

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 20031191 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 20031191

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification

C07C 217/48 (2006.01)

A61K 31/138 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 20.02.2002

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 25.08.2003

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 25.08.2003

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 14.06.2019

(86) Kansainvälinen hakemus - 20.02.2002 PCT/US2002/003385
Internationell ansökan - International
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

06.03.2001 US 273730 P

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, INDIANAPOLIS, IN 46285, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Mattiuz, Edward Louis, Fishers, IN 46036, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Sauer, John-Michael, Indianapolis, IN 46326, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

3 •Wheeler, William Joe, Indianapolis, IN 46236, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

4 •Wong, David Taiwai, Indianapolis, IN 46226, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Monoamiinin takaisinoton estäjä

Inhibitor för upptagning av monoamin

(57) Tiivistelmä - Sammandrag - Abstract

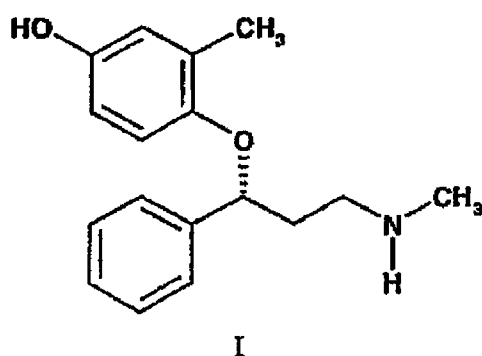
Esillä oleva keksintö antaa käyttöön yhdisteitä ja menetelmiä monoamiinien takaisinoton estämiseksi nisäkkäissä.

Föreliggande uppfinning tillhandahåller föreningar och förfaranden för att förhindra upptagningen av monoaminer i däggdjur.

Monoamiinin takaisinoton estäjä

Monoamiinin takaisinoton ja lukuisten neurologisten sairauksien välinen yhteys nisäkkäissä on tullut todennetuksi, ja 3-aryylioksi-3-substituoitunut 1-aminopropaanit ovat osoittaneet huomattavaa vaihtelua kyvyissään estää monoamiinien takaisinotto. Tietyillä 3-aryylioksi-3-substituoituilla 1-aminopropaaniluokan jäsenillä on havaittu olevan käyttöä neurologisten sairauksien hoidossa. Esimerkiksi fluoksetiini, N-metyyli-3-((4-trifluorimetyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridi on selektiivinen serotoniinin takaisinoton estäjä, joka on saanut markkinoilla hyvän vastaanoton depression hoidossa ja se on hyväksytty monien muiden sairauksien hoitoon. Atomoksetiini, (-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridi, on selektiivinen noradrenaliinin takaisinoton estäjä, jota tutkitaan kliinisesti tarkkaavuus/hyperaktiivisuushäiriön hoidossa. Duloksetiini, (+)-N-metyyli 3-(1-naftaleenyylioksi)-3-(2-tienyyli)-1-aminopropaanihydrokloridi, estää sekä noradrenaliinin että serotoniinin takaisinoton ja on tätä nykyä depression hoidon kliinisessä arvioinnissa. Nämä yhdisteet ovat monien US-patenteissa # 4 018 895, 4 194 009, 4 314 081, 4 956 388 ja 5 023 269 esitettyjen 3-aryylioksi-3-substituoitujen 1-aminopropaanien joukossa. Hydroksyloidun 3-fenoksi-3-fenyyli-1-aminopropaanin käyttökelpoisuutta ei kuitenkaan ole tätä ennen tiedostettu.

Esillä oleva keksintö antaa käyttöön yhdisteen, jolla on kaava I:



tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan.

Tämä keksintö antaa käyttöön myös farmaseuttisen formulaation, joka käsittää kaavan I mukaisen yhdisteen liittyneenä farmaseuttisesti hyväksyttävään kantajaan, laimentimeen tai täyteaineeseen.

Esillä oleva keksintö antaa käyttöön menetelmän noradrenaliinin ja serotoniinin takaisinoton estämiseksi nisäkkäissä, joka menetelmä käsittää

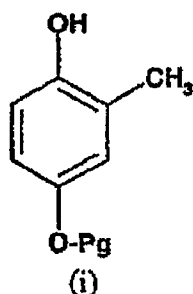
kaavan I mukaisen yhdisteen farmaseuttisesti tehokkaan määrän antamisen
nisäkkäälle, joka on tällaisen eston tarpeessa.

Edelleen tämän keksinnön suoritusmuoto on menetelmä noradrenaliinin ja serotoniinin takaisinoton estämiseksi nisäkkäissä hoidettaessa erilaisia
5 sairauksia, jotka on liitetty vähentyneeseen serotoniinin ja noradrenaliinin neurotransmissioon nisäkkäissä. Näitä sairauksia ovat: depressio, migreenikipu, bulimia, premenstruaalioireyhtymä eli myöhäisen luteaalivaiheen oireyhtymä, alkoholismi, tupakkariippuvuus, paniikkihäiriö, ahdistuneisuus, yleistynyt kipu, posttraumaattinen kipuoireyhtymä, muistinmenetys, vanhuuden dementia, so-
10 siaalinen fobia, tarkkaavuus/hyperaktiivisuushäiriö, psoriaasi, uhmakkuushäiriö, johtumishäiriö, rajatila-persoonallisuushäiriö, pakko-oireinen häiriö, krooninen uupumushäiriö, ennenaikainen ejakulaatio, erektiovaikeudet, anoreksia nervosa, unihäiriöt, autismi, mutismi, allerginen riniitti, vilustumisoireet, narkolepsia, inkontinenssi, trikotillomania, kolmoishermostärky, hammassärky tai
15 Costenin oireyhtymän kipu. Kaikissa näissä menetelmissä käytetään kaavan I mukaista yhdistettä.

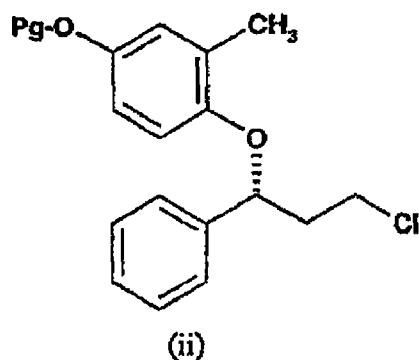
Tämä keksintö antaa myös käyttöön kaavan I mukaisten yhdisteiden käytön lääkkeen valmistamiseksi, jota lääkettä käytetään estämään noradrenaliinin ja serotoniinin takaisinotto. Lisäksi tämä keksintö antaa käyttöön
20 kaavan I mukaista yhdistettä tai sen metabolista prekursoria sisältävän farmaseuttisen formulaation, joka soveltuu noradrenaliinin ja serotoniinin takaisinoton estoon.

