

(11) Número de Publicação: **PT 1545552 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 31/662 (2006.01) **A61K 31/343** (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2003.06.19	(73) Titular(es): H. LUNDBECK A/S
(30) Prioridade(s): 2002.06.20 DK 200200943 2002.06.20 US 390851 P	OTTILIAVEJ 9 2500 VALBY-COPENHAGEN DK
(43) Data de publicação do pedido: 2005.06.29	(72) Inventor(es): THOMAS IVO FRANCISCUS HUBERT CREMERS NL ARNE MORK DK SANDRA WILLIGERS DK
(45) Data e BPI da concessão: 2007.03.28 016/2007	(74) Mandatário: PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **TERAPIA DE COMBINAÇÃO EM QUE É UTILIZADA UM INIBIDOR DE REABSORÇÃO DE SEROTONINA**

(57) Resumo:

RESUMO

"TERAPIA DE COMBINAÇÃO EM QUE É UTILIZADA UM INIBIDOR DE REABSORÇÃO DE SEROTONINA"

A invenção refere-se à utilização de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.

DESCRIÇÃO

“TERAPIA DE COMBINAÇÃO EM QUE É UTILIZADO UM INIBIDOR DE REABSORÇÃO DE SEROTONINA”

A presente invenção refere-se à combinação de um inibidor de reabsorção de serotonina e de um antagonista do receptor GABA_B. Consequentemente, a presente invenção refere-se à utilização de determinados compostos, e a composições de compostos possuindo actividade inibidora de reabsorção de serotonina e actividade antagonista, agonista parcial ou agonista inversa de GABA_B para a preparação de um medicamento para o tratamento da depressão e outros distúrbios afectivos. O efeito inibidor de reabsorção de serotonina combinado e o efeito antagonista, agonista parcial ou agonista inverso de GABA_B pode residir na mesma entidade química ou em duas entidades químicas separadas.

Antecedentes

Os inibidores selectivos de reabsorção de serotonina (referidos a seguir como SSRI) tornaram-se terapêutica de primeira escolha no tratamento da depressão, determinadas formas de ansiedade e fobias sociais, porque são eficazes, bem tolerados e possuem um perfil de segurança favorável em comparação com os antidepressivos tricíclicos clássicos.

Contudo, estudos clínicos sobre a depressão e distúrbios de ansiedade indicam que a não resposta aos SSRI é substancial, até

30%. Outro factor, frequentemente negligenciado, no tratamento antidepressivo é a adesão, que tem um efeito bastante profundo na motivação do doente para continuar com a farmacoterapia.

Em primeiro lugar, existe o atraso no efeito terapêutico dos SSRI. Por vezes, os sintomas até pioram durante as primeiras semanas de tratamento. Em segundo lugar, a disfunção sexual é um efeito secundário comum a todos os SSRI. Sem abordar estes problemas, não é provável que ocorra um progresso efectivo na farmacoterapia da depressão e distúrbios de ansiedade.

A fim de lidar com a não-resposta, por vezes os psiquiatras servem-se de estratégias de reforço. O reforço da terapia antidepressiva pode ser alcançado através da co-administração de estabilizadores do humor, tais como carbonato de lítio ou triiodotironina ou pela utilização de electrochoques.

Em 1993, foi descrita uma estratégia de reforço com pindolol por Artigas *et al.* em *Trends Pharmacol. Sci.* 1993, 14, p 262-263. A ideia de Artigas baseia-se em experiências de microdiálise intracerebral em animais. De facto, estudos neuroquímicos posteriores assentes na hipótese de dessensibilização de Blier e colaboradores, referiram que o atraso no efeito terapêutico de antidepressivos está relacionado com uma dessensibilização gradual dos auto-receptores 5-HT (Blier *et al.* *J. Clin. Psychopharmacol.* **1987**, 7 suppl. 6, 24S-35S). Um ponto-chave na sua hipótese é que os efeitos dos SSRI nos auto-receptores somatodendríticos controladores da libertação (5-HT_{1A}) limitam a libertação de 5-HT em áreas terminais e, deste modo, o efeito de inibição de absorção de 5-HT naquelas regiões. Isto é corroborado por experiências de microdiálise em ratos, demonstrando que o aumento em 5-HT

extracelular desencadeado por uma dose única de um SSRI, é reforçado pela co-administração de um antagonista do auto-receptor 5-HT_{1A} (Invernizzi *et al.* *Brain Res*, **1992**, 584, p 322-324 e Hjorth, S., *J. Neurochem*, **1993**, 60, p 776-779).

O efeito da administração combinada de um composto que inibe a reabsorção de serotonina e de um antagonista do receptor 5-HT_{1A} foi avaliado em diversos estudos (Innis, R.B. *et al.* *Eur. J. Pharmacol.* **1987**, 143, p. 1095-204 e Gartside, S.E., *Br. J. Pharmacol.* **1995**, 115, p 1064-1070, Blier, P. *et al.* *Trends in Pharmacol. Science* **1994**, 15, 220). Verificou-se, nestes estudos que antagonistas do receptor 5-HT_{1A} aboliam a repressão inicial sobre a neurotransmissão de 5-HT induzida pelos inibidores de reabsorção de serotonina, produzindo assim um reforço imediato da transmissão de 5-HT e um início rápido da acção terapêutica.

Foram apresentados diversos pedidos de patente que abrangem a utilização de uma combinação de um antagonista de 5-HT_{1A} e de um inibidor de reabsorção de serotonina para o tratamento da depressão (ver e. g., documentos EP-A2-687472 e EP-A2-714663).

Outra abordagem para aumentar o 5-HT terminal seria através de bloqueio do auto-receptor 5-HT_{1B}. Experiências de microdiálise em ratos demonstraram, de facto, que o aumento de 5-HT hipocampal por intermédio de citalopram é potenciado por GMC 2-29, um antagonista experimental do receptor 5-HT_{1B}.

Foram igualmente apresentados diversos pedidos de patente abrangendo a combinação de um SSRI e de um antagonista ou agonista parcial de 5-HT_{1B} (documentos WO 97/28141, WO 96/03400, EP-A-701819 e WO 99/13877).

O ácido γ -aminobutírico (GABA) é o neurotransmissor inibitório mais importante no cérebro; até 50% de todas as sinapses centrais são GABA-érgicas (Paredes R.G. & Agmo A., *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, vol 16: pp 145-170 (1992)).

A noradrenalina, dopamina e serotonina (5-HT) estão todas sob o controlo inibitório de GABA (Haefely W. *The role of GABA in anxiolytic/antidepressant drug action*. Elliott M.M., Heal D.J. & Marsden C.A. (eds), pp 151-168, John Wiley & Sons, Nova Iorque (1992)). Existem dois subtipos de receptores de GABA, GABA_A e GABA_B, que foram extensamente estudados e foi determinada a sua influência sobre a função nervosa e libertação de 5-HT.

Deste modo, a estimulação do receptor GABA_A com o agonista muscimol reduziu a actividade celular de 5-HT e a libertação de 5-HT nos núcleos da rafe (Tao R. & Auerbach S. B. J. *Psychopharmacology* vol 14(2): pp 100-113 (2000)) e o bloqueio dos receptores GABA_A aumenta a descarga e eleva subsequentemente os níveis extracelulares de 5-HT (ver abaixo - bicuculline & Tao R. *et al.*, *British Journal of Pharmacology* vol 119: pp 1375-1384 (1996)).

O agonista de GABA_B, baclofeno, produziu uma diminuição em 5-HT na rafe e uma redução no cérebro anterior (Tao R. *et al.*, *British Journal of Pharmacology* vol 119: pp 1375-1384 (1996)) e quando administrado por si só o antagonista de GABA_B, faclofeno, é desprovido de efeito sobre os níveis de 5-HT na rafe (Abellán M.T. *et al.*, *Neuroreport* vol 11: pp941-945 (2000); Tao R. *et al.*, *British Journal of Pharmacology* vol 119: pp 1375-1384 (1996)) ou no cérebro anterior (ver abaixo & Tao R. *et al.*, *British Journal of Pharmacology* vol 119: pp 1375-1384 (1996)).

