

Pochodna benzotiofenopiperazyny i jej zastosowanie

Wynalazek dotyczy nowej pochodnej benzotiofenopiperazyny o nazwie [3-(4-benzo[b]tiofen-4-ylo-piperazin-1-ylo)-propylo]izochinolino-4-sulfonamid i wzorze (I) oraz jej farmaceutycznie akceptowalnych soli. Przedstawiony w ujawnieniu związek, jako modulator dopaminy i serotoniny, w szczególności sposób może być użyteczny, jako środek terapeutyczny w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego, włączając depresję, manię, zaburzenia nastroju, schizofrenię, zaburzenia lękowe, zaburzenia związane z przyjmowaniem pokarmu, ADHD. Ponadto, ujawniony związek ma szerokie spektrum zastosowań jako środek terapeutyczny w chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, chorobie Huntingtona, zespole Touretta, napadach padaczkowych, lekozależności, otyłości, nie wykazując działań niepożądanych (sedacji) i wysokim bezpieczeństwem.

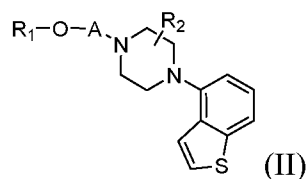
Doniesienia literaturowe wskazując na wyższość substancji o wieloreceptorowym mechanizmie działania, w porównaniu do substancji działających selektywnie, dały początek nowemu podejściu w poszukiwaniu bardziej skutecznych leków psychotropowych – przeciwdepresyjnych, przeciwpsychotycznych, o korzystniejszym profilu bezpieczeństwa. Potwierdzeniem tego podejścia są ponadto wyniki klinicznej oceny skuteczności leków przeciwpsychotycznych, w której szeroki profil aktywności receptorowej połączono ze skutecznością atypowych leków przeciwpsychotycznych (Leucht i współ. 2009, Leucht i współ. 2013).

Jednym z nowych kierunków poszukiwania leków psychotropowych, równocześnie poprawiających funkcje poznawcze, są substancje wykazujące cechy agonistów/częściowych agonistów receptorów dopaminowych D_2 , antagonistów receptorów $5-HT_{2A}$ oraz agonistów/częściowych agonistów receptorów $5-HT_{1A}$ (Newman-Tancredi i współ. 2011). Receptory $5-HT_{1A}$ odgrywają kluczową rolę w regulacji funkcji psychoemocjonalnych, poznawczych i motorycznych ośrodkowego układu nerwowego. Wyniki badań przedklinicznych wskazują, że aktywacja receptorów $5-HT_{1A}$ odpowiedzialna jest za wyższą skuteczność niektórych antypsychotyków w kontroli objawów negatywnych i poprawie funkcji poznawczych oraz związana jest ze zmniejszeniem ryzyka rozwoju efektów niepożądanych ze strony układu pozapiramidowego. Aktywacja receptorów serotoninowych $5-HT_{1A}$ jest również korzystna dla działania przeciwdepresyjnego, a związki o wieloreceptorowym mechanizmie działania i cechach częściowych agonistów receptorów $5-HT_{1A}$ – wilazodon, wortioksetyna, stanowią nową klasę leków przeciwdepresyjnych. Wyniki badań wskazują ponadto, że leki przeciwdepresyjne oraz przeciwpsychotyczne o działaniu pro-kognitywnym często wykazują cechy antagonistów receptora $5-HT_6$.

(Nikiforuk 2014, Goff i współ. 2011), a leki przeciwpsychotyczne łagodzące objawy negatywne wykazują cechy antagonistów względem receptora 5-HT₇. Ponadto udowodniono, że efekt przeciwdepresyjny Arypiprazolu oraz Amisulpridu, jest wynikiem kompetycyjnego blokowania receptorów 5-HT₇. Warty podkreślenia jest również fakt, że blokada receptorów 5-HT₇ prowadzi do opóźnienia pojawienia się fazy snu REM oraz skrócenia czasu trwania i liczby występujących w czasie snu epizodów REM, tj. zmian przeciwnych do tych jakie obserwowane są u pacjentów z depresją. Ponadto, substancje charakteryzujące się cechami antagonistów względem receptora dopaminowego D₃ mogą korzystnie wpływać na poprawę funkcji poznawczych oraz zmniejszać objawy wynikające z hyperaktywacji układu pozapiramidowego (Sokoloff i współ. 2006).

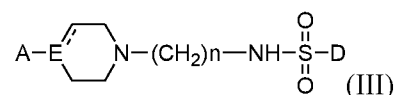
W kontekście szerokiej aktywności psychotropowej – przeciwdepresyjnej oraz przeciwłękowej, korzystnym wydaje się aby substancje wykazywały powinowactwo do receptorów adrenergicznych alfa-2c oraz transporterów neuroprzekazników, np. transportera serotoniny. Blokada receptorów alfa-2c, przyspieszając efekt działania leków przeciwdepresyjnych, może być alternatywą w poszukiwaniach szybciej działających leków przeciwdepresyjnych; a wpływając na uwolnienie acetylocholino w korze przedczołowej może poprawiać funkcje poznawcze (Brosda i współ. 2014). Może to wprowadzać przewagę nad aktualnie stosowanymi lekami przeciwpsychotycznymi i przeciwdepresyjnymi.

W patencie US8071600B2 ujawniono związki przedstawione strukturą ogólną (II). W strukturze tego typu połączeń aromatyczny lub heteroaromatyczny fragment R₁, połączono za pomocą łącznika alkiloeterowego z fragmentem benzotiofenopiperazyny.



Związki te wykazując cechy częściowych agonistów receptorów dopaminowych D₂ i/lub antagonistów receptorów serotoninowych 5-HT_{2A} i/lub antagonistów receptorów adrenergicznych alfa-1 i/lub inhibitorów wychwyty serotoniny (lub inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny), mogą być skuteczne w terapii zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego.

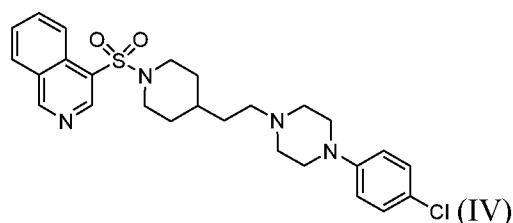
W zgłoszeniu WO 2012/035123A1 ujawniono serię arylosulfonamidowych pochodnych o wzorze ogólnym (III), która charakteryzowała się wysokim powinowactwem do receptorów dopaminowych (D₂, D₃), serotoninowych (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇), adrenergicznych (alfa_{1A}, alfa_{2C}), sigma, transportera serotoniny.



W większości związki te wykazywały cechy antagonistów powyższych receptorów, część z nich cechy pełnych lub częściowych agonistów receptorów dopaminowych D₂ i/lub D₃ oraz częściowych lub pełnych agonistów receptorów 5-HT_{1A}. Związki o takim profilu mogą być skuteczne w leczeniu psychoz, równocześnie wykazując cechy leków przeciwdepresyjnych/przeciwłękowych.

