

R U 2 1 2 3 C 2  
2 4 8 1 1 2 3 C 2

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) 2 481 123 (13) C2

(51) МПК  
*A61K 45/00* (2006.01)  
*A61K 31/46* (2006.01)  
*A61P 25/00* (2006.01)  
*A61P 25/18* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010137787/15, 13.02.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
13.02.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
13.02.2008 US 61/028,282

(43) Дата публикации заявки: 20.03.2012 Бюл. № 8

(45) Опубликовано: 10.05.2013 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2004/099202 A1, 18.11.2004. WO 2004/052894 A1, 24.06.2004. WO 03/070731 A2, 28.08.2003. US 6953855 B2, 11.10.2005. US 7309699 B2, 18.12.2007.  
ЭНЦИКЛОПЕДИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ МЕДИЦИНСКИХ ТЕРМИНОВ. - М.: Медицина, 2001, с.742, статья «синергизм». US 2004/0002513 A1, 01.01.2004. US 2005/0225040 A1, 17.11.2005. EA 005002 B1, 28.10.2004. RU 2367440 C2, 10.06.2006.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 13.09.2010

(86) Заявка РСТ:  
US 2009/034062 (13.02.2009)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2009/102962 (20.08.2009)

Адрес для переписки:  
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег.№ 517

(72) Автор(ы):

БЕНШЕРИФ Меруан (US),  
ГАТТО Грегори Дж. (US),  
ХАУЗЕР Терри (US),  
ДЖОРДАН Кристен Г. (US),  
ЛЕТЧУОРТ Шэрон Р. (US)

(73) Патентообладатель(и):  
ТАРГАСЕПТ, ИНК. (US)

(54) КОМБИНАЦИЯ АГОНИСТОВ АЛЬФА 7 НИКОТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АНТИПСИХОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

(57) Реферат:

Предложены: фармацевтическая комбинация, содержащая агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, представляющий собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль или сольват;

и по меньшей мере один антипсихотический агент, где указанная комбинация обеспечивает синергическую терапию психиатрического расстройства, ее применение для получения лекарственного средства для лечения или профилактики психиатрического расстройства, соответствующий способ лечения и набор,

R U 2 4 8 1 1 2 3 C 2

R U 2 4 8 1 1 2 3 C 2

содержащий упаковку и указанную синергическую комбинацию. Показан синергизм действия (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамида в сочетании с клозапином на состояние испуга, или в сочетании с кветиапином на величину стартового импульса, (старт-реакция и величина PPI). 4 н. и 19 з.п. ф-лы, 14 ил., 1 табл., 11 пр.

R U 2 4 8 1 1 2 3 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2010137787/15, 13.02.2009

(24) Effective date for property rights:  
**13.02.2009**

Priority:

(30) Convention priority:  
**13.02.2008 US 61/028,282**

(43) Application published: 20.03.2012 Bull. 8

(45) Date of publication: 10.05.2013 Bull. 13

(85) Commencement of national phase: 13.09.2010

(86) PCT application:  
**US 2009/034062 (13.02.2009)**

(87) PCT publication:  
**WO 2009/102962 (20.08.2009)**

Mail address:  
**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3, OOO  
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",  
pat.pov. E.E.Nazinoj, reg.№ 517**

(51) Int. Cl.  
**A61K 45/00 (2006.01)  
A61K 31/46 (2006.01)  
A61P 25/00 (2006.01)  
A61P 25/18 (2006.01)**

(72) Inventor(s):

**BENShERIF Meruan (US),  
GATTO Gregori Dzh. (US),  
KhAUZER Terri (US),  
DZhORDAN Kristen G. (US),  
LETChUORT Shehron R. (US)**

(73) Proprietor(s):

**TARGASEPT, INK. (US)**

R U 2 4 8 1 1 2 3 C 2

**(54) COMBINATION OF ALPHA 7 NICOTINIC RECEPTOR AGONISTS AND ANTIPSYCHOTIC AGENTS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: there are offered: a pharmaceutical combination comprising an a7 nicotinic receptor agonist, which represents (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)methyl)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-carboxamide or a pharmaceutically acceptable salt or a solvate thereof, and at least one antipsychotic agent, wherein the mentioned combination provides a synergistic therapy of a mental disorder, the use thereof for preparing a therapeutic agent for treating or preventing the mental disorder, an appropriate method of treating,

and a set comprising a package and the specified synergistic combination. What is shown is a synergistic effect of (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)methyl)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-carboxamide in a combination with clozapine on the state of fear, or in a combination with quetiapine by a value of a start pulse (startle response and PPI).

EFFECT: what is presented is a combination of alpha 7 nicotinic agonist receptors and antipsychotic agents.

23 cl, 14 dwg, 1 tbl, 11 ex

R U 2 4 8 1 1 2 3 C 2

Текст описания приведен в факсимильном виде.

**ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Настоящее изобретение относится к комбинации агониста  
 5 альфа<sub>7</sub> ( $\alpha_7$ ) никотинового рецептора и антипсихотического агента.  
 Указанное изобретение относится далее к фармацевтическим  
 10 композициям, включающим такую комбинацию, и к способам лечения  
 психиатрических расстройств, особенно психотических расстройств,  
 путем введения указанной комбинации. Указанное изобретение  
 15 относится далее к набору, включающему указанную комбинацию и к  
 использованию указанного набора при лечении психиатрических  
 20 расстройств, особенно психотических расстройств.

**ПРЕДПОСЫЛКИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Было показано, что существует несколько подтипов  
 25 нейрональных никотиновых рецепторов (NNR) характеристичных для  
 центральной нервной системы (ЦНС), большая часть которых  
 относится к подтипам  $\alpha_4\beta_2$  и  $\alpha_7$ . См., например, Schmitt, Current  
 30 Med. Chem. 7: 749 (2000). Было высказано предположение, что  
 лиганды, которые взаимодействуют с  $\alpha_7$  подтипом NNR, можно  
 35 использовать при лечении различных состояний и расстройств (см.  
 Mazurov et al., Curr. Med. Chem. 13: 1567-1584 (2006) и  
 имеющиеся там ссылки). Наиболее часто встречающимися среди  
 40 указанных состояний и расстройств являются ухудшение  
 познавательной способности, шизофрения, воспаление, ангиогенез,  
 45

50

невропатическая боль и фибромиалгия.

Сообщалось, что различные соединения взаимодействуют с α7

NNR и на этом основании они были предложены в качестве лекарственных средств. См., например, PCT WO 99/62505, PCT WO 99/03859, PCT WO 97/30998, PCT WO 01/36417, PCT WO 02/15662, PCTWO 02/16355, PCT WO 02/16356, PCT WO 02/16357, PCT WO 02/16358, PCT WO 02/17358, Stevens et al., Psychopharm. 136: 320 (1998), Dolle et al., J. Labelled Comp. Radiopharm. 44: 785 (2001) и Macor et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 11: 319 (2001) и приведенные там ссылки, причем все они включены сюда по ссылке, касающейся указанной темы. У всех указанных соединений общим структурным элементом является замещенный третичный бициклический амин (например, квинуклидин). Сообщалось также, что аналогичные замещенные квинуклидиновые соединения связываются с мускариновыми рецепторами. См., например, патенты США № 5712270 to Sabb и PCT, WO 02/00652 и WO 02/051841, каждый из которых включен сюда по ссылке, касающейся указанной темы.

Ограничениями для некоторых никотиновых соединений является то, что их применение связано с различными нежелательными побочными эффектами, например, они стимулируют мышечные и ганглионарные рецепторы. Поэтому было бы желательно получить соединения, композиции и способы для профилактики и/или лечения различных состояний или расстройств (например, расстройств ЦНС), включая облегчение симптомов указанных расстройств, где указанные соединения демонстрировали бы свойственную никотину фармакологию с благоприятным эффектом (например, при воздействии на ЦНС), но без заметных, связанных с ними побочных эффектов.

Было бы, кроме того, весьма желательно получить соединения, композиции и способы влияния на функции ЦНС без заметного 5 воздействия на те подтипы никотиновых рецепторов, которые обладают способностью вызывать нежелательные побочные эффекты (например, существенную активность участков сердечно-сосудистых 10 и скелетных мышц). Кроме того, было бы весьма желательно получить фармацевтические композиции и способы введения 15 соединений, которые взаимодействуют с никотиновыми рецепторами но не с мускариновыми рецепторами, так как последние связаны с побочными эффектами, такими как избыточное слюновыделение, 20 потовыделение, трепор, нарушения в сердечно-сосудистой системе и желудочно-кишечном тракте, связанными с функцией 25 парасимпатической нервной системы (см. Caulfield, Pharmacol. Ther. 58: 319 (1993) и Broadley and Kelly, Molecules 6: 142 (2001), которые включены сюда по ссылке, касающейся указанной 30 темы). Кроме того, было бы весьма желательно предложить фармацевтические композиции и способы введения соединений, 35 которые взаимодействуют с никотиновыми рецепторами, но не с рецепторами 5-гидрокситриптамина ( $5\text{HT}_3$ ), так как перекрестное взаимодействие между указанными двумя типами рецепторов 40 ограничивает терапевтический показатель некоторых других никотиновых лигандов. В настоящем изобретении предложены 45 композиции и способы, которые включают такие высоко селективные никотиновые соединения.

Шизофрения является примером психотического расстройства, 50 которое особенно поддается лечению путем модулирования NNR  $\alpha 7$  подтипа. Наблюдается уменьшенное количество гиппокампальных NNR

в посмертных тканях мозга у пациентов, страдавших шизофренией.

Также наблюдается усиленный психологический эффект у курящих,

5 больных шизофренией пациентов по сравнению с некурящими

пациентами. Никотин уменьшает дефицит сенсорной синхронизации у

животных и шизофреников. Блокада NNR подтипа  $\alpha 7$  вызывает дефицит

10 синхронизации аналогичный тому, который наблюдается при

шизофрении. Смотри, например, Leonard et al., Schizophrenia

15 Bulletin 22(3): 431 (1996), который включен сюда по ссылке,

касающейся указанной темы. Биохимические, молекулярные и

генетические исследования обработки сенсорной информации у

20 пациентов с дефицитом P50 вызванного слухового потенциала

синхронизации, позволяют предположить, что NNR подтипа  $\alpha 7$  могут

25 функционировать в ингибиторных нейрональных проводящих путях.

См., например, Freedman et al., Biological Psychiatry 38(1): 22

(1995), что включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы.

30 Антипсихотические средства долгое время использовались при

лечении психотических расстройств (например, шизофрении), также

35 как и других психиатрических нарушений. Примеры обычных

анттипсихотических средств включают, но ими не ограничиваются,

хлорпромазин, галоперидол, флуепентиксол и перфеназин. Примеры

40 неканонических антипсихотических средств включают, но ими не

ограничиваются, клозапин, рисперидон, оланzapин, кветиапин,

арипипразол, зипразидон, амисульприд, сульприд, зотепин,

45 сертиндол, палиперидон, бифепрунокс и азенапин. Неканонические

анттипсихотические средства обеспечивают некоторые клинические

50 преимущества по сравнению с традиционными антипсихотическими

средствами. Примеры заметных преимуществ по сравнению с

традиционными антипсихотическими лекарственными средствами включают более существенное ослабление негативных симптомов, 5 таких как социальная самоизоляция, и снижение риска побочных эффектов паркинсонизма и старческой дискинезии.

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

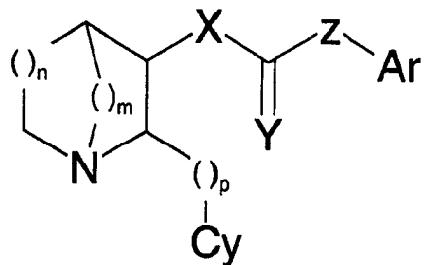
10 В настоящем изобретении предложена фармацевтическая комбинация, включающая, по меньшей мере, один агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и, по меньшей мере, один антипсихотический агент, где указанная комбинация обеспечивает синергический терапевтический эффект в отношении психиатрических 15 расстройств.

20 В одном варианте психиатрическим расстройством является психотическое расстройство. В другом варианте психиатрическим расстройством является шизофрения. В одном варианте фармацевтическая комбинация настоящего изобретения обеспечивает 25 синергическое лечение одного или более из нарушений внимания, процесса переработки информации, нарушений памяти, или дефицита организационной функции.

30 35 В одном варианте фармацевтическая комбинация настоящего изобретения включает, по меньшей мере, один агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и, по меньшей мере, один антипсихотический агент, которые вводят одновременно, 40 последовательно или раздельно.

45 В одном варианте, по меньшей мере, один агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой соединение формулы 1:

50



Формула 1

5

10

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где

m представляет собой 1 или 2;

15

n представляет собой 1 или 2;

p представляет собой 1, 2, 3 или 4;

X представляет собой кислород или -NR' -;

20

Y представляет собой кислород или серу;

Z представляет собой -NR' -, ковалентную связь или линкер A;

25

A представляет собой -CR'R" -, -CR'R"-CR'R" -, -CR'=CR' - или  
-C≡O, где каждый из R' и R" индивидуально представляет

собой водород, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> циклоалкил, гетероциклик, арил,  
или арилалкил, или R' и R", взятые вместе с атомом, к которому  
они присоединены, могут образовывать 3-8 членное кольцо, которое  
может содержать дополнительные гетероатомы;

35

если Z представляет собой ковалентную связь или A, тогда X  
должен представлять собой азот;

40

Ar представляет собой необязательно замещенную арильную  
группу; и

45

Cy представляет собой необязательно замещенное 5- или 6-  
членное гетероароматическое кольцо,

50

где каждый из Ar и Cy может быть замещен одним или более из  
C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкила, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> алкенила, гетероциклила, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> циклоалкила,  
арила, замещенного арила, арилалкила, замещенного арилалкила,

галогена, -OR', -NR'R", галогеноалкила, -CN, -NO<sub>2</sub>, -C≡CR', -SR', -N<sub>3</sub>, -C(=O)NR'R", -NR'C(=O)R", -C(=O)R', -C(=O)OR', -OC(=O)R', -O(CR'R")<sub>r</sub>C(=O)R', -O(CR'R")<sub>r</sub>NR"C(=O)R', -O(CR'R")<sub>r</sub>NR"SO<sub>2</sub>R', -OC(=O)NR'R", -NR'C(=O)OR", -SO<sub>2</sub>R', -SO<sub>2</sub>NR'R" или -NR'SO<sub>2</sub>R",

где каждый из R' и R" имеет указанные значения, и  
10 r представляет собой целое число от 1 до 6,

где замещенные арильные и замещенные арилалкильные группы  
15 содержат один или более из C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкила, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> алкенила,  
гетероциклила, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> циклоалкила, арила, арилалкила, галогена, -  
OR', -NR'R", галогеноалкила, -CN, -NO<sub>2</sub>, -C=CR', -SR', -N<sub>3</sub>, -  
C(=O)NR'R", -NR'C(=O)R", -C(=O)R', -C(=O)OR', -OC(=O)R', -  
O(CR'R")<sub>r</sub>C(=O)R', -O(CR'R")<sub>r</sub>NR"C(=O)R', -O(CR'R")<sub>r</sub>NR"SO<sub>2</sub>R', -  
OC(=O)NR'R", -NR'C(=O)OR", -SO<sub>2</sub>R', -SO<sub>2</sub>NR'R", или -NR'SO<sub>2</sub>R", где  
25 25 каждый из R', R" и r имеет указанные значения.

В одном варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пирамидинил, каждый из X и Y  
30 представляет собой кислород, и Z представляет собой -NR'-.

В одном варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пирамидинил, X и Z представляют собой  
35 -NR'-, и Y представляет собой кислород.

В одном варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пирамидинил, X представляет собой -NR'-,  
40 Y представляет собой кислород, и Z представляет собой ковалентную связь.

В одном варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пирамидинил, X представляет собой -NR'-,  
50 Y представляет собой кислород, и Z представляет собой А.

В одном варианте соединение формулы 1 представляет собой:

2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N-

5 фенилкарбамат,

2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (4-

фторфенил) карбамат,

10 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (4-

хлорфенил) карбамат,

15 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (4-

бромфенил) карбамат,

20 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (3-

фторфенил) карбамат,

25 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (3-

хлорфенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (3 -

бромфенил) карбамат,

30 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (2 -

фторфенил) карбамат,

35 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (2 -

хлорфенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (2 -

40 бромфенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (3 , 4 -

дихлорфенил) карбамат,

45 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (2 -

метилфенил) карбамат,

50 2 - ( (3-пиридинил)метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил N- (2 -

бифенил) карбамат,

- 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-  
метилфенил) карбамат,
- 5 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-  
бифенил) карбамат,
- 10 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-  
метилфенил) карбамат,
- 15 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-  
бифенил) карбамат,
- 20 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-  
цианофенил) карбамат,
- 25 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-  
цианофенил) карбамат,
- 30 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-  
трифторметилфенил) карбамат,
- 35 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-  
диметиламинофенил) карбамат,
- 40 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-  
феноксифенил) карбамат,
- 45 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-  
метилтиофенил) карбамат,
- 50 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-  
фенилтиофенил) карбамат,
- 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

метоксифенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

5 феноксифенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

10 метилтиофенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

15 фенилтиофенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-

20 метоксифенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-

25 метилтиофенил) карбамат,

2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (4-

фенилтиофенил) карбамат,

30 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2,4-

диметоксифенил) карбамат,

35 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-

тиенил) карбамат,

40 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

тиенил) карбамат,

45 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (3-

бензотиенил) карбамат,

50 2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил N- (2-

нафтил) карбамат,

N-фенил-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

5 N-(4-фторфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

10 N-(4-хлорфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

15 N-(4-бромфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

20 N-(3-фторфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

25 N-(3-хлорфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

30 N-(3-бромфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

35 N-(2-фторфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

40 N-(2-хлорфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

45 N-(2-бромфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

50 N-(3,4-дихлорфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N-(2-метилфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N-(2-бифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N-(3-метилфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (3-бифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

5 азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (4-метилфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

10 N- (4-бифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

15 N- (2-цианофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (3-цианофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

20 азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (4-цианофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

25 азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (3-трифторметилфенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

30 N- (4-диметиламинофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

35 N- (2-метоксифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (2-феноксифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

40 азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (2-метилтиофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

45 N- (2-фенилтиофенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

50 N- (3-метоксифенил)-N'-(2-((3-пиридинил)метил)-1-

азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)мочевину,

N- (3-феноксифенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

5 N- (3-метилтиофенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

10 N- (3-фенилтиофенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

15 N- (4-метоксифенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

20 N- (4-феноксифенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

25 N- (4-метилтиофенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

30 N- (4-фенилтиофенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

35 N- (2,4-диметоксифенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

40 N- (2-тиенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

45 N- (3-тиенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

50 N- (3-бензотиенил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

N- (1-нафтил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

55 азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

N- (2-нафтил) -N' - (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -

59 азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) мочевину,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2.2.2] окт-3 -

ил) бензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2-

5        фторбензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3 -

фторбензамид,

10      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4 -

фторбензамид,

15      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2 -

хлорбензамид,

20      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3 -

хлорбензамид,

25      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4 -

хлорбензамид,

30      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2 -

бромбензамид,

35      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3 -

бромбензамид,

40      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4 -

бромбензамид,

45      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3 , 4 -

дихлорбензамид,

50      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2 -

метилбензамид,

55      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3 -

метилбензамид,

60      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4 -

метилбензамид,

- N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -2 -  
фенилбензамид,
- 5 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -3 -  
фенилбензамид,
- 10 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -4 -  
фенилбензамид,
- 15 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -2 -  
цианобензамид,
- 20 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -3 -  
цианобензамид,
- 25 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -3 -  
трифторметилбензамид,
- 30 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -4 -  
диметиламинобензамид,
- 35 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -2 -  
метоксибензамид,
- 40 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -3 -  
метоксибензамид,
- 45 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -2 -  
феноксибензамид,
- 50 N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -3 -  
феноксибензамид,
- N- (2 - ( (3 - пиридинил) метил) -1 -азабицикло [2 . 2 . 2] окт -3 -ил) -4 -

феноксибензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2-

5        метилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

10      метилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4-

15      метилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2-

20      фенилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

25      фенилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4-

30      фенилтиобензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2,4-

35      диметоксибензамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-

40      бромникотинамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -6-

45      хлорникотинамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-

40      фенилникотинамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-

45      ил) фуран-2-карбоксамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-

иil) фуран-3-карбоксамид,

50      N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-

иil) тиофен-2-карбоксамид,

- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-бромтиофен-2-карбоксамид,
- 5 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-метилтиотиофен-2-карбоксамид,
- 10 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-фенилтиотиофен-2-карбоксамид,
- 15 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-метилтиофен-2-карбоксамид,
- 20 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-бромтиофен-2-карбоксамид,
- 25 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-хлортиофен-2-карбоксамид,
- 30 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-(2-пиридинил) тиофен-2-карбоксамид,
- 35 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-этокситиофен-2-карбоксамид,
- 40 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-метокситиофен-2-карбоксамид,
- 45 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4-ацетил-3-метил-5-метилтиотиофен-2-карбоксамид,
- 50 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) тиофен-3-карбоксамид,
- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1-

метилпиррол-2-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) пиррол-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) индол-2-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) индол-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1-метилиндол-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1-бензилиндол-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1Н-бензимидазол-2-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1-изопропил-2-трифторметил-1Н-бензимидазол-5-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензо [b] тиофен-2-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензо [b] тиофен-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензофуран-2-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензофуран-3-карбоксамид,

N- (2- ((3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-метилбензофуран-2-карбоксамид,

- N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-  
нитробензофуран-2-карбоксамид,
- 5 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -5-  
метоксибензофуран-2-карбоксамид,
- 10 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -7-  
метоксибензофуран-2-карбоксамид,
- 15 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -7-  
этоксибензофуран-2-карбоксамид,
- 20 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
метил-5-хлорбензофуран-2-карбоксамид,
- 25 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -6-  
бромбензофуран-2-карбоксамид,
- 30 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -4-  
ацетил-7-метоксибензофуран-2-карбоксамид,
- 35 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-  
ил) нафто [2,1-*b*] фуран-2-карбоксамид,
- 40 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-  
ил) нафталин-1-карбоксамид,
- 45 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -6-  
аминонафталин-2-карбоксамид,
- 50 N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
метоксинафталин-2-карбоксамид,
- N- (2 - ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -6-

- метоксинафталин-2-карбоксамид,
- 5 N- (2- ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -1- гидроксинафталин-2-карбоксамид,
- 10 N- (2- ( (3-пиридинил) метил-1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -6- гидроксинафталин-2-карбоксамид,
- 15 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- ацетоксинафталин-2-карбоксамид,
- 20 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (3-фторфенил) проп-2-енамид,
- 25 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (4-метоксифенил) проп-2-енамид,
- 30 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (2-фторфенил) проп-2-енамид,
- 35 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (3-метилфенил) проп-2-енамид,
- 40 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (4-фторфенил) проп-2-енамид,
- 45 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (4-метилфенил) проп-2-енамид,
- 50 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3- (2-фурил) проп-2-енамид,
- (2-метоксифенил) проп-2-енамид,

- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (3-бромфенил) проп-2-енамид,
- 5 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (3-метоксифенил) проп-2-енамид,
- 10 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (3-гидроксифенил) проп-2-енамид,
- 15 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-бромфенил) проп-2-енамид,
- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-хлорфенил) проп-2-енамид,
- 20 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-гидроксифенил) проп-2-енамид,
- 25 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-гидрокси-3-метоксифенил) проп-2-енамид,
- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (2-тиенил) проп-2-енамид,
- 30 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (3-пиридинил) проп-2-енамид,
- 35 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-бифенил) проп-2-енамид,
- 40 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (1-нафтил) проп-2-енамид,
- N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (3-тиенил) проп-2-енамид,
- 45 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-  
 (4-изопропилфенил) проп-2-енамид,
- 50 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

метил-3-фенилпроп-2-енамид,

5 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

(3-фурил) проп-2-енамид,

10 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -2-

этил-3-фенилпроп-2-енамид,

15 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

(2-пиридинил) проп-2-енамид,

20 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

(3,4-диметилтиено [2,3-*b*] тиофен-2-ил) проп-2-енамид,

25 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

(3-метилтиен-2-ил) проп-2-енамид,

30 N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

25 (2-нафтил) проп-2-енамид,

N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) -3-

35 (4-метилтиофенил) проп-2-енамид

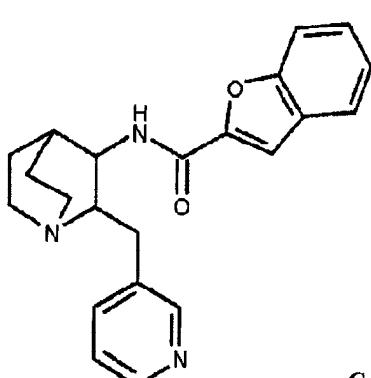
или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

В одном варианте соединение формулы 1 представляет собой

35 (2*S*,3*R*) -N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-

ил) бензофуран-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую

соль или сольват, именуемые здесь также как соединение А.



Соединение А

В другом варианте соединение формулы 1 представляет собой

(2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-

ил) бензофуран-2-карбоксамид, его соли хлористоводородной кислоты, фосфорной кислоты, малеиновой кислоты или парамтолуолсульфоновой кислоты или их сольваты.

В одном варианте соединение формулы 1 представляет собой

(2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил) -

5-метилтиофен-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую

соль, именуемые здесь как соединение В. В следующем варианте соединение формулы 1 представляет собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)-5-метилтиофен-2-карбоксамид, его соли хлористоводородной кислоты, фосфорной кислоты или паратолуолсульфоновой кислоты или их сольваты.

В одном варианте антипсихотический агент представляет собой

или традиционное или атипичное антипсихотическое средство. В тех

вариантах, где антипсихотическое средство представляет собой

традиционное антипсихотическое средство, указанный агент

выбирают из хлорпромазина, галоперидола, флуепентиксола или

перфеназина, или их метаболитов, солей или сольватов. В таких

вариантах, где антипсихотическое средство представляет собой

атипичное антипсихотическое средство, указанный агент выбирают

из клозапина, рисперидона, оланzapина, кветиапина, арипипразола,

зипразидона, амисульприда, сульприда, зотепина, сертиндола,

палиперидона, бифепрунокса или азенапина, или их метаболитов,

солей или сольватов. В одном варианте, по меньшей мере, один

анттипсихотический агент представляет собой клозапин или

кветиапин, или их метаболиты, соли или сольваты.

Настоящее изобретение включает способ лечения или

профилактики психиатрического расстройства, включающий введение фармацевтической комбинации в соответствии с настоящим изобретением. В одном варианте указанное психиатрическое расстройство представляет собой психотическое расстройство. В другом варианте указанное психиатрическое расстройство 5 представляет собой шизофрению, шизофрениформное расстройство, 10 шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, 15 кратковременное психотическое расстройство, общее психотическое расстройство, неподдающееся лечению психотическое расстройство, психотические расстройства, связанные с общим медицинским состоянием, или психотическое расстройство, которое не 20 охарактеризовано каким-либо другим образом. В еще одном варианте, 25 указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению.

Настоящее изобретение включает набор для лечения или профилактики психиатрических расстройств, включающий упаковку, 30 содержащую синергическую комбинацию одного или более из агонистов  $\alpha_7$  никотиновых рецепторов и один или более из 35 антипсихотических агентов.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ**

ФИГ. 1 иллюстрирует способность агониста  $\alpha_7$  никотинового 40 рецептора, конкретно соединения В, уменьшать дефицит сенсорной синхронизации у  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей ( $n=15$ ). Соединение В не 45 оказывает воздействия на контрольную группу ( $n=8$ ).

ФИГ.2а иллюстрирует тот факт, что не наблюдается заметного 50 основного воздействия соединения А на контрольных мышей, что указывает на отсутствие воздействия лекарственного средства на

PPI у контрольных мышей. Однако, как видно на ФИГ.2b, соединение А оказывает воздействие на трансгенных мышей [th(tk-)/th(tk-)], тем самым демонстрируя способность соединения А улучшать PPI у трансгенных мышей ( $n=8$ ).

ФИГ.3 иллюстрирует терапевтические эффекты агониста  $\alpha 7$  никотинового рецептора на сенсорную синхронизацию. Стартовая реакция у трансгенных мышей не выше, чем у контрольных мышей ( $n=8$ ).

ФИГ.4 иллюстрирует терапевтические эффекты на клозапин в плане корректировки сенсорной синхронизации у трансгенных мышей.

ФИГ.5 иллюстрирует синергическое взаимодействие клозапина и соединения А у трансгенных мышей (PPI) ( $n=8$ ).

ФИГ.6 иллюстрирует синергическое взаимодействие клозапина и соединения А у трансгенных мышей (старт-реакция) ( $n=8$ ).

РИС.7а и 7б иллюстрируют способность кветиапина корректировать сенсорную синхронизацию у трансгенных мышей, PPI и старт-реакцию, соответственно.

РИС.8 иллюстрирует синергическое взаимодействие соединения А и кветиапина у трансгенных мышей (PPI и старт-реакция).

РИС.9А и 9В представляют собой графические иллюстрации воздействия соединения А на  $\alpha 7$  рецепторы, экспрессированные в Xenopus ооцитах. ФИГ.9А: Зависимая от дозы реакция токов, вызванных соединением A-evoked currents в человеческих  $\alpha 7$  рецепторах, экспрессированных в Xenopus ооцитах. ФИГ.9В: Контрольные реакции, вызванные Ach, человеческих  $\alpha 7$  рецепторов после нанесения соединения А в указанных концентрациях. Результаты нормализованы относительно результирующего заряда

контрольных 300 мкМ ACh реакций, полученных за 5 минут до экспериментальных реакций, вызванных агонистом. Каждая из точек 5 представляет собой среднее ± SEM нормализованных реакций, по меньшей мере, для 4 ооцитов.

РИС.10А и 10В представляют собой графические изображения 10 результатов, демонстрирующих что соединение А не оказывает воздействия на двигательную активность в тесте открытого поля и 15 приподнятого крестообразного лабиринта. ФИГ.10А: Время, которое 20 контрольные или th(tk-)/th(tk-) (ТК-) мыши проводят на периферии или в центре открытого поля. Хотя ТК- мыши проводят заметно 25 больше времени в центре (и соответственно заметно меньше времени на периферии) чем контрольные мыши, не наблюдается эффекта соединения А (0,3мг/кг). \* = заметно отличается от контролей (p<0,05). ФИГ.10В. Соединение А не оказывает воздействия на 30 время, проводимое в открытых и закрытых коридорах приподнятого крестообразного лабиринта. Животные обоих генотипов проводят 35 заметно больше времени в закрытых коридорах, чем в открытых коридорах. ТК- мыши проводят заметно больше времени в открытых коридорах, чем контрольные мыши. Не наблюдается эффекта 40 лекарственного средства. \* = заметно отличается от контролей (p<0,05).

