

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 2159/2006**

(22) Anmeldetag: **29.12.2006**

(43) Veröffentlicht am: **15.07.2008**

(51) Int. Cl.⁸: **A61K 31/40** (2006.01),
A61K 31/095 (2006.01)

(73) Patentanmelder:

RED BULL GMBH
A-5330 FUSCHL AM SEE (AT)

(54) **BEHANDLUNG VON ANGSTZUSTÄNDEN**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB1553A) zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prävention von Angststörungen.

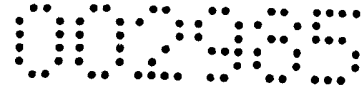
AT 504 700 A1 2008-07-15

Zusammenfassung:

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von (+/-)-4-
[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid
(SIB1553A) zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder
Prävention von Angststörungen.

[Keine Fig.]

NACHGEREICHT



Die vorliegende Erfindung betrifft Formulierungen zur Behandlung und/oder Prävention von Angststörungen sowie Formulierungen zur Steigerung des Explorationsverhaltens und der Auffassungsgabe sowie der motorischen Leistung.

Auf dem Gebiet werden verschiedene Arten von Medikamenten bei der Behandlung von Angststörungen verwendet, so auch Antidepressiva und Betablocker. Diese Medikationen können bei der Steuerung und Linderung von Angstsymptomen wirksam sein.

Viele Angstmedikamente können auch unangenehme und ungewollte Nebenwirkungen aufweisen. Dazu gehören Zittern, Kopfschmerz, Übelkeit, Bauchschmerz, trockener Mund, Gewichtszunahme, Schwindel und Sexualdysfunktion. Angstmedikationen können auch zur Abhängigkeit führen, und bei Langzeitanwendung kann ein Entzug schwierig sein.

Beispielsweise machen Benzodiazepine, die üblicherweise zur Behandlung von Angststörungen verschrieben werden, bei längerer Verwendung extrem süchtig. Es kann sich innerhalb weniger Wochen eine Medikamententoleranz einstellen. Die Folge davon ist, dass höhere Dosierungen notwendig sind, um dieselbe Erleichterung wie vorher zu erzielen. Mit zunehmender Abhängigkeit von der Angstmedikation wird es auch schwieriger, diese nicht mehr zu nehmen. Wird die Verabreichung von Benzodiazepinen abrupt gestoppt, kann es zu schweren Entzugserscheinungen wie Ruhelosigkeit, Schlaflosigkeit und neuerliche Angst kommen. Um Entzug geht es auch, wenn selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer während der Behandlung von Angststörungen verabreicht werden. Bei zu rascher Absetzung kann der Patient an Symptomen wie Schwindel, Übelkeit, Müdigkeit und Erinnerungsproblemen leiden. Große Angst und Depressionen sind ebenfalls üblich bei Entzugserscheinungen.

Kognitive Enhancer (CE) sind Verbindungen, die das finale Leistungsniveau steigern (1). Die Entwicklung solcher Substanzen ist von klinischer Bedeutung für eine Steigerung der kognitiven Leistung oder die Behandlung von kognitiver Dysfunktion in Zusammenhang mit Alterung, neurodegenerativen Erkrankungen und psychiatrischen Störungen. Es wurde über eine Reihe von Verbindungen als potentielle Gedächtnis- oder kognitive CEs berichtet (siehe z.B. Tabelle A), und einige davon wurden bereits in klinischen Versuchen bewertet (2-4). Dabei wurde die Modulation mehrerer Rezeptorsysteme untersucht.

Tabelle A: Potentielle kognitive Enhancer

NACHGEREICHT

ARZNEIMITTEL	LABYRINTH/TIER	LIT.
D-Cycloserin Teilagonist NMDA R-assozierte Glycinstelle	T-Labyrinth-Aufgabe: (Männliche Long- Evans) Ratten	15
	Passive Vermeidungsaufgabe: (Long-Evans) Ratten	
	Durst-motivierte Linearlabyrinth- Lernaufgabe (Männliche Swiss) Mäuse	13
	Fußstoßvermeidungsaufgabe. Mäuse	19
	Arm-Radiallabyrinth (DNMS). (Männliche Black-Wistar) Ratten	17, 47, 48
	Wasserlabyrinth-Aufgabe (Referenzgedächtnis) Ratten	14, 20
	RS67333 Agonist 5-HT4- Rezeptor	Morris-Wasserlabyrinth: (Sprague-Dawley) Ratten; mit Atropin behandelte Ratten
SIB-1553A Agonist β -4- Nikotinrezeptor	Delayed Nonmatching to Place: C57BL/6-Mäuse	26, 27
	T-Labyrinth: C57BL/6-Mäuse	
	Morris Water Maze: Alte Fisher-Ratten	
SGS742 GABA _B -Antagonist	Passiver Vermeidungstest: Männliche Mäuse	36, 4
	Soziale Lernaufgabe: Männliche Sprague- Dawley-Ratten	36
	8-Arm-Radiallabyrinth-Aufgabe: Long-Evans- Ratten	32

N-Methyl-D-aspartat-(NMDA)-Rezeptoren sind beispielsweise in Nervenbahnen am Lernen und an der Gedächtnisbildung beteiligt, und mehrere pharmakologische Studien, die gezeigt haben, dass vor der Trainingseinheit verabreichte Antagonisten des NMDA-Rezeptorkomplexes bestimmte Arten des Lernens und Erinnerns stören (5-7), untermauern diese Schlussfolgerung.

Ein Ziel der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung neuer Medikamente und Therapien zur Behandlung von Angststörungen. Ein anderes Ziel der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von Formulierungen, die das Explorationsverhalten und die Auffassungsgabe steigern. Ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung ist die Schaffung von Formulierungen, die zur Erhöhung der motorischen Leistung eines Individuums oder Tiers verwendet werden können.

Daher betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prävention von Angststörungen.

(+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB-1553A) ist ein nikotinischer Acetylcholinrezeptor-Ligand (nAChR-Ligand) mit agonistischer Selektivität für die $\beta 4$ -Untereinheit enthaltende humane neuronale nAChRs (24). SIB-1553A steigert die kognitive Leistung bei Nagern mit cholinergischer Dysfunktion, gekoppelt mit einem verbesserten Sicherheitsprofil bezüglich Nikotin. Darüber hinaus zeigte sich, dass SIB-1553A die Freisetzung von Acetylcholin, Dopamin und Norepinephrin aus dem Hippocampus und dem frontalen Kortex bei jungen erwachsenen Ratten stimuliert (25).

Die subkutane Verabreichung von SIB-1553A verbesserte die delayed-non-matching-to-place-Leistung bei alten Mäusen. Die intramuskuläre und orale Verabreichung an alte Rhesusaffen verbesserte die Wahlgenauigkeit bei einer delayed-matching-to-sample-Aufgabe. SIB-1553A verbesserte die Leistungen bei diesen räumlichen und nicht räumlichen Arbeitsgedächtnisaufgaben (26, 27).

Nikotinrezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle (21, 22), die eine Vielzahl von Rezeptorunterarten enthalten, welche wichtig für eine Vielzahl von neurobehavioralen Funktionen einschließlich der kognitiven Funktion sind (23). Man glaubt nämlich, dass Nikotinrezeptoren eine mittelbare oder unmittelbare Rolle bei der Pathophysiologie verschiedener Krankheiten wie Schizophrenie, Aufmerksamkeits- und Hyperaktivitätsstörung (ADHD), Parkinson-Erkrankung (PD) und Alzheimer-Erkrankung (AD) spielen.

Überraschenderweise zeigte sich, dass die Verabreichung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid die Behandlung und/oder Prävention von Angststörungen gestattet.

„Angststörungen“ wie hierin verwendet beziehen sich auf Erkrankungen, die mehrere verschiedene Formen von abnormer, pathologischer Angst, Furcht, Phobien und nervösen Zuständen zeigen, die plötzlich oder allmählich über einen Zeitraum von mehreren Jahren auftreten können und eine Fortsetzung der normalen Tagesroutine be- oder verhindern können.

Angst und Furcht sind ubiquitäre Empfindungen. Furcht wird als emotionale und physiologische Reizantwort auf eine wahrge-

NACHGEREICHT

nommene externe Bedrohung definiert. Angst ist ein unangenehmer Gefühlszustand, dessen Ursprünge nicht so leicht zu identifizieren sind. Sie wird häufig von physiologischen Symptomen begleitet, die zu Ermüdung oder auch Erschöpfung führen können. Da die Furcht vor wahrgenommenen Bedrohungen ähnliche unangenehme geistige und physische Veränderungen bewirkt, verwenden Patienten die Ausdrücke Furcht und Angst wechselweise. Es muss also nicht unbedingt zwischen Angst und Furcht unterschieden werden. Was jedoch wichtig ist, ist die Unterscheidung zwischen den verschiedenen Angststörungen, da eine genaue Diagnose eher zu einer wirksamen Behandlung und besseren Prognose führt.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Angststörung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus allgemeiner Angststörung, Panikstörung, Agoraphobie, Phobien, sozialer Angststörung, obsessiv-kompulsiver Störung und post-traumatischer Belastungsstörung.

