

(19) **DANMARK**



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT**

(11) **153842 B**



(21) Patentansøgning nr.: 0093/84

(51) Int.Cl.⁴ **C 07 D 337/12**

(22) Indleveringsdag: 10 jan 1984

(41) Alm. tilgængelig: 11 jul 1985

(44) Fremlagt: 12 sep 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: -

(71) Ansøger: **THE *BOOTS COMPANY PLC; 1 Thane Road West; Nottingham NG2 3AA, GB**

(72) Opfinder: **William Roger *Buckett; GB**

(74) Fuldmægtig: **Kontor for Industriel Eneret**

(54) **Dihydrodibenzotiepinderivat og farmaceutisk præparat indeholdende det**

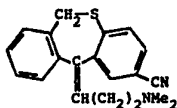
(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

93-84

Dihydrodibenzotiepinderivat, farmaceutisk præparat indeholdende derivatet og fremgangsmåde til dets fremstilling

11-(3-Dimetylamino-propyliden)-6,11-dihydrodibenzo(b,e)-tiepin-2-karbonitril med formlen

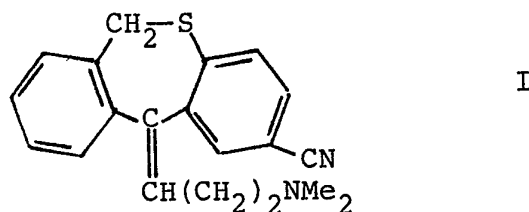


I

eller farmaceutisk acceptable salte udviser inhibering af optagelsen af neurotransmitteraminer og er derfor nyttig til behandling af depressioner.

Forbindelsen fremstilles ved forskellige fremgangsmåder ud fra udgangsmaterialer med dihydrodibenzotiepinskelettet.

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte dihydrodibenzotiepin-derivater der ifølge opfindelsen er ejendommelige ved at være 11-(3-dimetylamino-propyliden)-6,11-dihydro-dibenzo(b,e)-tiepin-2-karbonitril med formlen



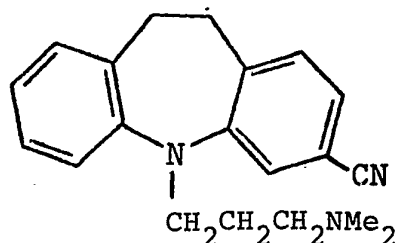
eller farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf.

Opfindelsen angår også et farmaceutisk præparat indeholdende forbindelsen I eller et farmaceutisk acceptabelt syreadditionssalt deraf.

Det er påvist at denne forbindelse og dens salte inhiberer optagelsen af neurotransmitteraminer, og forbindelsen og dens salte er derfor nyttige til behandling af depressioner.

Eksempler på farmaceutisk acceptable salte er hydrohalogenider såsom hydroklorider og hydrobromider, sulfater, fosfater, citrater, tartrater, maleater og fumarater.

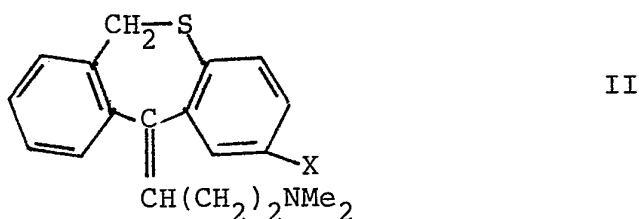
Den tidligere kendte forbindelse, der er kemisk nærmest beslægtet med forbindelsen I, er cianopramin, det vedtagne navn for 3-cyan-N-(N,N-dimetylamino-propyl)-iminodibenzyl, som er et cyansubstitueret derivat af den velkendte antidepressant imipramin og har formlen



se britisk patentskrift nr 1583590 og T. Lenehan, L.M.O. Omer og A. Darragh i Arch. int. Pharmacodyn. 249, 147-152 (1981). Som det skal vises senere i beskrivelsen har forbindelsen med den almene formel I en inhiberende virkning på neuroners genoptagelse af neurotransmitter-monoaminerne noradrenalin og 5-hydroxytryptamin, der er af samme størrelsesorden som afprøvede kontrolforbindelser; og forbindelsen I

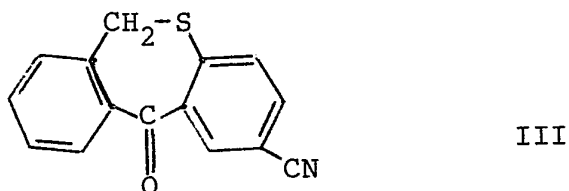
udviser i modsætning til cianopramin selektiv inhibering af 5-hydroxytryptamin, mens cianopramin er selektiv med hensyn til at inhibere noradrenalin. Forbindelserne ifølge opfindelsen giver således en yderligere variationsmulighed i terapien.

