



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2598503 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 471/10 (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.08.04
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.03.26
(86)	Europeisk søknadsnr	11737904.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.07.27
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2013.06.05
(30)	Prioritet	2010.07.28, EP, 10007822
(84)	Utpekte stater	AL 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 RS SE SI SK SM TR
(73)	Innehaver	Grünenthal GmbH, Zieglerstrasse 6, 52078 Aachen, DE-Tyskland
(72)	Oppfinner	LINZ, Klaus, Nachtigallengrund 5, 53359 Rheinbach, DE-Tyskland ZEMOLKA, Saskia, Am Kupferofen 3, 52066 Aachen, DE-Tyskland NOLTE, Bert, Windheckenweg 29, 53902 Bad Münstereifel, DE-Tyskland SCHUNK, Stefan, Maargasse 20, 52080 Aachen, DE-Tyskland SCHICK, Hans, Parkstrasse 36, 13086 Berlin-Weissensee, DE-Tyskland
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	CIS-TETRAHYDR0-SPIRO(SYKLOHEKSAN-1,1'-PYRIDO[3,4-B]INDOL)-4-AMIN-DERIVAT
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-2006/108565 WO-A1-2007/124903 WO-A1-2009/118173

CIS-TETRAHYDRO-SPIRO(SYKLOHEKSAN-1,1'-PYRIDO[3,4-B]INDOL)-4-AMIN-DERIVAT

Oppfinnelsen vedrører forbindelser som virker på nociseptin/ORL-1-reseptorsystemet samt μ -opioidreseptorsystemet og som særlig utmerker seg ved en selektiv effekt ved behandlingen av kronisk smerte (blant annet inflammasjonssmerte, visceral smerte, cancersmerte, foretrukket neuropatisk smerte) uten samtidig å oppvise en markant effekt ved akutt, nociseptiv smerte. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen dreier seg om cis-tetrahydro-spiro(sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol)-4-amin-derivater.

Kronisk smerte kan inndeles i to store grupper. Den patofysiologiske nociseptorsmerten forårsakes av vevstraumer ved eksitasjon av intakte nociseptorer. Til dette hører i særdeleshet kroniske inflammasjonssmerter. Smerter som derimot oppstår som følge av en mekanisk, metabolsk eller inflammasjonsrelatert skade i nervene selv, betegnes som nevropatisk smerte. Behandlingen av kronisk smerte representerer en stor medisinsk utfordring, ettersom legemidlene som for tiden finnes på markedet riktignok er til dels svært effektive ved akutt smerte, fører de i mange tilfeller av kronisk og især nevropatisk smerte ikke til tilfredsstillende smertebehandling.

Inflammasjonsprosesser hører til de viktigste mekanismene for smertegenerering. De typiske inflammasjonssmertene utløses på nociseptorene gjennom frisetting av bradykinin, histamin og prostaglandiner med en surgjøring av vevet og trykket av eksudat. Som et resultat av dette forekommer det hyppig sensibiliseringsfenomener i det sentrale nervesystemet, hvilke kommer til uttrykk i tiltakende nevronal spontanaktivitet og sterkere respons på stimulering av sentrale nevroner (Coderre et al. Pain 1993, 52, 259-285). Disse endringene i responsatferd fra sentrale nevroner kan bidra til spontan smerte og hyperalgesi (økt smertefølsomhet for en noksisk stimulus), hvilket er typisk for betent vev (Yaksh et al. PNAS 1999, 96, 7680-7686).

For behandlingen av inflammasjonssmerter har spesielt ikke-steroid antiinflammatoriske legemidler (NSAID) vist seg å være pålitelige, hvilke i tillegg til den analgetiske virkningen også har en antiinflammatorisk komponent (Dickensen, A., International Congress and Symposium Series - Royal Society of Medicine (2000), 246, 47-54). Deres anvendelse i langtidssterapi av kroniske

smerter er imidlertid begrenset til delvis betydelige bivirkninger, så som magesår eller toksiske nyreskader. Ved sterke til svært sterke inflammasjonssmerter (for eksempel i forbindelse med kronisk pankreatitt) reduserer NSAID smerten muligens bare litt, men fører på grunn av økt blødningsfare til for høy risiko. Det neste trinnet er i allminnelighet behandling med μ -opioider, hvorved det blant berørte personer er vid utbredelse av narkotikaavhengighet (Vercauteren et al., *Acta Anaesthesiologica Belgica* 1994, 45, 99-105). Det er derfor et stort behov for forbindelser som har god effekt ved inflammasjonssmerter og som har et redusert avhengighetspotensial.

Nevropatiske smerter oppstår når perifere nerver skades på en mekanisk, metabolsk eller inflammatorisk måte. På grunn av forekomsten av spontan smerte er smertebildene som derved oppstår i hovedsak kjennetegnet ved hyperalgesi og allodyni (smerten blir allerede utløst av ikke-noksiske stimuli). jf. Baron, *Clin. J. Pain* 2000;16 (2 Suppl), 12-20). Årsakene og manifestasjonene, og dermed behandlingsbehovene for nevropatisk smerte er variert. De oppstår som et resultat av skade eller sykdom i hjerne, ryggmarg eller perifere nerver. Årsaker kan være operasjoner (for eksempel fantomsmerter etter amputasjon), ryggmarksskader, slagtilfeller, multippel sklerose, alkohol- eller stoffmisbruk eller andre giftstoffer, kreftformer samt metabolske sykdommer som diabetes, gikt, nyresvikt eller levercirrhose og smittsomme sykdommer (som herpes zoster, mononukleose, anaplasmos, tyfus, difteri, HIV, syfilis eller borreliose) å være. Opplevelsen av smerte har svært forskjellige tegn og symptomer (f.eks prikking, brenning, skytende, elektrifiserende eller utstrålende smerter), hvilke kan endres i antall og intensitet over tid.

Til farmakologisk behandling av nevropatisk smerte hører trisykliske antidepressiva og antikonvulsiva, som anvendes som monoterapi eller i kombinasjon med opioider. Disse legemidlene gir vanligvis bare en viss smertelindring, mens smertefrihet ofte ikke oppnås. De hyppig oppstående bivirkningene står da ofte i veien for doseøkninger av legemiddelet for oppnåelse av en tilstrekkelig smertelindring. Faktisk er det for tilfredsstillende behandling av nevropatisk smerte ofte nødvendig med en høyere dose av et μ -opioid, som ved behandlingen av akutt smerte, hvorigjennom bivirkningene får en enda større betydning. Det er derfor vanskelig å behandle nevropatisk smerte i dag. Den blir selv ved høye doser av nivå 3-opioider bare delvis lindret (*Saudi Pharm. J.* 2002, 10 (3), 73-85).

Opioider som brukes i behandlingen av nevropatisk smerte, virker som regel samtidig mot akutt smerte. En atskillelse av behandlingen av nevropatisk smerte på den ene side og av akutt smerte på den annen side, har inntil nå ikke vært mulig. Avhengig av doseringen av opioider blir derfor enhver smerte hos pasienten undertrykket, noe som kan være en ulempe. Derved har akutte smerter en beskyttende funksjon i kroppen, hvilken går tapt når fornemmelsen av akutte smerter påvirkes eller undertrykkes. Det er derfor et behov for å bevare den generelle smertefornemmelsen kombinert med bekjempelse av nevropatisk smerte.

Spirosykliske sykloheksanderivater som har effekt på nociseptin/ORL-1- og μ -opioidreseptorsystemet er kjent innen teknikken. Disse forbindelsene kjennetegnes blant annet ved en usedvanlig stor strukturvariasjon og er egnet blant annet for behandling av inflammatorisk og nevropatisk smerte. I denne sammenheng kan det for eksempel i sin helhet vises til WO 2004/043967, WO2005/063769, WO2005/066183 og WO2006/108565.

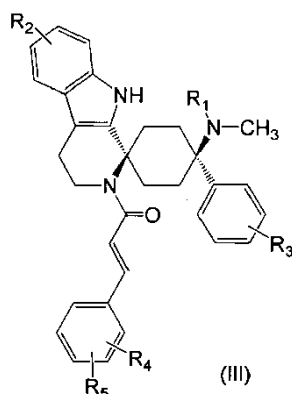
Det er et behov for legemidler som er effektive ved behandlingen av kronisk, spesielt nevropatisk smerte og som samtidig påvirker fornemmelsen av akutt smerte i minst mulig grad. Hvis mulig, skal dette legemiddelet inneholde en så lav dose virkestoff at en tilfredsstillende smertebehandling kan sikres uten at ikke-tolererbare bivirkninger oppstår.

Oppfinnelsens formål er å tilveiebringe nye forbindelser som er egnet som legemidler og som oppviser fordeler sammenlignet med forbindelser fra kjent teknikk.

Denne oppgaven er løst gjennom innholdet i patentkravene.

Oppfinnelsen vedrører forbindelser med den generelle formelen (III)

4



hvor

R_1 er -H eller CH_3 er

R_2 er -H eller-halogen;

R_3 er -H eller-halogen;

R_4 er-H, -halogen eller $-\text{OC}_{1-3}$ -alkyl; og

R_5 er -H,-halogen, eller $-\text{OC}_{1-3}$ -alkyl

i form av de frie basene eller fysiologisk akseptable saltene.

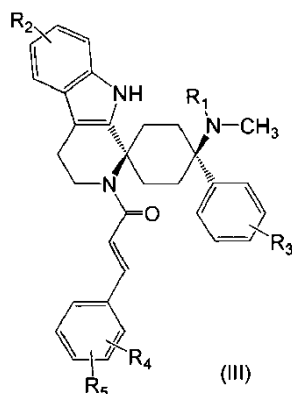
Det ble overraskende funnet at forbindelsene ifølge oppfinnelsen virker på nociseptin/ORL-1- og -opioidreseptorsystemet og samtidig er spesielt effektive til å undertrykke fornemmelsen av akutt smerte ved behandlingen av kronisk smerte, spesielt nevropatisk smerte. I tillegg oppviser disse forbindelsene overraskende nok – hvis i det hele tatt – kun svært få opoidtypiske bivirkninger i analgetisk effektivt doseringsområde.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen oppviser en meget høy analgetisk effekt ved behandlingen av kronisk smerte, spesielt nevropatisk smerte, fortrinnsvis som følge av poly- eller mononevropatiske sykdommer.

Det er overraskende blitt funnet at forbindelsene ved doseringer som fører til en nesten fullstendig opphevelse av den nevropatiske smerten i mono- eller polynevropatimodeller, hos friske dyr og i friskt vev hos mononevropatiske dyr, ikke har noen effekt på den normale nocisepsjonen. Dette betyr at disse forbindelsene opphever den patologiske tilstanden (allodynii og hyperalgesi), samtidig som de - hvis i det hele tatt - i beste fall bare marginalt påvirker den normale smertefornemmelsen. Den antinociseptive virkningen av forbindelsene på den akutte smerten er derfor ubetydelig.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen tillater således selektiv effekt mot kronisk smerte, fortrinnsvis mot nevropatisk smerte, foretrukket mot mononevropatisk / eller nervesmerter polynevropatisk, mer foretrukket mot smerter i post-herpetisk nevralgi eller diabetisk polyneuropati, fortrinnsvis med ubetydelig anti-nociseptiv effekt ved akutt smerte. Denne uvanlige egenskapen for forbindelsene ifølge oppfinnelsen er av grunnleggende betydning for den totale smerteterapien.

Et første aspekt ved oppfinnelsen vedrører forbindelser med den generelle formelen (III)



hvor

R_1 -H eller CH_3 er; foretrukket $-\text{CH}_3$;

R_2 -H eller-halogen; fortrinnsvis-H eller-F; mer foretrukket-H;

R_3 er -H eller -halogen; foretrukket halogen; spesielt foretrukket -F;

R_4 er -H, -halogen eller- OC_{1-3} -alkyl; foretrukket -H eller $-\text{OCH}_3$;

R_5 er -H, -halogen eller- OC_{1-3} -alkyl; foretrukket -H eller $-\text{OCH}_3$; og

i form av de frie basene eller fysiologisk akseptable saltene.

Det dreier seg ved forbindelsene med den generelle formelen (III), om fenyleddiksyreamidderivater.

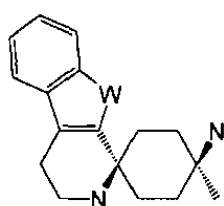
Forbindelsene ifølge oppfinnelsen representerer et utvalg av forbindelsene som er beskrevet i WO2004/ 043967, WO2005/066183 og WO2006/108565. Det er overraskende blitt funnet at spiroaminene ifølge oppfinnelsen, hvilke mht. de to nitrogenatomene har cis-konfigurasjonen på sykloheksanringen (cis-tetrahydro-spiro-(sykloheksan-1, 1'-pyrido [3,4-b] indol)- 4-amin-derivater), byr på fordeler i forhold til de andre heterosyklene.

Dermed har cis-spiroamidene ifølge oppfinnelsen, i motsetning til de andre forbindelsene WO2004/ 043967, WO2005/066183 og WO2006/108565 i dyremodeller en utmerket virkning mot kronisk nevropatisk smerte, foretrukket smerte ved diabetisk polyneuropati, uten å vise en signifikant effekt mot akutt smerte i den terapeutiske dosen som kreves for dette formålet. Ettersom konvensjonelle analgetika med virkningsmekanisme mot akutt smerte er forbundet med tallrike bivirkninger, utmerker de spirosykliske cissubstituerte sykloheksanderivatene ifølge oppfinnelsen seg med en spesielt fordelaktig bivirkningsprofil, særlig med hensyn til opioidtypiske bivirkninger.

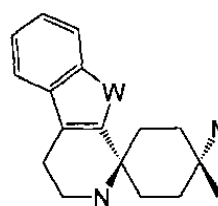
Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er fortrinnsvis akirale; hoveddelen av den generelle formelen (III) inneholder ingen kiralitetselementer (sentrum, akse eller plan).

Ved de oppfinneriske forbindelsene dreier det seg med hensyn til spiro-ringsystemet om isomerer, hvor substitusjonsmønsteret på spiro-sykloheksanringsystemet –ikke på indolet) også kan betegnes med cis/trans, Z/E eller syn/anti. «Cis-trans-isomerer» er en undergruppe av stereoisomerer (konfigurasjonsisomerer).

Ved forbindelsene ifølge oppfinnelsen er de to nitrogenatomene i spiroaminet hver hhv. syn-eller cis eller Z til hverandre:



cis-spiroamin

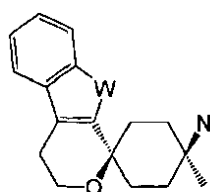


trans-spiroamin

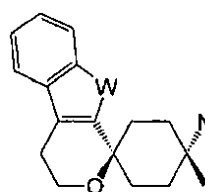
I en foretrukket utførelsesform utgjør den såkalte cis-isomerens diastereomeroverskudd minst 50 %de, foretrukket minst 75 %de, enda mer foretrukket minst 90 %de, mest foretrukket minst 95 %de og især minst 99 %de.

Egnede metoder til utskillelse av isomerer (diastereomerer) er kjent for fagmannen. Som eksempler kan nevnes søylekromatografi, preparativ HPLC og krystalliseringsmetode. Også fremgangsmåten med målrettet syntese, der den ene isomeren er dannet i overskudd, er i prinsippet kjent for fagmannen.

Fordelene med cis-isomeren er også spesielt overraskende, ettersom det i de strukturelt beslektede spiroeterne vanligvis ikke er cis-isomeren, men trans-isomeren som fra et farmakologisk synspunkt oppviser fordelaktige egenskaper (som imidlertid delvis er av en annen karakter enn fordelene med cis-spiroaminene ifølge oppfinnelsen):



cis-spiroeter



trans-spiroeter

I en foretrukket utførelsesform er forbindelsene ifølge oppfinnelsen i form av de frie basene.

I en annen foretrukket utførelsesform foreligger forbindelsene ifølge oppfinnelsen i form av de frie de fysiologisk akseptable saltene.

15

For denne beskrivelsens formål betyr «salt» enhver form av forbindelsen, i hvilket dette antar eller er ladet i en ionisk form og kobles til eller befinner seg i løsning med et mot-ion (et kation eller anion). Herunder menes også komplekser av forbindelsen med andre molekyler og ioner, særlig komplekser som er assosiert via ioniske vekselvirkninger. Foretrukne salter er fysiologisk akseptable, spesielt fysiologisk akseptable salter med anioner eller syrer, eller et salt dannet av et fysiologisk akseptabelt syre.

20

25

Fysiologisk akseptable salter med anioner eller syrer er salter av den aktuelle forbindelsen med hhv. uorganiske eller organiske syrer, som er fysiologisk akseptable – især ved anvendelse hos mennesker og/eller pattedyr. Eksempler på fysiologisk akseptable salter av bestemte syrer er salter av: saltsyre, bromsyre, svovelsyre, metansulfonsyre, maursyre, eddiksyre, oksalsyre, ravsyre, eplesyre, vinsyre, mandelsyre, fumarsyre, melkesyre, sitrønsyre, glutaminsyre, sakkarinsyre, monometylbacinsyre, 5-okso-prolin, heksan-1-sulfonsyre, nikotinsyre, 2-, 3- eller 4-aminobenzosyre, 2,4,6-trimetylbencosyre, α-liponsyre, acetylglycin, acetylsalisylsyre, hippursyre og/eller asparaginsyre. Spesielt foretrukket er hydrokloridet, sitratet og hemisitatet.

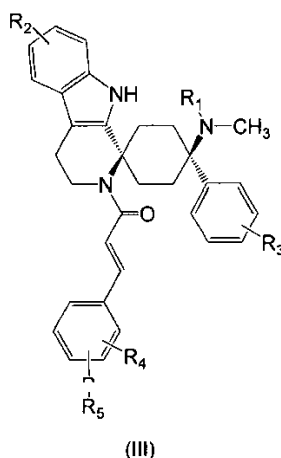
30

I en foretrukket utførelsesform er forbindelsen ifølge oppfinnelsen til stede i form av den frie forbindelsen eller som et fysiologisk akseptabelt salt, men fortrinnsvis verken som salt av benzensulfonsyre, eller som salt av saltsyre eller salt som av sitronsyre.

For denne beskrivelsens formål betyr «halogen» fortrinnsvis -F,-Cl,-Br eller -I, fortrinnsvis F-, eller-Cl, spesielt-F.

For denne beskrivelsens formål betyr «C₁₋₃-alkyl» uavhengig lineære eller forgrenet, mettet eller enkelt- eller flerumettet. Derved omfatter «C₁₋₃-alkyl» asyklisk mettede eller umettede hydrokarbonrester som kan være forgrenet eller rettkjedet, dvs. C₁₋₃-alkanyler, C₁₋₃-alkenyler og C₁₋₃-alkinyler.

Foretrukne utførelsesformer av forbindelser med den generelle formelen (III) er forbindelser med en generelle formelen (III):

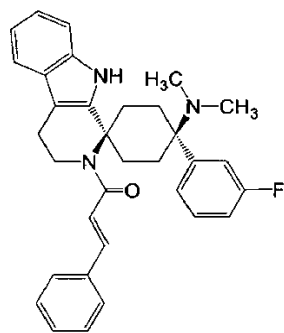


i form av de frie basene eller fysiologisk akseptable salter i hvilke R₂ er -H og/eller R₃ er -F.

Det er foretrukket at R₄ og R₅ enten begge er -H eller begge er -OCH₃.

I en spesielt foretrukket utførelsesform vedrører oppfinnelsen forbindelsen med den generelle formelen (VI),

9



(VI)

I form av den frie basen eller fysiologisk akseptable salter.

5 Den frie basen i forbindelsen med den generelle formelen (VI) kan systematisk betegnes (E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetylamino)-4-(3-fluorofenyl)-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido-[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on. Fortrinnsvis foreligger denne forbindelsen som en fri base, som hydroklorid, som sitrat eller som hemisitat.

Spesielt foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er valgt fra gruppen bestående av

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N, N-dimetyl-4-fenyl-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetylamino)-4-fenyl-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on.	AMD-1 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)-karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(Dimetylamino)-4-(3-fluorofenyl)-3',4'-dihydro-spiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on	AMD-5 ^{cis} AMD-6 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-Tetrahydro-N,N-dimetyl-6'-fluor-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenyl-vinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(Dimetylamino)-6'-fluoro-4-(3-fluorofenyl)-3',4'-	AMD-8 ^{cis}

dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on	
(E)-2',3',4',9'-Tetrahydro-N,N-dimetyl-6'-fluor-4-fenyl-2'-(2-fenylvinyl)kar-bonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(Dimetylamino)-6'-fluoro-4-fenyl-3',4'-dihydrospiro-[sykloheksen-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on	AMD-10 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-Tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(4-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)kar-bonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer) eller (E)-1-((1s,4s)-4-(Dimetylamino)-4-(4-fluorfenyl)-3',4'-dihydrospiro-[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on	AMD-12 ^{cis}

og deres fysiologisk akseptable salter og/eller solvater, spesielt de frie basene, hydrokloridene, sitratene eller hemisitatene.

- 5 Et annet aspekt av oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge oppfinnelsen som anvendelse som legemiddel.

Et ytterligere aspekt av oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse for anvendelse i behandling av nevropatisk og/eller kronisk smerte, 10 hvorved det er foretrukket at anvendelsen utføres to ganger daglig, én gang daglig, eller mer sjeldnere, fortrinnsvis ikke mer enn én gang daglig.

Et annet formål med oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge oppfinnelsen for anvendelse ved behandlingen av kronisk smerte. Det er foretrukket at kronisk 15 smerte er valgt fra gruppen bestående av inflammasjonssmerte, visceral smerte, cancersmerte og nevropatisk smerte. Den nevropatiske smerten kan ha mononevropatisk/nevralgisk eller polynevropatisk opprinnelse.

Et annet formål med oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge oppfinnelsen for anvendelse ved behandlingen av smerte ved diabetisk polyneuropati. 20

Et annet formål med oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge oppfinnelsen for anvendelse ved behandlingen av smerte som følge av postherpetisk nevralgi.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen egner seg til behandlingen av nevropatisk smerte, fortrinnsvis av mononevropatisk/nevralgisk eller polynevropatisk smerte. Foretrukket er smerte i form av perifer polynevropatisk smerte eller sentral polynevropatisk smerte.

Foretrukket er polynevropati eller polynevropatiske smerter akutt (inntil fire uker), subakutt (fire til åtte uker) eller kronisk (mer enn åtte uker).

Ved polynevropati er motoriske, sensoriske, autonome, sensorisk-motoriske eller det sentrale nervesystemet foretrukket. Fortrinnsvis er symptomene fordelt symmetrisk eller asymmetrisk. Smerten kan være mild, moderat, middels sterk, sterk eller meget sterk. Som målestokk kan den nevropatiske smerteskalaen (NPS) brukes (se B.S. Galer et al. Neurology 1997, 48, 332-8).

Eksempler på årsaker til perifer nevropatisk smerte inkluderer diabetisk polynevropati, postherpetisk nevralgi, radikulopati, posttraumatiske nervesmerter, polynevropati induert gjennom kjemiske substanser, eksempel kjemoterapiindusert, fantomsmerter i ekstremiteter, komplekst regionalt syndrom, HIV-indusert sensorisk polynevropati og alkoholisk polynevropati. Eksempler på årsaker til sentral polynevropatisk smerte er kompressiv myelopati som følge av innsnevret kanalstenose, posttraumatisk spinalmerter, slagsmerter, postiskemisk myelopati, strålingsindusert myelopati, myelopati gjennom multipel sklerose og HIV-indusert myelopati.

I en foretrukket utførelsesform er nevropatien som forårsaker den nevropatiske smerten assosiert med en sykdom valgt ut fra gruppen som består av diabetes mellitus, vaskulitt, uremi, hypotyreodisme, alkoholmisbruk, postherpetisk nevralgi, idiopatisk nevropati, kronisk inflammatorisk demyeliniserende nevropati, multifokal motorisk nevropati, arvelig polynevropati, Guillain-Barré-syndrom, intoksikasjon [f.eks. pga. alkohol, tungmetaller {særlig Pb, Hg, As}, hydrokarboner, etter en kjemoterapi med cytostatika], porfyri, infeksjonssykdommer, kreftsykdommer [f.eks. myelom, amyloid, leukemi, lymfomer], pernisiøs anemi, vitamin-E-mangel, Refsum-sykdom, Bassen-Kornzweigs sykdom, Fabrys sykdom, vaskulitt og amyloidose. Diabetisk polynevropati og postherpetisk nevralgi er spesielt foretrukket. Hvis det dreier seg

om en infeksjonssykdom, er denne fortrinnsvis valgt fra gruppen som består av mononukleose, anaplasrose, tyfus, difteri, lepra, HIV, syfilis og borreliose.