ФИГ.11 представляет собой графическое изображение 45 результатов, демонстрирующих, что соединение А восстанавливает вызванное апоморфином ухудшение пре-импульсного ингибиования. Для исследования пре-импульсного (PP) ингибиования, PP 50 испытания включают или пре-импульс в 75 децибел (=10 децибел сверх фона) или 85 децибел (=20 децибел сверх фона)

длительностью 20 мсекунд начиная со 100 мсекунд перед импульсом в 120 децибел длительностью 40 мсекунд. Средний между испытаниями интервал устанавливают в 40 секунд в диапазоне 20-60 секунд, и длительность интервалов между испытаниями 5 рандомизируют. Реакцию вздрогивания измеряют в течение 100 мсек, 10 начиная от представления 120 децибел. Измеряют величину "flinch" 15 реакции испуга вздрогивающей у крысы. При полном сравнении всех факторов обработки лекарственным средством, введение солевого раствора плюс (-)-апоморфин (1,0 мг/кг; подкожно) заметно снижают %PPI по сравнению с животными, обработанными солевым 20 раствором + носитель (+ p<0,001). Соединение А (0,3 мг/кг; подкожно) заметно (\*\*p<0,001) восстанавливает вызванный 25 апоморфином PPI дефицит (%PPI) после 0,3 соединения А + 1,0 Aro по сравнению с солевым раствором плюс (-)-апоморфин (1,0 мг/кг; подкожно). Традиционное антипсихотическое средство галоперидол 30 (0,3 мг/кг; внутрибрюшинно) заметно восстанавливает (\*\*p<0,001) PPI дефицит, вызванный апоморфином (%PPI) после 0,3 HAL + 1,0 Aro по сравнению с солевым раствором плюс (-)-апоморфин (1,0 35 мг/кг; подкожно). Результаты, выражены как среднее ± SEM. (-)-Апоморфин получают от Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). (-)- 40 Апоморфин растворяют в солевом растворе, содержащем 0,1 % (вес/объем) аскорбиновой кислоты (Sigma) и охлаждают в холодильнике в темноте, чтобы защитить от оксидативного 45 разложения.

ФИГ. 12А и 12В представляют собой графические изображения 50 результатов, демонстрирующих зависимые от дозы реакция эффекты соединения А на когнитивные способности в парадигме

распознавания нового объекта. ФИГ.12А (слева): соединение А вводят перорально ( $0,3\text{--}10$  мг/кг) и воздействие на когнитивные способности определяют, используя парадигм распознавания нового объекта (NOR), как раскрыто в разделе 'Способы'. Результаты выражают как время, проведенное в исследовании новых и знакомых объектов (среднее  $\pm$  SEM). \*\* $p<0,02$  по сравнению с контролями с носителем. ФИГ.12А (справа): соединение А вводят перорально ( $0,3$  мг/кг) и времена исследований определяют в моменты  $0,5, 2, 6, 18$  и  $24$  часа после введения. Результаты выражают как среднее  $\pm$  SEM.

\*  $p<0,05$  по сравнению с контролями с носителем. ФИГ.12В: А % показатель узнавания рассчитывают ( $\%RI = [(\text{время исследования нового объекта}) / (\text{полное время исследования нового + знакомого объектов})] \times 100$ ) в различные моменты времени после введения соединения А ( $0,3$  мг/кг перорально). Результаты представляют как показатель узнавания (RI) как функция времени после введения соединения А и выражают как среднее  $\pm$  SEM. \*  $p<0,05$  по сравнению с контролями с носителем.

ФИГ.13 представляет собой графическое изображение, демонстрирующее действие соединения В на содержание глюкозы в плазме тучных db/db мышей.

ФИГ.14 представляет собой графическое изображение, демонстрирующее действие соединения В на вес тела тучных db/db мышей.

#### ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНОГО ВАРИАНТА НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Раскрытые здесь комбинации, как предполагают, должны обеспечить синергические эффекты при лечении психиатрических расстройств, особенно, психотических расстройств. Раскрытые

комбинации, как предполагают, должны обеспечить симптоматическое облегчение психиатрических расстройств, особенно психотических 5 расстройств, должны обладать меньшими побочными эффектами, как предполагают, должны позволить снизить использование указанных агентов по сравнению с независимым введением, как предполагают, 10 должны дополнить седативные агенты и стабилизаторы настроения, такие как литий, и как предполагают, должны быть профилактически 15 адресованы к развитию психоделических состояний. Примеры психотических расстройств включают, но ими не ограничиваются, шизофрению, шизофреноформное расстройство, шизоаффективное 20 расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, общее психотическое расстройство, не поддающееся лечению психотическое расстройство и психотическое 25 расстройство, связанное с общим медицинским состоянием.

Вышеуказанные состояния и расстройства определены, например, в 30 материалах американской ассоциации психиатров: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 35 2000, что включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы.

Считают, что раскрытие здесь композиции и способы 40 обеспечивают преимущества по сравнению с известными ранее способами лечения невропсихиатрических расстройств. Указанная комбинация настоящего изобретения обеспечивает эффективность 45 антипсихотического средства, когда его принимают в комбинации с никотиновым агонистом и, тем самым, позволяет уменьшить 50 предполагаемые для использования количества указанных агентов, также как позволяет улучшить лечение симптомов заболевания и

связанных с заболеванием побочных эффектов. Следующим преимуществом указанного синергического эффекта может быть более 5 быстрое наступление терапевтического эффекта, нежели при использовании индивидуального соединения.

Никотиновыми агонистами настоящего изобретения являются 10 такие соединения, которые обладают агонистической или частично агонистической активностью по рецептору NNR подтипа  $\alpha 7$  (агонист  $\alpha 7$  никотинового рецептора). Конкретные агонисты никотинового 15 рецептора, которые можно использовать в указанной комбинации настоящего изобретения раскрыты в патенте США № 6953855 и в 20 патентных заявках США серийных номеров 11/157119, 11/458231 и 60/971654, каждая из которых включена сюда по ссылке.

Конкретные никотиновые агонисты представляет собой 25 стереоизомерные формы N- (2- ( (3-пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензофуран-2-карбоксамида и его 30 метаболиты или пролекарства и их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

Примером никотинового агониста является (2S,3R)-N- (2- ( (3- 35 пиридинил) метил) -1-азабицикло [2.2.2] окт-3-ил) бензофуран-2-карбоксамид, который в рассматриваемом описании именуют также 40 как соединение A. Соединение A и другие соединения формулы 1 модулируют никотиновые рецепторы в мозге субъекта. Как таковые, 45 указанные соединения обладают способностью проявлять фармакологию никотина, и в частности, функционировать как агонисты никотина. Получение указанных соединений раскрыто в 50 перечисленных выше ссылках и включенных патентах и заявках.

Следующие определения предназначены лишь для уточнения, но

не ограничения определяемых терминов. Если конкретный используемый здесь термин специфически не определен, такой 5 термин не следует рассматривать как неопределенный. Точнее, термины используют в их общепринятых значениях.

В том смысле, как здесь использован термин "алкил", он 10 относится к неразветвленной или разветвленной углеводородной цепочке, содержащей от одного до двенадцати атомов углерода, 15 предпочитительно от одного до восьми, более предпочтительно от одного до шести, которые могут быть необязательно замещены, как будет раскрыто здесь далее, причем возможно множество степеней 20 замещения. Примеры термина "алкил" в том смысле, как здесь использован, включают, но ими не ограничиваются, метил, этил, 25 пропил, изопропил, изобутил, н-бутил, трет-бутил, изопентил и н-пентил.

В том смысле, как здесь использован термин "циклоалкил", он 30 относится к насыщенному, необязательно замещенному неароматическому, трех-двенадцати-членному, предпочтительно трех-восьми-членному, моноциклическому, бициклическому или 35 мостиковому углеводородному кольцу, причем возможно множество степеней замещения. Примеры термина "циклоалкильные" группы, в 40 том смысле, как он здесь использован, включают, но ими не ограничиваются, циклопропил, циклобутил, циклопентил, 45 циклогексил, и циклогептил, также как кольца, содержащие одну или более из степеней ненасыщенности, но не содержащие ароматики, такие как циклопропенил, циклобутенил, циклопентенил, 50 циклогексенил и циклогептенил.

В том смысле, как здесь использован термин "гетероцикл" или

"гетероциклил", он относится к необязательно замещенной моно- или полициклической кольцевой системе, необязательно содержащей 5 одну или более из степеней ненасыщенности и также содержащей один или более из гетероатомов, которые могут быть необязательно замещены, как будет далее раскрыто, причем возможно множество 10 степеней замещения. Примеры гетероатомов включают атомы азота, кислорода или серы, включая N-оксиды, оксиды серы и диоксиды. 15 Предпочтительно, чтобы указанное кольцо было трех-двенадцатичленным, и было полностью насыщенным или содержало одну или более из степеней ненасыщенности. Такие кольца могут быть 20 необязательно конденсированы с одним или более из других гетероциклических колец или циклоалкильных колец. Примеры 25 термина "гетероциклические" группы, в том смысле, как он здесь использован, включают, но ими не ограничиваются, тетрагидрофуран, пиран, 1,4-диоксан, 1,3-диоксан, пиперидин, 30 пирролидин, морфолин, тетрагидротиопиран и тетрагидротиофен.

В том смысле, как здесь использован термин "арил", он относится к одновалентному бензольному кольцу или к 35 конденсированной системе бензольных колец, которые могут быть необязательно замещены, как будет раскрыто далее, причем возможно множество степеней замещения. Указанный термин "арил" 40 относится также к моноциклическому пяти-семи-членному ароматическому кольцу, или к конденсированной бициклической 45 ароматической кольцевой системе, включающей два таких ароматических кольца, которые могут быть необязательно замещены, как будет раскрыто далее, причем возможно множество 50 степеней замещения, причем указанные кольца могут содержать один

или более из атомов азота, серы и/или кислорода (как например в 5- и 6-членных гетероароматических кольцах), где N-оксиды, оксиды серы и диоксиды серы являются допустимыми заменами гетероатомов. Примеры термина "арильные" группы, в том смысле, как здесь использован, включают, но ими не ограничиваются, фенил, 2-нафтил, 1-нафтил, антрацен и фенантрен. Другие примеры 10 термина "арильные" группы в том смысле, как он использован включают, но ими не ограничиваются, фуран, тиофен, пиррол, имидазол, пиразол, триазол, татразол, тиазол, оксазол, изоксазол, оксадиазол, тиадиазол, изотиазол, пиридин, пиридазин, 15 пиразин, пиrimидин, хинолин, изохинолин, бензофуран, бензотиофен, индол, индазол, бензимидазолил, имидазопиридинил, пиразолопиридинил и пиразолопиrimидинил.

20 В том смысле, как здесь использован термин "аралкил", он относится к "арильной" группе, как здесь определено, присоединенной через алкиленовый линкер, включая, но им не ограничиваясь, бензол.

Соединения, включенные в объем настоящего изобретения, 25 могут образовывать соли присоединения кислот. Примеры подходящих фармацевтически приемлемых солей включают соли присоединения неорганических кислот, такие как хлорид, бромид, сульфат, фосфат 30 и нитрат; соли присоединения органических кислот, такие как ацетат, галактат, пропионат, сукцинат, лактат, гликолат, малат, тартрат, цитрат, малеат, фумарат, метансульфонат, паратолуолсульфонат и аскорбат; соли аминокислот, такие как аспартат 35 и глутамат. Представительные соли приведены в патентах США № 50 5597919 to Dull et al., 5616716 to Dull et al. и 5663356 to

Ruecroft et al, каждый из которых включен сюда по ссылке, касающейся указанной темы.

5                 Стехиометрия фармацевтически приемлемых солей формулы 1  
                может быть нескольких различных вариантов. Так, в некоторых  
                случаях молярное отношение кислоты к основанию составляет 1:1; в  
 10                 других случаях молярное отношение кислоты к основанию составляет  
                1:2; и еще в других случаях молярное отношение кислоты к  
 15                 основанию составляет 2:1. Возможны также другие  
                стехиометрические варианты.

Фармацевтически приемлемые соли могут быть в некоторых  
 20                 случаях гидратами или этанольными сольватами, которые также  
                можно использовать в соответствии с настоящим изобретением. Так,  
                в том смысле, как здесь использован термин "сольват", он  
 25                 включает сольваты соединений и сольваты солей соединений.  
                Метаболиты и пролекарства соединений, которые здесь раскрыты,  
 30                 также можно использовать в соответствии с настоящим  
                изобретением. Любые ссылки на соединение должны включать  
                признание того факта, что метаболит или пролекарство такого  
 35                 соединения также включены.

Термин "терапевтически эффективное количество" в том  
 40                 смысле, как здесь использован, относится к достаточному  
                количество соединения для лечения психиатрических расстройств,  
                особенно психотических расстройств, или состояний, при разумном  
 45                 соотношении риск-польза, применимом к любому способу  
                медицинского лечения.

В том смысле, как здесь использованы термины  
 50                 "предотвращение" или "профилактика", они включают любую степень

уменьшения развития или задержки возникновения заболевания, расстройства или состояния. Указанный термин включает создание 5 защитных эффектов против конкретного заболевания, расстройства или состояния, также как для облегчения рецидивов конкретного заболевания, расстройства или состояния. Так в качестве одного 10 из примеров в указанном изобретении предложен способ лечения субъекта, имеющего расстройство, опосредствованное NNR или 15 nAChR, или подверженного риску развития указанного расстройства, или испытывающего рецидив указанного расстройства. Соединения и фармацевтические композиции указанного изобретения можно 20 использовать для достижения благоприятного терапевтического или профилактического эффекта, например, у субъекта с дисфункцией ЦНС.

25

Термин "расстройство", если нет других указаний, имеет те же значения, что и термины "состояние" и "заболевание" и их 30 используют взаимозаменяемо в рассматриваемом описании и в формуле изобретения.

35 Термин "сигнергично" означает, что эффект от применения указанной комбинации превышает эффект от суммы двух индивидуальных агентов.

40 В рассматриваемом описании раскрыты комбинации, включающие  
 (a) некоторое количество первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha 7$  никотинового рецептора и  
 45 (b) некоторое количество второго терапевтического агента, который представляет собой антипсихотическое средство.

50 В описании раскрыты также комбинации агониста  $\alpha 7$  никотинового рецептора и антипсихотического средства, которые

можно использовать для одновременного, последовательного или раздельного лечения психотических расстройств, особенно 5 шизофрении. Более конкретно, композиции, включающие фармацевтическую комбинацию агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора и неканонического антипсихотического средства раскрыты как те, что 10 можно использовать для одновременного, последовательного или раздельного лечения указанного расстройства.

15 Указанное изобретение также относится к комбинации, в которой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой (2S,3R)-N-(2-(3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-иля)бензофuran-2-карбоксамид и атипичное антипсихотическое 20 средство представляет собой или клозапин или кветиапин, включая фармацевтически приемлемые соли или сольваты любого из указанных 25 агентов.

Второй аспект указанного изобретения относится к 30 фармацевтическим композициям, включающим комбинацию (a) некоторого количества первого терапевтического агента, который 35 представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, и (b) некоторого количества второго терапевтического агента, который представляет собой антипсихотическое средство, особенно 40 атипичное антипсихотическое средство, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

Третий аспект указанного изобретения относится к набору, 45 включающему единичную дозу смеси первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, и второго терапевтического агента, который 50 представляет собой антипсихотическое средство, и необязательно

инструкции по применению.

Четвертый аспект указанного изобретения относится к способу 5 лечения психиатрических расстройств, особенно психотических расстройств, таких как шизофрения, у нуждающегося в этом 10 субъекта, включающий введение одновременно, последовательно или раздельно 15 указанному субъекту (а) некоторого количества первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора; и (б) некоторого количества второго терапевтического агента, который представляет собой 20 антипсихотическое средство, где указанные количества (а) и (б) обеспечивают вместе синергическое эффективное лечение.

Следующий аспект относится к указанному способу, где (а) некоторое количество первого терапевтического агента, который 25 представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и (б) некоторое количество второго терапевтического агента, который 30 представляет собой антипсихотическое средство, вводят субъекту одновременно, последовательно или раздельно, в виде 35 фармацевтической композиции, дополнительно включающей фармацевтически приемлемый носитель, способом, который выбран из группы, состоящей из способов перорального, через слизистую, 40 чрезкожного, назального, через легкие, за щеку, парентерального, ректального и сублингвального введения. Следующий аспект 45 относится к указанному способу, в котором (а) некоторое количество первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, и (б) некоторое 50 количество второго терапевтического агента, который представляет собой антипсихотическое средство, вводят субъекту одновременно,

последовательно, или раздельно, в виде фармацевтической композиции, дополнительно включающей фармацевтически приемлемый носитель, способом который выбран из группы, состоящей из перорального, парентерального, через слизистую, а именно, сублингвально или за щеку введения, наружного, трансдермального ректального введения или введения путем ингаляции, а именно, назально или путем глубокой легочной ингаляции. Парентеральное введение включает, но ими не ограничивается, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, подкожное, интрадермальное, внутримышечное, интрапекальное введение или введение методом с использованием высокого давления.

Следующий аспект относится к перечисленным выше способам, где агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофuran-2-карбоксамид и атипичное антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин, включая фармацевтически приемлемые соли или сольваты любого из указанных агентов.

Следующий аспект относится к композициям и способам, включающим  $\alpha_7$  NNR агонисты, имея в виду высокое содержание сахара в крови, диабет, увеличение веса и/или дислипидемию, возникающие в результате введения антипсихотического средства. В конкретных вариантах указанные композиции и способы включают типичные или неканонические антипсихотические средства.

Связь между использованием антипсихотического средства и высоким содержанием сахара в крови, увеличением веса, дислипидемией и диабетом была хорошо задокументирована (American

Diabetes Association et al. (2004); Henderson, DC et al. (2005a); Koller and Doraiswamy (2002); Sernyak, MJ (2002)).

5 Изменения стиля жизни можно рекомендовать, чтобы отрегулировать содержание сахара в крови, вес и диабет, но отсутствие повиновения часто является проблемой психиатрических пациентов.

10 Иногда предпринимаются попытки заменять различные антипсихотические средства, но следует оценивать возможные

15 преимущества с необходимостью эффективного лечения психиатрического заболевания. Иногда прописывают амантадин,

метформин, сибутрамин и топирамат, чтобы компенсировать

20 воздействие антипсихотического средства на содержание сахара в крови и увеличение веса (Canitano, R (2005); Graham, KA et al.

25 (2005); Henderson, DC et al. (2005b); Klein, DJ et al. (2006)), но имеются сообщения о побочных эффектах. Использование агониста

30 NNR  $\alpha_7$  в качестве вспомогательной терапии при лечении антипсихотическим средством может быть адресовано к высокому содержанию сахара в крови, увеличению веса, дислипидемии и/или

35 диабету с улучшенным профилем побочных эффектов.

Существует серьезное доказательство того, что введение типичного или неканонического антипсихотического средства может

40 привести к высокому содержанию сахара в крови и диабету (American Diabetes Association et al. (2004); Henderson, DC et al. (2005a); Koller и Doraiswamy (2002); Sernyak, MJ (2002)).

45 Исследования авторов демонстрируют, что агонисты NNR  $\alpha_7$  (например, соединение B, как здесь раскрыто) эффективны в

50 моделях диабета. Поэтому, в одном аспекте указанного изобретения представлены преимущества введения агониста NNR  $\alpha_7$  в клиническую

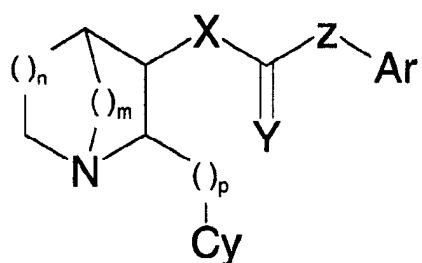
практику для противодействия вызванным антипсихотическим средством высокому содержанию сахара в крови, диабету, 5 увеличению веса, дислипидемии, связанным с диабетом симптомами, осложнениями, связанными с диабетом, или осложнениями, связанными с увеличением веса.

10 Один из аспектов настоящего изобретения включает одновременное введение агониста NNR  $\alpha 7$  с антипсихотическим средством пациенту, у которого наблюдается высокое содержание сахара в крови, диабет, увеличение веса, дислипидемия, связанные с диабетом симптомы, осложнения, связанные с диабетом, или 15 осложнения, связанные с увеличением веса, или введение агониста NNR  $\alpha 7$  для предотвращения указанных осложнений у пациента, 20 который принимает антипсихотическое средство.

25 Соединение В, агонист NNR  $\alpha 7$ , снижает содержание сахара в крови и увеличение веса у db/db мышей, модель диабета (см. 30 ФИГ.13 и 14).

#### **АГОНИСТЫ АЛЬФА 7 НИКОТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

35 Соединения которые можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой селективные лиганды  $\alpha 7$  NNR, и включают соединение, приведенное здесь в качестве 40 примера. Для ссылки, соединение А представляет собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамид и оно раскрыто в патенте США 6953855 и в заявках 45 США 11/157119, 11/458231 и 60/971654, каждая из которых включена сюда по ссылке, касающейся соединений и их синтеза, структуры 50 которых представлены формулой 1.



Формула 1

5

10

В формуле 1,  $n$  и  $m$  индивидуально могут принимать значения 1 или 2, и  $p$  может принимать значения 1, 2, 3 или 4. В указанной формуле  $X$  представляет собой или кислород или азот (т.е.,  $NR'$ ),  $Y$  представляет собой или кислород или серу, и  $Z$  представляет собой или азот (т.е.,  $NR'$ ), или ковалентную связь или линкер  $A$ .  $A$  выбирают из группы  $-CR' R''-$ ,  $-CR' R''-CR' R''-$ ,  $-CR'=CR'-$  и  $-C_2-$ , где  $R'$  и  $R''$  имеют указанные значения. Если  $Z$  представляет собой ковалентную связь или  $A$ ,  $X$  должен представлять собой азот.  $Ar$  представляет собой арильную группу, или карбоциклическую или гетероциклическую, или моноциклическую или конденсированную полициклическую, незамещенную или замещенную; и  $Cy$  представляет собой 5- или 6-членное гетероароматическое кольцо, незамещенное или замещенное. Так, указанное изобретение включает соединения, в которых  $Ar$  связан с азабициклом функциональностью, содержащей карбонильную группу, такой функциональностью, как амид, карбамат, мочевина, тиоамид, тиокарбамат или тиомочевина. Кроме того, в случае амидной и тиоамидной функциональности,  $Ar$  может быть связан непосредственно с карбонильной (или тиокарбонильной) группой или может быть связан с карбонильной (или тиокарбонильной) группой через линкер  $A$ . Кроме того, указанное изобретение включает соединения, содержащие 1-азабицикл, содержащий или 5-, 6- или 7-членное кольцо и содержащий всего 7,

8 или 9 кольцевых атомов (например, 1-азабицикло[2.2.1]гептан,  
 1-азабицикло[3.2.1]октан, 1-азабицикло[2.2.2]октан и 1-  
 5 азабицикло[3.2.2]нонан).

В одном варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пиридинил, X и Y представляют собой кислород, и Z представляет собой азот. В другом варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пиридинил, X и Z представляют собой азот, и Y представляет собой кислород. В третьем варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пиридинил, X представляет собой азот, Y представляет собой кислород и Z представляет собой ковалентную связь (между карбонилом и Ar). В четвертом варианте р представляет собой 1, Су представляет собой 3-пиридинил или 5-пиридинил, X представляет собой азот, Y представляет собой кислород, Z представляет собой A (линкер между карбонилом и Ar).

30 Соединения формулы 1 содержат один или более из  
 асимметричных атомов углерода, и поэтому могут существовать в  
 35 форме рацемических смесей, энантиомеров и диастереоизомеров.  
 Волнистые линии указывают на то, что в указанных сайтах может  
 существовать переменная, как относительная, так и абсолютная  
 40 стереохимия (например, цис или транс, R или S). Кроме того,  
 некоторые из соединений существуют как Е и Z изомеры  
 45 относительно углерод-углеродной двойной связи. Все такие  
 изомерные соединения и их смеси также включены в объем формулы  
 1.

50 Как использовано в формуле 1, Ar ("арил") включает как  
 карбоциклические так и гетероциклические ароматические кольца,

как моноциклические так и конденсированные полациклические кольца, в которых ароматические кольца могут быть 5- или 6-членными кольцами. Представительные моноциклические арильные группы включают, но ими не ограничиваются, фенил, фуразолил,

10 пирролил, тиенил, пиридинил, пириимидинил, оксазолил, изоксазолил, пиразолил, имидазолил, тиазолил, изотиазолил и т.п.

Конденсированные полициклические арильные группы представляют собой такие ароматические группы, которые включают 5- или 6-членное ароматическое или гетероароматическое кольцо как одно или более из колец в конденсированной кольцевой системе.

20 Представители конденсированных полициклических арильных групп включают нафталин, антрацен, индолизин, индол, изоиндол, бензофуран, бензотиофен, индазол, бензимидазол, бензтиазол, 25 пурин, хинолин, изохинолин, циннолин, фталазин, хиназолин, хиноксалин, 1,8-нафтиридин, птеридин, карбазол, акридин, 30 феназин, фенотиазин, феноксазин и азулен.

Как использовано в формуле 1, группы "Су" представляют собой 5- и 6-членные кольцевые гетероароматические группы. 35 Представительные Су группы включают пиридинил, пириимидинил, фуразолил, пирролил, тиенил, оксазолил, изоксазолил, пиразолил, имидазолил, тиазолил, изотиазолил и т.п., причем пиридинил является предпочтительным.

Индивидуально, Ar и Су могут быть незамещенными или могут 45 быть замещены 1, 2 или 3 заместителями, такими как алкил, алкенил, гетероциклик, циклоалкил, арил, замещенный арил, арилалкил, замещенный арилалкил, галоген (например, F, Cl, Br 50 или I), -OR', -NR'R'', -CF<sub>3</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -C<sub>2</sub>R', -SR', -N<sub>3</sub>, -

C(=O)NR'R'', -NR'C(=O)R'', -C(=O)R', -C(=O)OR', -OC(=O)R'', -  
 5 O(CR'R'')<sub>r</sub>C(=O)R', -O(CR'R'')<sub>r</sub>NR''C(=O)R', -O(CR'R'')<sub>r</sub>NR''SO<sub>2</sub>R', -  
 OC(=O)NR'R'', -NR'C(=O)OR'', -SO<sub>2</sub>R', -SO<sub>2</sub>NR'R'', и -NR'SO<sub>2</sub>R'', где  
 10 R' и R'' индивидуально представляют собой водород, алкил,  
 предпочитительно C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> алкил, предпочитительно C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> циклоалкил,  
 предпочитительно C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> гетероциклик, арил, или арилалкил,  
 предпочитально бензил.

15 Представительные соединения формулы 1 включают раскрытие  
 здесь конкретные соединения.

Что касается вышеуказанного перечисления представительных  
 20 соединений, то включены также соли или сольваты указанных  
 соединений.

25 Предпочтительный вариант формулы 1 представляет собой  
 (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-  
 ил)бензофуран-2-карбоксамид. Предпочтительные формы солей  
 30 (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-  
 ил)бензофуран-2-карбоксамида раскрыты в патентной заявке США  
 35 60/971654 и включают соли хлористоводородной кислоты, фосфорной  
 кислоты, малеиновой кислоты и пара-толуолсульфоновой кислоты  
 также как сольваты таких солей. Специалистам будет понятно, что  
 40 в свете рассматриваемого открытия любые никотиновые агонисты,  
 характеризующиеся свойством связывания по α<sup>7</sup>NNR, можно  
 использовать в раскрытиях здесь указанных комбинациях,  
 45 фармацевтических композициях, способах и наборах.

### **АНТИПСИХОТИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ**

50 Соединения, которые можно использовать в соответствии с  
 настоящим изобретением, представляют собой антипсихотические

средства, как традиционные, так и неканонические.

Примеры обычных антипсихотических средств включают, но ими 5 не ограничиваются, хлорпромазир, галоперидол, флуепентиксол и перфеназин, также как их соли или сольваты.

Примеры неканонических антипсихотических средств включают, 10 но ими не ограничиваются, клозапин, рисперидон, оланзапин, кветиапин, арипипразол, зипразидон, амисульприд, сульприд, 15 зотепин, сертиндол, палиперидон, бифепрунокс и азенапин, также как их соли или сольваты.

Предпочтительные антипсихотические средства представляют 20 собой клозапин и кветиапин, также как их соли или сольваты.

Подходящие фармацевтически приемлемые соли раскрытых здесь 25 антипсихотических соединений включают соли присоединения кислот, которые могут, например, быть образованы путем смешивания раствора соединения в соответствии с указанным изобретением с 30 раствором фармацевтически приемлемой кислоты. Кроме того, если соединения содержат кислотный фрагмент, их подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли щелочных 35 металлов, такие как соли натрия или калия, соли щелочно-земельных металлов, такие как соли кальция или магния, и соли, 40 образованные подходящими органическими основаниями, такие как четвертичные соли аммония.

### **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ**

45 Фармацевтические композиции настоящего изобретения включают комбинацию (а) некоторого количества первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового 50 рецептора и (б) некоторого количества второго терапевтического

агента, который представляет собой антипсихотическое средство, вместе с фармацевтически приемлемым транспортным средством, носителем или разбавителем.

В одном варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой нетипичный антипсихотический агент.

В другом варианте, агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

В другом варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой  $(2S,3R)$ -N-((2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамилд, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой атипичное антипсихотическое средство.

В другом варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой  $(2S,3R)$ -N-((2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамилд, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин, или их фармацевтически приемлемую соль или сольват.

Раскрытие здесь активные ингредиенты композиции можно совместно вводить одновременно или их можно вводить раздельно или последовательно в любом порядке, или в виде единой

фармацевтической композиции.