Forbindelsen med formel I kan fremstilles ud fra en forbindelse med formel II



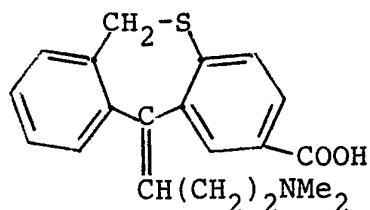
- a) når X er en fraspaltelig gruppe, fx klor, brom eller jod, ved omsætning med kuprocyanid;
- b) når X er jod ved omsætning med kaliumcyanid i nærværelse af tetrakis-(trifenyldfosfin)-palladium(0);
- c) når X er en amidgruppe med formlen $-\text{CONH}_2$ ved dehydratisering med fx tionylklorid, fosforylklorid, trifenyldfosfin i tetraklormetan eller p-toluensulfonylemetylisocyanid (der forhandles under det i Danmark ikke indregistrerede mærke TosMIC); eller
- d) når X er en gruppe med formlen $-\text{CH}=\text{NOH}$ ved dehydratisering med fx fosforylklorid, dicyklohexylkarbodiimid i nærværelse af kuprioner eller 1,1'-karbonyldiimidazol.

Forbindelsen med formel I kan også fremstilles ved omsætning af en forbindelse med formel III



med et reagens med formlen $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{R}$, hvor R betegner NMe_2 eller et radikal såsom halogen, der kan udskiftes med NMe_2 .

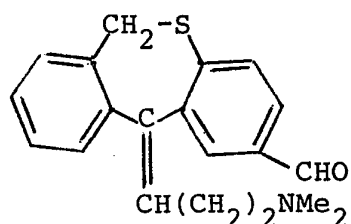
Forbindelsen med formel I kan endvidere fremstilles ved omsætning af en karboxylsyre med formel IV



IV

- a) med benzensulfonamid; eller
b) med urinstof i nærværelse af sulfamidsyre.

Fremstilling af en forbindelse med formel II, hvor X er halogen, er beskrevet i britisk patentskrift nr. 1013574. En forbindelse med formel II hvor $X = \text{CONH}_2$ kan fremstilles ud fra den tilsvarende karboxylsyre med formel IV ved kendte metoder. Forbindelsen med formel II, hvor $X = -\text{CH}=\text{NOH}$, kan fremstilles ud fra aldehydet med formel V

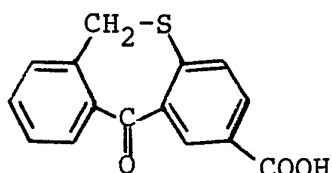


V

ved omsætning med hydroxylamin.

Forbindelsen med formel III kan fremstilles ud fra de tilsvarende halogenforbindelser, fx ved omsætning med kuprocyanid.

Forbindelsen med formel IV kan fremstilles ved omsætning af den kendte karboxylsyre VI



VI

ved

- a) omsætning af et Grignard-reagens fx med formlen $\text{Me}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{MgBr}$ og
b) dehydratisering af den resulterende alkohol, fx ved anvendelse af tynde mineralsyrer, acetylchlorid eller jod.

Forbindelsen med formel V kan fremstilles ved (a) omdannelse af karboxylsyren med formel IV til dens syreklorid fx ved omsætning med tionylchlorid og (b) reduktion af syrekloridet med fx litium-tri-t-butoxyaluminiumhydrid ved lav temperatur, fx -78°C .

Forbindelsen med formel I har en kulstof-kulstof-dobbeltbinding og kan derfor eksistere i to isomere former. Den foreliggende opfindelse tager sigte på begge disse isomere former og blandinger deraf.

Forbindelserne ifølge opfindelsen kan oparbejdes til farmaceutiske præparater indeholdende en terapeutisk effektiv mængde af en forbindelse med formel I sammen med et farmaceutiske acceptabelt fortyndingsmiddel eller bærestof.