5 Foretrukket dreier det seg ved polyneuropatisk smerte om smerte som forårsakes av en polyneuropati i henhold til ICD-10 (Internasjonal statistisk klassifikasjon av sykdommer og beslektede helseproblemer, WHO-utgivelse, fortrinnsvis revisjon 2008).

10 Et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen vedrører forbindelsen ifølge oppfinnelsen til bruk ved behandling av angsttilstander, stress og stressrelaterte syndromer, depresjon, epilepsi, Alzheimers sykdom, senil demens, generell kognitiv dysfunksjon, lærings- og hukommelsesforstyrrelser (som nootropikum), abstinenssymptomer, alkohol- og/eller narkotika- og/eller rusmisbruk og/eller -

15 avhengighet, seksuell dysfunksjon, hjerte-og karsykdommer, hypotensjon, hypertensjon, tinnitus, kløe, migræne, døvhets, mangel på tarmmotilitet, nedsatt næringsopptak, anoreksi, overvekt, motoriske forstyrrelser, diaré, kakeksi, urininkontinens eller som et muskelavslappende middel, antikonvulsivum eller anestetikum eller for samtidig administrering i behandling med et opioid analgetikum eller anestetikum, for diurese eller antinatriurese, anxiolyse,

20 modulering av motorisk aktivitet, modulering av nevrotransmitterfrigivelse og behandling av relaterte nevrodegenerative sykdommer, for behandling av abstinenssymptomer og/eller for å redusere det avhengighetsskapende potensialet ved opioider.

25 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan brukes ved fremgangsmåter for behandling, især i en av de tidligere nevnte indikasjonene, av et ikke-humant pattedyr eller menneske som trenger behandling for kronisk smerte, fortrinnsvis nevroatiske smerter, foretrukket smerter ved diabetisk polyneuropati eller postherpetisk nevralgi, gjennom administrasjon av en individuell terapeutisk nødvendig daglig

30 dose av en forbindelse ifølge oppfinnelsen, eller en doseringsform ifølge oppfinnelsen, der det fortrinnsvis ikke samtidig skjer en signifikant undertrykking av fornemmelsen av akutt nociseptiv smerte og/eller det ikke oppstår noen signifikante opioid-typiske bivirkninger, især i vesentlig grad ingen respirasjonsdepresjon og/eller ingen obstipasjon og/eller ingen urinretensjon og/eller ingen kvalme

35 og/eller brekning og/eller ingen hypotoni og/eller ingen bradykardi og/eller intet rusmisbruk og/eller ingen avhengighet og/eller ingen euforisering og/eller ingen depresjon og/eller ingen sedasjon og/eller ingen svimmelhet.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan også brukes ved fremgangsmåter for behandling, især i en av de tidligere nevnte indikasjonene, av et ikke-humant pattedyr eller menneske som trenger behandling for kronisk smerte, fortrinnsvis

5 nevropatiske smerter, mer foretrukket smerter ved diabetisk polyneuropati eller postherpetisk nevralgi, gjennom administrasjon av en daglig dose X av en forbindelse ifølge oppfinnelsen, eller en doseringsform ifølge oppfinnelsen, der det fortrinnsvis ikke samtidig skjer en signifikant undertrykking av fornemmelsen av akutt nociseptiv smerte og/eller det ikke oppstår noen signifikante opioid-typiske

10 bivirkninger, især i vesentlig grad ingen respirasjonsdepresjon og/eller ingen obstipasjon og/eller ingen urinretensjon og/eller ingen kvalme og/eller brekning og/eller ingen hypotoni og/eller ingen bradykardi og/eller intet rusmisbruk og/eller ingen avhengighet og/eller ingen euforisering og/eller ingen depresjon og/eller ingen sedasjon og/eller ingen svimmelhet; hvorved den daglige dosen X er valgt

15 fra gruppen bestående av 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg.

En videre gjenstand for oppfinnelsen vedrører forbindelsene ifølge oppfinnelsen

20 med affinitet til μ -opioid-reseptoren og til ORL-1-reseptoren, som

- ved behandling av nevropatisk smerte, foretrukket på rotte, mer foretrukket som mononevropatisk smerte i modell etter Chung, er signifikant effektiv og derved kjennetegnet ved en halvmaksimal virksam dosering ED_{50}^n og
- ved behandling av akutt smerte, foretrukket på rotte, foretrukket i Tail-Flick-

25 test, i en dosering som er høyere enn ED_{50}^n i en faktor på 5, i vesentlig grad ikke er signifikant virksomme.

Dermed fremviser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon i denne halvmaksimale effektive doseringen ED_{50}^n , noe som er definert med tanke på

30 effekten til forbindelsen mot nevropatisk smerte, og selv i en dosering som er høyere enn ED_{50}^n i en faktor på fem - hvis i det hele tatt - i alle tilfeller en neglisjerbar antinociseptiv virkning ved akuttsmerter, foretrukket hos rotte, mer foretrukket i Tail-Flick-testen.

35 I en foretrukket utførelsesform dreier det seg ved nevropatisk smerte om mononevropatisk eller nevralgisk smerte, fortrinnsvis om smerte som følge av

en post-herpetisk nevralgi. I en annen utførelsesform dreier det seg ved smerte om polynevropatisk smerte, foretrukket om smerte ved diabetisk polynevropati.

5 Foretrukket er forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv i en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 eller 50, foretrukket faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket faktor 200, 300, 400 eller 500, mest foretrukket faktor 600, 700, 800 eller 900, og spesielt faktor 1000 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , i vesentlig grad ikke signifikant effektive ved behandling av akutt eller nociseptiv smerte.

10

Den halvmaksimale effektive doseringen ED_{50}^n er kjent for fagmannen. Den er fortrinnsvis definert som den doseringen som med tanke på behandling av nevropatisk smerte oppnår 50 % av maksimal terapeutisk effekt. Tilsvarende kan en halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^a defineres som den doseringen som med tanke på behandling av akutt smerte oppnår 50 % av maksimal terapeutisk effekt. 15 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er imidlertid definert via ED_{50}^n , men ikke via ED_{50}^a .

20

Egnede metoder for å undersøke effekten til et virkestoff ved behandling av nevropatisk smerte og beregning av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n ved behandling av nevropatisk smerte er kjent for fagmannen. Dette gjelder også for undersøkelse av effekten til et virkestoff mot akuttsmerte.

25

Eksempelvis kan dette bestemmes i dyremodellen (f.eks. mus eller rotte), hvorved

30

- mononevropatisk smerte i henhold til Chung (S.H. Kim, J.M. Chung, Pain. 1992, 50(3), 355-63) eller Bennett (G.J. Bennett, Y.K. Xie, Pain. 1988, 33(1), 87-107),
- smerte ved diabetisk polynevropati etter streptozotocin(STZ)-indusert diabetes (E.K. Joseph, J.D. Levine, Neuroscience. 2003;120(4):907-13) og
- akuttsmerter i den såkalte *Tail-Flick*-testen (D'Amour and Smith, J. Pharm. Exp. Ther. 72, 1941, 74-9)

kan undersøkes.

35

Foretrukket foregår bestemmelsen i dyremodellen, og det med tanke på effekten ovenfor mononevropatisk smerte hos rotten etter modell av Chung og med tanke på virksamheten mot akuttsmerter i rotten i en *Tail-Flick*-test, fortrinnsvis som beskrevet i den eksperimentelle delen.

Dermed fremviser forbindelsene ifølge oppfinnelsen foretrukket en affinitet til μ -opioid-reseptoren og til ORL-1-reseptoren, som i rotten

- ved behandling av mononevropatisk smerte i modell etter Chung er signifikant effektiv og derved er kjennetegnet med en halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n og
- ved behandling av akutt smerte i *Tail-Flick*-testen med en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n ikke er signifikant effektiv.

10 Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av variansanalyse med gjentatte målinger (repeated measures ANOVA) samt en post hoc-analyse etter Bonferroni, foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved er
15 signifikansnivået satt til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=10$.

I prinsippet kan den sammenlignende bestemmelsen av analgetisk effekt mot nevropatisk smerte og akutt, nociseptiv smerte også finne sted på menneske, men dette er bl.a. av etiske årsaker mindre foretrukket. Undersøkelsen av effekt
20 mot nevropatisk smerte, dvs. ved pasienter som lider av nevropatiske smerter, kan da foregå iht. Hansson P, Backonja M, Bouhassira D. (2007). Usefulness and limitations of quantitative sensory testing: clinical and research application in neuropathic pain states. *Pain*. 129(3): 256-9. Undersøkelse av effekten mot akuttsmerter kan da foregå iht. Posner J, Telekes A, Crowley D, Phillipson R,
25 Peck AW. (1985). Effects of an opiate on cold-induced pain and the CNS in healthy volunteers. *Pain*. 23(1):73-82.

Det ble overraskende funnet at forbindelsene ifølge oppfinnelsen utmerker seg med en svært gunstig bivirkningsprofil sammenlignet med brukbare trinn-3-opioider. Slik
30 ble det selv ved administrasjon av terapeutisk effektiv dosering, slik det særlig er nødvendig for behandling av nevropatisk smerte, observert ingen eller bare begrenset utpregede opioid-typiske bivirkninger, som f.eks. respirasjonsdepresjon, obstipasjon, urinretesjon, kvalme, brekninger, hypotoni, bradykardi, rusmisbruk, avhengighet, euforisering, depresjon, sedasjon eller svimmelhet. Hittil har den
35 kraftig reduserte forekomsten av opioid-typiske bivirkninger som respirasjonsdepresjon, obstipasjon, hypotoni, bradykardi, forstyrrelse på motorisk

koordinasjonsevne (som mål for sentral-nervøse bivirkninger), kroppslig samt psykisk avhengighet vært vist eksperimentelt i dyremodeller.

- 5 I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekt er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant respirasjonsdepresjon som bivirkning, foretrukket på rotte, mer foretrukket i blodgassanalyse-modell. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv
- 10 ved en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 oder 50, mer foretrukket med faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket med faktor 200 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , ingen signifikant respirasjonsdepresjon som bivirkning.
- 15 Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert respirasjonsdepresjon er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i en blodgassanalysemodell på rotte som endring av arteriell O_2 og CO_2 partialtrykk. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene
- 20 foregår foretrukket ved hjelp av enkeltfaktor-variensanalyse (one-way ANOVA) samt en post hoc analyse etter Dunnett, foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=6$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.
- 25 I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekt er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant obstipasjon
- 30 som bivirkning, foretrukket på mus, mer foretrukket i kullpassasjetest. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv ved en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 oder 50, mer foretrukket med faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket med faktor 200, 300, 400 oder 500, mest foretrukket med faktor 600 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n ,
- 35 ingen signifikant obstipasjon som bivirkning.

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert obstipasjon er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i en kullpassasjemodell på mus som endring av den gastrointestinale transitthastighet. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av enkeltfaktor-variensanalyse (one-way ANOVA) samt en post hoc analyse etter Dunnett, foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=10$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.

I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens virksomhet er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant hypotoni som bivirkning, foretrukket på våken kanin, mer foretrukket i kretsløpmodell på våken, telemetrert kanin. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv ved en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 oder 50, mer foretrukket med faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket med faktor 200 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , ingen signifikant hypotoni som bivirkning.

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert hypotoni er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i en kretsløpmodell med våken, telementrert kanin som endring i det arterielle blodtrykket (systolisk, diastolisk og middelverdi). Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av enkeltfaktor-variensanalyse (one-way ANOVA) samt en post hoc analyse etter Dunnett, foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=6$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.

I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekt er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant bradykardi som bivirkning, foretrukket på våken kanin, mer foretrukket i kretsløpmodell på

våken, telemetrert kanin. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv ved en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 oder 50, mer foretrukket med faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket med faktor 200 i forhold til halvmaksimal dosering ED_{50}^n , ingen signifikant bradykardi som bivirkning.

5

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert bradykardi er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i en kretsløpmodell på våken, telemetrert kanin som endring i hjertefrekvensen. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en post hoc analyse etter Dunnett, foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=6$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.

10

15

I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekt er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant forstyrrelse på den motoriske koordinasjonsevnen (som mål for sentralnervøse bivirkninger) som bivirkning, foretrukket på mus, mer foretrukket i RotaRod-test. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv i en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 eller 50, foretrukket faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket faktor 200, 300, 400 eller 500, mest foretrukket faktor 600, 700, 800 eller 900, og spesielt faktor 1000 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , ingen signifikant forstyrrelse på den motoriske koordinasjonsevnen (som mål for sentralnervøse bivirkninger) som bivirkning.

20

25

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert forstyrrelse på motorisk koordinasjonsevne er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i en RotaRod-modell på mus (analogt til Kuribara H., Higuchi Y., Tadokoro S. (1977), Effects of central depressants on Rota-Rod and traction performance in mice. Japan. J. Pharmacol. 27, 117-126.) som endring av evnen til å løpe på en roterende stav. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en post hoc analyse etter Dunnett,

30

35

foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=10$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.

5 I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekt er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant kroppslig avhengighet eller abstinenssymptomer som bivirkning, foretrukket på mus, mer
10 foretrukket i jumping-test. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv i en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 eller 50, foretrukket faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket faktor 200, 300, 400 eller 500, mest foretrukket faktor 600, 700, 800 eller 900, og spesielt faktor 1000 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , ingen signifikant
15 kroppslig avhengighet eller abstinenssymptomer som bivirkning.

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert kroppslig avhengighet er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen i jumping-modell på mus (analogt til Saelens JK, Arch Int Pharmacodyn 190: 213-218, 1971) som
20 nalxonindusert avvenning. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av Fishers eksakte test for parameteren «Antall dyr med avvenningssymptomatikk» samt ved hjelp av Kruskal-Wallis test for parameteren «Hoppefrekvens» foretrukket som
25 beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=12$. Se i den eksperimentelle delen for nærmere detaljer om denne dyremodellen.

I en foretrukket utførelsesform viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved administrasjon av halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , som med tanke på forbindelsens effekti er definert mot nevropatisk smerte, og foretrukket selv i en dosering som er økt med faktor 5 i forhold til ED_{50}^n , ingen signifikant psykisk avhengighet eller rusmisbruk som bivirkning, foretrukket på rotte, mer
30 foretrukket ved hjelp av kondisjonert plasspreferanse. Foretrukket viser forbindelsene ifølge oppfinnelsen selv i en dosering som er økt med faktor 10, 20, 30, 40 eller 50, foretrukket faktor 75, 100, 125, 150 eller 175, enda mer foretrukket faktor 200, 300, 400 eller 500, mest foretrukket faktor 600, 700,
35

800 eller 900, og spesielt faktor 1000 i forhold til halvmaksimal effektiv dosering ED_{50}^n , ingen signifikant psykisk avhengighet eller rusmisbruk som bivirkning.

Egnede metoder for å undersøke virkestoffindusert psykisk avhengighet er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår undersøkelsen ved hjelp av kondisjonert plasspreferanse ved rotter, foretrukket som beskrevet i Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. and Friderichs, F. (2002) Lack of sensitization during place conditioning in rats is consistent with the low abuse potential of tramadol. Neuroscience Letters 329, 25-28. Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller i dyrenes preferanse for virkestoffet eller vehikkelet foregår foretrukket ved hjelp av paret t-test. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=8$. For nærmere detaljer om denne dyremodellen, se metodebeskrivelsen i Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. and Friderichs, F. (2002) Neuroscience Letters 329, 25-28.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen egner seg til behandling av kroniske smerter, foretrukket nevropatisk smerte, mer foretrukket mot mononevropatisk/nevralgisk eller polynevropatisk smerte, enda mer foretrukket mot smerte ved post-herpetisk nevralgi eller diabetisk polyneuropati.

Fagfolk kjenner definisjonene på forskjellige former for kronisk smerte. I denne sammenhengen kan det eksempelvis henvises til Merskey H., Bogduk N. Classification of chronic pain. Seattle: IASP Press 1994, Bennett G.J., Anesth Analg. 2003, 97, 619-20, samt Backonja M.M., Anesth Analg. 2003, 97, 785-90.

Av hensyn til beskrivelsen er kronisk smerte fortrinnsvis definert som en smertesymptomatikk som består over et lengre tidsrom (vanligvis minst 3, 4, 5 eller 6 måneder), som vedvarer ut over normal tilhelingstid. Fortrinnsvis er nevropatisk smerte definert som smerte eller sensorisk fenomen, som forårsakes av lesjon, sykdom eller dysfunksjon i det sentrale eller perifere nervesystemet. Av hensyn til beskrivelsen er akutt smerte fortrinnsvis definert som en ubehagelig sensorisk og følelesmessig erfaring, som opptrer sammen med akutt eller potensiell vevsskade eller beskrives i form av slike skader (jf. definisjonen til International Association for the Study of Pain® (IASP)).

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen oppviser fortrinnsvis en K_i -verdi på μ -opioidreseptoren på høyst 1000 nM, mer foretrukket høyst 500 nM, enda mer foretrukket 100 nM, mest foretrukket høyst 50 nM og især høyst 25 nM.

5 Metoder for å bestemme K_i -verdien på μ -opioidreseptoren er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår bestemmelsen i en homogen batch i mikrotiterplater. For dette formålet blir fortrinnsvis fortynningsrekker med hver substans som skulle prøves, inkubert med en reseptormembranpreparasjon (15–40 μ g protein per 250 μ l av inkubasjonsbatchen) av CHO-K1-celler som
10 uttrykker den humane μ -opiatreseptoren (RB-HOM reseptormembranpreparasjon fra NEN, Zaventem, Belgia) i nærvær av 1 nmol/l av den radioaktive liganden [3 H]-nalokson (NET719, NEN, Zaventem, Belgia) og 1 mg WGA-SPA beads (Wheat germ agglutinin SPA Beads fra Amersham Pharmacia, Freiburg, Tyskland) i et totalvolum på 250 μ l i 90 minutter ved romtemperatur. Som
15 inkubasjonsbuffer blir det fortrinnsvis anvendt 50 mmol/l Tris-HCl supplert med 0,05 vekt-% natriumazid og 0,06 vekt-% bovint serumalbumin. For å bestemme den uspesifikke bindingen blir det fortrinnsvis i tillegg tilsatt 25 μ mol/l nalokson. Etter avslutningen av den nitti minutters inkubasjonstiden blir mikrotiterplatene fortrinnsvis avsentrifugert i 20 minutter ved 1000 g og radioaktiviteten målt i en
20 β -teller (Microbeta-Trilux fra PerkinElmer Wallac, Freiburg, Tyskland). Den prosentvise fortrenghingen av den radioaktive liganden fra sin binding til den humane μ -opiatreseptoren blir bestemt ved en konsentrasjon av prøvesubstansene på fortrinnsvis 1 μ mol/l og angitt som prosentvis hemming (%hemming) av den spesifikke bindingen. Det beregnes
25 hemmingskonsentrasjoner som bevirker en 50-prosents fortrenghing av den radioaktive liganden, med utgangspunkt i den prosentvise fortrenghingen gjennom ulike konsentrasjoner av forbindelsene med den generelle formelen I IC_{50} som skal prøves. Gjennom omregning ved hjelp av Cheng-Prusoff-relasjonen kan K_i -verdier for prøvesubstansene beregnes.

30 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen oppviser fortrinnsvis en K_i -verdi på ORL1-reseptoren på høyst 500 nM, mer foretrukket høyst 100 nM, mest foretrukket høyst 50 nM og især høyst 10 nM.

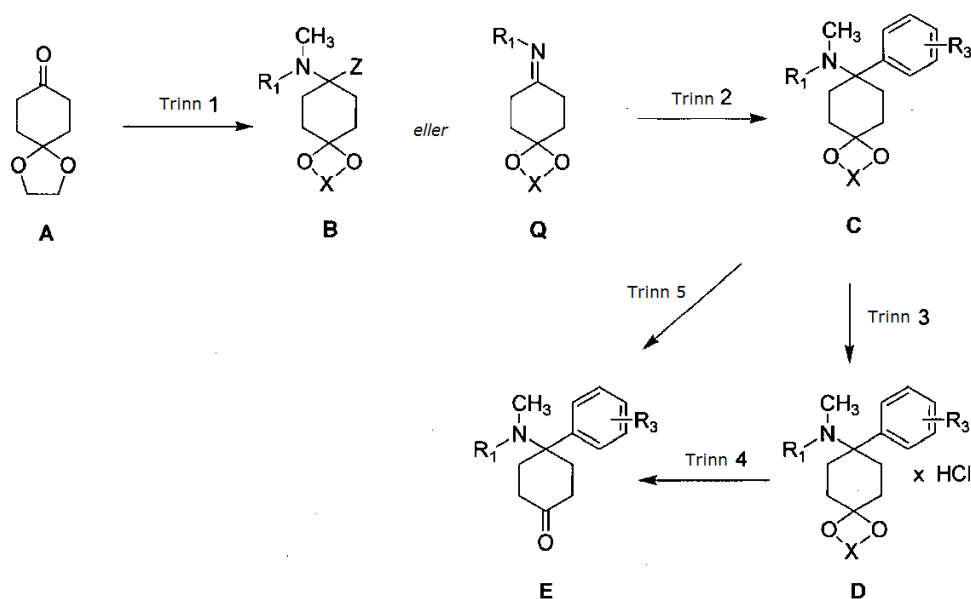
35 Metoder for å bestemme K_i -verdien på ORL1-reseptoren er kjent for fagmannen. Foretrukket foregår bestemmelsen i en reseptorbindingsassay med 3 H-nociseptin/orfanin FQ med membraner av rekombinante CHO-ORL1-celler. Dette

testsystemet blir fortrinnsvis gjennomført i henhold til metoden beskrevet av Ardati et al. (Mol Pharmacol., 51, 1997, s. 816-824). Konsentrasjonen av ^3H -nociseptin/orfanin FQ utgjør i disse forsøkene 0,5 nM. Bindingsassayene blir fortrinnsvis gjennomført med 20 μg membranprotein per 200 μl batch i 50 mM hepes, pH 7,4, 10 mM MgCl_2 og 1 mM EDTA. Bindingen til ORL1-reseptorene blir fortrinnsvis i hvert tilfelle bestemt ved anvendelse av 1 mg WGA-SPA beads (Amersham-Pharmacia, Freiburg), ved en en times inkubasjon av batchen ved RT og påfølgende måling i scintillasjonstelleren Trilux (Wallac, Finland).

Egnede fremgangsmåter for syntese av forbindelsene ifølge oppfinnelsen er i prinsippet kjent for fagfolk.

Nedenfor beskrives foretrukkede synteseruter:

15 Syntese av ketonbygggesteiner E:



Trinn 1 (Via B)

Strukturer med formelen B lar seg fremstille gjennom reaksjon av ketoner A med aminer og sure reaktanter Z-H. Egnede reaktanter Z-H er for eksempel blåsyrer, 1,2,3-triazol, benzotriazol eller pyrazol. En særlig foretrukket vei til forbindelsene med struktur B er omsetningen av ketoner med metallcyanider og det tilsvarende aminet i nærvær av syre, fortrinnsvis til en alkohol, ved temperaturer fra -40 til 60°C , fortrinnsvis ved romtemperatur med alkalimetallcyanider til metanol. En annen særlig foretrukket vei til forbindelsene

med struktur B er omsetningen av ketoner med 1,2,3-triazol og det tilsvarende aminet i nåtid under dehydrerende betingelser, fortrinnsvis ved bruk av en vannutskiller ved forhøyet temperatur i et inert løsemiddel eller ved bruk av en molekylsil eller et annet tørkemiddel. På tilsvarende måte lar B-analoge strukter seg innføre med benzotriazol- eller pyrazol- i stedet for triazolgrupper.

Trinn 1 (via Q)

Fremstillingen av iminer fra ketoner med den generelle formel Q-A oppnås fra den generelle kjente teknikk.