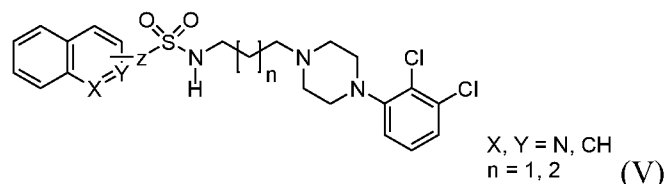
W przedstawionym wynalazku, w obrębie fragmentu D nie ujawniono ośmioczłonowych układów heterocyklicznych zawierających jeden atom azotu; ponadto we fragmencie A nie ujawniono połączeń zawierających podstawnik 4-benzotiofenylowy.

Publikacja Zajdel *i współ.* Bioorg. Med. Chem. 2012, 20, 1545, ujawnia strukturę przedstawioną wzorem (IV),



która charakteryzuje się wieloreceptorowym mechanizmem działania (powinowactwo do receptorów 5-HT_{2A}/5-HT₇ i D₂/D₃/D₄) i cechami antagonisty receptorów serotoninowych 5-HT_{2A} i 5-HT₇ oraz dopaminowych D₂. Związek ten znosi hiperaktywność lokomotoryczną wywołany podaniem MK-801 u myszy w dawce MED = 10 mg/kg (efekt przeciwpsychotyczny) oraz wydłuża czas pływania w teście wymuszonego pływania u myszy w dawce MED = 30 mg/kg (efekt przeciwdepresyjny).

Publikacja Zajdel *i współ.* Eur. J. Med. Chem. 2013, 60, 42, ujawnia serię związków przedstawioną wzorem ogólnym (V).



Spośród nich związek Va (X = CH, N; z = 4) wykazując cechy słabego agonisty receptorów 5-HT_{1A}, antagonisty receptorów 5-HT_{2A} i 5-HT₇ oraz częściowego agonistów receptorów D₂, znosił hiperaktywność indukowanej podaniem MK-081 u myszy (wykazując efekt przeciwpsychotyczny) w dawce ≥ 10 mg/kg oraz ujawnił efekt przeciwdepresyjny, w teście wymuszonego pływania, w dawce MED = 20 mg/mg.

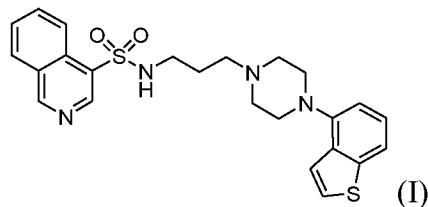
W żadnym z powyżej zaprezentowanych dokumentów nie ujawniono związków będących przedmiotem niniejszego ujawnienia.

Psychiatryczne zaburzenia ośrodkowego układu nerwowego, w tym schizofrenia, zaburzenia depresyjne, zaburzenia dwubiegunowe, zaburzenia nastroju, zaburzenia emocjonalne mają wieloczynnikową etiologię.

Problemem technicznym, jaki rozwiązuje wynalazek, jest opracowanie nowego związku charakteryzującego się wyższą skutecznością w kontroli objawów poznawczych, kognitywnych (zaburzenia pamięci epizodycznej, pamięci krótkotrwałej), celem obniżenia ryzyka działań niepożądanych związanych z przyjmowaniem leków przeciwpsychotycznych, przeciwdepresyjnych oraz wykazujących korzyści w leczeniu deficytów poznawczych towarzyszących innym psychiatrycznym i neurodegeneracyjnym zaburzeniom ośrodkowym. Pożądanym jest, aby lek wykazując złożony mechanizm działania, dawał możliwość szerokiego spektrum zastosowania w terapii.

Nieoczekiwanie okazało się, że związek o wzorze ogólnym (I) lub jego farmaceutycznie dopuszczalne sole posiadają określoną powyżej pożądaną aktywność farmakologiczną.

W związku z powyższym, przedmiotem wynalazku jest związek o wzorze (I):



lub jego farmaceutycznie dopuszczalna sól.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest związek według wynalazku określony powyżej do stosowania w leczeniu zaburzenia psychiatrycznego lub choroby, zaburzenia lub stanu związanego z zaburzeniem układu dopaminergicznego i/lub serotonergicznego.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest związek według wynalazku określony powyżej do stosowania w leczeniu choroby ośrodkowego układu nerwowego zwłaszcza wybranej z grupy obejmującej: depresję, zaburzenia nastroju, zaburzenia lękowe, schizofrenię, manię, zaburzenia związane z przyjmowaniem pokarmu, ADHD, chorobę Alzheimera, chorobę Parkinsona, chorobę Huntingtona, zespół Tourettea, autyzm, napady padaczkowe, lekozależność, otyłość.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest związek według wynalazku określony powyżej do stosowania w kontroli objawów psychoz, zwłaszcza objawów pozytywnych takich jak urojenia, omamy, objawów negatywnych takich jak zubożenie, wycofanie z życia oraz

objawów poznawczych i/lub kognitywnych takich jak zaburzenia funkcji wykonawczych, pamięci epizodycznej, pamięci krótkotrwałej, zwłaszcza do stosowania do jednoczesnego leczenia pozytywnych, negatywnych i poznawczych i/lub kognitywnych objawów psychoz.

Określenie "farmaceutycznie akceptowalne sole" dotyczy tych soli, które są, w zakresie oceny medycznej, są odpowiednie do stosowania w kontakcie z tkankami ludzi i niższych zwierząt bez nadmiernej toksyczności, podrażnienia, odpowiedzi alergicznej.

Wyrażenie „związki według wynalazku” tu stosowane odnosi się do związków o wzorze I.

Farmaceutycznie dopuszczalne sole, np. sole addycyjne z kwasami, zarówno z kwasami organicznymi jak i nieorganicznymi, są znane w dziedzinie środków farmaceutycznych. Reprezentatywne przykłady farmaceutycznie dopuszczalnych soli addycyjnych z kwasami obejmują, między innymi, chlorowodorki, bromowodorki, siarczany, azotany, fosforany, sulfoniany, metanosulfoniany, mrówczany, winiany, maleiniany, cytryniany, benzoesany, salicylany, askorbiniany, octany i szczawiany.

Wynalazek obejmuje swoim zakresem wszystkie możliwe izomery geometryczne, np. izomery Z i E (izomery cis i trans) związków, jak również wszystkie możliwe izomery optyczne, np. diastereoizomery i enancjomery związków, w szczególności chiralnych soli. Ponadto, wynalazek obejmuje swoim zakresem zarówno poszczególne izomery, jak i dowolne ich mieszaniny, np. mieszaniny racemiczne. Poszczególne izomery można otrzymać, stosując odpowiednie formy izomeryczne substancji wyjściowej lub można je rozdzielać po wytworzeniu związku końcowego według typowych metod rozdzielania. Do rozdzielania izomerów optycznych, np. enancjomerów, z ich mieszaniny, można stosować typowe metody rozdzielania, np. krystalizacja frakcjonowana.