Ved terapeutisk anvendelse kan den virksomme forbindelse administreres oralt, rektalt, parenteralt eller topisk, fortrinsvis oralt. Således kan terapeutiske præparater af den omhandlede forbindelse tage form af en hvilken som helst af de kendte typer farmaceutiske præparater til oral, rektal, parenteral eller topisk administration. Farmaceutisk acceptable bærestoffer egnet til brug i sådanne præparater er velkendte i farmacien. De omhandlede præparater kan indeholde 1-99 vægt% af den virksomme forbindelse. De farmaceutiske præparater fremstilles i almindelighed i dosisenhedsform.

Præparater til oral indgift er de foretrukne præparater af den omhandlede forbindelse, og de kan foreligge i de kendte farmaceutiske former til sådan indgift, fx som tabletter, kapsler, saft eller vandige eller olieagtige suspensioner. De ved fremstilling af disse præparater anvendte excipienter er dem der er velkendte for farmaceuten. Tabletter kan fremstilles ved blanding af den virksomme forbindelse med et inert fortyndingsmiddel såsom kalciumfosfat i nærværelse af desintegreringsmidler, fx majsstivelse, og smøremidler, fx magniumstearat, hvorpå blandingen tabletteres ved kendte metoder. Tabletterne kan oparbejdes som kendt for de sagkyndige således at der opnås forsinket afgivelse af det virksomme stof. Sådanne tabletter kan eventuelt forsynes med tarmovertræk ved kendte metoder, fx ved hjælp af celluloseacetatftalat. Tilsvarende kan man fremstille kapsler, fx hårde eller bløde

gelatinekapsler, indeholdende den aktive forbindelse med eller uden tilsatte excipienter på konventionel måde og eventuelt forsyne dem med tarmovertræk på kendt måde. Tabletterne og kapslerne kan hensigtsmæssigt indeholde 1-250 mg af den virksomme forbindelse. Andre præparater til oral indgift er fx vandige suspensioner indeholdende den virksomme forbindelse i et vandigt medium i nærværelse af et ugiftigt suspenderingsmiddel såsom natriumkarboxymethylcellulose, eller olieagtige suspensioner indeholdende den omhandlede forbindelse i en passende vegetabilsk olie såsom jordnøddeolie.

Præparater af de omhandlede forbindelser egnet til rektal indgift er de kendte farmaceutiske former til en sådan indgift, fx suppositorier med grundlag af kakaosmør eller polyætylenglykol.

Præparater af de omhandlede forbindelser til parenteral indgift er de kendte farmaceutiske former til en sådan indgift, fx sterile suspensioner i vandige eller olieagtige medier eller sterile opløsninger i et passende opløsningsmiddel.

Præparater til topisk administration kan indeholde en matrix hvori en forbindelse ifølge opfindelsen er dispergeret på en sådan måde at når matrixen bringes i kontakt med huden vil forbindelsen blive indgivet transdermalt. Den virksomme forbindelse kan også være dispergeret i et farmaceutisk acceptabelt creme- eller salvegrundlag.

I præparater af forbindelsen med formel I eller syreadditionssalte deraf kan det virksomme stof være til stede sammen med andre, dermed forenelige farmakologisk virksomme forbindelser.

De farmaceutiske præparater som indeholder en terapeutisk effektiv mængde af en forbindelse med formel I kan bruges til behandling af depressioner. Ved en sådan behandling er den mængde af forbindelsen med formel I, der indgives om dagen, i området 1-500 mg, fortrinsvis 3-200 mg.

To eksempler tjener til belysning af dels fremstilling af hydrobromidsaltet af forbindelsen med formel I (eksempel 1) og dels af en strukturelt beslægtet hidtil ukendt forbindelse (eksempel A).