Allgemeine Angststörung ist eine Angststörung, die durch exzessive und unkontrollierbare Sorgen um tägliche Dinge gekennzeichnet ist. Häufigkeit, Intensität und Dauer der Sorgen sind disproportional zur tatsächlichen Sorgenquelle, und derartige Sorgen behindern häufig die tägliche Routine. Etwa 5 % der Gesamtbevölkerung sind davon betroffen. Symptome einer allgemeinen Angststörung sind Anspannung, Schreckhaftigkeit, Ruhelosigkeit, Hyperaktivität, Grübelei, Furcht und Nachsinnen. Diese Symptome müssen beständig sein und zumindest jeden zweiten Tag auftreten sowie über mindestens 6 Monate anhalten.

Etwa 30 % der Ursachen einer allgemeinen Angststörung sind vererbt, doch bewirken bestimmte Wesensmerkmale, dass die Menschen immer anfälliger dafür werden. Menschen mit allgemeiner Nervosität, Depression, Unfähigkeit zur Frustrationstoleranz und dem Gefühl, eingeengt zu werden, sind eher unter Patienten mit allgemeiner Angststörung zu finden. In der Jugend führen allgemeine Angststörungen oft zu einem geringeren sozialen Rückhalt, akademischer Minderleistung, Unterbeschäftigung, Substanzgebrauch und einer hohen Wahrscheinlichkeit, andere psychiatrische Störungen zu erwerben.

Allgemeine Angststörung wird konventionell mit selektiven Serotonin- und Serotonin-Norepinephrin-Wiederaufnahmehemmern (SSRI bzw. SNRI) behandelt. Bevorzugte klinisch verwendete Hemmer sind Fluvoxamin, Sertralin, Paroxetin, Citalopram, Escitalopram,

Venlafaxin, Pregabalin, Buspiron und Benzodiazepene wie Diazepam und Alprazolam.

Menschen, die an Panikstörungen leiden, erleben üblicherweise eine Reihe von intensiven Episoden extremer Angst, die auch als Panikattacken bekannt sind. Ein Panikereignis kann durch eine besonders belastende Situation ausgelöst werden oder aus keinem besonderen Grund auftreten. Solche Ereignisse dauern üblicherweise mehrere Minuten. 35% aller Personen mit Panikstörungen haben auch Agoraphobie.

Zur Behandlung von Panikstörungen können selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, Monoaminoxidasehemmer und Benzodiazepine verabreicht werden. Ein Medikament zur Verwendung für die Behandlung von Panikstörungen kann einen oder mehr der folgenden Wirkstoffe enthalten: Alprazolam, Bromazepam, Chlordiazepoxid, Clobazam, Clonazepam, Clorazepate, Diazepam, Halazepam, Paxipam, Ketazolam, Lorazepam, Medazepam, Nordazepam, Oxazepam, Prazepam, Harmalin, Iproclozid, Iproniazid, Isocarboxazid, Nialamid, Phenelzin, Selegilin, Toloxaton, Tranlylcypromin, Citalopram, Escitalopramoxalat, Fluoxetin, Fluvoxaminmaleat, Paroxetin, Sertralin, Dapoxetin, Isocarboxazid, Moclobemid, Phenelzin, Tranlylcypromin, Selegilin, Nialamid, Iproniazid, Iproclozid und Toloxaton.

Agoraphobie ist eine Angststörung, die in erster Linie aus der Furcht vor einer schwierigen oder unangenehmen Situation besteht, aus der es für den Leidenden kein Entrinnen gibt.

Menschen mit Agoraphobie können schwere Panikattacken in Situationen erleiden, in denen sie sich gefangen, unsicher, außer Kontrolle oder zu weit weg von ihrer persönlichen Komfortzone fühlen. In schweren Fällen kann es vorkommen, dass Agoraphobier sich nicht nur in ihr Zuhause, sondern in ein oder zwei Räume zurückziehen oder gar bettlägerig oder zum Einsiedler werden. Sie reagieren oft extrem sensibel auf ihre eigenen Körperempfindungen und überreagieren im Unterbewusstsein auf vollkommen normale Vorkommnisse.

Menschen, die an Agoraphobie leiden, können mit angsthemmenden und/oder antidepressiven Medikamenten behandelt werden.

Eine Phobie ist eine starke anhaltende Furcht vor Situationen, Gegenständen, Aktivitäten oder Personen. Das Hauptsymptom dieser Störung besteht im übermäßigen, jeglicher Vernunft entbehrenden Verlangen, das gefürchtete Subjekt zu meiden. Menschen, die an Phobien leiden, können mit angsthemmenden und/oder anti-

depressiven Medikamenten behandelt werden.

Sozialangst ist ein Erleben von Furcht, Besorgnis oder Unruhe betreffend soziale Situationen und die Möglichkeit, von anderen beurteilt zu werden. Körperliche Symptome, die oft Hand in Hand mit sozialen Angststörungen einhergehen, schließen übermäßiges Rotwerden, Schwitzen (Hyperhydrose), Zittern, Übelkeit und Stammeln ein. Bei großer Furcht und Beklemmung kann es auch zu Panikattacken kommen. Menschen, die an sozialen Angststörungen leiden, können mit Antidepressiva wie Monoaminoxidasehemmern, Benzodiazepinen und/oder selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern behandelt werden.

Obsessiv-kompulsive Störungen sind eine Art Angststörung, die in erster Linie durch Besessenheit und/oder Zwangsvorstellungen gekennzeichnet ist. Besessenheit äußert sich in peinlichen, sich wiederholenden, lästigen Gedanken oder Bildern, die das Individuum oft als sinnlos erkennt. Zwangsvorstellungen sind sich wiederholende Verhaltensweisen, zu denen sich eine Person gedrängt oder gezwungen fühlt, um sich von Angst zu befreien. Menschen, die an einer obsessiv-kompulsiven Störung leiden, können mit Medikamenten behandelt werden, die selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, insbesondere Paroxetin, Sertralin, Fluoxetin und Fluvoxamin, tricyclische Antidepressiva, insbesondere Clomipramin, Gabapentin, Lamotrigin, Olanzapin und Risperidon, umfassen.

Posttraumatische Belastungsstörung ist die Bezeichnung für eine bestimmte psychologische Folgeerscheinung nach der Einwirkung eines belastenden Erlebnisses oder der Konfrontation mit einem belastenden Erlebnis, das die Person als höchst traumatisch erlebt. Zu solchen Erlebnissen gehören der tatsächliche oder angedrohte Tod, schwere körperliche Verletzungen oder die Bedrohung der physischen und/oder psychischen Integrität. Symptome dieser Störung können Albträume, Flashbacks, emotionale Loslösung oder Abstumpfung von Gefühlen, Schlaflosigkeit, die Vermeidung von Gedächtnishilfen und extreme Qualen bei der Konfrontation mit den Gedächtnishilfen, Reizbarkeit, Hypervigilanz, Gedächtnisverlust und übermäßiges Zusammenschrecken als Reaktion, klinische Depression und Angst, Appetitsverlust umfassen. Posttraumatische Belastungsstörungen können mit Antidepressiva behandelt werden.

Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Medikament für orale oder parenterale

Verabreichung, insbesondere für intravenöse, intramuskuläre, subkutane, transdermale, transmukosale oder inhalatorische Verabreichung, formuliert, wobei die Dosierungsformen vorzugsweise ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Nahrungsergänzung, Aerosol, Kapsel, Pulver, Lösung, Suspension, Tablette, Injektion, Infusion, Gel, Paste und Transdermalpatch.

Je nach Verabreichungsweg und Dosierungsform umfasst das Medikament vorzugsweise mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Träger und/oder Verdünner.

Verfahren und Vorrichtungen zur Herstellung von Medikamenten in einer bestimmten Dosisform sind dem Fachmann bekannt (siehe z.B. „Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations“ Niazi KS, ISBN: 0849317525, CRC Press Inc; „Handbook of Pharmaceutical Excipients“ Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC, ISBN: 1582120587, APhA Publications).