Esillä oleva keksintö antaa edelleen käyttöön menetelmän kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi käsittäen vaiheet:

25 a) yhdisteen, jolla on kaava (i)

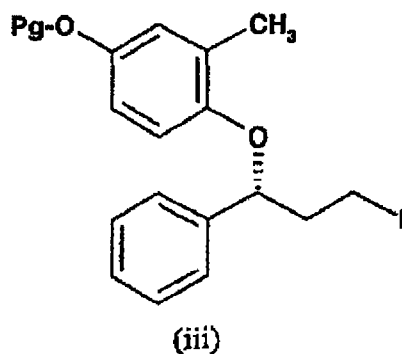


jossa Pg on happisuojarahma, kytkemisen 1-kloori-3-fenyyli-3-hydroksipropaanin kanssa, jotta saadaan yhdiste, jolla on kaava (ii):



jossa Pg on happisuojaryhmä;

b) saattamalla kaavan (ii) mukainen yhdiste reagoimaan jodidi-ionilähteen kanssa, jotta saadaan yhdiste, jolla on kaava (iii):



5

jossa Pg on happisuojaryhmä;

c) saattamalla kaavan (iii) mukainen yhdiste reagoimaan metyyliamiinin kanssa, jotta saadaan R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaani; ja

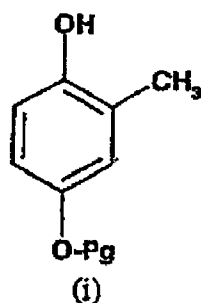
10

d) mahdollisesti käsittelemällä R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaani farmaseuttisesti hyväksyttävällä hapolla.

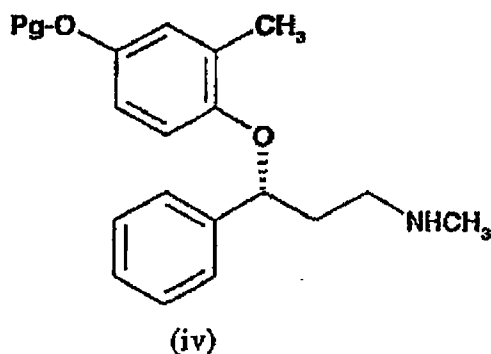
Esillä oleva keksintö antaa myös käyttöön menetelmän kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi käsitäten vaiheet:

15

a) yhdisteen, jolla on kaava (i)



jossa Pg on happisuojarahmä, kytkemisen (S)-1-fenyyli-3-metyyliaminopropan-1-olin kanssa, jotta saadaan yhdiste, jolla on kaava (iv):



jossa Pg on happisuojarahmä;

- 5 b) saattamalla kaavan (iv) mukainen yhdiste reagoimaan suojarahmän poistavan aineen kanssa, jotta saadaan R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaani;

ja

- 10 c) mahdollisesti käsittelemällä R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaani farmaseuttisesti hyväksyttävällä hapolla.

Kaavan (ii), (iii), ja (iv) mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia väliaineita kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi ja edustavat edelleen esillä olevan keksinnön suoritusmuotoja.

- 15 Kaavan I mukaista yhdistettä kutsutaan yleisesti R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaaniksi. Koska tämä yhdiste on amiini, se on luonteeltaan emäksinen ja reagoi siten lukuisten epäorgaanisten ja orgaanisten happojen kanssa farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen muodostamiseksi. On edullista muuttaa vapaa amiini
- 20 farmaseuttisesti hyväksyttäväksi happoadditiosuolaksi käsittelyn ja annon helpottamiseksi. Hapot, joita yleisesti käytetään suolojen muodostamiseen, ovat epäorgaanisia happoja, kuten kloorivetyhappo, bromivetyhappo, jodivetyhappo, rikkihappo, fosforihappo ja vastaavat, ja orgaaniset hapot, kuten p-tolueenisulfonihappo, metaanisulfonihappo, oksaalihappo, p-bromifenyyli-sulfoni-
- 25 happo, hiilihappo, meripihkahappo, sitruunahappo, bentsoehappo, etikkahappo ja vastaavat. Esimerkkejä tällaisista farmaseuttisesti hyväksyttävistä suoloista ovat siten sulfaatti, pyrosulfaatti, bisulfaatti, sulfiitti, bisulfiitti, fosfaatti, monovetyfosfaatti, divetyfosfaatti, metafosfaatti, pyrofosfaatti, kloridi, bromidi, jodidi, asetaatti, propionaatti, dekaanoatti, kaprylaatti, akrylaatti, formiaatti, iso-
- 30 butyraatti, kaproaatti, heptanoaatti, propiolaatti, oksalaatti, malonaatti, sukki-

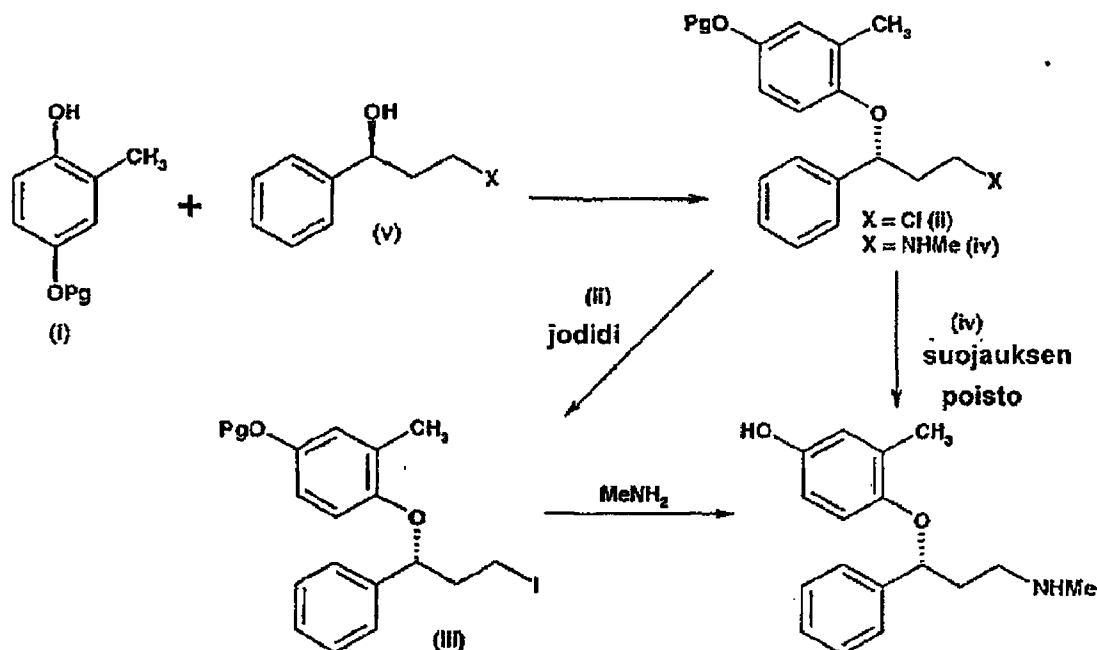
naatti, suberaatti, sebakaatti, fumaraatti, maleaatti, butyyini-1,4-dioaatti, heksyyini-1,6-dioaatti, bentsoaatti, klooribentsoaatti, metyylibentsoaatti, dinitrobentsoaatti, hydroksibentsoaatti, metoksibentsoaatti, ftalaatti, sulfonaatti, ksyleenisulfonaatti, fenyyliasetaatti, fenyylipropionaatti, fenyylibutyraatti, sitraatti, laktaatti, α -hydroksibutyraatti, glykollaatti, tartraatti, metaanisulfonaatti, propaanisulfonaatti, naftaleeni-1-sulfonaatti, naftaleeni-2-sulfonaatti, mandelaatti ja vastaavat. Edullisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat ne, jotka muodostetaan kloorivetyhapon ja oksaalihapon kanssa.