Wynalazek obejmuje również dowolne odmiany polimorficzne związków według wynalazku. Polimorfizm, czyli występowanie różnych postaci krystalicznych, stanowi właściwość niektórych związków według wynalazku. Pojedyncza cząsteczka lub kompleks molekularny związku według wynalazku może dać początek wielu różnym polimorfom o odmiennych strukturach krystalicznych i właściwościach fizycznych, takich jak punkt topnienia, zachowanie termiczne (np. mierzone poprzez analizę termogravimetryczną - "TGA" lub różnicową kalorymetrię skaningową - "DSC"), wzorzec dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego, np. dyfrakcji proszkowej promieniowania rentgenowskiego (PXRD), charakterystycznej absorpcji w podczerwieni (IR) i widma NMR ciała stałego. W celu rozróżnienia różnych postaci polimorficznych związku według wynalazku zastosować można jedną lub większą liczbę tych technik. Odpowiedni dobór odmiany polimorficznej związku według wynalazku może zapewniać materiały o pożądanym właściwościach przetwórczych,

takich jak łatwość przemieszczania, łatwość przetwarzania, stabilność podczas przechowywania, łatwość oczyszczania czy jak pożądane pośrednie postacie krystaliczne, które ułatwiają przekształcanie do innych postaci polimorficznych. Wybrane odmiany polimorficzne i solwaty związku według wynalazku lub jego soli mogą również zapewniać możliwość poprawy charakterystyki działania produktu farmaceutycznego. Służy to również powiększeniu repertuaru wariantów materiałów, które są dostępne w celu optymalizacji formulacji, przykładowo poprzez zapewnienie produktu o innych właściwościach, np. lepszych właściwościach przetwórczych lub przemieszczania, udoskonalonym profilu rozpuszczania czy lepszym okresie trwałości.

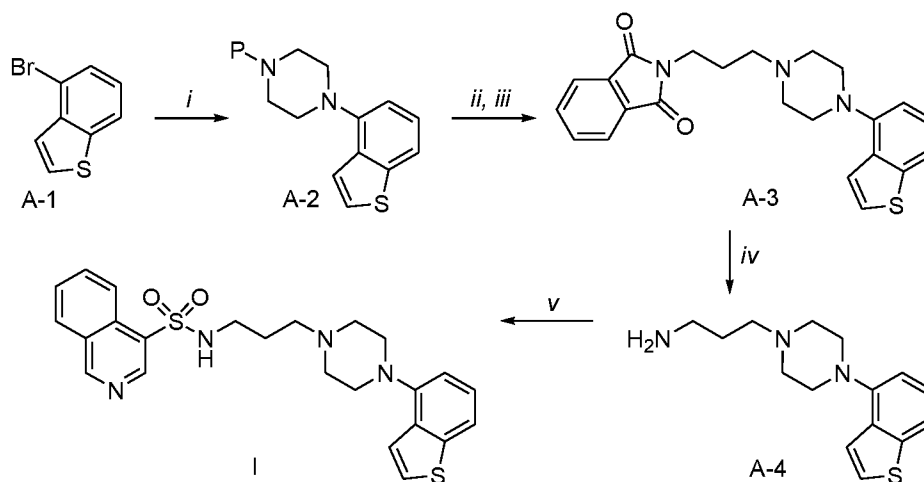
W oparciu o szerokie badania nieoczekiwanie odkryto nową pochodną benzotiofenopiperazyny, o nazwie chemicznej [3-(4-benzo[b]tiofen-4-ylo-piperazin-1-ylo)-propylo]izochinolino-4-sulfonamid, zaprezentowaną na Rysunku 1 – oraz jej farmaceutycznie akceptowalne sole, również odnoszące się do prezentowanej struktury ogólnej, jako preparat o złożonym mechanizmie działania, i cechach modulatora dopaminy oraz serotoniny – częściowego agonisty receptorów dopaminowych D₂, agonisty receptorów 5-HT_{1A}, antagonisty receptorów serotoninowych 5-HT₆ i 5-HT₇, dopaminowych D₃ i adrenergicznych alfa_{2C}, oferujący nowe możliwości leczenia szerszego spektrum zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (m.in. zaburzeń dwubiegunowych, zaburzeń poznawczych w schizofrenii, zaburzeń nastroju, zaburzeń emocjonalnych). Związek łagodzący deficyty poznawcze, wykazując dodatkowo wielokierunkowe działanie charakterystyczne dla leków przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych może być skuteczny w leczeniu psychiatrycznych zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego; wykazuje wyższe bezpieczeństwo w porównaniu do znanych leków przeciwpsychotycznych.

W celu ułatwienia zrozumienia istoty wynalazku, poniżej opisano pewne jego korzystne realizacje. Stanowią one jedynie przykłady ilustrujące i nie powinny być utożsamiane z pełnym zakresem wynalazku.

Związek według wynalazku otrzymano w reakcji chlorku kwasu 4-izochinolinylosulfonowego i (benzo[b]tiofen-5-ylo-piperazyn-1-ylo)propylaminy (A-4, Schemat 1). Substraty mieszano w rozpuszczalniku organicznym wybranym spośród chlorowcopochodnych węglowodorów i polarnych aprotycznych rozpuszczalniku, w szczególności dichlorometanie, chloroformie, N,N-dimetyloformamidzie, w środowisku trzeciorzędowej aminy organicznej, w szczególności trójetyloaminy, N,N-diizopropylloaminy, N-metylomorfoliny.

Związek A-4 uzyskano zgodnie ze szlakiem syntezy z udziałem reagentów A1–A3, w krokach *i–iv* opisanych poniżej (Schemat 1). Chlorek 4-isochinolinosulfonowy uzyskano według znanej metody (Marciniec i współ., 2007).

Schemat 1.



Metody analityczne

Widma protonowego rezonansu magnetycznego ($^1\text{H-NMR}$) rejestrowano przy 300 MHz, widma węglowego rezonansu magnetycznego ($^{13}\text{C-NMR}$) rejestrowano przy 75 MHz używając spektrometru Mercury-300 „Varian”, stosując TMS (tetrametylosilan) jako standard wewnętrzny. Jako rozpuszczalnik próbek związków stosowano deuterowany chloroform CDCl_3 i metanol MeOD; wartości J przedstawiono w jednostkach hertz (Hz); s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletów), t (triplet), m (multiplet).

System do analiz UPLC/MS składał się z aparatu Waters ACQUITY[®] UPLC[®] (Waters Corporation, Milford, MA, USA) sprzężonego ze spektrometrem masowym Waters TQD, pracującym w trybie jonizacji elektrosprejem (ESI). Rozdziały chromatograficzne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem kolumny Acquity UPLC BEH (bridged ethyl hybrid) C_{18} o wymiarach $2,1 \times 100$ mm i średnicy ziaren $1,7 \mu\text{m}$. Kolumna była utrzymywana w temperaturze 40°C i eluowana w gradiencie od 95% do 0% eluentu A w czasie 10 min, przy przepływie $0,3 \text{ mL min}^{-1}$. Eluent A: woda/kwas mrówkowy (0.1%, v/v); eluent B: acetonitryl/kwas mrówkowy (0.1%, v/v). Chromatogramy zostały zarejestrowane przy użyciu detektora PDA Waters $e\lambda$. Spectra były analizowane w zakresie 200–700 nm z rozdzielczością 1.2 nm i częstością próbkowania 20 pkt/s.