Besonders bevorzugt ist das Formulieren von Medikamenten der vorliegenden Erfindung zur oralen Verabreichung, insbesondere als Tabletten oder Kapseln.

Das Medikament der vorliegenden Erfindung umfasst neben (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid vorzugsweise mindestens einen weiteren Wirkstoff, vorzugsweise mindestens ein weiteres Anxiolytikum ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D-Cycloserin, Alprazolam, Bromazepam, Chlordiazepoxid, Clobazam, Clonazepam, Clorazepat, Diazepam, Halazepam, Paxipam, Ketazolam, Lorazepam, Medazepam, Nordazepam, Oxazepam, Prazepam, Harmalin, Iproclozid, Iproniazid, Isocarboxazid, Nialamid, Phenelzin, Selegilin, Toloxaton, Tranlylcypromin, Citalopram, Escitalopramoxalat, Fluoxetin, Fluvoxaminmaleat, Paroxetin, Sertralin, Dapoxetin, Isocarboxazid, Moclobemid, Phenelzin, Tranlylcypromin, Selegilin, Nialamid, Iproniazid, Iproclozid, Toloxaton, ein Barbiturat und Meprobamat.

Zur weiteren Erhöhung der Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Medikaments kann dieses Medikament weiters mindestens ein anderes Anxiolytikum umfassen. Besonders geeignete Anxiolytika sind oben erwähnt. Das mindestens eine weitere Anxiolytikum kann auch abhängig von der zu behandelnden Angststörung (siehe oben) gewählt werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid in den für diese Verbindung bereits festge-

setzten Mengen verabreicht, insbesondere in einer Menge von 0,5 bis 50 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 1 bis 40 mg/kg Körpergewicht, bevorzugter 1,5 bis 30 mg/kg Körpergewicht, insbesondere 2 bis 20 mg/kg Körpergewicht.

(+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid zeigt bereits in Dosen von 0,5 mg/kg Körpergewicht heilsame Eigenschaften bei der Behandlung von Angststörungen.

Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid in einer Formulierung zur Steigerung des Explorationsverhaltens, der Auffassungsgabe und der Aufnahmefähigkeit.

Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass die Verabreichung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid an ein Individuum und an Tiere das Explorationsverhalten, die Auffassungsgabe und die Aufnahmefähigkeit dieses Individuums bzw. der Tiere steigert. Daher kann (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid einem Individuum oder Tier verabreicht werden, um das Explorationsverhalten, die Auffassungsgabe und die Aufnahmefähigkeit zu erhöhen. Aufgrund dieser Merkmale kann SIB-1553A nicht nur an Menschen verabreicht werden, die an einer Krankheit leiden, sondern auch, und das am meisten bevorzugt, an Individuen und/oder Tiere zur Steigerung ihrer mentalen und intellektuellen Kapazität.

Die Formulierung gemäß der vorliegenden Erfindung kann daher auf verschiedenen Anwendungsgebieten eingesetzt werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid für orale oder parenterale Verabreichung, insbesondere für intravenöse, intramuskuläre, subkutane, transdermale, transmukosale oder inhalatorische Verabreichung, vorzugsweise als Nahrungsergänzung, Aerosol, Kapsel, Pulver, Lösung, Suspension, Tablette, Injektion, Infusion, Gel, Paste oder Transdermalpatch, formuliert.

Solche Formulierungen und Dosierungsformen umfassen vorzugsweise mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Träger und/oder Verdünner.

Verfahren und Vorrichtungen zur Herstellung von Medikamenten in einer bestimmten Dosisform sind dem Fachmann bekannt (siehe z.B. „Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations“

Niazi KS, ISBN: 0849317525, CRC Press Inc; "Handbook of Pharmaceutical Excipients" Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC, ISBN: 1582120587, APhA Publications).

(+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid wird vorzugsweise in einer Menge von 0,5 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 40 mg/kg, bevorzugter 1,5 bis 30 mg/kg, insbesondere 2 bis 20 mg/kg, verabreicht.

Ein noch anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB-1553A) in einer Formulierung zur Erhöhung der motorischen Leistung.

Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass SIB-1553A zur Erhöhung der motorischen Leistung eines Individuums oder Tiers verwendet werden kann.

Die vorliegende Erfindung ist in den nachstehenden Figuren und Beispielen weiter veranschaulicht, ohne darauf eingeschränkt zu sein.

Fig. 1 zeigt das Fluchtlatenz- (a) und Raumpräferenzmuster während eines Sondentests (b) an mit SIB-1553A behandelten C57BL/6J-Mäusen im Vergleich zu mit einem Vehikel behandelten C57BL/6J-Mäusen. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe (NaCl) bzw. Vergleichsarzneien (DCS, SGS742 oder RS6733) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; *P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

Fig. 2 zeigt das Fluchtlatenz- (a) und Raumpräferenzmuster während eines Sondentests (b) an mit SIB-1553A behandelten DBA/2-Mäusen im Vergleich zu mit einem Vehikel behandelten DBA/2-Mäusen. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe (NaCl) bzw. Vergleichsarzneien (DCS, SGS742 oder RS6733) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; *P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

Fig. 3 zeigt das Fluchtlatenz- (a), Strecken- (b) und Raumpräferenzmuster während eines Sondentests (c) an mit SIB-1553A behandelten C57BL/6J-Mäusen im Vergleich zu mit einem Vehikel behandelten C57BL/6J-Mäusen. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe (NaCl) bzw. Vergleichsarzneien (DCS, SGS742 oder RS6733) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test;

*P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

Fig. 4 zeigt die Durchschnittsgeschwindigkeit während der Erlern- und Konsolidierungsphase im MWM bei mit SIB-1553A behandelten DBA/2- (a) und C57BL/6J-Mäusen im Vergleich zu ihren Kontrollgruppen. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe (NaCl) bzw. Vergleichsarzneien (DCS, SGS742 oder RS6733) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; *P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

BEISPIEL

1. Materialien

Es wurden männliche C57BL/6J- und DBA/2-Mäuse im Alter von 10-14 Wochen verwendet. Die Mäuse wurden in der Core Unit der Biomedizinischen Forschung, Abteilung für Labortierkunde und -genetik, der Medizinischen Universität Wien aufgezogen und in Makrolonkäfigen gehalten, die mit autoklavierten Hackschnitzeln gefüllt waren. Eine autoklavierte Nager-Standardnahrung (Altromin 1314ff) und auf pH 3 angesäuertes Wasser aus Automatikhähnen oder in Flaschen stand ad libitum zur Verfügung. Die Raumtemperatur betrug $22 \pm 1^\circ\text{C}$ und die relative Feuchte $50 \pm 10\%$. Die Belüftung mit 100 % Frischluft ergab eine Luftaustauschrate von 15 Mal pro Stunde. Der Raum war mit künstlichem Licht mit einer Stärke von etwa 200 lx in 2 m von 5 bis 17 Uhr beleuchtet. Zwischen 8:00 und 13:00 Uhr wurden Verhaltenstests durchgeführt.

Verbindungen:

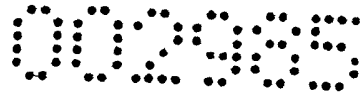
Die Tiere wurden vor den täglichen Tests intraperitoneal (i.p.) behandelt. Die Mäuse wurden in vier Behandlungs- und eine Kontrollgruppe (Vehikelgruppe) (0,9% NaCl-Lösung) aufgeteilt. Dosen und Injektionszeiten wurden aufgrund von Recherchen in der Literatur gewählt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: In den Versuchen verwendete Arzneien und die entsprechenden Injektionszeiten und -dosen aufgrund von Recherchen in der Literatur gewählt.

ARZNEIEN	INJEKTIONSZEIT	DOSEN	LIT.
SIB-1553A	20 min vor Tests	2,5 mg/kg	[26], [27]

SIB-1553A wurde vom Chemical Synthesis and Drug Supply Program des National Institute of Mental Health (NIMH) beschafft.