Раскрытие здесь указанные комбинации можно вводить

5 стандартным способом введения для лечения психиатрических расстройств, особенно психотических расстройств, например, перорально, парентерально, через слизистую (например,

10 сублингвально или за щеку), наружно, трансдермально, ректально или путем ингаляции, например, назально или путем глубокой легочной ингаляции. Парентеральное введение включает, но ими не ограничивается, внутривенное, внутриартериальное,

15 внутрибрюшинное, подкожное, внутримышечное, интракраниальное или с помощью методики высокого давления. Для введения за щеку указанная композиция может быть в форме таблеток или пастилок,

20 полученных обычными способами. Например, таблетки и капсулы для перорального введения могут содержать один или более из обычных носителей, таких как связующие агенты, такие как сироп, акация,

25 желатин, сорбит, трагакант, слизь крахмала или поливинилпирролидона, наполнители, такие как, лактоза, сахар,

30 микрокристаллическая целлюлоза, кукурузный крахмал, фосфат кальция или сорбит, смазывающие агенты, такие как стеарат магния, стеариновая кислота, тальк, полиэтиленгликоль или

35 двуокись кремния, разрыхлители, такие как картофельный крахмал или натрийкрахмалгликоллат, или смачивающие агенты, такие как натрийлаурилсульфат. На таблетки может быть нанесено покрытие в

40 соответствии с известными специалистам способами.

45

Такие препараты могут быть также приготовлены в виде

50 суппозиториев для ректального введение с одним или более из носителей, а именно, содержащие обычные основания для

суппозиториев, такие как масло какао или другие глицериды.

Композиции для ингаляции обычно приготавливают в форме растворов, суспензий или эмульсий, которые можно вводить в виде сухого порошка или в виде аэрозолей, используя обычные носители, такие как пропелланты, такие как дихлордифторметан или трихлорфторметан. Типичные композиции для наружного или чрезкожного введения могут включать обычные водные или не водные носители, такие как глазные капли, кремы, мази, лосьоны и пасты, или могут быть в виде лекарственных пластырей, повязок или мембран.

Дополнительно раскрытие здесь композиции могут быть приготовлены для парентерального введения путем инъекций или непрерывных вливаний. Композиции для инъекций могут быть в виде суспензий, растворов или эмульсий в масляных или водных носителях и могут содержать композиционные агенты, такие как суппенсирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. Альтернативно, активный ингредиент может быть в виде порошка для смешивания его перед употреблением с подходящим носителем (например, стерильной, не содержащей пирогена водой).

Композиция настоящего изобретения также может быть приготовлена в виде депо-препарата. Такие композиции длительного действия можно вводить путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или путем внутримышечной инъекции. Соответственно, соединения настоящего изобретения могут быть приготовлены с подходящими полимерными или гидрофобными материалами (например, в виде эмульсии в подходящем масле), ионообменными смолами или слаборастворимыми производными

(например, слаборастворимыми солями). Для перорального введения фармацевтические композиции могут быть в форме растворов, 5 супспензий, таблеток, пилюль, капсул, порошков и т.п. Таблетки, содержащие различные фармацевтически приемлемые носители, а 10 именно эксципиенты, такие как цитрат натрия, карбонат кальция и фосфат кальция используют вместе с различными разрыхлителями, 15 такими как крахмал, например картофельный крахмал или крахмал из тапиоки, и некоторыми комплексными силикатами, вместе со связующими агентами, такими как поливинилпирролидон, сахароза, 20 желатин и акация. Дополнительно, смазывающие агенты, такие как стеарат магния, натрийлаурилсульфат и тальк можно использовать для получения таблеток. Твердые композиции аналогичного типа 25 используют также в качестве наполнителей в мягкие и твердые желатиновые капсулы; примеры материалов в этой связи могут также включать лактозу или молочный сахар, также как высокомолекулярные полиэтиленгликоли. Альтернативно, раскрытие 30 здесь композиция могут быть включены в жидкое препараты для перорального введения, например такие, как водные или масляные 35 супспензии, растворы, эмульсии, сиропы или эликсиры. Кроме того, композиции, содержащие указанные соединения, могут быть в виде 40 сухого продукта, предназначенного для растворения в воде или в другом подходящем носителе перед применением. Такие жидкые 45 препараты могут содержать обычные носители, такие как супспендирующие агенты, например сироп сорбита, синтетические или природные смолы, такие как трагакант, акация, альгинат, 50 декстран, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, поливинилпирролидон или желатин, глюкозо/сахарный сироп,

желатин, гидроксиэтилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гель стеарата алюминия, эмульгирующие агенты, такие как лецитин, 5 сорбитанмоноолеат или акация; не водные носители (которые могут включать съедобные масла), такие как миндальное масло, фракционированное кокосовое масло, сложные эфиры масел, 10 пропиленгликоль и этиловый спирт; и консерванты, такие как метил или пропил р-гидроксибензоат и сорбиновая кислота. Жидкие формы, 15 в которые могут быть включены раскрытые здесь композиции для перорального введение или для инъекций включают водные растворы, сиропы с соответствующими вкусовыми добавками, водные или 20 масляные суспензии и эмульсии со съедобными маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, также как эликсиры и аналогичные фармацевтические 25 носители. Если для перорального введения желательны водные суспензии и эликсиры, раскрытые здесь соединения можно комбинировать с различными подслащающими агентами, вкусовыми 30 агентами, подкрашивающими агентами, эмульгирующими агентами и/или суспендирующими агентами, также как с такими разбавителями 35 как вода, этанол, пропиленгликоль, глицерин и их различные комбинации. Подходящие диспергирующие или суспендирующие агенты 40 для водных суспензий могут включать синтетические и природные смолы, такие как трагакант, акация, альгинат, декстрин, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, 45 метилцеллюлоза, поливинилпирролидон или желатин.

Раскрытые здесь комбинации можно также вводить в виде 50 композиций с контролируемым выделением, таких как композиции с замедленным выделением, композиции с быстрым или немедленным

выделением, или композиции с запаздывающим, регулируемым или модифицированным выделением. Такие раскрытые здесь композиции с 5 регулируемым выделением указанных комбинаций можно получить, используя известные специалистам способы. Способ введения должен определять лечащий врач или другой специалист в этой области 10 после оценки состояния и требований пациента.

## НАБОР

15 Наборы настоящего изобретения включают единичные дозовые смеси первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, и второго 20 терапевтического агента, который представляет собой антипсихотическое средство, необязательно вместе с инструкцией по применению. В одном варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового 25 рецептора представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое 30 средство представляет собой атипичное антипсихотическое средство. В другом варианте, агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора 35 представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин, или их 40 фармацевтически приемлемые соли или сольваты. В другом варианте, агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран- 45 2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой атипичное антипсихотическое средство. В другом варианте, агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой (2S,3R)-N-(2-((3-

50

пиридинил) метил) -1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил) бензофуран-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемую соль или 5 сольват, и антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин, или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

10

### **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ**

Указанное изобретение включает способы лечения 15 психиатрических расстройств, особенно психотических расстройств, у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение указанному субъекту одновременно, последовательно или раздельно (a) некоторого количества первого терапевтического агента, который 20 представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и (b) некоторое количество второго терапевтического агента, который 25 представляет собой антипсихотическое средство, где количества (a) и (b) вместе оказывают синергический эффект при лечении.

30 Один вариант относится к способу лечения психотических расстройств у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту одновременно, последовательно или раздельно 35 (a) некоторого количества первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и (b) некоторого количества второго терапевтического агента, 40 который представляет собой антипсихотическое средство, где количества (a) и (b) вместе обеспечивают синергический эффект 45 при лечении.

В одном варианте психотическое расстройство или состояние 50 выбирают из группы состоящей из шизофрении, шизофеноформного расстройства, шизоаффективного расстройства, бредового

расстройства, кратковременного психотического расстройства, общего психотического расстройства, не поддающегося лечению 5 психотического расстройства, психотических расстройств, связанных с общим медицинским состоянием, и психотического расстройства не определенного каким-либо другим образом. В 10 другом варианте, агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую 15 соль, сольват или сольват его соли, и антипсихотическое средство выбирают из группы, состоящей из клозапина, рисперидона, оланзапина, кветиапина, арипипразола, зипразидона, амисульприда, 20 сульприда, зотепина, сертиндола, палиперидона, бифепрунокса и азенапина или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов или 25 сольватов их солей.

Другой вариант относится к способу лечения шизофрении у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному 30 субъекту одновременно, последовательно или раздельно (a) некоторого количества первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и (b) некоторого количества второго терапевтического агента, который 35 представляет собой антипсихотическое средство, где количества (a) и (b) вместе осуществляют синергический эффект при лечении. 40 В другом варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой соединение формулы 1, или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или сольват его соли, и антипсихотическое средство 45 выбирают из группы, состоящей из клозапина, рисперидона, оланзапина, кветиапина, арипипразола, зипразидона, амисульприда, 50 сульприда, зотепина, сертиндола, палиперидона, бифепрунокса и

азенапина или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов или сольватов их солей. В предпочтительном варианте агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора представляет собой  $(2S,3R)$ - $N$ -(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамид, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и антипсихотическое средство представляет собой или клозапин или кветиапин, или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты. Другой вариант настоящего изобретения относится к использованию указанной комбинации, включающей (a) некоторое количество первого терапевтического агента, который представляет собой агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора, и (b) некоторое количество второго терапевтического агента, который представляет собой антипсихотическое средство, для получения лекарственного средства для лечения одновременно, последовательно или раздельно психиатрических расстройств, особенно психотических расстройств.

Что касается синергического эффекта, как здесь раскрыто, настоящее изобретение представляет собой комбинацию агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора и антипсихотического агента. Считают, что представленная комбинация обеспечивает синергический эффект при лечении или профилактике познавательной дисфункции. В качестве одного из примеров, симптомы, связанные с шизофренией, подразделяют на три категории: позитивные, а именно галлюцинации, мании и расстройство мышления; негативные, а именно ангедония, скучность речи и отсутствие мотивации; и когнитивные, а именно внимание, память и организационная функция. Исследования, проведенные в последнее десятилетие, подтверждают предположение о том, что кроме  $\alpha_4\beta_2$  NNR,  $\alpha_7$  подтип

обладает высоким потенциалом в качестве терапевтической мишени в отношении когнитивного дефицита, также как в отношении позитивных симптомов шизофрении. Начало такого направления исследований в значительной степени связано с эпидемиологическими сообщениями, свидетельствующими о повышенном количестве курильщиков среди шизофреников по сравнению с общей популяцией, и предполагающими попытку самолечения с помощью никотина. В качестве дополнительной поддержки были начаты многочисленные дополнительные исследования для выяснения потенциала и механизмов лежащих в основе лечения шизофрении, включающего модуляцию  $\alpha 7$  рецептора.

Что касается психологической перспективы, то некоторые исследования продемонстрировали участие  $\alpha 7$  рецепторов в различных механизмах проводящий путей, которые как известно, играют роль в этиологии и симптоматологии шизофрении. Например, посмертные исследования тканей мозга пациентов больных шизофренией демонстрируют заметное уменьшение количества  $\alpha 7$  NNR в гиппокампе и коре головного мозга. Указанные рецепторы расположены в гиппокампе, латеральном и медиальном коленчатых ядрах, и сеткообразных ядрах таламуса, и считают, что они модулируют выделение нейротрансмиттеров, включая глутамат, GABA<sub>A</sub> и допамин, участвующие в формировании LTP, сенсорного процессинга, и нейропротекции. Дефицит сенсорного ингибирования и семейная шизофрения были связаны с 15q13-q14 участком на хромосоме 15. CHRNA7, ген для  $\alpha 7$  NNR, расположен в этом участке и также был идентифицирован полиморфизм в промоторном участке указанного гена. Таким образом хорошо подтверждается возможность

того, что  $\alpha 7$  механизмы играют роль в шизофрении.

Дальнейшие исследования функциональных последствий модуляции  $\alpha 7$  NNR в *in vivo* моделях на животных обеспечили дополнительное подтверждение их терапевтического потенциала в лечении шизофрении. Большинство пациентов с шизофренией демонстрирует ухудшение познавательной способности. Когнитивный дефицит при шизофрении включает нарушения внимания, медленный процесс переработки информации, расстройства рабочей памяти и дефицит организационной функции. Недавние согласительные встречи (MATRICS/TURNS initiative) определили когнитивный дефицит при шизофрении (CDS) как основную особенность заболевания, которая вносит значительный вклад в недостаточность функциональных возможностей пациентов. Учитывая необходимость выбора терапии для лечения когнитивного дефицита и доказательства роли  $\alpha 7$  при шизофрении, участники MATRICS инициативы также рекомендовали  $\alpha 7$  подтип в качестве основной терапевтической мишени при CDS.

Доклиническое тестирование с использованием многочисленных  $\alpha 7$  лигандов, продемонстрировало перспективу целенаправленных исследований указанного рецептора. Например, GTS-21, функционально селективный  $\alpha 7$  агонист, проявляет эффективность в некоторых поведенческих моделях обучения и памяти, включая пассивное избегание у пораженных крыс, активное избегание у взрослых крыс, состояние мигания у взрослых кроликов, и замедленное выполнение задач у не человеческих приматов. DBA/2 мыши, *fimbria-fornix* пораженные крысы и выращенные в изоляции крысы демонстрируют дефицит сенсорного процессинга аналогичный тому, который наблюдается у шизофреников. GTS-21 уменьшает

дефицит служевой синхронизации в указанных моделях на животных, и другие  $\alpha 7$ -селективные соединения демонстрируют эффективность в 5 моделях сенсорной синхронизации. И, наконец, *in vivo* вливание MLA,  $\alpha 7$ -селективного антагониста, вентральный гиппокамп или базолатеральную мозжечковую миндалину вызывает значительный 10 дефицит рабочей памяти у крыс, что наблюдается при задачах с лабиринтом с радиальными коридорами, указывая на необходимость 15  $\alpha 7$  рецепторов в процессе памяти.

Хотя лечение CDS является понятным объектом для новых 20 антипсихотических терапий, преимущество лигандов, направленных на  $\alpha 7$  NNR, состоит в том, что они, по-видимому, также эффективны в плане улучшения некоторых из позитивных симптомов шизофрении. Более конкретно, неселективный агонист никотинового рецептора, 25 никотин, уменьшает дефекты при шизофрении, такие как дефицит сенсорной синхронизации и аномальности плавного движения 30 следящего глаза. Было показано, что  $\alpha 7$  селективный агонист уменьшает PPI дефицит у выращенных в изоляции крыс, классической модели для антипсихотических средств. Другой пример, AR-R17779, 35 другой  $\alpha 7$  селективный агонист, уменьшает вызванный скополамином дефицит общественного признания и улучшает долговременное 40 обучение и уменьшает дефицит рабочей памяти у крыс. Было показано, что  $\alpha 7$  селективный агонист SSR180711A является 45 эффективным в парадигмах распознавания объекта для длительной и кратковременной эпизодической памяти и в моделях водного лабиринта Морриса для сравнения и рабочей памяти, позволяя 50 предположить, что  $\alpha 7$  селективные соединения могут также потенциально лечить когнитивный дефицит заболевания. Недавно,

было предпринято исследование для подтверждения концепции шизофрении с применением агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора 5 DMXB-A (также известного как GTS-21). Наблюдались значительные улучшения комбинированного полного коэффициента в повторяемой батарее тестов по оценке нейропсихологического статуса и в 10 ингибировании P50. Позитивные эффекты указанного соединения в клинике поддерживают непрерывную разработку селективных  $\alpha_7$  15 агонистов для когнитивного дефицита при шизофрении и потенциально для позитивных симптомов заболевания.

20

25

30

35

40

45

50

WONG AHC, VAN TOL HHM: Schizophrenia: from  
 5 phenomenology to neurobiology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* (2003) **27**: 269-306; LEONARD  
 S, ADLER LE, BENHAMMOU K et al.: Smoking and mental illness. *Pharmacol. Biochem.  
 Behav.* (2001) **70**: 561-570; FREEDMAN F, HALL M, ADLER LE, LEONARD S: Evidence in  
 postmortem brain tissue for decreased numbers of hippocampal nicotinic receptors in  
 10 schizophrenia. *Biol. Psychiatry* (1995) **38**: 22-33; GUAN ZZ, ZHANG X, BLENNW K et al.:  
 Decreased protein level of nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 7$  subunit in the frontal cortex  
 from schizophrenic brain. *NeuroReport* (1999) **10**: 1779-1782; BREESE CR, ADAMS C,  
 LOGEL J et al.: Comparison of the regional expression of nicotinic acetylcholine receptor  
 15 alpha7 mRNA and [<sup>125</sup>I]-alpha-bungarotoxin binding in human postmortem brain. *J. Comp.  
 Neurol.* (1997) **387**: 385-398; MANSVELDER HD, MCGEHEE DS: Long-term potentiation of  
 excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* (2000) **27**: 349-357; EGEA J,  
 ROSA AO, SOBRADO M, GANDIA L, LOPEZ MG, GARCIA AG: Neuroprotection afforded  
 20 by nicotine against oxygen and glucose deprivation in hippocampal slices is lost in alpha7  
 nicotinic receptor knockout mice. *Neuroscience* (2007) **145**: 866-872; LEONARD S,  
 FREEDMAN R: Genetics of Chromosome 15q13-q14 in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry*  
 25 (2006) **60**: 115-122; WALKER E, KESTLER L, BOLLINI A, HOCHMAN KM: Schizophrenia:  
 Etiology and course. *Annu. Rev. Psychol.* (2004) **55**: 401-430; FENTON WS, STOVER EL,  
 INSEL TR: Breaking the log-jam in treatment development for cognition in schizophrenia:  
 NIMH perspective. *Psychopharmacology* (2003) **169**: 365-366; MEYER EM, DE FIEBRE  
 30 DM, HUNTER BE, SIMPKINS CE, FRAUWORTH N, DE FIEBRE NE: Effects of anabaseine  
 related analogs on rat brain nicotinic receptor binding and on avoidance behaviors. *Drug  
 Dev. Res.* (1994) **31**: 127-134; ARENDASH GW, SENGSTOCK GJ, SANBERG PR, KEM  
 WR: Improved learning and memory in aged rats with chronic administration of nicotinic  
 35 receptor agonist GTS-21. *Brain Res.* (1995) **674**: 252-259; WOODRUFF-PAK DS, LI YT,  
 KAZMI A, KEM WR: Nicotinic cholinergic system involvement in eyeblink classical  
 conditioning in rabbits. *Behav. Neurosci.* (1994) **108**: 486-493; BRIGGS CA, ANDERSON  
 DJ, BRIONI JD et al.: Functional characterization of a novel neuronal nicotinic acetylcholine  
 receptor ligand GTS-21 *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* (1997) **57**: 231-  
 40 241; SIMOSKY JK, STEVENS KE, KEM WR, FREEDMAN R: Intragastric DMXB-A, an  
 alpha7 nicotinic agonist, improves deficient sensory inhibition in DBA/2 mice. *Biol. Psychiatr.*  
 (2001) **50**: 493-500; HURST RS, HAJÓS M, RAGGENBASS M et al.: A novel positive  
 allosteric modulator of the  $\alpha 7$  neuronal nicotinic acetylcholine receptor: *in vitro* and *in vivo*  
 45 characterization. *J. Neurosci.* (2005) **25**: 4396-4405; HAJÓS M, HURST RS, HOFFMANN  
 WE et al.: The selective  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor agonist PNU-282987 [N-[(3R)-1-  
 azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-4-chlorobenzamide hydrochloride] enhances GABAergic synaptic

45

50

activity in brain slices and restores auditory gating deficits in anesthetized rats. *JPET* (2005) 312: 1213-1222; BETTANY JH, LEVIN ED: Ventral hippocampal alpha 7 nicotinic receptor blockade and chronic nicotine effects on memory performance in the radial-arm maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* (2001) 70: 467-474; ADDY NA, NAKIJAMA A, LEVIN ED: Nicotinic mechanisms of memory: effects of acute local DhbetaE and MLA infusions in the basolateral amygdala. *Brain Res. Cogn. Brain Res.* (2003) 16: 51-57; ADLER LE, OLINCY A, WALDO MC et al.: Schizophrenia, sensory gating and nicotinic receptors. *Schizophr. Bull.* (1998) 24: 189-202; ROSS RG, OLINCY A, HARRIS JG et al.: Anticipatory saccades during smooth pursuit eye movements and familial transmission of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* (1998) 44: 690-697; CILIA J, CLUDERAY JE, ROBBINS MJ et al.: Reversal of isolation-rearing-induced PPI deficits by an  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist. *Psychopharmacology* (2005) 182: 214-219; VAN KAMPEN M, SELBACH K, SCHNEIDER R, SCHIEGEL E, BOESS F, SCHREIBER R: AR-R 17779 improves social recognition in rats by activation of nicotinic  $\alpha 7$  receptors. *Psychopharmacology* (2004) 172: 375-383; LEVIN ED, BETTEGOWDA C, BLOSSER J, GORDON J: AR-R 17779, an  $\alpha 7$  nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behav. Pharmacol.* (1999) 10: 675-680; PICHAUT P, BERGIS OE, TERRANOVA JP et al.: SSR180711A, a novel selective  $\alpha 7$  nicotinic receptor partial agonist.

III. Effects in models predictive of therapeutic activity on cognitive symptoms of schizophrenia. *Soc. Neurosci. Abstr.* (2004) 34: 583.3; BERGIS OE, PICHAUT P, SANTAMARIA R et al.: SSR180711A, a novel selective  $\alpha 7$  nicotinic receptor partial agonist.

II. Effects in models predictive of therapeutic activity on cognitive symptoms of Alzheimer's disease. *Soc. Neurosci. Abstr.* (2004) 34: 583.2; and OLINCY A, HARRIS JG, JOHNSON LL et al.: Proof-of-concept trial of an  $\alpha 7$  nicotinic agonist in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* (2006) 63: 630-638

### ДОЗЫ

Эффективная доза агониста  $\alpha 7$  никотинового рецептора и антилекарственного агента в указанной комбинации в соответствии с настоящим изобретением может меняться в зависимости от различных факторов, таких как состояние пациента, тяжесть симптомов расстройства, также как от эффективности выбранного конкретного соединения, способа введения, возраста и веса пациента и т.п.

Типично, эффективная доза никотиновых агонистов обычно требует введения соединения в количестве менее чем 5 мг/кг веса пациента. Часто никотиновые агонисты вводят в количестве от менее чем около 1 мг/кг веса пациента до менее чем около 100

мкг/кг веса пациента, и иногда между около 10 мкг/кг и менее чем 100 мкг/кг веса пациента. Вышеуказанные эффективные дозы обычно 5 представляют собой количество, вводимое в виде одной дозы, или в виде одной или более из доз, вводимых в течение 24 часов.

Для пациентов-людей, эффективная доза никотиновых агонистов 10 обычно требует введения никотинового агониста в количестве, по меньшей мере, 1, часто, по меньшей мере, около 10, и часто, по 15 меньшей мере, около 25 мг/24 часа/пациента. Для пациентов-людей, эффективная доза никотиновых агонистов обычно требует введения никотинового агониста в количестве, которое обычно не превышает 20 около 500, часто не превышает около 400, и часто не превышает около 300 мг/24 часа/пациента. Кроме того, введение эффективной 25 дозы таково, что концентрация никотинового агониста в плазме пациента обычно не превышает 500 нг/мл, и часто не превышает 100 нг/мл.

Конкретную композицию, способ введения и дозы должен 30 выбирать конкретный врач с учетом состояния пациента. Количество доз и интервал введения можно подобрать индивидуально, чтобы 35 обеспечить такие уровни содержания активного фрагмента в плазме, которых окажется достаточно для поддержания терапевтического 40 эффекта. Эффективная доза антипсихотического средства меняется в зависимости от природы антипсихотического средства.

Если кветиапин выбирают в качестве антипсихотического 45 агента, желательно, чтобы дневная доза указанной комбинации содержала от около 1 мг до около 1200 мг. Предпочтительно, чтобы 50 каждая из доз первого компонента содержала от около 25 мг до около 1000 мг кветиапина, и еще более предпочтительно, чтобы

каждая из доз первого компонента содержала от около 150 мг до  
около 800 мг или от 300 мг до около 800 мг или от 400 мг до  
5 около 800 мг кветиапина. В другом варианте первый компонент  
содержит около 150-300 или 300-600 мг кветиапина. Педиатрические  
дозы могут быть меньшими, такими как, например, в интервале от  
10 около 0,5 мг до около 40 мг ежедневно. Указанные дозы можно  
вводить в виде одной, двух или более доз при пероральном  
15 введении, например: кветиапин: от около 1,0 до около 40 мг/кг  
один раз в день или в разделенных дозах.

#### **ПРИМЕРЫ**

20 Комплекс патологий мозга, наблюдавшихся у больных  
шизофренией, включает допаминовую (DA) нейрональную гипоплазию,  
25 сопровождающуюся гиперактивностью подкорковых DA систем и  
пониженной функцией корковых DA. Общепринятая допаминовая  
гипотеза возникновения шизофрении (SZ) считает позитивные  
30 симптомы расстройства (галлюцинации, мании и ухудшенная сенсорная  
синхронизация) связанными с гиперактивностью подкорковых  
допаминергических систем, тогда как негативные симптомы  
35 (притупленный аффект, социальная самоизоляция) вызываются  
гипоактивностью допамина в предлобной коре головного мозга.  
40 Механизм, за счет которого подкорковый DA проводящий путь  
является гиперактивным, и корковый DA проводящий путь является  
гипоактивным при шизофрении и каким образом указанные изменения  
45 вызывают поведенческие симптомы, не совсем понятен. Кроме того,  
патогенез шизофрении по-видимому является результатом  
50 многофакторного, связанного с развитием нервной системы  
психического расстройства, включающего другие нейрональные

системы (т.е., нейроны серотонина, корковые и гиппокампальные нейроны) помимо аномального развития и нейротрансмиссии в DA системах. Взаимосвязь между DA и другими затронутыми системами и их объединенным вкладом в комплексные клинические симптомы до сих пор не была установлена, частично из за недостатка в адекватных экспериментальных моделях, которые имитировали бы многофакторное развитие и связанный с ним функциональный дефицит, что наблюдается при SZ.

В последнее время были найдены многочисленные генетические связи для указанных расстройств, включая факторы, которые влияют на развитие нервной системы за счет циклических AMP, МАРК сигнальных проводящих путей, транскрипционных со-активаторных комплексов и эпигенетических механизмов.

Однако попытки создания животных генетических моделей, путем введения отдельных мутаций лабораторным животным до сих пор не реплицировали комплекса нейрональных и поведенческих симптомов типичных для SZ.

Недавно, были описаны изменения в FGF-2 и его рецепторе, FGF рецептор1 (FGFR1), в мозге SZ. Учитывая известную роль FGF в развитии, можно предположить, что ухудшение FGF передачи сигнала может лежать в основе аномального развития мозга и функций, связанных с SZ. Исследования авторов привели к открытию локуса интегративной ядерной FGFR1 сигнальной системы (Integrative Nuclear FGFR1 Signaling (INFS)), который интегрирует несколько различных проводящих путей, в которых, как сообщалось, существуют связанные с SZ мутации. INFS связывает их с активацией транскрипционного со-активаторного RNA Pol II и с

ремоделированием хроматина. Это приводит к разрушению в интегративной FGFR сигнальной системе как общего патологического механизма для различных связанных с SZ генетических дефектов.

Была создана уникальная животная модель, которая показывает, что такое разрушение, направленное на развивающиеся DA нейроны, приводит к расстройству, которое включает как аспекты развития 10 нервной системы, так и клинические позитивные и негативные симптомы SZ, которые можно лечить антишизофреническими 15 лекарствами. У *th(tk-)/th(tk-)* мышей ослабление FGFR сигнальной системы специфически в DA нейронах приводит к DA нейронной 20 гипоплазии, которая аналогична SZ и сопровождается гиперактивностью подкорковой DA и гипоактивностью корковой DA 25 систем.

Помимо сходства с заболеваниями человека, указанные 25 изменения связаны с ухудшенной сенсорной синхронизацией 30 [скорректированной типичными антипсихотическим лекарственным средством (TAPD)], что по-видимому лежит в основе позитивных SZ 35 симптомов, и с ухудшными социальными взаимодействиями, которые служат примером негативных симптомов.

Важно, что указанный поведенческий дефицит, по-видимому, 40 развивается постепенно на ранних стадиях взрослой жизни, что наблюдается у людей больных SZ. Исследования авторов показывают, что DA нейрональная гипоплазия приводит к перестройке других 45 нейрональных систем, что приводит к переключению в мультитрансмиттерах мозга сходному с предполагаемым при SZ. У *th(tk-)/th(tk-)* мышей развивается серотонинергическая 50 гипериннервация как черного вещества, так и вентральных

тегментальных участков DA нейрональных центров. Такое серотонинергическое переключение вносит вклад в дефицит 5 сенсорной синхронизации, социальных взаимодействий и когнитивных способностей, которые корректируются неканоническими антипсихотическими 10 лекарственными средствами (AAPD), направленными на 5HT-2A рецепторы. Аналогично SZ и согласно с установленной ролью DA нейронов в развитии других нейрональных 15 систем, *th(tk-)/th(tk-)* мыши демонстрируют гипоплазию и нарушение функций как корковых, так и гиппокампальных нейронов.

Известно, что все пораженные системы экспрессируют альфа7 20 никотиновые рецепторы и как позитивные, так и негативные симптомы у *th(tk-)/th(tk-)* мышей корректируются агонистами альфа7 никотиновых рецепторов, новым классом антипсихотических 25 лекарственных средств. Наоборот, ни антагонисты 5HT-2A ни никотиновые агонисты не влияют на поведение нормальных мышей.

Следовательно, "переключенный мозг" *th(tk-)/th(tk-)* мышей 30 представляет собой уникальную модель для создания и тестирования антипсихотических агентов.

В итоге, модель *th(tk-)/th(tk-)* мышей не только 35 предоставляет экспериментальную базу для разработки DA гипотезы SZ, но также связывает ее с альтернативной гипотезой, которая 40 фокусируется на других нейрональных системах, которые являются важными при SZ. Полученные результаты предлагают новый взгляд на 45 комплексную мультинейротрансмиттерную этиологию и симптоматологию SZ и предлагают новые терапевтические мишени.

Патогенез шизофрении SZ, по-видимому, является результатом 50 многофакторного нарушения функций развивающейся нервной системы

также как и ненормальной допаминергической трансмиссии. Каким образом эти два дефицита могут быть связаны, до сих пор не установлено. В соответствии с DA гипотезой SZ позитивные симптомы шизофрении (галлюцинации, мании и ухудшенная сенсорная синхронизация) связаны с гиперактивностью подкорковой 10 допаминергической системы (систем), тогда как негативные симптомы (притупленный аффект, социальная самоизоляция) вызваны DA гипоактивностью в предлобной коре головного мозга. Это 15 подтверждается исследованиями человеческих PET, демонстрирующими, что у нейролептических- "наивных" SZ пациентов способность пресинаптического синтеза DA и стимулированное 20 амфетамином выделение DA в полосатое тело повышены, что предполагает разрегулирование и гиперчувствительность 25 допаминергических нейронов черного вещества, тогда как функции DA нейронов, которые иннервируют предлобную кору головного мозга, по-видимому, ослаблены.