Trinn 2 (Via B)

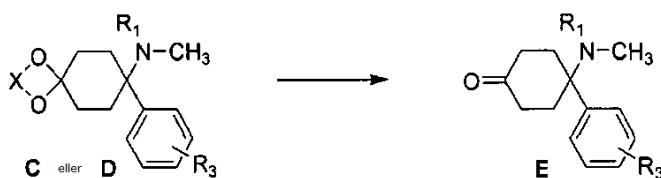
Generelt kan acetaler C også oppnås gjennom substitusjon av egnede forlatende grupper Z i strukturer med formelen B. Egnede forlatende grupper er fortrinnsvis cyanogrupper; 1,2,3-triazol-1-yl-grupper. Ytterligere egnede forlatende grupper er 1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl-grupper og pyrazol-1-yl-grupper (Katritzky et al., Synthesis 1989, 66-69). En særlig foretrukket vei til forbindelsene med struktur C er omsetningen av aminonitriler B ($Z=CN$) med tilsvarende organometallforbindelser, fortrinnsvis Grignard-forbindelser, fortrinnsvis i etere, fortrinnsvis ved RT. Organometallforbindelsene er enten kommersielt tilgjengelig eller kan fremstilles i henhold til fremgangsmåter fra teknikk. En annen særlig foretrukket vei til forbindelsene med struktur C er omsetningen av aminotriazoler B ($Z=$ triazol) med tilsvarende organometallforbindelser, fortrinnsvis Grignard-forbindelser, fortrinnsvis i etere, fortrinnsvis ved RT. Organometallforbindelsene er enten kommersielt tilgjengelig eller kan fremstilles i henhold til fremgangsmåter fra teknikk.

Trinn 2 (via Q)

Aminoacetaler C med maksimalt én substituent på nitrogenatomet kan for fagmannen i prinsippet oppnås med kjente fremgangsmåter ved tilsetning av karbonnukleofiler til iminer Q, fortrinnsvis organometalliske forbindelser i inerte løsningsmidler, spesielt foretrukket med Grignard-reagenser eller organolitiumforbindelser, fortrinnsvis i etere, fortrinnsvis ved temperaturer fra 100 til RT.

Trinn 4/5:

24



5 Forbindelser med formelen E kan frisettes fra tilsvarende acetal C, eller av deres salter D, i henhold til fremgangsmåter i kjent teknikk, gjennom avbeskyttelse ved hjelp av syrer. Her er X valgt fra gruppen alkyl, alkyl/alkylider substituert med aryl eller alkyl (mettet/umettet). Valgte alkylider

Fremstilling av C ($R_1 \neq -H$) av Ca ($R_1 = -H$)



10

15 Aminoacetaler Ca med maksimalt én substituent på nitrogenatomet kan overføres i henhold til fremgangsmåter som i prinsippet er kjent for fagmannen, for eksempel gjennom reduktiv aminering, til tilsvarende aminoacetaler C med en eller to ytterligere substituenten på nitrogenet.

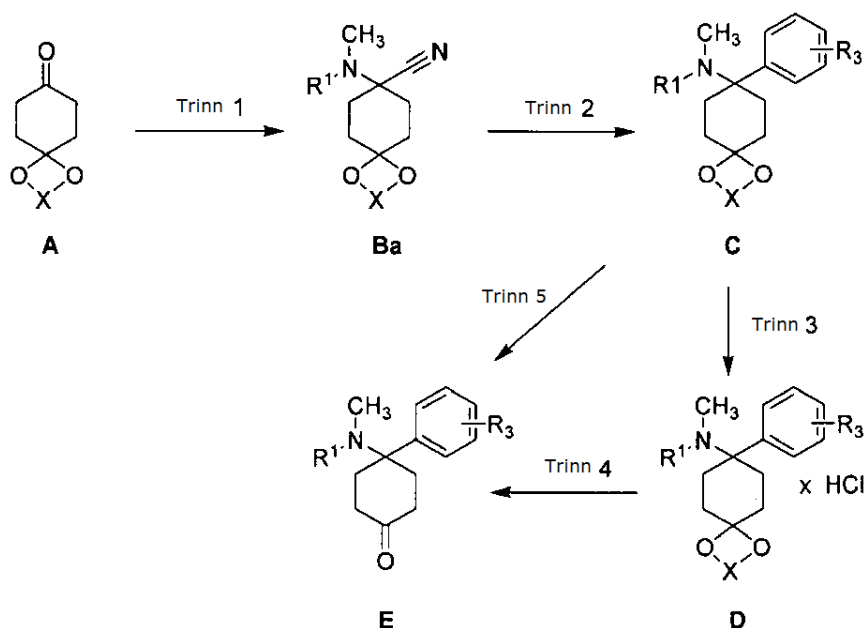
Aminonitrilrute, iminrute og triazolkarboksamidrute

20 Det nødvendige ketonmellomproduktet E kan for eksempel fremstilles ifølge de følgende tre forskjellige rutene: (1) *Aminonitrilrute*, (2) *iminrute* og (3) *triazolkarboksamidrute*

(1) Aminonitrilrute:

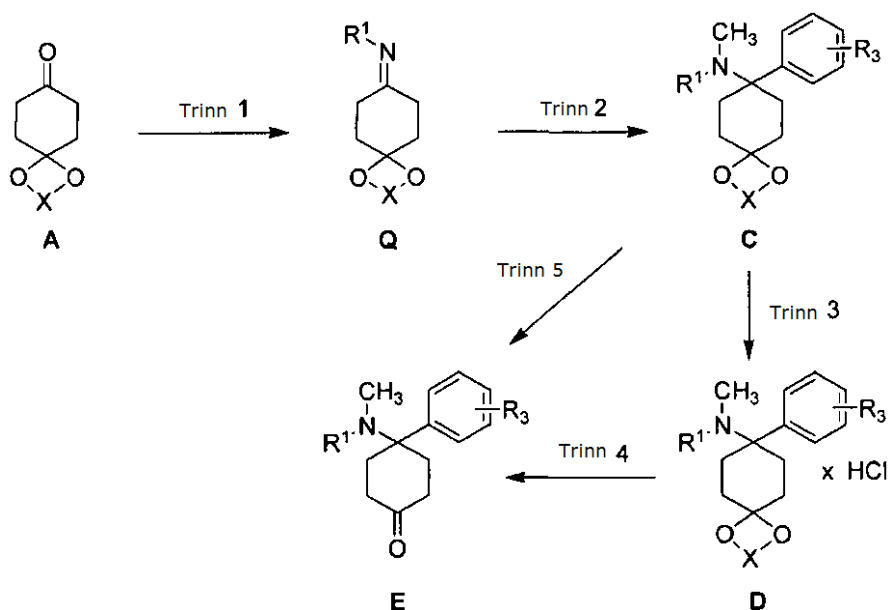
25 I aminonitrilruten, som beskrevet i det følgende synteseskjemaet, syntetiserer en ketonforløper A aminonitril Ba, som videre omdannes ved anvendelse av en nukleofil MR3 til byggesteinene C og D og E. Denne syntetiske ruten ble beskrevet og anvendt allerede i WO 2004/043 967.

25



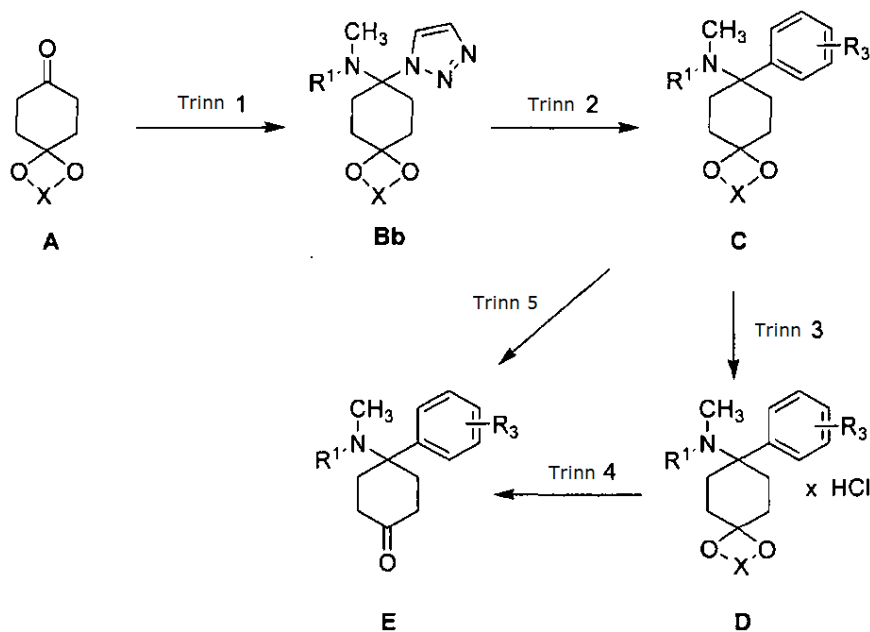
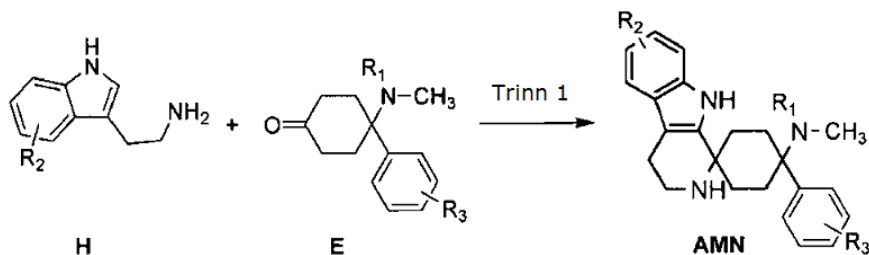
(2) Iminrute:

I iminruten, som beskrevet i det følgende synteseskjemaet, blir imin Q syntetisert av en ketonforløper A, hvilken videre omdannes ved anvendelse av en nukleofil MR₃ til byggesteinene C og D og videre E. De nødvendige iminbyggesteinene Q kan fremstilles etter en metode som er kjent for fagmannen (Layer, Chem. Rev., 1963, 8, 489-510). For tilsetning av organometallarten MR₃ til iminet Q ble det anvendt fremgangsmåter kjent fra litteraturen (for eksempel Maddox et al., J. Med. Chem., 1965, 8, 230-235. Kudzma et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 2534-2542.). Trinn 3, 4 og 5 utføres analogt med aminonitrilruten.



(3) Triazolrute:

I triazolruten, som beskrevet i det følgende synteseskjemaet, blir triazol Bb syntetisert av en ketonforløper A, hvilken videre omdannes ved anvendelse av en nukleofil MR3 til byggesteinene C og D og videre E. Betingelsene kan hentes fra den angitte litteraturen: (A) Katritzky et al. Synthesis, 1992, 1295-1298. (B) Prashad, et al. Tetrahedron Lett. 2005, 46, 5455-5458.

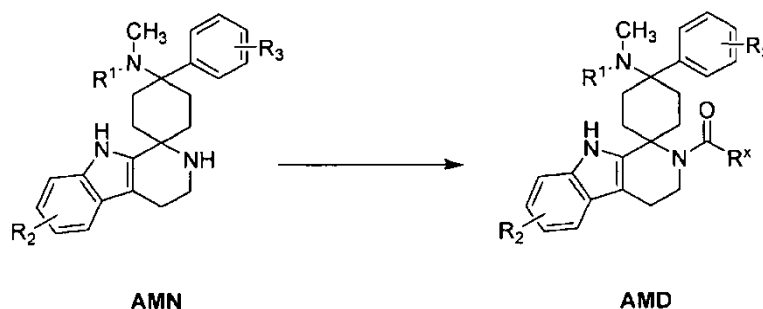
Syntese av spiroaminer (AMN)

- 15 Tryptaminer av type H kan i reaksjoner av typen Pictet-Spengler bringes til reaksjon med ketoner av typen E under tilsetning av minst én egnet reagens fra gruppen av syrer, syreanhydrider, estere eller svakt surt reagerende salter eller Lewis-syrer under dannelse av produkter med formelen AMN.
- 20 Foretrukket kommer det derved til anvendelse minst ett reagens fra gruppen av karbonsyrer, fosforsyrer eller sulfonsyrer eller deres respektive anhydrider,

karbonsyrettrialkylsilylester, surt reagerende salter, mineralsyrer eller Lewis-syrer valgt fra gruppen bestående av bortrifluorid, indium(III)klorid, titantetraklorid, aluminium(III)klorid, eller under tilsetning av minst ett overgangsmetallsalt, fortrinnsvis under tilsetning av minst ett overgangsmetalltriflat (overgangsmetalltrifluormetansulfonat), særlig foretrukket under tilsetning av minst ett overgangsmetalltrifluormetansulfonat valgt fra gruppen bestående av scandium(III)trifluormetansulfonat, ytterbium(III)trifluormetansulfonat og indium(III)trifluormetansulfonat, ev. under tilsetning av Celite, med fastfasebundne reaktanter eller reagenser, ved forhøyet eller senket temperatur, med eller uten mikrobølgestråling, ev. i et egnet løsemiddel eller en løsemiddelblanding som eksempelvis, klorerte eller uklorerte, fortrinnsvis aromatiske hydrokarboner, acetonitril; i eteriske løsemidler, fortrinnsvis i dietyleter eller THF; eller i nitrometan, i egnede tilfeller også i alkoholer eller vann. Spesielt foretrukket anvendes her pyridinium-pa-toluensulfonat, fosforpentoksid i nærvær av Celite, bortrifluorid-eterat, trifluoreddiksyre, ortotitansyre-tetraisopropylester sammen med trifluoreddiksyre, trifluormetansulfonsyretrimetylsilylester, trifluormetansulfonsyre, metansulfonsyre, trifluoreddiksyre, eddiksyre, fosforsyre, polyfosforsyre, polyfosfatester, p-toluensulfonsyre, saltsyre HCl-gass, svovelsyre sammen med acetatbuffer, tinn-tetraklorid.

Ytterligere foretrukket anvendes betingelsene som er oppført i de etterfølgende betingelsene.

Forbindelsene med de generelle formlene H og E er enten kommersielt tilgjengelige, eller deres fremstilling er kjent fra kjent teknikk eller kan avledes fra kjent teknikk på en måte som er åpenbar for fagmannen. Spesielt relevant er hertil de følgende sitatene: Jirkovsky et al., J. Heterosykl. Chem., 12, 1975, 937-940; Beck et al., J. Chem. Soc. Perkin 1, 1992, 813-822; Shinada et al., Tetrahedron Lett., 39, 1996, 7099-7102; Garden et al., Tetrahedron, 58, 2002, 8399-8412; Lednicer et al., J. Med. Chem., 23, 1980, 424-430; Bandini et al. J. Org. Chem. 67, 15; 2002, 5386 - 5389; Davis et al., J. Med. Chem. 35, 1, 1992, 177-184; Yamagishi et al., J. Med. Chem. 35, 11, 1992, 2085-2094; Gleave et al.; Bioorg. Med. Chem. Lett. 8, 10, 1998, 1231-1236; Sandmeyer, Helv. Chim. Acta; 2; 1919; 239; Katz et al.; J. Med. Chem. 31, 6, 1988; 1244-1250; Bac et al. Tetrahedron Lett. 1988, 29, 2819; Ma et al. J. Org. Chem. 2001, 66, 4525; Kato et al. J. Fluorine Chem. 99, 1, 1999, 5 - 8.

Syntese av spiroamider (AMD)

5

Forbindelser med den generelle formelen AMN kan transformeres med karbonsyrer til forbindelser med den generelle formelen AMD i temperaturer på fortrinnsvis 25 °C til 150 °C, ev. under mikrobølgestrålning, i det minste i ett løsemiddel, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av diklormetan, acetonitril, dimetylformamid, dietyleter, dioksan og tetrahydrofuran, ved tilsetning av i det minste en koblingsreagens, fortrinnsvis valgt gruppen bestående av karbonyldiimidazol (CDI), 2-kloro-1-metylpyridiniumjodid (Mukaiyama-reagens), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-etylkarbodiimid (EDCI), *O*-(benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroniumtetrafluoroborat (TBTU), *N,N'*-Disykloheksylkarbodiimid (DCC) og 1-benzotriazolyl-*oxy*-tris-(dimetylamino)-fosfoniumheksafluorofosfat (BOP) ev. i nærvær av i det minste én uorganisk base, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av kaliumkarbonat og cesiumkarbonat, eller en organisk base, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av trietylamin, diisopropyletylamin og pyridin og ev. under tilsetning av 4-(dimetylamino)pyridin eller 1-hydroksybenzotriazol.

20

Forbindelser med den generelle formelen AMN kan transformeres med syreanhydrider og karbonsyreklorider til forbindelser med den generelle formelen AMD i temperaturer på fortrinnsvis 25 °C til 150 °C, ev. under mikrobølgestrålning, i det minste i ett løsemiddel, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av diklormetan, acetonitril, dimetylformamid, dietyleter, dioksan og tetrahydrofuran, ev i nærvær av i det minste én uorganisk base, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av kaliumkarbonat og cesiumkarbonat, eller en organisk base, fortrinnsvis valgt fra gruppen bestående av trietylamin, diisopropyletylamin og pyridin og ev. under tilsetning av 4-(dimetylamino)pyridin eller 1-hydroksybenzotriazol.

25

30

Med hensyn til ytterligere detaljer vedrørende syntesen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen er i særdeleshet med hensyn til syntesen av egnede Eduktbyggesteine også referert til i sin helhet WO2004/043967, WO2005/063769, WO2005/066183, WO2006/018184, WO2006/108565, WO2007/124903 og WO2008/009416. En fagmann vil forstå at egnede eduktbyggesteir kan fremstilles for syntesen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen analogt med de som er beskrevet i disse synteseskjemaene og utførelseseksemplene i disse dokumentene.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen virker eksempelvis på den i sammenheng med de ulike sykdommene relevante ORL1- og μ -opioid-reseptorene, slik at de egner seg som virkestoff (legemiddel) i en farmasøytisk sammensetning.

Et ytterligere formål med oppfinnelsen vedrører en farmasøytisk sammensetning omfattende en fysiologisk akseptabel bærer, og i det minste én forbindelse ifølge oppfinnelsen.

Det er foretrukket at sammensetningen ifølge oppfinnelsen er

- fast, flytende eller pastøs; og/eller
- inneholder forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde fra 0,001 til 99 vekt-%, fortrinnsvis 1,0 til 70 vekt-%, basert på den totale vekten av sammensetningen.

Den farmasøytiske sammensetningen ifølge oppfinnelsen kan, om nødvendig, inneholde egnede additiver og/eller hjelpestoffer og/eller eventuelt ytterligere virkestoffer.

Eksempler på egnede fysiologisk akseptable bærere, additiver og/eller hjelpestoffer er fyllstoffer, løsningsmidler, fortynningsmidler, fargestoffer og/eller bindemidler. Disse stoffene er kjent for fagmannen (jfr. HP Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Editio Cantor Aulendorf).

Fortrinnsvis omfatter sammensetningen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde fra 0,001 til 99 vekt-%, mer foretrukket 0,1 til 90 vekt-%, mer foretrukket 0,5 til 80 vekt-%, mest foretrukket 1,0 til 70 vekt-% og mer spesielt 2,5 til 60 vekt-%, basert på den totale vekten av sammensetningen.

Det er foretrukket at sammensetningen ifølge oppfinnelsen formuleres for systemisk, topisk eller lokal administrering, fortrinnsvis for oral administrering.

- 5 Et annet formål med oppfinnelsen vedrører en farmasøytisk doseringsform inneholdende den farmasøytiske sammensetningen ifølge oppfinnelsen.

- 10 I en foretrukket utførelsesform er doseringsformen ifølge oppfinnelsen formulert for administrering to ganger daglig, administrering én gang daglig, eller administrering sjeldenere enn én gang daglig, fortrinnsvis ikke for administrering mer enn én gang daglig.

Fortrinnsvis dreier det seg her om en systemisk, især oral administrering.

- 15 I en foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en så liten dose at den ikke er signifikant mer effektiv i behandlingen av akutt smerte. Det er foretrukket at denne dosen ligger i området fra 1,0 g til 10 mg, basert på molekylvekten av den frie basen.

- 20 Det er foretrukket at dosen utgjør 0,001 mg±50 %, 0,002 mg±50 %, 0,003 mg±50 %, 0,004 mg±50 %, 0,005 mg±50 %, 0,006 mg±50 %, 0,007 mg±50 %, 0,008 mg±50 %, 0,009 mg±50 %, 0,01 mg±50 %, 0,02 mg±50 %, 0,03 mg±50 %, 0,04 mg±50 %, 0,05 mg±50 %, 0,06 mg±50 %, 0,07 mg±50 %, 0,08 mg±50 %, 0,09 mg±50 %, 0,1 mg±50 %, 0,15 mg±50 %, 0,2 mg±50 %, 0,25 mg±50 %, 0,3 mg±50 %, 0,35 mg±50 %, 0,4 mg±50 %, 0,45 mg±50 %, 0,5 mg±50 %, 0,55 mg±50 %, 0,6 mg±50 %, 0,65 mg±50 %, 0,7 mg±50 %, 0,75 mg±50 %, 0,8 mg±50 %, 0,85 mg±50 %, 0,9 mg±50 %, 0,95 mg±50 %, 1 mg±50 %, 1,5 mg±50 %, 2 mg±50 %, 2,5 mg±50 %, 3 mg±50 %, 3,5 mg±50 %, 4 mg±50 %, 4,5 mg±50 %, 5 mg±50 %, 5,5 mg±50 %, 6 mg±50 %, 6,5 mg±50 %, 7 mg±50 %, 7,5 mg±50 %, 8 mg±50 %, 8,5 mg±50 %, 9 mg±50 %, 9,5 mg±50 % eller 10 mg±50 %, basert på molekylvekten av den frie basen.

- 35 Det er mer foretrukket at dosen utgjør 0,001 mg±25 %, 0,002 mg±25 %, 0,003 mg±25 %, 0,004 mg±25 %, 0,005 mg±25 %, 0,006 mg±25 %, 0,007 mg±25 %, 0,008 mg±25 %, 0,009 mg±25 %, 0,01 mg±25 %, 0,02 mg±25 %, 0,03 mg±25 %, 0,04 mg±25 %, 0,05 mg±25 %, 0,06 mg±25 %, 0,07 mg±25 %, 0,08 mg±25 %, 0,09 mg±25 %, 0,1 mg±25 %, 0,15 mg±25 %, 0,2 mg±25 %, 0,25 mg±25 %, 0,3 mg±25 %, 0,35 mg±25 %, 0,4 mg±25 %, 0,45 mg±25 %, 0,5 mg±25 %, 0,55 mg±25 %, 0,6 mg±25 %, 0,65 mg±25 %, 0,7 mg±25 %, 0,75 mg±25 %, 0,8 mg±25 %, 0,85 mg±25 %, 0,9 mg±25 %, 0,95 mg±25 %, 1 mg±25 %, 1,5 mg±25 %, 2 mg±25 %, 2,5 mg±25 %, 3 mg±25 %, 3,5 mg±25 %, 4 mg±25 %, 4,5 mg±25 %, 5 mg±25 %, 5,5 mg±25 %, 6 mg±25 %, 6,5 mg±25 %, 7 mg±25 %, 7,5 mg±25 %, 8 mg±25 %, 8,5 mg±25 %, 9 mg±25 %, 9,5 mg±25 % eller 10 mg±25 %, basert på molekylvekten av den frie basen.