NACHGEREICHT



2. Verfahren zum Verhaltenstraining

Verhaltensbeobachtungsscreen:

a) *Grundlegende neurologische und physiologische Beobachtungsbeurteilung:* Das Verfahren folgt der Anordnung von Irwin (44). Dabei wurde eine Testbatterie angewendet, um Defekte im Gang oder in der Körperhaltung, Veränderungen des Muskeltonus, der Greifkraft, der Sehschärfe und der Temperatur festzustellen. Zur Vervollständigung der Beurteilung wurden lebenswichtige Reflexe bewertet. Darüber hinaus wurden während den Manipulationen Inzidenzen von abnormem Verhalten, Furcht, Reizbarkeit, Aggression, Erregbarkeit, Speichelfluss, Tränenfluss, Harnlassen und Stuhlentleerung aufgezeichnet.

b) *Rotarod:* Im Rotarod-Test (Rota Rod „Economex“, Columbus Instruments, USA) werden Balance und Koordination mit Hilfe einer drehenden Walze getestet, die im Verlauf von 5 min von 4 auf 40 Upm beschleunigt wird. Es wurde der Zeitpunkt aufgezeichnet, zu dem jedes Tier von der Walze fiel. Jedes Tier erhielt drei Vortrainingsversuche. Danach absolvierte jede Maus drei weitere aufeinanderfolgende Tests, und für die Analyse wurde dann die längste Zeit auf der Walze verwendet (45).

c) *Elevated-Plus-Maze (EPM):* Ein zur Untersuchung von Angstzuständen in Mäusen verwendetes Paradigma. Die Tiere wurden 5 min lang auf einem Labyrinth beobachtet, das aus 4 Armen (von jeweils 30 cm Länge und 5 cm Breite) bestand, die in einer Höhe von 54 cm befestigt waren. Die Arme sind durch einen 5 cm x 5 cm breiten Mittelbereich miteinander verbunden. Zwei Arme enthalten 15 cm hohe Seiten- und Stirnwände (= geschlossener Arm). Dabei wurden die angstbezogenes Verhalten widerspiegelnden Standardparameter (d.h. Eintritte in die geschlossenen Arme, Aufenthaltsdauer in den geschlossenen Armen, Häufigkeit der Stuhlentleerung) ausgewertet (46).

d) *Open Field (OF):* Unter Verwendung eines Videoüberwachungssystems bestehend aus einem Video-Camcorder, der an ein Computerortungssystem TiBeSplit gekoppelt war, wurden Mäuse in einer Arena (40 cm x 40 cm lang; mit 70 cm hohen Wänden) 10 min lang beobachtet. Die einzelnen Mäuse wurden für jeden Versuch in die Mitte der Kammer gesetzt. Es wurden die Standardparameter für Bewegungsaktivität (d.h. die zurückgelegte Gesamtstrecke, die Durchschnittsgeschwindigkeit, das Ausmaß von großen Bewegungen, das Ausmaß von lokalen Bewegungen, die Ruhezeit, die Häufigkeit

von spontanen Richtungsänderungen) und Explorationsverhalten (d.h. Aufbäumen, Kreuzen der Mitte, Aufenthaltsdauer in der Mitte) aufgezeichnet (46).

Morris-Water-Maze-Lernaufgabe

Das Morris-Wasserlabyrinth MWM bestand aus einem runden Becken (122 cm Durchmesser, Wände 76 cm Tiefe), in dem die Mäuse trainiert wurden, dem Wasser durch Schwimmen zu einer versteckten Plattform (1,5 m unterhalb der Wasseroberfläche) zu entkommen, deren Standort nur durch Verwendung von entfernten, außerhalb des Labyrinths an den Raumwänden angebrachten Orientierungshilfen lokalisiert werden konnte. Die Wassertemperatur wurde auf $21 \pm 1^\circ\text{C}$ gehalten.

Das Becken wurde mit Hilfe eines computergestützten Ortungs/Abbildungsanalysatorsystem (Videocamcorder: Sony CVX-V18NSP, gekoppelt an ein in Computerortungssystem: TiBeSplit) in vier Quadranten geteilt. Die Plattform wurde in der Mitte des SW-Quadranten platziert und blieb während des gesamten Experiments an ein- und derselben Stelle.

Die räumliche Lernaufgabe bestand aus 4 Trainingsversuchen pro Tag und 4 Trainingstagen. Die Mäuse wurden aus den vier Kompassrichtungen (NO, NW, SW und SO; in dieser Reihenfolge) mit ihren Köpfen zur Beckenwand freigelassen und durften 120 s lang schwimmend nach der Plattform suchen. Lokalisiert die Mäuse nach 120 s die Plattform nicht, wurden die Tiere manuell auf die Plattform gesetzt und dort 30 s lang gelassen. Jedes Tier wurden dann für 10 min in seinen Käfig zurückgebracht, bevor mit dem nächsten Versuch begonnen wurde. Am ersten Trainingstag wurden den Mäusen eine Trainingseinheit zur Akklimatisation im Wasserlabyrinth von 30 s gewährt.

Einen Tag nach dem letzten Trainingstag wurden die Probanden einem Sondentest unterzogen, bei dem die Plattform entfernt wurde. Die Maus wurde vom NO-Startpunkt freigelassen und 60 s lang frei schwimmen gelassen. Der Weg, den die Maus schwimmend zurücklegte, wurde nachverfolgt und bezüglich des Verhältnisses Schwimmzeit und/oder Wegstrecke in jedem Quadrant des Beckens analysiert, und die Schwimmgeschwindigkeit wurde aufgezeichnet.

3. Versuchsaufbau

Zuerst wurden der Open-Field-Test, der Elevated-Plus-Maze-Versuch, die neurologische Beobachtungsbatterie und die Rotarod-Beurteilung durchgeführt, um Verhaltenseinflüsse und verwirrende

Faktoren aufgrund der CEs (wie z.B. angstbezogene Verhaltensweisen) auszuschließen.

Die Reihenfolge der Tests wurde so gestaltet, dass die Verfahren, die durch Vorbehandlungen am ehesten beeinflusst würden, zuerst durchgeführt wurden (45): EPM, OF, Batterie von neurologischen Beobachtungen und RR. Die Arzneien wurden vor den Tests verabreicht. Eine Woche später, nach Beendigung des Verhaltensbeobachtungsscreens, wurden alle Mäuse im MWM beurteilt, um die Wirkung von CEs auf die Gedächtnisbildung zu zeigen.

4. Statistische Analyse:

Eine statistische Analyse zum Aufzeigen von Unterschieden zwischen den Gruppen erfolgte mittels des unpaarigen Student-t-Tests. Dort, wo Daten einer prinzipiellen Annahme einer parametrischen Verteilung entgegenstanden, wurde ein nicht-parametrischer Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Gegebenenfalls wurden auch der exakte Test nach Fisher und der Chi-Quadrat-Test verwendet.

In allen Fällen wurde ein Wahrscheinlichkeitsniveau $P < 0,05$ als statistisch signifikant erachtet. Sämtliche Berechnungen erfolgten unter Verwendung von GraphPad InStat, Version 3.00, für Windows (GraphPad Software, USA).

5. Ergebnisse

a) *Elevated-Plus-Maze*

Tabelle 2a: Ergebnisse des EPM-Tests. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen (C57BL/6J und DBA/2) im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,9 % NaCl-Lösung) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P \leq 0,001$).

C57BL	NaCl (n=12)	SIB1553A (n=14)
Geschlossener Arm (CA) links	11,3 ± 3,2	10,5 ± 2,5
Zurückgelegte Strecke in CA (m)	6,1 ± 1,8	6,2 ± 0,9
Aufenthaltsdauer in CA (s)	199,5 ± 51,8	220,3 ± 25,5
Zurückgelegte Gesamtstrecke (m)	8,1 ± 1,2	7,8 ± 1,5
Ruhezeit (s)	66,6 ± 5,3	68,0 ± 6,2
Ausmaß von großen Bewegungen (%)	4,5 ± 1,9	3,9 ± 2,5
Stuhlfleerung	0,4 ± 0,1	0,9 ± 1,3

DBA	NaCl (n=11)	SIB1553A (n=11)
Geschlossener Arm (CA) links	8,0 ± 5,0	6,5 ± 4,3
Zurückgelegte Strecke in CA (m)	6,5 ± 2,1	5,8 ± 1,4
Aufenthaltsdauer CA (s)	218,2 ± 54,8	219,7 ± 44,5
Zurückgelegte Gesamtstrecke (m)	7,9 ± 1,8	7,1 ± 1,2
Ruhezeit	71,0 ± 6,8	74,9 ± 3,8
Ausmaß von großen Bewegungen (%)	5,7 ± 3,1	5,2 ± 1,9
Stuhlentleerung	0,8 ± 1,0	0,4 ± 0,7

b) *Open-Field*

Tabelle 2b: Ergebnisse des OF-Tests. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen (C57BL/6J und DBA/2) im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,9 % NaCl-Lösung) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; *P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