Contudo, o faclofeno, administrado centralmente no hipocampo ou sistemicamente, demonstrou aumentar significativamente os efeitos de citalopram nos níveis extracelulares de 5-HT, como demonstrado nos resultados aqui relatados.

A invenção

Verificou-se agora, surpreendentemente, que um antagonista de GABA_B reforçará o efeito de um SSRI sobre os níveis extracelulares de 5-HT.

É, por conseguinte, sugerido que a combinação de um SSRI e de um antagonista de GABA_B ou uma molécula, que possua propriedades tanto inibidoras da reabsorção de 5-HT como antagonistas de GABA_B, teria uma melhor eficácia e um início mais rápido do que um SSRI isolado.

É reivindicado antagonismo a todos os variantes de excisão de GABA_B, incluindo mas não limitado a GABA_{BR1a} e GABA_{BR1b}.

Esta invenção abrange ambos os antagonistas de SSRI + GABA_B em separado ou na mesma molécula.

Deste modo, a presente invenção proporciona:

A utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B para a preparação de uma composição farmacêutica a utilizar em conjunto com um inibidor de reabsorção de serotonina (SRI).

A presente invenção refere-se à utilização de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.

A presente invenção refere-se, igualmente, à utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B para a preparação de uma composição farmacêutica útil para reforçar e/ou proporcionar um início mais rápido do efeito terapêutico de um inibidor de reabsorção de serotonina.

Numa forma de realização preferida, a invenção refere-se à utilização, como supracitado, em que o inibidor de reabsorção de serotonina é utilizado para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, incluindo o distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático ou distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso,

distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde a um SRI.

Noutra forma de realização, a invenção refere-se à utilização de

a) um composto que é um inibidor de reabsorção de serotonina e de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, ou

b) uma combinação de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de um composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B,

para a preparação de uma composição farmacêutica ou kit (kit em partes) útil para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.

Em duas formas de realização independentes, a invenção refere-se à utilização de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de um composto, que é um

antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, para a preparação de:

(a) uma composição farmacêutica, ou

(b) um kit

útil para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.

Numa forma de realização adicional, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica ou kit compreendendo:

a) um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, ou

b) uma combinação de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B,

e, opcionalmente, veículos ou diluentes farmacologicamente aceitáveis.

Em duas formas de realização individuais adicionais, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica ou a um kit compreendendo um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e a outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e, facultativamente, a veículos ou diluentes farmacologicamente aceitáveis.

Ainda noutra forma de realização, a invenção refere-se a um método para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina compreendendo a administração a uma pessoa que dela necessita de uma quantidade terapêuticamente eficaz de

a) um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, ou

b) uma combinação de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de um composto, que é um

antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B.

Sempre que for mencionado, cada uma das opções

a) um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, e

b) uma combinação de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina e de um (ou outro) composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B

pretendem ser formas de realização individuais. Consequentemente, cada uma delas pode ser reivindicada individualmente.

Cada uma das indicações médicas, depressão, distúrbios de ansiedade e outros distúrbios afectivos, incluindo distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático ou distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas e qualquer outro distúrbio que responde a um SRI pretende ser uma forma de realização individual. Consequentemente, sempre que for mencionado na presente descrição, cada uma das indicações acima especificadas pode ser reivindicada individualmente.

Sempre que as indicações depressão, distúrbios de ansiedade e outros distúrbios afectivos, incluindo distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático ou distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas e qualquer outro distúrbio que responde a um SRI sejam mencionadas em relação à utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e um SRI, uma composição farmacêutica, um kit, um método de tratamento e um método para a identificação de compostos úteis para tratamento, pretendem ser uma forma de realização individual. Consequentemente, cada uma das indicações acima especificadas pode ser reivindicada individualmente, juntamente com a referida utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e um SRI, composição farmacêutica, kit, método de tratamento e método para a identificação de compostos úteis para tratamento.

Numa forma de realização particular, é utilizado um inibidor selectivo de reabsorção de serotonina de acordo com a invenção.

Noutra forma de realização particular, um composto, que é selectivo para o receptor GABA_B é utilizado de acordo com a invenção.

Numa forma de realização adicional, um composto, que é um antagonista, um agonista inverso no receptor GABA_B é utilizado de acordo com a invenção.

A composição farmacêutica ou kit de acordo com a invenção podem ser administrados por administração simultânea. O termo "administração simultânea" como aqui utilizado significa que o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI são administrados com um intervalo de tempo não superior a 15 minutos, tal como 10 minutos, no máximo, tal como 5 minutos, no máximo ou tal como 2 minutos, no máximo. O antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI podem estar contidos na "mesma forma de dosagem unitária" ou em "formas de dosagem discretas". Como aqui utilizado, o termo "mesma forma de dosagem unitária" significa uma forma de dosagem compreendendo tanto o SRI como o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B. Como aqui utilizado, o termo "forma de dosagem discreta" significa que o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B é incluído numa forma de dosagem e que o SRI é incluído noutra forma de dosagem.

A administração simultânea do antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e do SRI é facultativamente combinada com a administração de doses suplementares de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B. As doses suplementares de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B podem ser dadas, por exemplo 1, 2, 3, ou 4 vezes ao dia, enquanto o SRI e o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, que são administrados por "administração simultânea", podem ser dadas uma ou mais vezes ao dia, e. g., uma vez por dia ou, e. g., duas vezes por dia. Consequentemente:

- o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI podem ser administrados por

administração simultânea uma vez por dia e doses suplementares de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B podem ser administradas 1, 2, 3, ou 4 vezes ao dia, tal como 1, 2 ou 3 vezes ao dia, tal como uma ou duas vezes por dia, tal como duas vezes por dia ou tal como uma vez por dia,

ou

- o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI podem ser administrados por administração simultânea duas vezes por dia e doses suplementares de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B podem ser administradas 1, 2, 3, ou 4 vezes ao dia, tal como 1, 2 ou 3 vezes ao dia, tal como uma ou duas vezes por dia, tal como duas vezes por dia ou tal como uma vez por dia.

Alternativamente, a composição farmacêutica ou kit de acordo com a invenção podem ser administrados por administração sequencial. O termo "administração sequencial" como aqui utilizado significa que 1 ou mais doses diárias de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e 1 ou mais doses diárias de SRI são administradas com um intervalo de tempo entre duas doses administradas superior a 15 minutos e inferior a 4 horas, tal como superior a 2 horas e inferior a 4 horas, tal como superior a 15 minutos e inferior a 2 horas, tal como superior a 1 hora e inferior a 2 horas, tal como superior a 30 minutos e inferior a 1 hora, tal como superior a 15 minutos e inferior a 30 minutos. Quer o SRI quer o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B podem ser administrados em primeiro lugar. O antagonista, agonista inverso

ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI estão contidos em formas de dosagem discretas, opcionalmente contidas no mesmo recipiente ou embalagem. Tipicamente, podem ser administradas 1, 2, 3, 4 ou 5 doses diárias de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e 1 ou 2 doses diárias de SRI. Consequentemente:

- o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI podem ser administrados uma vez por dia e o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B pode ser administrado 1, 2, 3, 4 ou 5 vezes ao dia, tal como 1, 2, 3 ou 4 vezes ao dia, tal como 1, 2 ou 3 vezes ao dia, tal como uma ou duas vezes por dia, tal como duas vezes por dia ou tal como uma vez por dia,

ou

- o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e o SRI podem ser administrados duas vezes por dia e o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B pode ser administrado 1, 2, 3, 4 ou 5 vezes ao dia, tal como 1, 2, 3 ou 4 vezes ao dia, tal como 1, 2 ou 3 vezes ao dia, tal como uma ou duas vezes por dia, tal como duas vezes por dia ou tal como uma vez por dia.

Consequentemente, a composição farmacêutica ou kit de acordo com a invenção pode ser adaptada para administração simultânea dos ingredientes activos, ou pode ser adaptada para administração sequencial dos ingredientes activos. Quando a composição farmacêutica ou kit for adaptada para administração

simultânea, os ingredientes activos podem estar contidos na mesma forma de dosagem unitária. Quando a composição farmacêutica ou kit for adaptada para administração sequencial, os ingredientes activos estão contidos em formas de dosagem discretas, contidas facultativamente no mesmo recipiente ou embalagem. Como aqui utilizado, um "ingrediente activo" significa um SRI ou um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B.