Kaavan I mukainen yhdiste on kiraalinen ja sitä voidaan valmistaa kiraalikromatografialla kaavan I mukaisen yhdisteen raseemisista tai enantiomeerisesti rikastetuista muodoista, tai raseemisesta tai enantiometrisesti rikastetusta vapaasta amiinista ja kiraalisesta haposta valmistettujen suolojen jakokiteytyksellä. Vaihtoehtoisesti, vapaa amiini voidaan saattaa reagoimaan kiraalisen apuaineen kanssa ja erottaa enantiomeerit kromatografialla, mitä seuraa kiraalisen apuaineen poisto vapaan amiinin tuottamiseksi. Enantiomeerien erottelu voidaan edelleen suorittaa keksinnön mukaisten yhdisteiden synteesin missä tahansa otollisessa vaiheessa. Keksinnön mukaiset yhdisteet valmistetaan edullisesti aloittaen kiraalisista lähtöaineista.

Esillä oleva keksintö antaa käyttöön menetelmän serotoniinin ja noradrenaliinin takaisinoton estoon. Nämä mekanismit ovat käyttökelpoisia nisäkkäillä ja edullinen nisäkäs on ihminen.

3-aryylioksi-3-substituoitujen 1-aminopropaani-yhdisteiden rakenne-
luokka on historiallisesti ollut kiinnostava synteesikohde ja lukuisia käyttökelpoisia synteesejä on kuvattu kirjallisuudessa. Esimerkiksi atomoksetiinin (R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin, aikaisemmin tomoksetiinina tunnetun) ja fluoksetiinin synteesit kuvataan julkaisuis-
sa Tetrahedron Letters, **30** (39), 5207 (1989); Tetrahedron Letters, **35** (9), 1339 (1994); Tetrahedron, **50** (20), 6739 (1997); WO 99/18 947; WO 00/58 262; ja WO 00/61 540. R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaania voidaan kätevästi valmistaa, kuten havainnollistetaan seuraavassa kaaviossa, jossa Pg on happisuojarahma ja "X" on joko kloori tai NHMe.

Kaavio 1



Kaavan (i) mukaiset tarvittavat fenolit voidaan valmistaa kaupallisesti saatavilla olevasta metyylihydrokinonista standardisynteesimenetelmillä lisäämällä sopiva happisuojarahmä. Sopivat fenolien happisuojarahmät ovat alan ammattilaisen hyvin tuntemia ja niitä kuvataan Greenen ja Wutsin teoksessa (Protective Groups in Organic Synthesis, 3. painos, John Wiley and Sons, New York (1999)). Edullisia suojarahmia esillä olevan keksinnön menetelmää varten ovat alkanoyyliesterit ja silyylieetterit. Erityisen edullisia happisuojarahmia ovat asetyyli, tert-butoksikarbonyyli ja tert-butyylidimetyylisilyyli. Tert-butoksikarbonyylin käyttö on erityisen edullista.

Kaavan (v) mukaiset yhdisteet ovat alalla hyvin tunnettuja ja niitä voidaan valmistaa standardisynteesimenetelmillä. Corey ja Reichard (Tetrahedron Letters, **30** (39), 5207 - 5210 (1998); Srebnik, et al (Journal of Organic Chemistry, **53**, 2916 - 2020 (1988)); ja Schneider ja Goergens (Tetrahedron Asymmetry, **3** (4), 525 - 528 (1992)) ovat raportoineet 1-fenyyli-1-hydroksi-3-klooripropaanin (v, X = Cl) synteesejä. 1-fenyyli-1-hydroksi-3-(metyyliamino)propaanin (v, X = NHMe) synteesejä ovat raportoineet Koenig ja Mitchell (Tetrahedron Letters, **35** (9), 1339 - 1342, (1994)); Gao ja Sharpless (Journal of Organic Chemistry, **53**, 4081 - 4084 (1988)); ja EP 0 909 754 A1.

Soveltuva fenoli (i) kytetään joko 1-fenyyli-1-hydroksi-3-klooripropaanin (v, X = Cl) kanssa tai 1-fenyyli-1-hydroksi-3-(metyyliamino)propaanin (v, X = NHMe) kanssa dialkyyliatsodikarboksylaatin ja trifenyylifosfiinin läsnä

ollessa Mitsunobun standardikytkentäolosuhteissa aryylieetterin (ii) tai vastaa-
vasti aryylieetterin (iv) saamiseksi. Tyypillisesti yhdistetään fenoliekvivalentin
(i) liuos ja alkoholiekvivalentin (v) liuos sopivassa liuottimessa noin 1,0 - 1,1
ekvivalenttiin trifenyylifosfiinia. Sopiviin liuottimiin mukaan luetaan mikä tahan-
sa liuotin, joka liuottaa riittävän määrän reagoivia aineita, mahdollistaen reakti-
on tapahtumisen ilman, että haluttu reaktio merkittävästi häiriintyy. Sopivia liu-
ottimia ovat dioksaani, dietyylieetteri ja tetrahydrofuraani. Edullinen liuotin on
tetrahydrofuraani. Tämä liuos jäähdytetään noin -5 - 5 °C:een, edullisesti noin
0 - 5 °C:een. Reaktioseosta pidetään inertissä joko typpi- tai argonatmosfää-
rissä. Reaktioseokseen lisätään noin 1 - 1,5 ekvivalenttia, edullisesti noin 1,1
ekvivalenttia, dialkyyliatsodikarboksylaattia, edullisesti di-isopropyliatsodi-
karboksylaattia. Tuloksena olevaa seosta sekoitetaan sitten noin 1 - 24 tuntia
ja sitten haluttu aryylieetteri eristetään ja puhdistetaan standarditekniikoilla.

Liuosta, jossa on aryylieetteriä (ii) sopivassa liuottimessa, edullisesti
asetonissa, käsitellään jodidi-ionilähteellä, jossa on ioneja noin yksimolaarises-
ta ekvivalentista suureen ylimäärään ioneja. Mikä tahansa jodidi-ionilähde, jo-
ka on yhteensopiva valitun liuottimen ja aryylieetterin (ii) kanssa, on hyväksyt-
tävä. Edullisia jodidi-ionilähteitä ovat natrium- ja kaliumjodidi. Natriumjodidi on
edullinen jodidi-ionilähde. Tuloksena oleva aryylieetteri (iii) eristetään ja puhdis-
tetaan standarditekniikoilla.

Liuos, jossa on aryylieetteriä (iii) sopivassa liuottimessa, tyypillisesti
tetrahydrofuraanissa, saatetaan reagoimaan metyyliamiinin kanssa, jota on
noin ekvivalentista suureen ylimäärään. Metyyliamiini voidaan lisätä kaasuna,
kondensoida reaktioseokseen nesteenä tai lisätä reaktioseokseen vesiliuokse-
na. Kun lisäys on suoritettu, reagoivia aineita sekoitetaan yhdessä noin 1 - 24
tuntiin. Haluttu amiini eristetään ja puhdistetaan sitten standarditekniikoilla.
Alan ammattilainen ymmärtää, että riippuen käytettävästä, erityisestä happi-
suojarahmasta (Pg), tästä vaiheesta saadaan joko kaavan (iv) mukainen yhdis-
te tai R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-amino-
propaani. Esimerkiksi, kun Pg on asetyyli, suojaryhmä poistetaan aminointi-
vaiheen aikana.