Eksempel 1

En blanding af 4,2 g 2-brom-11-(3-dimetylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo(b,e)-tiepin (fremstillet på lignende måde som den der er beskrevet i britisk patentskrift nr. 1013574), 1,2 g cuprocyanid og 5 ml dimetylformamid opvarmedes under tilbagesuling i 4 timer. Derefter afkøledes blandingen til ca. 90°C og udhældtes i en opløsning af 2,2 ml ætylendiamin i 6,6 ml vand. Den resulterende suspension ekstraheredes med diklormetan. Ekstrakten vaskedes med en 8 rumfangs% vandig opløsning af ætylendiamin og vand og tørredes derpå og inddampedes til en tjæreagtig remanens. Remanensen opløstes i diklormetan og påførtes på en kromatografikolonne på 31 x 3 cm, indeholdende 150 g aluminiumoxyd ("Brockmann Grade I" (ikke indregistreret i Danmark som varemærke)). En del af aluminiumoxydet (16 til 24 cm fra kolonnens bund) ekstraheredes gentagne gange med en blanding af 99 dele diklormetan og 1 del ætanol. Fjernelse af opløsningsmidlet gav en remanens som opløstes i 20 ml diklormetan. Den resulterende opløsning vaskedes med 20 ml 1N natriumhydroxydopløsning og 2 x 20 ml vand, tørredes over natriumsulfat og inddampedes til tørhed til en remanens som opløstes i 7 ml ætanol. Den alkoholiske opløsning filtreredes gennem et diatoméjordpræparat der forhandles under navnet "Celite" ® og der tilsattes en blanding af 48% brombrintesyre og ætanol (4 ml) til etablering af en pH-værdi på 1. Blandingen filtreredes og indampedes til tørhed under nedsat tryk. Triturering af remanensen med en blanding af ætanol og æter gav 11-(3-dimetylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo(b,e)-tiepin-2-karbonitril-hydrobromid som et lysebrunt fast stof med smp. 213-215°C (sønderdeling).

Eksempel A

En opløsning af natriumætoxyd (frisk fremstillet ud fra 3,0 g natriummetal og 60 ml absolut alkohol) opvarmedes på et dampbad under tilbagesuling og der tilsattes gradvis 14,5 g tiofenol. Der tilsattes portionsvis 28,1 g 6-bromftalid under omrøring under tilbagesuling. Omrøringen og tilbagesulingen fortsattes i 6 timer.

Den afkølede reaktionsblanding fortyndedes med 150 ml vand og syrnedes til pH 1 med koncentreret saltsyre. Bundfaldet opsamledes, vaskedes med vand og gensuspenderedes derpå i ca. 100 ml vand. Der tilsattes gradvis ca. 80 ml 3N natriumkarbonatopløsning under omrøring og formaling indtil der opnåedes en pH-værdi på 8-9. Blandingen filtreredes og filtratet vaskedes med 4 x 50 ml diklormetan. Syrning af det vandige lag til pH 1 med koncentreret saltsyre gav 5-brom-2-fenyltio-metylbenzoesyre med smp. 143-145°C som et lyst flødefarvet bundfald som frafiltreredes, vaskedes med vand og tørredes i vakuum.

283 g tetrafosforsyre opvarmedes til 80°C og der tilsattes ved denne temperatur 34,4 g 5-brom-2-fenyltiometylbenzoesyre under kraftig omrøring. Blandingen opvarmedes kraftigt på et dampbad (indre temperatur ca. 97°C) under omrøring i 4 timer. Der tilsattes gradvis 500 ml isvand til den afkølede blanding under omrøring og blandingen ekstraheredes med 2 x 200 ml diklormetan. De forenede diklormetanlag vaskedes med vand, vandig natriumhydroxydopløsning og vand. Det tørrede organiske lag inddampedes og remanensen krystalliseredes fra propan-2-ol til frembringelse af 9-bromdibenzo[b,e]-tiepin-11(6H)-on med smp. 91-93°C.

En portion af en opløsning af 4,5 g 3-dimetylaminopropylklorid i 30 ml tørt tetrahydrofuran sættes under nitrogen til 0,88 g magniumspåner i tilstrækkelig mængde til at dække spånerne. Der tilsattes 4 dråber metyljodid og en jodkrystal for at sætte reaktionen igang, og blandingen opvarmedes til kogepunktet. Tilbagesvaling og omrøring fortsattes mens resten af tetrahydrofuranopløsningen tilsattes gradvist. Blandingen omrørtes og opvarmedes under tilbagesvaling indtil magniumet var næsten helt forsvundet.