Um kit (kit em partes) compreende uma preparação do antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B numa forma de dosagem de primeira unidade, e o SRI numa forma de dosagem de segunda unidade, e recipiente significa um meio para conter as referidas primeira e segunda formas de dosagem.

Em particular, a presente invenção refere-se à utilização e a composições farmacêuticas ou kits compreendendo as seguintes combinações:

CGP 55845 e um SRI seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina.

CGP 62349 e um SRI seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 71982 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 76290 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 76291 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 35348 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 36742 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

CGP 46381 e um SRI selecionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina,

fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina,
vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e
clomipramina,

CGP 52432 e um SRI selecionado de citalopram,
escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina,
fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina,
vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e
clomipramina,

CGP 54626 e um SRI selecionado de citalopram,
escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina,
fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina,
vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e
clomipramina,

CGP 55845, CGP 62349, CGP 71982, CGP 76290, CGP 76291, CGP
35348, CGP 36742, CGP 46381, CGP 52432 e CGP 54626 são
divulgados em Bowery NG et al. *Pharmacological Reviews*
2002, 54 N° 2, p. 247-264.

SCH 50911 e um SRI selecionado de citalopram,
escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina,
fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina,
vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e
clomipramina,

Faclofeno e um SRI selecionado de citalopram,
escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina,
fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina,
vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e
clomipramina,

Saclofeno e um SRI seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

2-hidroxisaclofeno e um SRI seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina,

GAS 360 e um SRI seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina.

Numa forma de realização final, a presente invenção refere-se a um método para a identificação de compostos úteis para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina, compreendendo, numa ordem qualquer:

(a) a medição da capacidade dos compostos de teste para inibir a reabsorção de serotonina e a selecção dos compostos que têm um valor de IC_{50} inferior a 20 nM;

(b) a medição da afinidade dos compostos de teste para o receptor $GABA_B$ e a selecção dos compostos.

e, subsequentemente, a medição da eficácia dos compostos seleccionados no receptor $GABA_B$ e a selecção dos compostos que são antagonistas, agonistas inversos no receptor.

Ligandos de $GABA_B$ preferidos apresentam afinidade inferior a 1,5 μ M, enquanto outros ligandos preferidos apresentam afinidade inferior a 1,0 μ M e, ainda, outros ligandos preferidos apresentam afinidade inferior a 500 nM. São ainda mais preferidos compostos com afinidade inferior a 100 nM.

Exemplos de ensaios para a selecção/detecção de antagonistas, agonistas inversos ou agonistas parciais de $GABA_B$ são, por exemplo, os seguintes:

Ensaio de ligação para a detecção de compostos com afinidade para receptores $GABA_B$ são descritos em Karla *et. al. J. Med. Chem.* **1999**, 42(11), 2053-2059; ou Frydenvang *et. al. Chirality* **1994**; 6(7); 583-589;

Ensaio de eficácia para a detecção de antagonistas, agonistas parciais ou agonistas inversos nos receptores $GABA_B$ são, por exemplo: Kamatchi *et. al. Brain Res.* **1990**, 506(2), 181-186; or Brauner-Osborne *et. al. Br. J. Pharmacol.* **1999**, 128(7), 1370-1374.

A invenção abrange igualmente compostos identificados de acordo com este método, mas não está limitada a estes métodos de ensaio.

De acordo com a invenção, verificou-se que a co-administração de antagonista ou agonista inverso do receptor GABA_B e de um inibidor de reabsorção de serotonina produz um aumento significativo no nível de serotonina em áreas terminais, como medido em experiências de microdiálise, em comparação com a administração de apenas inibidor de reabsorção de serotonina.

De acordo com a invenção, estudos animais demonstraram que o antagonista ou agonista inverso do receptor GABA_B pode proporcionar um início rápido do efeito terapêutico de inibidores de reabsorção de serotonina e potenciar o potencial ansiolítico de inibidores de reabsorção de serotonina.

A utilização de uma combinação de antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e de um inibidor de reabsorção de serotonina pode reduzir grandemente a quantidade de inibidor de reabsorção de serotonina necessária para tratar a depressão e outros distúrbios afetivos e pode reduzir, deste modo, os efeitos secundários causados pelo inibidor de reabsorção de serotonina. Em particular, a combinação de uma quantidade reduzida de SRI e de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B pode reduzir o risco de disfunção sexual induzida por SSRI e perturbações do sono.

A co-administração de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B e de um inibidor de reabsorção de serotonina pode ser igualmente útil para o tratamento da depressão refractária, *i. e.*, depressão que não pode ser tratada

adequadamente pela administração um inibidor de reabsorção de serotonina isolado. Tipicamente, um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B pode ser utilizado como terapia acessória para o reforço da resposta aos SRIs em doentes em que não foi alcançada, pelo menos, 40-60% de redução nos sintomas durante as primeiras 6 semanas de tratamento com um SRI.

Compostos que sejam tanto inibidores de reabsorção de serotonina como antagonistas, agonistas inversos ou agonistas parciais do receptor GABA_B podem possuir as mesmas vantagens farmacológicas que a combinação de um inibidor de reabsorção de serotonina e de antagonistas, agonistas inversos ou agonistas parciais do receptor GABA_B, com respeito à redução de efeitos secundários, início rápido e no tratamento de doentes resistentes ao tratamento.

Foram descritos na literatura muitos antidepressivos com efeito de inibição de reabsorção de serotonina. Qualquer composto farmacologicamente activo, que exerça principalmente ou parcialmente, o seu efeito terapêutico via inibição de reabsorção de serotonina no CNS, pode beneficiar do reforço com um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B.

A lista seguinte contém uma série de inibidores de reabsorção de serotonina, que podem beneficiar do reforço com um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B: citalopram, escitalopram, fluoxetina, R-fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, desmetilvenlafaxina, duloxetina, dapoxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, N-óxido de imipramina, desipramina,

pirandamina, dazepinilo, nefopam, befuralina, fezolamina, femoxetina, clomipramina, cianoimipramina, litoxetina, cericlamina, seproxetina, WY 27587, WY 27866, imeldina, ifoxetina, indeloxazina, tiplucarbina, viqualina, milnaciprano, bazinaprina, YM 922, S 33005, F 98214-TA, FI 4503, A 80426, EMD 86006, NS 2389, S33005, OPC 14523, alaproclato, cianodotiequina, trimipramina, quinupramina, dotiequina, amoxapina, nitroxazepina, McN 5652, McN 5707, VN 2222, L 792339, roxindole, YM 35992, Ol 77, Org 6582, Org 6997, Org 6906, amitriptilina, N-óxido de amitriptilina, nortriptilina, CL 255.663, pirlindole, indatralina, LY 280253, LY 285974, LY 113.821, LY 214.281, CGP 6085 A, RU 25.591, napamezole, diclofensina, trazodona, BMY 42.569, NS 2389, sercloremina, nitroquipazina, ademetionina, sibutramina, desmetilsubitramina, didesmetilsubitramina, vilazodona de clovoxamina. Os compostos acima mencionados podem ser utilizados na forma da base ou um seu sal de adição ácida farmacologicamente aceitável. Cada um dos inibidores de reabsorção de serotonina acima especificados pretende ser uma forma de realização individual. Consequentemente, cada uma delas e a sua utilização podem ser reivindicadas individualmente.