Kun kaavan (iv) mukaisen yhdisteen erityinen suojaryhmä (Pg) täy-
tyy poistaa erillisen vaiheen kautta, alan ammattilainen ymmärtää, että erityiset
olosuhteet fenoliryhmän regeneroinnille riippuvat suojaryhmän luonteesta.
Standardimenetelmiä happi-suojaryhmän poistamiseksi kuvataan teoksessa
Greene ja Wuts, *supra*. Kun Pg on esimerkiksi *tert*-butyylidimetyylisilyyli, suoja-

ryhmä poistetaan sopivasti käsittelemällä lähtöainetta silyylieetteri (iv) fluoridi-ionilähteellä sopivassa liuottimessa. Vaihtoehtoisesti milloin Pg on tert-butoksi-karbonyyli, suojaryhmä poistetaan sopivasti käsittelemällä hapolla, tyypillisesti kloorivetyhapolla. Tuloksena saatu R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksi-
 5 fenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaani voidaan sitten eristää ja puhdistaa standardimenetelmillä.

Seuraavat valmisteet ja esimerkit havainnollistavat tarkemmin esillä olevan keksinnön suoritusmuotoja ja R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksi-fenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin valmistamista.

10 Valmiste I

4-asetoksi-2-metyylifenoli

Etikkahappoanhydridiä (4,73 g, 4,37 ml, 46,3 mmol) lisättiin tipoit-tain seokseen, jossa oli 4-hydroksi-2-metyylifenolia (5 g, 46,3 mmol) ja cesium-karbonaattia (15,1 g, 46,3 mmol) asetonitrilissä. Kun oli sekoitettu yön yli, seos
 15 suodatettiin ja suodos konsentroitiin alipaineessa. Jäännökseen kohdistettiin silikageelikromatografia eluoiden 5:1 pentaani:etyyliasetaatilla. Fraktiot, jotka sisälsivät reaktiotuotetta, yhdistettiin ja konsentroitiin alipaineessa, mistä saa-tiin 0,24 g (3 %) haluttua yhdistettä.

¹H-NMR(CDCI₃) δ 1,54 (1H, bs), 2,18 (3H, s), 2,22 (3H, s), 6,59 (1H,
 20 m), 6,65 (1H, m), 6,82 (1H, m).

Valmiste II

(S)-3-kloori-1-fenyyli-1-propanoli

Liuokseen, jossa oli (S)-1-fenyyli-1,3-dipropaanidiolia (125 g, 0,822 mol) metyyli tert-butyylieetterissä (500 ml), lisättiin trietyyliamiinia (135 ml).
 25 Reaktioseos jäähdytettiin 0 °C:een ja liuos, jossa oli 4-bromibentseenisulfonyyli-kloridia (230 g, 0,92 mol) metyyli tert-butyylieetterissä (300 ml) ja tetrahydro-furaania (300 ml), lisättiin tipoitain 3 tunnin kuluessa. Lisäyksen jälkeen reak-tioseosta sekoitettiin 0 °C:ssa kolme tuntia ja lämmitettiin sitten ympäristön lämpötilaan. Kun oli sekoitettu ympäristön lämpötilassa 18 tuntia, lisättiin bent-syylietrietyyliammoniumkloridia (210 g, 0,92 mol) ja tuloksena saatua seosta
 30 lämmitettiin 55 °C:ssa kolme tuntia. Reaktioseos jäähdytettiin ympäristön läm-pötilaan ja laimennettiin sitten vedellä. Orgaanisen faasin erottelun jälkeen ve-sifaasi uutettiin kaksi kertaa dietyylieetterillä. Yhdistetyt orgaaniset uutteet pes-tiin 1,0 N kloorivetyhapolla, kylläisellä vesipitoisella natriumbikarbonaatilla, ve-

dellä, kylläisellä vesipitoisella natriumkloridilla, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja konsentroitiin alipaineessa, mistä saatiin murretun valkoinen kiinteä aine (160 g). Tähän kiinteään aineeseen kohdistettiin silikageelikromatografia eluoiden etyyliasetaatti/heksaanilla (1:9), mistä saatiin 110 g (80 %) otsikon yhdistettä.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ (400 MHz) δ : 2,20 (m, 1H), 2,45 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 4,95 (m, 1H), 7,45 (m, 5H).

MS(FAB): m/z = 172,0 (10 %), 170 (23 %), 154 (10 %), 132 (25 %), 117 (5 %), 107 (100 %), 79 (54 %), 77 (45 %), 51 (19 %).

10 Valmiste III

4-((tert-butoksikarbonyyli)oksi)-2-metyylifenoli

Di-tert-butoksikarbonaatti (52,4 g, 0,24 mol), joka oli tetrahydrofuranissa (100 ml), lisättiin tipoittain liuokseen, jossa oli metyylihydrokinonia (99,2 g, 0,80 mol) ja dimetyyliaminopyridiiniä (4,8 g, 4,0 mmol) dietyylieetterissä (1,1 l) ympäristön lämpötilassa. Kun oli sekoitettu 40 minuuttia, reaktioseoksen reaktio pysäytettiin 1 N kloorivetyhapolla (200 ml). Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kylläisellä vesipitoisella natriumkloridilla (200 ml), kuivattiin natriumsulfaatilla ja konsentroitiin raa'aksi öljyksi, joka kiinteytyi seisotettaessa. Raa'an kiinteän aineen puhdistus Biotage Flash 75-kromatografialla 94/6 heksaani/etyyliasetaatilla (94/6) eluoiden tuotti murretun valkoisen kiinteän aineen, joka toistokiteytettiin dikloorimetaani/heksaanista (15/85), mistä saatiin 28,5 (53 %) otsikon yhdistettä.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ (300 MHz) δ : 1,55 (s, 9H), 2,22 (s, 3H), 4,76 (s, 1H), 6,68 (d, J = 8,78 Hz, 1H), 6,85 (dd, J = 8,78 Hz ja 2,92 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 2,92 Hz, 1H).

MS(FAB): m/z = 225,3, 211,3, 169,3, 155,2, 142,2.

Esimerkki 1

(R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-amino-propaanioksaatti

30 (R)-3-kloori-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-asetoksifenoksi)propani.

Liuos, jossa oli (S)-(-)-3-kloori-1-fenyyli-1-propanolia (0,204 g, 1,20 mmol), 4-asetoksi-2-metyylifenolia (0,200 g, 1,2 mmol) ja triefenyyliafosfiinia (0,346 g, 1,32 mmol) 10 ml:ssa tetrahydrofuraania, jäähdytettiin 0 - 5 °C:seen argonissa. Tätä seosta käsiteltiin tipoittain di-isopropyylisodikar-

boksylaatilla (0,26 ml, 1,32 mmol) tetrahydrofuraanissa (2 ml). Tuloksena saatua seosta sekoitettiin 1 tunti 0 - 5 °C:ssa ja annettiin sitten lämmetä huoneenlämpöiseksi. Kun oli sekoitettu huoneenlämmössä yön yli, reaktioseos konsentroidiin alipaineessa ja jäännös hierrettiin jauheeksi 10-prosenttisella etyyliasetaatilla pentaanissa ja sekoitettiin kunnes suspendoitu kiinteä aine oli kiteistä. Suspensio suodatettiin ja talteen otettu kiteinen kiinteä aine pestiin 10-prosenttisella etyyliasetaatilla pentaanissa. Yhdistetyt suodokset konsentroidiin alipaineessa ja jäännökseen kohdistettiin silikageelikromatografia eluoiden tolueenilla. Fraktiot, jotka sisälsivät reaktiotuotetta, yhdistettiin ja konsentroidiin alipaineessa, mistä saatiin 0,205 g (54 %) haluttua yhdistettä vaalean keltaisena öljynä.