C57BL	NaCl (n=12)	SIB1553A (n=14)
Zurückgelegte Gesamtstrecke (m)	33,3 ± 6,0	37,2 ± 11,7
Ruhezeit	46,6 ± 5,4	45,3 ± 6,8
Durchschnittsgeschwindigkeit (m/s)	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,02
Anzahl der Mittenkreuzungen	7,5 ± 4,5	10,4 ± 4,1*
Zeit des Schnüffels/Aufbäumens	90,8 ± 39,5	101,5 ± 41,3
Häufigkeit von spontanen Richtungsänderungen	43,1 ± 11,8	52,3 ± 23,0
Aufenthaltsdauer in der Begrenzung	56,3 ± 11,75	58,8 ± 7,4
Ausmaß von großen Bewegungen (%): Bewegungsgeschwindigkeit >0,10 m/s (% der Gesamtbeobachtungszeit)	23,0 ± 4,6	23,9 ± 6,5
Ausmaß von lokalen Bewegungen (%): Bewegungsgeschwindigkeit 0,03m/s<x<0,10m/s (% der Gesamtbeobachtungszeit)	30,4 ± 2,2	30,8 ± 1,8
Stuhlentleerung	1,3 ± 1,7	1,1 ± 1,5

DBA	NaCl (n=11)	SIB1553A (n=11)
Zurückgelegte Gesamtstrecke (m)	27,9 ± 7,7	28,8 ± 7,5
Ruhezeit	60,0 ± 11,9	60,7 ± 6,8
Durchschnittsgeschwindigkeit (m/s)	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Anzahl der Mittenkreuzungen	2,7 ± 3,1	5,6 ± 4,4
Ausmaß des Aufbäumens und Putzens	99,2 ± 25,1	115 ± 59,2
Häufigkeit von spontanen Richtungsänderungen	29,3 ± 11,4	5,6 ± 4,4***
Aufenthaltsdauer in der Begrenzung	77,2 ± 11,3	75,0 ± 11,3
Ausmaß von großen Bewegungen (%): Bewegungsgeschwindigkeit >0,10 m/s (% der Gesamtbeobachtungszeit)	17,1 ± 6,0	16,0 ± 4,1
Ausmaß von lokalen Bewegungen (%): Bewegungsgeschwindigkeit 0,03m/s < x < 0,10m/s (% der Gesamtbeobachtungszeit)	23,0 ± 6,2	23,3 ± 3,3
Stuhlentleerung	1,7 ± 1,7	1 ± 1,8

Ein signifikanter Rückgang der Häufigkeit von spontanen Richtungsänderungen wurde bei den mit SIB1553A behandelten DBA-Mäusen beobachtet. Bei C57BL/6J steigerte die SB1553A-Behandlung die Anzahl an Mittenkreuzungen.

c) Beobachtungsbatterie

Die Menge an Ergebnissen ist in Tabelle 2c.I und 2c.II angeführt und wird hier nicht besprochen.

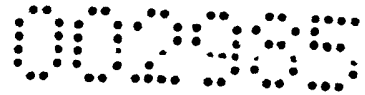
Tabelle 2c.I: Ergebnisse des primären Verhaltensbeobachtungsscreens bei C57BL/6J-Mäusen. Scores (Mittel +/- Standardabweichung) wie von Irwin et al. 1968 ausgewertet: ein höheres Score bedeutet mehr (bessere, höhere) Aktivität (Leistung, Reaktion), mit Ausnahme des Gangs, Drahtmanövers und Aufrichtreflexes, die eine bessere Leistung bei geringeren Scores aufweisen. Manche Parameter werden wie folgt bewertet: +/- (Anwesenheit/Abwesenheit)

C57BL	NaCl (n=12)	SIB1553A (n=14)
A. Verhalten		
1. Spontane Aktivität		
Körperposition	5,5 ± 2,3	5,5 ± 2,2
Bewegungsaktivität	1,8 ± 2,6	2,3 ± 1,5
Bizarres Verhalten	0	0
2. Bewegungsaffektive Reaktionen		
Vestibularabfall	2,8 ± 1,7	1,4 ± 1,4*
Transfererregung	2,9 ± 1,2	3 ± 1,2
Räumliche Fortbewegung	4,2 ± 1,4	4,4 ± 1,3
Berührungsfucht	3,7 ± 1,4	4,8 ± 2,3
Provoziertes Beißen	3 ± 2	2,3 ± 1,3
Fingerannäherung	2,8 ± 2,5	1,9 ± 2,4
Fingerrückzug	1,5 ± 2,3	2,4 ± 2,2
Klippenvermeidung	12/0	14/0
Vokalisieren	1,25 ± 1,1	1,9 ± 1,4
Urinieren	10/2	2/12*
3. Sensomotorische Reaktion		
Schreckreaktion	3,2 ± 2,8	4,1 ± 3,7
Pinnareflex	1,5 ± 2,8	0,1 ± 0,5
Kornea	2,3 ± 1,7	2,3 ± 1,5
Zehenkneif	1 ± 1,8	0,6 ± 1,5
Visuelles Platzieren	4,5 ± 1,2	3,9 ± 0,9
Schwanzkneif	0,1 ± 0,3	0,4 ± 1,1
B. Neurologie		
1. Haltung		
Rotation der Gliedmaßen	1,7 ± 0,8	1,7 ± 0,8
Heben des Beckens	3,3 ± 1,1	4 ± 1,1
Heben des Schwanzes	2,7 ± 0,8	2,9 ± 0,9
2. Muskeltonus		
Körpertonus	5,8 ± 1,3	6,7 ± 1,4*
Greifkraft	4,8 ± 1,8	4,9 ± 2,0
Gliedmaßentonus	3,3 ± 1,5	3,6 ± 1,6
Abdominaltonus	5,2 ± 1,8	5,3 ± 1,7
Drahtmanöver	2,7 ± 2,3	1,6 ± 1,4
3. Gleichgewicht und Gang		
Gang	0/12	0/14
Aufrichtreflex	0	0

C57BL	NaCl (n=12)	SIB1553A (n=14)
4. CNS-Erregung		
Zittern/Zucken	0	0
C. AUTONOM		
1. Augen		
Lidschließen	0	0
Propriozeption	5,9 ± 0,7	6 ± 0
2. Sekretion und Exkretion		
Stuhlentleerung	2,8 ± 1,3	2,2 ± 1,4
Diarrhö	1/11	0/14
Urinieren	10/2	2/12*

Tabelle 2c.II: Ergebnisse des primären Verhaltensbeobachtungs-screens bei C57BL/6J-Mäusen. Scores (Mittel +/- Standardabweichung) wie von Irwin et al. 1968 ausgewertet: ein höheres Score bedeutet mehr (bessere, höhere) Aktivität (Leistung, Reaktion), mit Ausnahme des Gangs, Drahtmanövers und Aufrichtreflexes, die eine bessere Leistung bei geringeren Scores aufweisen. Manche Parameter werden wie folgt bewertet: +/- (Anwesenheit/Abwesenheit)

DBA	NaCl (n=11)	SIB1553A (n=11)
A. Verhalten		
1. Spontane Aktivität		
Körperposition	5,7 ± 2,2	6,3 ± 1,7
Bewegungsaktivität	2 ± 1,8	2,6 ± 2,0
Bizarres Verhalten		
2. Bewegungsaffektive Reaktionen		
Vestibularabfall	0,7 ± 1,3	0,7 ± 1,1
Transfererregung	2,9 ± 1,3	3,4 ± 1,4
Räumliche Fortbewegung	3,9 ± 1,9	4,1 ± 1,1
Berührungsflucht	3,8 ± 1,1	4,1 ± 2,0
Provoziertes Beißen	1,5 ± 1,3	1,8 ± 1,7
Fingerannäherung	2,6 ± 2,5	2,6 ± 3,0
Fingerrückzug	2,2 ± 2,6	2,4 ± 2,9
Klippenvermeidung	10/1	11/0
Vokalisieren	1,7 ± 0,9	2,9 ± 1,6*
Urinieren		



DBA	NaCl (n=11)	SIB1553A (n=11)
3. Sensomotorische Reaktion		
Schreckreaktion	2,6 ± 1,8	3,7 ± 3,4
Pinnareflex	0	0,2 ± 0,6
Kornea	2,6 ± 1,1	2,7 ± 1,0
Zehenkneif	1,5 ± 2,0	1,5 ± 2,4
Visuelles Platziern	4,4 ± 1,2	4,9 ± 1,1
Schwanzkneif	0,9 ± 1,6	1,4 ± 2,5
B. Neurologie		
1. Haltung		
Rotation der Gliedmaßen	1,3 ± 0,5	1,7 ± 0,5*
Heben des Beckens	3,5 ± 1,3	3,6 ± 1,6
Heben des Schwanzes	1,8 ± 0,6	2 ± 0
2. Muskeltonus		
Körpertonus	6,1 ± 0,3	6,9 ± 1,4
Greifkraft	4,4 ± 1,2	4,5 ± 1,8
Gliedmaßentonus	2,7 ± 2,0	3,6 ± 1,8
Abdominaltonus	5,5 ± 1,3	6,6 ± 1,6
Drahtmanöver	0,7 ± 1,9	1,4 ± 2,5
3. Gleichgewicht und Gang		
Gang	0/11	0/11
Aufrichtreflex	0	0
4. CNS-Erregung		
Zittern/Zucken	0	0
C. AUTONOM		
1. Augen		
Lidschließen	0	0
Propriozeption	6 ± 0,8	6,3 ± 0,5
2. Sekretion und Exkretion		
Diarrhö	2/9	0/11
Urinieren	2/9	2/9
Stuhlentleerung	2,6 ± 1,7	1,7 ± 1,4

d) Rotarod

Die Leistung am Rotarod veränderte sich nicht signifikant bei DBA-behandelten Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe. SIB1553A blieben signifikant länger auf der Walze als die Kontrollen.