Клеточные тела указанных DA нейронов расположены в мезэнцефальном тегментуме, главным образом, в черном веществе 35 (SNC; группа клеток A9) и в более медиальном вентральном тегментальном участке (VTA; A10 группа клеток). Хотя A9 SNC до 40 A10 VTA составляют континuum, проекции которого перекрываются в нескольких концевых участках, SNC преимущественно иннервирует дорсальное полосатое тело, образуя систему черного тела, и VTA 45 нейроны проецируются или на прилегающие ядра (NAc) (мезолимбическая система) или на предлобную кору головного мозга 50 (PFC) (мезокортикальная система). У пациентов-людей больных SZ и с родственным синдромом Аспергера, было обнаружено уменьшение

мидсагиттального диаметра среднего мозга, и наблюдается корреляция с тяжестью симптомов также как с экспонированием нейролептикам. У SZ пациентов не подвергавшихся лечению нейролептиками наблюдается значительное уменьшение объема SN участка (-21%), причем средний объем нервных клеток понижен у SNC (-15%) и VTA (-17%). Напротив, увеличение полосатого тела у SZ, по-видимому, вызвано лечением антипсихотическими средствами.

Каким образом гипоплазия DA нейронов может парадоксально привести к гипертрансмиссии DA в подкорковый базальный ганглий и к конкурентной гипотрансмиссии в лобную кору головного мозга остается неизвестным.

Хотя большинство, если не все, нейролептические лекарственные средства имеют характеристики блокатора DA рецептора 2 (D2), традиционное антипсихотическое средство (TAPD) не способно вылечить все клинические дефекты SZ и вызывает неприемлемо высокое число экстрапирамидальных синдромов (EPS). Позднее введенные неканонические антипсихотические средства (AAPD) часто отличаются более высокой терапевтической эффективностью в отношении более широкого круга клинического SZ дефицита, включая позитивные, также как негативные симптомы, и отличаются гораздо меньшей склонностью к EPS. Это может быть связано с воздействием на нейротрансмиттерные системы как DA, так и серотонина (5HT). Лекарственные средства, которые эффективно лечат симптомы SZ, как считают, уменьшают нейротрансмиссию DA в участки мозга, в которых он гиперактивен, и повышают нейротрансмиссию DA в участки мозга, в которых он гипоактивен. Однако, каким образом антагонисты 5-HT рецепторов

проявляют свои терапевтические эффекты, достаточно не выяснено.

Кроме того, изменения в других системах (кортикальные и

5 гиппокампальные нейроны) могут также вносить свой вклад в

симптомы SZ, и таким образом также могут представлять собой цели

для терапевтических агентов. Кроме того, были разработаны новые

10 категории лекарственных средств, агонисты никотиновых

рецепторов, которые могут быть самыми эффективными из всех при

лечении SZ. В соответствии с высокой частотой (1 %) заболеваний

15 SZ в общей популяции, были выдвинуты предположения о

многочисленных генетических связях для указанного расстройства.

20 Особый интерес представляют белки, которые могут влиять на

развитие нейронов за счет изменений в циклических AMP ферментах,

25 MAPK сигнальных проводящих путях и транскрипции со-активаторных

комплексов. Кроме того, было предположено, что эпигенетические

механизмы (модификации DNA и хроматина) вносят вклад в сложные

30 схемы наследственности и этиологии SZ. Недавно были раскрыты

изменения FGF 2 и его рецепторов FGFR1 в мозге у SZ и биполярных

пациентов, и нейролептические способы лечения демонстрируют

35 повышение FGF-2 экспрессии, что позволяет предположить, что

нарушенная FGF сигнализация может лежать в основе аномального

развития мозга и функций, связанных с указанными расстройствами.

40 Интегративная ядерная FGF рецептор 1 (FGFR1) сигнальная система,

или INFS, объединяет несколько различных проводящих путей, в

45 которых, как сообщается, наблюдаются связанные с SZ мутации,

связывает их с активацией транскрипционного со-активаторного RNA

Pol II и с перестройкой хроматина, и играет важную роль в

50 нейрональном развитии. Один общий патологический механизм для

различных генетических дефектов, связанных с SZ, представляет собой нарушение в интегративной FGFR сигнальной системе. Были созданы *th(tk-)/th(tk-)* мыши для экспрессии FGFR1, лишенных тирозинкиназы.

Генетическая конструкция моделей животных, используемых в 10 указанном способе, раскрыта у Klejbor, et al. (J Neurochem 2006, 97, (5), 1243-58, включено сюда по ссылке) и здесь указанные 15 модели именуют как "*th(tk-)/th(tk-)*" мыши. *Th(tk)/th(tk-)* мыши созданы для экспрессии FGFR1 с исключенной тирозинкиназой.

FGFRI (TK-) блокирует ядерные FGFR1 от активации CBP<sub>1</sub> RNA Pol 20 II и ацетилирования по гистону и предотвращает активацию генов, нейрональную дифференциацию и рост за счет cAMP и других 25 сигналов. Кроме того, FGFRI (TK-) могут димеризоваться с плазменными мембранными FGF рецепторами и инактивировать их, тем самым влияя на ERK и Akt сигнальные системы также вовлеченные в 30 SZ25. Экспрессия доминанто негативных FGFRI (TK-) направлена на создание постмитотических катехоламиновых нейронов за счет крысиного промотора гена тирозингидроксилазы (TH) (4,5 kb). 35 Возникновение указанной промоторной активности по E17 в дифференциации нейронов среднего мозга и в региональных участках 40 мозга специфически близко имитирует активность эндогенных TH генов. Используя стандартные процедуры, получают мышей, которые передают FGFRI (TK-) ген своему потомству. FGFRI (TK-) белок 45 определяется в стволовой части мозга и в иссеченной SN. Мало или совсем не определяется FGFRI (TK-) в концевом мозге (кора головного мозга и полосатое тело) и в другом мозге существуют 50 участки, которые не экспрессируют, или экспрессируют низкие

уровни TH (не показано).

Не существует значительных различий в весах тел и мозга у 5 контрольных и  $th(tk)/th(tk-)$  мышей. Кроме того, не обнаружено видимых изменений в общей анатомии мозга у  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей.

10 DA нейроны:

У  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей ослабление FGFR сигнальной системы 15 приводит к уменьшению плотности и размера SNC DA нейронов, которые образуют допаминергическую проекцию нигростриatalьной системы, также как к гипоплазии VTA DA нейронов. Это 20 демонстрируют, используя беспристрастные стереологические оценки TH-IR нейрональной плотности в SNC и VTA ядрах. Было обнаружено 25 статистически значимое уменьшение плотности TH-IR нейронов в SNC (-34%) и в VTA в постнатальный день 1  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей. Изменения в SNC но не в VTA сохранялись в течение жизни. 30 Осуществлялись стереологические измерения, которые показали, что средний размер TH-IR сомы у новорожденных (PD 0)  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей был понижен как у SNC (-37%), так и VTA (-20%) по 35 сравнению с контрольными мышами. TH-IR нейроны оставались меньше у взрослых (PD 360)  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей (-15% у SNC и -11% у 40 VTA).

Пониженная плотность DA транспортеров в полосатом теле далее демонстрирует ухудшенное развитие нигростриatalьной DA 45 системы. Парадоксально, что  $th(tk-)/th(tk-)$  мыши имеют повышенные уровни DA, гомованилиновой кислоты и 3-метокситирамина в полосатом теле, что свидетельствует об 50 избыточной DA трансмиссии. Указанные структурные и биохимические

изменения в DA нейронах аналогичны тем, о которых сообщается для пациентов-людей больных шизофренией.

5        Серотониновые нейроны:

Хотя DA, по-видимому, является основным нейротрансмиттером в SF, серотонин может играть значительную роль в этиологии 10 указанного заболевания. Было выдвинуто предположение, что SF субъекты, которые реагируют на клозапин, могут демонстрировать 15 избыточную серотонинергическую активность, хотя природа таких потенциальных изменений была неизвестна.

Для того, чтобы определить, существуют ли изменения 5-HT 20 систем у *th(tk-)/th(tk-)* трансгенной SZ модели, участки мозга иссекают и анализируют на присутствие 5-HT и его метаболита, 5- 25 гидроксииндолуксусной кислоты, (5-HIAA), с помощью ВЭЖХ-ECD у взрослых контрольных и гомозиготных *th(tk-)/th(tk)* мышей. Анализировали те участки, в которых содержатся как DA, так и 30 5-HT системы, и включают как концевые участки (полосатое тело, лобная кора головного мозга, прилежащее ядро, гипоталамус) так и 35 сомальный источник (VTA, SNC, дорсальные серотонинергические нейроны ядер шва в мозге) указанных двух нейротрансмиттерных систем. Уровни 5HT в полосатом теле, прилежащем ядре, лобной 40 коре головного мозга и гипоталамусе не имели заметных различий у 45 контрольных и *th(tk-)/th(tk-)* мышей. Тем не менее, в SN, уровни 5-HT у трансгенных мышей демонстрируют приблизительно 70%, статистически значимое повышение по сравнению с уровнями у 50 контрольных мышей. Аналогичная тенденция наблюдается в VTA, и сопровождается статистически значимым повышением уровней 5-HIAA. В противоположность ядрам среднего мозга, в участке шва моста

как 5HT, так и 5-HIAA уровни у th(tk-)/th(tk-) мышей были значительно снижены по сравнению с уровнями у контрольных мышей.

Для выяснения клеточных механизмов, лежащих в основе наблюдаемых 5HT/5HIAA изменений вентральном среднем мозге, используют анти-5-HT иммуногистохимический метод. Он выявил позитивно окрашенные волокна и точки вентральном среднем мозге как у контрольных, так и у th(tk-)/th(tk-) мышей. Исследованные структуры включают: вентральную тегментальную зону (VTA) и черное вещество (SN) его подразделы: интерфасцикулярные ядра (IF), парабрахиальные пигментные ядра (PBP), паранигравльные ядра PN, ростральные линейные мостовые ядра (RLi); компактные и сетчатые участки черного вещества (SNC и SNR, соответственно). Вообще, все подвиды ядер VTA содержат 5-HT иммунореактивные волокна, но общий вид и плотности указанных волокон отличаются. В IF ядрах наблюдается плотная сетка варикозных, коротких волокон маленького диаметра. Стереологический анализ не выявил значительных различий в плотности 5-HT-ir волокон в IF между контрольными и th(tk-)/th(tk-) мышами.

В PBP ядрах наблюдается нерегулярная сетка 5-HT-ir волокон. Некоторые из указанных волокон относительно длинны и расположены параллельно друг другу вдоль ядер. Кроме того, у th(tk-)/th(tk-) но не у контрольных мышей, обнаружены длинные гладкие (тонкие) волокна без признаков варикоза. Количествоанальный анализ демонстрирует, что полная плотность 5-HT-ir волокон в PBP ядрах в два раза выше у th(tk-)/th(tk-) мышей чем у контрольных мышей ( $p<0,00001$ ).

В PN присутствуют многочисленные 5-HT-ir точки и плотная

сеть 5-HT-ir волокон. Длинные волокна с многочисленными мелкими признаками варикоза, направленные вдоль ядер превалируют у обеих исследованных групп животных. Кроме того, у трансгенных мышей указанные ядра демонстрируют группу волокон, которых нет у контрольных мышей. Они представляют собой длинные, гладкие, тонкие волокна без признаков варикоза и ориентированы вертикально. Количественный анализ показывает, что полная плотность 5HT-ir волокон в PN ядрах приблизительно в 1,5 раза выше у th(tk-)/th(tk-) мышей, чем у контрольных мышей ( $p<0,005$ ).

В RII найдены отдельные 5-HT-ir волокна, расположенные вертикально. RII содержат относительно небольшое число 5-HT-ir точек. Не обнаружено различий во внешнем виде указанных элементов между контрольными и th(tk-)/th(tk-) мышами. Также качественный анализ не демонстрирует заметных различий в плотностях волокон у контрольных и трансгенных мышей.

В pars compacta участке черного вещества видны как 5-HT-ir волокна, так и точки. Не обнаружено заметных различий в плотностях 5-HT-ir волокон в SNC между контрольными и th(tk-)/th(tk-) мышами. При сравнении с SNC, SNr демонстрирует значительно более высокую плотность 5-HT-ir волокон для обеих групп мышей. Указанные волокна простираются в различных направлениях. Данные SNr количественного анализа демонстрируют значительное (на 68%) увеличение плотности 5-HT-ir волокон у трансгенных животных.

Таким образом, количественные анатомические анализы демонстрируют тот факт, что у th(tk-)/th(tk-) мышей значительно большее число 5-HT волокон в PN и PVP ядрах VTA, которые

проектируются главным образом, на предлобную кору головного мозга и прилежащее ядро, также как и внутри SNr участка, при сравнении с контрольными мышами. У *th(tk-)/th(tk-)* мышей гипериннервация серотонинергических аксонов образует плотные сетки 5-НТ-иммунореактивных волокон, с множественными признаками варикоза, причем некоторые имеют форму, отличающуюся от формы, наблюдаваемой у контрольных мышей. Инвазия 5-НТ концов поддерживается повышенными уровнями 5-НТ вentralных участках среднего мозга *th(tk-)/th(tk-)* мышей.

Ни 5НТ ни 5НIAA не содержат повышенного числа DA нейронов в концевых областях: полосатое тело, прилежащее ядро или лобная кора головного мозга. Таким образом, на DA нейроны может действовать повышенный 5-НТ тонус в ядрах среднего мозга, скорее чем косвенно за счет регулирования серотонина телэнцефалических проекций на вентральный тегментум. Ни индуцированные 6-гидроксидопамином поражения DA нейронов у взрослых крыс, ни утрата SN DA нейронов, вызванная FGFR1 (TK-) трансфекцией в мозге взрослых крыс (неопубликованные наблюдения) не приводит к серотонинергической гипериннервации полосатого тела или вентрального среднего мозга, соответственно. Так, серотонинергическая гипериннервация SN и VTA у *th(tk-)/th(tk-)* мышей может представлять собой развивающуюся реакцию на гипоплазию DA нейронов в указанных участках мозга.

#### Гиппокампальные и предлобные/лобные корковые нейроны

Сообщалось, что у SZ пациентов наблюдается разрушение коркового слоя и уменьшенные размеры корковых и гиппокампальных нейронов. В соответствии с указанными сообщениями у *th(tk-*

) /th(tk-) мышей двойное окрашивание нейрон-специфическими NeuN антителами и DAPI (ДНК) выявило повышенную плотность 5 нейрональной сомы в пирамидальном и гранулярном гиппокампальном слоях и разрушение корковых слоев в лобной/предлобной лимбической коре головного мозга.

10 Анатомические и нейрохимические характеристики th(tk- ) /th(tk-) мышей и их корреляция с патологией SZ можно 15 суммировать следующим образом:

20 1. Th(tk-)/th(tk-) мыши характеризуются недоразвитой и гиперфункциональной DA нейрональной иннервацией в базальном ганглии. Напротив, DA проекции на лобную кору головного мозга могут быть гипофункциональными;

25 2. Указанная недоразвитость DA нейронов оказывает вторичный эффект на развитие серотониновых нейронов, вызывая 30 серотонинергическую гипериннервацию гипопластических DA нейронов;

35 3. Нейрональный порок развития в предлобной коре головного мозга (разрушение слоя, нейрональное замещение и недостаток) у th(tk-)/th(tk-) мышей сходны с корковыми изменениями, которые наблюдаются у людей больных SZ. Указанные корковые изменения, 40 по-видимому, являются вторичными относительно изменений в DA нейронах. Это согласуется с ролью DA как фактора, регулирующего нейрогенез. Это также поддерживает гипотезу о том, что DA 45 нейрональная гипоплазия влияет на развитие других нейрональных систем и создает аномальную схему мозга как предполагается для SF; и

50 4. Изменения в трансмиссии DA приводят к омоложению.

Поведенческие дефициты у мышей сходны с позитивным, негативным и когнитивным дефицитом у SZ. Позитивные симптомы SZ типифицируются на галюцинации, мании и связанные дефициты сенсорной синхронизации. Преимпульсное ингибиование (PPI), как мера сенсорно-двигательной синхронизации и процесса переработки информации, относится к ослаблению стартовой реакции слабыми стимулами (опережающий импульс), который появляется незадолго до появления стимулов реакции испуга (Vollenweider F.X., et al., Biol. Psychiatr. 2006, 60, 597-603, что включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы).

Дефицит ингибиования опережающего импульса (PPI) наблюдается у SZ (31, 32). Как TAPD, так и AAPD улучшают PPI (Kumari V, Sharma T; Psychopharmacology 2002, 162, 97-101, обзор, включен сюда по ссылке, касающейся указанной темы). Последние исследования позволяют предположить, что AAPD может превосходить TAPD в плане нормализации дефицита PPI у SZ по сравнению со здоровыми контролями (Kumari et al., 1999 from Vollenweider). По сравнению с контролем  $th(tk-)/th(tk-)$  мыши характеризуются ослабленным ингибиением опережающего импульса и усиленными стартовыми реакциями. Указанные изменения постепенно развиваются между 1 и 4 месяцами жизни, и остаются стабильными, по меньшей мере, до возраста 14 месяцев.

Кроме ухудшенной сенсорной синхронизации и связанных галлюцинации и мании, SZ характеризуется негативными симптомами (притупленный аффект, социальная самоизоляция), которые обычно более устойчивы по отношению к фармакологическому лечению. Указанные симптомы были успешно смоделированы на генетически

измененных животных. Для определения того, демонстрируют ли *th(tk-)/th(tk-)* мыши негативо-подобные симптомы, наблюдают их 5 социальное и асоциальное исследовательское поведение.

Существует заметное различие в исследовательском поведении между контрольными и *th(tk-)/th(tk-)* животными. Контрольные мыши 10 дикого типа тратят значительно больше времени ( $p<0,05$ ), исследуя животные стимулы в виде самцов и самок нежели это делают *th(tk-)/th(tk-)* мыши. Другие оценки исследовательского поведения 15 (например, аногенитальные исследования) демонстрируют то же самое. Напротив, не наблюдается различий между контрольными и 20 трансгенерными мышами в асоциальном поведении, самоочищении. В 25 тесте открытого поля, ТК-мыши перемещаются на гораздо большее расстояние как в периферической, так и в центральной зонах, нежели мыши дикого типа.

SZ также характеризуется ухудшением познавательной способности, что обычно устойчиво в отношении фармакологического 30 лечения. Наличие возможных когнитивных симптомов у *th(tk)/th(tk-)* мышей анализируют, используя тесты "радиальный лабиринт" и 35 "распознавание объекта".

В экспериментах с радиальным лабиринтом *th(tk-)/th(tk-)* животные совершают больше ошибок и тратят больше времени, чтобы 40 найти корм в дни тестирования 1 и 2 (различия оказались статистически значимыми). В день тестирования 3 генотипических 45 различий не наблюдается. Это указывает на то, что существует дефицит у *th(tk)/th(tk-)* в обучении, памяти, или и в том и в другом. Указанный дефицит согласуется с проблемой рабочей 50 памяти.

В тесте по распознаванию объекта th(tk-)/th(tk-) животные ведут себя иначе, чем WT животные. th(tk-)/th(tk) мыши тратят аналогичное количество времени, исследуя знакомые и новые объекты, тогда как WT мыши тратят значительно больше времени, исследуя новый объект. Одно из объяснений состоит в том, что th(tk-)/th(tk-) мыши не помнят, какой объект является новым, и какой является знакомым.

При сравнении с SZ, th(tk-)/th(tk-) мышь является уникальной моделью, которая имитирует комплекс нейронального развития, структурных и функциональных характеристик ("позитивные", "негативные" и "ухудшения" познавательной способности" симптомы SZ у человека и связи с ними, но вносят вклад в "DA гипотезу шизофрении". Указанная модель предлагает новое и уникальное проникновение в природу болезней человека и может обеспечить новые стратегии лечения.

Ослабленное ингибиование опережающего импульса у th(tk-)/th(tk-) мышей нормализуют путем обработки TAPD (антагонист DA рецептора), флуепентиксолом, в дозах, которые не влияют на стартовую амплитуду. Полученные PPI результаты анализируют, используя трехфакторный смешанный дисперсионный анализ ANOVA для группы [FGFR1 (TK-), контроль] как между различными субъектами и интенсивностью стимула (pp4, pp8 и pp16) и дозой лекарства (солевой раствор, 0,25, 0,5 и 1,0 мг/кг), так и между различными субъектами. Указанный анализ выявил заметное взаимодействие двух факторов между дозой и группой ( $F_3, 72=3,11, P<0,05$ ) и заметное взаимодействие трех факторов между дозой, группой и интенсивностью стимула ( $F_6, 72=2,85, P<0,05$ ). Существует

заметное взаимодействие между группой и интенсивностью стимулов ( $F_{2,14}=14,93$ ,  $P<0,01$ ). Прослеживая результаты  $t$ -тестов для 5 каждой из трех интенсивностей стимулов, можно выявить заметное снижение PPI при каждой из трех интенсивностей стимулов (pp<sub>4</sub>= $P<0,1$ ; pp<sub>8</sub>= $P<,05$ ; и pp<sub>16</sub>= $P<0,01$ ) в th(tk-)/th(tk-) группе. 10 Двухфакторный ANOVA с дозой и интенсивностью стимулов в качестве факторов выявил заметное влияние дозы на th(tk-)/th(tk-) мышей 15 (F<sub>3,42</sub>=29,92,  $P<0,01$ ) но эффекта дозы не выявлено для контрольной группы. Все три дозы флуепентиксола повышают PPI у th(tk-)/th(tk-) мышей при всех трех интенсивностях стимулов 20 ( $P<0,01$ ).

Что касается стартовой реакции, то наблюдается заметный 25 эффект как группы ( $F_{1,11}=21,76$ ,  $P<0,01$ ), так и дозы (F<sub>3,33</sub>=3,99,  $P<0.05$ ) у th(tk-)/th(tk-) мышей. Изучение результатов  $t$ -тестов показывает, что по сравнению с солевым раствором стартовая 30 реакция снижается за счет флуепентиксола при дозе 1,0 мг/кг флуепентиксола как у th(tk-)/th(tk-) мышей, так и у контрольных мышей. Хотя DA, по-видимому, является основным 35 нейротрансмиттером при SZ, серотонин может играть заметную роль в этиологии указанного заболевания. Клоzapин и родственные 40 неканонические антипсихотические лекарственные средства (AAPD) обладают высоким сродством в отношении 5HT<sub>2A</sub> и снижают 45 уровни 5HT в мозге. Высокое содержание 5HT<sub>2A</sub> за счет AAPD связано с их благоприятными эффектами при антипсихотическом лечении. Напротив, не наблюдается связи между антипсихотической 50 эффективностью AAPD и содержанием D2.

Schmidt et al (1993) указывают, что 5HT<sub>2A</sub> антагонизм может

обладать корректирующим действием на ухудшение сенсорной синхронизации, и что те шизофреники, которые реагируют на 5 клозапин, демонстрируют избыточную серотонинергическую активность. Указанная гипотеза согласуется с результатами, 10 полученными для пациентов, у которых были обнаружены некоторые начальные признаки повышенного центрального серотонинового тонуса, и вероятно связанного с клинической эффективностью AAPD 15 (Kasper et al., 1999; Martin et al., 1998; Wandenberg et al., 2001; каждый из которых включен сюда по ссылке). 5-HT нейроны существующие в ядрах дорсального шва (DR) и в основных ядрах шва 20 (MnR) иннервируют DA терминальный участок (например, предлобную кору головного мозга и полосатое тело) также как структуры 25 среднего мозга, включая VTA и SN, где они осуществляют синаптический контакт с DA и не допаминергическими нейронами.

Учитывая инвазию SN и VTA за счет серотонинергических 30 нейрональных терминалов у th(tk-)/th(tk-) мышей, анализируют эфекты AAPD (клозапин и кветиапин) и специфического антагониста 35 5-HT2A (M 100907).

Клозапин в дозе 3 мг/кг не оказывает влияния ни на PPI, ни 40 на стартовую реакцию. Напротив, в высокой дозе (6 мг/кг), клозапин заметно повышает PPI как у контрольных, так и у 45 трансгенных мышей, и снижает стартовую реакцию у трансгенных мышей. Не обнаружено никакого заметного взаимодействия генотип x лекарственное средство ни для одной из доз клозапина или любой 50 интенсивности опережающего импульса внутри каждой из доз, что указывает на то, что лечение клозапином оказывает аналогичный эффект на PPI как для контрольных, так и для th(tk-)/th(tk-)

мышей, хотя наблюдается заметное снижение PPI у трансгенных мышей по сравнению с соответствующей контрольной группой для каждой из интенсивностей опережающего импульса для каждой из доз. Полученные результаты согласуются с обнаружением того факта, что AAPD клозапин также повышает PPI у здоровых индивидуумов способом, сравнимым с тем, что наблюдается у SZ пациентов. PPI для трансгенной 6 мг/кг клозапина группы не отличается от PPI для контрольной группы с носителем (*t*-тест: pp4; pp8; pp16=p>0,05, NS), демонстрируя способность клозапина нормализовать PPI у трансгенных мышей. Аналогичная нормализация наблюдается для стартовой реакции.

У  $th(tk-)/th(tk-)$  мышей кветиапин нормализует пониженный PPI в дозе 7,0 мг/кг ( $p<0,001$ ), тогда как при более низких дозах эффект не наблюдается. У контрольных мышей не наблюдается заметного основного эффекта кветиапина ни при одной исследованной дозе. У трансгенных мышей наблюдается заметное снижение стартовой реакции по сравнению с группой, которой вводили солевой раствор, при всех дозах кветиапина ( $p<0,05$ ). Напротив, не наблюдается основного эффекта кветиапина на стартовую реакцию при любой из доз для контрольных мышей. Для того, чтобы убедиться в том, что эффекты AAPD могут специфически отражать ингибиование серотониновых рецепторов, был протестирован специфический антагонист 5-HT2A, M100907. M100907 не оказывает эффекта ни при одной из доз на PPI или стартовую реакцию у контрольных мышей. Группа трансгенных мышей с низкой дозой (0,01 мг/кг) M100907 демонстрирует заметно более низкие значения PPI нежели контрольная группа с низкой дозой,

аналогично различию, наблюдаемому для группы, обработанной носителем. Не наблюдается заметного различия между трансгенной и контрольной группами ни при средней (0,1 мг/кг) ни при высокой дозе (1 мг/кг), и при высокой дозе наблюдается заметное взаимодействие лекарственное средство x генотип, указывая на то, что M100907 в дозе 1,0 мг/кг, предпочтительно, повышает PPI у трансгенных мышей. Введении средней и высокой дозы M100907 приводит к повышению PPI у трансгенных мышей по сравнению с группой, которой вводят носитель. Хотя нет заметного различия между контролльной и трансгенной группами при любой из доз M100907, наблюдается заметное снижение стартовой реакции для обработанных трансгенных групп, по сравнению с группой, обработанной носителем.

Два из характерных негативных симптомов SZ представляют собой отсутствие социальных взаимодействий и притупленный аффект. M100907 заметно повышает промежуток времени, который ТК-мыши проводят, исследуя стимулирующего животного, но не оказывает влияния на время исследования животными дикого типа. В противоположность социальной самоизоляции, обработка лекарственным средством не оказывает влияния на поведение самоочищения и перемещение в открытом поле.

Полученные результаты указывают на то, что th(tk-)/th(tk-) мыши демонстрируют поведение, которое аналогично негативным симптомам SZ. Социальное исследование уменьшается у th(tk-)/th(tk-) мышей, но обработка M100907 приводит к уменьшению указанного дефицита. M100907 не оказывает воздействия на мышей дикого типа, позволяя предположить, что серотонинергическая

система функционально различается у дикого типа и у *th(tk-)/th(tk-)* мышей. У пациентов больных SZ, дефицит социального поведения нельзя уменьшить традиционными антипсихотическими средствами и они не восприимчивы к лечению многими неканоническими антипсихотическими средствами. Наблюдение того факта, что M100907 уменьшает социальный дефицит у *th(tk-)/th(tk-)* мышей, не влияя на социальное исследование у мышей дикого типа, позволяет предположить, что лекарственные средства, которые направлены на receptor 5-HT2A, могут облегчать симптомы SZ пациентов, не затрагивая социальное поведение у не-SZ популяции.

Облегчающий эффект M100907 в отношении социального исследования, по-видимому, является относительно специфическим, так как на асоциальное поведение, такое как процесс самоочищения и перемещение в teste открытого поля, указанное лекарственное средство не оказывает влияния.

*th(tk-)/th(tk-)* мыши обеспечивают экспериментальную базу для 5HT гипотезы SZ, которая предполагает, что хорошая реакция на AAPD (антагонисты 5HT2A) зависит от повышенной центральной серотонинергической активности, и что эффективность таких лекарственных средств коррелирует со степенью повышения серотонинергического тонуса. Не получающие лекарств параноидальные шизофреники на ранней стадии заболевания, на которой они хорошо реагируют на селективные антагонисты 5HT2A, обладают повышенным центральным серотониновым тонусом, вызванным повышенной индуцированной фенфлурамином реакцией пролактина и более высокими уровнями 5HIAA в CSF, чем у контрольных субъектов (Bartfai et al., 1984; Rimon et al., 1971) (Abel et al., 1996;

каждый из которых включен сюда по ссылке, касающейся указанной темы). У шизофреников прогнозирующим параметром благоприятной реакции на клозапин является низкое CSF отношение HVA/5HIAA, более высокий обмен 5HT по сравнению с DA (Pickar et al., 1994; Szymanski et al., 1993; каждый из которых включен сюда по ссылке, касающейся указанной темы). Благоприятную реакцию на клозапин можно всегда предсказать параноидным SZ (Fenton и Lee 1993) подтипов заболеваний, связанным с повышенными уровнями 5HIAA в мозге (Hanson et al., (1994), включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы).

Одна из гипотез, касающейся того, каким образом гипотеза серотонинергической гипериннервации влияет на функции DA нейронов и поведение th(tk-)/th(tk-) мышей, состоит в том, что гипериннервация 5HT стимулирует DA нейроны в SN и ингибирует VA за счет воздействия через 5HT2A рецепторы.