MS(FD): $m/e = 318$ (M^+)

(R)-3-jodi-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-asetoksifenoksi)propaani

Seosta, jossa oli (R)-3-kloori-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-asetoksifenoksi)propaania (0,200 g, 0,63 mmol) ja 15 ml kaliumjodidilla kyllästettyä asetonia, sekoitettiin refluksoiden argonissa yön yli. Reaktioseos kaadettiin 50 ml:aan dietyylieetteriä ja tuloksena saatu suspensio suodatettiin. Suodos pestiin kyläisellä vesipitoisella natriumvetysulfiitilla ja sen jälkeen vedellä. Jäljelle jäänyt orgaaninen faasi kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja konsentroidiin alipaineessa, mistä saatiin 0,18 g (70 %) haluttua yhdistettä värittömänä öljynä.

MS(FD): $m/e = 410$ (M^+)

Aminointi

Seosta, jossa oli (R)-3-jodi-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-asetoksifenoksi)propaania (0,180 g, 0,44 mmol) ja 40-prosenttista vesipitoista metyyliamiinia (5 ml, 71 mmol) 15 ml:ssa tetrahydrofuraania, sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yön yli. Reaktioseos konsentroidiin alipaineessa ja jäännös jaettiin veden ja etyyliasetaatin kesken. Etyyliasetaatifaasi pestiin vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla, ja konsentroidiin alipaineessa. Jäännös liuotettiin etyyliasetaatiin ja käsiteltiin oksaalihapolla (0,04 g, 0,44 mmol). Tuloksena saatu valkoinen kiinteä aine otettiin talteen suodattamalla, pestiin etyyliasetaatilla ja kuivattiin alipaineessa, mistä saatiin 0,107 g (67 %) otsikon yhdistettä.

MS(FD): $m/e = 271$ (M^+)

EA: Laskettu $C_{19}H_{23}NO_6$:lle: Teoria: C, 63,15; H, 6,41; N, 3,88. Havaittu: C, 63,32; H, 6,59; N, 3,99.

Esimerkki 2

R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-amino-propaanihydrokloridi

(R)-3-kloori-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-O-*tert*-butoksikarboksifenoksi)propaani.

Uunissa kuivattuun 2 l:n 3-kaulakolviin ladattiin (S)-3-kloori-1-fenyylipropanolia (52 g, 304 mmol), 4-((*tert*-butoksikarbonyyli)oksi)-2-metyylifenolia (73,86 g, 329 mmol), trifenyylifosfiinia (87,36 g, 333 mmol) ja vedetöntä tetrahydrofuraania (600 ml). Reaktioseos jäähdytettiin 0 °C:seen ja liuos, jossa oli di-isopropyliatsadikarboksylaattia (76 ml, 365 mmol) kuivassa tetrahydrofuraanissa (100 ml), lisättiin 6 tunnin kuluessa. Reaktioseosta sekoitettiin vielä kaksi tuntia 0 °C:ssa ja annettiin sitten asteittain lämmetä huoneenlämpöiseksi. Reaktioseosta sekoitettiin edelleen huoneenlämmössä 24 tunnin ajan ja reaktioseos konsentroidtiin alipaineessa. Jäännös käsiteltiin 2 l:lla 9:1 pentaani:etyyliasetaatia. Tuloksena saatu suspensio säilytettiin -20 °C:ssa 24 tunnin ajan ja liukenematon materiaali poistettiin suodattamalla. Saostuma pestiin 9:1 pentaani:etyyliasetaatilla (200 ml). Yhdistetyt suodokset konsentroidtiin alipaineessa. Raaka jäännös (150 g) puhdistettiin 150-flash Biotage esipakatulla kolonnilla eluoiden 3-prosenttisellä etyyliasetaatilla heksaanissa, mistä saatiin (R)-3-kloori-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-((*tert*-butoksikarbonyyli)oksi)-fenoksi)propaania (100g) 85 %:n saannolla.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: (400 MHz) 1,50 (s, 9H), 2,20 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,46 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 5,31 (m, 1H), 6,56 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,72 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 7,32 (s, 4H).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ: (75 MHz) 15,27, 16,59, 27,69, 41,25, 41,48, 83,20, 113,15, 113,71, 118,42, 118,84, 122,21, 123,42, 125,39, 125,81, 127,93, 128,17, 128,80, 140,77, 144,29, 152,46, 153,44,

MS(FAB): m/z = 376,145.

EA: Laskettu C₂₁H₂₅ClO₄:lle: C, 66,93; H, 6,69; Cl, 9,41. Havaittu: C, 66,94; H, 6,74; Cl, 9,67.

(R)-3-jodi-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-((*tert*-butoksikarbonyyli)oksi)fenoksi)propaani

Kuiva 1 l:n R.B-kolvi ladattiin (R)-3-kloori-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-((*tert*-butoksikarbonyyli)oksi)fenoksi)propaanilla (18,00 g, 47,80 mmol), natriumjodidilla (90 g, 600 mmol) ja 2-butanonilla (550 ml). Reaktiokolvi suojattiin

valolta. Reaktioseosta sekoitettiin refluksointilämpötilassa työssä 16 tunnin ajan. Seos jäähdytettiin huoneenlämpöiseksi ja kaadettiin eetteriin (1 l). Liukenevimmattomat epäorgaaniset suolat (valkoinen saostuma) poistettiin suodattamalla. Suodos konsentroitiin alipaineessa ja raakajäännös liuotettiin dietyyli-

5 eetteriin (1 l). Eetterikerros pestiin kylmällä kylläisellä natriumbisulfiittiliuoksella (2 x 200 ml), vedellä ja kylläisellä vesipitoisella natriumkloridilla. Orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla ja konsentroitiin alipaineessa. Jäännökseen kohdistettiin flash-kromatografia, eluoiitiin 20-prosenttisella etyyliasetaatilla heksaanissa, mistä saatiin 20,5 g (91 %) haluttua yhdistettä.

10 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 400 MHz) δ 1,56 (s, 9H), 2,30 (s, 3H), 2,40 (1H, m), 2,50 (1H, m), 3,25 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 5,21 (m, 1H), 6,55 (d, $J = 8,8$, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,95 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,37 (m, 4H).

MS(FAB): $m/z = 468,0$ (100%), 342 (10%).

EA: Laskettu $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{IO}_4$:lle: C, 53,86, H, 5,38. Havaittu: C, 53,36, H, 4,79.

Aminointi / suojauksen poisto / suolan muodostaminen

(R)-3-jodi-1-fenyyli-1-(2-metyyli-4-((tert-butoksykarbonyyli)oksi)fenoksi)propani (20,0 g, 42,66 mmol) liuotettiin vedettömään tetrahydrofuraaniin (100 ml). Liuosta käsiteltiin metyyliamiinilla (300 ml, 2 M liuos tetrahydrofuraanissa) typpiatmosfäärissä ja reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 15 tuntia, minkä aikana reaktioseos konsentroitiin kuivaksi. Jäännös käsiteltiin etyyliasetaatilla ja kylmällä vedellä. Erottui kaksi kerrosta. Vesikerros uutettiin etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin huolellisesti kylmällä kylläisellä natriumbisulfiittiliuoksella, kylmällä vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja konsentroitiin alipaineessa. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin. Liuos uutettiin jääkylmällä 0,1 N kloorivetyhapolla. Vesiliuoksen lyofilisointi tuotti keltaisen kiinteän aineen, joka liuotettiin metanoliin ja joka kuljetettiin lyhyen aktiivihiilikolonnin, Norit, 100 meshin jauhe (2 % aktiivihiiltä), läpi. Liuotin poistettiin ja tuloksena saatu hydrokloridisuola saostui hierrettäessä jauheeksi minimaalisen vesimäärän kanssa. Hydrokloridisuola toistokiteytettiin vedestä, mistä saatiin haluttu tuote (7,22 g, 55 %).