NACHGEREICHT

Tabelle 2d: Ergebnisse des Rotarod, die längste Zeit auf der Walze wurde für die Analyse herangezogen. Die Sternchen zeigen die signifikanten Unterschiede von arzneimittelbehandelten Mäusen (C57BL/6J und DBA/2) im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,9 % NaCl-Lösung) auf (t-Student-Test und/oder Mann-Whitney-U-Test; *P<0,05, **P<0,01, ***P≤0,001).

Maximalversuch	NaCl	SIB1553A
C57BL	13,3 ± 7,8	17,9 ± 5,9*
DBA	8,7 ± 7,3	13,0 ± 4,6

e) Morris-Water-Maze-Aufgabe

Die Fig. 1 und 2 zeigen die räumlichen Lernkurven, die die mittleren ± SD Latenzen beim Aufsuchen der Unterwasserplattform pro Mäusestamm während der 4 Tage des Lerntrainings und die Aufenthaltsdauer im Zielquadrant während des Sondenversuchs darstellen.

Beim C57BL/6J-Inzuchtstamm wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Behandlungsgruppe während der ersten 2 Trainingstage festgestellt.

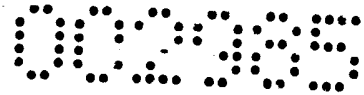
Während der Konsolidierungsphase (Fig. 1b) wurde die Aufenthaltsdauer von C57BL/6J im Zielquadrant gemessen.

Die mit SIB1553 (15,8±4,6) behandelten Mäuse zeigten eine geringere Aufenthaltsdauer in dem Quadrant, wo sich die Plattform normalerweise befand (19,1±3,8).

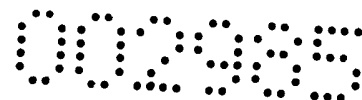
Die DBA/2-Mäuse (Fig. 2a) lernten während der ersten beiden Tage ohne Signifikanz zwischen den Gruppen. Am Tage 3 brauchten behandelte Mäuse (SIB1553A: 1,8±23,8) signifikant länger, um die Plattform zu erreichen, als die Kontrollgruppe (33,9±26,3). Auch hier wurde kein signifikanter Latenzunterschied bei der Erreichung des Ziels am Tag 4 festgestellt.

Im Sondenversuch erbrachten mit SIB1553A behandelte Mäuse (11,6±3,4) eine schlechtere Leistung als die Kontrollgruppe (16,2±1,5), da sie signifikant weniger Zeit im Zielquadrant verbrachten (siehe Fig. 2b).

Bei einem Vergleich der Latenz zur Erreichung der Plattform an den Trainingstagen zwischen DBA/2 und C57BL/6J zeigten die Kontrollgruppen keinen Unterschied am Tag 1, 2 und 4. Aber am

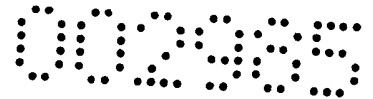


der doppelten in unseren Versuchen verwendeten Dosis ist diese negative Wirkung nicht nachweisbar, und in einer Dosis von 2,5 mg/kg ist eine etwa 25 %ige Verbesserung der Rotarod-Leistung festzustellen (26).

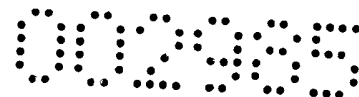


LITERATURSTELLEN:

1. Wenk GI, Olton DS. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 1989; 13 Suppl: 117-39
2. Tuominen HJ, et al. Cochrane Database Syst Rev. 2006 Apr 19; (2):CD003730. Review
3. Laake K, et al. Database Syst Rev. 2002; (2):CD003153. Review
4. Froestl W, et al. Biochem Pharmacol. 2004 Oct 15; 68(8):1479-87
5. Malenfant SA, et al. Physiol Behav. 1991 Jun; 49(6):1129-37.
6. Morris RG, et al. Nature. 1986 Feb 27-Mar 5; 319(6056):774-6.
7. Tang AH, et al. Eur J Pharmacol. 1988 Jun 22;151(1):143-6
8. Hood WF, et al. Neuroscience Letters 98(1): 91-95; 1989
9. Hood WF, et al. J Neurochem. 1990 Mar; 54(3):1040-6.
10. Henderson G, et al. Journal of Physiology. 1990 Nov; 430:189-212
11. Emmett MR, et al. Neuropharmacology. 1999 Nov; 30(11):1167-71
12. Monahan JB, et al. Pharmacol Biochem Behav. 1989 Nov; 34(3):649-53.
13. Land C, et al. Neurobiol Learn Mem. 1999 Nov; 72(3):158-68.
14. et al. Neurobiol Aging. 1994 Mar-Apr; 15(2):207-13.
15. Thompson LT, et al. Nature. 1992 Oct 15; 359(6396):638-41.
16. Quartermain D, et al. Eur J Pharmacol. 1994 May 12; 257(1-2):7-12
17. Lelong V, et al. Neuropharmacology. 2001 Sep; 41(4):517-22.
18. McBain CJ, et al. Physiological Reviews 74(3): 723-760; 1994.
19. Flood JF, et al. Eur J Pharmacol. 1992 Oct 20; 221(2-3):249-54.
20. Pitkänen M, et al. J Neural Transm Park Dis Dement Sect. 1995;9(2-3):133-44.
21. Changeux JP (1990) Functional architecture and dynamics of the nicotinic acetylcholine receptor: an allosteric ligand-gated ion channel. FIDA Research 2. Foundation Neuroscience Award Lectures. Raven, New York, pp 21-168
22. Changeux JP (1990). Trends Pharmacol Sci 11:485-492
23. Changeux JP, et al. (1998). Brain Res Brain Res Rev 26:198-216
24. Decker MW, et al. (1994). J Pharmacol Exp Ther 270:319-328
25. Menzaghi F, et al. (1998) Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities (Arneric SP und Brioni JD Hrsg.) S. 379-394, Wiley-Liss, Inc., New York.
26. Bontempi B, et al. Neuropsychopharmacology. 2003



- Jul;28(7):1235-46.
27. Bontempi B, et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Oct; 299(1):297-306.
 28. Chen K., et al. *Brain Research Bulletin*, 67(4), 310-318
 29. Silva, A.J., et al. *Annual Review of Neuroscience* 21, 127e148.
 30. Abel, T., et al. 1998. *Brain Research Review* 26 (2e3), 360e378
 31. Principles of neural science. Eric Kandel, Vierte Auflage. Seite: 1256-1257
 32. Helm KA, et al. *Neuropharmacology.* 2005 Jun;48(7):956-64.
 33. Nehring, R.B., et al., 2000. *Journal of Biological Chemistry* 275 (45), 35185e35191.
 34. Vernon, E., et al. 2001. *Molecular and Cellular Neurosciences* 17 (4), 637e645.
 35. White, J.H., et al. 2000. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 97 (25), 13967e13972.
 36. Mondadori C, Jaekel et al. *Behav Neural Biol.* 1993 Jul;60(1):62-8.
 37. Monahan JB, et al. 1989 Nov; 34(3):649-53.
 38. Pollak DD, et al. *Behav Brain Res.* 2005 Dec 7;165(2):240-6. Epub 2005 Sep 12.
 39. Chen, A., et al. 2003. *Neuron* 39 (4), 655e669. 963 K.A. Helm et al. / *Neuropharmacology* 48 (2005) 956e964
 40. Consolo, S., et al. 1994. *NeuroReport* 5, 1230-1232.
 41. Wong, E.H., et al. 1996. *Behaviour and Brain Research* 73, 249-252
 42. Fontana DJ, et al. *Neuropharmacology.* 1997 Apr-May; 36(4-5):689-96.
 43. Marchetti E, et al. *Neuropharmacology.* 2000 Aug 23; 39(11):2017-27.
 44. Terry, A.V. Jr., et al. 1998. *Psychopharmacology* 135, 407-415
 45. Irwin S, 1968. *Psychopharmacology* 13:222-257
 46. Rogers, D.C., et al. 1999. *Behav. Brain. Res.* 105:207-217
 47. Weitzdoerfer R, et al. 2004. *Nitric Oxide* 10:130-140
 48. WJ Dixon, 1953. *Biometrics* 9:74-89
 49. Wehner JM, et al. *Brain Res.* 1990 Jul 23;523(2):181-7.
 50. Kerns RT, et al. *J Neurosci.* 2005 Mar 2;25(9):2255-66.
 51. Nguyen PV, et al. *Learn Mem.* 2000 May-Jun;7(3):170-9.
 52. Mombereau C, et al. *Neuroreport.* 2005 Feb 28;16(3):307-10.
 53. Slattery DA, et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005 312:290-6.
 54. Vacher CM, et al. *J Neurochem.* 2006 97:979-91.