Przykład 1. Synteza produktów pośrednich

Ester *tert*-butylowy kwasu 4-benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazyn-1-ylo-karboksylowego (A-2)

Mieszaninę 4,26 g (0,02 mola) 4-bromobenzo[b]tiofenu (A-1), 7,44 g (0,04 mola) Boc-piperazyny, 0,75 g (0,0012 mola) BINAP (2,2'-bis(difenylofosfino-1,1'-binaftyl), 0,73 g (0,0008 mola) Pd₂dba₃ (tris(dibenzylidenoacetono)dipallad) i 4,13g (0,048 mola) *tert*-butoksyłanu sodu ogrzewano w bezwodnym toluenie (100 ml) w temperaturze wrzenia przez 12 godzin. Po ochłodzeniu mieszaninę poreakcyjną rozcieńczono octanem etylu (250 ml), przesączono przez złożę Celite, filtrat zagęszczono, a pozostałość naniesiono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelem krzemionkowym (70-230 mesh) i eluowano mieszaniną octan etylu/eter naftowy (1/9; v/v), uzyskując 4,78 g produktu A-2 w postaci żółtego osadu (75% wydajności teoretycznej).

Czystość LC/MS 99%, $t_R = 8,62$, C₁₇H₂₂N₂O₂S, MW 318,43, masa monoizotopowa 318,14, [M+H]⁺ 319,3. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H), 3.27 (br.s., 1H), 3.43 (m, 8H), 6.94 (d, $J = 7.37$ Hz, 1H), 7.26–7.36 (m, 2H), 7.64 (d, $J = 8.11$ Hz, 1H).

2-[3-(4-Benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazin-1-ylo)-propylo]-izoindolo-1,3-dion (A-3)

Związek A-2 4,5 g (0,014 mola) poddano deprotekcji w środowisku kwaśnym mieszając substrat w mieszaninie kwasu trójfluorooctowego i chlorku metylenu (80/20, v/v) w temperaturze pokojowej przez 4 godziny. Po zagęszczeniu mieszaniny uzyskano 3,09 g trójfluorooctanu 4-benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazyny (A-2a) w postaci żółtego oleju (100% wydajności teoretycznej).

Mieszaninę 3,09 g (0,014 mola) trójfluorooctanu 4-benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazyny (A-2a), 4,5 g (0,017 mola) 3-bromopropyloftalimidu, 5,81 g (0,042 mola) K₂CO₃ i 0,1 g KI ogrzewano w acetonie (50 ml) w temperaturze wrzenia przez 48 godzin. Po ochłodzeniu mieszaninę poreakcyjną zagęszczono, a pozostałość naniesiono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelem krzemionkowym (70-230 mesh) i eluowano mieszaniną chlorek metylenu/metanol (9/0,5; v/v), uzyskując 4,5 g produktu A-3 w postaci żółtego osadu (80% wydajności teoretycznej).

Czystość LC/MS 98%, $t_R = 4,56$, C₂₃H₂₃N₃O₂S, MW 405,51, masa monoizotopowa 405,15, [M+H]⁺ 406,3

3-(4-Benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazyn-1-ylo)-propyloamina (A-4)

Związek A-3 4,0 g (0,01 mola) mieszano w 40% wodnym roztworze metyloaminy (1,64 ml, 0,03 mola) w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Kolejno mieszaninę dwukrotnie ekstrahowano chlorkiem metylenu (2 × 50ml), kolejno warstwę organiczną przemyto wodą (2 × 50ml), NaCl (1 × 50ml) i osuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Pozostałość zagęszczono, uzyskując 2,48 g produktu A-4 w postaci żółtego osadu (90% wydajności teoretycznej).

Czystość LC/MS 99%, $t_R = 2,64$, $C_{15}H_{21}N_3S$, MW 275,41, masa monoizotopowa 275,15, $[M+H]^+$ 276.3

N-{3-[4-(Benzo[b]tiofen-5-ylo)piperazyn-1-ylo]propylo}isochinolino-4-sulfonamid (I)

Mieszaninę 2,0 g (8 mmoli) 3-(4-benzo[b]tiofeno-4-ylo-piperazyn-1-ylo)-propyloaminy (A-4), 2,0 g (8,8 mmoli) chlorku 4-izochinolinosulfonowego i 3,36 ml (24 mmoli) trójetyloaminy mieszano w chlorku metylenu (10 ml) na łaźni lodowej przez 4 godziny. Mieszaninę po reakcyjną zagęszczono, a pozostałość naniesiono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelem krzemionkowym (70-230 mesh) i eluowano mieszaniną chlorek metylenu/metanol (9/0,6; v/v), uzyskując 2,94 g produktu I w postaci żółtego oleju (80% wydajności teoretycznej).

Czystość LC/MS 100%, $t_R = 4,70$, $C_{24}H_{26}N_4O_2S_2$, MW 466,62, masa monoizotopowa 466,15, $[M+H]^+$ 467,2.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.72 (quin, $J = 5.63$ Hz, 2H), 2.46–2.55 (m, 2H), 2.67–2.69 (m, 4H), 3.08–3.15 (m, 2H), 3.22–3.24 (m, 4H), 6.95 (dd, $J = 7.65, 0.72$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 7.84$ Hz, 1H), 7.36–7.42 (m, 2H), 7.58 (d, $J = 8.05$ Hz, 1H), 7.68–7.76 (m, 1H), 7.84 (ddd, $J = 8.50, 7.03, 1.39$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 7.89$ Hz, 1H), 8.67 (dd, $J = 8.54, 0.82$ Hz, 1H), 9.14 (s, 1H), 9.41 (d, $J = 0.61$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 23.76, 44.24, 52.04, 53.44, 58.18, 112.39, 117.35, 121.65, 122.37, 124.01, 125.05, 125.20, 127.70, 129.68, 133.08, 134.00, 135.30, 141.16, 147.90, 148.65, 151.03.

Związek I·HCl, kremowy osad Mp 190,1–190,7°C.

Przykład 2. Procedura oznaczania aktywności (powinowactwa) związków metodą wypierania specyficznego radioliganda w badaniach *in vitro*

Przykład 2.1. Linie komórkowe HEK293 ze stabilną ekspresją ludzkich receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT_{7b} i dopaminowych D_{2L} oraz linia CHO-K1 z ekspresją białka receptora 5-HT_{2A}.

Plazmidy z genem kodującym ludzkie receptory serotoninowe i dopaminowe zakupiono w UMR cDNA Resource Center (www.cdna.org), linia komórkowa HEK293 (ang. Human Embryonic Kidney) pochodzi z banku linii komórkowych ATCC (ang. American Type Culture Collection), we wszystkich przypadkach jako czynnik transfekujący zastosowano Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Linia komórkowa CHO-K1 ze stabilną ekspresją białka receptora 5-HT_{2A} pochodziła z komercyjnego źródła (PerkinElmer BioSignal).