35 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO 300 MHz) δ 2,12 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,99 (m, 2H), 5,31 (m, 1H), 6,33 (dd, $J = 8,7$ Hz and 2,56 Hz, 1H), 6,51 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 7,34 (m, 5H), 8,77 (s, 1H), 8,85 (br s, 1H).

MS(FAB): $m/z = 272,4$.

EA: Laskettu $C_{17}H_{21}NO_2 \cdot HCl$:lle: C, 66,33, H, 7,20, N, 4,55, Cl, 11,52. Havaittu: C, 66,23, H, 7,22, N, 5,37, Cl, 11,23.

Kaikkia yhdisteitä pidetään oraalisesti käytettävissä olevina ja niitä annetaan normaalisti oraalisesti ja oraallinen anto on siten edullinen. Oraalinen anto ei kuitenkaan ole ainoa reitti eikä edes ainoa edullinen reitti. Transdermaalinen anto esimerkiksi voi olla hyvin toivottavaa potilaille, jotka unohtelevat tai ovat oikuttelevia oraalisen lääkkeen oton suhteen. Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan erityisissä olosuhteissa antaa myös perkutaanisen, intravenoosisen, intramuskulaarisen, intranasaalisen tai intratekaalisen reitin kautta. Antoreittiä voidaan vaihdella millä tahansa tavalla, rajoituksena lääkkeen fysikaaliset ominaisuudet, potilaan ja hoidon antajan mukavuus ja muut asiaan kuuluvat olosuhteet (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. painos, Mack Publishing Co. (1990)).

Farmaseuttiset koostumukset valmistetaan tavalla, joka on farmaseuttisella alalla hyvin tunnettu. Kantaja tai täyteaine voi olla kiinteää, puolijähmeää tai nestemäistä ainetta, joka voi toimia vaikuttavan aineosan vehikkelinä tai väliaineena. Sopivat kantajat tai täyteaineet ovat alalla hyvin tunnettuja. Farmaseuttinen koostumus voidaan muokata oraalista, inhalaatio-, parenteraalista tai paikallista käyttöä varten ja se voidaan antaa potilaalle tablettien, kapselien, aerosolien, inhalaatioiden, peräpuikkojen, liuosten, suspensioiden tai vastaavien muodossa.

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan antaa oraalisesti, esimerkiksi inertin laimentimen kanssa tai kapselina tai tableteiksi puristettuna. Oraalisen terapeuttiläimän tarkoitukseen yhdisteet voidaan yhdistää täyteaineisiin ja käyttää tablettien, resoriblettien, kapselien, eliksiirien, suspensioiden, siirappien, vohveleiden, purukumien ja vastaavien muodossa. Näiden valmisteiden tulisi sisältää ainakin 4 % esillä olevan keksinnön mukaisista yhdistettävistä, vaikuttavasta aineesta, mutta määrä voi vaihdella riippuen nimenomaisesta muodosta ja voi sopivasti olla välillä 4 - 70 % yksikön painosta. Koostumuksissa olevan yhdisteen määrä on sellainen, että sopiva annostus voidaan saavuttaa. Alan ammattilainen voi määrittää esillä olevan keksinnön mukaiset edulliset koostumukset ja valmisteet.

Tabletit, pillerit, kapselit, resoribletit ja vastaavat voivat myös sisältää yhtä tai useampaa seuraavista apuaineista: sitojia, kuten mikrokiteistä seluloosaa, traganttikumia tai liivatetta; täyteaineita, kuten tärkkelystä tai laktoosia, hajottavia aineita, kuten algiinihappoa, Primogeliä, maissitärkkelystä ja

vastaavia; liukuaineita, kuten magnesiumstearaattia tai Sterotexiä; luikumis-
aineita, kuten kolloidaalista piidioksidia; ja makeutusaineita, kuten sakkaroosia
tai sakariinia, voidaan lisätä tai makua antavia aineita, kuten piparminttua, me-
tyylisalisylaattia tai appelsiinin makua. Kun yksikköannostusmuoto on kapseli,
5 se voi sisältää yllä mainittujen materiaalityyppien lisäksi nestemäisen kantajan,
kuten polyteeniglykolin tai rasvaöljyn.

Muut yksikköannostusmuodot voivat sisältää erilaisia muita aineita,
jotka modifioivat yksikköannoksen fysikaalista muotoa, esimerkiksi päällysteitä.
Tabletit tai pillerit voidaan siten päällystää sokerilla, sellakalla tai muilla pääl-
10 lysaineilla. Siirappi voi sisältää esillä olevien yhdisteiden lisäksi, sokeria ma-
keutusaineena ja tiettyjä säilöntäaineita, värejä ja väri- ja makuaineita. Ainei-
den, joita käytetään näiden eri koostumusten valmistamisessa, tulisi olla far-
maseuttisesti puhtaita ja käytettynä määrinä myrkyttömiä.

Formulaatio, joka on käyttökelpoinen annettaessa R-(-)-N-metyyli
15 3-((2-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia (atomoksetii-
nia), R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopro-
paanin metabolistä prekursoria, käsittää kuivan seoksen, jossa on R-(-)-N-me-
tyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia laimentii-
men ja liukuaineen kanssa. Tärkkelys, kuten esiturvotettu maissitärkkelys, on
20 sopiva laimennin ja silikoniöljy, kuten dimetikoni, sopiva liukuaine käytettäväksi
kovissa liivatekapseleissa. Valmistetaan sopivia formulaatioita, jotka sisältävät
noin 0,4 – 26 % R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopro-
paanihydrokloridia, noin 73 – 99 % tärkkelystä ja noin 0,2 – 1,0 % silikoniöljyä.
Seuraavat taulukot havainnollistavat erityisen edullisia formulaatioita:

25

Aineosa (%)	2,5 mg	5 mg	10 mg	18 mg	20 mg	25 mg	40 mg	60 mg
R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli- fenyyli)oksi)-3-fenyyli- 1-aminopropaani-hydrokloridi	1,24	2,48	4,97	8,94	9,93	12,42	19,87	22,12
Dimetikoni	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Esiturvotettu tärkkelys	98,26	97,02	94,53	90,56	89,57	87,08	79,63	77,38

Aineosa (mg/kapseli)	2,5 mg	5 mg	10 mg	18 mg	20 mg	25 mg	40 mg	60 mg
R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli- lifenyyli)-oksi)-3-fenyyli-1- aminopropaani-hydrokloridi	2,86	5,71	11,43	20,57	22,85	28,57	45,71	68,56
Dimetikoni	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,55
Esiturvotettu tärkkelys	225,99	223,14	217,42	208,28	206,00	200,28	183,14	239,89
Kapselin täyttöpaino (mg)	230	230	230	230	230	230	230	310
Kapselin koko	3	3	3	3	3	3	3	2