- 0,06 mg $\pm$ 25 %, 0,07 mg $\pm$ 25 %, 0,08 mg $\pm$ 25 %, 0,09 mg $\pm$ 25 %, 0,1 mg $\pm$ 25 %, 0,15 mg $\pm$ 25 %, 0,2 mg $\pm$ 25 %, 0,25 mg $\pm$ 25 %, 0,3 mg $\pm$ 25 %, 0,35 mg $\pm$ 25 %, 0,4 mg $\pm$ 25 %, 0,45 mg $\pm$ 25 %, 0,5 mg $\pm$ 25 %, 0,55 mg $\pm$ 25 %, 0,6 mg $\pm$ 25 %, 0,65 mg $\pm$ 25 %, 0,7 mg $\pm$ 25 %, 0,75 mg $\pm$ 25 %, 0,8 mg $\pm$ 25 %, 0,85 mg $\pm$ 25 %, 0,9 mg $\pm$ 25 %, 0,95 mg $\pm$ 25 %, 1 mg $\pm$ 25 %, 1,5 mg $\pm$ 25 %, 2 mg $\pm$ 25 %, 2,5 mg $\pm$ 25 %, 3 mg $\pm$ 25 %, 3,5 mg $\pm$ 25 %, 4 mg $\pm$ 25 %, 4,5 mg $\pm$ 25 %, 5 mg $\pm$ 25 %, 5,5 mg $\pm$ 25 %, 6 mg $\pm$ 25 %, 6,5 mg $\pm$ 25 %, 7 mg $\pm$ 25 %, 7,5 mg $\pm$ 25 %, 8 mg $\pm$ 25 %, 8,5 mg $\pm$ 25 %, 9 mg $\pm$ 25 %, 9,5 mg $\pm$ 25 % eller 10 mg $\pm$ 25 %, basert på molekylvekten av den frie basen.
- 10 Spesielt foretrukket utgjør dosen 0,001 mg, 0,002 mg, 0,003 mg, 0,004 mg, 0,005 mg, 0,006 mg, 0,007 mg, 0,008 mg, 0,009 mg, 0,01 mg, 0,02 mg, 0,03 mg, 0,04 mg, 0,05 mg, 0,06 mg, 0,07 mg, 0,08 mg, 0,09 mg, 0,1 mg, 0,15 mg, 0,2 mg, 0,25 mg, 0,3 mg, 0,35 mg, 0,4 mg, 0,45 mg, 0,5 mg, 0,55 mg, 0,6 mg, 0,65 mg, 0,7 mg, 0,75 mg, 0,8 mg, 0,85 mg, 0,9 mg, 0,95 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 3,5 mg, 4 mg, 4,5 mg, 5 mg, 5,5 mg, 6 mg, 6,5 mg, 7 mg, 7,5 mg, 8 mg, 8,5 mg, 9 mg, 9,5 mg eller 10 mg, basert på molekylvekten av den frie basen.
- 15
- 20 I en foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen i en mengde på 10 $\mu\text{g}\pm 90\%$, mer foretrukket 10 $\mu\text{g}\pm 75\%$, enda mer foretrukket 10 $\mu\text{g}\pm 50\%$, mest foretrukket 10 $\mu\text{g}\pm 25\%$, og spesielt foretrukket 10 $\mu\text{g}\pm 10\%$, basert på molekylvekten av den frie basen.
- 25 I en annen foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde på 100 $\mu\text{g}\pm 90\%$, mer foretrukket 100 $\mu\text{g}\pm 75\%$, enda mer foretrukket 100 $\mu\text{g}\pm 50\%$, mest foretrukket 100 $\mu\text{g}\pm 25\%$, og spesielt 100 $\mu\text{g}\pm 10\%$, basert på molekylvekten av den frie basen.
- 30 I en ytterligere foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde på 250 $\mu\text{g}\pm 90\%$, mer foretrukket 250 $\mu\text{g}\pm 75\%$, enda mer foretrukket 250 $\mu\text{g}\pm 50\%$, mest foretrukket 250 $\mu\text{g}\pm 25\%$, og især 250 $\mu\text{g}\pm 10\%$, basert på molekylvekten av den frie basen.
- 35 I en ytterligere foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde på 500 $\mu\text{g}\pm 90\%$, mer

foretrukket $500 \mu\text{g} \pm 75 \%$, enda mer foretrukket $500 \mu\text{g} \pm 50 \%$, mest foretrukket $500 \mu\text{g} \pm 25 \%$, og især $500 \mu\text{g} \pm 10 \%$, basert på molekylvekten av den frie basen.

5 I en annen foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde på $750 \mu\text{g} \pm 90 \%$, mer foretrukket $750 \mu\text{g} \pm 75 \%$, enda mer foretrukket $750 \mu\text{g} \pm 50 \%$, mest foretrukket $750 \mu\text{g} \pm 25 \%$, og spesielt $750 \mu\text{g} \pm 10 \%$, basert på molekylvekten av den frie basen.

10 I en ytterligere foretrukket utførelsesform inneholder doseringsformen ifølge oppfinnelsen forbindelsen ifølge oppfinnelsen i en mengde på $1000 \mu\text{g} \pm 90 \%$, mer foretrukket $1000 \mu\text{g} \pm 75 \%$, enda mer foretrukket $1000 \mu\text{g} \pm 50 \%$, mest foretrukket $1000 \mu\text{g} \pm 25 \%$, og især $1000 \mu\text{g} \pm 10 \%$, basert på molekylvekten av den frie basen.

15 Doseringsformen ifølge oppfinnelsen kan for eksempel administreres som flytende legemiddel i form av injeksjonsløsninger, dråper eller safter, eller en halvfast legemiddelform i form av granulater, tabletter, pellets, patcher, kapsler, plaster/sprayplaster eller aerosoler. Valget av adjuvantia osv. samt
20 mengdene av disse som skal anvendes, er avhengig av hvorvidt doseringsformen appliseres oralt, peroralt, parenteralt, intravenøst, intraperitonealt, intradermalt, intramuskulært, intranasalt, bukkalt, rektalt eller lokalt, for eksempel på hud, slimhinner eller i øynene.

25 For oral applikasjon er doseringsformer i form av tabletter, drasjeer, kapsler, granulat, drops, saft og sirup egnet, for parenterale, topiske og inhalerbare løsninger er suspensjoner, lett rekonstituerbare tørre tilberedninger og sprayer egnet. Forbindelser ifølge oppfinnelsen i et depot, i oppløst form eller i et plaster, eventuelt med tillegg av midler som fremmer hudpenetrasjon, er egnede
30 perkutane applikasjonstilberedninger.

Oralt eller perkutant anvendelige doseringsformer kan i forhøyet grad frisettes forbindelsene ifølge oppfinnelsen. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan også
35 anvendes i parenterale langtidsdepotformer, som for eksempel implantater eller implanterte pumper. Doseringsformene ifølge oppfinnelsen kan i prinsippet tilsettes andre virkestoffer som er kjent for fagpersonen.

I en foretrukket utførelse blir forbindelsene ifølge oppbindelsen umiddelbart frisatt fra doseringsformen (*immediate release*, IR), dvs. fortrinnsvis under *in vitro* -betingelser, fortrinnsvis ifølge Ph. Eur., idet minst 80 % av det opprinnelige inneholdte virkestoffet frisettes etter 20 minutter.

5

Det er overraskende nok blitt funnet at forbindelsene ifølge oppfinnelsen utmerker seg ved en uvanlig lang halveringstid ($t_{1/2}$) og farmakodynamisk virkningstid, slik at en forholdsvis sjelden administrering er tilstrekkelig for å oppnå en forholdsvis langvarig farmakologisk effekt og dermed smertelindring.

10

Doseringsformer med forsinket frisetting av forbindelsene ifølge oppfinnelsen er ikke tvingende nødvendig, selv ved umiddelbar frisetting (*immediate release*, IR) oppnås en langvarig effekt på grunn av den lange halveringstiden. På grunn av IR-egenskapen ved slike doseringsformer har dette den ekstra fordelen at det ved langvarig effekt i tillegg oppnås en hurtig virkning av virkestoffet (rapid onset), og dermed kan en hurtig innsettende farmakologisk aktivitet oppnås etter den første administreringen. Dermed kombineres egenskaper fra IR-doseringsformer med egenskapene ved PR-doseringsformer (PR, *prolonged release*, forsinket frisetting).

15

20

I en foretrukket utførelsesform dreier det seg mht. doseringsformen ifølge oppfinnelsen om en en doseringsform med umiddelbar virkestoffrisetting (IR), hvilken doseringsform er en forbindelse ifølge oppfinnelsen, fortrinnsvis med den generelle formelen (V) eller (VI) som fri base eller et fysiologisk akseptabelt salt, hvilken fortrinnsvis inneholder hydrokloridet, sitratet eller hemisitatet, og hvilken er formulert for administrasjon høyst én gang om dagen, fortrinnsvis nøyaktig én gang om dagen, fortrinnsvis oral administrasjon. I denne sammenheng betyr «umiddelbar virkestoffrisetting» at under i *in vitro*-betingelser, fortrinnsvis ifølge Ph Eur., idet minst 80 % av det opprinnelige inneholdte virkestoffet frisettes etter 20 minutter.

25

30

Mengden av forbindelsene ifølge oppfinnelsen som skal administreres til pasientene, varierer alt etter pasientens vekt, appliseringsmåte, indikasjonen og sykdommens alvorlighetsgrad. Vanligvis appliseres 0,00005 til 50 mg/kg, foretrukket er 0,001 til 0,5 mg/kg, foretrukket 1 til 10 µg/kg av minst én forbindelse ifølge oppfinnelsen.

35

Det er spesielt foretrukket for alle de ovenstående utførelsesene av doseringsformen ifølge oppfinnelsen at doseringsformen i tillegg til minst én forbindelse ifølge oppfinnelsen også inneholder et ytterligere virkestoff.

5 ORL1-reseptorer og μ -opioid-reseptorer er spesielt forbundet med forekomst av smerte. Tilsvarende kan forbindelser ifølge oppfinnelsen anvendes til fremstilling av et legemiddel for behandling av kronisk smerte, foretrukket av nevropatisk smerte, mer foretrukket av mononevropatisk/nevralgisk eller polynevropatisk smerte, enda mer foretrukket av smerte i postherpetisk nevralgi eller diabetisk polynevropati.

10

De følgende eksemplene er tiltenkt å illustrere oppfinnelsen, men er ikke ment å være begrensende:

15

I den følgende nomenklaturen av stereokjemien av eksempelforbindelsene, viser angivelsen («E») til en substitusjon av en dobbeltbinding, for eksempel på et kanelsyrederivat, og betegnelsen «cis» eller «trans» til substitusjonen på sykloheksylringen.

20

Syntese av indolbyggesteiner (H)

Byggestein H-1:

2 - (1H-indol-3-yl) etanamin (H-1)

25

På tidspunktet for syntese oppnådd kommersielt fra Aldrich.

Byggestein H-2:

2-(5-Fluoro-1 H-indol-3-yl)ethanamin (H-2)

30

På tidspunktet for syntese oppnådd kommersielt fra Fluorochem.

Syntese av ketonbyggesteiner (E):

Byggestein E-1:

35

Dimetyl-(8-fenyl-1,4-dioksaspiro[4.5]dec-8-yl)amin-hydrochlorid (D-1)

Til en 1,82M fenylmagnesiumkloridløsning i THF (109 ml, 0,198 mol) ble aminonitrilet B-1 (21 g, 0,1 mol), løst i THF (210 ml), tilsatt under argon og

iskjøling i løpet av 15 min og deretter omrørt i 16 h ved romtemperatur. Til bearbeidingen av reaksjonsblandingen ble det tilsatt mettet ammoniumkloridløsning (150 ml) under iskjøling og deretter ble det ekstrahert med dietyleter (3 × 100 ml). Den organiske fasen ble ekstrahert med vann (100 ml) og mettet NaCl-løsning (100 ml) og konsentrert. Det var igjen en gul olje (25,2 g). Råproduktet ble løst i etylmetylketon (280 ml) og blandet under iskjøling med C₃SiMe₃ (18,8 ml, 0,15 mol). Etter en reaksjonstid på 6 timer ble hydroklorid D-1 isolert som et hvitt, fast stoff med et utbytte på 35 % (10,5 g).

4-Dimetylamino-4-fenylsykloheksanon (E-1)

Hydroklorid D-1 (10,5 g, 35,2 mmol) ble oppløst i 7,5 N saltsyre (36 ml) og omrørt ved romtemperatur i 96 timer. Etter fullføring av hydrolysen ble reaksjonsblandingen ekstrahert med dietyleter (2 50 ml). Den vandige fasen ble gjort alkalisk under isavkjøling med 5N natriumhydroksyd, ekstrahert med diklormetan (3 50 ml) og konsentrert. Ketonet 6 kunne så isoleres som et gult, fast stoff med et smeltepunkt på 104-108 °C i et utbytte på 97 % (7,4 g).

Byggestein E-2:

Versjon 1:

[8-(3-Fluorfenyl)-1,4-dioksaspiro[4,5]dek-8-yl]dimetylammin-hydroklorid (D-2)

Til en løsning av aminonitriet B-1 (19,8 g, 94 mmol) i THF (100 ml) under argon og isavkjøling ble 0,5 M 3-fluorofenylmagnesiumbromid-løsning i THF (3750 ml, 375 mmol) tilsatt i løpet av 15 min og deretter omrørt ved romtemperatur i 16 timer. Til bearbeidingen av reaksjonsblandingen ble det tilsatt mettet ammoniumkloridløsning (150 ml) og vann (60 ml) under iskjøling og deretter ble det ekstrahert med dietyleter (3 × 100 ml). Den organiske fasen ble ekstrahert med vann (50 ml) og mettet NaCl-løsning (50 ml) og konsentrert. Det var en brun olje (26,5 g) tilbake, som med unntak av fenylforbindelsen 4 fortsatt inneholdt ketal 2. Råproduktet ble løst i etylmetylketon (156 ml) og blandet under iskjøling med C₃SiMe₃ (17,8 ml, 141 mmol). Etter en reaksjonstid på 6 h kunne hydroklorid-D-2 isoleres som et hvitt faststoff med et utbytte på 55 % (16,3 g) og med et smeltepunkt på 275-278 °C.

Versjon 2:

[8-(3-Fluor-fenyl)-1,4-dioksa-spiro[4,5]dek-8-yl]-dimetyl-amin-hydroklorid (D-2)

En løsning av 1-brom-3-fluorbenzen (5,00 g, 28,6 mmol) i abs. eter (15 ml) ble dråpevis tilsatt en suspensjon av magnesium (694 mg, 28,6 mmol) i abs. eter (10 ml) ble tilsatt, slik at eteren kokte. Etter fullføring av tilsetningen ble blandingen omrørt i 10 minutter ved RT, deretter ble magnesiumet løst helt opp. Reaksjonsløsningen ble avkjølt i et isbad og tilsatt dråpevis ved 10 °C i aminonitril B-1 (3,00 g, 14,3 mmol) i abs. THF (30 ml). Denne blandingen ble omrørt ved romtemperatur over natten, reaksjonsblanding ble omrørt under isavkjøling med 20 % NH₄Cl-løsning (20 ml) og vann (30 ml) og ekstrahert med eter (3 x 50 ml). Den org. fasen ble vasket med vann (50 ml) og deretter med mettet NaCl-løsning (50 ml), tørket over Na₂SO₄ og konsentrert i vakuum. Råproduktet ble oppløst i etylmetylketon (25 ml) under isavkjøling med C₄H₉SiMe₃ (3,2 ml, 25 mmol) og omrørt ved romtemperatur i 5 timer. Den oppståtte utfellingen ble filtrert bort og tørket i vakuum.

Utbytte D-2: 2,8 g (62 %)

¹H-NMR (DMSO-d₆): 1,91 (8 H, m); 2,54 (6H, s); 3,91 (4 H, d); 7,37 (1H, m); 7,61 (3 H, m).

Versjon 1:4-dimetylamino-4-(3-fluor-fenyl)-sykloheksanon (E-2)

Hydroklorid D-2 (7,2 g, 22,75 mmol) ble løst i vann (9,6 ml), blandet med konsentrert saltsyre (14 ml, 455 mml) og omrørt i 4 d ved RT. Etter avsluttet hydrolyse ble reaksjonsblanding ekstrahert med dietyleter (2 x 50 ml), den vandige fasen gjort basisk under iskjøling med 5N natronlut, hvorved produktet ble utfelt. Ketonet -2 kunne isoleres som et gult, fast stoff med et smeltepunkt på 83-88 °C et utbytte på 50 % (6,05 g).

Versjon 2:4-dimetylamino-4-(3-fluor-fenyl)-sykloheksanon (E-2)

Hydroklorid D-2 (2,80 g, 8,86 mmol) ble oppløst i vann (3,7 ml), blandet med konsentrert saltsyre (5,5 ml) og omrørt i 4 d ved RT. Etter fullføring av hydrolysen ble reaksjonsblanding ekstrahert med eter (2 x 10 ml), den vandige løsningen gjort alkalisk under isavkjøling med 5N natriumlut,

reaksjonsblandingen ble ekstrahert med diklormetan (3 x 50 ml), den organiske fasen tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Råproduktet ble rensset ved flashkromatografi med CHCl₃/MeOH (20:1).

5 Utbytte E-2: 676 mg (32 %), fargeløst faststoff

Smeltepunkt: 62-67 °C

10 ¹H-NMR (DMSO-d₆): 2,02 (6 H, s); 2,12 (5 H, m); 2,45 (3 H, m); 7,24 (3 H, m); 7,43 (1 H, m).

Byggestein E-3:

[8-(4-Fluorfenyl)-1,4-dioksaspiro[4,5]dek-8-yl]dimetylamin-hydroklorid (D-3)

15 Til en løsning av aminonitril B-1 (10,5 g, 50 mmol) i THF (150 ml) under argon og isavkjøling ble 1 M 4-fluorofenylmagnesiumbromid-løsning i THF (3,125 ml, 125 mmol) tilsatt i løpet av 15 min og deretter omrørt ved romtemperatur i 16 timer. Til bearbeidingen av reaksjonsblandingen ble det tilsatt mettet ammoniumkloridløsning (37 ml) og vann (50 ml) under iskjøling og deretter ble

20 det ekstrahert med dietyleter (3 x 100 ml). Den organiske fasen ble ekstrahert med vann (50 ml) og mettet NaCl-løsning (50 ml) og konsentrert. Det var en brun olje (12,55 g) tilbake, som med unntak av fenylforbindelsen C-3 fortsatt inneholdt ketal B-1. Råproduktet ble løst i etylmetylketon (75 ml) og blandet under iskjøling med C₃SiMe₃ (9,5 ml, 75 mmol). Etter en reaksjonstid på 6 timer ble hydroklorid

25 D-3 isolert som et hvitt, fast stoff med et utbytte på 47 % (7,48 g).

4-dimetylamino-4-(4-fluorfenyl)sykloheksanon (E-3)

Hydroklorid D-3 (7,2 g, 22,75 mmol) ble løst i vann (9,6 ml), blandet med konsentrert saltsyre (14 ml, 455 mml) og omrørt i 4 d ved RT. Etter avsluttet

30 hydrolyse ble reaksjonsblandingen ekstrahert med dietyleter (2 x 50 ml), den vandige fasen gjort basisk under iskjøling med 5N natronlut, ekstrahert med diklormetan (3 x 50 ml) og konsentrert. Ketonet -3 kunne isoleres som et gult, fast stoff med et smeltepunkt på 128-133 °C et utbytte på 76 % (4,05 g).

35 Byggestein E-4:

Dimetyl-(8-thiofen-2-yl-1,4-dioksaspiro[4.5]dec-8-yl)amin-hydrochlorid (D-4)

2-jodtiofen (1, 22,9 g, 109 mmol) ble oppløst under argon i THF (80 ml) og blandet i løpet av 30 minutter med 2M isopropylmagnesium-klorid (2, 35,7 ml, 72 mmol) i THF ved 0 °C. Etter en reaksjonstid på 1 time ved 3-5 °C ble aminonitrilet B-1 (10 g, 47,6 mmol) oppløst i tetrahydrofuran (20 ml) og omrørt ved romtemperatur i 20 timer. Bearbeidingen av blandingen ble gjennomført ved tilsetning av mettet NH₄Cl-løsning (85 ml) og ekstrahering med dietyleter (3100 ml). Den organiske fasen ble ekstrahert med vann (50 ml) og mettet NaCl-løsning (50 ml) og konsentrert. Det ble oppnådd en mørk brun olje (21,3 g), som bortsett fra det ønskede ketalet inneholdt amino-nitril B-1 og 2-jodtiofen inneholdt. Råproduktet ble løst i etylmetylketon (140 ml) og blandet med CISiMe₃ (9,1 ml, 71,4 mmol). Etter en reaksjonstid på seks timer ble hydroklorid D-4 isolert som et hvitt, krystallinsk stoff i et utbytte på 60 % (8,74 g).

4-dimetylamino-4-thiofen-2-ylsykloheksanon (E-4)

Hydroklorid D-4 (8,68 g, 28,6 mmol) ble oppløst i 7,5 N saltsyre (29 ml) og omrørt ved romtemperatur i 48 timer. Etter fullføring av hydrolysen ble reaksjonsblandingene ekstrahert med dietyleter (2 50 ml). Den vandige fasen ble gjort alkalisk under isavkjøling med 5N natriumhydroksyd, ekstrahert med diklormetan (3 50 ml) og konsentrert. Ketonet E-4 ble så oppnådd som et gult faststoff med et smeltepunkt på 108-110 °C i et utbytte på 89 % (5,66 g).

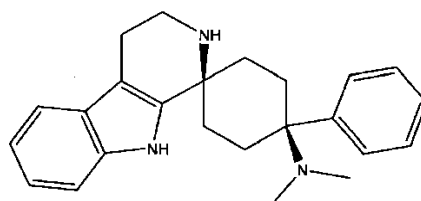
Byggestein E-5:

N,N-dimetyl-8-(thiofen-3-yl)-1,4-dioksaspiro[4.5]decan-8-amin (D-5)

3-jodtiofen (1,5 g, 23,8 mmol) ble oppløst under argon i THF (18 ml) og blandet i løpet av 8 minutter med 2 M isopropylmagnesiumklorid (2, 7,8 ml, 15,5 mmol) i THF ved 0 °C. Etter en reaksjonstid på 1 time ved 3-5 °C ble det tilsatt aminonitril B-1 (2,16 g, 10,3 mmol) oppløst i tetrahydrofuran (20 ml). Deretter ble den omrørt i 20 h ved romtemperatur. Bearbeidingen av blandingen ble gjennomført ved tilsetning av mettet NH₄Cl-løsning (20 ml) og ekstrahering med dietyleter (3 x 50 ml). Den organiske fasen ble ekstrahert med vann (20 ml) og mettet NaCl-løsning (20 ml) og konsentrert. Det ble oppnådd en lys brun olje (3,95 g). Råproduktet ble løst i etylmetylketon (40 ml) og blandet med CISiMe₃ (1,95 ml, 15,5 mmol). Etter en reaksjonstid på 3 h kunne det ønskede hydrokloridet isoleres som en hvit, krystallinsk forbindelse i et utbytte på 60 % (1,86 g) med et smeltepunkt på 250-251 °C.

4-(dimetylamino)-4-(thiofen-3-yl)sykloheksanon (E-5)

Hydroklorid D-5 (1,8 g, 5,9 mmol) ble oppløst i 7,5 N saltsyre (7 ml) og omrørt ved romtemperatur i 48 timer. Etter avsluttet hydrolyse ble reaksjonsblandingen ekstrahert med dietyleter (2 × 30 ml), den vandige fasen gjort basisk under iskjøling med 5N natronlut, ekstrahert med diklormetan (3 × 30 ml) og konsentrert. Ketonet -5 kunne isoleres som et gult, fast stoff med et smeltepunkt på 147-150 °C et utbytte på 98 % (1,27 g).

Syntese av spiroaminbygggesteiner (AMN^{cis} / AMN^{trans}-)Sammenligningseksempel AMN-1^{cis}:2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(fenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

Merk: Etter denne fremgangsmåten oppnås overveiende cis-produktet AMN-1^{cis}. Transproduktet AMN-1^{trans} utvikles bare som et biprodukt eller forurensning.