Compostos, tais como citalopram, escitalopram, fluoxetina, R-fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, desmetilvenlafaxina, duloxetina, dapoxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, N-óxido de imipramina, desipramina, pirandamina, dazepinilo, nefopam, befuralina, fezolamina, femoxetina, clomipramina, cianoimipramina, litoxetina, cericlamina seproxetina, imeldina, ifoxetina, indeloxazina, tiplucarbina, viqualina, milnaciprano, bazinaprina, alaproclato, cianodotiequina, trimipramina, quinupramina, dotiequina, amoxapina, nitroxazepina, roxindole, amitriptilina, N-óxido de amitriptilina, nortriptilina, pirlindole, indatralina,

napamezole, diclofensina, trazodona, sercloremina,
nitroquipazina, ademetionina, sibutramina, desmetilsubitramina,
didesmetilsubitramina, vilazodona de clovoxamina,

N-[1-[(6-Fluoro-2-naftalenil)metil]-4-piperidinil]amino]
carbonil]-3-piridina carboxamida (WY 27587),

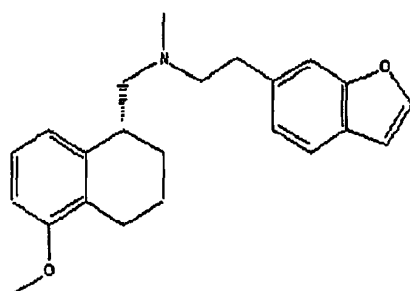
[trans-6-(2-clorofenil)-1,2,3,5,6,10b-hexa-hidropirrolo-
(2,1-a)isoquinolina] (McN 5707),

(cloridrato de dl-4-exo-amino-8-cloro-benzo-(b)-
biciclo[3.3.1]nona-2-6 alfa(10 alfa)-dieno) (Org 6997),

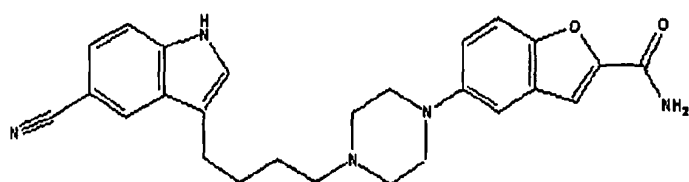
cloridrato de (dl)-(5 alfa,8 alfa,9 alfa)-5,8,9,10-Tetra-
hidro-5,9- metanobenzocicloocten-8-amina (Org 6906),

-[2-[4-(6-fluoro-1H-indol-3-il)-3,6-di-hidro-1(2H)-
piridinil]etil]-3-isopropil-6-(metilsulfonil)-3,4-di-hidro-1H-
2,1,3-benzotiadiazina-2,2-dióxido (LY393558),

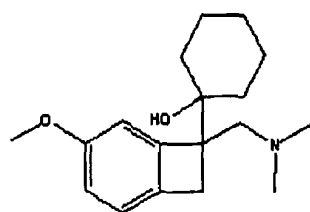
[4-(5,6-dimetil-2-benzofuranil)-piperidina] (CGP 6085),
dimetil-[5-(4-nitro-fenoxi)-6,7,8,9-tetra-hidro-5H-benzociclo-
hepteno-7-il]-amina (RU 25.591),



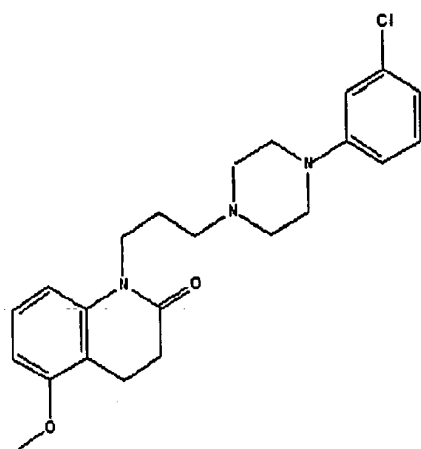
(A 80426),



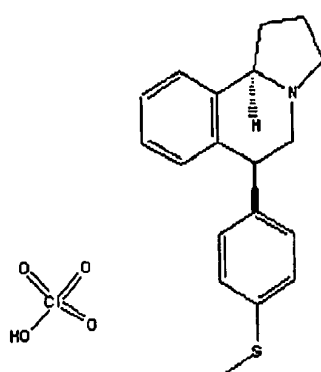
(EMD 86006),



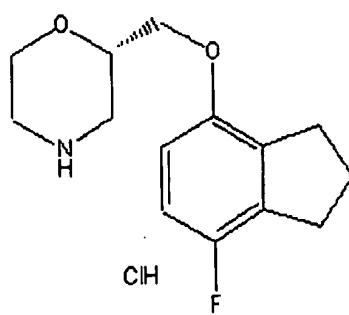
(S33005),



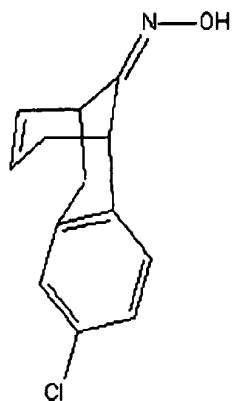
(OPC 14523),



(McN 5652),



(YM 35992),



(Org 6582),

são preferidos. Os compostos acima mencionados podem ser utilizados na forma da base ou um seu sal de adição ácida farmaceuticamente aceitável. Cada um dos inibidores de reabsorção de serotonina acima especificados pretende ser uma forma de realização individual. Consequentemente, cada uma delas e a sua utilização podem ser reivindicadas individualmente.

Outros compostos terapêuticos, que podem beneficiar do reforço com antagonistas, agonistas inversos ou agonistas parciais do receptor GABA_B, incluem compostos, que causam uma elevação no nível extracelular de 5-HT na fenda sináptica, embora não sejam inibidores de reabsorção de serotonina. Um tal composto é a tianeptina.

Consequentemente, outros compostos que não SRIs que causam uma elevação no nível extracelular de serotonina, podem ser utilizados em vez de SRIs em todos os aspectos da invenção como aqui descrito.

A lista supracitada de inibidores de reabsorção de serotonina e outros compostos, que causam um aumento no nível extracelular de serotonina, não pode ser interpretada como restritiva.

SRIs, que são particularmente preferidos de acordo com a presente invenção, incluem citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina.

O termo inibidor selectivo de reabsorção de serotonina (SSRI) significa um inibidor dos veículos da monoamina, que possui um efeito inibitório mais forte no veículo de serotonina do que a dopamina e os veículos de noradrenalina. São SSRI particularmente preferidos de acordo com a invenção citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, duloxetina, vilnazodona e paroxetina.

Em formas de realização individuais particulares, é utilizado citalopram ou escitalopram.

A lista seguinte contém um número de antagonistas, agonistas parciais ou agonistas inversos de GABA_B, que podem ser utilizados de acordo com a invenção: CGP-71982, CGP-76290, CGP-76291, CGP-35348, CGP-36742, CGP-46381, CGP-52432, CGP-54626, CGP-55845, CGP-62349, SCH 50911, GAS-360, Faclofeno, Saclofeno, 2-hidroxisaclofeno. Cada um dos antagonistas, agonistas parciais ou agonistas inversos de GABA_B acima especificados pretende ser uma forma de realização individual. Consequentemente, cada um deles pode ser reivindicado individualmente.

Numa forma de realização preferida, um ligando do receptor GABA_B é seleccionado de CGP 71982, CGP 76290, CGP 55845 e CGP 62349.

Em formas de realização individuais particulares, é utilizado Faclofeno, 2-hidroxisaclofeno ou CGP-46381.

Sempre que for mencionado, cada um dos termos "antagonista, agonista parcial ou agonista inverso de GABA_B", "antagonista, agonista parcial ou agonista inverso do receptor GABA_B", "ligando de GABA_B", e "ligando do receptor GABA_B" significa antagonista do receptor GABA_B, agonista parcial do receptor GABA_B e agonista inverso do receptor GABA_B. Cada um deles pretende ser uma forma de realização individual. Consequentemente, cada uma destas formas de realização e a sua utilização pode ser reivindicada individualmente.

Uma forma de realização particular refere-se a um antagonista do receptor GABA_B e à sua utilização.