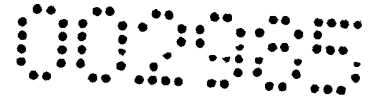
55. Carter LP, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2005 Jun;313(3):1314-23. Epub 2005 Mar 15.
56. Pussinen R, et al. J Psychopharmacol. 1999; 13(2):171-9
57. Aura J, et al. Eur J Pharmacol. 1998 342:15-20.
58. Pitkanen M, et al. Eur Neuropsychopharmacol. 1995 Dec;5(4):457-63.
59. Ho YJ, et al. Brain Res. 2005 1043:179-85.
60. Orsetti M, et al. Learn Mem. 2003 10:420-6.
61. Lelong V, et al. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 2003367:621-8.



Patentansprüche:

1. Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]-thio]phenolhydrochlorid (SIB1553A) zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prävention von Angststörungen.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Angststörung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Panikstörung, Agoraphobie, Phobien, sozialer Angststörung, obsessiv-kompulsiver Störung und posttraumatischer Belastungsstörung.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament für orale oder parenterale Verabreichung, insbesondere intravenöse, intramuskuläre, subkutane, transdermale, transmukosale oder inhalatorische Verabreichung, formuliert ist.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament als Nahrungsergänzung, Aerosol, Kapsel, Pulver, Lösung, Suspension, Tablette, Injektion, Infusion, Gel, Paste oder Transdermalpatch formuliert ist.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Träger und/oder Verdünner umfasst.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament mindestens einen weiteren Wirkstoff, vorzugsweise mindestens ein weiteres Anxiolytikum ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus D-Cycloserin, Alprazolam, Bromazepam, Chlordiazepoxid, Clobazam, Clonazepam, Clorazepat, Diazepam, Halazepam, Paxipam, Ketazolam, Lorazepam, Medazepam, Nordazepam, Oxazepam, Prazepam, Harmalin, Iproclozid, Iproniazid, Isocarboxazid, Nialamid, Phenelzin, Selegilin, Toloxaton, Tranylcypromin, Citalopram, Escitalopramoxalat, Fluoxetin, Fluvoxaminmaleat, Paroxetin, Sertralin, Dapoxetin, Isocarboxazid, Moclobemid, Phenelzin, Tranylcypromin, Selegilin, Nialamid, Iproniazid, Iproclozid, Toloxaton, ein Barbiturat und Meprobamat, umfasst.

NACHGEREICHT



7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid in einer Menge von 0,5 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 40 mg/kg, bevorzugter 1,5 bis 30 mg/kg, insbesondere 2 bis 20 mg/kg, verabreicht wird.

8. Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB-1553A) in einer Formulierung zur Steigerung des Explorationsverhaltens und der Auffassungsgabe.

9. Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB-1553A) in einer Formulierung zur Erhöhung der motorischen Leistung.

10. Verwendung nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid für orale oder parenterale Verabreichung, insbesondere für intravenöse, intramuskuläre, subkutane, transdermale, trans-mukosale oder inhalatorische Verabreichung, formuliert ist.

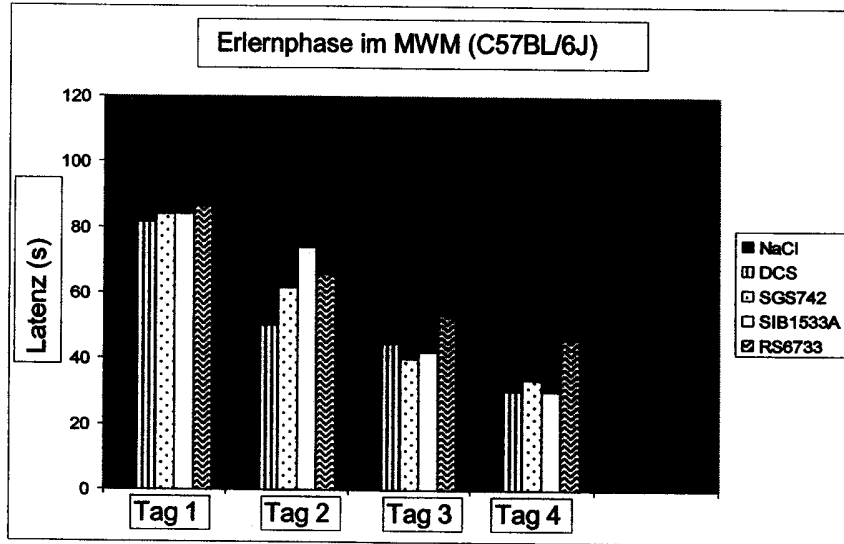
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid als Nahrungsergänzung, Aerosol, Kapsel, Pulver, Lösung, Suspension, Tablette, Injektion, Infusion, Gel, Paste oder Transdermalpatch formuliert ist.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Formulierung mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Träger und/oder Verdünner umfasst.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid in einer Menge von 0,5 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 40 mg/kg, bevorzugter 1,5 bis 30 mg/kg, insbesondere 2 bis 20 mg/kg, verabreicht wird.

NACHGEREICHT

(a)



(b)

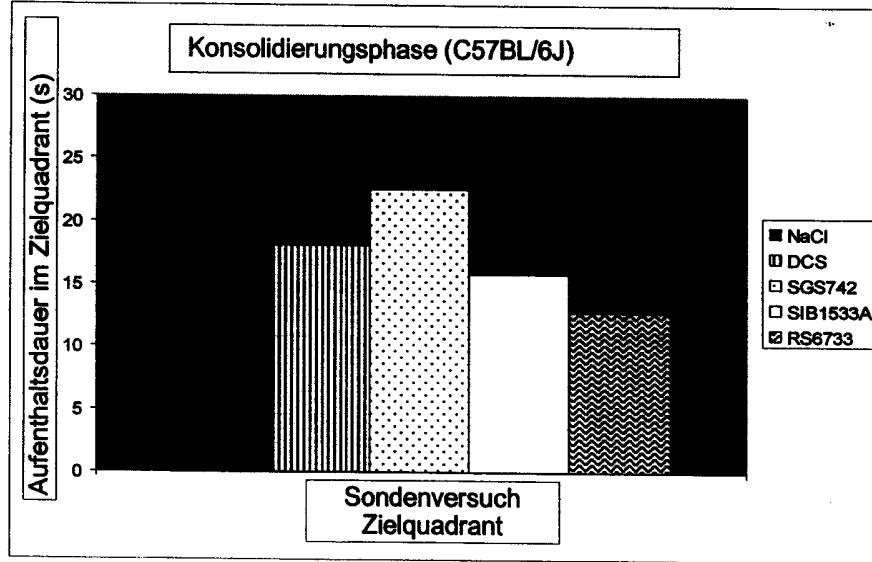
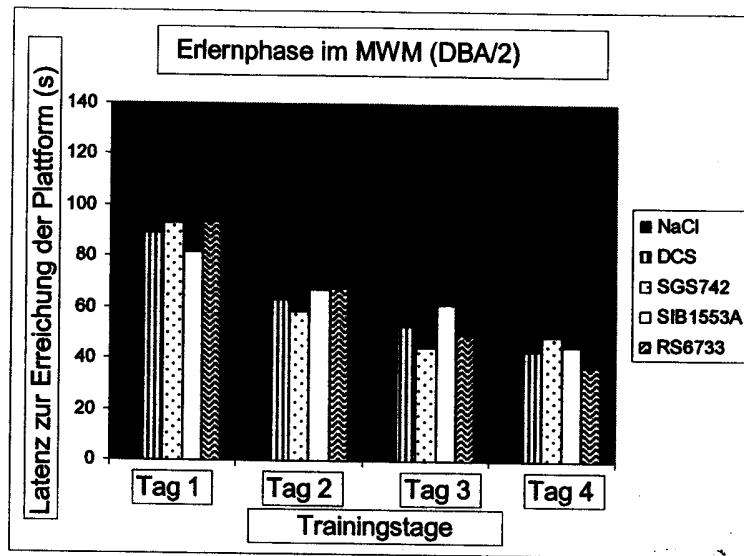