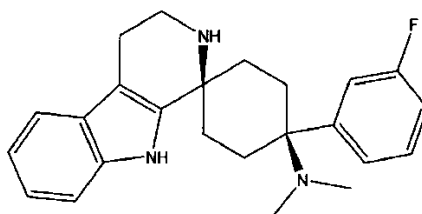
Keton E-1 (3,26 g, 15 mmol) og tryptamin H-1 (2,4 g, 15 mmol) ble løst i tørt MeOH (100 ml) under fravær av oksygen. Til denne blandingen ble natriumsulfat (3 g) tilsatt. Etter en reaksjonstid på 17 timer ble løsningsmiddelet destillert av på en rotasjonsfordamper og resten tatt opp i 1,2-diklorethan (100 ml). Reaksjonsblandingen ble tilsatt trifluoreddiksyre (15 ml) og omrørt i 1 h ved romtemperatur. Reaksjonsforløpet ble kontrollert ved TLC. Til bearbeidelsen ble blandingen tilsatt H₂O (40 ml) og pH justert med NaOH (5 mol/l) til 11. Derved oppstod et hvitt faststoff, som ble sugd bort ved hjelp av en fritte. Faststoffet ble vasket med H₂O (3 × 5 ml) og tørket. Dette gjaldt da cis-produktet AMN-1^{cis}, hvilket ble oppnådd som et hvitt faststoff med et smeltepunkt på 214-218 °C i et utbytte på 4 g (74 %). Moderluten (vandig fase) ble separert og ekstrahert med 1,2-diklormetan (3 × 25 ml). Den organiske fasen ble tørket med Na₂SO₄ og konsentrert. Den faste brune resten ble rekrystallisert fra MeOH (10 ml) for å gi

en blanding av cis-AMN-1^{cis} og trans-AMN-1^{trans}-spiroamin (1: 1). Blandingen ble oppnådd som et hvitt, fast stoff i et utbytte på 940 mg (17 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): 1,61 (m, 2 H) 1,63 (m, 2 H) 1,92 (s, 6 H) 2,12 (m, 2 H) 2,39 (m, 2 H) 2,53 (t, *J* = 5,36 Hz, 2 H) 2,99 (t, *J* = 5,35 Hz, 2 H) 6,86 (m, 1 H) 6,91 (m, 1 H) 7,16 (d, *J* = 7,52 Hz, 1 H) 7,28 (d, *J* = 7,52 Hz, 1 H) 7,31 (m, 1 H) 7,43 (m, 4 H) 10,21 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-2^{cis}:

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorofenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

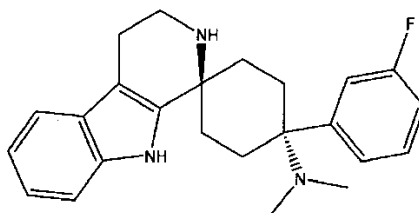


Ketonet E-2 (4,71 g, 20 mmol) og tryptamin H-1 (3,2 g, 20 mmol) ble løst i tørt MeOH (200 ml) under argon. Etter en reaksjonstid på 24 timer ble MeOH destillert av, og den gule, olejaktige resten suspendert i 1,2-dikloretan (200 ml). Reaksjonsblandingen ble tilsatt trifluoreddiksyre (20 ml) og omrørt i 2 h ved romtemperatur. Reaksjonsforløpet ble kontrollert ved TLC. Til bearbeidelsen ble blandingen fortynnet med H₂O (100 ml) og pH justert med NaOH (5 mol/l) til pH 11. Etter tilsetning av etylacetat (50 ml) ble det ved omrøring felt ut et hvitt faststoff, hvilket ble sugd opp ved hjelp av en fritte. Faststoffet ble vasket med H₂O (3 x 25 ml) og deretter tørket. Dette gjaldt da cis-diastereomeren AMN-2^{cis}, hvilket ble oppnådd som et hvitt faststoff med et smeltepunkt på 220-225 °C i et utbytte på 5,5 g (73 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): 1,61 (m, 2 H) 1,62 (m, 2 H) 1,93 (s, 6 H) 2,11 (m, 2 H) 2,38 (m, 2 H) 2,53 (t, *J* = 5,56 Hz, 2 H) 2,99 (t, *J* = 5,56 Hz, 2 H) 6,87 (m, 1 H) 6,92 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,17 (d, *J* = 8,34 Hz, 1 H) 7,20 (m, 1 H) 7,25 (d, *J* = 7,82 Hz, 1 H) 7,28 (d, *J* = 7,47 Hz, 1 H) 7,47 (m, 1 H) 10,26 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-2^{trans}:

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorofenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (trans-diastereomer)



5

Tryptamin H-1 (2,03 g, 12,7 mmol) og keton (E-2, 3,0 g, 12,7 mmol) ble løst i abs. metanol (130 ml) og omrørt ved romtemperatur i 16 timer under argon. Reaksjonsblandingen ble deretter konsentrert. Resten ble oppløst i abs. 1,2-dikloretan (130 ml), hurtig blandet med trifluoreddiksyre (12,7 ml) og omrørt i 2 timer ved romtemperatur. Under isavkjøling ble det tilsatt vann (40 ml) (120 ml) og 5N natronlut og blandingen omrørt i 1 time. Det derved resulterende fargeløse faststoffet ble oppsamlet ved filtrering og vasket med 1,2-dikloretan (30 ml) og vann (4 x 25 ml). cis-spiroaminet AMN-2^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 77 % (3,7 g) med spor av trans-spiroamin AMN-2^{trans}. Filtratets faser ble separert. Den organiske fasen ble tørket med natriumsulfat, konsentrert, behandlet med metanol (3 ml) og omrørt ved romtemperatur i 1 time. Derved ble et hvitt faststoff utfelt, hvilket fast stoff ble separert ved filtrering og vasket med metanol (4 x 3 ml). trans-spiroaminet AMN-2^{trans} ble oppnådd i et utbytte på 5 % (250 mg) med spor av cis-spiroamin AMN-2^{cis}. Etter kromatografisk rensing [silikagel 60 (20 g); metanol (200 ml)] ble det oppnådd trans-spiroamin AMN-2^{trans} (170 mg) med et smeltepunkt på 296-299 °C.

10

15

20

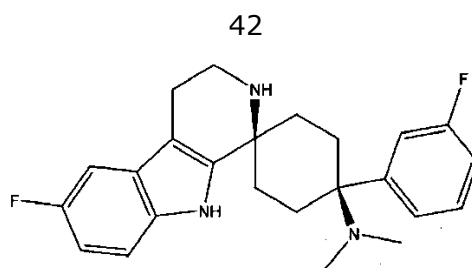
25

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): 1,55 (m, 2 H) 1,62 (m, 2 H) 1,88 (s, 6 H) 2,26 (m, 2 H) 2,43 (m, 2 H) 2,55 (t, *J* = 5,49 Hz, 2 H) 2,96 (t, *J* = 5,25 Hz, 2 H) 6,91 (m, 1 H) 6,99 (m, 1 H) 7,08 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,20 (d, *J* = 7,64 Hz, 1 H) 7,32 (m, 2 H) 7,40 (m, 1 H) 10,63 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-3^{cis}:

30

6'-Fluoro-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorofenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

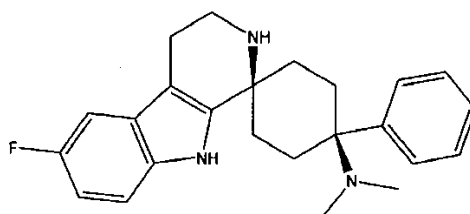


Keton E-2 (9,6 g, 41,2 mmol) og fluortryptamin H-2 (7,3 g, 41,2 mmol) ble oppløst i etanol (200 ml) og oppvarmet til resirkulasjon i 12 timer. Etanolen ble deretter destillert fra, og råproduktet ble suspendert i 1,2-diklorethan (100 ml). Reaksjonsblandingen ble tilsatt trifluoreddiksyre (90 ml) og omrørt i 12 h ved romtemperatur. Reaksjonsforløpet ble kontrollert ved TLC. For bearbeidelse ble blandingen gjort basisk med 500 ml 1 N NaOH-løsning ved 0 °C og deretter ekstrahert 3 x med 500 ml etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble tørket over magnesiumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Etter tilsetning av metanol (100 ml) ble det ved omrøring felt ut et hvitt faststoff, hvilket ble sugd opp ved hjelp av en fritte. Det faste stoff ble vasket med metanol (2 x 25 ml) og deretter tørket. Dette dreide seg om *cis*-diasetereomeren AMN-3^{cis} som ble oppnådd som et hvitt faststoff i et utbytte på 3,6 g (22 %).

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10,39(s, 1 H), 7,44-7,49 (m, 1 H), 7,11-7,24 (m, 4H), 7,00-7,04 (m, 1 H), 6,72-6,78 (m, 1 H), 2,95-2,98 (t, 2H), 2,48-2,50 (m, 1 H), 2,36-2,39 (d, 2H), 1,98-2,11 (m, 2H), 1,91 (s, 6H), 1,51-1,67 (m, 5H)
MS m/z (M+1): 396,4; renhet (HPLC): 95,03 %

Sammenligningseksempel AMN-4^{cis}:

6'-Fluoro-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(fenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (*cis*-diastereomer)



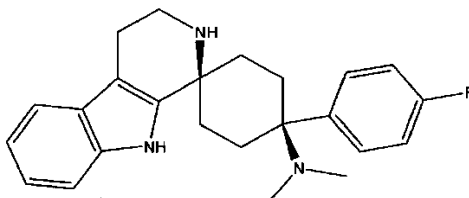
Keton E-1 (8,4 g, 47 mmol) og fluortryptamin H-2 (10,2g, 47 mmol) ble oppløst i etanol (200 ml) og oppvarmet til resirkulasjon i 12 timer. Etanolen ble deretter destillert fra, og råproduktet ble suspendert i 1,2-diklorethan (120 ml).

Reaksjonsblandingen ble tilsatt trifluoreddiksyre (100 ml) og omrørt i 12 h ved romtemperatur. Reaksjonsforløpet ble kontrollert ved TLC. Til bearbeidelse ble blandingen gjort basisk med 1 N NaOH-løsning ved 0 °C og deretter ekstrahert 3 x med 500 ml etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble tørket over magnesiumsulfat og konsentrert under redusert trykk. Etter tilsetning av metanol (100 ml) ble det ved omrøring felt ut et hvitt faststoff, hvilket ble sugd opp ved hjelp av en fritte. Det faste stoff ble vasket med metanol (2 x 25 ml) og deretter tørket. Dette dreide seg om *cis*-diasetereomeren AMN-4^{cis} som ble oppnådd som et hvitt faststoff i et utbytte på 4 g (28 %).

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10,36(s, 1H), 7,45-7,42 (t, 4H), 7,32-7,29 (m, 1H), 7,14-7,10 (m, 1 H), 7,03-7,00 (m, 1 H), 6,76-6,71 (m, 1 H), 2,99-2,96 (t, 2H), 2,40-2,37 (d, 2H), 2,13-2,04 (m, 2H), 1,91 (s, 6H), 1,88 (s, 1 H), 1,65-1,54 (m, 4H), 1,23 (s, 1 H).

Sammenligningseksempel AMN-5^{cis}:

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(4-fluorofenyl)-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (*cis*-diastereomer)



Ketonet E-3 (2800 mg, 11,90 mmol) og tryptamin (H-1, 1910 mg, 11,90 mmol) bløe løst under argon i tørt metanol (119 ml) og omrørt i 18 h. Deretter ble metanolet destillert av i vakuum og resten løst i 1,2-dikloretan (119 ml). Reaksjonsblandingen ble tilsatt trifluoreddiksyre (11,9 ml) og omrørt i 2 h ved romtemperatur. Deretter reaksjonsblandingens fortynnet med 1,2-dikloretan (119 ml, og pH-verdi justert under isavkjøling til pH 11 med 1 N natriumhydroksid-løsning. Det oppstod en lys utfelling. Blandingen ble omrørt over natten ved romtemperatur. Utfellingen ble sugd opp, vasket med vann og tørket i vakuum. *cis*-diastereomeren AMN-5^{cis} (smeltepunkt 249-250 °C, delvis allerede ved 225-230 °C) kunne isoleres med et utbytte på 80 % (3610 mg, 9,56 mmol). - Fasene ble separert. Den organiske fasen ble tørket med natriumsulfat, filtrert og i vakuum befridd for flyktige bestanddeler. Den lyse resten(trans-diastereoisomer

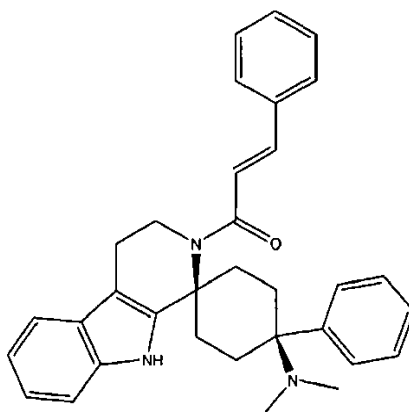
AMN-5^{trans}) ble tatt opp i metanol (5 ml) og omrørt i 48 timer. Utfellingen ble filtrert av og tørket i vakuum. Trans-diastereomeren AMN-5^{trans} (268-271 °C) kunne isoleres i et utbytte på 6 % (279 mg, 0,74 mmol).

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: 22,8 (1 C), 27,3 (2 C), 32,6 (2 C), 37,8 (2 C), 38,6 (1 C), 51,2 (1 C), 60,5 (1 C), 106,7 (1 C), 110,8 (1 C), 114,2 (2 C, d, J = 21 Hz), 117,2 (1 C), 117,9 (1 C), 120,0 (1 C), 126,9 (1 C), 129,7 (2 C, d, J = 8 Hz), 132,8 (1 C, d, J = 3 Hz), 135,4 (1 C), 141,4 (1 C), 160,7 (1 C, d, J = 242 Hz)

Syntese av cis-spiroamideksempler (AMD^{cis})

Eksempel AMD-1^{cis}:

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-fenyl-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Metansulfonat (1:1) (cis-diastereomer)



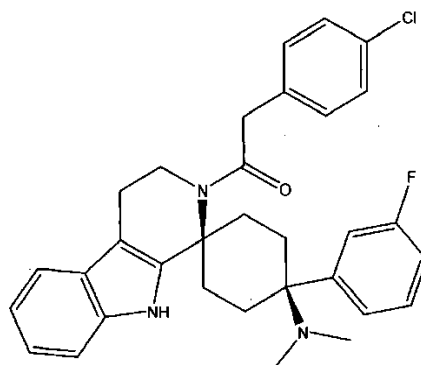
AMN-1^{cis} ble oppløst i THF (8 ml). Deretter ble kanelsyreklorid (254 mg, 1,53 mmol) og diisopropyletylamin (216 mg, 1,67 mmol) og rørt i 2 d ved RT. Etter fullføring av reaksjonen ble faststoffet filtrert fra og filtratet blandet med mettet Na₂CO₃-løsning. Den vandige fasen ble ekstrahert tre ganger med 10 ml etylacetat. Deretter ble den organiske fasen tørket over MgSO₄ og konsentrert på rotasjonsfordamper. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi [silikagel 60; DCM / metanol (19: 1, 570 ml)]. Produktet ble oppnådd i et utbytte på 174 mg (26 %). For fremstilling av metansulfonatet ble det derved oppnådde spiroamidet (174 mg, 0,355 mmol) suspendert i DCM (6 ml), og blandet ved romtemperatur med metansulfonsyre (23,7 l, 0,355 mmol). Deretter ble aceton

(0,8 ml) tilsatt og så mye dietyleter tilsatt at den oppstående turbiditeten så vidt ble oppløst ved risting. Omrøringen fortsatte i 30 min. og det resulterende faststoffet ble deretter fjernet ved vakuum, vasket med dietyleter og tørket under oljepumpevakuum ved 50 °C i 3 timer. Produktet AMD-1^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 159 mg (76 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 1,65 (t, *J* = 13,22 Hz, 2 H) 2,20 (t, *J* = 12,84 Hz, 2 H) 2,51 (d, *J* = 4,53 Hz, 9 H) 2,87 - 3,16 (m, 4 H) 4,13 (br. s., 2 H) 6,92 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 6,99 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 7,20 (d, *J* = 8,31 Hz, 1 H) 7,31 (d, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 7,36 - 7,51 (m, 5 H) 7,56 - 7,69 (m, 3 H) 7,74 (d, *J* = 7,55 Hz, 2 H) 7,82 (d, *J* = 7,55 Hz, 2 H) 9,62 (br, s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-2^{cis}

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluor-fenyl)-2'-(4-chlorbenzyl)-karbonyl-spiro-[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

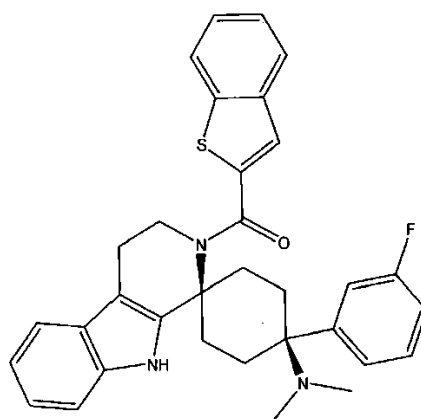


Spiroaminet (AMN-2^{cis}; 396 mg, 1,05 mmol) ble suspendert i DCM (15 ml) i et mikrobølgesikkert kar og blandet med og 2 -(4-klorfenyl)acetylklorid (397 mg, 2,1 mmol) og diisopropyletylamin (269 mg, 2,1 mmol). Reaksjonsblandingen ble bestrålt ved 120 °C i 10 min. i mikrobølgeovn (Initiator Eight, Biotage). Etter fullføring av reaksjonen (TLC-overvåking), ble reaksjonsblandingen først filtrert, vasket med dietyleter (15 ml) og filtrert igjen. Den ble vasket med mettet Na₂CO₃-løsning (8 ml). Etter at fasene var separert ble den vandige fasen vasket enda en gang med DCM. De konsenterte organiske fasene ble tørket over MgSO₄ og konsentert på rotasjonsfordamper. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi [silikagel 60; DCM / metanol (19: 1)]. Produktet AMD-2^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 91 mg (16 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,55 (t, *J* = 13,60 Hz, 2 H) 1,79 (t, *J* = 12,84 Hz, 2 H) 1,92 (br. s., 6 H) 2,60 - 2,70 (m, 2 H) 2,73 - 2,87 (m, 2 H) 3,17 (d, *J* = 5,29 Hz, 2 H) 3,89 - 4,01 (m, 4 H) 6,90 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 6,97 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 7,08 - 7,16 (m, 1 H) 7,18 (d, *J* = 8,31 Hz, 1 H) 7,21 - 7,30 (m, 3 H) 7,34 (q, *J* = 8,31 Hz, 4 H) 7,46 (q, *J* = 7,30 Hz, 1 H) 10,53 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-3^{cis}

2',3',4',9'-tetrahydro-N, N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(benzothiopen-2-yl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)



Spiroaminet (AMN-2^{cis}; 264 mg, 0,7 mmol) ble suspendert i DCM (7 ml) i et mikrobølgesikkert kar og blandet med benzo[*b*]tiofen-2-karbonylchlorid (239 mg, 1,21 mmol) og diisopropyletylamin (180 mg, 1,4 mmol). Reaksjonsblandingen ble bestrålt ved 100 °C i 10 min. i mikrobølgeovn (Initiator Eight, Biotage). Etter fullføring av reaksjonen (TLC-overvåking), ble reaksjonsblandingen fortynnet med DCM (15 ml) og filtrert. Moderluten ble vasket med mettet Na₂CO₃-løsning (8 ml). Etter at fasene var separert ble den vandige fasen vasket ytterligere to ganger med DCM. De konsentrerte organiske fasene ble tørket over MgSO₄ og konsentrert på rotasjonsfordamper. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi [silikagel 60; DCM / metanol (19: 1)]. Produktet AMD-3^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 125 mg (33 %).

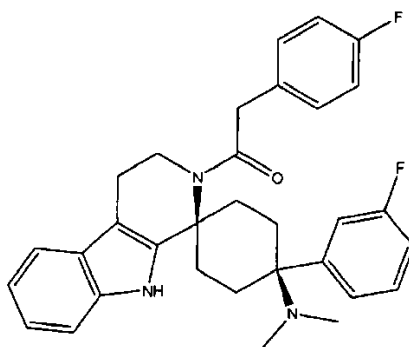
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,63 - 1,79 (m, 2 H) 1,83 - 1,93 (m, 2 H) 1,95 (s, 6 H) 2,60 (d, *J* = 13,60 Hz, 2 H) 2,65 (t, *J* = 5,67 Hz, 2 H) 2,78 - 2,94 (m, 2 H) 4,08 - 4,22 (m, 2 H) 6,92 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 6,99 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 7,16 (t, *J* = 8,31 Hz, 1 H) 7,23 (d, *J* = 8,31 Hz, 1 H) 7,26 - 7,36 (m, 3 H)

7,44 - 7,54 (m, 3 H) 7,95 (s, 1 H) 8,03 (d, $J = 7,55$ Hz, 1 H) 8,07 (d, $J = 8,31$ Hz, 1 H) 10,66 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel AMN-4^{cis}

5

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluor-fenyl)-2'-(4-fluorbenzyl)-karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-aminmetansulfonat (cis-diastereomer)



10

Spiroaminet (AMN-2^{cis}; 600 mg, 1,59 mmol) ble suspendert i DCM (15 ml) i et mikrobølgesikkert kar og blandet med mit 2-(4-fluorofenyl)acetylklorid (548 mg, 3,18 mmol) og diisopropyletylamin (408 mg, 3,18 mmol). Reaksjonsblandingen ble bestrålt ved 130 °C i 10 min. i mikrobølgeovn (Initiator Eight, Biotage). Etter fullføring av reaksjonen (TLC-overvåking), ble reaksjonsblandingen først filtrert, moderluten fortynnet med DCM (45 ml) og blandet med mettet Na₂CO₃-løsning (25 ml). Etter at den organiske fasen var separert, ble fasene vasket på nytt med mettet Na₂CO₃. Den organiske fasen ble tørket over MgSO₄ og konsentrert på rotasjonsfordamper. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi [silikagel 60; DCM / metanol (4: 1)]. Produktet ble oppnådd i et utbytte på 150 mg (18 %). For fremstilling av metansulfonatet ble spiroamidet (150 mg, 0,29 mmol) løst i DCM (1 ml) og blandet ved romtemperatur RT med metansulfonsyre (18,9 µl, 0,29 mmol). Den ble fortynnet med dietyleter, slik at det oppstod en omrør blanding. Faststoffet ble sugd opp under vakuum, vasket med dietyleter og tørket under et oljepumpevakuum i 50 °C. Produktet AMD-4^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 148 mg (83 %).

15

20

25

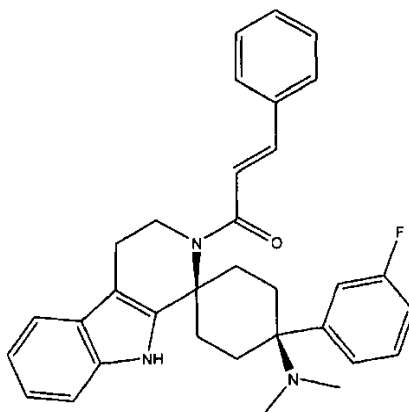
30

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,58 (t, $J = 12,84$ Hz, 2 H) 2,16 (t, $J = 12,09$ Hz, 2 H) 2,31 (s, 3 H) 2,53 - 2,58 (m, 6 H) 2,58 - 2,68 (m, 2 H) 2,83 - 3,03 (m, 4 H) 3,98 (s, 2 H) 3,99 - 4,06 (m, 2 H) 6,92 (t, $J = 7,18$ Hz, 1 H) 6,99

(t, $J = 7,18$ Hz, 1 H) 7,14 (t, $J = 8,31$ Hz, 2 H) 7,18 (d, $J = 8,31$ Hz, 1 H) 7,29 (d, $J = 7,55$ Hz, 1 H) 7,36 (t, $J = 6,42$ Hz, 2 H) 7,45 (t, $J = 7,93$ Hz, 1 H) 7,58 - 7,75 (m, 3 H) 9,65 (br. s., 1 H)

5 Eksempel AMD-5^{cis}

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

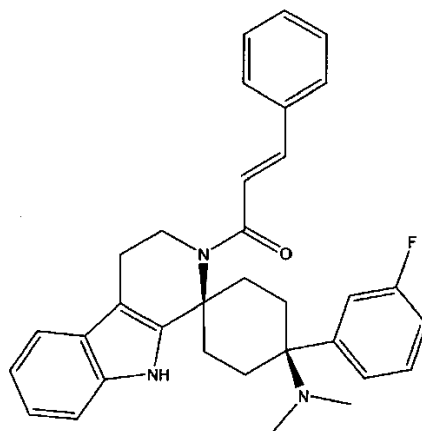


Spiroaminet (AMN-2^{cis}; 378 mg, 1,0 mmol) ble oppløst i tørt aprotisk løsningsmiddel (6 ml), blandet med cinnamoylchlorid (183 mg, 1,1 mmol) og diisopropyletylamin (155 mg, tilsatt 1,2 mmol) og omrørt over natten ved RT. Etter fullføring av reaksjonen (TLC-overvåking), ble løsningsmiddelet fjernet, resten ble bearbeidet i vandig løsning og ekstrahert med halogenert løsningsmiddel. De kombinerte organiske fasene ble tørket over Na₂SO₄ og konsentrert. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi. Under konsentrasjon ble et faststoff utfelt, hvilket ble avfiltrert og deretter tørket. Produktet ble oppnådd i et utbytte på 220 mg (43 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,63 (t, $J = 13,60$ Hz, 2 H) 1,84 (t, $J = 13,22$ Hz, 2 H) 1,91 (s, 6 H) 2,54 - 2,63 (m, 2 H) 2,65 (t, $J = 5,67$ Hz, 2 H) 2,82 - 3,02 (m, 2 H) 3,17 (d, $J = 5,29$ Hz, 2 H) 4,00 - 4,22 (m, 2 H) 6,90 (t, $J = 7,18$ Hz, 1 H) 6,97 (t, $J = 7,55$ Hz, 1 H) 7,11 - 7,18 (m, 1 H) 7,20 (d, $J = 8,31$ Hz, 1 H) 7,23 - 7,33 (m, 3 H) 7,35 - 7,54 (m, 5 H) 7,72 (d, $J = 6,80$ Hz, 2 H) 10,59 (s, 1 H)

Eksempel AMD-6^{cis}:

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Citrat (cis-diastereomer)



5

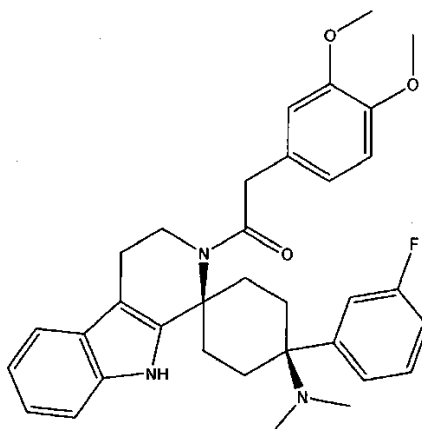
For fremstilling av saltet ble amidet AMD-5^{cis} (220 mg, 0,43 mmol) løst i tørt aprotisk løsningsmiddel (1,5 ml) og løst i sitronsyre (83 mg, 0,43 mmol) i minimumsmengden av protisk løsningsmiddel. Upolart løsningsmiddel ble tilsatt dråpevis for å utfelle produktet. Deretter ble det faste stoffet sugd opp under fravær av luft og tørket under oljepumpevakuum i 50 °C. Produktet AMD-6^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 100 mg (33 %).