Composições farmacêuticas

Cada um dos ingredientes activos de acordo com a invenção pode ser administrado isolado, conjuntamente ou em combinação com veículos ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, em doses únicas ou múltiplas. As composições farmacêuticas de acordo com a invenção podem ser formuladas com veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis bem como quaisquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos em conformidade com técnicas convencionais, tais como aquelas divulgadas em Remington: The

Science and Practice of Pharmacy, 19 Edição, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

As composições farmacêuticas podem ser formuladas especificamente para administração por qualquer via adequada, tal como a via oral, rectal, nasal, pulmonar, tópica (incluindo bucal e sublingual), transdérmica, intracisternal, intraperitoneal, vaginal e parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, intratecal, intravenosa e intradérmica), sendo preferida a via oral. Será entendido que a via preferida dependerá do estado geral e idade do indivíduo a tratar, da natureza do problema a tratar e do ingrediente activo ou ingredientes activos específicos escolhidos.

Composições farmacêuticas para administração oral incluem formas de dosagem sólidas tais como cápsulas, comprimidos, drageias, pílulas, pastilhas, pós e granulados. Sempre que apropriado, podem ser preparadas com revestimentos, tais como revestimentos entéricos ou podem ser formuladas de forma a proporcionar libertação controlada de um ou mais ingredientes activos, tal como libertação sustentada ou prolongada de acordo com métodos bem conhecidos na técnica.

Formas de dosagem líquidas para administração oral incluem soluções, emulsões, suspensões, xaropes e elixires.

Composições farmacêuticas para administração parentérica incluem soluções injectáveis aquosas e não aquosas esterilizadas, dispersões, suspensões ou emulsões bem como pós esterilizados a reconstituir em soluções injectáveis ou dispersões esterilizadas antes de utilização. Formulações

injectáveis de libertação lenta estão igualmente contempladas como estando abrangidas pelo âmbito da presente invenção.

Outras formas de administração adequadas incluem supositórios, soluções para pulverização, pomadas, cremes, géis, inalações, emplastros dérmicos, implantes, etc.

As composições farmacêuticas desta invenção ou aquelas que são preparadas em conformidade com esta invenção podem ser administradas por qualquer via adequada, por exemplo oralmente na forma de comprimidos, cápsulas, pós, xaropes, etc., ou parentericamente na forma de soluções para injectáveis. Para a preparação de tais composições podem ser utilizados métodos bem conhecidos na técnica e podem ser utilizados quaisquer veículos, diluentes, excipientes ou outros aditivos farmacêuticamente aceitáveis utilizados normalmente na técnica.

Uma dosagem oral típica de cada um dos ingredientes activos situa-se na gama desde cerca de 0,001 a cerca de 100 mg/kg de peso corporal por dia, de um modo preferido desde cerca de 0,01 a cerca de 50 mg/kg de peso corporal por dia e, de um modo mais preferido, de cerca desde 0,05 a cerca de 10 mg/kg de peso corporal por dia administrado numa ou mais dosagens, tais como 1 a 3 dosagens. A dosagem exacta dependerá da frequência e modo de administração, do sexo, idade, peso e estado geral do indivíduo tratado, da natureza e gravidade do problema tratado e de quaisquer doenças concomitantes a tratar e de outros factores evidentes aos especialistas na técnica.

Para vias parentéricas, tais como intravenosa, intratecal, intramuscular e administrações semelhantes, doses típicas

situam-se na ordem de cerca de metade da dose empregue para administração oral.

Os compostos desta invenção são utilizados, geralmente, como a substância livre ou como um seu sal farmacologicamente aceitável. Um exemplo é um sal de adição básico de um composto tendo a utilidade de um ácido livre. Quando um ingrediente activo contém um ácido livre tais sais são preparados num modo convencional pelo tratamento de uma solução ou suspensão de um ácido livre do ingrediente activo com um equivalente químico de uma base farmacologicamente aceitável.

Para administração parentérica, podem ser empregues soluções de um ou mais ingredientes activos em solução aquosa esterilizada, propilenoglicol aquoso, vitamina E aquosa ou óleo de sésamo ou de amendoim. Se necessário, tais soluções aquosas devem ser adequadamente tamponadas e o diluente líquido tornado, em primeiro lugar, isotónico com suficiente solução salina ou glucose. As soluções aquosas são particularmente adequadas para administração intravenosa, intramuscular, subcutânea e intraperitoneal. Os meios aquosos esterilizados empregues estão todos facilmente disponíveis através de técnicas padrão conhecidas dos especialistas na técnica.

As soluções para injectáveis podem ser preparadas pela dissolução de um ou mais ingredientes activos e possíveis aditivos numa parte do solvente para injectável, de um modo preferido água esterilizada, ajustando a solução para um volume desejado, esterilizando a solução e carregando-a em ampolas ou frascos para injectáveis adequados. Pode ser adicionado qualquer aditivo adequado utilizado convencionalmente na técnica, tais como agentes de tonicidade, conservantes, antioxidantes, etc.

Veículos farmacêuticos adequados incluem diluentes sólidos inertes ou espessantes, solução aquosa esterilizada e diversos solventes orgânicos.

São exemplos de veículos sólidos, a lactose, terra alba, sacarose, ciclodextrina, talco, agar, pectina, acácia, ácido esteárico e éteres inferiores de alquilo de amido de milho celulósico, amido de batata, talco, estearato de magnésio, gelatina, lactose, gomas e afins.

Podem ser utilizados quaisquer outros adjuvantes ou aditivos habitualmente utilizados para tais fins, tais como corantes, aromatizantes, conservantes, etc., desde que sejam compatíveis com o ingrediente ou ingredientes activos utilizados.

São exemplos de veículos líquidos o xarope, óleo de amendoim, azeite, fosfolípidos, ácidos gordos, aminas de ácidos gordos, polioxietileno e água. Analogamente, o veículo ou diluente pode incluir qualquer material de libertação sustentada conhecido na técnica, tais como monoestearato de glicerilo ou diestearato de glicerilo, isolado ou misturado com uma cera.

As composições farmacêuticas formadas pela combinação de um ou mais ingredientes activos da invenção com os veículos farmaceuticamente aceitáveis são então facilmente administradas numa variedade de formas de dosagem adequadas para as vias de administração divulgadas. As formulações podem ser apresentadas convenientemente na forma de dosagem unitária por métodos conhecidos na técnica farmacêutica.

Os ingredientes activos da invenção podem ser formulados em composições farmacêuticas semelhantes ou dissemelhantes e suas formas unitárias.

Se for utilizado um veículo sólido para administração oral, a preparação pode ser um comprimido, colocado numa cápsula de gelatina dura na forma de pó ou pélete ou pode assumir a forma de um trocisco ou pastilha.

A quantidade de veículo sólido variará largamente mas será habitualmente desde cerca de 25 mg a cerca de 1 g.

Se for utilizado um veículo líquido, a preparação pode assumir a forma de um xarope, emulsão, cápsula mole de gelatina ou líquido injectável esterilizado, tais como uma suspensão ou solução líquida aquosa ou não aquosa.

Se desejado, a composição farmacêutica da invenção pode compreender um ou mais ingredientes activos em conjunto com substâncias farmacologicamente activas adicionais, tais como aquelas descritas no precedente.

Breve descrição das figuras

Figura 1. Efeito da administração local de bicuculina (50 μ M), seguida por administração sistémica de citalopram a 10 μ mol/Kg s.c.

Figura 2. Efeito da administração local de faclofeno (50 μ M), seguida por administração sistémica de citalopram a 10 μ mol/Kg s.c.

Figura 3. Efeito da co-administração de faclofeno (2 mg/Kg s.c.), seguida por administração sistêmica de citalopram (10 μ mol/Kg s.c.).

Figura 4. Efeito da administração do antagonista de GABA_B 2-hidroxisaclofeno (2 mg/Kg s.c.) no aumento induzido por citalopram dos níveis de 5-HT no hipocampo ventral de rato. $F(1,172)=3,01$, $P<0,05$. citalopram 10 μ mol/Kg s.c., $n=13$, citalopram 10 μ mol/Kg s.c. e 2-hidroxisaclofeno 2 mg/Kg s.c. $n=3$.