Fig.1

(a)



(b)

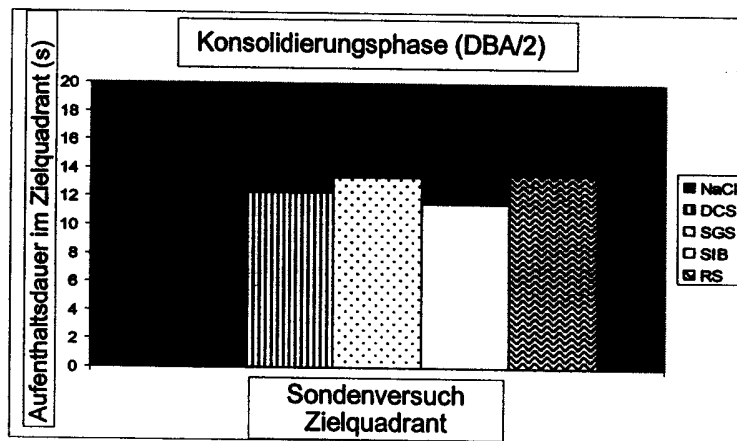


Fig.2

NACHGEREICHT

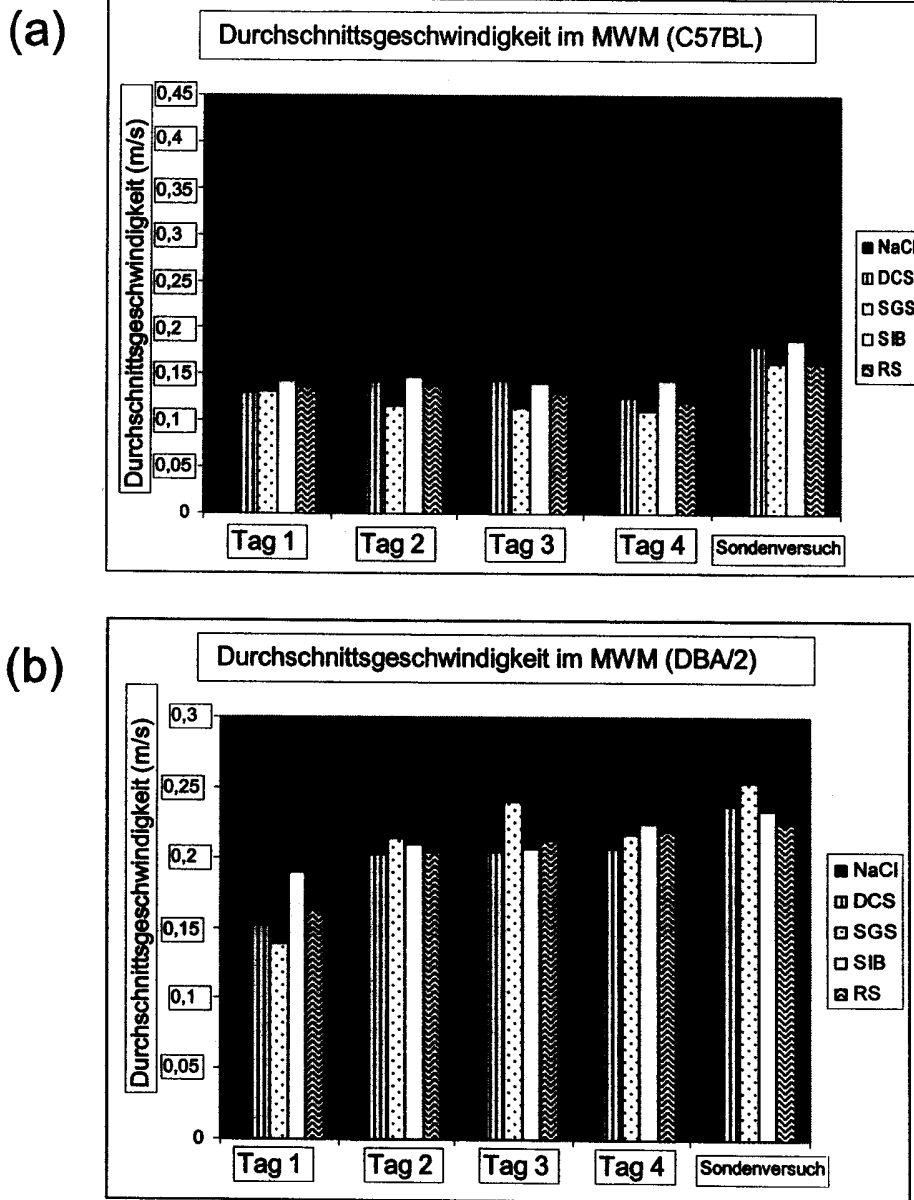
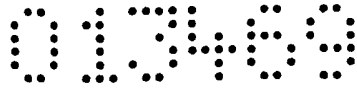


Fig.4



Patentansprüche:

1. Verwendung von (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid (SIB-1553A) in einer Formulierung zur Steigerung des Explorationsverhaltens und der Auffassungsgabe.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid für orale oder parenterale Verabreichung, insbesondere für intravenöse, intramuskuläre, subkutane, transdermale, transmukosale oder inhalatorische Verabreichung, formuliert ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid als Nahrungsergänzung, Aerosol, Kapsel, Pulver, Lösung, Suspension, Tablette, Injektion, Infusion, Gel, Paste oder Transdermalpatch formuliert ist.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Formulierung mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Träger und/oder Verdünner umfasst.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass (+/-)-4-[[2-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenolhydrochlorid in einer Menge von 0,5 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 1 bis 40 mg/kg, bevorzugter 1,5 bis 30 mg/kg, insbesondere 2 bis 20 mg/kg, verabreicht wird.



Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß IPC ^B : A61K 31/40 (2006.01); A61K 31/095 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß ECLA: A61K31/40; A61K31/095		
Recherchierter Prüfstoﬀ (Klassifikation): A61K		
Konsultierte Online-Datenbank: Registry, HCAplus, TXTE		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 29. Dezember 2006 eingereichten Ansprüchen 1-7 erstellt.		
Kategorie ¹⁾	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreﬀend Anspruch
X	EP 1757600 A2 (NEUROSEARCH A/S) 28. Februar 2007 (28.02.2007) <i>Seite 4, Zeile 38; Absätze [0027]-[0034]; Ansprüche 1-3</i>	1-7
	--	
X	US 2004/0092508 A1 (OLSEN et al.) 13. Mai 2004 (13.05.2004) <i>Absätze [0034],[0087]-[0095]; Ansprüche 1-4</i>	1-7
	--	
X	WO 2001/087288 A2 (INSPIRE PHARMACEUTICALS, INC) 22. November 2001 (22.11.2001) <i>Seite 5, Zeile 8; Ansprüche 1,2 (insbesondere Formel V)</i>	1-5,7
	--	
X	WO 2003/057140 A2 (UNIVERSITY OF FLORIDA) 17. Juli 2003 (17.07.2003) <i>Ansprüche 1,2,6</i>	1-7
	--	
X	WO 1997/019059 A1 (SIBIA NEUROSCIENCES, INC.) 29. Mai 1997 (29.05.1997) <i>Seite 3, Zeile 6; Ansprüche 1,15</i>	1-5,7
	--	
Datum der Beendigung der Recherche: 21. September 2007		<input checked="" type="checkbox"/> Fortsetzung siehe Folgeblatt
		Prüfer(in): Dr. KRENN
¹⁾ Kategorien der angeführten Dokumente:		
X	Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.	A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert.
Y	Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.	P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde.
		E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen).
		& Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
A	<p>WO 2000/025783 A1 (CARLSSON M.) 11. Mai 2000 (11.05.2000) Seite 3, Zeile 28; Anspruch 1</p> <p style="text-align: center;">--</p> <p>Das Erfordernis der Einheitlichkeit ist für die Ansprüche 8-13 nicht gegeben; somit basiert der vorliegende Recherchenbericht lediglich auf den Ansprüchen 1-7.</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-7