Hodowlę linii HEK293 prowadzono w standardowych warunkach (37°C, 5% nasycenia CO₂, 95% wilgotności) w pożywce Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), z wysoką zawartością glukozy, wzbogaconej w 5% bydlęcą surowicę płodową (FBS), oraz 500 lg/mL antybiotyku genetycyny (G418; Sigma-Aldrich). Hodowlę linii CHO-K1 z receptorem 5-HT_{2A} prowadzono zgodnie z instrukcją dostarczoną przez firmę.

Dla potrzeb oznaczeń powinowactwa, komórki wysiewano na szalkach Petriego o średnicy 10 cm i namnażano do uzyskania 90% konfluencji. Po dwukrotnym przemyciu buforem fosforanowym (PBS), komórki wirowano (1000g) w buforze PBS zawierającym 0.1 mM EDTA i 1 mM dithiothreitolu. Następnie osady komórek zamrażano i przechowywano w –80°C.

Przykład 2.2. Procedura przygotowania materiału biologicznego do oznaczeń powinowactwa
Zamrożone osady komórek HEK293 ze stabilną ekspresją badanych receptorów homogenizowano przez 15 s (Polytron) w buforze Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) z dodatkiem 0.1 mM EDTA, a następnie dwukrotnie wirowano 15 min/4°C/50,000g. Odwirowany materiał zawieszano w suplementowanym buforze Tris-HCl wg proporcji 0,5–0,7 mg proteiny/ml. Próbkki zawierające 1 ml zawiesiny zamrażano i przechowywano w –80°C do momentu użycia w eksperymencie.

Przykład 2.3. Wyniki badań aktywności in vitro, wyznaczanie wartości powinowactwa
Oznaczenia przeprowadza się w płytce 96-dółkowej; całkowita objętość próbki wynosi 0,2 ml. Roztwory i zawiesinę komórkową sporządza się w buforze Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) zawierającym w przypadku receptorów 5-HT_{1A}: 50mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, 4mM MgCl₂, 10µM pargiliny i 0.1% kwasu askorbinowego; dla 5-HT₆: 50 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA i 4 mM MgCl₂, dla receptorów 5-HT_{7b}: 50 mM Tris-HCl, 4 mM MgCl₂, 10 mM pargiliny i 0.1% kwasu askorbinowego; oraz dla receptorów dopaminowych D_{2L}: 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂ i 0.1% kwasu askorbinowego. Pipetowanie przeprowadza się przy pomocy stacji MultiProbe II HT EX. Badany związek jest rozpuszczany w DMSO do otrzymania roztworu podstawowego o stężeniu 0.1 mM. Do eksperymentu wykonuje się szereg 7–8 stężeń (10⁻¹¹–10⁻⁴ M) w odpowiednim buforze.

Wykaz stosowanych radioligandów: dla receptorów 5-HT_{1A} [³H]-8-OH-DPAT (1.5 nM; akt. spec. 135.2 Ci/mmol); dla 5-HT_{2A} [³H]-Ketanserin (2nM; akt. spec. 53.4 Ci/mmol); dla 5-HT₆ [³H]-LSD (2 nM; akt.spec. 83.6 Ci/mmol); dla 5-HT₇ [³H]-5-CT (0.6 nM; akt. spec. 39.2

Ci/mmol) i dla receptorów dopaminowych D_{2L} [³H]-Raclopride (2.5 nM; akt. spec. 76.0 Ci/mmol).

Wykaz związków odniesienia użytych w stężeniu 10 μM do wyznaczenia poziomu wiązania niespecyficznego do receptorów serotoniny: 5-HT_{1A} i 5-HT₇ – serotonina; 5-HT_{2A}: chlorpromazyna, oraz HT₆: metiotepina. W przypadku receptorów dopaminowych D_{2L} użyto 1 μM (+)butaclamolu.

Ustalony stan równowagi (w temperaturze pokojowej 1h dla receptorów 5-HT_{1A} lub 1.5h dla receptorów 5-HT_{2A}, oraz 1h w temperaturze 37°C dla receptorów 5-HT₆, 5-HT₇ i D_{2L}) zostaje utrwalony przez odsączenie frakcji białkowej na płytce UniFilter GF/B i kilkakrotnie przemycie zimnym buforem Tris (4°C) za pomocą harwestera (Unifilter Harvester).

Zmierzony w liczniku MicroBeta TriLux, poziom radioaktywności pozostałej na filtrach służy do wykreślenia krzywej wypierania i wyznaczenia stałej wiązania K_i obliczanej z równania Cheng-Pursoff'a (Cheng, Y.; Prusoff, W.H. 1973):

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \left(\frac{L}{K_d}\right)^n}$$

Eksperymenty powtarza się co najmniej 3 krotnie.

Procedury wyznaczania wartości K_i związków do poszczególnych typów receptorów opracowano w Zakładzie Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN i opisano w pracach Bojarski et al., 1993; Paluchowska et al., 2007; Zajdel et al., 2012a; Zajdel et al., 2012b.

Tabela 1. Powinowactwo związku PZ-1262 do receptorów serotoniny 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇ oraz dopaminowych D₂.

Związek	K_i [nM] ^a				
	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇	D ₂
I	6	13	27	10	12
Ziprazydon	2	< 1	20	1	0.8

^a wartości K_i (SEM ± 24) w oparciu o wyniki z trzech niezależnych eksperymentów

Przykład 3. Wyniki poszerzonych badań *in vitro*

Aktywność związku I mierzona jako procent hamowania wiązania specyficznego radioliganda przez stężenie 10⁻⁶ M badanego liganda do receptorów dopaminowych D₁ i D₃, adrenergicznych α_{1A} i α_{2C}, histaminowych H₁ oraz muskarynowych M₁ i M₃ oraz

transporterów: serotoniny SERT, noradrenaliny NET i dopaminy DAT przeprowadzono w firmie CEREP (Le Bois l'Eveque, 86600 Celle L'Evescault, France) zgodnie z metodyką zamieszczoną na stronie www.cerep.fr.

Wykaz użytych radioligandów i ligandów do oznaczeń wiązania niespecyficznego oraz referencji literaturowych, w których opisano szczegóły odpowiednich procedur zamieszczono w tabeli 2. Związek I2 testowano w duplikacie, wyniki w tabeli 3 przedstawiono jako średnią z dwóch niezależnych eksperymentów.