Figura 5. Efeito da administração do antagonista de GABA_B CGP 46381 (mg/Kg s.c.) no aumento induzido por citalopram dos níveis de 5-HT no hipocampo ventral de rato; citalopram 10 μ mol/Kg s.c., $n=13$, citalopram 10 μ mol/Kg s.c. e CGP 46381 2 mg/Kg s.c. $n=5$; citalopram 10 μ mol/Kg s.c. e CGP 46381 0,5 mg/Kg s.c. $n=5$; CGP 46381 10 mg/Kg s.c. $n=2$.

Figura 6. Efeito da administração do antagonista de GABA_B Faclofeno (2 mg/Kg s.c.) no aumento induzido por citalopram dos níveis de 5-HT no córtex pré-frontal de rato. $F(1,198)=3,25$, $P<0,05$. citalopram 10 μ mol/Kg s.c., $n=13$, citalopram 10 μ mol/Kg s.c. e faclofeno 2 mg/Kg s.c. $n=4$.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados para as experiências ratos albino macho de uma estirpe derivada de Wistar (285-320 g; Harlan, Zeist, Países Baixos). Após cirurgia, os ratos foram alojados individualmente em gaiolas de plástico (35 x 35 x 40 cm) e tinham acesso livre a alimento e água. Os animais foram mantidos num horário de iluminação de 12 h (luz às sete da manhã). As experiências estão concordantes com as declarações de Helsínquia e foram aprovadas pela comissão de cuidados animais da faculdade de matemática e ciências naturais da Universidade de Groningen.

Fármacos

Foram utilizados os seguintes fármacos: Bromidrato de citalopram, 2-hidroxisaclofeno, CGP 46381 (Lundbeck A/S, Copenhaga, Dinamarca), Faclofeno e (+)-Bicuculina (Sigma, St Louis, USA).

Cirurgia

A microdiálise dos níveis de serotonina cerebral foi realizada utilizando sondas em forma de l de fabrico caseiro, feitas de poliacrilonitrilo/fibra de diálise de copolímero de metil sulfonato de sódio (i.d. 220 μ m, o.d. 0.31 μ m, AN 69, Hospal, Itália). Antes da cirurgia os ratos foram anestesiados utilizando isoflurano (O_2/N_2O ; 300/300mL/min). Foi utilizada lidocaína-HCl a 10 % (m/v) para anestesia local. Os ratos foram

colocados numa armação estereotáxica (Kopf, USA), e foram inseridas sondas no Hipocampo Ventral (V. Hippo, L +4,8 mm, IA: +3,7 mm, V: -8,0 mm) e no córtex pré-frontal mediano (PFC, L-0,9 mm; AP: +3,5 mm relativo ao bregma; V: -6,0 mm (Paxinos e Watson, 1982). Após a inserção, as sondas foram fixas com cimento dentário.

Experiências de microdiálise

Os ratos foram deixados a recuperar durante, pelo menos, 24 h. As sondas foram perfundidas com líquido cefalorraquidiano artificial contendo NaCl a 147 mM, KCl a 3,0 mM, CaCl₂ a 1,2 mM, e MgCl₂ a 1,2 mM, a um caudal de 1,5 µL/ min (Harvard apparatus, South Natick, Ma., USA). Amostras de microdiálise de 15 minutos foram recolhidas em frascos de HPLC contendo 7,5 µL de ácido acético a 0,02 M para análise de serotonina.

Análise de serotonina:

Amostras de microdialisado de vinte µL foram injectadas por meio de um auto-injector (microamostrador refrigerado CMA/200, CMA, Suécia) numa coluna 3 µm Hypersil C18 de 100 x 2,0 mm (Bester, Amstelveen, Países Baixos) e separadas com uma fase móvel consistindo de di-amóniosulfato a 5 g/L, EDTA a 500 mg/L, ácido heptano sulfónico a 50 mg/L, 4 % de metanol v/v, e trietilamina a 30 µL/L, pH 4,65 a um caudal de 0,4 mL/min (Shimadzu LC-10 AD). O 5-HT foi detectado amperimetricamente num eléctrodo de carbono vítreo a 500 mV vs Ag/AgCl (Antec Leyden, Leiden, Países Baixos). O limite de detecção foi de 0,5 fmol de 5-HT por 20 µL de amostra (3 de razão sinal ruído).

Apresentação de dados e estatísticas

Quatro amostras consecutivas de microdiálise com variação inferior a 20% foram tomadas como controlo e fixadas em 100%. Os dados são apresentados como percentagens do nível de controlo (média $\pm$ S.E.M.) no tempo. A análise estatística foi realizada utilizando o programa Sigmastat para Windows (SPSS, Jandel Corporation). Os tratamentos foram comparados contra os controlos utilizando análise de variância com dois factores (ANOVA) para medições repetidas, seguido pelo teste de Student Newman Keuls. O nível do nível de significância foi fixa em $p < 0,05$.

Resultados

Administração local do antagonista de GABA_A bicuculina, seguida por administração sistémica de citalopram (fig 1).

A administração local de bicuculina a 50 μ M no hipocampo ventral aumentou os níveis de serotonina em cerca de 150 % (tratamento vs. tempo; $F(1,79) = 5,20$, $P=0,0003$). A análise *a posteriori* revelou significância desde $t=45$ até 90 min.

O aumento estabelecido por administração sistémica de citalopram a 10 μ mol/Kg s.c. não foi afectado pela aplicação local de bicuculina (tratamento; $F(1,10) = 4,64$, $P= 0,0567$).

Administração local do antagonista de GABA_B faclofeno, seguida por administração sistémica de citalopram (fig 2).

A infusão local do antagonista de GABA_B Faclofeno não teve qualquer efeito nos níveis basais de 5-HT no hipocampo ventral ($F(1,9) = 1,44$ $P=0,26$). A administração sistêmica de citalopram durante a administração local de faclofeno induziu níveis reforçados de 5-HT (Tratamento $F(1,9)=12,21$ $P= 0,0068$, Tratamento vs. Tempo $F(1,112) = 5,03$ $P<0,0001$). Diferenças significativas durante a análise *a posteriori* foram alcançadas desde $t = 75$ até 150 min.

Administração simultânea de faclofeno a 2 mg/Kg s. c. com citalopram a 10 μ mol/Kg s. c. (fig 3).

A co-administração de faclofeno a 2 mg/Kg s.c com citalopram a 10 μ mol/Kg s.c. desencadeou níveis melhorados de 5-HT quando comparado ao tratamento de citalopram isolado (Tratamento $F(1,7)=8,64$ $P=0,021$, Tratamento vs. Tempo, $F(1,98)=6,38$ $P<0,0001$). A análise *a posteriori* apresentou efeitos diferentes desde $t=75$ até $t=135$.

Administração simultânea de 2-hidroxisaclofeno (2 mg/Kg s.c.) com citalopram a 10 μ mol/Kg s. c. nos níveis de 5-HT (fig 4).

A administração simultânea de citalopram com o antagonista de GABA_B 2-hidroxisaclofeno induziu igualmente efeitos reforçados nos níveis de 5-HT. Tratamento $F(1,14)=4,80$, $P= 0,046$, tratamento versus tempo $F(1,172)=3,01$, $P=0,0018$.

Administração simultânea de CGP 46381 com citalopram a 10 μ mol/Kg s. c. nos níveis de 5-HT (fig 5).

A administração de uma dose elevada do antagonista de GABA_B CGP 46381 (10 mg/Kg s.c.) não apresentou qualquer efeito nos níveis de 5-HT. Contudo, quando CGP 46381 (0,5 e 2 mg/Kg) foi co-administrado com citalopram a 10 µmol/Kg foi observada uma resposta reforçada nos níveis de 5-HT (0,5 mg CGP; tratamento F(1,16)=4,94, p=0,04; tratamento vs. tempo (F(1,193)= 3,24, 0,00081); 2 mg cgp tratamento F(1,16)=2,94, p=0,10; tratamento vs. tempo (F(1,192)= 3,79, 0,001).

Administração simultânea de faclofeno a 2 mg/Kg s.c. com citalopram a 10 µmol/Kg s. c. nos níveis de 5-HT em PFC (fig 6).

