 4,6-difluor.

19. Forbindelse ifølge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^4 og R^5 er hydrogen, R^6 er fluor, og;

(i) R^3 er fluor og a er 0;

35

(ii) R^3 er fluor, a er 1 og R^1 er 3-fluor, 5-fluor, 5-trifluormetyl eller 6-

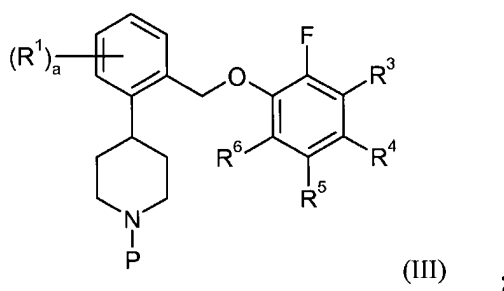
fluor;

- (iii) R^3 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,6-difluor; eller
- (iv) R^3 er klor eller metyl, og a er 0.

20. Forbindelse ifølge krav 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at R^3 , R^4 og R^5 er hydrogen, og:

- (i) R^6 er H og a er 0;
- (ii) R^6 er H, a er 1 og R^1 er 5-fluor eller 6-fluor;
- (iii) R^6 er fluor og a er 0;
- (iv) R^6 er fluor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 5-fluor eller 6-fluor;
- (v) R^6 er fluor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor eller 4,6-difluor;
- (vi) R^6 er klor og a er 0;
- (vii) R^6 er klor, a er 1 og R^1 er 4-fluor, 6-fluor eller 5-trifluormetyl;
- (viii) R^6 er klor, a er 2 og R^1 er 4,5-difluor; eller
- (ix) R^6 er brom og a er 0.

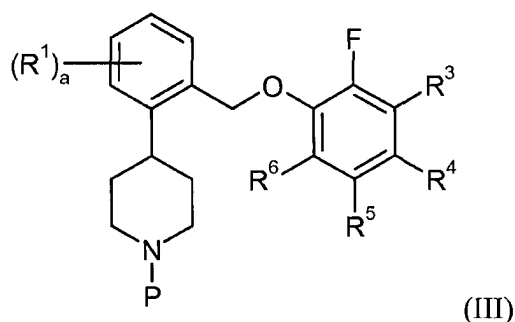
21. Forbindelse med formel III, anvendelig i syntesen av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 20:



k a r a k t e r i s e r t v e d at P er en aminobeskyttende gruppe valgt blant t-butoksykarbonyl, trityl, benzyloksykarbonyl, 9-fluorenylmetoksykarbonyl, formyl og benzyll; eller et salt derav.

22. Forbindelse ifølge krav 21, k a r a k t e r i s e r t v e d at a er 0, R^3 og R^5 er hydrogen og R^4 og R^6 er fluor.

23. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter debeskyttelse av en forbindelse med formel III:



eller et salt derav, der P representerer en aminobeskyttende gruppe, for å gi en forbindelse med formel II eller I.

- 5 24. Fremgangsmåte ifølge krav 23, k a r a k t e r i s e r t v e d a t a er 0, R³ og R⁵ er hydrogen og R⁴ og R⁶ er fluor.
25. Farmasøytisk preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det omfat-
ter en hvilken som helst av forbindelsene ifølge kravene 1 til 20 og en farma-
søytisk akseptabel bærer, eventuelt videre omfattende et andre terapeutisk
10 middel.
26. Preparat ifølge krav 25, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det er til
stede et andre terapeutisk middel som er valgt blant anti-Alzheimersmidler,
antikonvulsiva, antidepressiva, anti-Parkinsonsmidler, dualserotonin-
norepinefringjenopptaksinhibitorer, ikke-steroidiske anti-inflammatoriske midler,
15 norepinefringjenopptaksinhibitorer, opioidagonister, opioidantagonister, selek-
tive serotoningjenopptaksinhibitorer, natriumkanalblokkere, sympatolytika og
kombinasjoner derav.
27. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 20 for anvendelse i te-
rapi.
- 20 28. Forbindelse ifølge krav 27 for anvendelse ved behandling av en smerteforstyr-
relse, en depressiv forstyrrelse, en affektiv forstyrrelse, ADHD, en kognitiv for-
styrrelse, stressurinærinkontinens, kronisk tretthetssyndrom, fedme og va-
somotorsymptomer assosiert med menopausen.
- 25 29. Forbindelse ifølge krav 28, k a r a k t e r i s e r t v e d a t smerte-
forstyrrelsen er nevropatisk smerte eller fibromyalgi.

30. Forbindelse ifølge krav 27 for anvendelse ved behandling av kronisk korsryggsmerte eller osteoartritt.