Tabela 2. Wykaz radioligandów i związków użytych do oznaczenia wiązania niespecyficznego.

receptor	radioligand	ligand NS*	literatura
D ₁	[³ H]SCH 23390	SCH 23390	Zhou, Q.Y et al.(1990) Nature, 347: 76-80
D ₃	[³ H]metyl-spiperon	(+)butaklamol	Mackenzie, R.G et al.(1994) Eur. J. Pharmacol., 266: 79-85.
D _{4.4}	[³ H]metyl-spiperon	(+)butaklamol	Van Tol, H.H.M et al.(1992) Nature, 358: 149-152.
α _{1A}	[³ H]prazosyna	epinefryna	Schwinn, D.A et al.(1990) J. Biol. Chem., 265: 8183-8189.
α _{2C}	[³ H]RX 821002	epinefryna	Devedjian, J.C et al.(1994) Eur. J. Pharmacol., 252: 43-49.
H ₁	[³ H]pyrilamina	pyrilamina	Smit, M.J et al.(1996) Brit. J. Pharmacol., 117: 1071-1080.
M ₁	[³ H]pirenzepina	atropina	Dorie, F et al.(1991) J. Pharmacol. Exp. Ther., 256: 727-733.
M ₃	[³ H]14-DAMP	atropina	Peralta, E. G et al.(1987) Embo. J., 6: 3923-3929.
SERT	[³ H]imipramina	imipramina	Tatsumi, M et al.(1999) Eur. J. Pharmacol., 368: 277-283.
NET	[³ H]nizoksetyna	dezypiramina	Pacholczyk, T et al.(1991) Nature, 350: 350-354.
DAT	[³ H]BTCP	BTCP	Pristupa, Z.B et al.(1994) Mol. Pharmacol., 45: 125-135.

Tabela 3. Profil selektywności związku PZ-1262 względem receptorów dopaminowych D₁, D₃, D_{4.4}, adrenergicznych α_{1A}, α_{2C}, histaminowych H₁, muskarynowych M₁, M₃ i transporterów wychwyty serotoniny (SerT), noradrenaliny (NET) i dopaminy (DAT).

Związek	% hamowania wiązania kontroli przy 10 ⁻⁶ M										
	D ₁	D ₃	D _{4.4}	α _{1A}	α _{2C}	H ₁	M ₁	M ₃	SerT	NET	DAT
I	92	97	100	99	97	99	-7	1	89	8	18

Przykład 4. Wyniki badań funkcjonalnych *in vitro*

Aktywność funkcjonalna związku PZ-1262 względem receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT₇, dopaminowych D₂ i D₃ oraz adrenergicznych α_{2C} została oznaczona w firmie Cerep (Le Bois l'Eveque, 86600 Celle L'Evescault, France) zgodnie z metodyką zamieszczoną na stronie www.cerep.fr. Badania prowadzono na liniach komórkowych HEK293 ze stabilną ekspresją receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} [MARTEL, J-C et al. (2009) Brit J Pharmacol, 158: 232-242] i dopaminowych D₂ [Payne, S.L et al.(2002) J. Neurochem., 82: 1106-1117] oraz na liniach komórkowych CHO ze stabilną ekspresją receptorów 5-HT₆ [Kohen, R et al.(1996) J. Neurochem., 66: 47-56], 5-HT₇ [Adham, N et al.(1998) J. Pharmacol. Exp. Ther., 287: 508-514], D₃ [Missale, C et al.(1998) Physiol. Rev., 78: 189-225] oraz α_{2C} [Regan, J.W et al.(1988) Biochem., 85: 6301-6305]

Tabela 4. Profil funkcjonalny związku PZ-1262 względem receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT₇ oraz dopaminowych D₂, D₃ i α_{2C} .

Związek	5-HT _{1A}		5-HT ₆	5-HT ₇	D ₂		D ₃	α_{2C}
	EC50 [nM] AGO	IC ₅₀ [nM] ANTAG	IC ₅₀ [nM] ANTAG	IC ₅₀ [nM] ANTAG	EC50 [nM] AGO	IC ₅₀ [nM] ANTAG	% inh ^b ANTAG	% inh ^b ANTAG
I	260	NA ^a	34	1.4	>10000	7.2	80	97

^a NA – nie aktywny

^b % hamowania efektu agonisty przy 10⁻⁶ M

Przykład 5. Wyniki badań behawioralnych

Test pobudzenia lokomotorycznego wywołanego podaniem PCP

W teście tym mierzono zarówno spontaniczną aktywność lokomotoryczną, jak również pobudzenie lokomotoryczne wywołane podaniem fencyklidyny (PCP). Do pomiaru użyto automatycznych klatek Opto-Varimex-4 Auto-Tracks (Columbus Instruments, Ohio, USA) umieszczonych każda osobno w szafkach dźwiękoszczelnych. Klatki Opto-Varimex wyposażone są w siatkę fotokomórek (po 16 na każdą z osi) umieszczonych na około przezroczystej klatki.

Procedura testu aktywności lokomotorycznej

Zwierzęta umieszczana pojedynczo w klatkach Opto-Varimex na 30 min. W ciągu tego czasu mierzono spontaniczną aktywność lokomotoryczną. Następnie zatrzymywano pomiar oraz podawano szczurom iniekcję PCP w dawce 5 mg/kg, podskórnie (SC). Pomiar pobudzenia lokomotorycznego wywołanego podaniem PCP trwał przez 150 min. Dane zaprezentowane

są jako przebyty dystans w czasie (przedziały czasowe co 5 min.) oraz całkowity dystans przebyty w trakcie eksperymentu.

Zwierzęta

Badania przeprowadzono na szczurach rasy Sprague–Dawley (Charles River, Niemcy) ważących ~250 g. Szczury przetrzymywano w standardowych klatkach oraz w standardowych warunkach hodowlanych: ze stałą kontrolą temperatury $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i wilgotności (40-50 %), 12-godzinnym cyklem (06:00 – 18:00) oraz stałym dostępem do paszy i wody. Zwierzęta oswajały się do warunków hodowlanych przed rozpoczęciem eksperymentów przez co najmniej 1 tydzień. W trakcie tego okresu poddane były co najmniej 3 razy procedurze „handlingu”. Wszystkie eksperymenty przeprowadzono w jasnej fazie cyklu i przed każdym eksperymentem zwierzęta oswajały się przez co najmniej 1 godz. do pokoju eksperymentalnego.

Procedura eksperymentu

Badany związek oraz substancje referencyjne podawano na 30 min przed umieszczeniem zwierząt w aparatach. Jak wspomniano powyżej, Fencyklidynę (PCP) w dawce 5 mg/kg podawano zawsze podskórnie po 30 minutowym czasie adaptacji do aparatów.

Chlorowodorek fencyklidyny (Sigma-Aldrich) oraz testowany związek rozpuszczano tuż przed eksperymentem w wodzie i następnie worteksowano. Wszystkie zastosowane substancje podawano z objętości 1 ml/kg.

Tabela 4. Wyniki dla związku PZ-1262 w teście hiperaktywności indukowanej fencyklidyną u szczurów.

Związek	Ochrona przed hyperaktywnością indukowaną fencyklidyną	Sedacja
	efekt przeciwpsychotyczny	działanie niepożądane
I	nie aktywny	> 10 mg/kg
Ziprazydon	1 mg/kg	3 mg/kg
Arypiprazol	nie aktywny	1 mg/kg

Tabela 5. Wyniki dla związku I w teście rozpoznania nowego obiektu u szczurów.