10

Sammenligningseksempel AMN-7^{cis}

15

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(3,4-dimetoksybenzyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)



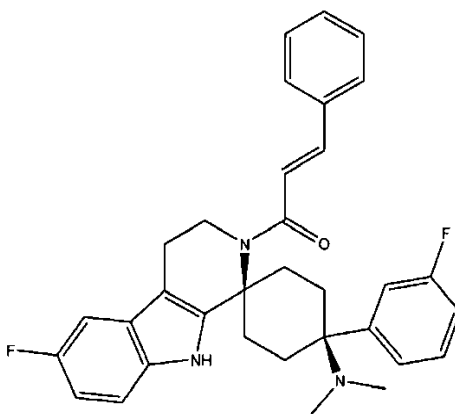
20

Spiroaminet (AMN-2^{cis}; 200 mg, 0,54 mmol) ble suspendert i halognert løsemiddel (5 ml) i et mikrobølgesikkert kar og blandet med 2-(3,4-dimetoksyfenyl)-acetylklorid (230 mg, 1,1 mmol) (230 mg, 1,1 mmol) og diisopropyletylamin (138 mg, 1,1 mmol). Reaksjonsblandingen ble bestrålt ved 120 °C i 10 min. i mikrobølgeovn (Initiator Eight, Biotage). Etter fullføring av reaksjonen (TLC-kontroll) ble det først filtrert og deretter blandet med moderluten med NaOH-løsning (5 N, 10 ml). Etter separasjon av fasene ble den vandige fasen ekstrahert tre ganger med et polart, aprotisk løsningsmiddel (5 ml). De konsentrerte organiske fasene ble tørket over MgSO₄ og konsentert. Råproduktet ble rensert ved kolonnekromatografi. Produktet AMD-7^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 140 mg (47 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,54 (t, *J* = 12,46 Hz, 2 H) 1,79 (t, *J* = 13,22 Hz, 2 H) 1,85 - 1,96 (m, 6 H) 2,52 - 2,60 (m, 2 H) 2,62 - 2,72 (m, 2 H) 2,73 - 2,89 (m, 2 H) 3,74 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 3,82 (br. s., 2 H) 3,90 (br. s., 2 H) 6,83 - 6,93 (m, 4 H) 6,97 (t, *J* = 7,55 Hz, 1 H) 7,13 (t, *J* = 7,18 Hz, 1 H) 7,19 (d, *J* = 8,31 Hz, 1 H) 7,20 - 7,32 (m, 3 H) 7,41 - 7,54 (m, 1 H) 10,53 (s, 1 H)

Eksempel AMD-8^{cis}

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-6'-fluor-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)



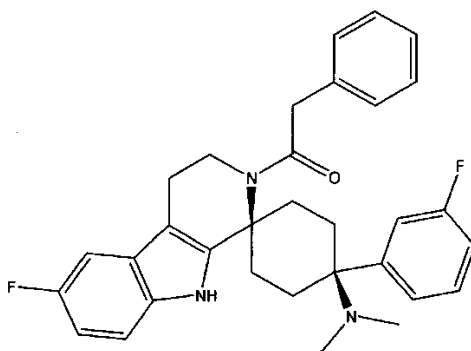
I et mikrobølgesikkert kar ble det fylt en suspensjon av spiroamin AMN-3 var^{cis} (0,197 g, 0,5 mmol, 1 ekv.) i 15 ml absolutt DCM. Til denne suspensjonen ble det suksessivt tilsatt etyl-diisopropylamin (0,129 g, 1 mmol, 2 ekv.) og kanelisyreklorid (0,166 g, 1 mmol, 2 ekv.). Det mikrobølgesikre karet ble lukket

og oppvarmet til 120 °C i 10 min. i mikrobølgeovnen (Initiativtaker Eight, Biotage). Til bearbeidingen ble reaksjonsblandingen tilsatt 4 ml vann og 4 ml 1 N natronlut. Denne blandingen ble omrørt i 2 timer ved RT. Fasene ble separert og den vandige fasen ekstrahert 3 ganger med DCM. De kombinerte organiske fasene ble vasket med vann og tørket over natriumsulfat. Etter at løsningsmiddelet var fjernet under redusert trykk, ble resten renset ved kolonnekromatografi (silikagel, eddikester, sykloheksan 1:2 → 1:0). 0,087 g produkt AMD-8^{cis} (33 %) ble oppnådd.

10 HPLC/MS-analytikk: R_t = 4,2 min; renhet (UV 200-400 nm) 97 %; m/z = 526,1

Sammenligningseksempel AMN-9^{cis}

15 2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-6'-fluor-4-(3-fluorfenyl)-2'-(benzyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

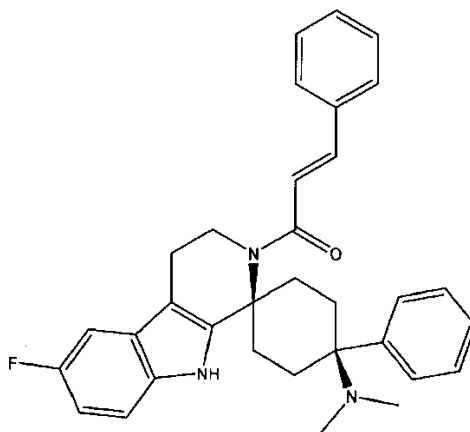


I et mikrobølgesikkert kar ble det fylt en suspensjon av spiroamin AMN-3 var^{cis} (0,25 g, 0,63 mmol, 1 ekv.) i 19 ml absolutt DCM. Til denne suspensjonen ble det suksessivt tilsatt etyl-diisopropylamin (0,163 g, 1,26 mmol, 2 ekv.) og 2-fenylacetylklorid (0,195 g, 1,26 mmol, 2 ekv.). Det mikrobølgesikre karet ble lukket og oppvarmet til 120 °C i 10 min. i mikrobølgeovnen (Initiativtaker Eight, Biotage). Til bearbeidingen ble reaksjonsblandingen tilsatt 5 ml vann og 5 ml 1 N natronlut. Denne blandingen ble omrørt i 2 timer ved RT. Fasene ble deretter separert og den vandige fasen ekstrahert 3 ganger med DCM. De kombinerte organiske fasene ble vasket med vann og tørket over natriumsulfat. Etter at løsningsmiddelet var fjernet under redusert trykk, ble resten renset ved kolonnekromatografi (silikagel, eddikester → eddikester/metanol 9:1). 0,145 g produkt AMD-9^{cis} (45 %) ble oppnådd.

HPLC/MS-analytikk: $R_t = 3,9$ min; renhet (UV 200-400 nm) 98 %; $m/z = 514,1$

Eksempel AMD-10^{cis}

- 5 (E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-6'-fluor-4-fenyl-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)



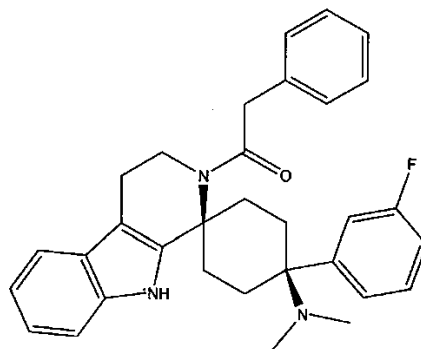
- 10 Til en løsning av kanelsyreklorid (0,198 g, 1,192 mmol, 3 ekv.) i 4,5 ml abs. THF ble det under nitrogen ved RT tilsatt en løsning av spiroamin AMN-4^{cis} (0,15 g, 0,397 mmol, 1 ekv.) i 9 ml abs. THF. Etter omrøring i 1 h ved RT ble den uklare reaksjonsløsningen først blandet med 3 ml vann, og så under isavkjøling med 3 ml 1 N natronlut. Det ble omrørt i 1,5 timer. Etter at løsningsmiddelet ble fjernet under redusert trykk, ble det utfelte faststoffet avfiltrert og vasket med vann. Det urene produkt ble rensert ved kolonnekromatografi (silikagel; eddikester). 0,043g produkt AMD-10^{cis} (21 %) ble oppnådd.

HPLC/MS-analytikk: $R_t = 4,2$ min; renhet (UV 200-400 nm) 98 %; $m/z = 508,2$

Sammenligningseksempel AMN-11^{cis}

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-benzylkarbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)

53

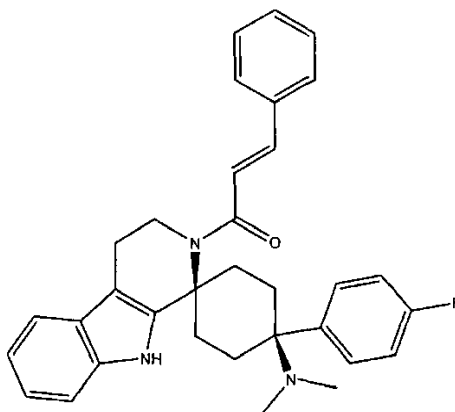


Cis-spiroamin AMN-2^{cis} (1,29 g, 3,4 mmol) ble oppløst under fravær av oksygen i
absolutt tetrahydrofuran (20 ml) og absolutt diklormetan (120 ml), Hünigs base
5 (1,167 ml, 6,8 mmol) og, ved RT, med 2-fenylacetylchlorid (900 l, 6,8 mmol). Etter
en reaksjonstid på 30 min ble blandingen tilsatt 5 N natronlut (100 ml) og omrørt i
2 h. Den vandige fasen ble separert og ekstrahert med diklormetan (3 × 10 ml).
De kombinerte organiske fasene ble tørket over Na₂SO₄ og deretter konsentert.
Det ble isolert et råprodukt som ble kromatografisk separert [silikagel 60 (100 g);
10 EtOAc (1 000 ml)]. Cis-amid AMD-11^{cis} ble oppnådd i et utbytte på 820 mg (49 %)
med et smeltepunkt på 95-100 °C som et fargeløst, fast stoff.

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: 22,1, 29,1, 33,0, 38,0, 40,8, 43,1, 60,0,
60,3, 105,5, 111,1, 113,7, 113,2, 114,5, 114,7, 117,3, 118,4, 120,5, 123,8,
15 126,2, 126,5, 128,2, 129,0, 129,2, 129,3, 135,3, 136,5, 139,5, 140,6, 161,1,
163,5, 173,4

Eksempel AMD-12^{cis}

20 (E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(4-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-
spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (cis-diastereomer)



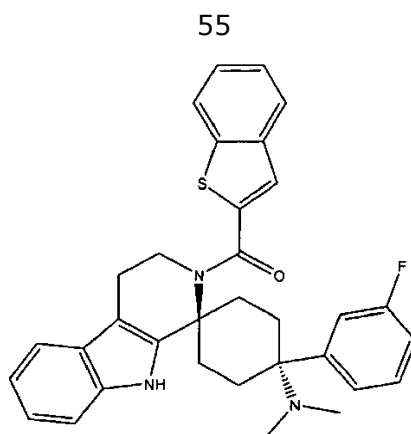
I en suspensjon av cis-5-spiroamin AMN^{cis} (500 mg, 1,32 mmol) i absolutt diklormetan (40 ml) ble det under argon i løpet av 10 min dråpevis suksessivt tilsatt Hünigs base (0,45 ml, 342 mg, 2,64 mmol) og kanelisyreklorid (440 mg, 2,64 mmol) løst i absolutt diklormetan (12 ml). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 ved romtemperatur, deretter tilsatt vann (30 ml) og 1 N natriumhydroksudløsning (5 ml) og omrørt i 1,5 h. Diklormetanet ble konsentrert i vakuum. Derved ble et lyst faststoff, hvilket ble separert ved filtrering og vasket med vann (3 x 30 ml). Det derved oppnådde råproduktet ble kromatografisk rensset [silikagel 60 (70 g); etylacetat/cykloheksan 1 : 1 (500 ml), etylacetat (1 000 ml), etylacetat/metanol 10 : 1 (330 ml), etylacetat/metanol 4 : 1 (800 ml), metanol (300 ml)]. Ved anvendelse av råproduktet på kolonnen måtte dette løses i etylacetat/sykloheksan 1: 1 med litt tetrahydrofuran. cis-diastereomeren AMN-12^{cis} (smeltepunkt 145-155 °C) ble oppnådd som et fargeløst faststoff i et utbytte på 31 % (204 mg, 0,40 mmol).

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, DMSO-*D*₆) δ ppm: 22,5 (1 C), 29,3 (2 C), 32,6 (2 C), 37,8 (2 C), 41,3 (1 C), 59,5 (1 C), 60,3 (1 C, br), 105,4 (1 C), 111,1 (1 C), 114,3 (2 C, d, J = 20 Hz), 117,3 (1 C), 118,4 (1 C), 120,5 (1 C), 123,1 (1 C), 126,6 (1 C), 127,9 (2 C), 128,7 (2 C), 129,3 (2 C), 129,8 (2 C, d, J = 8 Hz), 132,4 (1 C, br), 135,1 (1 C), 135,4 (1 C), 139,4 (1 C), 140,4 (1 C), 160,9 (1 C, d, J = 243 Hz), 170,3 (1 C)

Syntese av trans-spiroamid-sammenlingseksempler (AMD^{trans})

Sammenligningseksempel AMN-3^{trans}

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(benzothiofen-2-yl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Citrat (1:1) (trans-diastereomer)



2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(benzothiofen-2-yl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (trans-diastereoisomer)

5 Benzo[b]tiofen-2-karbonsyreklorid (728 mg, 3,96 mmol) ble løst i abs. tetrahydrofuran (30 ml) under argon og blandet ved romtemperatur med trans-spiroamin AMN-2^{trans} (500 mg, 1,32 mmol), løst i abs. tetrahydrofuran (60 ml), i løpet av 75 min. Derved ble det dannet en tynn utfelling. Etter en reaksjonstid på 2 h ble reaksjonsblandingen fortynnet med vann (15 ml), blandet under iskjøling med 1 N natronlut (15 ml) og omrørt i 2,5 h. Tetrahydrofuran ble fjernet i vakuum. Derved ble det faste stoffet utfelt, hvilket fast stoff ble separert ved filtrering og vasket med vann (3 × 20 ml). Råproduktet (587 mg) ble kromatografisk separert [silikagel 60 (80 g); etylacetat/cykloheksan 1 : 1 (1 L), etylacetat/metanol 4: 1 (500 ml)]. Trans-amidet ble oppnådd i et utbytte på 12 % (82 mg) med et smeltepunkt på 219-221 °C som et fargeløst faststoff.

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ ppm: 22,4, 30,0, 30,9, 38,2, 46,4, 58,3, 59,5, 106,2, 111,0, 113,5, 113,7, 114,4, 114,7, 118,0, 119,1, 121,4, 122,5, 123,1, 124,7, 125,5, 125,8, 126,4, 128,7, 136,0, 138,7, 140,1, 140,4, 141,1, 142,1, 161,2, 163,7, 167,1

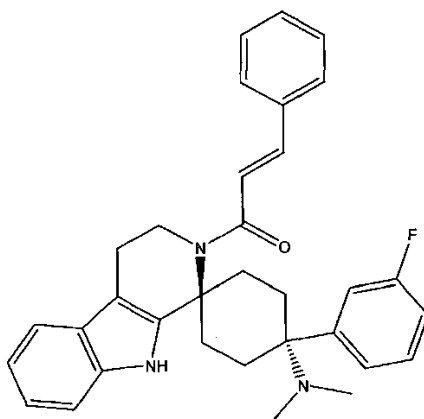
2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(benzothiofen-2-yl)karbonyl-spiro-[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Citrat (1:1) (trans-diastereomer, AMD 3^{trans-})

25 Det nettopp fremstilte transamidet (82 mg, 0,152 mmol) ble suspendert i 80 °C i etanol (8 ml) og blandet med en etanoisk løsning (3 ml) av sitronsyre (32 mg, 0,167 mmol). Fra den klare løsning ble det ved avkjøling til romtemperatur utfelt et faststoff. Etter 1,5 timer ble blandingen konsentrert til 2 ml, tilsatt dietyleter (20 ml) og omrørt i 20 min. Et fargeløst faststoff ble fjernet ved filtrering og vasket med dietyleter (2 × 3 ml) (64 mg). Etter 3 dager ble det fra filtratet utfelt ytterligere

faststoff ved romtemperatur, hvilket ble oppsuygdog vasket med dietyleter (2 x ml 2) (35 mg). Begge fraksjoner ble kombinert. Trans-sitrat AMD3^{trans} ble derved oppnådd i et utbytte på 81 % (89 mg) med et smeltepunkt på 175-185 °C.

5 Sammenligningseksempel AMN-6^{trans}

(E)-2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro-[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Citrat (1:1) (trans-diastereomer)



2',3',4',9'-Tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[syklo-heksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (Trans-diastereomer)

15 Kanelsyreklorid (1,32 g, 7,92 mmol) ble løst under argon i abs. tetrahydrofuran (30 ml) og blandet ved romtemperatur med forurenset spiroamin AMN-2^{cis} (1,0 g, 2,64 mmol, inneholdende nesten 10 % trans diastereoisomer 2-Amn^{trans-}), løst i abs. tetrahydrofuran (60 ml), i 1⁻pet av 40 min. Etter en reaksjonstid på 1 h ble den uklare reaksjonsblandingen fortynnet med vann (20 ml), blandet under iskjøling med 1 N natronlut (20 ml) og omrørt i 1,5 h. Tetrahydrofuran ble fjernet i
20 vakuum. Derved ble det faste stoffet utfelt, hvilket fast stoff ble separert ved filtrering og vasket med vann (3 × 25 ml). Råproduktet (1,16 g) ble kromatografisk separert [silikagel 60 (200 g); etylacetat/cykloheksan 1 : 1 (1,3 L), etylacetat (1,6 l)]. cis-amidet ble oppnådd i et utbytte på 40 % (540 mg)
25 med et smeltepunkt på 155-158 °C som et fargeløst faststoff. Trans-amidet ble oppnådd i et utbytte på 7 % (93 mg) med et smeltepunkt på 151-155 °C.

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(2-fenylvinyl)karbonyl-spiro[syklo-heksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin Citrat (1:1) (trans-diastereomer; AMD-6^{trans})

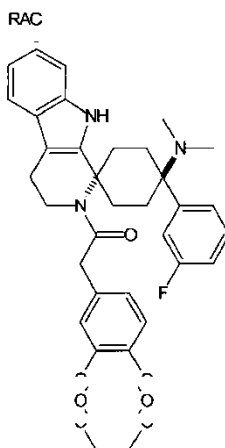
30

Det derved oppnådde transamidet (188 mg, 0,37 mmol) ble løst i 80 °C i etanol (35 ml) og blandet med en etanoisk løsning (2 ml) av sitronsyre (77 mg, 0,4 mmol). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 h, og etter hvert inntraff krystallisering. Blandingen ble oppbevart 1,5 h ved 5 °C, det fargeløse faststoffet ble separert ved filtrering og vasket med dietyleter (3 x 3 ml) (146 mg). Filtratet ble konsentrert, tatt opp i etanol (1 ml) og dietyleter (20 ml). Etter 16 h ble et ytterligere fargeløst salt separert og vasket med dietyleter (2 x 2 ml) (36 mg). Begge fraksjoner ble kombinert, og trans-citrat AMD-6^{trans} ble oppnådd i et utbytte på 71 % (182 mg) med et smeltepunkt på 161-164 °C

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: (trans-diastereoisomer) 22,4, 29,2, 30,7, 37,9, 41,5, 43,1, 58,5, 59,6, 72,0, 105,5, 111,3, 113,2, 113,4, 113,5, 113,8, 117,3, 118,4, 120,5, 122,8, 123,1, 126,5, 127,7, 128,6, 129,1, 129,2, 135,0, 135,6, 139,8, 140,1, 160,7, 163,1, 169,9, 171,2, 175,2

Sammenligningseksempel AMN-7^{trans}

2',3',4',9'-tetrahydro-N,N-dimetyl-4-(3-fluorfenyl)-2'-(3,4-dimetoksybenzyl)karbonyl-spiro[sykloheksan-1,1'(1'H)-pyrido[3,4-b]indol]-4-amin (trans-diastereomer)



3,4-dimethoksyfenylacetic (1 g, 5,1 mmol, 2,2 ekv.) suspenderes i 25 ml abs. toluen og tionylklorid (0,84 ml, 11,6 mmol, 5,0 ekv.). Blandingen oppvarmes i 2 timer under resirkulasjonskjøling, og løsningsmiddelet fjernes deretter. Resten ble ko-distillert med abs. toluen (3 x 50 ml), og råproduktet oppløst i diklormetan (37 ml) og overført til et mikrobølgesikkert kar. Spiroamin AMN-2^{trans} (0,875 mg, 2,32 mmol) og Hünigs base (0,78 ml, 580 mmol, 250 ekv.)

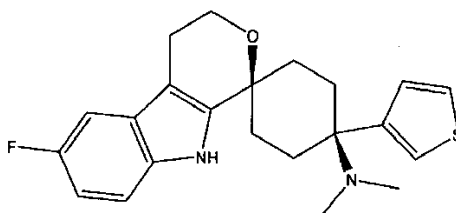
tilsettes, det mikrobølgesikre karet lukkes og varmes i mikrobølgeovn (Initator Eight, Biotage) i 20 min til 120 °C. Til bearbeidingen ble reaksjonsblandingen tilsatt 17 ml vann og 17 ml 1 N natronlut. Denne blandingen ble omrørt i 2 timer ved RT. Fasene ble deretter separert og den vandige fasen ekstrahert 3 ganger med diklormetan. De kombinerte organiske fasene ble vasket med vann og tørket over natriumsulfat. Etter at løsningsmiddelet var fjernet under redusert trykk, ble resten rensert ved kolonnekromatografi (silikagel, eddikester(er) → heksan 2:1). 0,236 g produkt AMD-7^{trans} (18 %) ble oppnådd.

HPLC/MS-analytikk: $R_t = 5,45$ min; renhet (UV 200-400 nm) > 99 %; $m/z = 555,8$

Syntese av cis-spiroeter - sammenligningseksempler (ETER^{cis})

Sammenligningseksempel ETER-1^{cis}

6'-Fluor-4',9'-dihydro-N,N-dimetyl-4-(3-thienyl)-spiro[sykloheksan 1,1'(3'H)-pyrano[3,4-b]in-dol]-4-amin, Metansulfonat (2:5) (cis-diastereomer)



Keton E-5 (446,6 mg, 2 mmol) ble sammen med 5-fluortryptofol (2, 394,4 mg, 2 mmol) oppløst i absolutt 1,2-dikloretan (30 ml). Blandingen ble deretter behandlet med metansulfonsyre (0,13 ml, 2 mmol), og det oppstod et fargeomslag av av reaksjonsløsningen fra rødbrun til mørk grå. Etter 5 minutter begynte et lysegrått faststoff å utfelles. Batchen ble omrørt i 20 h ved RT. Deretter ble metansulfonatet av cis-spiroeter sugd opp vasket med 1,2-dikloretan (2 10 ml). Det lys grå faststoffet ble oppnådd i et utbytte på 76 % (733 mg), og et smeltepunkt på 143-145 °C (eter-1^{cis}). Filtratet ble deretter tilsatt 1 N NaOH (30 ml) og omrørt ved RT i 2 h. Derved ble trans-spiroeter utfelt som et fargeløst faststoff og ble etter filtrering oppnådd i et utbytte på 8 % (58,5 mg).