Blandingen afkøledes og en opløsning af 8,4 g af den på den ovenfor beskrevne måde fremstillede dibenzoetiepin-11-on i 40 ml tørt tetrahydrofuran tilsattes dråbevis ved 14-17°C. Blandingen opvarmedes gradvist til 50°C og omrørtes til slut ved 50°C i 1 time. Den orange farvede opløsning koncentreredes til ca. det halve rumfang under nedsat tryk, afkøledes til 15°C og udhældtes i en opløsning af 8,2

g ammoniumklorid i 35 ml vand. Efter at være opsamlet vaskedes bundfaldet med vand, tørredes i vakuum, tritureredes med petroleumsæter (kp. 40-60°C) og frafiltreredes på ny til dannelse af 9-brom-11-(3-dimetylaminopropyl)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]-tiepin-11-ol med smp. 139-141°C.

9 g af denne tiepinol blandedes med en opløsning af 6,7 ml koncentreret svovlsyre i 75 ml vand og kogtes under tilbagesvaling i 1 3/4 time. Blandingen afkøledes og basegjøredes med overskud af 10N vandig natriumhydroxydopløsning hvorpå bundfaldet ekstraheredes med diklormetan. Efter at være blevet vasket med vand tørredes ekstrakten og inddampedes til dannelse af en brun, olieagtig remanens i en mængde på 8,5 g. Denne remanens opløstes i 25 ml ætanol og syrnedes til pH 1 ved hjælp af en blanding af 8,5 ml 48% HBr og 30 ml ætanol idet det skete under afkøling for at undgå for meget temperaturstigning. Opløsningen inddampedes til tørhed under nedsat tryk og remanensen tritureredes med alkohol/æter. Produktet frafiltreredes og tørredes i vakuum til 9-brom-11-(3-dimetylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]-tiepin-hydrobromid med smp. 170-172°C (sønderdeling).

En portion på ca. 8,2 g af hydrobromidet omdannedes til den fri base ved behandling med 80 ml vand efterfulgt af overskud af 2N natriumhydroxydopløsning (15 ml). Det klæbrige bundfald ekstraheredes med diklormetan og det organiske lag vaskedes med 30 ml N natriumhydroxydopløsning efterfulgt af 2 x 100 ml vand. Inddampning af den tørrede diklormetanopløsning gav basen som en brun, olieagtig remanens i en mængde på 6,5 g.

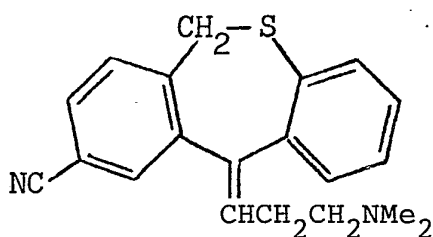
En blanding af den fri base, vundet fra 9-bromtiepin-hydrobromidet på den ovenfor beskrevne måde, 2,3 g kuprocyanid og 15 ml tørt dimetylformamid opvarmedes til 150°C under tilbagesvaling i 6 1/4 timer. Reaktionsblandingen fik lov til at afkøle og udhældtes i en blanding af 50 ml diklormetan, 30 ml vand og 10 ml ætylendiamin. Det vandige lag ekstraheredes med yderligere 3 x 50 ml CH₂Cl₂ og de forenede diklormetanlag vaskedes gentagne gange med 25 rumfangs% vandig ætylendiaminopløsning indtil det vandige lag holdt op med at udvise blå farvning. Det organiske lag vaskedes med 3 x 50 ml vand, tør-

redes og inddampedes til tørhed. Den mørkebrune viskose remanens, 5,8 g, kromatograferedes på en kolonne på 3,2 x 20 cm af neutralt aluminiumoxyd ("Brockmann I", 150 g), fremkaldt med diklormetan. De dele af kolonnen, der indeholdt det ønskede produkt, ekstraheredes med diklormetan indeholdende en smule alkohol og ekstrakterne forenedes og inddampedes. Remanensen opløstes i alkohol og syrnedes med HBr. Inddampning til tørhed gav en glasagtig remanens som blev kornet ved triturering med en blanding af æter og alkohol. 11-(3-Dimethylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]-tiepin-9-karbonitril -hydrobromid med smp. 180-182°C opsamledes og tørredes.

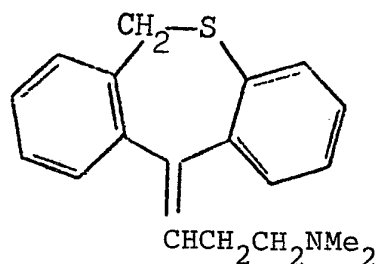
Biologiske forsøg

Der blev udført forskellige forsøg med dels forbindelsen I ifølge opfindelsen, dels forbindelsen ifølge eksempel A og dels forskellige kendte antidepressivt virkende forbindelser, herunder det foran omtalte cianopramin.