Związek	Ochrona przed indukowanym fencyklidyną deficytem w teście rozpoznania nowego obiektu (NOR test)
	efekt prokognitywny w warunkach psychozopodobnych
I	1 mg/kg
Ziprazydon	1 mg/kg

Test ruchliwości indukowanej d-amfetaminą u myszy CD-1

Zwierzęta laboratoryjne. Do testu użyto myszy szczepu CD-1, samce o masie ciała 21–25 g. Zwierzęta przebywały w poliwęglanowych klatkach Makrolon typ 3 (wymiary: 26.5 × 15 × 42 cm), po dwadzieścia osobników w klatce, w pomieszczeniach laboratoryjnych o temperaturze 22-24°C, wilgotności 50-60%, w naturalnym cyklu dobowym (12 godzin światła/12 godzin ciemności). Zwierzęta miały wolny dostęp do filtrowanej wody pitnej i standardowej karmy granulowanej. 24 h przed testem zwierzęta przenoszono do pokoju eksperymentalnego w celu ich aklimatyzacji. Testy behawioralne przeprowadzano między godziną 9:00 a 14:00.

Na przeprowadzone eksperymenty uzyskano zgodę I Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającej przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

Procedura badawcza. Ruchliwość myszy mierzono w plastikowych klatkach Opto M3 (wymiary 22x12x13 cm), połączonych z komputerem zaopatrzonym w program MultiDevice Software v.1.30 firmy Columbus Instruments. Klatki doświadczalne są wyposażone w źródła podczerwieni, zlokalizowane po jednej stronie oraz czujniki odbierające wysyłane promienie, umieszczone po drugiej stronie klatki. Przekroczenie przez zwierzę każdej wiązki promieni podczerwonych było kwalifikowane jako aktywność ruchowa. Zwierzęta umieszczano w klatkach pomiarowych pojedynczo na 30 min przed rozpoczęciem testu, w celu adaptacji do nowych warunków otoczenia. Parametrem określającym ich aktywność ruchową była ilość przecięć promieni podczerwonych (ambulacja). Po wyjęciu każdej myszy klatki przecierano 70% etanolem. Pomiar aktywności lokomotorycznej wykonywano co 5 minut przez 1 godzinę. D-amfetaminę rozpuszczano w wodzie i podawano podskórną na 30 min przed testem. Badany związek rozpuszczano w wodzie i podawano dootrzewnowo na 60 min przed testem.

Test wymuszonego pływania u myszy Swiss albino

Zwierzęta laboratoryjne. Do testu użyto myszy szczepu Swiss Albino, samce o masie ciała 22–28 g. Zwierzęta przebywały w poliwęglanowych klatkach Makrolon typ 3 (wymiary: $26.5 \times 15 \times 42$ cm), po dwadzieścia osobników w klatce, w pomieszczeniach laboratoryjnych o temperaturze 22–24°C, wilgotności 50–60%, w naturalnym cyklu dobowym (12 godzin światła/12 godzin ciemności). Zwierzęta miały wolny dostęp do filtrowanej wody pitnej i standardowej karmy granulowanej. 24 h przed testem zwierzęta przenoszono do pokoju eksperymentalnego w celu ich aklimatyzacji. Testy behawioralne przeprowadzano między godziną 9:00 a 14:00.

Na przeprowadzone eksperymenty uzyskano zgodę I Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającej przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

Procedura badawcza. Doświadczenie wykonano według metody opisanej przez Porsolta i wsp. (1977). Myszy umieszczano pojedynczo na okres 6 minut w szklanym cylindrze (wysokość 25 cm, średnica 10 cm), wypełnionym wodą o temperaturze 23–25°C, do wysokości 10 cm. Po 2 minutowej adaptacji mierzono czas bezruchu myszy przez 4 minuty. Skrócenie czasu bezruchu było miarą właściwości przeciwdepresyjnych badanego związku.

Badany związek rozpuszczano w wodzie i podawano dootrzewnowo na 60 min przed testem.

Test czterech płytek u myszy Swiss albino

Zwierzęta laboratoryjne. Do testu użyto myszy szczepu Swiss Albino, samce o masie ciała 21–25 g. Zwierzęta przebywały w poliwęglanowych klatkach Makrolon typ 3 (wymiary: $26.5 \times 15 \times 42$ cm), po dwadzieścia osobników w klatce, w pomieszczeniach laboratoryjnych o temperaturze 22–24°C, wilgotności 50–60%, w naturalnym cyklu dobowym (12 godzin światła/12 godzin ciemności). Zwierzęta miały wolny dostęp do filtrowanej wody pitnej i standardowej karmy granulowanej. 24 h przed testem zwierzęta przenoszono do pokoju eksperymentalnego w celu ich aklimatyzacji. Testy behawioralne przeprowadzano między godziną 9:00 a 14:00.

Na przeprowadzone eksperymenty uzyskano zgodę I Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającej przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

Procedura badawcza. Test przeprowadzono zgodnie z metodą opisaną przez Boissier i wsp. (1968). Do wykonania eksperymentu wykorzystano klatkę z nieprzezroczystego plastiku (wymiary $18 \times 25 \times 16$ cm), z zamocowanymi w podłodze czterema stalowymi płytkami (8×11 cm), oddzielonymi od siebie 4 mm szczeliną. Płytki te, były podłączone do generatora impulsów elektrycznych (natężenie impulsu 0,8 mA, czas trwania impulsu 0,5 s).

Myszy umieszczano w klatce pojedynczo, z możliwością swobodnego poruszania się przez 15 sekund. W ciągu następnych 60 sekund przejścia z płytki na płytkę karano prądem elektrycznym, przy czym przerwa pomiędzy kolejnymi bodźcami wynosiła co najmniej 3 sekundy (okres bezpieczny, kiedy przejścia nie są karane). Kryterium oceny działania przeciwlękowego badanego związku była zwiększona liczba przejść karanych prądem elektrycznym.

Badany związek rozpuszczano w wodzie i podawano dootrzewnowo na 60 min przed testem.

Tabela 6. Wyniki dla związku PZ-1262 w teście ruchliwości indukowanej amfetaminą, hyperaktywności indukowanej podaniem MK-801, wymuszonego pływania i teście czterech płytek u myszy.

Związek	Ruchliwość indukowana amfetaminą	Ochrona przed hyperaktywnością indukowaną MK-801	Testy wymuszonego pływania	Test czterech płytek
	efekt przeciwpyschotyczny	efekt przeciwpyschotyczny	efekt przeciwdepresyjny	efekt anksjolityczny
I	nie aktywny	NT	5 mg/kg	5 mg/kg
IV	NT	10 mg/kg	30 mg/kg	NT
Va	NT	10 mg/kg	20 mg/kg	NT
Ziprazydon	≥ 0.25 mg/kg	≥ 1 mg/kg	nieaktywny	nieaktywny
Arypiprazol	≥ 0.125 mg/kg	0.5 mg/kg	nieaktywny	nieaktywny

A zatem, niniejszy wynalazek zapewnia związki do zastosowania jako lek.