Как было показано, ухудшение PPI и усиленная реакция испуга у th(tk-)/th(tk-) мышей отражают гиперактивность DA нейронов. Так, один механизм, за счет которого 5-HT гипериннервация SN и VTA могут ухудшить сенсорную синхронизацию, может включать 5-HT сверхактивацию DA нейронов, которые иннервируют подкорковые мишени. Напротив, негативные симптомы могут отражать гипофункцию DA в любой части коры головного мозга. Известно, что 5-HT обладает противоположными эффектами воздействия на DA нейроны в SN (преимущественно активаторными) и в VTA (преимущественно ингибиторными). Так, блокировка 5-HT2A рецепторов может нормализовать функции DA как в подкорковой, так и в корковой DA системах.

На серотонинергическую активность может оказывать влияние активность DA нейронов как в SN, так и в VTA. И у крыс и у людей 5-HT2A рецепторы локализованы в SN и в VTA, обеспечивая механизм, за счет которого M100907 может воздействовать на DA нейроны. Так как лекарственное средство оказывает действие 10 только на th(tk)/th(tk-) мышей, роль 5-HT2A рецептора в нормальном поведении может быть слабо выраженной. Однако, в том 15 состоянии, когда наблюдается серотонинергическая гипериннервация, как в случае th(tk-)/th(tk-) мышей, лекарственное средство является эффективным в плане изменения в 20 обратную сторону поведенческих изменений, связанных с указанной гипериннервацией. Аналогичная ситуация, по-видимому, существует 25 в человеческом SZ мозге, где наблюдаются как DA нейрональная гипоплазия (которая у мышей запускает серотонинергическую 30 гипериннервацию), так и сверхпродуцирование серотонина.

## МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

Трансгенные th(tk-)/th(tk-) мыши описаны Klejbor et al., 2006, что включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы. 35 Указанные мыши созданы путем введения гибридного гена, состоящего из крысиного TH промотора (4,5 kb) гибридизованного с FGFR1 (TK-), расположенного последовательно с FGFR1 (TK-), SV40 сайта донор-акцепторного сплайсинга и SV40 poly(A), 40 последовательно в прямом направлении (всего 6,5-kb). Потомства скринируют на присутствие трансгена, используя ПЦР амплификацию 45 хвостовой ДНК в течение 30 циклов. Смысловой (GCCAAGACAGTGAAGTTCAAATGC) и антисмысловой 50 (GTAATACTGACTCACTATAGGGC) ПЦР праймеры комплементарны с

трансгенными участками (Klejbor et al., 2006). Все трансгенные и контрольные мыши, использованные в раскрытиях далее 5 экспериментах, представляют собой самцов и самок F2 смешанного генетического фона BCF1 (C57BL/10J/C3H/HeJ). Взрослых мышей (гомозиготных, гетерозиготных или дикого типа) содержат при 10 циклическом световом режиме свет : темнота = 12 : 12 час (свет 1200 час) при свободном доступе к корму и воде. Все 15 поведенческие и анатомические процедуры осуществляют в соответствии с руководством NIH (NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) и с разрешением от университета в Буффало 20 (University at Buffalo IACUC). Были предприняты все попытки с целью минимизировать стрессы животных и уменьшить число мышей, 25 используемых в поведенческих и анатомических экспериментах.

Клизапин (RBI/Sigma St. Louis, MO) и кветиапин (AstraZeneca) растворяют в 5 мкл 20% уксусной кислоты/мл 0,9% 30 солевого раствора. M100907 (K. Rice), растворяют в буферированном фосфатом 0,9% NaCl. Лекарственные дозы рассчитывают как свободное основание.

Соединения А и В (Targacept Inc; Winston Salem, NC) и 35 флупентиксол (RBI/Sigma St. Louis, MO) растворяют в буферированном фосфатом 0,9% NaCl. Лекарственные дозы 40 рассчитывают как свободное основание.

Лекарство или носитель вводят с помощью подкожной инъекции 45 внутрибрюшинно за 30 минут до поведенческого тестирования. Все инъекции вводят в объеме 100-200 мкл/30 г веса тела.

#### Поведенческие эксперименты

##### А. PPI и реакция испуга:

Устройство: реактивность вздрагивания измеряют, используя две камеры (SR-LAB, San Diego Instruments, San Diego, CA).

5 Каждая из камер состоит из прозрачного неограничивающего плексигласового цилиндра, расположенного на платформе внутри вентилируемого короба. Высокочастотный громкоговоритель внутри 10 камеры производит как непрерывный фоновый шум мощностью 68 децибел, так и импульс испуга мощностью 120 децибел. Колебания 15 плексигласового цилиндра, вызываемые реакцией всего тела на испуг, преобразуют в аналоговые сигналы с помощью пьезоэлектрического устройства, присоединенного к платформе.

20 Сессия доимпульсного ингибиования (PPI): Все сессии PPI теста состоят из теста испуга (только импульс), доимпульсного теста (доимпульс + импульс) и нестимулируемого теста (без стимула). Тест с только импульсом состоит из импульса длительностью 40 мсек и мощностью 120 децибел широкополосного 25 шума. PPI измеряют в тестах доимпульс + импульс, которые состоят из 20 мсек фонового преимпульса, 100 мсек задержки, затем 40 мсек импульс испуга мощностью 120 децибел (120 мсек импульс, 120 мсек интервал между импульсами). Интенсивности акустического 30 доимпульса соответствовали превышению фонового шума в 68 децибел на 4, 8 и 16 децибел (т.е., 72, 76 и 84 децибел). Тест без 35 стимула состоял только из фонового шума. Сессия тестирования начинается и заканчивается пятью презентациями теста только импульс; между ними каждый из акустических или без стимула 40 тестов проводят 10 раз в произвольном порядке. Интервал между 45 тестами в среднем составляет 15 сек (интервал 12-30 секунд). Для 50 исследования лекарственных средств мышей помещают в камеры для

испытания испуга через 30 минут после каждой из инъекций, и фоновый шум мощностью 68 децибел создают в течение 10 минутного периода акклиматизации, причем этот шум сохраняется на протяжении всей сессии.

Величину PPI рассчитывают как процент для каждого из тестов типов акустического опережающего импульса: % PPI = 100 { [(стартовая реакция для опережающий импульс + импульс) / (стартовая реакция только для импульса)] × 100 }. Величину акустической стартовой реакции рассчитывают как среднюю реакцию на все тесты с одним только импульсом, исключая первый и последний блоки из пяти представленных тестов с одним только импульсом.

Процедура: Для всех групп PPI тестируют дважды в неделю, причем, по меньшей мере, два дня разделяют дни тестирования для всех доз лекарственных средств. Каждую неделю мышам вводят инъекцию носителя перед одной из тестовых сессий, и лекарственное средство вводят для второй тестовой сессии. Величину PPI и реакции испуга в дни теста с носителем исследуют для определения того, изменяются ли указанные величины при повторном тестировании. Так как при повторном тестировании не выявилось никаких изменений, для анализа используют среднюю величину для сессий тестов с носителем и лекарственным средством (для каждой дозы). Каждую неделю меняют порядок введения солевого раствора/без инъекции и инъекции лекарственного средства. Результаты для группы без инъекций получают перед введением какой-либо обработки. Количество животных, используемых для тестирования каждого из лекарственных средств

различно, и это указано в разделе результаты. Во всех экспериментах возраст тестируемых мышей составлял от 5 до 12 5 месяцев, и осуществлялось одинаковое гендерное распределение внутри каждого из генотипов.

Статистика: Результаты PPI анализируют, используя трех-  
10 факторный смешанный ANOVA для группы [FGFR1 (TK-), контроль] как между субъектами и интенсивностью опережающего импульса (pp)  
15 (pp4, pp8 и pp16) и дозой лекарственного средства, как и внутри субъектов. Для определения того, существуют ли различия между группами без обработки лекарственным средством, результаты без 20 инъекции с солевым раствором анализируют, используя смешанный двухфакторный ANOVA для группы и интенсивности стимулов в 25 качестве факторов. Были анализированы дозы следующих лекарственных средств: носитель - солевой раствор, флупентиксол (0,25 мг/кг, 0,5 мг/кг и 1,0 мг/кг), клозапин (3,0 мг/кг и 6,0 30 мг/кг), кветиалин (1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 3,0 мг/кг и 7,0 мг/кг), M100907 (0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг и 1,0 мг/кг), соединение В (0,1 мг/кг и 1,0 мг/кг), соединение А (0,1 мг/кг и 0,3 мг/кг) и 35 объединенные дозы клозапина (3,0 мг/кг) и соединения А (0,1 мг/кг) и кветиалина (3,0 мг/кг) и соединения А (0,1 мг/кг).  
40 Затем проводят t-тесты для каждой из трех интенсивностей стимулов (pp4, pp8 и pp16) для определения того, существуют ли заметные различия между группами. Для определения того, повышает 45 ли дифференциально указанная обработка PPI у th(tk-)/th(tk-) мышей, используют двухфакторный ANOVA с дозой и интенсивностью стимулов в качестве факторов для th(tk-)/th(tk-) и контрольной 50 группы отдельно. Стартовую реакцию анализируют, используя

смешанный двухфакторный ANOVA с группой и дозой в качестве факторов, и затем осуществляют t-тесты таким же образом, как для PPI. Статистическая значимость для всех тестов составила p<0,05.

В. Социальное поведение, асоциальную чистку собственного тела, и активность в teste открытое поля определяют для мышей дикого типа (n=7) и FGFR1(TK-) самцов мышей (n=7) в возрасте 7 и 10 месяцев, которых содержали индивидуально в течение, по меньшей мере, четырех недель перед тестированием. В дни тестирования каждый из субъектов подвергался трем тестам: тест социального поведения с самкой, тест социального поведения с самцом и тест открытого поля. Временной интервал между каждым из тестов составляет 30 минут. Социальное поведение тестируют, используя вариант парадигмы резидент-вторженец, когда животное-стимул помещают в клетку обитания субъекта на три минуты. Перед тестированием клетку обитания субъектов не меняют в течение, по меньшей мере, четырех дней, позволяя им зафиксировать указанную клетку как свою территорию. Животных самок-стимулов содержат в отдельных клетках произвольно меняя C57BI/6Js (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME). Каждого из субъектов тестируют с различными животными-стимулами, и каждое из животных-стимулов используют только однажды в день тестирования. Животных стимулов-самцов содержат в клетках по одиночке C57BI/6Js (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME). Каждого из субъектов тестируют с различными животными-стимулами, и каждое из животных-стимулов используют только один раз в день тестирования. Стимул-самку помещают в клетки к мышам дикого типа (n=8) и tk-/-(n=8).

Через три минуты стимул-самку удаляют. Спустя тридцать минут в клетки обитания субъектов помещают стимул-самцов. Через

5 три минуты животное-стимул удаляют. Все тесты осуществляют в фазе темноты (активная фаза) светового цикла при освещении красным светом. Взаимодействие регистрируют на видео, используя

10 режим NIGHTSHOT на видеокамере Sony (DRV-120, Sony Corporation).

Поведение субъекта количественно оценивают с помощью

15 видеозаписи, используя устройство Observer Mobile (Noldus Information Technologies, Sterling, VA). Количество наблюдаемых схваток и количество времени заинтересованности в следующих

20 типах поведения измеряют: общий социальный контакт (контакт с животным-стимулом, обнюхивание (как аногенитальный, так и не

25 аногенитальный контакт) и асоциальное поведение (чистка собственного тела). При персональной оценке поведения не обращают внимания на генотип и обработку субъектов. Для

30 тестирования активности в teste открытое поля субъектов забирают из их собственных клеток и помещают отдельно на арену прозрачного пlexигласового открытого поля (45 см × 45 см × 25 см)

35 на десятиминутную сессию тестирования, после чего их возвращают в собственную клетку. Тест регистрируют на видео (как указано выше) используя видеокамеру SONY TRV-350 Handycam в режиме

40 ночного видения. Перемещения анализируют детально, используя систему Clever Sys. Inc.

45 Для тестирования лекарственных средств мышам дикого типа (n=7) и tk-/- (n=7) вводят внутрибрюшинно инъекцию 1 мг/кг

50 M1009007 или носителя. Спустя тридцать минут стимул-самку помещают в клетку обитания субъекта. Через три минуты стимул-

самку удаляют. Спустя тридцать минут в клетку обитания субъектов помещают стимул-самца. Через три минуты животное-стимул удаляют.

5       Через 30 минут животное тестируют в teste открытоего поля.

С. Лабиринт с радиальными коридорами: У пациентов-людей больных SZ наблюдаются дефициты рабочей памяти и психологические 10 расстройства, которые связаны с другим дефицитом в социальном поведении. Короче, мышей помещают в центр восьми-коридорного 15 радиального лабиринта и оставляют свободно исследовать лабиринт.

Мышей тестируют не более одного раза в день. Существуют две фазы 20 тренировки. Фаза 1 - во время первой фазы тренировки кусочки вкусной пищи (такие как кусочек Cheerio) помещают в конце каждого из восьми коридоров. Тест продолжают до тех пор, пока 25 животное не найдет все кусочки пищи, или по истечении двадцати минут. Условия теста требуют, чтобы у животных была мотивация обнаружения пищи. Поэтому животных ограничивают в пище 30 приблизительно на 12 часов, с 8 часов вечера до времени тестирования, около 8 утра. В промежутке времени от окончания 35 тестирования и до 8 часов вечера животные получают доступ к пище по желанию. Находясь в своих клетках обитания, животные всегда получают доступ к воде по желанию. Всех животных взвешивают 40 ежедневно. Любое животное, которое теряет более 15% начального веса тела, удаляют из исследования и обеспечивают кормом по желанию. После того, как животное научится доставать пищу из 45 всех коридоров, начинается вторая фаза тренинга.

Фаза 2 - В этой фазе пишу помещают в четыре из восьми коридоров. После нескольких сессий тренинга в этих условиях 50 начинается фаза тестирования. Во время тестирования пишу

помещают в четыре из восьми коридоров. Животное свободно помещают в центр лабиринта и предоставляют возможность свободно исследовать лабиринт. Тест заканчивается, когда животное съест все кусочки пищи, или после того, как пройдет двадцать минут. Считают, что число входов в пустые коридоры отражает пространственную память. Считают, что число входов в уже исследованные коридоры во время теста отражает рабочую память.

D. Распознавание объекта: используют четыре различных объекта: медные наперстки 1,84 см стальные шестиугольные гайки, 25 мл стеклянные пузырьки и пластиковые brain jars. Для каждого из объектов существуют три идентичные копии (т.е. brain jar 1, brain jar 2, и brain jar 3).

Тестирование: Животных testируют между 10 часами утра и 3 часами дня в темноте при освещении красным светом. Камера для тестирования представляет собой большой плексигласовый ящик (40×40×40) с непрозрачным полом. Все тесты регистрируют, используя камеру Sony Handycam (DRV120, Sony Corporation, Oradell, NJ) в режиме ночного видения. Камеру и предметы тщательно моют 95% этианолом и оставляют сохнуть в течение пяти минут до тестирования. Тестирование делят на две фазы, фазу акклиматизации и фазу распознавания объекта.

Фаза 1 - Фаза акклиматизации происходит в дни тестирования с первого до третьего. Животное помещают в центр открытого поля и оставляют свободно осваиваться в течение 10 минут. Это происходит один раз в день в течение трех дней.

Фаза 2 - Фаза распознавания объекта происходит в четвертый- пятый дни тестирования. В этой фазе две идентичные копии объекта

помещают в соседние углы открытого поля (т.е. brain jar 1 и brain jar 2). Согласованное размещение объектов обеспечивается путем измерения кусочком картона размером 5x5 см. Указанный квадрат помещают в угол, и центр объекта затем помещают ниже угла, который ближе всего к центру камеры. Животное помещают в центр камеры, и оставляют для свободного ознакомления в течение трех минут. Через три минуты животное возвращают в его домашнюю клетку на 30 минут. Во время этой задержки камеру тестирования и объекты снова очищают 95% спиртом. После перерыва один из исходных объектов возвращают на место, где он первоначально находился. Затем новый объект заменяет другую копию исходного объекта. Например, если вначале используют brain jar 1 и brain jar 2, один из указанных возвращают (т.е. brain jar 1) а другой заменяют новым объектом (т.е. стальной гайкой 1). После установки объектов животное снова помещают в центр камеры, и оставляют свободно осваиваться. Через три минуты животное возвращают в его клетку обитания на день. Для каждой из фаз используемый объект или возвращенный объект произвольно определяют. Ту же самую процедуру используют на пятый день тестирования, но используя другие объекты. Поэтому, если brain jar и стальную гайку используют в четвертый день, медный наперсток и стеклянный пузырек используют на пятый день.

#### 4. Иммуноцитохимия и стереология

Иммуноцитохимия и стереология TH, экспрессирующих нейроны и DA волокон получают от (Klejbor et al. 2006) и они описаны далее.

А. TH нейроны – Мышей заливают PBS и 4% парформальдегидом, и приготавливают криостатированные 40 микронные срезы мозга и

иммуноокрашивают кроличьим поликлональным TH антителом (1:1000) (Sigma Chem. Co) и Cy3 конъюгированным анти-кроличьим антителом (1:600) как было раскрыто ранее (Fang et al. 2005).

Количественный стереологический анализ осуществляют, используя систему GASTGrid (Olympus, Denmark). Указанная система состоит из компьютера с графическим интерфейсом и BX-51 микроскопа (Olympus, Japan). Основной целью метода подсчета является сравнение нейрональных профилей трансгенных и контрольных мышей но не для определения абсолютного числа TH-IR нейронов в среднем мозге. Анализируют пять мышей в каждой из групп. Во всех случаях имmunoreактивные нейрональные профили анализируют в тестовых полях, используя идентичные протоколы, состоящие из: (1) получения изображения ядер (SNc и VTA) при низком увеличении; (2) произвольного отбора образцов при двадцатикратном увеличении 20×SNc или VTA участков, используя ту же самую передне-заднюю последовательность (5 срезов из каждого мозга от -4,52 до -5,6 относительно брегмы); (3) определения TH-IR нейрональной плотности внутри тестированных полей известных участков поверхности (по меньшей мере, 60% ядерной поверхности для SNc и 100% для VTA). Сырые результаты индивидуальных тестированных полей регистрируют и взвешивают, и рассчитывают среднюю плотность TH-IR нейронов для каждого из ядер. Плотность TH-IR клеток у контрольных и трансгенных мышей сравнивают, используя ANOVA (Kruskal-Wallis тест).

Для определения средних TH-IR клеточных поверхностей пробные сетки, которые располагают систематически с помощью компьютера над секционными профилями SNc и VTA для подсчета

клеток, используют для получения беспристрастных оценок средних TH-IR клеточных поверхностей с помощью программного обеспечения  
5 Olympus Laser Pix version 4.1 (Biorad, Great Britain). Используют однофакторный ANOVA с post-hoc тестами Newman-Keuls и Mann-Whitney для определения статистической значимости между  
10 группами. Все измерения клеточной плотности и размера проводят вслепую относительно генотипа.

15 В. DAT иммуноокрашивание и количественный анализ. 40  
микронные криостатированные срезы мозга иммуноокрашивают, используя крысиные анти-DAT антитела (Chemicon, Temecula, CA) и  
20 Alexa488, конъюгированные с анти-крысиным антителом. Флуоресцентные микроскопические изображения (12-бит) получают, используя XILLIX Microimager cooled CCD камеру на флуоресцентном  
25 микроскопе Nikon FXA. Все изображения получены в линейных размерах камеры. Изображения срезов от контрольных и трансгенных  
30 мышей получают в идентичных условиях освещенности и с идентичным  
услаждением и контрастом камеры и временами экспонирования. Фоновые изображения (вне срезов тканей) получают для каждого из  
35 срезов и вычитают из изображений DAT-IR срезов мозга (полосатое  
тело и прилежащее ядро). Для каждого мозга и структуры мозга  
40 анализируют 3-4 представительные среза. Изображения предварительно обрабатывают и ограничивают идентичным образом, используя программное обеспечение для изображений ONCOR. Полную  
45 площадь каждого из изображений регистрируют, также как и число ограничивающих пикселей и их суммарную интенсивность.

50 С. Иммуноцитохимия и стереология 5-HT экспрессирующих волокон:

Всех взрослых животных (6 контрольных и 6 трансгенных мышей) глубоко анестезируют летальными дозами нембутала (80 мг/кг веса тела), затем вливают транскардиально 0,9% солевой раствор (NaCl) с гепарином, затем 4% параформальдегидный раствор в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4). Мозги постфиксируют в 4% параформальдегидном фиксаже на 3-4 часа. Затем их помещают в 15% сахарозу (в течение ночи при 4°C) затем в 30% сахарозу пока они не потонут. Корональные толщиной 40 мкм срезы мозга получают, используя криостат JUNG 1800 (Leica, Germany). Затем полученные срезы окрашивают, используя иммуногистохимический метод.

Свободно плавающие срезы блокируют 10% нормальной козьей сывороткой (NGS), содержащей 0,3% Triton X-100 в течение 1 часа, и затем инкубируют с анти-5-HT кроличьим поликлональным первичным антителом (Sigma; 1:1000) в течение 48 часов при 4°C.

После многочисленных промываний в PBS, срезы инкубируют в течение 2-3 часов при комнатной температуре с Су3 конъюгированными козьими анти-кроличьими (Jackson ImmunoResearch; разбавление 1:600) соответствующими вторичными антителами: выбранную группу срезов мозга как экспериментальной, так и контрольной группы подвергают негативному контролю без первичного антитела. Для подразделения структур среднего мозга используют критерий Paxinos и Watson (lit.). Исследованные структуры включают: вентральный тегментальный участок (VTA) и черное вещество (SN) его подразделения: интерфасцикулярные ядра (IF), парабрахиальные пигментозные ядра (PBP), паранигральные ядра PN, ростральные линейные серотонинергические ядра шва (RLi); компактную и сетчатую части черного вещества (SNC и SNR,

соответственно).

Иммунохимически окрашенные слайды исследуют, используя флуоресцентный микроскоп BX-51 (Olympus, Japan) и конфокальную систему Radiance 2100 (Bio-Rad, UK), снабженную криптон/аргоновым лазером и смонтированную на оптическом микроскопе Eclipse 600 (Nikon, Japan). Изображения с конфокального лазерного сканирующего микроскопа (CLSM) получают, используя линзы  $\times 40$  и  $\times 60$  масляного иммерсионного объектива N.A. = 1,3 и 1,4, соответственно. Оптимальную ирисовую диафрагму используют для каждого из увеличений. Для реконструкции изображений используют аналитическую программу Laser Sharp 2000 v.4.0. (Bio-Rad; UK). В каждом случае принимают во внимание только срезы, полностью окрашенные флуоресценцией.

Количественный стереологический анализ 5-HT волокон осуществляют, используя систему C.A.S.T. Систему решеток (Olympus, Denmark) как раскрыто Gundersen H.J. and West M.J. 1988 (9103, 9085). Однофакторный ANOVA с post-hoc тестами Newman-Keuls и Mann-Whitney применяют для определения статистической значимости между группами. Все измерения плотности волокон осуществляют вслепую относительно генотипа. Исследуют тридцать срезов для каждого из ядер VTA и SN для обеих групп контрольных и трансгенных мышей в возрасте 12 месяцев.

Полученные срезы распределяются в интервале от около -4,8 до -5,6 мм брегмы.

Анализ 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC, HVA, 3-MT (ВЭЖХ с электрохимическим детектированием - ESA система).

Мышей умерщвляют, используя CO<sub>2</sub>, быстро отсекают голову, и

мозги замораживают на сухом льду и хранят при -80 °С.

Анатомические участки мозга выделяют, используя иглы для пункций

5 как раскрыто ранее (Bialowas et al. 1979). На каждый мг  
 полученной ткани добавляют от 4 до 20 л 50 мМ перхлорной  
 кислоты, содержащей 100 мкМ метабисульфита и 500 нМ DHBA в  
 10 качестве внутреннего стандарта. Анализ осуществляют как раскрыто  
 в (Corso et al. 2005). Короче, ткани обрабатывают ультразвуком и  
 15 полученный гомогенат центрифицируют при 11000 об/мин (7500 g) в  
 течение 20 минут в микроцентрифуге. Надосадочную жидкость  
 помещают в ultra-free MC 0,22 м центрифужный фильтр и  
 20 центрифицируют при той же скорости до тех пор, пока надосадочная  
 жидкость не проходит через фильтр. Образцы вводят в 15 см  
 25 колонку Suppleco Discovery C18 с обращенной фазой с 2 см  
 защитной колонкой. Детектирование осуществляют, используя или  
 BAS LC-4C или ESA Coulochem II с компьютерным аналитическим  
 30 программным обеспечением ESA. Концентрации в анализируемых  
 тканях 5-HT и его метаболита 5-HIAA, также как DA и его  
 35 метаболитов DOPAC и HVA определяют, используя ВЭЖХ анализ их  
 соответствующих стандартов.

Статистический анализ: ANOVA а затем LSD.

#### 40 ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АГОНИСТОВ АЛЬФА 7 НИКОТИНОВОГО РЕЦЕПТОРА

##### У TH(TK-) / TH(TK-) МЫШЕЙ

Используя раскрытую выше модель на th(tk-) / th(tk-) мышах  
 45 гипопластическое развитие DA нейронов (также обнаруженное у SZ)  
 влияет на развитие других нейрональных систем, тем самым,  
 50 создавая аномальную схему мозга с дефективными сенсорной  
 синхронизацией, социальным поведением и когнитивными

способностями, что предполагается при SZ. Серотонинергическая гипериннервация гипопластических DA нейронов и гиперфункция 5-HT поддерживает такую гипотезу. Кроме того, у *th(tk-)/th(tk-)* мышей были обнаружены структурные изменения в коре головного мозга и гиппокампе, что имитирует изменения, о которых сообщалось при SZ. Направление новых обработок на эти разные участки мозга можно тестировать как новую терапию при SZ.

*th(tk-)* 5HT нейроны и нейроны в коре головного мозга и гиппокампе экспрессируют никотиновые альфа 7 рецепторы. Можно протестировать, может ли стимуляция указанных рецепторов нормализовать функции aberrантной схемы мозга и таким образом быть полезной в качестве лечения SZ. Разрабатываются новые категории анти-SZ лекарственных средств, которые направлены на никотиновые альфа 7 рецепторы.

ФИГ.1 иллюстрирует влияние агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора,  $(2S,3R)-N-(2-((3\text{-пиридинил})\text{метил})-1\text{-азабицикло}[2.2.2]\text{окт}-3\text{-ил})\text{-5\text{-мethylтиофен-2\text{-карбоксамида}}$  (соединение В) на уменьшение дефицита сенсорной синхронизации (PPI и акустическая стартовая реакция) у *th(tk-)/th(tk-)* мышей. Важно, что соединение В не оказывает действия на контрольных мышей (нормальные мыши; n=8).

ФИГ.2а и 2б иллюстрируют влияние агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора (соединение А) на уменьшение дефицита PPI у *th(tk-)/th(tk-)* мышей. Соединение А не оказывает действия на контрольных мышей (мыши дикого типа), что указывает на то, что соединение А специфически корректирует функцию аномальной схемы мозга у *th(tk-)/th(tk-)* мышей.

ФИГ.3 иллюстрирует тот факт, что соединение А нормализует стартовую реакцию у th(tk-)/th(tk-) мышей.

**5 СИНЕРГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АГОНИСТОВ ААРД И АЛЬФА 7 НИКОТИНОВЫХ  
РЕЦЕПТОРОВ**

**ПРИМЕР 1**

**10** Приготавливают фармацевтические композиции, комбинируя (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофuran-2-карбоксамид с клозапином в фармацевтически приемлемом носителе. Указанная композиция содержит соответствующие количества (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-**20** азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофuran-2-карбоксамида и клозапина чтобы обеспечить в расчете на день терапевтически эффективное количество каждого из ингредиентов. Указанную композицию вводят **25** пациенту для лечения шизофрении один раз в день, два раза в день, три раза в день или четыре раза в день в расчете на день.

**30** Клозапин (3,0 мг/кг) и соединение А (0,1 мг/кг), если их вводят отдельно, оказывают слабое действие на РРІ или реакцию испуга. См. ФИГ.4, 2а и 2б. Напротив, для трансгенных мышей **35** наблюдается заметный основной эффект объединенных клозапина (3,0 мг/кг) и соединения А (0,1 мг/кг) ( $p=0,006$ ).

**40** Не наблюдается синергических эффектов у контрольных WT мышей. См. ФИГ.5 и 6.

**ПРИМЕР 2**

**45** Фармацевтическую композицию приготавливают, комбинируя (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофuran-2-карбоксамид с кветиалином в фармацевтически приемлемом носителе. Указанная композиция содержит

соответствующие количества (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамида и 5 кветиапина, чтобы обеспечить в расчете на день терапевтически эффективное количество каждого из ингредиентов. Указанную 10 композицию вводят пациенту для лечения шизофрении один раз в день, два раза в день, три раза в день или четыре раза в день в 15 расчете на день.

У трансгенных  $th(tk^-)/th(tk^-)$  мышей не наблюдается 20 заметного основного эффекта кветиапина при дозе 3,0 мг/кг (ФИГ.7а и 7б) или соединения А при дозе 0,1 мг/кг (ФИГ.2а и 2б) 25 при независимом введении. Однако, если их используют в комбинации, наблюдается синергический эффект лечения ( $p=0,047$ ) 30 (ФИГ.8). Агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и антипсихотический агент работают синергично, усиливая ингибирование опережающего импульса у трансгенных  $th(tk^-)/th(tk^-)$  мышей. Для контрольных мышей не наблюдается эффекта объединенных доз.

Возрастающее количество доказательств поддерживает гипотезу о том, что гипопластическое развитие и функция допаминергических 35 нейронов играют центральную роль в генезисе шизофренических психозов, и что изменения в серотонинергических и глутаматергических нейронах важны для указанной патологии (Dean 40 В 2000, Aus. NZ J. Psychiat 34, 560-569; включено сюда по ссылке, касающейся указанной темы). Трансгенные  $th(tk^-)/th(tk^-)$  45 мыши поддерживают эту гипотезу, демонстрируя, что гипопластическое развитие DA нейронов при SZ может привести к их 50 гиперфункции, также как повлиять на развитие других нейрональных систем. Соответственно, создается аномальная схема

функционирования мозга, которая ответственна за дефективные сенсорную синхронизацию, социальное поведение и когнитивные 5 функции. Функционирование указанной схемы может быть скорректировано с помощью TAPD, AAPD и нового класса α7 никотиновых агентов.