- Parenteraaliseen terapeuttiin antotavan tarkoitukseen esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan yhdistää liuokseen tai suspensioon. Nämä valmisteet sisältävät tyypillisesti ainakin 0,1 % keksinnön mukaista yhdistettä, mutta määrä voi vaihdella välillä 0,1 - 90 % valmisteen painosta. Kaavan I mukaisen yhdisteen määrä tällaisissa koostumuksissa on sellainen, että sopiva annostus saavutetaan. Liuoksissa tai suspensioissa voi olla myös yksi tai useampia seuraavista apuaineista: steriilejä laimentimia, kuten injektioon tarkoitettua vettä, fysiologista suolaliuosta, rasvaöljyjä, polyeteeniglykoleja, glyseriiniä, propyleeniglykolia tai muita synteettisiä liuottimia; antibakteerisia aineita, kuten bentsyylialkoholia tai metyyliparabeenia; hapettumisen estoaineita, kuten askorbiinihappoa tai natriumbisulfiittia; kelatoivia aineita, kuten eteenidiamiinitetraetikkahappoa; puskureita, kuten asetaatteja, sitraatteja tai fosfaatteja ja toonisuuden säätöaineita, kuten natriumkloridia tai dekstroosia.
- Parenteraalinen valmiste voidaan sulkea ampulleihin, kertakäyttöruiskuihin tai lasista tai muovista valmistettuihin moniannospulloihin. Alan ammattilainen pystyy määrittämään edulliset koostumukset ja valmisteet.

- Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan antaa myös paikallisesti, ja kun niin tehdään, kantaja voi soveltuvasti käsittää liuoksen, voiteen tai geelipohjan. Pohja voi käsittää esimerkiksi yhden tai useamman seuraavista: vaseliini, lanoliini, polyeteeniglykolit, mehiläisvahat, mineraaliöljy, laimentimet, kuten vesi ja alkoholi, ja emulgoivat aineet ja stabiloivat aineet. Paikallisesti käytettävät formulaatiot voivat sisältää kaavan I mukaisen tai sen farmaseuttisen suolan konsentraation, joka on noin 0,1 - 10 % paino/tilavuudesta (paino yksikkötilavuutta kohti).

Alan ammattilainen ymmärtää, että R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaania voidaan saada konversiolla, esimerkiksi entsyymaattisella tai happokatalysoidulla, R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin metabolisista prekur-

soreista. R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin metabolinen prekursori on yhdiste, joka konvertoituu R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaaniksi in vivo sen jälkeen kun nisäkkäälle on annettu metabolistä prekursoria. Sen vuoksi
 5 aikaisemmissa kappaleissa kuvattujen menetelmien lisäksi R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin anto voidaan myös saada aikaan antamalla R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin metabolistä prekursoria. Tällaista metabolistä prekursoria voitaisiin antaa annostusmäärinä, jotka tuottaisivat serotonii-
 10 nin ja noradrenaliinin takaisinoton tehokkaan eston aiheuttamatta haitallista tai ikäviä sivuvaikutuksia.

R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin metabolisia prekursoreita ovat karboksyylihappoesterit, sulfonaattierit, aminohappoesterit, kaavan I hydroksiryhmän eetterit. Edelleen on ha-
 15 vaittu, että R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaania voidaan saada R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin, atomoksetiinin, entsymaattisella konversiolla in vivo. Sen vuoksi R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin edullinen systeeminen antomenetelmä on R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanihydrokloridin, atomoksetiinin, ora-
 20 linen anto nisäkkäille. Toisin sanoen R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin systeeminen antotapa voidaan edullisesti saada aikaan R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanihydrokloridin, atomoksetiinin, oraalisella annolla nisäkkäille R-(-)-N-
 25 metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin metabolisena prekursorina.

Monoamiinien mikrodialyysikokeet

Sprague- Dawley-rotille (Harlan tai Charles River), jotka painavat 270 - 300 g, impantoidaan kirurgisesti mikrodialyysilaitteet klooraali/pentobarbitaalianestesiassa (170 ja 36 mg/kg i.p. 30-prosenttisessa propyleeniglykolissa, 14-prosenttisessä etanolissa), kuten Perry ja Fuller kuvaavat. (Perry and Fuller, Effect of fluoxetine on serotonin and dopamine concentration in rat hypothalamus after administration of fluoxetine plus L-5-hydroxytryptophan, Life Sci., 50, 1683 – 90 (1992)). David Kopfin stereotaktista instrumenttia käytetään
 35 laitteen implantointiin toispuolisesti hypotalamukseen koordinaatein -1,5 mm rostraalisesti, -1,3 mm lateraalisesti ja -9,0 mm ventraalisesti (Paxinos and

Watson, 1986) 48 tunnin toipumisjakson jälkeen rotat asetetaan suureen muovastiaan, johon on asennettu nestekiertoysteemi (CMA/120-järjestelmä vapaasti liikkuville eläimille, Bioanalytical Systems, West Lafayette, IN). Suodatettua keino-keinoista aivo-selkäydinnestettä (150 mM NaCl, 3,0 mM KCl, 1,7 mM

5 CaCl₂ ja 0,9 mM MgCl₂) perfusoiittiin laitteen läpi nopeudella 1,0 ml/min. Ulostuleva dialysaattijohto sovitetaan kymmenporttiseen HPLC-venttiiliin, jossa on 20 µl:n silmukka. Jokaisen 30 minuutin näytteenottojakson lopussa silmukkaan kertynyt dialysaatti injektoidiin analyysikolonnein (Spherisorb 3 µ ODS2, 2 x 150 mm, Keystone Scientific).

10 Monoamiinien mittaamiseen käytetty menetelmä on Perryn ja Fullerin (1992) kuvaaman kaltainen. Lyhyesti, 20 µl:n silmukkaan kertyneestä dialysaatista määritettiin 5-HT ja NA. Tämä 20 µl:n injektio menee kolonnein NA:n ja 5-HT:n erottelevan liikkuvan faasin mukana: 75 mM kaliumasetatti, 0,5 mM eteenidiamiinitetraetikkahappo, 1,4 mM natriumoktaanisulfonihappo ja

15 8 % metanoli, pH 4,9. Amiinikolonnin liikkuva faasi syötetään ohjelmoitavalla virtauspumpulla aloitusvirtausnopeutena 0,2 ml/minuutti nostaen nopeutta 0,3 ml/minuuttiin 5 minuutin kohdalla ja sitten laskien sen takaisin 0,2 ml/minuuttiin 26 minuutin kohdalla kokonaisajoajan ollessa 30 minuuttia. Virtauksen ohjelmointia käytetään 5-HT:n eluomiseksi 25 minuutin aikajakson kuluessa.

20 Amiinikolonnin sähkökemiallinen detektori (EG & G, malli 400) säädetään 400 mV:n potentiaaliin ja 0,2 nA/V:n herkkyydelle. Perustasot mitataan ainakin 90 minuuttia ennen lääkkeen antamista. Lääkkeet valmistetaan suodatettuun, deionisoituun veteen (tilavuus 0,25 - 0,3 ml) annettaviksi haluttuina annoksina.

R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaani testattiin oleellisesti yllä kuvatun kaltaisesti ja sen havaittiin es-

25 tävän sekä serotoniinin ($K_i = 43$ nM) että noradrenaliinin ($K_i = 3,0$ nM) takaisinottoa.