W szczególności związki te nadają się do zastosowania w leczeniu chorób lub stanów, w których pożądana jest przydatność modulatora dopaminy oraz serotoniny o złożonym mechanizmie działania – częściowego agonisty receptorów dopaminowych D₂, agonisty receptorów 5-HT_{1A}, antagonisty receptorów serotoninowych 5-HT₆, 5-HT₇, dopaminowych D₃ i adrenergicznych alfa_{2C}. Ta kombinacja aktywności jest przydatna w leczeniu chorób, zaburzeń lub stanów psychotycznych związanych z zaburzeniami układu dopaminergicznego i serotonergicznego.

Zgodnie z tym, wynalazek dostarcza związek o wzorze (I) lub jego farmaceutycznie akceptowalne sole, do stosowania w terapii zaburzeń psychiatrycznych, zaburzeń lub stanów związanych z zaburzeniami układu dopaminergicznego/serotonergicznego. W szczególności umożliwia to leczenie szerszego spektrum zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (m.in. zaburzeń dwubiegunowych, zaburzeń nastroju, zaburzeń emocjonalnych, schizofrenii). Związek łagodząc deficyty poznawcze, wykazując dodatkowo

wielokierunkowe działanie charakterystyczne dla leków przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych może być skuteczny w leczeniu psychiatrycznych zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, a także wykazuje wyższe bezpieczeństwo w porównaniu do znanych leków przeciwpсихотycznych.

Przedstawiony w ujawnieniu związek, jako modulator dopaminy i serotoniny, w szczególności sposób może być użyteczny, jako środek terapeutyczny w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego, włączając depresję, schizofrenię, manię, zaburzenia nastroju, zaburzenia lękowe, zaburzenia związane z przyjmowaniem pokarmu, ADHD. Ponadto, ujawniony związek ma szerokie spektrum zastosowań jako środek terapeutyczny w chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, chorobie Huntingtona, zespole Tourette'a, autyzmie, napadach padaczkowych, lekozależności, otyłości, nie wykazując działań niepożądanych (sedacji) i wysokim bezpieczeństwie.

Związki według wynalazku podawać można, np. dojelitowo, miejscowo lub pozajelitowo przy zastosowaniu dowolnego preparatu farmaceutycznego przydatnego do wymienionego podawania i zawierającego co najmniej jeden aktywny związek o wzorze I w farmaceutycznie dopuszczalnych i skutecznych ilościach razem z farmaceutycznie dopuszczalnymi rozcieńczalnikami, nośnikami i/lub substancjami pomocniczymi znanymi w dziedzinie. Wytwarzanie takich preparatów farmaceutycznych jest znane w dziedzinie.

Dawka terapeutyczna do podawania pacjentowi wymagającym leczenia będzie się zmieniać zależnie od podawanego związku, gatunku, wieku i płci leczonego pacjenta, konkretnego leczonego stanu, jak również drogi i sposobu podawania i jest z łatwością wyznaczana przez specjalistę w dziedzinie. Zgodnie z tym, typowe dawkowanie do podawania doustnego wynosi od 10 ng/kg do 100 mg/kg na dobę a dla podawania pozajelitowego od 1 ng/kg do 10 mg/kg dla dorosłego ssaka.

Związki według wynalazku podaje się pacjentowi jako takie lub w połączeniu z jedną inną substancją czynną lub więcej, każdej w swej własnej kompozycji lub niektórymi bądź wszystkimi substancjami czynnymi połączonymi w pojedynczej kompozycji, i/lub odpowiednimi farmaceutycznymi substancjami pomocniczymi. Odpowiednie farmaceutyczne substancje pomocnicze obejmują typowo stosowane substancje pomocnicze i środki ułatwiające formulację, takie jak wypełniacze, środki wiążące, środki rozsadzające, środki poślizgowe, rozpuszczalniki, środki żelotwórcze, emulgatory, stabilizatory, barwniki i/lub środki konserwujące.

Związki według wynalazku komponuje się w postaci dawkowania, stosując powszechnie znane farmaceutyczne metody wytwarzania. Postaciami dawkowania mogą być np. tabletki,

kapsułki, granulki, czopki, emulsje, zawiesiny lub roztwory. Zależnie od sposobu podawania i formy galenowej, ilość substancji czynnej w preparacie może typowo wahać się w zakresie od 0,01% i 100% (wagowo).

Literatura

- Bojarski, A.J.; Cegła, M.T.; Charakchieva-Minol, S.; Mokrosz, M.J.; Maćkowiak, M.; Misztal, S.; Mokrosz, J.L. *Pharmazie* 1993, 48, 289–294.
- Brosda, J.; Jantschak, F.; Pertz, H.H. *Psychopharmacology* 2014, 231, 801–812.
- Cheng, Y.; Prusoff, W. H. *Biochem. Pharmacol.* 1973, 22, 3099–3108.
- Goff, D.C.; Hill, M.; Barch, D. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2011, 99, 245–253
- Leucht, S.; Corves, C.; Arbter, D.; Engel, R.R.; Li, C.; Davis, J.M. *Lancet* 2009, 373, 31–41.
- Leucht S, Cipriani A, Spineli L, Mavridis D, Orey D, Richter F, Samara M, Barbui C, Engel RR, Geddes JR, Kissling W, Stapf MP, Lässig B, Salanti G, Davis JM. *Lancet* 2013, 382, 951–962.
- Marciniec, K.; Maślankiewicz, A.; Pawłowski, M.; Zajdel, P. *Heterocycles* 2007, 71, 1975–1990.
- Meltzer, H.Y. *Psychopharmacology (Berl.)* 1989, 99, Suppl:S18–27.
- Newman-Tancredi, A.; Kleven, M.S. *Psychopharmacology* 2011, 216, 451–473.
- Nikiforuk, A. *Rev. Neurosci.* 2014, 25, 367–382.
- Paluchowska, M.H.; Bugno, R.; Tatarczyńska, E.; Nikiforuk, A.; Lenda, T.; Chojnacka-Wójcik, E. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 7116–7125.
- PerkinElmer Technical Data Sheet TDS-ES-313-M400UA-04 for Product No.: ES-313-M400UA
- Porsolt, R.D.; Bertin, A.; Jalfre, M. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1977, 229, 327
- Sokoloff, P.; Diaz, J.; Le Foll, B.; Guillin, O.; Leriche, L.; Bezard, E.; Gross, C. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2006, 5, 25–43.
- Smit, M.J.; Timmerman, H.; Hijzlelendoorn, J.C.; Fukui, H.; Leurs, R.; *Brit. J. Pharmacol.* 1996, 117, 1071–1080.
- Zajdel, P.; Marciniec, K.; Maślankiewicz, A.; Satała, G.; Duszyńska, B.; Bojarski, A. J.; Partyka, A.; Jastrzębska-Więsek, M.; Wróbel, D.; Wesołowska, A.; Pawłowski, M. *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, 20, 1545–1556.
- Zajdel, P.; Marciniec, K.; Maślankiewicz, A.; Grychowska, K.; Satała, G.; Duszyńska, B.; Lenda, T.; Siwek, A.; Nowak, G.; Partyka, A.; Wróbel, D.; Jastrzębska-Więsek, M.; Bojarski, A.J.; Wesołowska, A.; Pawłowski, M. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 60, 42–50.