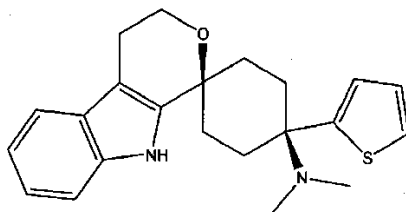
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): 1,67 (m, 2 H) 1,94 (m, 2 H) 2,24 (m, 2 H) 2,44 (s, 8 H) 2,53 (s, 3 H) 2,54 (s, 3 H) 2,66 (t, $J = 5,27$ Hz, 2 H) 2,72 (m, 2 H) 3,95 (t, $J =$

5,28 Hz, 2 H) 6,84 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,19 (dd, $J = 4,50 / 8,70$ Hz, 1 H) 7,47 (d, $J = 5,10$ Hz, 1 H) 7,83 (m, 1 H) 8,07 (m, 1 H) 9,67 (m, 1 H) 10,80 (s, 1 H)

Sammenligningseksempel ETER-2^{cis}

5

4',9'-dihydro-N,N-dimetyl-4-(2-thienyl)-spiro[sykloheksan 1, 1'(3'H)-pyrano[3,4-b]indol]-4-amin, Metansulfonat (1:2) (cis-diastereomer)



10

Ketonet E-4 (223 mg, 1 mmol) ble lagt sammen med tryptofol (2,161 mg, 1 mmol) i absolutt diklormetan (40 ml). Deretter ble det satt til metansulfonsyre (0,071 ml, 1,1 mmol). Blandingen ble omrørt i 16 h ved RT, hvorved spiroeterens metansulfonat ble utfelt. Den lysegrå fastgstofet (ETER-2^{cis}) ble sugd opp, vasket med diklormetan (2 x 10 ml), i et utbytte på 25 % (117 mg) med et smeltepunkt på 132 °C oppnådd. Filtratet ble tilsatt 1 N NaOH (20 ml) og omrørt ved RT i 16 h. Den organiske fasen ble separert og den vandige fasen ekstrahert med diklormetan (2 x 20 ml). De organiske fasene ble kombinert, tørket og konsentrert. I dette tilfellet ble det oppnådd en substansblanding (274 mg) som ble kromatografert [silikagel G (20 g); etylacetat/metanol 8: 1]. trans-spiroeter ble oppnådd i et utbytte på 54 % (196 mg, flytepunkt (38 mg) oppnådd °C 235-238), cis-spiroeter oppnådd i et utbytte på 10 %.

15

20

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

25

1,82 (m, 2 H) 1,98 (m, 2 H) 2,33 (m, 2 H) 2,36 (s, 6 H) 2,60 (s, 3 H) 2,61 (s, 3 H) 2,53 (m, 2 H) 2,70 (t, $J = 5,23$ Hz, 2 H) 3,96 (t, $J = 5,23$ Hz, 2 H) 6,94 (m, 1 H) 7,00 (m, 1 H) 7,21 (d, $J = 8,29$ Hz, 1 H) 7,34 (dd, $J = 3,74/5,28$ Hz, 1 H) 7,37 (d, $J = 7,37$ Hz, 1 H) 7,59 (d, $J = 2,76$ Hz, 1 H) 7,95 (d, $J = 5,32$ Hz, 1 H) 9,78 (m, 1 H) 10,74 (s, 1 H)

30

Anordninger og fremgangsmåter for HPLC-MS-analyse: HPLC: Waters Alliance 2795 med PDA Waters 996; MS: ZQ 2000 MassLynx Single Quadrupol MS Detector; kolonne: Waters Atlantis™ dC18, 3 μm, 2,1 x 30 mm; kolonnetemperatur: 40 °C, Eluent A: rensset vann + 0,1 % maursyre;

elueringsmiddel B: Acetonitril (gradient grade) + 0,1 % maursyre; *gradient* 0 % B til B i 8,8 min 100 %, 100 % B i 0,4 min, 100 % B til 0 % B i 0,01 min, 0 % B i 0,8 min; *strømning*: 1,0 ml/min; *ionisering*: ES+, 25 V; *Bearbeiding*: 100 µl/min 70 % metanol + 0,2 % maursyre; *UV*: 200-400 nm

5

Undersøkelse av ekselpelforbindelsenes farmakologiske egenskaper

A) Sammenligning av analgetisk effekt (som ED₅₀, eller %MPE ved en bestemt testdosering) i akuttsmertemodell (Tail-flick, rotte/mus) og i mononevropatismertemodeller (Chung, rotte; Bennett, rotte) eller polynevropatismertemodell (STZ-polyneuropati, rotte).

10

For å beskrive de overraskende farmakologiske egenskapene til forbindelsene ifølge oppfinnelsen blir i første linje resultatene fra mononevropatismertemodellen etter Chung på rotte og Tail-flick akuttsmertemodellen på rotte, sammenlignet med hverandre. På den måten kan det vises at forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved en dosering som er flere ganger størrelsen på en analgetisk signifikant effektiv dosering (eksempelvis ED₅₀ⁿ) i en Chung-modell, ikke viser noen signifikante antinociseptiv effekt i Tail-flick-modell på rotte. Funnene fra andre modeller til nevropatismerte, som Bennett-modell på rotte eller STZ-polyneuropati på rotte, understreker den generelt svært gode effekten til forbindelsene ved forskjellige former for nevropatisk smerte.

15

20

Analgesikontroll i tail-flick-test på rotte

Forsøksdyr: hunndyr av Sprague Dawley-rotter (crl: CD (SD) outbred; oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland); kroppsvekt: 130–190 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 8 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

25

Metodebeskrivelse: Den analgetiske effekten til testforbindelsen ble undersøkt i fokalstråle (tail-flick)-test på rotte etter metoden til D'Amour and Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941)). Dyrene ble satt enkeltvis inn i spesielle testbur og halebasen ble utsatt for en fokusert varmestråle fra en lampe (tail-flick type 50/08/1.bc, Labtec, Dr. Hess). Lampeintensiteten ble stilt inn slik at tiden fra lampen ble slått på til halen plutselig ble trukket vekk (borttrekkingslatens) var 2,5–5 sekunder ved ubehandlede dyr. Før dyrene fikk en testforbindelse, ble de i løpet av 30 minutter forhåndstestet og

30

35

gjennomsnittsverdien fra disse målingene beregnet som forhåndstestgjennomsnittsverdi. Smertemålingene ble gjennomført etter 5, 20, 40, 60, 90, 120, 180 og 240 min etter intravenøs dose av testforbindelse eller av tilsvarende vehikkel. Den antinociseptive effekten ble fastsatt som stigning i borttrekkingslatenstiden etter følgende formel: $(\% \text{ MPE}) = [(T_1 - T_0)/(T_2 - T_0)] \times 100$. Derved er: T_0 : Kontroll-latenstid før substansapplikasjon, T_1 : Latenstid etter substansapplikasjon, T_2 : maskimal eksposisjonstid for fokalstrålen (12 sekunder), MPE: maksimal mulig effekt.

Ved antinociseptiv effektiv testforbindelse ble det applisert doser med 3–5 logaritmisk stigning for å fastsette doseavhengigheten, som inkluderte grense- og maksimal virkedose. Halvmaksimal effektiv dose (ED_{50}) med tilsvarende 95 % tillitsområder ble fastsatt med semilogaritmisk regresjonsanalyse ved tidspunktet for maksimal effekt.

Statistisk evaluering: Gruppestørrelsene var normalt $n=10$. Ved hjelp av variansanalyse med gjentatte målinger (repeated measures ANOVA) samt en post hoc-analyse etter Bonferroni ble det testet for statistisk signifikante forskjeller i %MPE-dataene mellom den enkelte dosegruppen og vehikkel-kontrollgruppene. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$.

Tail-flick med redusert fokalstråle på rotten

Forsøksdyr: hanndyr av Sprague Dawley-rotter (oppdretter: Janvier, Le Genest St. Isle, Frankrike); kroppsvekt: 200–250 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 5 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

Metodebeskrivelse: Den modulatoriske effekten til testsubstansen ble undersøkt for akutte, noksisk termiske irritasjoner i fokalstråle (tail-flick)-test på rotte etter metoden til D'Amour and Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941)). Til dette ble det brukt. Dyrene ble satt enkeltvis inn i spesielle testavdelinger, og halebasisen ble utsatt for en fokusert fokalstråle fra et analgesimeter (modell 2011, Rhema Labortechnik, Hofheim, Tyskland). Fokalstråleintensiteten ble stilt inn slik at tiden fra fokalstrålen ble slått på til halen plutselig ble trukket vekk (borttrekkingslatens) var ca. 12-13 sekunder ved ubehandlede dyr. Før dyrene fikk en substans ifølge oppfinnelsen ble borttrekkingslatensen målt to ganger med fem minutters mellomrom og gjennomsnittsverdien fastsatt som kontroll-latenstid.

Målingen av borttrekkingslatensen til halen ble testet første gang ti minutter etter intravenøs dose av testforbindelsen eller tilsvarende vehikkel. Etter at den antinociseptive effekten hadde avtatt (etter 2–4 timer) ble målingene foretatt med 30 minutters mellomrom inntil maksimalt 6,5 timer etter substansapplikasjon.

Den anti- og pronociseptive effekten ble fastsatt som økt eller redusert borttrekkingslatenstid etter følgende formel: $(\% \text{ MPE}) = [(T_1 - T_0)/(T_2 - T_0)] \times 100$. Derved er: T_0 : Kontroll-latenstid før substansapplikasjon, T_1 : Latenstid etter substansapplikasjon, T_2 : maskimal eksposisjonstid for fokalstrålen (30 sekunder), MPE: maksimal mulig effekt. Ved antinociseptiv effektiv testforbindelse ble det applisert doser med 3–5 logaritmisk stigning for å fastsette doseavhengigheten, som inkluderte grense- og maksimal virkedose. Halvmaksimal effektiv dose (ED_{50}) med tilsvarende 95 % tillitsområder ble fastsatt med semilogaritmisk regresjonsanalyse ved tidspunktet for maksimal effekt.

Statistisk evaluering: Gruppestørrelsene var normalt $n=10$. Ved hjelp av variansanalyse med gjentatte målinger (repeated measures ANOVA) samt en post hoc-analyse etter Bonferroni ble det testet for statistisk signifikante forskjeller i %MPE-dataene mellom den enkelte dosegruppen og vehikkel-kontrollgruppene. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$.

Analgesikontroll i tail-flick-test på mus

Forsøksdyr: hanndyr NMRI mus (oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland); kroppsvekt: 20–25 g; dyrene settes i standardbur (type III Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 6 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

Metodebeskrivelse: Den analgetiske effekten til testforbindelsen ble undersøkt i fokalstråle (tail-flick)-test på mus etter metoden av D'Amour and Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941)). Dyrene ble satt enkeltvis inn i spesielle testbur og halebasisen ble utsatt for en fokusert varmestråle fra en elektrisk lampe (tail-flick type 55/12/10.fl, Labtec, Dr. Hess). Lampeintensiteten ble stilt inn slik at tiden fra lampen ble slått på til halen plutselig ble trukket vekk (borttrekkingslatens) var 2,5–5 sekunder ved ubehandlede dyr. Før dyrene fikk en testforbindelse, ble de i løpet av 30 minutter forhåndstestet, og gjennomsnittsverdien fra disse målingene beregnet som forhåndstestgjennomsnittsverdi. Smertemålingene ble gjennomført etter 20, 40 og 60 min etter intravenøs dose av testforbindelse eller av tilsvarende vehikkel. Den antinociseptive effekten ble fastsatt som stigning i

borttrekkingslatenstiden etter følgende formel: $(\% \text{ MPE}) = [(T_1 - T_0)/(T_2 - T_0)] \times 100$. Derved er: T_0 : Kontroll-latenstid før substansapplikasjon, T_1 : Latenstid etter substansapplikasjon, T_2 : maksimal eksposisjonstid for fokalstrålen (12 sekunder), MPE: maksimal mulig effekt. Ved antinociseptiv effektiv testforbindelse ble det applisert doser med 3–5 logaritmisk stigning for å fastsette doseavhengigheten, som inkluderte grense- og maksimal virkedose. Halvmaksimal effektiv dose (ED_{50}) med tilsvarende 95 % tillitsområder ble fastsatt med semilogaritmisk regresjonsanalyse ved tidspunktet for maksimal effekt.

Statistisk evaluering: Gruppestørrelsene var normalt $n=10$. Ved hjelp av variansanalyse med gjentatte målinger (repeated measures ANOVA) samt en post hoc-analyse etter Bonferroni ble det testet for statistisk signifikante forskjeller i %MPE-dataene mellom den enkelte dosegruppen og vehikkel-kontrollgruppene. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$.

Chung-modell: Mononevropatismerte etter spinal nerverligatur

Forsøksdyr: Hanndyr Sprague Dawley-rotter (RjHan:SD outbred; oppdretter: Janvier, Genest St. Isle, Frankrike) 140–190 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 8 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum. Mellom levering av dyrene og operasjonen ble det lagt inn en pause på en uke. Etter operasjonen ble dyrene testet flere ganger i en periode på 4–5 uker, hvorved det ble avsatt restitusjonstider på minst en uke mellom testen.

Modellbeskrivelse: Under pentobarbital-narkose (Narcoren ®, 60 mg/kg i.p., Merial GmbH, Hallbergmoos, Tyskland), ble de venstre L5, L6 spinalnervene eksponert, ved at en del av den paravertebrale muskelen og en del av den venstre spinale prosessen til L5 lumbal ryggvirvel ble fjernet. Spinalnervene L5 og L6 ble forsiktig isolert og festet med en stiv ligatur (NC-silk black, USP 5/0, metric 1, Braun Melsungen AG, Melsungen, Tyskland) (Kim and Chung 1992). Etter ligatur ble muskel og tilstøtende vev sydd igjen og såret lukket med metallstifter. Etter en ukes rekreasjon ble dyrene satt i bur med vaierbunn for å måle den mekaniske allodynien. På ipsi- og/eller kontralateral bakpote ble borttrekkingsterskelen fastsatt ved hjelp av en elektronisk fra Frey Filamentes (Somedic AB, Malmö, Sverige). Medianen på fem stimuleringer ga et datapunkt. Dyrene ble testet 30 min før og til forskjellige tider etter applikasjon av testsubstans og vehikkelløsning. Dataene ble fastsatt som % av maksimal mulig effekt (%MPE) fra

forhåndstestene av enkeltdyrene ($=\%MPE$) og testverdiene fra en uavhengig Sham-kontrollgruppe ($=100 \%MPE$). Alternativt ble borttrekkingstersklene fremstilt i gram. Ved analgetisk effektiv testforbindelse ble det applisert doser med 3–5 logaritmisk stigning for å fastsette doseavhengigheten, som inkluderte grense- og maksimal virkedose. Halvmaksimal effektiv dose (ED_{50}) med tilsvarende 95 % tillitsområder ble fastsatt med semilogaritmisk regresjonsanalyse ved tidspunktet for maksimal effekt.

Statistisk evaluering: Gruppestørrelsene var normalt $n=10$. Ved hjelp av variansanalyse med gjentatte målinger (repeated measures ANOVA) samt en post hoc-analyse etter Bonferroni ble det testet for statistisk signifikante forskjeller i $\%MPE$ -dataene mellom den enkelte dosegruppen og vehikkel-kontrollgruppene. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$.

Referanse: Kim, S.H. and Chung, J.M., An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat, Pain, 50 (1992) 355-363.

Bennett-modell: Mononevropatisme på rotte

Forsøksdyr: Hanndyr Sprague Dawley-rotter (RjHan:SD outbred; oppdretter: Janvier, Genest St. Isle, Frankrike) 140–190 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 8 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum. Mellom levering av dyrene og operasjonen ble det lagt inn en pause på en uke. Etter operasjonen ble dyrene testet flere ganger i en periode på 4 uker, hvorved det ble avsatt restitusjonstider på minst en uke mellom testen.

Metodebeskrivelse: Undersøkelse av effekt ved nevropatisk smerte ble undersøkt i Bennett-modell (chronic constriction injury; Bennett und Xie, 1988, Pain 33: 87-107). Rottene blir under Narcoren-narkose utstyrt med fire løse ligaturer i den høyre nervus ischiaticus. Dyrene utvikler en overfølsomhet i den skadede nerven i den innerverte poten, og denne overfølsomheten kvantifiseres i løpet av ca. fire uker ved hjelp av en 4 °C kald metallplate (kuldeallodyni) etter en rekreasjonsfase på en uke. Dyrene observeres på denne platen i en tidsperiode på 2 min. og antallet borttrekkingsreaksjoner i den skadde foten blir målt.

Evaluering og statistikk: Med referanse til forverdien før substansapplikasjon blir substansvirkningen bestemt over et tidsrom på en time ved fire måletidspunkter (f.eks. 15, 30, 45, 60 min. etter applikasjon) og den resulterende flaten under kurven (AUC) samt hemmingen av kulde-allodynisme til de enkelte målepunktene uttrykt i prosent effekt i forhold til vehikkelkontroll (AUC) eller utgangsverdien (enkeltmålepunkter). Gruppestørrelsen er $n = 10$, signifikansen til en anti-allodynisk effekt ($p < 0,05$) blir bestemt ved hjelp av en variansanalyse med gjentatt måling og en post hoc-analyse etter Bonferroni.

10 STZ-modell: Polyneuropatisme på rotte

Forsøksdyr: hanndyr av Sprague Dawley-rotter (oppdretter: Janvier, Le Genest St. Isle, Frankrike); kroppsvekt: 140–160 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 8 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

Metodebeskrivelse: For induksjon av diabetes ble hanndyr av Sprague Dawley-rotter injisert intraperitonealt med streptozotocin (STZ, 75 mg/kg). Diabetiske rotter oppviser en blodglukosenivå på minst 17 mM en uke etter STZ-injeksjonen. Kontrolldyrene fikk injisert en vehikkelløsning. Bestemmelsen av mekanisk nociseptiv irritasjonsgrense (i gram) ble gjennomført med et algesiometer i paw pressure-test etter Randall & Selitto (1957). Derved ble det utøvd en stigende trykkirritasjon mot den dorsale overflaten på bakpoten, og trykket som utløste reflektorisk tilbaketrekking av poten eller vokalisering, ble registrert. Testene ble gjennomført tre uker etter diabetesinduksjonen. Den mekanisk nociseptive irritasjonsgrensen ble målt før samt 15, 30, 45 og 60 minutter etter substansdosen på diabetiske dyr og kontrolldyr.

Referanse: Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch. Int. Pharmacodyn. 1957; 111: 409-19

30 B) Sammenligning av analgetisk effektivt doseområde i mononeuropatistemodeller (Chung, Ratte) med doseområdet som det observeres opioidtypiske bivirkninger i.

For å beskrive de overraskende farmakologiske egenskapene til forbindelsene ifølge oppfinnelsen blir i første rekke resultatene fra Chung-modellen med rotte (som eksempel på analgetisk effekt mot nevropatisme) og blodgassanalyse-modellen med rotte (som eksempel på respirasjonsdepresjon som en svært

tungtveiende, men godt kvantifiserbar opioidtypisk bivirkning) sammenlignet med hverandre. På den måten kan det vises at forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved en dosering som er flere ganger størrelsen på en analgetisk signifikant effektiv dosering (eksempelvis ED_{50}^n) i en Chung-modell, ikke utløser noen signifikant respirasjonsdepresjon på rotte. Funnene fra andre modeller for opioidtypiske bivirkninger, som kretsløpparameter på kanin, gastrointestinale kullpassasje på mus, RotaRod-test på mus, jumping-test på mus samt kondisjonert plasspreferanse på rotte, understreker de generelt manglende eller svært små opioidtypiske bivirkningene til forbindelsene ifølge oppfinnelsen.

Blodgassanalyse: Metode for arteriell pCO_2 - og pO_2 - måling på rotte

Den respirasjonsdepressive effekten av testsubstansen blir etter intravenøs dose undersøkt på instrumenterte, våkne rotter. Testparameter er endringen i karbondioksid-parialtrykk (pCO_2) og oksygen-partialtrykk (pO_2) i det arterielle blodet etter substansdose.

Forsøksdyr: hanndyr av Sprague Dawley-rotter (crl: CD (SD) outbred; oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland); vekt: 250–275 g; dyrene settes enkeltvis i standardbur (type II Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

Metodebeskrivelse: Minst 6 dager før testsubstansapplikasjonen får rottene i pentobarbitalnarkose implantert et PP-kateter i arteria femoralis og i vena jugularis. Kateterne fylles med heparinløsning (4000 I.E.) og lukkes med en trådstift. Testsubstans- eller vehikkelapplikasjonen foretas via venekateteret. Før applikasjon av substans eller vehikkel og ved definerte tidspunkter etter substans- eller vehikkelapplikasjon åpnes arteriekateteret og skylles med ca. 500 μ l heparinløsning. Deretter tas det ca. 100 μ l blod ut av kateteret som tas opp ved hjelp av en heparinisert glasskapillar. Kateteret skylles med heparinløsning en gang til og blir deretter lukket. Det arterielle blodet måles umiddelbart ved hjelp av et blodgassanalyseapparat (ABL 5, Radiometer GmbH, Willich, Tyskland). Etter en minste restitusjonstid på en uke kan dyrene igjen tas til forsøk.

Forsøksvaluering og statistikk: Blodgassanalyseapparatet gir automatisk blodverdiene for pCO_2 og pO_2 i mmHg. Substanseffekter på partialtrykket beregnes som prosentvise endringer i forhold til forverdiene uten substans eller vehikkel. For statistisk evaluering blir måleverdiene etter substansdose og de samtidige

måleverdiene etter vehikkelapplikasjon sammenlignet ved hjelp av en enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en pos hoc-analyse etter Dunnett. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$. Gruppetørrelsene er normalt $n=6$.

5 Kardiovaskulære parametere: Metode for måling av blodtrykk og hjerterefrekvens på våken kanin.

Effekten av testsubstanser på hjertekretsløpsystemet undersøkes på telemetrert, våken kanin etter intravenøs dose. Testparameterne er endring av hjerterefrekvens og endring i arterielt blodtrykk etter substansdose.

10

Forsøksdyr: hunddyr av kaniner (New Zealand Whites; oppdretter: Charles River, Kisslegg, Tyskland); kroppsvekt: ca. 3–5,5 kg; dyrene holdes i spesielle kaninbur ($B \times T \times H = 885 \times 775 \times 600$ mm; merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) enkeltvis og i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

15

Forsøksforberedelser: Minst 21 dager før eksperimentene begynner får dyrene under fullnarkose (isofluran 2–3 %) implantert en telemetrienhet (TL11M2-D70-PCT av merket DSI, St. Paul, Minnesota, USA) til måling av blodtrykk og elektrokardiogram (EKG). I den forbindelse føres trykkateteret til telemetrienheten inn i *A. femoralis* og de to biopotensialelektrodene festes subkutant i sternumregionen eller i området for øvre venstre thoraxvegg. Senderenheten sys inn i en hudlomme på dyrets venstre side. Opptak av telemetrisignalene foregår med en mottaker av typen RMC-1 (merke DSI). Til dataregistrering, -lagring og -behandling brukes programvarepakken Po-Ne-Mah (av merket DSI).

25

Forsøksforløp: Substans- eller vehikkelapplikasjonen foregikk via et venekateter (*V. auricularis*). Før applikasjon av substans eller vehikkel og ved definerte tidspunkter etter substans- eller vehikkelapplikasjon registreres hjerterefrekvens og arterielt blodtrykk (systolisk, diastolisk og middelvei) direkte ved hjelp av det kalibrerte telemetrisystemet og lagres elektronisk. Etter en minste restitusjonstid på en uke kan dyrene igjen tas til forsøk.

30

Forsøksevaluering og statistikk: Ut fra måleverdiene for blodtrykk (i mmHg) og hjerterefrekvens (i slag per minutt) ved de definerte tidspunktene blir det regnet ut en gjennomsnittsverdi av ti påfølgende hjerteslag. Substanseffekter på testparameterne beregnes som prosentuelle endringer i forhold til forverdiene uten substans eller vehikkel. For statistisk evaluering blir måleverdiene etter

35

substansdose og de samtidige måleverdiene etter vehikkelapplikasjon sammenlignet ved hjelp av en enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en pos hoc-analyse etter Dunnett. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=6$.