Th(tk-)/th(tk-) мыши представляют собой развивающуюся 10 модель, которая имитирует множество структурных, нейрональных, биохимических и поведенческих (позитивные и негативные симптомы) 15 аномалий, обнаруженных при SZ. TAPD, AAPD и новый класс антидепрессивных средств (α7 никотиновые агонисты) корректируют 20 ухудшенную сенсорную синхронизацию у th(tk-)/th(tk-) трансгенных животных; отсутствует видимый эффект в отношении контрольных 25 животных. Один из AAPD, клозапин, воздействует на PPI для контрольных мышей, аналогично тому, что наблюдается для 30 нормальных субъектов-людей. Клозапин и соединение A действуют синергично в плане коррекции PPI и стартовой реакции только в 35 отношении th(tk-)/th(tk-) трансгенных животных; никакого синергизма не наблюдается в отношении контрольных животных.

Кветиапин и соединение A действуют синергично в плане коррекции PPI только для th(tk-)/th(tk-) трансгенных животных; никакого 40 синергизма не наблюдается в отношении контрольных животных.

Негативные симптомы (а именно нарушенные социальные взаимодействия) корректируются комбинацией одного или более из 45 AAPD и одного или более из агонистов α7 никотинового рецептора.

Тестируемые соединения используют в свободной форме, в 50 форме солей или сольватов.

Наблюдаемые специфические фармакологические реакции могут

меняться в соответствии с и в зависимости от выбранного конкретного активного соединения, или от того, присутствуют ли 5 фармацевтические носители, также как и от типа состава и способа введения, и такие ожидаемые вариации или различия в результатах рассматриваются в соответствии с практикой настоящего 10 изобретения.

### **ПРИМЕР 3**

#### **Анализы связывания**

Связывание [<sup>3</sup>H]-метилликаконитина ([<sup>3</sup>H]-MLA) определяют в гиппокампальных мембранах, как было раскрыто ранее (Davies et 15 al., 1999). Связывание [<sup>3</sup>H]-никотина с  $\alpha 4\beta 2$  NNR в препаратах корковой мембранны крысы или с SH-EP1 клетками анализируют, 20 используя стандартные способы, адаптированные относительно опубликованных процедур (Lippiello and Fernandes, 1986). ИК<sub>50</sub> 25 (концентрация соединения, которая обеспечивает 50% ингибиование (концентрация связывания) определяют, используя нелинейный регрессионный 30 анализ наименьших квадратов, используя программное обеспечение GraphPad Prism (GraphPAD, San Diego, CA). Ki рассчитывают, 35 используя уравнение Cheng-Prusoff (Cheng and Prusoff, 1973).

### **ПРИМЕР 4**

#### **Приподнятый крестообразный лабиринт для th(tk-)/th(tk-)**

##### **трансгенных мышей**

Животных помещают в центр мышиного приподнятого 45 крестообразного лабиринта (San Diego Instruments, San Diego, CA). Результаты теста регистрируют с помощью видеомагнитофона сверху, используя видеокамеру SONY TRV-350 Handycam в режиме 50 ночного видения. Поведение животных наблюдатель оценивает

количественно с помощью видеомагнитофона, используя устройство для наблюдения движений Observer Mobile (Noldus Information Technologies, Sterling, VA), причем наблюдателю неизвестны 5 характер обработки или генотип животного.

#### ПРИМЕР 5

10

##### **Распознавание крысами новых объектов**

Оценивают зависимую от дозы реакцию и длительность эффектов повышения когнитивных способностей, вызываемых подострым 15 трехдневным введением соединения A, используя два варианта задачи распознавания новых объекта (NOR) крысами. Модель 20 распознавания объекта основана на спонтанной тенденции грызунов к исследованию новых аспектов их окружения, и такая 25 исследовательская активность может служить показателем функции памяти (Ennaceur и Delacour, 1988). С помощью NOR теста измеряют способность узнавать объект, представленный в двух случаях с 30 некоторым промежутком времени. Площадка для теста представляет собой прозрачный плексигласовый прямоугольник размером 44,5×44,5 см (прозрачный Plexiglas™) со стенками высотой 28,8 см. Площадку 35 накрывают непрозрачной звукоослабляющей камерой и дверцы (отверстия с передней стороны) оставляют открытыми. Дозы 40 соединения A или носителя вводят, используя пероральное принудительное введение раз в день в течение трех дней с 45 промежутками между введениями 24 часа. В течение первых двух дней такой подострой парадигмы введение доз, введения осуществляют через 30 минут после исследовательского 50 (привыкания) испытания (6 минут) в день 1 (без объектов) и распознавания объекта - тест добывания (3 минуты) в день 2 (2 из

одинаковых объектов). На третий день OR конечного испытания или испытания на возвращение (3 минуты; один знакомый, один новый объект) начинают или через 30 минут, 2 часа, 6 часов, 18 часов или 24 часа после введения соединения. Для теста на возвращение видеокамеру располагают на расстоянии приблизительно 86,4 см от не заэкранированной стороны площадки для записи на магнитофон поведения животных. Эти поведения последовательно оценивает вручную "слепой" наблюдатель, который оценивает время, затраченное на исследование нового объекта (объект В) по сравнению со знакомым (объект А) объектом во время проведения этого теста возвратного экспонирования. Абсолютное время исследования для каждого из объектов регистрируют, и % показателя узнавания рассчитывают следующим образом:

$$\%RI = [(\text{время исследования нового объекта}) / (\text{полное время исследования нового + знакомого объектов})]$$

Т-тесты Стьюдента осуществляют для каждой из обработанных групп для определения значимых различий между временем исследования знакомого объекта относительно нового объекта и осуществляют 1-параметрический ANOVAs (или сравнимый Kruskall-Wallis ANOVAs для непараметрического распределения данных) для оценки заметных различий среди группы для %RI. Если обнаруживают заметные общие эффекты, осуществляют вторичные *pjst-hoc* анализы. Р<sub><</sub>0,05 считают значимым.

#### 45 ПРИМЕР 6

##### **Селективность соединения А в отношении $\alpha_7$ NNR**

Соединение А представляет собой эффективный ингибитор связывания [<sup>3</sup>H]-MLA с  $\alpha_7$  рецептором из мозга крысы, с Ki 1 нМ в

гиппокампальных мембранах крыс (Таблица 1). Аналогичное сродство связывания в 1 нМ получают для HEK293 клеточной линии, совместно 5 экспрессирующей человеческие  $\alpha 7$  и  $\text{ric}3$  кДНК. Соединение А отличается более низким сродством в отношении подтипа  $\alpha 4\beta 2$  10 рецепторов. В исследованиях конкурирующего связывания с [ $^3\text{H}$ ] - (S) - никотином, соединение А демонстрирует значение  $K_i$  2800 нМ в 15 отношении человеческих  $\alpha 4\beta 2$  рецепторов, экспрессируемых в SH-EP1 клеточных мембранах и  $K_i$  2100 нМ в отношении крысиных  $\alpha 4\beta 2$  рецепторов, экспрессируемых в крысиных корковых мембранах.

Соединение А также тестируют в широком круге селективностей 20 рецепторов (Novascreen), и были обнаружены минимальные взаимодействия с другими классами неникотиновых рецепторов, что определяют по ингибираванию связывания рецептор-селективный 25 лиганд >50% при 10 мкМ. На основании указанного критерия соединение А демонстрирует позитивные взаимодействия с 30 неселективным опиоидным рецептором (58% ингибиравания) и с сигма сайтом 2 (79% ингибиравания). Зависимые от дозы оценки указанных 35 взаимодействий демонстрируют, что величины  $K_i$  для опиоидного сайта и для сигма сайта 2 обе составляют 13 мкМ, обеспечивая более чем 1000-кратное отличие от сродства связывания по  $\alpha 7$ . 40 Благодаря близким последовательностям и структурной гомологичности между  $\alpha 7$  и 5HT<sub>3</sub> рецепторами, и ранее сообщавшимся взаимодействиям некоторых никотиновых лигандов с обоими 45 рецепторами, исследуют сродство соединения А относительно 5HT<sub>3</sub> рецепторов. Связывание соединения А (10 мкМ) с 5HT<sub>3</sub> рецепторами 50 демонстрирует 59% ингибиравания связывания радиолиганда по мышенному рецептору и 25% ингибиравания по человеческому

рецептору. Исследование функциональной активации по человеческому 5HT<sub>3</sub> рецептору предполагает минимальную активацию до отсутствия активации; максимальная реакция в 15% достигается при 100 мкМ соединения А.

### ПРИМЕР 7

10

#### **Функциональная активация NNR соединением А**

Используя пэтч-кламп электрофизиологические методики, исследуют функциональную активность соединения А относительно нейрональных никотиновых рецепторов, кратковременно экспрессируемых в Xenopus ооцитах. Для человеческих α7 рецепторов соединение А демонстрирует ЭК<sub>50</sub> в 33 нМ и Е<sub>макс</sub> 100% относительно ACh (ФИГ. 9А и Таблица 1). Наблюдаются снижения последующих контрольных реакций на ACh после нанесения соединения А в концентрациях выше, чем 100 нМ (ИК<sub>50</sub>=200 нМ, ФИГ. 9В). В противоположность описанным ранее полным агонистам α7 рецептора (Astles et al., 2002), различие между ЭК<sub>50</sub> и ИК<sub>50</sub> значениями для соединения А указывает на то, что концентрации, которые обеспечивают половину максимальной функциональной реакции альфа-7, приводят скорее к минимальному, а не к полному остаточному ингибиоранию. Не наблюдается детектируемой активации, если соединение А наносят на ооциты, экспрессирующие человеческий α4β2 подтип, и отсутствуют заметные снижения последующих контрольных реакций на ACh, что указывает на то, что соединение А не является агонистом или антагонистом по α4β2 (результаты не приводятся). Соединение А приводит к очень слабой функциональной активации периферических никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, экспрессируемых в соответствующих

крысиных и человеческих клеточных линиях (Таблица 1). При 10 и 100 мкМ, соединение А не вызывает, или вызывает очень слабую 5 активацию рецепторов человеческих мышц (5% и 12% никотинового Е<sub>макс</sub>, соответственно), крысинаного ганглия (11% и 20% никотинового Е<sub>макс</sub>, соответственно) или человеческого ганглия (6% и 11 % 10 никотинового Е<sub>макс</sub>, соответственно). Отсутствие взаимодействия с рецепторами мышечного и ганглиевого типа рецепторами позволяет 15 предположить низкий потенциал для никотиновых побочных эффектов для соединения А.

#### **ПРИМЕР 8**

##### **Соединение А – двигательная активность в тесте открытого поля**

Обработка соединением А не оказывает влияния на 25 двигательную активность в teste открытоего поля ни для контрольных, ни для th(tk-)/th(tk-) мышей (ФИГ.10А, эффект обработки отсутствует, p>0,05). Как сообщалось ранее, th(tk- )/th(tk-) тратят больше времени в центральной зоне открытого поля и проходят большую дистанцию, чем контрольные мыши 30 (ФИГ.10А, заметен основной эффект генотипа, p<0,05). Также отсутствует влияние соединения А на поведение в teste приподнятого крестообразного лабиринта (ФИГ.10В, эффект 35 обработки отсутствует, p>0,05). th(tk-)/th(tk-) мыши проводят заметно больше времени в открытых коридорах, и соответственно, меньше времени в закрытых коридорах, чем это делают контрольные 40 мыши (ФИГ.10В, заметен основной эффект генотипа, p<0,05).

50

**ПРИМЕР 9****Эффективность соединения А в моделях позитивных симптомов**

5

**шизофрении**

(Крысы)

**Ослабление ингибиования опережающего импульса у крыс штамма**

10

**Sprague-Dawley**

Ингибиование опережающего импульса (PPI) обеспечивает оперативное измерение сенсорномоторной синхронизации, системы в мозге, дефицит которой наблюдается при шизофрении. Было показано, что психостимулянт апоморфин ухудшает PPI, и этот эффект можно обратить на противоположный путем введения антипсихотических лекарственных средств. Соединение А (0,3 мг/кг, подкожно) заметно уменьшает дефицит PPI, вызываемый введением апоморфина (ФИГ.11). Указанные результаты предоставляют дополнительное доказательство того, что соединение А может быть эффективным для уменьшения дефицита синхронизации, связанного с шизофренией.

**ПРИМЕР 10**

35

**Влияние соединения А на когнитивные способности (крысы)**

В дозо-эффект зависимости когнитивных способностей в тесте распознавания нового объекта соединение А, в дозах 0,3, 1 и 10 мг/кг (перорально, через 30 минут после третьего введения q.d.), заметно увеличивается время, которое тратится на исследование нового объекта (ФИГ.12А, слева). В длительности эффекта оценки соединения А (0,3 мг/кг перорально) в парадигме распознавания нового объекта, среднее время, которое тратит объект А по сравнению со временем, которое тратит объект В обработанная

носителем группы) через 30 минут, 6 часов или 24 часа после конечного теста подострого введения не наблюдается заметных различий ( $p=0,17$ ,  $p=0,35$ , и  $p=0,12$ , соответственно). При сравнении через 30 минут, 2 часа, 6 часов и 18 часов после конечного подострого (q.d.×3 дня) введения соединения А (0,3 мг/кг ip.), животные тратят заметно больше времени, исследуя новый объект, чем исследуя знакомый объект (ФИГ.12А, справа). Кроме того, через 2 часа (75%) и 6 часов (71%), показатель узнавания (RI) заметно повышен у животных, обработанных 0,3 мг/кг соединения А по сравнению с RI (54%) для группы, обработанной носителем через 30 минут после конечного введения (ФИГ.12В). Полученные результаты демонстрируют, что соединение А улучшает рабочую память у молодых крыс вплоть до 18 часов после третьего подострого ежедневного введения.

Таблица 1

Связывание соединения А и параметры функционирования для подтипов никотинового рецептора

35 NNR подтип/параметр	Источник	Параметр	Величина (среднее ± SE)
40 Связывание $\alpha 7$	Крысы (гиппокамп)	$K_i$ (нМ)	$1,00 \pm 0,50$
	Человек (НЕК клетки)		$1,00 \pm 0,04$
45 Функция $\alpha 7$	Ооциты (вольтаж Кламп)	$E_{K50}$ (нМ) $E_{max}$ (%Ach)	$33 \pm 10$ $100 \pm 7$

	Связывание $\alpha_4\beta_2$	Крысиная корка	Ki (нМ)	2100 $\pm$ 400
5		Человеческие (SH-EP1 клетки)		2800 $\pm$ 1300
10	Мышечная функция (поток $Ca^{++}$ )	Человеческие (TE-671 клетки)	% никотин и 10 мкМ	5 $\pm$ 2
			% никотин и 100 мкМ	12 $\pm$ 7
15				
20	Функция ганглий (поток $Ca^{++}$ )	Крысы (клетки PC-12 Shooter) Человеческие (SH-SY5Y клетки)	% никотин и 10 мкМ	11 $\pm$ 6
			% никотин и 100 мкМ	20 $\pm$ 8
			% никотин и 10 мкМ	6 $\pm$ 2
25				
30			% никотин и 100 мкМ	11 $\pm$ 1
35				
40				

**ПРИМЕР 11**

Введение NNR  $\alpha_7$  агонистов адресованное высокому уровню сахара в крови, диабету, увеличению веса и/или дислипидемии, которые могут возникнуть в результате введения антипсихотического средства (традиционного или неканонического).

Влияние  $\alpha_7$  агонистов на тучность. Животные модели:

Родительским штаммом использованных в указанных исследованиях мышей был штамм db/db с дефицитом лептиновых рецепторов на 5 C57BL6 фоне, полученные от Jackson Laboratories и PTP1B-null мыши на смешанном C57BL6/Balb C фоне от Dr. Michel Tremblay at the Cancer Institute at McGill University in Montreal, Canada.

10 Так как тучные db/db мыши нефертильны, мыши были созданы как двойные гетерозиготы, гетерозиготные как для мутантных 15 лептиновых рецепторов, так и для лишенных PTP1B. Дуальные гетерозиготы были скрещены, в результате получили 1:4 тучные мыши и 1:4 PTP-1 B-null мыши. В этой схеме бридинга 1:16 были 20 дуальные КО мыши. В четвертом поколении мыши гетерозиготные по обоим генам были выращены в PTP-1 B-null мышьей, гетерозиготных для мутантной db аллели. В указанной схеме бридинга 1:4 мыши 25 были тучными и 1:8 были дуальными КО мышами. Из соображений экономии, гетерозиготные мыши были предпочтительнее мышей диких 30 типов по сравнению с контролями. Дуальные гетерозиготные однопометные мыши были использованы как контроли наклона и 35 однопометные гетерозиготные для db были использованы как PTP1B КО контроли.

Генотипирование мышей: В возрасте 3 недель, получают ДНК из 40 клипа хвоста. Геномную ДНК из клипа хвоста используют для скринирования по наличию мутантного лептинового рецептора и кассеты делекции PTP-1B, используя полимеразную цепную реакцию. 45 Специфические генотипы определяют, разделяя ПЦР продукты с помощью электрофореза на агарозном геле. Делекцию PTP-1B проверяют, используя Вестернблоттинг, используя анти-PTP-1B 50 антитело от Upstate Biotechnology.

Метаболическое фенотипирование: Влияние тестированных соединений (например, соединение A в дозе 1 мг/кг/день при 5 пероральном принудительном введении) на скорости роста и потребление пищи мышами определяют, измеряя вес тела и потребление пищи один раз в две недели начиная с возраста 3 10 недели до 10 недель. Для выбранных групп антагонист  $\alpha 7$  MLA также вводят принудительно, одновременно в дозе 3 мг/кг ежедневно.

Ингибитор киназы JAK2 (AG-490) вводят внутрибрюшинно (IP) в дозе 15 1 мг/кг в день. Определяемую натощак глюкозу определяют раз в неделю после лишения пищи, используя прецизионный XL глюкометр, 20 используя кровь из хвостовой вены. Уровни HbA1c также измеряют в указанных образцах, используя набор A1C от Metrika, inc. Для 25 оценки глюкозной толерантности мышей анестезируют 2% изофлураном и в левую сонную артерию и яремную вену вводят катетер после голодания в течение ночи. 10 мг боляс глюкозы вводят внутривенно 30 (iv) через яремную вену, и уровень глюкозы в крови измеряют каждые 5 минут в течение 40 минут в капле крови из сонной артерии. Для измерения определяемых при анализе плазмы крови 35 веществ отдельную группу голодающих мышей анестезируют изофлураном в быстрой индукционной камере и быстро отсекают головы. Кровь отбирают в гепарин и быстро центрифугируют при 4°C 40 для удаления клеток и для получения плазмы, и образцы замораживают для последующих анализов. Концентрации TNF- $\alpha$  в 45 плазме определяют, используя наборы для анализа ELISA от Bioscience и уровни триглицеридов в плазме определяют, используя тест L-Type TGH тест (Wako Diagnostics), в *in vitro* анализе для 50 количественного определения содержания триглицеридов в сыворотке

или плазме. Все результаты выражают как среднее ± SEM. Разницы среди всех групп сравнивают, используя однофакторный дисперсионный анализ ANOVA.

Статистика: Все результаты выражены как среднее ± SEM. Различия среди всех четырех генотипов сравнивают, используя однофакторный дисперсионный анализ ANOVA.

Результаты введения соединения В представлены на ФИГ.13 (уровень глюкозы в крови) и 14 (увеличение веса). Соединение В (1 мг/кг) заметно снижает уровни глюкозы в крови (ФИГ.13) и увеличение веса тела (ФИГ.14) у db/db мышей с жирной диетой по сравнению с мышами, питающимися носителем. Эффекты становятся очевидными после 6 недель обработки и становятся максимальными между 8 и 10 неделями после обработки.

Хотя специфические варианты настоящего изобретения здесь проиллюстрированы и раскрыты детально, указанное изобретение ими не ограничивается. Приведенные выше подробные описания представлены в качестве примеров настоящего изобретения, и никаким образом не ограничивают указанное изобретение. Специалистам в данной области должны быть очевидны модификации, которые не выходят за рамки сущности и духа указанного изобретения и включены в объем прилагаемой формулы изобретения.

Далее приводятся ссылки, касающиеся материала заявки:

45

50

Abi-Dargham, A., et al., SPECT imaging of dopamine transporters in human brain with Iodine-123-fluoroalkyl analogs of beta-CIT. *J Nucl Med*, 37(7): 1129-33 (1996);

5 Abi-Dargham, A., et al., Striatal amphetamine-induced dopamine release in patients with schizotypal personality disorder studied with single photon emission computed tomography and [123I]iodobenzamide. *Biol Psychiatry*, 55, (10), 1001-6 (2004);

10 Acker, B.A., et al., Discovery of N-[(3R,5R)-1-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl]furo[2,3-c]pyridine-5-carboxamide as an agonist of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor: in vitro and in vivo activity. *Bioorg Med Chem Lett* 18: 3611-3615 (2008).

15 Adler L., et al., Schizophrenia, sensory gating, and nicotinic receptors. *Schizophr Bull* 24:189-202(1998).

American Diabetes Association, et al., Consensus development conference on antipsychotic drugs and obesity and diabetes. *Diabetes Care* 27: 596-601 (2004).

20 Arnalz-Cot JJ, et al., Allosteric modulation of alpha 7 nicotinic receptors selectively depolarizes hippocampal interneurons, enhancing spontaneous GABAergic transmission. *Eur J Neurosci*. 27: 1097-1110 (2008).

25 Astles PC, et al., Recent progress in the development of subtype selective nicotinic acetylcholine receptor ligands. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1: 337-348 (2002).

Avila MT, , et al., Effects of Nicotine on Leading Saccades during Smooth Pursuit Eye Movements in Smokers and Nonsmokers with Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol* 28: 2184-2191 (2003).

30 Banerjee, S. A., et al., 5' flanking sequences of the rat tyrosine hydroxylase gene target accurate tissue-specific, developmental, and transsynaptic expression in transgenic mice. *J Neurosci* 12, (11): 4460-7 (2003).

Barnes TRE, et al., Pharmacological strategies for relapse prevention in schizophrenia. *Psychiatry* 6: 351-356 (2007).

35 Beckstead, R. M., et al., Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res* 175, (2): 191-217 (1979).

Behrendt, RP, Dysregulation of thalamic sensory 'transmission' in schizophrenia: neurochemical vulnerability to hallucinations. *J Psychopharmacol* 20: 356-72 (2006).

40

45

50

- Belluardo N, et al., Neurotrophic effects of central nicotinic receptor activation. *J Neural Transm Suppl* 60: 227-245 (2000).
- 5 Bialowas, J., et al., The relationship between catecholamine levels in the hypothalamus and amygdala under influence of glucose overloading in hungry and sated rats. *Pol J Pharmacol Pharm* 31, (4): 325-35 (1979).
- 10 Bitner RS, et al. Broad-spectrum efficacy across cognitive domains by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonism correlates with activation of ERK1/2 and CREB phosphorylation pathways. *J Neurosci* 27: 10578-10587 (2007).
- 15 Blumenthal EM, et al., Detection of Functional Nicotinic Receptors Blocked by  $\square$ -Bungarotoxin on PC12 Cells and Dependence of Their Expression on Post-Translational Events. *J Neurosci* 17: 6094-6104 (1997).
- 20 Boess FG, et al., The novel alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist N-[(3R)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-7-[2-(methoxy)phenyl]-1-benzofuran-2-carboxamide improves working and recognition memory in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 321: 716-725 (2007).
- 25 Bogerts, B., et al., A morphometric study of the dopamine-containing cell groups in the mesencephalon of normals, Parkinson patients, and schizophrenics. *Biol Psychiatry* 18, (9): 951-69 (1983).
- 30 Braff DL, et al., Sensorimotor gating and schizophrenia: human and animal model studies. *Arch Gen Psych* 47:181-188 (1990).
- 35 Broderick, P.A., et al., I. Serotonin (5-HT) within dopamine reward circuits signals open-field behavior. II. Basis for 5-HT-DA interaction in cocaine dysfunctional behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 21, (3): 227-60 (1997).
- 40 Bunney, E. B., et al., Electrophysiological effects of cocaethylene, cocaine, and ethanol on dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J Pharmacol Exp Ther* 297, (2): 696-703 (2001).
- 45 Cabib, S., et al., Behavioral and mesocorticolimbic dopamine responses to non aggressive social interactions depend on previous social experiences and on the opponent's sex. *Behav Brain Res* 112, (1-2), 13-22 (2000).
- Canitano, R., Clinical experience with Topiramate to counteract neuroleptic induced weight gain in 10 individuals with autistic spectrum disorders. *Brain Dev* 27: 228-232 (2005).
- Carlsson, A., Does dopamine play a role in schizophrenia? *Psychol Med* 7, (4): 583-97 (1977).
- 50 Cheng Y, et al., Relationship between inhibition constant ( $K_i$ ) and concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition ( $I_{50}$ ) of an enzymatic-reaction. *Biochem Pharmacol* 22: 3099-3108 (1973).

- Corbett R, et al., Antipsychotic agents antagonize non-competitive N-methyl-D-aspartate antagonist-induced behaviors. *Psychopharmacol* 120: 67-74 (1995).
- 5 Corso, T. D., et al., Transfection of tyrosine kinase deleted FGF receptor-1 into rat brain substantia nigra reduces the number of tyrosine hydroxylase expressing neurons and decreases concentration levels of striatal dopamine. *Brain Res Mol Brain Res* 139, (2): 361-6 (2005).
- 10 Dalack GW, et al., Nicotine dependence in schizophrenia: clinical phenomena and laboratory findings. *Am J Psych* 155:1490-1501 (1998) .
- Dani JA, et al., Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47: 699-729 (2007).
- 15 Davies AR, et al., Characterisation of the binding of [<sup>3</sup>H]methyllycaconitine: a new radioligand for labelling alpha 7-type neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacol* 38: 679-690 (1999).
- 20 Davis, K. L., et al., Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148, (11): 1474-86 (1991).
- 25 De Luca V, et al., Evidence of Association between Smoking and  $\alpha$ 7 Nicotinic Receptor Subunit Gene in Schizophrenia Patients. *Neuropsychopharmacol* 29: 1522–1526 (2004).
- Dickinson JA, et al., Presynaptic alpha 7- and beta 2-containing nicotinic acetylcholine receptors modulate excitatory amino acid release from rat prefrontal cortex nerve terminals via distinct cellular mechanisms. *Mol Pharmacol* 74: 348-359 (2008).
- 30 Doherty, M. D., et al., Ultrastructural localization of the serotonin 2A receptor in dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res* 864, (2): 176-85 (2000).
- 35 Durany N, et al., Human post-mortem striatal alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor density in schizophrenia and Parkinson's syndrome. *Neurosci Lett* 287: 109-112 (2000).
- Ennaceur A, et al., A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. I. Behavioral data. *Behav Brain Res* 100: 85-92 (1988).
- 40 Fang, X., et al., Control of CREB-binding protein signaling by nuclear fibroblast growth factor receptor-1: a novel mechanism of gene regulation. *J Biol Chem* 280, (31): 28451-62 (2005).
- 45 Farde, L.; et al., Quantitative analysis of D2 dopamine receptor binding in the living human brain by PET. *Science* 231: 258-261 (1986).
- Freedman R, et al., The alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and the pathology of hippocampal interneurons in schizophrenia. *J Chem Neuroanat* 20: 299-306 (2000).

50

- Freedman R, et al., Initial phase 2 trial of a nicotinic agonist in schizophrenia. *Am J Psych* 165: 1040-1047 (2008).
- Gaughran, F., et al., Hippocampal FGF-2 and FGFR1 mRNA expression in major depression, schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res Bull* 70, (3): 221-7 (2006).
- Geyer MA, et al., Measurement of startle response, prepulse inhibition and habituation. *Current Protocols Neurosci* 8: 7.1-7.15 (1998).
- Graham, KA, et al., Double-blind, placebo-controlled investigation of amantadine for weight loss in subjects who gained weight with olanzapine. *Am J Psychiatry* 162: 1744-1741 (2005).
- Hajós M, et al., The selective alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PNU-282987 [N-[(3R)-1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-4-chlorobenzamide hydrochloride] enhances GABAergic synaptic activity in brain slices and restores auditory gating deficits in anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 312: 1213-1222 (2005).
- Harris JG, et al., Effects of nicotine on cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacol* 29: 1378-1385 (2004).
- Harrison, P. J., The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* 122 ( Pt 4): 593-624 (1999)
- Hashimoto K, et al.,  $\alpha$ 7 Nicotinic Receptor Agonists as Potential Therapeutic Drugs for Schizophrenia. *Curr Med Chem - Central Nervous System Agents* 5: 171-184 (2005).
- Hashimoto K, et al.,  $\alpha$ 7 Nicotinic Receptor Agonists as Potential Therapeutic Drugs for Schizophrenia. *Curr Med Chem - Central Nervous System Agents* 5: 171-184 (2005).
- Hashimoto, R., et al., Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression, brain morphology and ERK signaling. *Hum Mol Genet* 15, (20): 3024-33 (2006).
- Henderson, DC, et al., Glucose metabolism in patients with schizophrenia treated with atypical antipsychotic agents. *Arch Gen Psychiatry* 62: 19-28 (2005a).
- Henderson, DC, et al., A double-blind, placebo-controlled trial of sibutramine for olanzapine-associated weight gain. *Am J Psychiatry* 162: 954-962 (2005b).
- Hietala, J. et al., Depressive symptoms and presynaptic dopamine function in neuroleptic-naïve schizophrenia. *Schizophr Res* 35, (1): 41-50 (1999).
- Hietala, J., et al., Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naïve schizophrenic patients. *Lancet* 346, (8983): 1130-1 (1995).
- Holden C, Deconstructing Schizophrenia: Large-scale family studies and new drug probes focus on cognitive deficits that may lie at the heart of the disease. *Science* 299: 333-335 (2003).
- Horbinski, C., et al., Bone morphogenetic protein-7 stimulates initial dendritic growth in sympathetic neurons through an intracellular fibroblast growth factor signaling pathway. *J Neurochem* 80, (1): 54-63 (2002).