A co-administração de faclofeno a 2 mg/Kg s.c com citalopram a 10 µmol/Kg s.c. desencadeou níveis melhorados de 5-HT quando comparado ao tratamento de citalopram isolado (Tratamento F(1,15)=4,61 P=0,048, Tratamento vs. Tempo, F(1,198) 6=3,25 P<0,0008).

Lisboa, 4 de Junho de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.
2. Utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B para a preparação de uma composição farmacêutica a utilizar em conjunto com um inibidor de reabsorção de serotonina.
3. Utilização de um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B para a preparação de uma composição farmacêutica útil para reforçar e/ou proporcionar um início mais rápido do efeito terapêutico de um inibidor de reabsorção de serotonina.
4. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 2-3, em que o inibidor de reabsorção de serotonina é utilizado

para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, incluindo o distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático ou distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde a um SRI.

5. Utilização de um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de um composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B,

para a preparação de uma composição farmacêutica para utilizar no tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina.

6. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 1-5, em que é utilizado um inibidor selectivo de reabsorção de serotonina.
7. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 1-5, em que é utilizado um composto que é selectivo para o receptor GABA_B.
8. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 1-5 ou 7, em que é utilizado um antagonista ou um agonista inverso no receptor GABA_B.
9. Utilização de acordo com a reivindicação 8, em que é utilizado um antagonista do receptor GABA_B.
10. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 1-6, em que o SRI é escolhido de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina.
11. Utilização de acordo com as reivindicações 1-5 ou 7-9, em que o ligando do receptor GABA_B é seleccionado de CGP-71982, CGP-76290, CGP-76291, CGP-35348, CGP-36742, CGP-46381, CGP-52432, CGP-54626, CGP-55845, CGP-62349, SCH 50911, GAS-360, Faclofeno, Saclofeno, 2-hidroxisaclofeno.
12. Composição farmacêutica compreendendo um composto, que é um inibidor de reabsorção de serotonina, e de outro composto, que é um antagonista, agonista inverso ou agonista parcial do receptor GABA_B, e opcionalmente veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis.

13. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 12, em que o inibidor de reabsorção de serotonina utilizado é um inibidor selectivo de reabsorção de serotonina.
14. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 12, em que o antagonista, agonista inverso ou agonista parcial de GABA_B é selectivo para o receptor GABA_B.
15. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 12 e 14, em que o ligando de GABA_B é um antagonista do receptor GABA_B.
16. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 12 e 13 caracterizada por o inibidor de absorção de serotonina ser seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina, dapoxetina, duloxetina, vilazodona, nefazodona, imipramina, femoxetina e clomipramina.
17. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 12 e 14-15 caracterizada por o ligando de GABA_B ser seleccionado de CGP-71982, CGP-76290, CGP-7629I, CGP-35348, CGP-36742, CGP-46381, CGP-52432, CGP-54626, CGP-55845, CGP-55845, CGP-62349, SCH 50911, GAS-360, Faclofeno, Saclofeno ou 2-hidroxisaclofeno.
18. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 12-17, que está adaptada para administração simultânea dos ingredientes activos.

19. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 18, em que os ingredientes activos estão contidos na mesma forma de dosagem unitária.
20. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 12-17, que está adaptada para administração sequencial dos ingredientes activos.
21. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 18 e 20, em que os ingredientes activos estão contidos em formas de dosagem discretas.
22. Método para a identificação de compostos úteis para o tratamento da depressão, distúrbios de ansiedade e de outros distúrbios afectivos, tais como distúrbio de ansiedade generalizado, ansiedade de pânico, distúrbio obsessivo compulsivo, distúrbio de stress agudo, distúrbio de stress pós-traumático e distúrbio de ansiedade social, distúrbios da alimentação, tais como bulimia, anorexia e obesidade, fobias, distímia, síndrome pré-menstrual, distúrbios cognitivos, distúrbios de controlo do impulso, distúrbio de défice de atenção da hiperactividade, consumo de drogas ou qualquer outro distúrbio que responde aos inibidores de reabsorção de serotonina, compreendendo, numa ordem qualquer:
 - (a) a medição da capacidade dos compostos de teste para inibir a reabsorção de serotonina e a selecção dos compostos que têm um valor de IC_{50} inferior a 20 nM;
 - (b) a medição da afinidade dos compostos de teste para o receptor $GARA_A$ e a selecção dos compostos,

e, subsequentemente, a medição da eficácia dos compostos seleccionados no receptor GABA_B e a selecção dos compostos que são antagonistas, agonistas inversos ou agonistas parciais no receptor.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, em que o composto possui uma afinidade na etapa (b) inferior a 500 nM.
24. Método de acordo com qualquer das reivindicações 22 e 23, em que o composto possui uma afinidade na etapa (b) inferior a 100 nM.