5

Kullpassasjetest: Metode for å måle gastrointestinal transitthastighet på mus

Forsøksdyr: hanndyr NMRI mus (oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland); kroppsvekt: 30–35 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 18 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

10

Forsøksbeskrivelse: Før forsøket blir dyrene holdt rusfri i 20–24 h på burinnlegg med trådrist. Som markeringssubstans for den intestinale passasjestrekningen får dyrene applisert en aktivkullsuspensjon (10 % aktivkull i 0,5 % CMC løsning; applikasjonsvolum: 0,1 ml/10 g kroppsvekt) oralt. Deretter blir den aktuelle testsubstansen eller en vehikkelløsning applisert intravenøst. To timer etter applikasjon av aktivkullsuspensjonen blir dyrene drept med CO₂-utgassing. Deretter blir intestinaltrakten fra magen til inkludert caecum tatt ut og strukket ut på en glassplate som er påført en 0,9 %-holdig NaCl-løsning. Så måles umiddelbart avstanden mellom pylorus og caecum, samt passasjestrekningen til kullsuspensjonen (videre punkt).

15

20

Forsøksevaluering: For å bestemme den relative hemmingen av den gastrointestinale transitten blir kvotienten passasjestrekning for kullsuspensjonen (i cm)/avstand pylorus - caecum (i cm) dannet. Angivelsen foregår i %-hemming. For statistisk evaluering blir måleverdiene etter substansdose og de samtidige måleverdiene etter vehikkelapplikasjon sammenlignet ved hjelp av en enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en pos hoc-analyse etter Dunnett. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=10$.

25

30

Rota-Rod-test: Metode for å undersøke motorkoordinasjonen på mus

Forsøksdyr: hanndyr CD-1 mus (oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland); kroppsvekt: 18–25 g; dyrene settes i standardbur (type IV Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 18 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

35

Metodebeskrivelse: For beskrivelse av metode se: Kuribara H., Higuchi Y., Tadokoro S. (1977), Effects of central depressants on Rota-Rod and traction performance in mice. Japan. J. Pharmacol. 27, 117-126.

5 Statistisk evaluering: For statistisk evaluering blir måleverdiene etter substansdose og de samtidige måleverdiene etter vehikkelapplikasjon sammenlignet ved hjelp av en enkeltfaktor-variansanalyse (one-way ANOVA) samt en pos hoc-analyse etter Dunnett. Signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=10$.

10

Jumping-test: Metode for å undersøke kroppslig avhengighetspotensiale på mus
Forsøksdyr: hanndyr NMRI mus (oppdretter: Charles River, Sulzfeld, Tyskland);
 kroppsvekt: 20–24 g; dyrene settes i standardbur (type III Makrolon-bur, merke Ebeco, Castrop-Rauxel, Tyskland) med maksimalt 6 dyr i en 12:12h lys-mørkerytme med fôr og springvann ad libitum.

15

20

Metodebeskrivelse: Testsubstansene appliseres intraperitonealt totalt 7x over to dager. 5 applikasjoner foregår den første dagen kl. 9,00, 10,00, 11,00, 13,00 og 15,00 og kl. 9,00 og 11,00. De 3 første applikasjonene gis i stigende dosering (doseringsskjema) og deretter videre som tredje dosering. Avvenningen blir presipitert med Naloxon 30 mg/kg (i.p.) 2 timer etter siste substansapplikasjon. Umiddelbart deretter blir dyrene satt enkeltvis i gjennomslukte observasjonsbokser (høyde 40 cm, diameter 15 cm) og hoppereaksjonen telt i 5 minutters perioder over 15 minutter. Morfin medføres i en dose som sammenligning/standard. Kvantifiseringen av avvenningen foregår via antallet hopp 0 til 10 min. etter Naloxonapplikasjonen. Antallet dyr per gruppe med mer enn 10 hopp/10 min blir bestemt og dokumentert som «% positive dyr». I tillegg regnes gjennomsnittlig hoppefrekvens for gruppen ut.

25

30

Statistisk evaluering: Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller mellom de enkelte doseringsgruppene og vehikkel-kontrollgruppene foregår foretrukket ved hjelp av Fishers eksakte test for parameteren «% positive dyr» samt ved hjelp av Kruskal-Wallis test for parameteren «Hoppefrekvens» foretrukket som beskrevet i den eksperimentelle delen. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=12$.

35

Referanse: Saelens JK, Arch Int Pharmacodyn 190: 213-218, 1971

Kondisjonert plasspreferanse: Metode for å undersøke mulig induksjon av en psykisk avhengighet/sug hos rotte

5 Metodebeskrivelse: For undersøkelse av plasspreferanse se: Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. and Friderichs, F. (2002) Lack of sensitization during place conditioning in rats is consistent with the low abuse potential of tramadol. Neuroscience Letters 329, 25-28.

10 Statistisk evaluering: Evalueringen av de eksperimentelle funnene med tanke på statistisk signifikante forskjeller i dyrenes preferanse for virkestoffet eller vehikkelet foregår foretrukket ved hjelp av paret t-test. Derved fastsettes signifikansnivået til $p < 0,05$. Gruppestørrelsene er normalt $n=8$.

Tabell 1a: Sammenfatning av farmakologiske data for eksempel AMD-6*cis*

Testsystem	Måleparameter	Resultat ¹	Avstandsfaktor ²
Binding ORL1-reseptor	Bindingsaffinitet	K _i = 0,030 µM	---
Binding µ-opioidreseptor	Bindingsaffinitet	K _i = 0,138 µM	---
Chung, rotte	Hemming av nevropatisk smerte ved mononevropati (separasjon av anti-allodynisk og anti-nociseptiv effekt)	ED ₅₀ = 9 µg/kg i.v.; inntil høyeste testdose (21,5 µg/kg i.v.): Ingen anti-nociseptiv effekt i sunt vev.	---
Bennett, rotte	Hemming av nevropatisk smerte ved mononevropati	ED ₅₀ = 7 µg/kg i.v.	---
STZ, rotte	Hemming av nevropatisk smerte ved diabetisk polynevropati	ED ₅₀ ca. 1 µg/kg i.v.; inntil høyeste testdose (10 µg/kg i.v.): Ingen anti-nociseptiv effekt i ikke-nevropatiske kontrolldyr.	---
Tail-flick, rotte	Hemming av akutt smerte (nociseptiv smerte)	NOEL: 1 mg/kg i.v. bzw. 4,64 mg/kg i.v. ved redusert fokalstråleintensitet	220–1000x
Blodgassanalyse,	Respirasjonsdepresjon målt som økt arteriell	NOEL: 1 mg/kg i.v.]	220x

Testsystem	Måleparameter	Resultat ¹ .	Avstandsfaktor ²
rotte	pCO ₂ og redusert arteriell pO ₂		
Hjertekrestløp, kanin	Arterielt blodtrykk og hjerterefrekvens	NOEL: 1 mg/kg i.v.	220x
Kullpassasje, mus	Gastrointestinal transit	NOEL: 3 mg/kg i.v.	660x
RotaRod-test, mus	Motorkoordinasjon	NOEL: ≥ 10 mg/kg i.v.	> 2200x
Jumping-test, mus	Kroppslig avhengighet / abstinenssymptomer	NOEL: 10 mg/kg i.p.	2200x
Plasspreferanse, rotte	Psykisk avhengighet	NOEL: ≥ 13,8 mg/kg i.p.	> 3000x
¹) NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt) ²) Avstandsfaktoren ble beregnet som kvotient av NOEL og en gjennomsnittlig ED ₅₀ ⁿ fra nevropatimodeller (her: 4,5 µg/kg)			

Tabell 1b: Sammenfatning av farmakologiske data for eksempel AMD-7*ci*s (sammenlignende eksempel)

Testsystem	Måleparameter	Resultat ¹	Avstandsfaktor ²
Binding ORL1-reseptor	Bindingsaffinitet	Ki = 0,070 µM	---
Binding µ-opioidreseptor	Bindingsaffinitet	Ki = 0,450 µM	---
Chung, rotte	Hemming av nevropatisk smerte ved mononevropati (separasjon av anti-allodynisk og anti-nociseptiv effekt)	ED ₅₀ = 88 µg/kg i.v.; ingen anti-nociseptiv effekt i sunt vev. (Testdose: 100 µg/kg i.v.)	---
STZ, mus	Hemming av nevropatisk smerte ved diabetisk polynevropati	68 % MPE ved 100 µg/kg i.p.; ingen anti-nociseptiv effekt i ikke-nevropatiske kontrolldyr.	---
Tail-flick, rotte	Hemming av akuttsmerte (nociseptiv smerte)	NOEL: ≥ 10 mg/kg i.v.	> 110x
Blodgassanalyse, rotte	Respirasjonsdepresjon målt som økt arteriell pCO ₂ og redusert arteriell pO ₂	NOEL: 1 mg/kg i.v.	11x
Hjertekrestløp,	Arterielt blodtrykk og hjerterefrekvens	NOEL: ≥ 3 mg/kg i.v.	> 34x

Testsystem	Måleparameter	Resultat ¹ .	Avstandsfaktor ²
kanin			
Kullpassasje, mus	Gastrointestinal transit	NOEL: 1 mg/kg i.v.	11x
RotaRod-test, mus	Motorkoordinasjon	NOEL: 10 mg/kg i.v.	110x
Jumping-test, mus	Kroppslig avhengighet / abstinenssymptomer	NOEL: ≥ 10 mg/kg i.p.	$> 110x$
Plasspreferanse, rotte	psykisk avhengighet	NOEL: ≥ 20 mg/kg i.p.	$> 220x$
¹) MPE (= Maximum Possible Effect) betegner den maksimale mulige effektdosen; NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt)			
²) Avstandsfaktoren ble beregnet som kvotient av NOEL og en gjennomsnittlig ED ₅₀ ⁿ fra nevropatimodeller (her: 88 µg/kg)			

Konklusjon: For å vise de overraskende farmakologiske egenskapene til forbindelsene ifølge oppfinnelsen ble eksempelet **AMD-6^{cis}** valgt. Det dreier seg om en høyaffinent ORL1-reseptor- og μ -opioidreseptor-ligand med et forhold mellom ORL1-reseptor-affinitet og μ -opioidreseptor-affinitet fra ca. 5 eller ca. 6.

5 Eksempelet **AMD-6^{cis}** og forbindelsen **AMD-7^{cis}** viser at forbindelsene ifølge oppfinnelsen har en svært høy effekt mot nevropatisk smerte (her: ED₅₀ⁿ mellom 1 og 10 $\mu\text{g/kg}$ i.v. eller 88 $\mu\text{g/kg}$ i.v.). Derimot blir det i akuttsmertemodellen selv ved en dosering som er 100 til 1000 ganger høyere enn effektiv dosering i nevropatimodellen, ikke observert noen signifikant anti-nociseptiv effekt.

10 Likeledes blir det i dyremodeller for undersøkelse av bivirkninger ikke observert noen signifikant okioidtypiske bivirkninger (ved respirasjonsdrepresjon, reduksjon i blodtrykk og hjerterefrekvens, obstipasjon, sentralnervøse effekter, kroppslig avhengighet, psykisk avhengighet/sug) ved 11 til over 3000 ganger høyere dosering.

Tabell 2: Oversikt over utvalgte farmakologiske eller farmakokinetiske karakteristika i ytterligere eksempler

For-bindelse	Ki (ORL ₁) [µM]	Ki (µ) [µM]	Chung, rotte	Tail-flick, rotte	Blodgass- analyse, rotte	Kul-tpassasje, mus	RotaRod, mus	t _{1/2} , rotte, 100 µg/kg, i.v.// farmakodynamisk virketid (dose)
AMD-6^{cia}	0,030	0,138	ED ₂₅ 9 µg/kg i.v.	= NOEL ² 1000 µg/kg i.v.	= NOEL 1000 µg/kg i.v.	= NOEL 3000 µg/kg i.v.	= NOEL; ≥10000 µg/kg i.v.	8 h // ≥ 5 h (10 µg/kg i.v.)
AMD-1^{cia}	0,018	0,032	18 %MPE ved 100 µg/kg i.v.	NOEL 100 µg/kg i.v.	= NOEL 1000 µg/kg i.v.	Ikke gjennomført	Ikke gjennomført	ikke bestemt // ikke bestemt
AMD-2^{cia}*	0,017	0,05	35 %MPE ved 100 µg/kg i.v.	NOEL 1000 µg/kg i.v.	Ikke gjennomført	NOEL 4600 µg/kg i.v.	Ikke gjennomført	ikke bestemt // ca. 3 h (100 µg/kg i.v.)
AMD-3^{cia}*	0,016	0,059	42 %MPE ved 100 µg/kg i.v.	NOEL 1000 µg/kg i.v.	Ikke gjennomført	NOEL 3000 µg/kg i.v.	= NOEL; ≥10000 µg/kg i.v.	ikke bestemt // ca. 3 h (100 µg/kg i.v.)
AMD-4^{cia}*	0,003	0,009	20 %MPE ved 100 µg/kg i.v.	NOEL 100 µg/kg i.v.	NOEL = 300 µg/kg i.v.	Ikke gjennomført	Ikke gjennomført	ikke bestemt // 1–3 h (100 µg/kg i.v.)
AMD-7^{cia}*	0,070	0,450	ED ₂₅ 88 µg/kg i.v.	= NOEL 10 000 µg/kg i.v.	= NOEL 1000 µg/kg i.v.	= NOEL 1000 µg/kg i.v.	= NOEL 10000 µg/kg i.v.	3 h // ca. 3 h (100 µg/kg i.v.)

¹⁾ ORL1/µ-affinitetsforhold definert som 1/[K_{i(CAS)}]/K_{i(µ)}]

²⁾ NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt)

*) Sammenligningsforbindelser

Konklusjon: Forbindelsene ifølge oppfinnelsen viser en svært god effekt mot nevropatisk smerte. Overraskende nok ble det i akutt-smertemodellen selv ved en dosering som er 10 til 100 ganger høyere enn effektiv dosering i nevropatimodellen, ikke observert noen signifikant anti-nociseptiv effekt. Like så

overraskende ble det ikke observert noen signifikant opioidtypiske bivirkninger i bivirknings-dyremodeller (f.eks. blodgassanalyse, gastrointestinal kullpassasje og RotaROD-test) ved en 10 til over 300 ganger høyere dosering.

5 **Tabell 3:** Sammenligning av cis- og trans-spiroamin

Forbindelse	K _i (ORL ₁) [μM]	K _i (μ) [μM]	Chung, rotte	Tail-flick, rotte	Blodgassanalyse, rotte
AMD-6 ^{cis}	0,030	0,138	ED ₅₀ = 9 μg/kg i.v.	NOEL ² = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.
AMD-6 ^{trans*}	0,002	0,008	NOEL ≥ 100 μg/kg i.v.	ED ₅₀ = 640 μg/kg i.v.	NOEL = 300 μg/kg i.v.
AMD-7 ^{cis*}	0,070	0,450	ED ₅₀ = 88 μg/kg i.v.	NOEL ² ≥ 10 000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.
AMD-7 ^{trans*}	0,001	0,001	Ikke gjennomført	54 %MPE ved 31,6 μg/kg i.v.	Ikke gjennomført
AMN-2 ^{cis*}	0,012	0,031	ED ₅₀ = 895 μg/kg	NOEL =1000 μg/kg	Ikke gjennomført
AMN-2 ^{trans*}	0,0004	0,0005	27 %MPE ved 30 μg/kg i.v.	60 %MPE ved 100 μg/kg i.v.	Ikke gjennomført
¹) ORL₁/μ-affinitetsforhold definert som 1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}] ²) NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt) *) Sammenlignende eksempler					

Konklusjon: Overraskende nok viser bare cis-spiroaminene ifølge oppfinnelsen (her eksempel **AMD-6^{cis}** og forbindelse **AMN-2^{cis}**) god effekt mot nevropatisk smerte ved samtidig manglende antinociseptiv effekt i akutt smerte. I tillegg blir det i bivirknings-dyremodellene (som eksempel her blodgassanalyse) ikke

5

observert signifikante opioidtypiske bivirkninger ved en flere ganger høyere dosering. De aktuelle trans-spiroaminene (her sammenlignende eksempel **AMD-6^{trans}** og sammenlignende eksempel **AMN-2^{trans}**) viser derimot ingen avstand mellom doseringene, som er effektiv mot nevroptisk smerte eller mot akuttsmerte. I tillegg kan det ikke observeres noen avstand i doseringene der det opptrer opioidtypiske bivirkninger (som eksempel her blodgassanalyse). Derved viser **AMD-5^{cis}** eller **AMD-6^{cis}** i totalsammenligning de største avstandene ved høyest mulig analgetisk effekt.

10

Tabell 4: Sammenligning av cis-spiroaminer og cis-spiroetere (sammenligningsforbindelser)

Forbindelse	Ki (ORL ₁) [μM]	Ki (μ) [μM]	Chung, rotte	Tail-flick, rotte eller mus*
AMN-2 ^{cis}	0,012	0,031	ED ₅₀ = 895 μg/kg i.v.	NOEL ² =1000 μg/kg i. v.
Eter-2 ^{cis}	0,031	0,092	17 %MPE ved 100 μg/kg i.v	78 %MPE ved 1000 μg/kg i.v.*
Eter-1 ^{cis}	0,06	0,12	28 %MPE ved 100 μg/kg i.v	33 %MPE ved 1000 μg/kg i.v.
¹⁾ ORL1/μ-affinitetsforhold definert som 1/[K_{J(ORL1)}/K_{J(μ)}] ²⁾ NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt)				

15

Konklusjon: Overraskende nok viser bare cis-spiroaminene, som forbindelsene ifølge oppfinnelsen, (her sammenlignende empel **AMN-2^{cis}**) god effekt mot nevropatisk smerte ved samtidig manglende antinociseptiv effekt ved akuttsmerte. I tillegg blir det i bivirknings-dyremodellene (som eksempel her blodgassanalyse) ikke observert opioidtypiske bivirkninger ved en flere ganger høyere dosering. Cis-spiroeter (her sammenlignende eksempel **eter-2^{cis}** og sammenlignende eksempel **eter-1^{cis}**) viser derimot ingen tydelige avstander mellom doseringer som er effektive mot nevropatisk smerte eller mot akuttsmerte.

20

Tabell 5: Sammenligning av **AMD-5^{cis}** (fri base) og **AMD-6^{cis}** (sitratsalt)

Forbindelse	Ki (ORL ₁) [μM]	Ki (μ) [μM]	Chung, rotte	Tail-flick, rotte
AMD-5 ^{cis}	0,030	0,138	ED ₅₀ = 17 μg/kg i.v.	NOEL ² = 30 000 μg/kg i.p.
AMD-6 ^{cis}	0,020	0,117	ED ₅₀ = 9 μg/kg i.v.	NOEL > 10000 μg/kg i.v.

¹) ORL1/μ-affinitetsforhold definert som 1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}]

²) NOEL (= No Observed Effect Level) betegner den øvre funnfrie dosen (d.v.s. dose uten signifikant effekt)

Konklusjon: En sammenligning av **AMD-5^{cis}** (fri base) og **AMD-6^{cis}** (sitratsalt) ga ingen relevante forskjeller i farmakologiske egenskaper til base og salt.

5

Tabell 6: Sammenligning av affiniteten i forhold til enkelte reseptorer

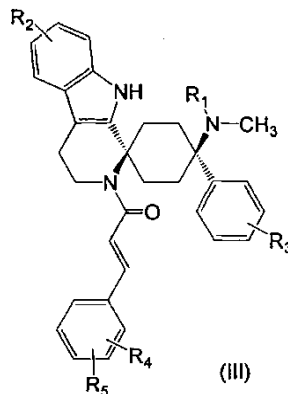
	ORL1		μ-opioid		k-opioid		d-opioid		Smerte, rotte	
									Akutt (tail flick)	Nevropatisk (SNL [Chung])
	Ki *	EC ₅₀ **	Ki	EC ₅₀	Ki	EC ₅₀	Ki	EC ₅₀	ED ₅₀ rat [μg/kg]	
									%MPE (@μg/kg)	
AMD-3^{cis}	16	102/ 92 %	59	1112/ 82 %	16 0	874/ 42 %	6,7	41/ 92 %	0% (1000)	106
									73 % (10000)	
AMD-3^{trans}	14	16/ 81 %	12	13/ 66 %	49	- / 55 %	8	-/ 87 %	0 % (1000)	20 % (100)
AMD-	30	76 /	13	300 /	76	1035 /	38	463 /	0 %	9,2

	ORL1		μ-opioid		κ-opioid		δ-opioid		Smerte, rotte	
									Akutt (tail flick)	Nevropatisk (SNL [Chung])
	Ki *	EC ₅₀ **	Ki	EC ₅₀	Ki	EC ₅₀	Ki	EC ₅₀	ED ₅₀ rat [μg/kg]	
									%MPE (@μg/kg)	
5 ^{cis}		106 %	8	63 %	8	30 %		78 %	(1000)	
									58 % (10000)	
AMD-6 ^{trans}	3	47 / 104 %	8	79 / 97 %	19	59 / 88 %	6	19/ 126 %	640	400
AMD-7 ^{cis}	70	50 / 90 %	45 0	49 / 94 %	54 2	1170 / 85 %	79 1	2684 / 106 %	0 % (10000)	88
AMD-7 ^{trans}	1	16/ 90 %	1	3/88 %	4	29 / 64 %	1	5/82 %	54 % (31,6)	ikke gjennomført
	* Radio-binding assay - Ki in nM									
	** GTPgammaS assay - EC50 in nM and relative efficacy in %									

Ki [nM]
EC₅₀ [eff. %]
§) Sammenlignende eksempel

PATENTKRAV

- 1.** Forbindelse med den generelle formelen (III),



hvor

R_1 er -H eller CH_3 ;

R_2 er -H eller -Halogen;

R_3 er -H eller -Halogen;

R_4 er -H, -halogen eller $-\text{OC}_{1-3}\text{-alkyl}$; og

R_5 er -H, -halogen eller $-\text{OC}_{1-3}\text{-alkyl}$;

i form av de frie basene eller fysiologisk akseptable saltene.

- 2.** Forbindelse ifølge krav 1, hvorved R_2 er -H og/eller R_3 er -F.

- 3.** Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, hvorved R_4 og R_5 enten begge er -H, eller begge er $-\text{OCH}_3$.

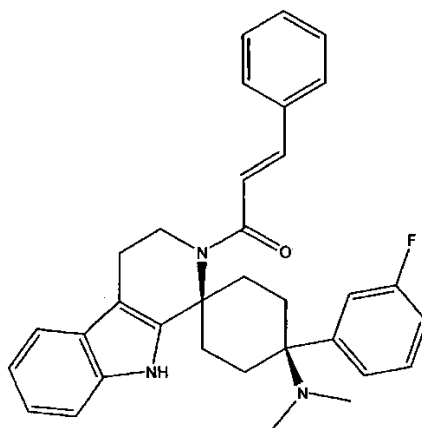
- 4.** Forbindelse ifølge et av de foregående kravene, hvilken er valgt fra gruppen som består av forbindelser er valgt ut fra gruppen bestående av

- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetylamino)-4-fenyl-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetylamino)-4-(3-fluorofenyl)-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetylamino)-6'-fluoro-4-(3-fluorofenyl)-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on;

- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimethylamino)-6'-fluoro-4-fenyl-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimety)amino)-4-(4-fluorofenyl)-3',4'-dihydrospiro[sykloheksan-1,1'-pyrido[3,4-b]indol]-2'(9'H)-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on;

i form av de frie basene eller fysiologisk akseptable saltene.

5. Forbindelse ifølge et av kravene 1-4 med strukturen



I form av den frie basen eller fysiologisk akseptable salter.

6. Forbindelse ifølge et av kravene 1-4 for anvendelse som legemiddel.

7. Farmasøytisk sammensetning, hvilken omfatter en fysiologisk akseptabel bærer og en forbindelse ifølge et av kravene 1-5.

8. Sammensetning ifølge krav 7, hvilken er

- fast, flytende eller pastøs; og/eller
- forbindelsen ifølge et av kravene 1 til 5 i en mengde fra 0,001 til 99 vekt-% basert på den totale vekten av sammensetningen.

9. Farmasøytisk doseringsform, hvilken inneholder den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 7 eller 8.

10. Doseringsform ifølge krav 9, hvilket er formulert for maksimalt én administrasjon daglig.

11. Doseringsform ifølge krav 9 eller 10, hvilken er formulert for systemisk administrasjon.

5 **12.** Doseringsform ifølge krav 11, hvilken er formulert for oral administrasjon.

13. Doseringsform ifølge krav 12, hvilken omfatter forbindelsen ifølge et av kravene 1-5 i en dosering i området fra 1,0 g til 10 mg, med referanse til molekylvekten til den frie basen.

10

14. Forbindelse ifølge et av kravene 1-5 for anvendelse ved behandlingen av nevropatisk og/eller kronisk smerte.

15

15. Forbindelse ifølge krav 14, hvorved anvendelsen skjer høyst én gang om dagen.