- Hu, Z., et al., Differentiation of the midbrain dopaminergic pathways during mouse development. *J Comp Neurol* 476, (3): 301-11 (2004).
- 5 Hurst RS, et al., A novel positive allosteric modulator of the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor: in vitro and in vivo characterization. *J Neurosci* 25: 4396-4405 (2005).
- Ikemoto, K., et al., Human midbrain dopamine neurons express serotonin 2A receptor: an immunohistochemical demonstration. *Brain Res* 853, (2): 377-80 (2000).
- 10 Kasper, S., et al., Dopamine- and serotonin-receptors in schizophrenia: results of imaging-studies and implications for pharmacotherapy in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 4: 83-9 (1999).
- 15 Kitagawa H, et al., Safety, pharmacokinetics, and effects on cognitive function of multiple doses of GTS-21 in healthy, male volunteers. *Neuropsychopharmacol* 28: 542-551 (2003).
- 20 Klein, DJ, et al., A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of metformin treatment of weight gain associated with initiation of atypical antipsychotic therapy in children and adolescents. *Am J Psychiatry* 163: 2072-2079 (2006).
- 25 Klejbor, I., et al., Fibroblast growth factor receptor signaling affects development and function of dopamine neurons - inhibition results in a schizophrenia-like syndrome in transgenic mice. *J Neurochem* 97, (5): 1243-58 (2006).
- Koller et al., Olanzapine-associated diabetes mellitus. *Pharmacotherapy* 22: 841-852 (2002).
- 30 Kwon JS, et al., Gamma frequency-range abnormalities to auditory stimulation in schizophrenia. *Arch Gen Psych* 56: 1001-1005 (1999).
- Laruelle, M., et al., Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, (17): 9235-40 (1996).
- 35 Lauder, J. M., Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trends Neurosci* 16, (6): 233-40 (1993).
- Lena C, et al., Role of Ca<sup>2+</sup> ions in nicotinic facilitation of GABA release in mouse thalamus. *J Neurosci* 17: 576-585 (1997).
- 40 Leonard S, et al., Genetics of chromosome 15q13-q14 in schizophrenia. *Biol. Psych* 60: 115-122 (2006).
- Leonard S, et al., Association of promoter variants in the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene with an inhibitory deficit found in schizophrenia. *Arch Gen Psych* 59: 1085-1096 (2002).

- Levin ED, et al., AR-R17779, and alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behav Pharmacol* 10: 675-680 (1999).
- 5 Levin ED, et al., Nicotine-haloperidol interactions and cognitive performance in schizophrenics. *Neuropsychopharmacol* 15: 429-436 (1996).
- Lippiello PM, et al., The binding of L-[3H]nicotine to a single class of high affinity sites in rat brain membranes. *Mol Pharmacol* 29: 448-454 (1986).
- 10 Liu Q, et al., Dissecting the signaling pathway of nicotine-mediated neuroprotection in a mouse Alzheimer disease model. *FASEB J* 21: 61-73 (2007).
- Ludewig K, et al., Impaired sensorimotor gating in schizophrenia with deficit and with nondeficit syndrome. *Swiss Med Wkly* 132: 159-165 (2002).
- 15 Mansvelder HD, et al., Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 27: 349 -357 (2000).
- Martin L, et al., Alpha-7 nicotinic receptor agonists: potential new candidates for the treatment of schizophrenia. *Psychopharmacol* 174: 54-64 (2004).
- 20 Meltzer, H. Y., et al., Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin2 pKi values. *J Pharmacol Exp Ther* 251, (1): 238-46 (1989).
- 25 Meyer-Lindenberg, A., et al., Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. *Nat Neurosci* 5, (3): 267-71 (2002).
- Millar, J. K., et al., DISC1 and PDE4B are interacting genetic factors in schizophrenia that regulate cAMP signaling. *Science* 310, (5751): 1187-91 (2005).
- 30 Moffett J, et al., Increased tyrosine phosphorylation and novel cis-acting element mediate activation of the fibroblast growth factor-2 (FGF-2) gene by nicotinic acetylcholine receptor. New mechanism for trans-synaptic regulation of cellular development and plasticity. *Brain Res Mol Brain Res* 55: 293-305 (1998).
- Mudo G, et al., Nicotinic receptor agonists as neuroprotective / neurotrophic drugs. *Prog Mol Mechanisms* 114: 135-147 (2007b).
- 35 Mudo G, et al., Acute intermittent nicotine treatment induces fibroblast growth factor-2 in the subventricular zone of the adult rat brain and enhances neuronal precursor cell proliferation. *Neurosci* 145:470-483 (2007a).
- 40 Murphy PC, et al., Brain-stem modulation of the response properties of cells in the cat's perigeniculate nucleus. *Vis Neurosci* 11: 781-791 (1994).
- Newhouse PA, et al., Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. *Curr Opin Pharmacol* 4: 36-46 (2004).
- 45

50

- Nilsson L.K., et al., Subchronic treatment with kynurenone and probenecid: effects on prepulse inhibition and firing of midbrain dopamine neurons. *J. Neural Trans.* 113, 557-571, 2006.
- Ohtani, N., et al., Dopamine modulates cell cycle in the lateral ganglionic eminence. *J Neurosci* 23, (7): 2840-50 (2003).
- O'Neill HC, et al., DMXB, an alpha7 nicotinic agonist, normalizes auditory gating in isolation-reared rats. *Psychopharmacol* 169: 332-339 (2003).
- Ovalle, S., et al., Fibroblast growth factor-2 is selectively modulated in the rat brain by E-5842, a preferential sigma-1 receptor ligand and putative atypical antipsychotic. *Eur J Neurosci* 13, (5): 909-15 (2001).
- Papke RL, et al., Comparative pharmacology of rat and human alpha7 nAChR conducted with net charge analysis. *Br J Pharmacol* 137: 49-61 (2002).
- Petronis, A., The origin of schizophrenia: genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. *Biol Psychiatry* 55, (10): 965-70 (2004); *S A* 93, (17): 9235-40 (1996).
- Pichat P, et al., SSR180711, a novel selective alpha7 nicotinic receptor partial agonist: (II) efficacy in experimental models predictive of activity against cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuropsychopharmacol* 32: 17-34 (2007).
- Quarta D, et al., Drug discrimination and neurochemical studies in alpha7 null mutant mice: tests for the role of nicotinic alpha7 receptors in dopamine release. *Psychopharmacol* Aug 30 [Epub ahead of print] (2008).
- Quik M, et al., Localization of nicotinic receptor subunit mRNAs in monkey brain by in situ hybridization. *J Comp Neurol* 425: 58-69 (2000).
- Schimmel, J. J., et al., 4.5 kb of the rat tyrosine hydroxylase 5' flanking sequence directs tissue specific expression during development and contains consensus sites for multiple transcription factors. *Brain Res Mol Brain Res* 74, (12): 1-14 (1999).
- Schreiber R, et al., Effects of alpha 4/beta 2- and alpha 7-nicotine acetylcholine receptor agonists on prepulse inhibition of the acoustic startle response in rats and mice. *Psychopharmacol* 159: 248-257 (2002).
- Sernyak, MJ, Association of diabetes mellitus with use of atypical neuroleptics in the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 159: 561-566 (2002).
- Sharma, R. P., Schizophrenia, epigenetics and ligand-activated nuclear receptors: a framework for chromatin therapeutics. *Schizophr Res* 72, (2-3): 79-90 (2005).
- Sharp FR, et al, Psychosis: pathological activation of limbic thalamocortical circuits by psychomimetics and schizophrenia? *Trends Neurosci* 24: 330-334 (2001).
- Simosky JK, et al., Clozapine improves deficient inhibitory auditory processing in DBA/2 mice, via a nicotinic cholinergic mechanism. *Psychopharmacol* 165: 386-396 (2003).

- Singhal SK, et al., Antipsychotic clozapine inhibits the function of alpha7-nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacol* 52: 387-394 (2007).
- 5 Snyder, S. H., The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry* 133, (2): 197-202 (1976).
- Stachowiak MK, et al., Integrative Nuclear Signaling in Cell Development-A Role for FGF Receptor-1. *DNA Cell Biol* 26: 811-826 (2007).
- 10 Stachowiak, E. K., et al., cAMP-Induced differentiation of human neuronal progenitor cells is mediated by nuclear fibroblast growth factor receptor-1 (FGFR1). *J Neurochem* 84, (6): 1296-312 (2003).
- Stachowiak, M. K., et al., Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats. *Brain Res* 291, (1): 164-7 (1984).
- 15 Stachowiak, M. K., et al., Integrative Nuclear Signaling in Cell Development-A Role for FGF Receptor-1. *DNA Cell Biol* 26, (12): 811-26 (2007).
- Stahl SM, Antipsychotic agents. In: Essential Pharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. Cambridge University Press, New York, pp 401-458 (2002).
- 20 Swerdlow, N. R., et al., Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24, (2): 285-301 (1998).
- 25 Swerdlow, N. R., et al., Assessing the validity of an animal model of deficient sensorimotor gating in schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 51, (2): 139-54 (1994).
- Tietje KR, et al., Preclinical characterization of A-582941: a novel alpha7 neuronal nicotinic receptor agonist with broad spectrum cognition-enhancing properties. *CNS Neurosci Ther* 14: 65-82 (2008).
- 30 Timmermann DB, et al., An allosteric modulator of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor possessing cognition-enhancing properties in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 323: 294-307 (2007).
- 35 Van Kampen M, et al., AR-R 17779 improves social recognition in rats by activation of nicotinic alpha7 receptors. *Psychopharmacol* 172: 375-383 (2004).
- Waldo MC, et al., Auditory sensory gating, hippocampal volume, and catecholamine metabolism in schizophrenics and their siblings. *Schizophrenia Res* 12: 93-106 (1994).
- 40 Wong AH, et al., Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 269-306 (2003).
- Wong, A. H., et al., Identification of candidate genes for psychosis in rat models, and possible association between schizophrenia and the 14-3-3eta gene. *Mol Psychiatry* 8, (2): 156-66 (2003).
- 45 Yang, Y. K., et al., Associated alterations of striatal dopamine D2/D3 receptor and transporter binding in drug-naive patients with schizophrenia: a dual-isotope SPECT study. *Am J Psychiatry* 161, (8): 1496-8 (2004).

50

## Формула изобретения

1. Фармацевтическая комбинация, содержащая агонист  $\alpha 7$  никотинового

рецептора, представляющий собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль или сольват; и по меньшей мере один антипсихотический агент, где указанная комбинация обеспечивает синергическую терапию психиатрического расстройства.

2. Фармацевтическая комбинация по п.1, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой психотическое расстройство.

3. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению.

4. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где указанная комбинация обеспечивает синергическую терапию одного или более из нарушений внимания, нарушений процесса переработки информации, расстройства памяти или дефицита организационной функции.

5. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где агонист  $\alpha_7$  никотинового рецептора и по меньшей мере один антипсихотический агент вводят одновременно, последовательно или раздельно.

6. Фармацевтическая комбинация по п.1, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль хлористоводородной кислоты, фосфорной кислоты, малеиновой кислоты или паратолуолсульфоновой кислоты.

7. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где по меньшей мере один антипсихотический агент представляет собой или традиционное, или неканоническое антипсихотическое средство.

8. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где по меньшей мере одно антипсихотическое средство представляет собой традиционное антипсихотическое средство, выбранное из хлорпромазина, галоперидола, флуепентиксола или перфеназина, или их метаболиты, соли или сольваты.

9. Фармацевтическая комбинация по п.1 или 2, где по меньшей мере одно антипсихотическое средство представляет собой неканоническое антипсихотическое средство, выбранное из клозапина, рисперидона, оланзапина, кветиапина, арипипразола, зипразидона, амисульприда, сульприда, зотепина, сертиндола, палиперидона, бифепрунокса или азенапина или их метаболиты, соли или сольваты.

10. Фармацевтическая комбинация по п.9, где по меньшей мере одно антипсихотическое средство представляет собой клозапин или кветиапин, или их метаболиты, соли или сольваты.

11. Способ лечения или профилактики психиатрического расстройства, включающий введение фармацевтической комбинации по любому из пп.1-10.

12. Применение фармацевтической комбинации по любому из пп.1-10 для получения лекарственного средства для лечения или профилактики психиатрического расстройства.

13. Фармацевтическая комбинация по п.1, для применения для лечения или профилактики психиатрического расстройства.

14. Способ по п.11, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой психотическое расстройство.

15. Способ по п.11, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению, шизофеноформное расстройство, шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, общее психотическое расстройство, не поддающееся лечению психотическое расстройство, психотические расстройства, связанные с общим

медицинским состоянием, или психотическое расстройство, которое не определено как-либо иначе.

16. Способ по п.11, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению.

17. Набор для лечения или профилактики психиатрического расстройства, содержащий упаковку, содержащую синергическую комбинацию агониста  $\alpha_7$  никотинового рецептора, представляющего собой (2S,3R)-N-(2-((3-пиридинил)метил)-1-азабицикло[2.2.2]окт-3-ил)бензофуран-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль или сольват; и по меньшей мере одного антипсихотического агента.

18. Применение по п.12, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой психотическое расстройство.

19. Применение по п.12, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению, шизофеноформное расстройство, шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, общее психотическое расстройство, не поддающееся лечению психотическое расстройство, психотические расстройства, связанные с общим медицинским состоянием, или психотическое расстройство, которое не определено как-либо иначе.

20. Применение по п.12, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению.

21. Комбинация по п.13, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой психотическое расстройство.

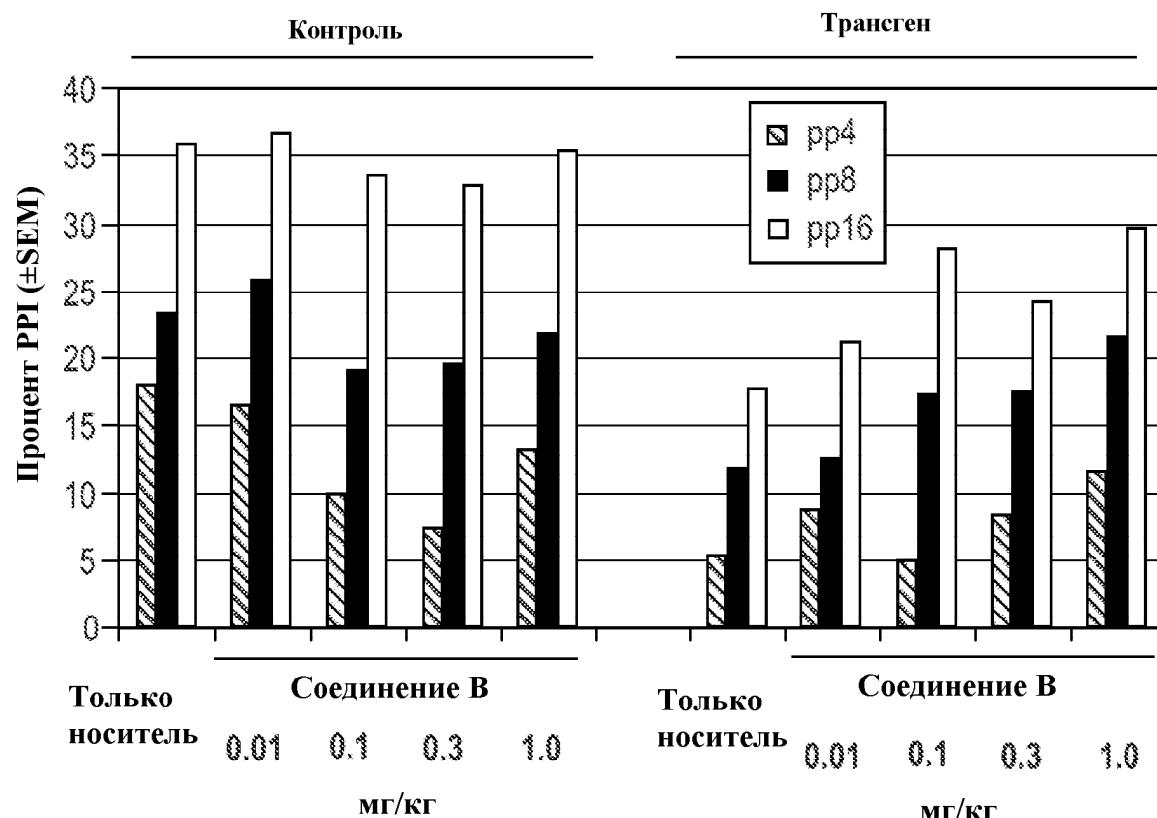
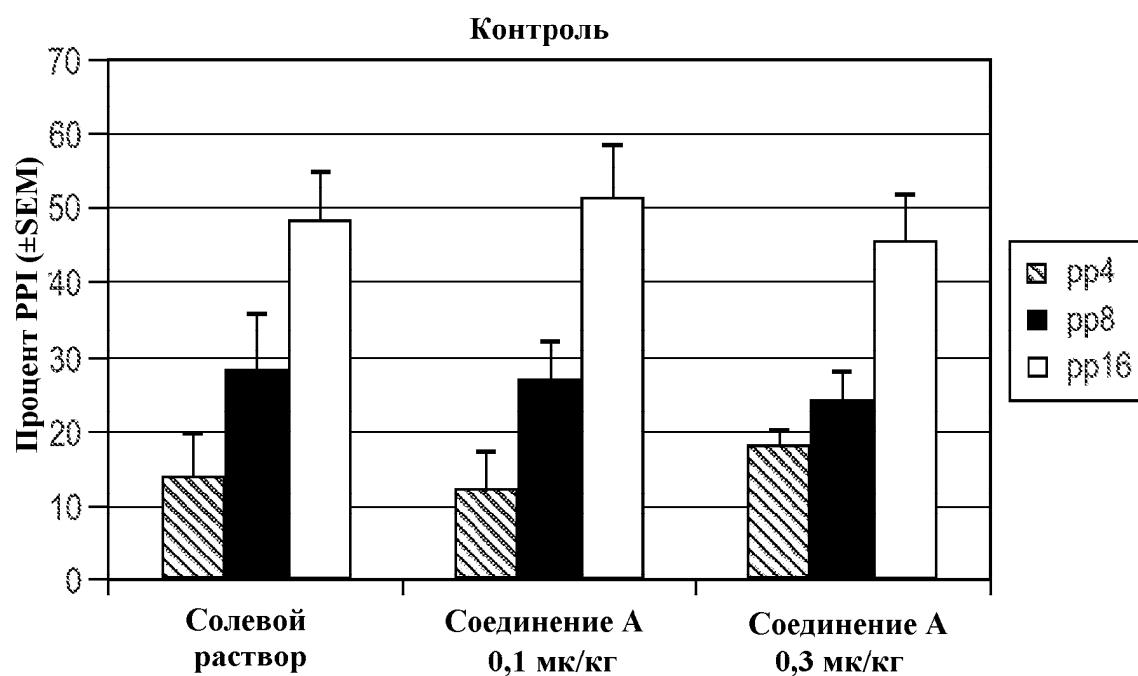
22. Комбинация по п.13, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению, шизофеноформное расстройство, шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, общее психотическое расстройство, не поддающееся лечению психотическое расстройство, психотические расстройства, связанные с общим медицинским состоянием, или психотическое расстройство, которое не определено как-либо иначе.

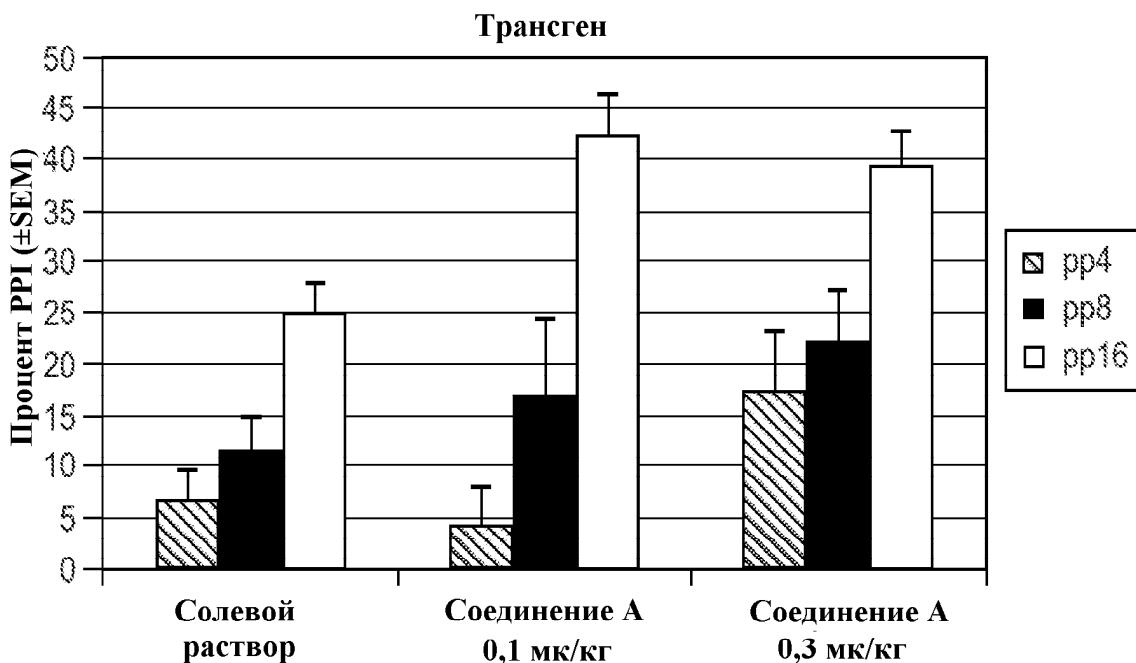
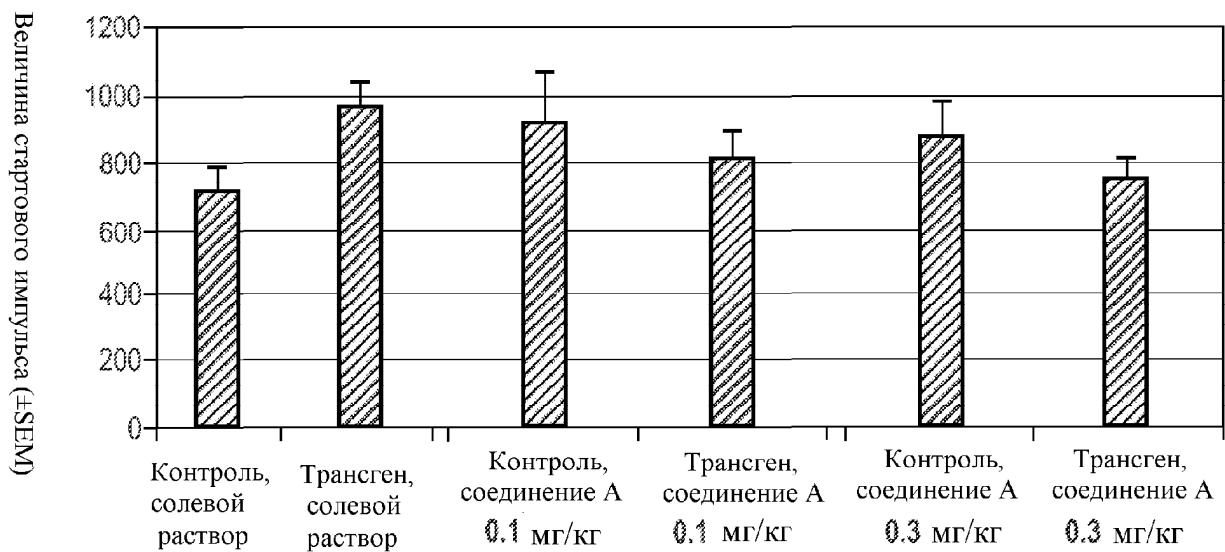
23. Комбинация по п.13, где указанное психиатрическое расстройство представляет собой шизофрению.