Lisboa, 4 de Junho de 2007

Figura 1

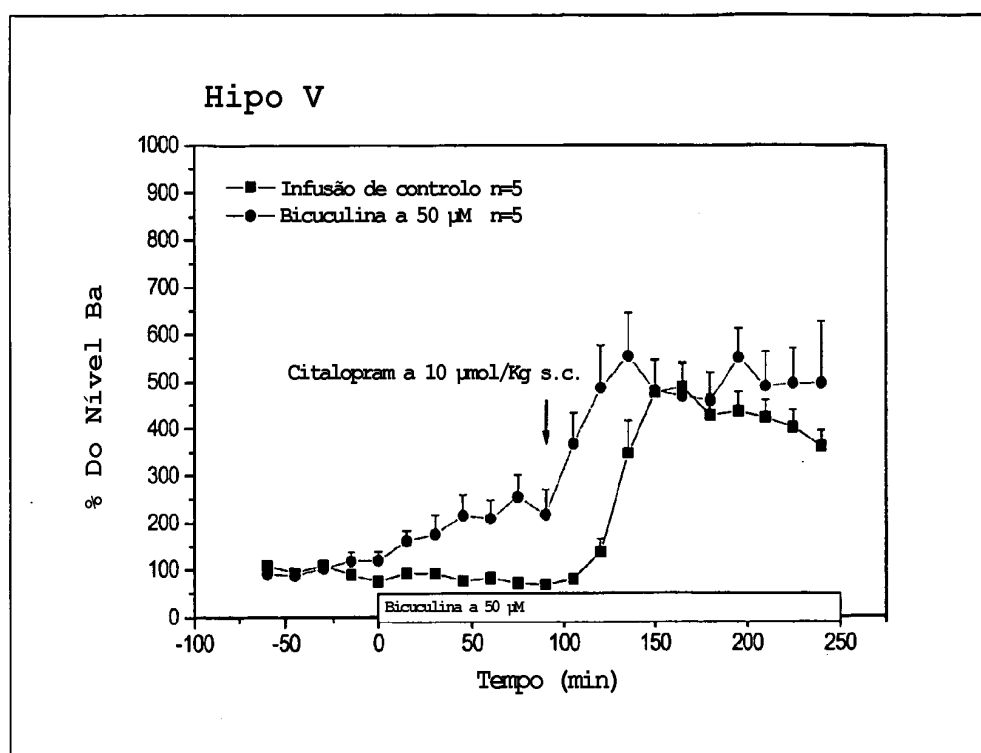


Figura 2

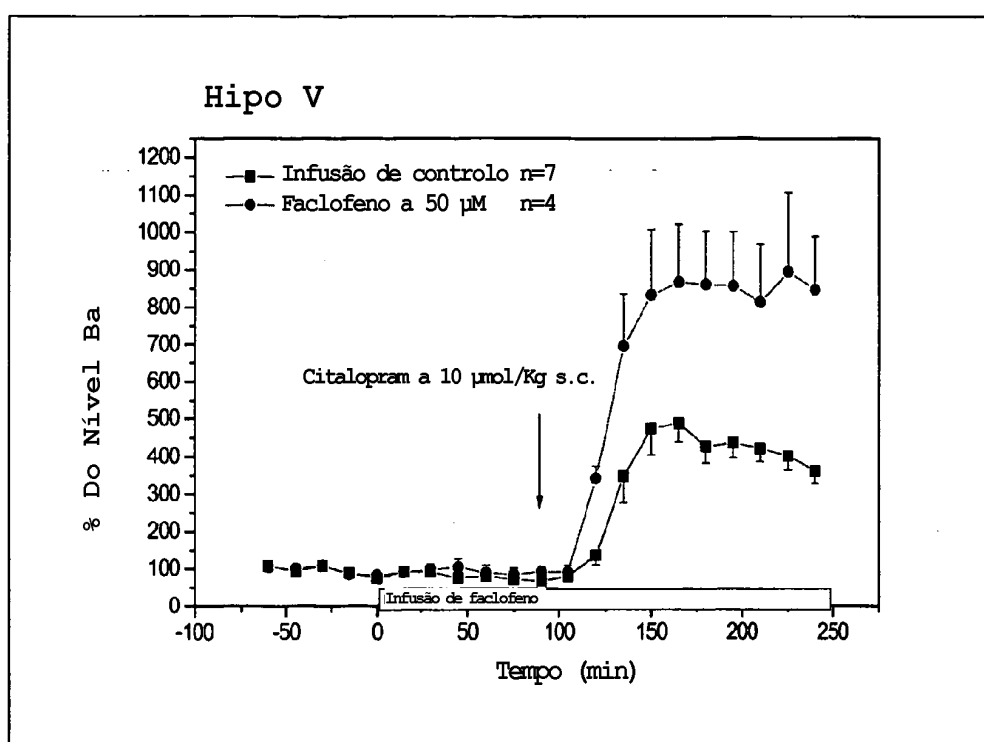


Figura 3

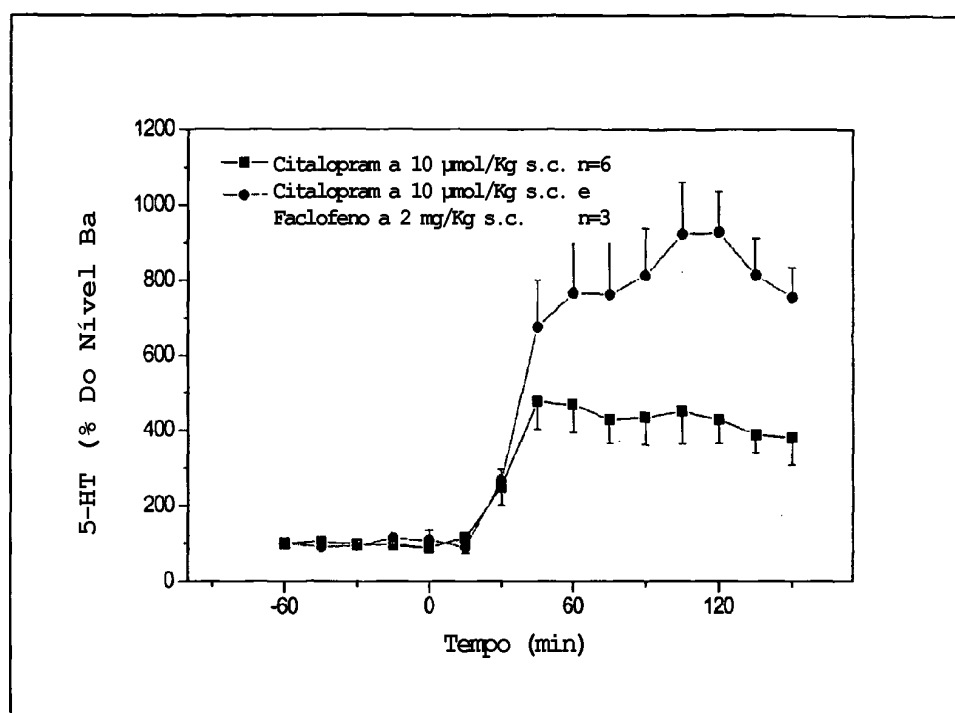


Figura 4

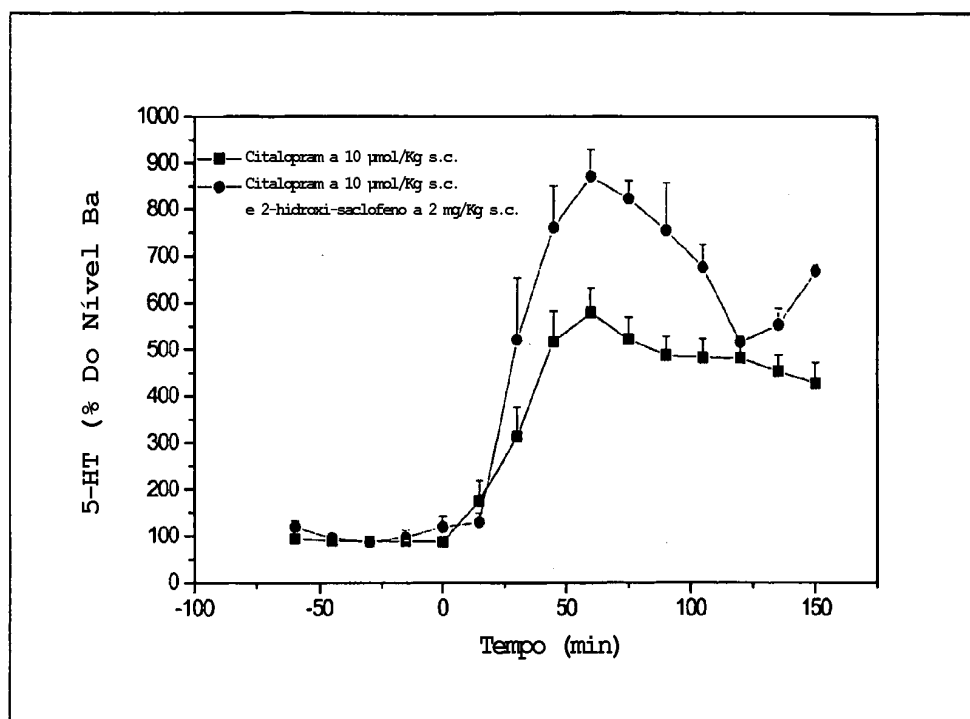


Figura 5

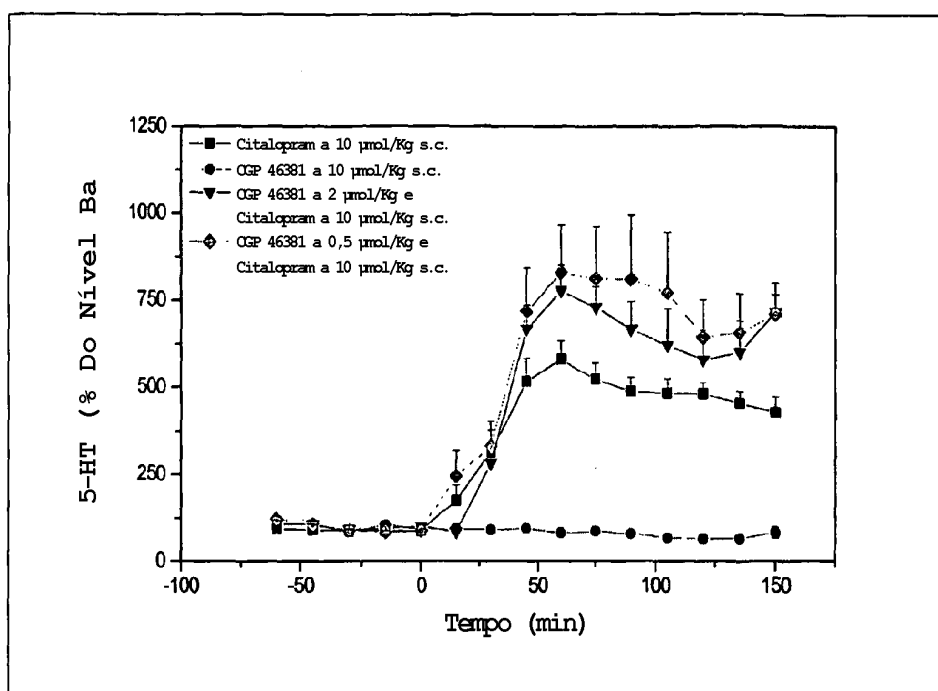


Figura 6