R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-fenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaanin metabolia R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyli)oksi)-3-fenyli-1-aminopropaaniksi ihmisissä

30

Avoin tutkimus toteutettiin seitsemällä terveellä miehellä. Ennen tutkimuksen alkua CYP2D6-genotyyppi määritettiin EM:ksi (voimakas metaboloija) tai PM:ksi (heikko metaboloija). CYP2D6 on entsyymi, jolla esiintyy geneettistä polymorfismia, mikä johtaa ainakin kahteen koehenkilöpopulaatioon joko

35 aktiivisine tai heikkoina metabolisine kykyineen. Enemmistö ihmisistä kuuluu "voimakkaasiin metaboloijiin" (EM) ja heillä on "normaali" CYP2D6-aktiivisuus.

Mutaatioista eli CYP2D6-geenin deleetiosta johtuen pieni vähemmistö ihmisiä (5 - 10 % valkoihoisista; 1 % aasialaisista) tunnetaan CYP2D6-substraattien "heikkoina metaboloijina" (PM).

Useita 20 mg:n R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaaniannoksia annettiin kahdesti vuorokaudessa 5 päivän ajan, mitä seurasi 20 mg:n kerta-annos radioaktiivisesti leimattua tomoksetiinia (todellinen annos 19,66 mg) kuudennen päivän aamuna. Radioaktiivisesti leimattu [3-¹⁴C]-R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaani toimitettiin 20 mg:n kapseleina R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia, joka sisälsi riittävän määrän [3-¹⁴C]-R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia tuotakseen noin 3,7 Mbq (100 µCi:n) annoksen.

Noin 12 tuntia aamuannoksen jälkeen päivinä 1 - 5 annettiin toinen 20 mg:n kapseli veden, 240 ml, kanssa. Tämä ilta-annos annettiin ainakin 30 minuuttia kevyen ylimääräisen iltapalan jälkeen. Päivän 6 aamulla annettiin 20 mg:n kapseli R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia, joka sisälsi 100 µCi [3-¹⁴C]-R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridia, oraalisesti veden, 240 ml, kanssa 30 minuuttia standardoidun aamiaisen jälkeen.

Kokoverinäytteet otettiin EM-koehenkilöiltä 12 tuntia ennen ja välittömästi ennen [3-¹⁴C]-R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridin antoa (kontrollinäyte ennen annosta) ja noin 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48 ja 72 tuntia annoksen antamisen jälkeen. Kokoverinäytteet otettiin PM-koehenkilöiltä 12 tuntia ennen ja välittömästi ennen [3-¹⁴C]-R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridin antoa (kontrollinäyte ennen annosta) ja noin 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 ja 216 tuntia annoksen antamisen jälkeen. Kokoverinäytteet (noin 12 ml) otettiin jokaisena ajankohtana lasiputkiin, jotka sisälsivät hepariinia antikoagulanttina. Kokoverinäytteitä pidettiin jäissä sentrifugointiin asti. Plasman valmistamiseksi veri sentrifugoitiin noin 3 000 rpm:ssä noin 15 minuutin ajan noin 4 °C:ssa tunnin kuluessa näytteenotosta. Poistettiin plasma-alikvootit radioekvivalenttikonsentraation määrittämistä varten. Jäljelle jäänyt plasma varastoitui noin -70 °C:ssa ennen konjugoituneen ja konjugoitumattoman N-metyyli 3-((2-metyylifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaanin, R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi-3-fenyyli-1-aminopropaa-

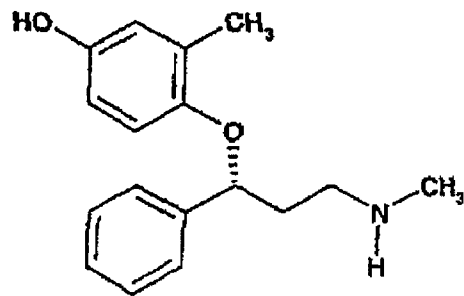
nin, 3((-metyylifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin konsentraation tai metabolisen profiiloinnin analyysiä.

Heparinisoidut humaaniplasmanäytteet analysoitiin N-metyyli 3-((2-metyyli-
 5 4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin, R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-
 4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanin suhteen ja käyttämällä vali-
 doitua APCILC/MS/MS-menetelmää (kemiallinen ionisaatio ilmanpaineessa
 nestekromatografia/massaspektrometria/massaspektrometria) konsentraatio-
 alueella 1,00 - 800,00 ng/ml N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-
 1-aminopropaanille ja R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-
 10 3-fenyyli-1-aminopropaanille ja 2,50 - 2000,00 ng/ml 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-
 3-fenyyli-1-aminopropaanille. Alemmalle alueelle validioitua APCILC/MS/MS-
 menetelmää käytettiin lisäanalyysin suorittamiseen alueilla 1,00 - 100,00 ng/ml
 R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanille ja
 R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanil-
 15 le ja 0,25 - 25,00 ng/ml R-(-)-3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanille.

R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaani-
 hydrokloridin pääasiallinen metaboliitti, jota sekä CYP2D6-EM- ja -PM-koehen-
 kilöt tuottavat on R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-
 1-aminopropaani. EM-koehenkilöt metaboloivat 86,5 % R-(-)-N-metyyli
 20 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridista R-(-)-N-
 metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaaniksi. PM-
 koehenkilöt metaboloivat 40 % R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fe-
 nyyli-1-aminopropaanihydrokloridista R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksi-
 fenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaaniksi.

Patenttivaatimukset

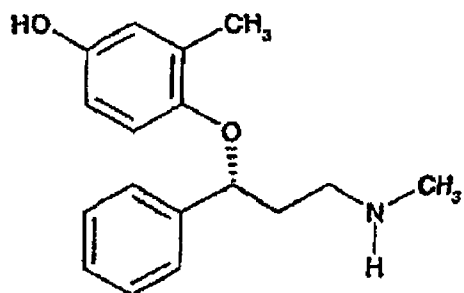
1. Yhdiste, jolla on kaava I:



5 tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

2. Yhdiste R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridi.

3. Farmaseuttinen koostumus, joka käsittää yhdisteen, jolla on kaava I:



I

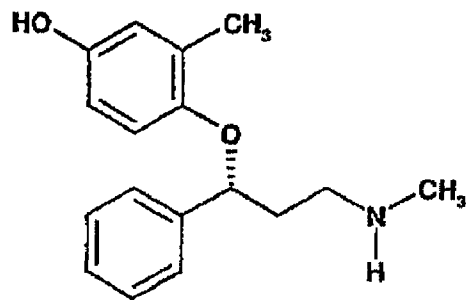
10

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan, liittyneenä farmaseuttisesti hyväksyttävään kantajaan, laimentimeen tai täyteaineeseen.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen farmaseuttinen formulaatio, jossa kaavan I mukainen yhdiste on R-(-)-N-metyyli 3-((2-metyyli-4-hydroksifenyyli)oksi)-3-fenyyli-1-aminopropaanihydrokloridi.

15

5. Menetelmä noradrenaliinin ja serotoniinin takaisinoton estämiseksi nisäkkäissä käsittäen yhdisteen, jolla on kaava I:



tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan farmaseuttisesti tehokkaan määrän antamisen nisäkkäälle, joka on tällaisen eston tarpeessa.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, jolloin kaavan I mukainen yhdiste annetaan systeemisesti.
- 5