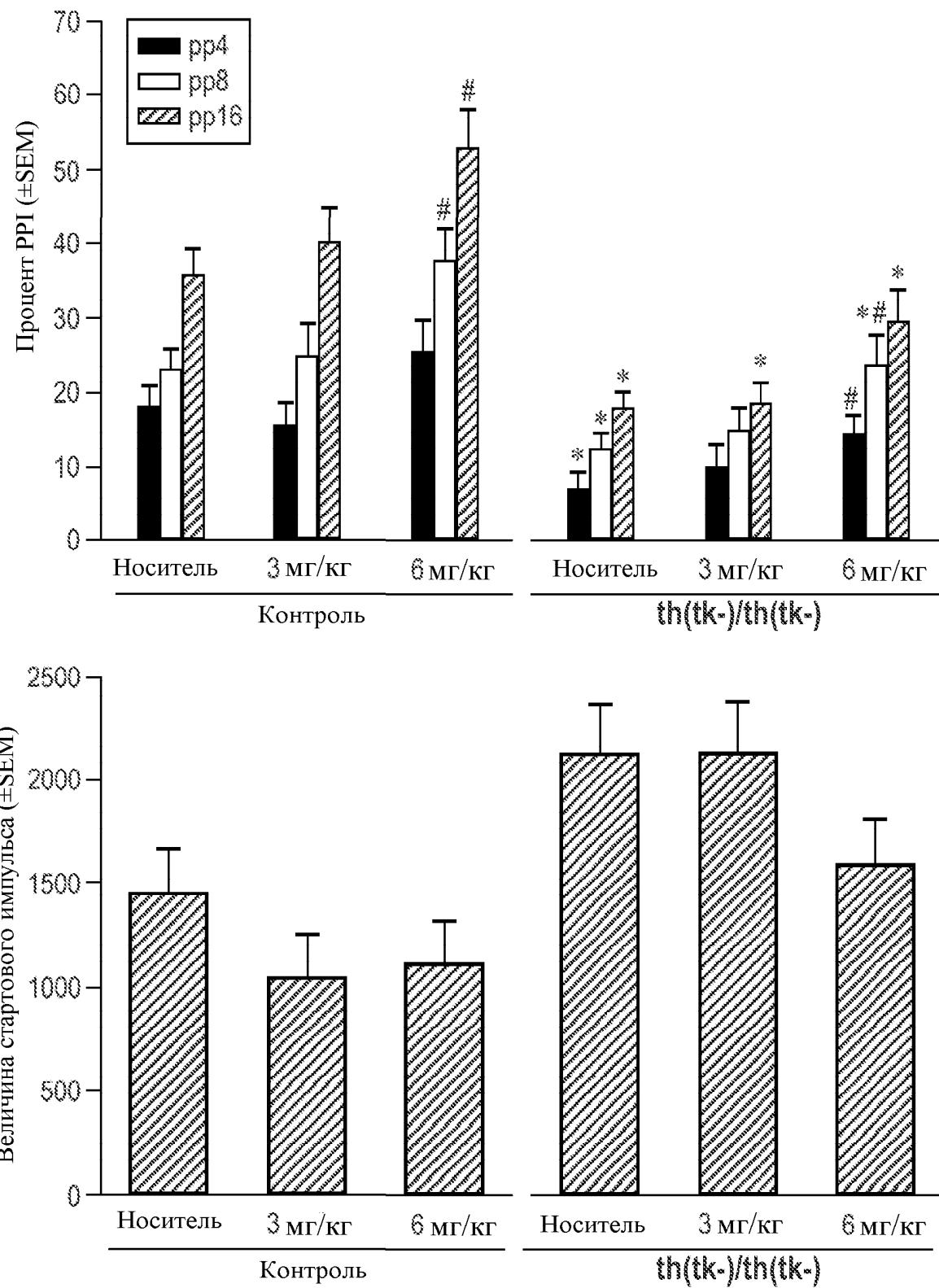
40

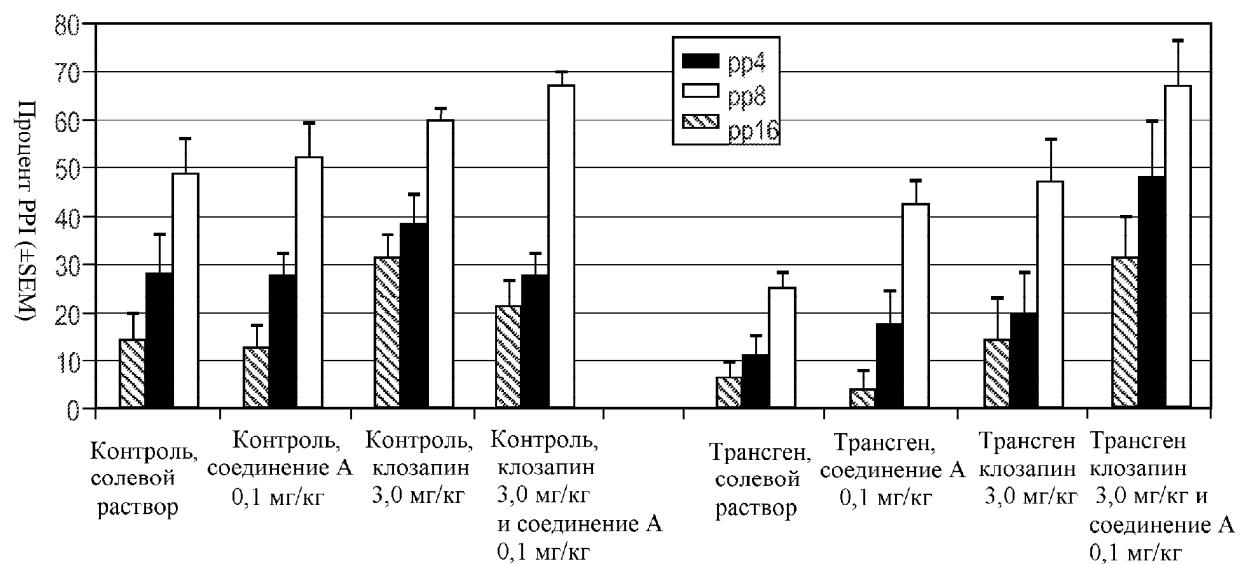
45

50

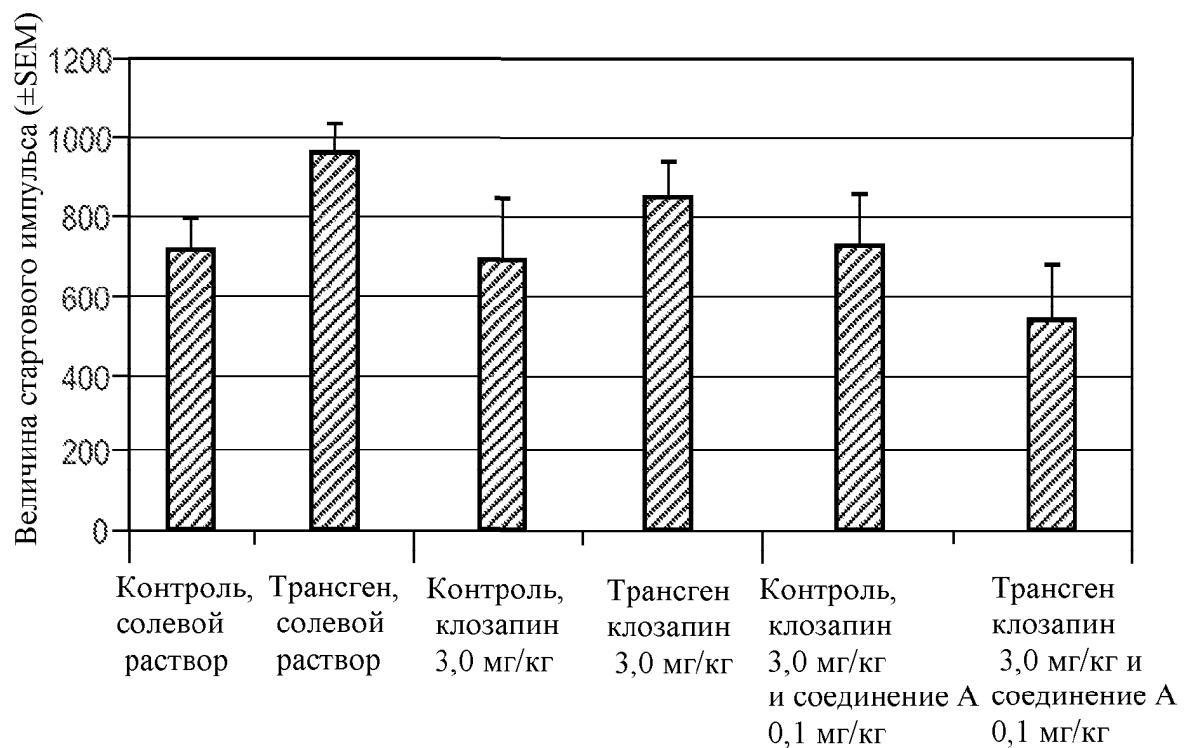
**Фиг. 1****Фиг. 2а**

**Фиг. 2б****Фиг. 3**

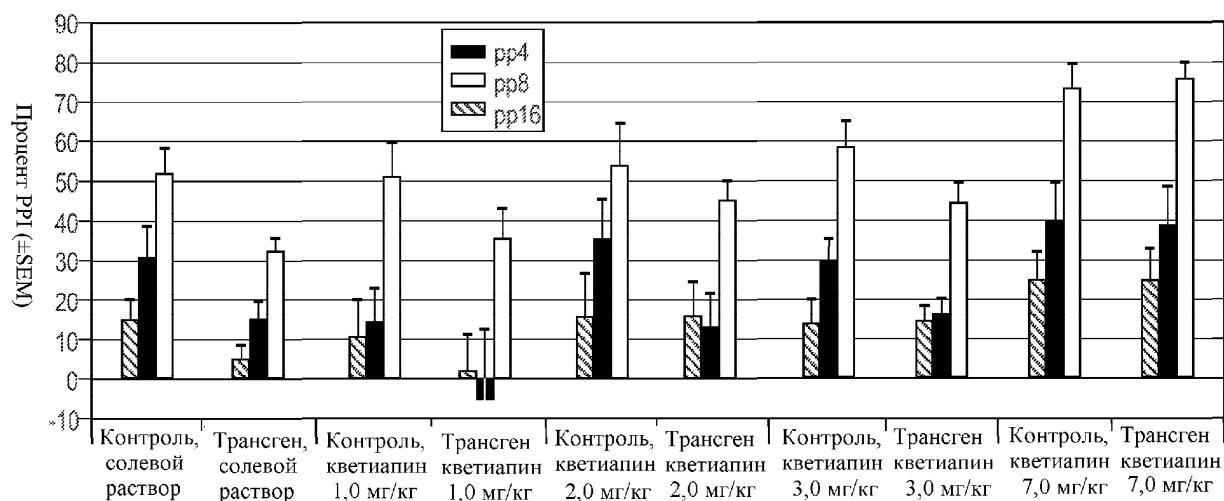
*Фиг. 4*



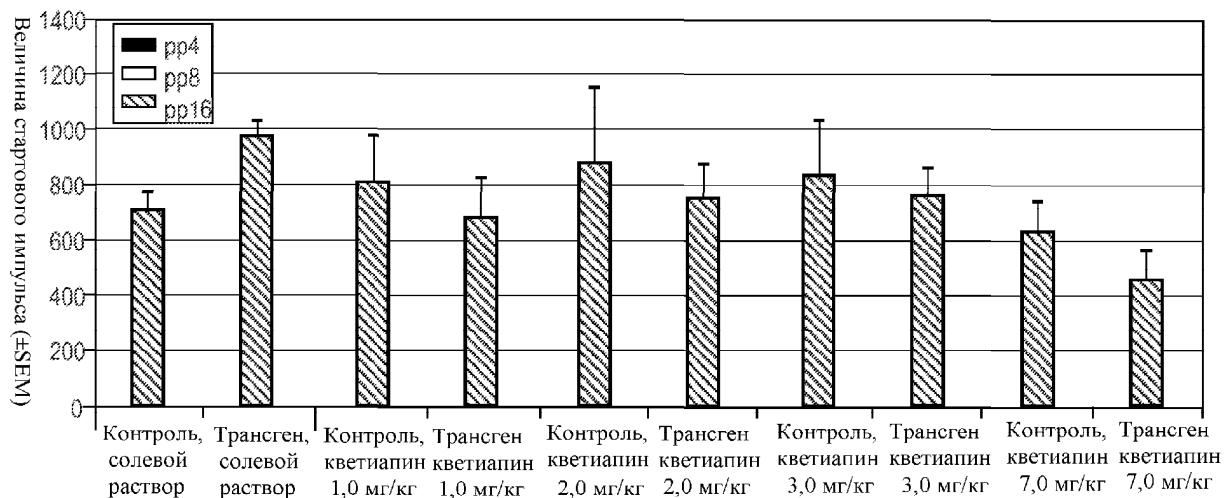
Фиг. 5



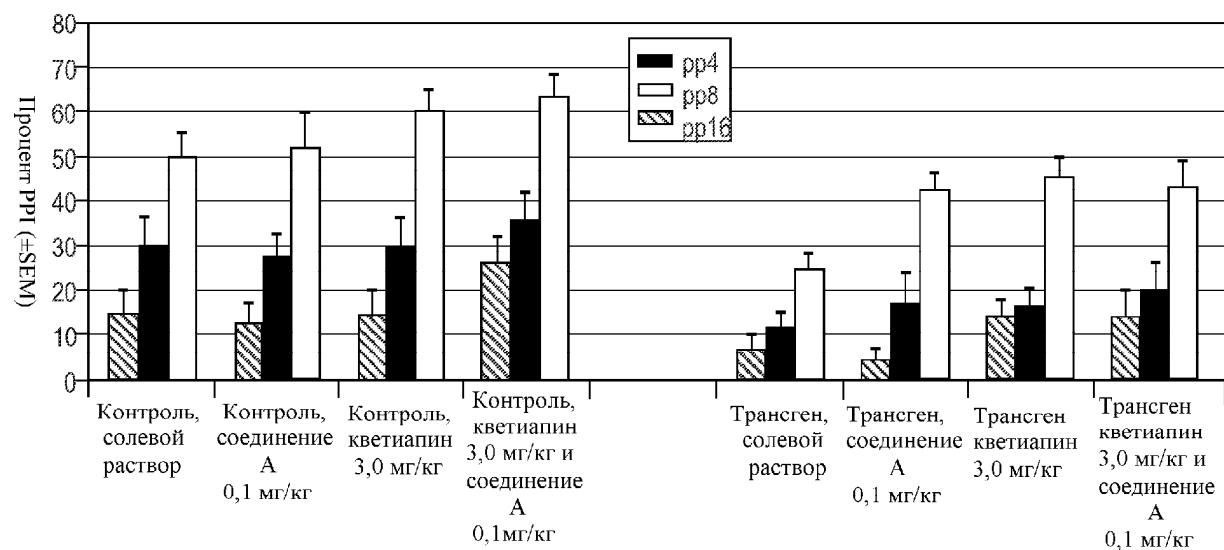
Фиг. 6



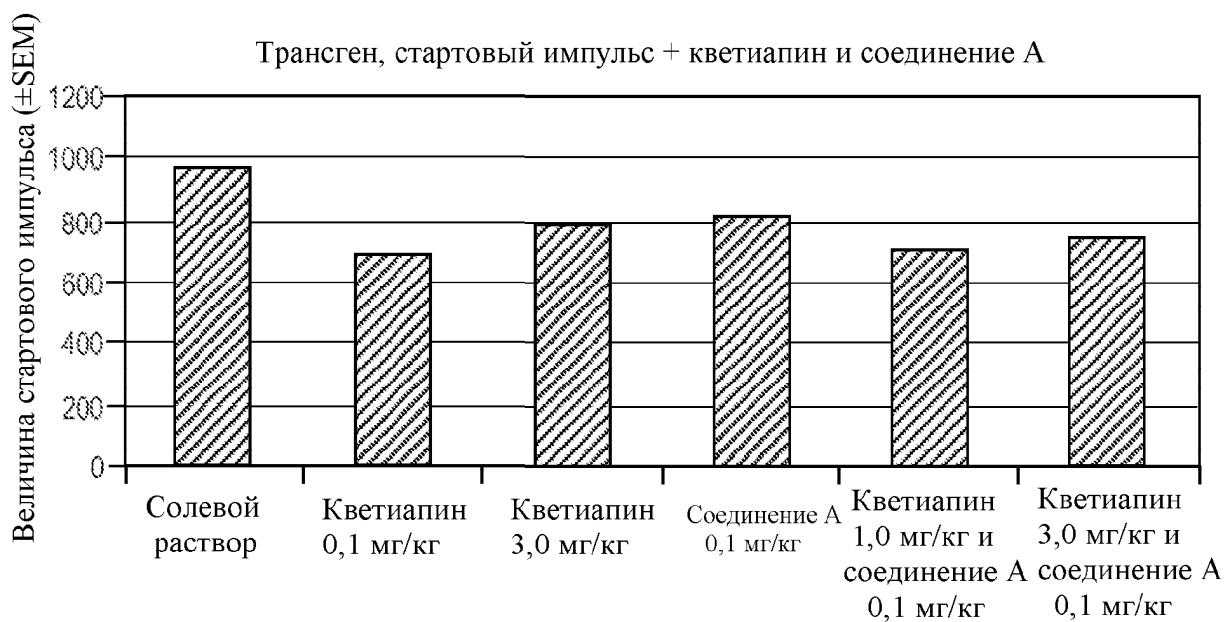
Фиг. 7а



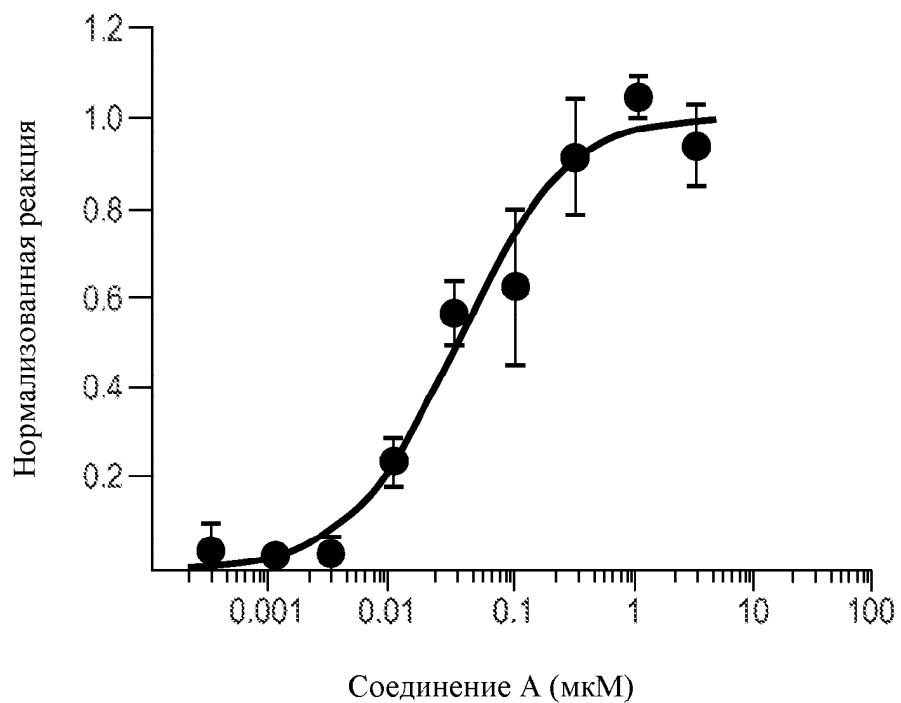
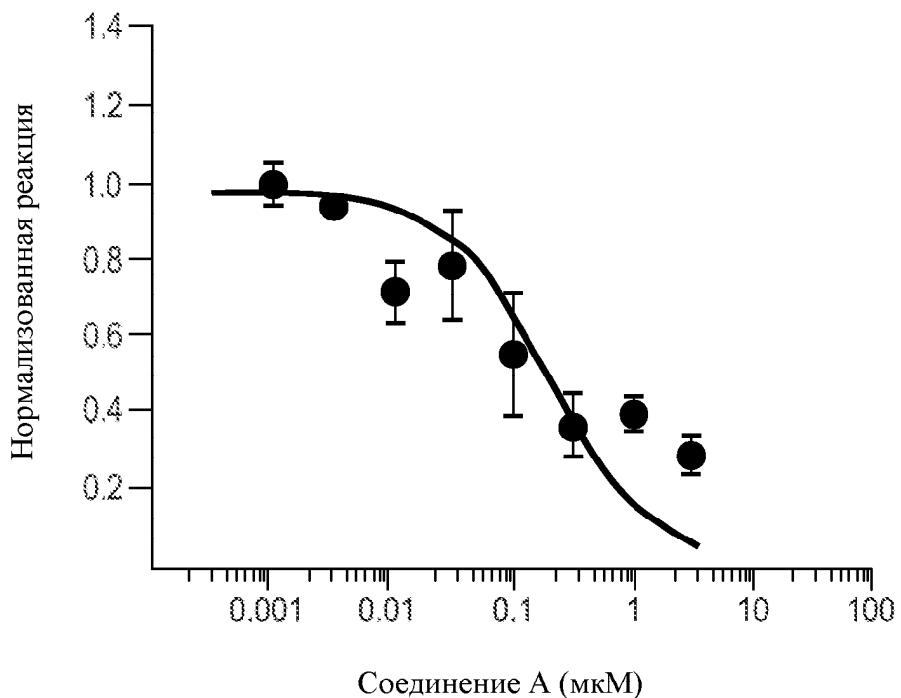
Фиг. 7б

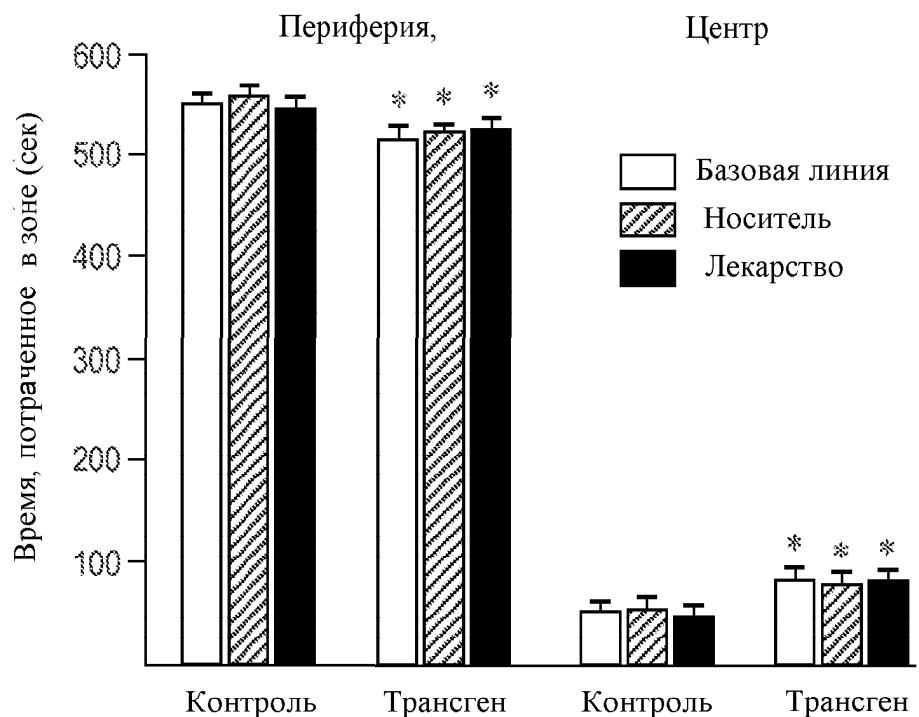
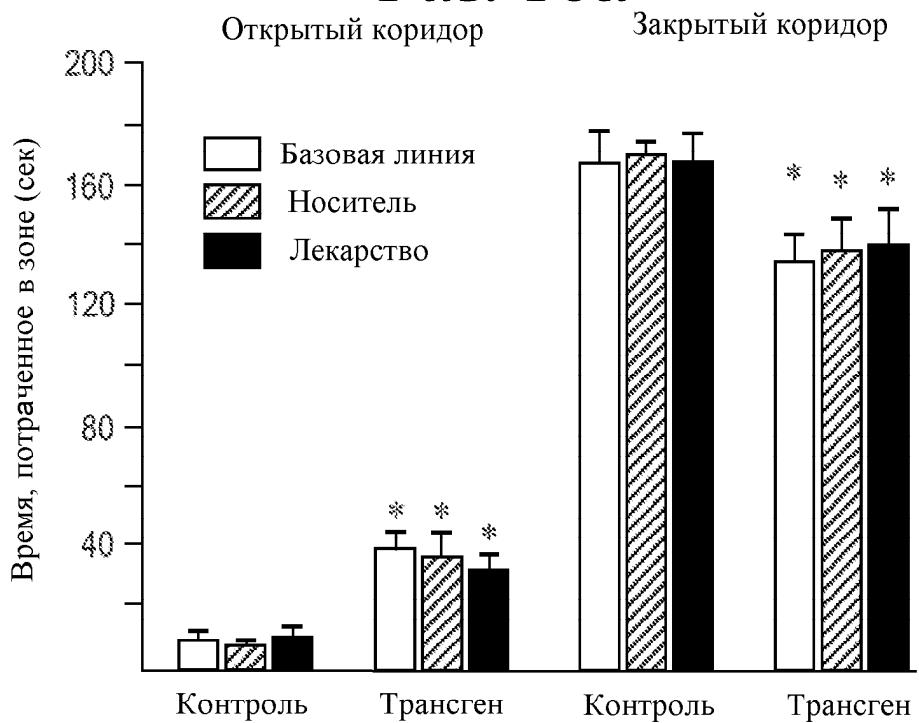


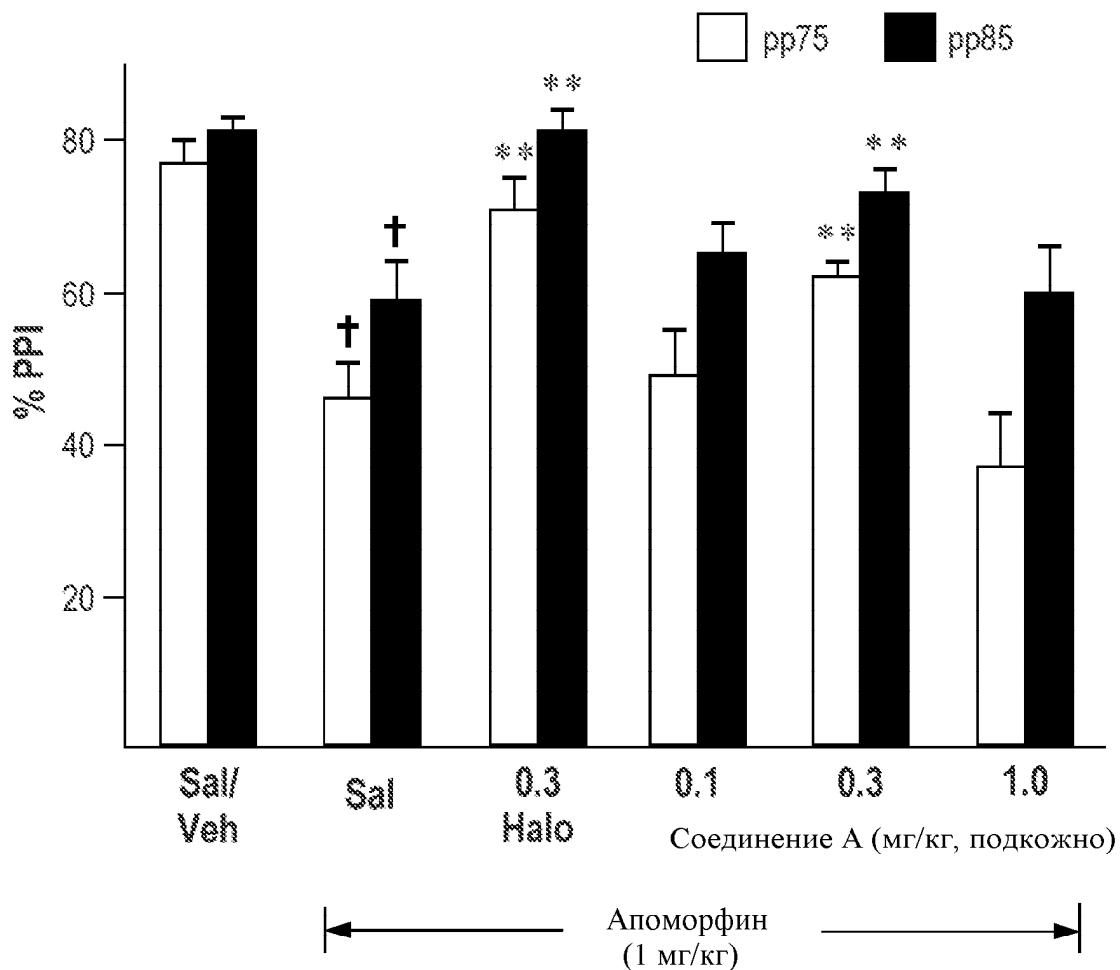
Фиг. 8а



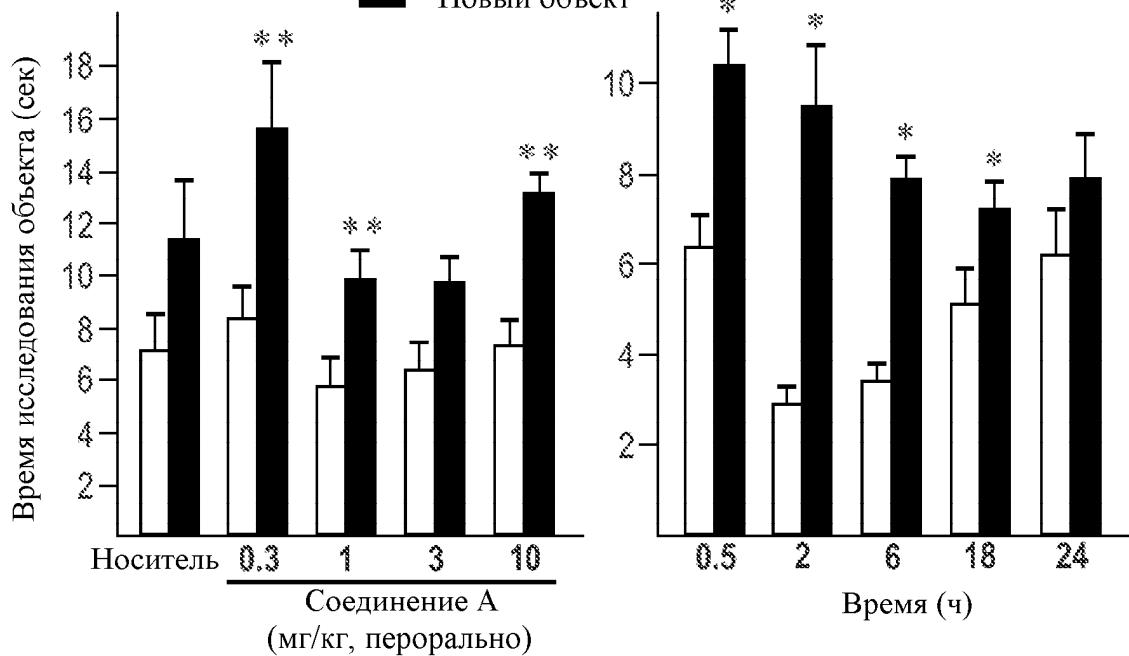
*Фиг. 8b*

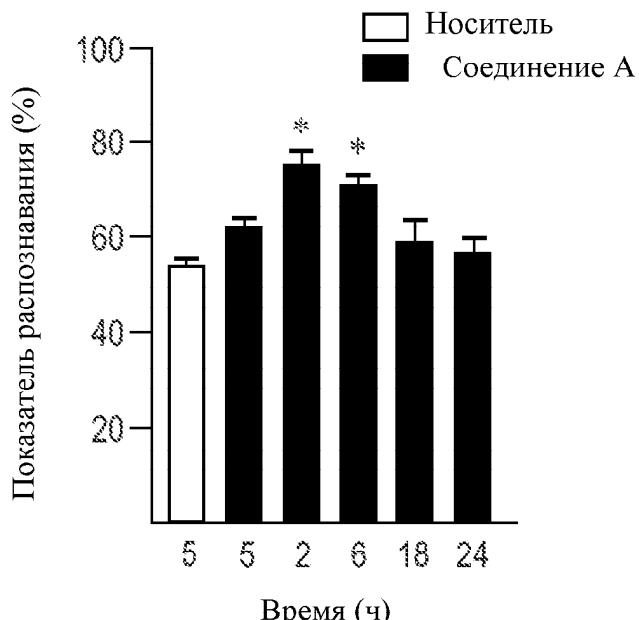
*Фиг. 9а**Фиг. 9б*

*Фиг. 10а**Фиг. 10б*

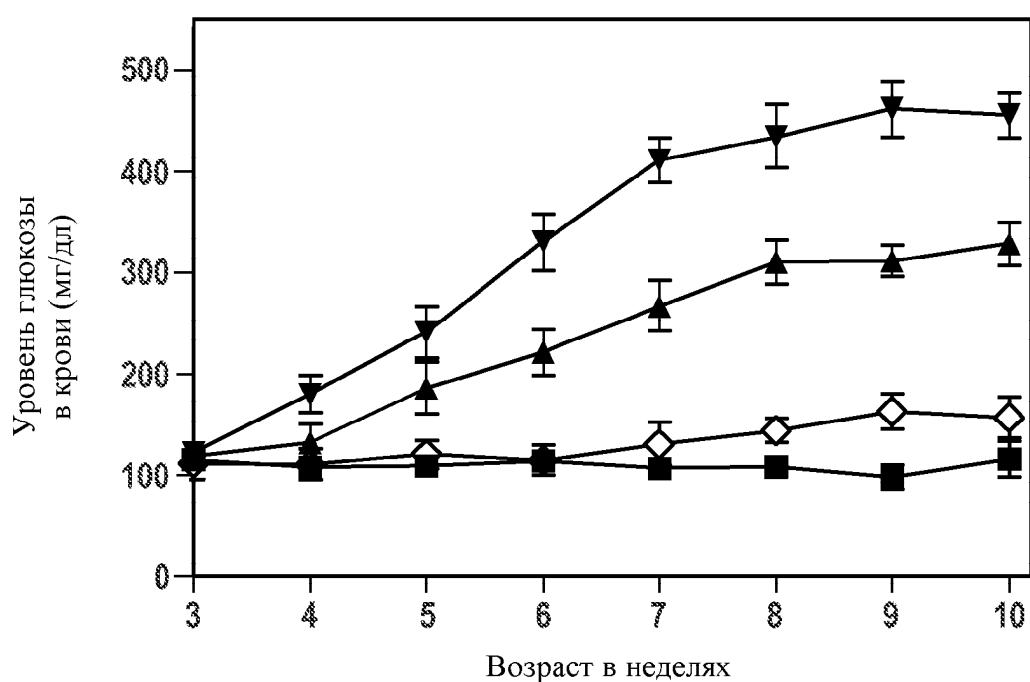
*Фиг. 11*

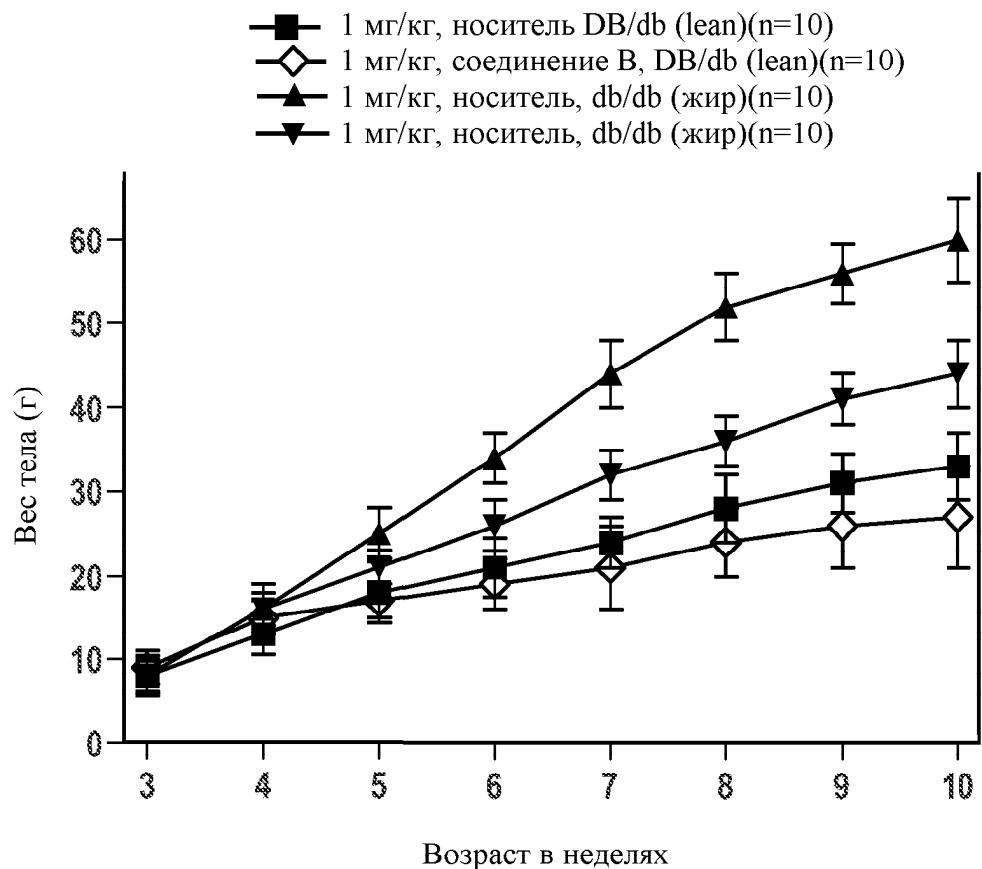
□ Знакомый объект  
■ Новый объект

*Фиг. 12а*

*Фиг. 12б*

- 1 мг/кг соединение B sham DB/db lean (n=8)
- ◇ Sham Jak2 DB/db lean (n=8)
- ▲ 1 мг/кг соединение B db/db, жир (n=8)
- ▼ Sham db/db Fat (n=8)

*Фиг. 13*

*Фиг. 14*