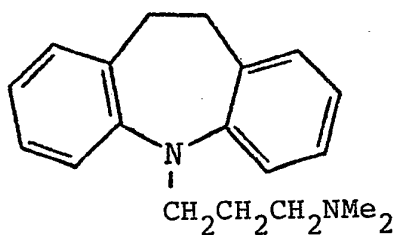
Formlerne for de afprøvede forbindelser er, for så vidt de ikke er vist andetsteds i beskrivelsen, som følger



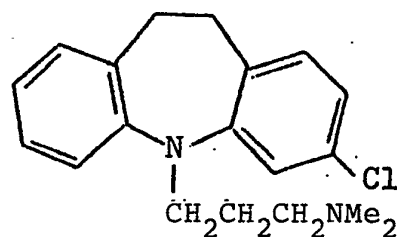
Forbindelse ifølge eks. A



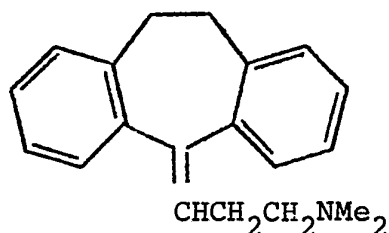
Dothiepin



Imipramin



Clomipramin



Amitriptylin

Grunden til at den ifølge eksempel A fremstillede forbindelse er medtaget er, at den ligesom den ifølge eksempel 1 fremstillede forbindelse med formel I er cyansubstitueret dothiepin. Dothiepinmolekylet er usymmetrisk, og det har ved det omstående refererede forsøg med p-kloramfetamin som udtømmningsmiddel for 5-hydroxytryptamin i hjernen vist sig at gøre en forskel om cyangruppen er indført i 2-stillingen som i forbindelsen med formel I eller i 9-stillingen som i den ifølge eksempel A fremstillede forbindelse. Det fremgår heraf at det er umuligt at forudse virkningen af indførelse af en cyangruppe et givet sted i molekylet, hvorfor virkningerne af forbindelser ifølge opfindelsen er overraskende.

De første af forsøgsrækkerne er undersøgelse in vitro af inhiberingen af aminerne 5-hydroxytryptamin og noradrenalin. Ved forsøget fjernedes hjernebarken fra voksne rotter (stammen CD) med en vægt på 180-200 g og dissekeredes og blev udskåret til prismeformede stykker ved hjælp af en McIlwain vævshakker som skærer i to retninger under 45° og med mellemrum på 0,1 mm. Stykkerne dispergeredes i afkølet Krebs-opløsning (5 ml/g) og prøver på 0,1 ml af suspensionen indeholdende ækvivalenten til 20 mg hjernebark overførtes til kolber indeholdende 4,3 ml iskold Krebs-opløsning. Kolberne fyldtes med en blanding af 95% oxygen og 5% kuldioxyd og tillukkedes hermetisk. Efter 15 minutter ved 27°C tilsattes den til afprøvning værende forbindelse og vedkommende amin i destilleret vand (samlet yderligere rumfang 0,6 ml). De anvendte aminer var mærket med ^{14}C og var

a) 5-hydroxy-[sidekæde-2- ^{14}C]-tryptamin-kreatininsulfat, i det følgende betegnet 5HT, og

b) DL-[karbinol- ^{14}C]-noradrenalin-DL-bitartrat, i det følgende betegnet NA.

Kolberne inkuberedes ved 27°C i 20 minutter hvorpå vævsstykkerne opsamledes ved filtrering. Filterpapiret med stykkerne overførtes til scintillationsampuller indeholdende 10 ml scintillationsvæske og 4 ml blanding af ætanol og metanol, henholdsvis 3 rumfangsdele og 1 rumfangsdel. Efter at stykkerne var opløst, mindst 45 minutter, bestemtes radioaktiviteten kvantitativt ved hjælp af en scintillationstæller. Kontrolforsøg uden anvendelse af lægemiddel udførtes samtidig med de ovenfor beskrevne forsøg, og den procentuelle inhibering af aminoptagelsen (I_a) beregnedes ved ligningen:

$$I_a = \frac{(\text{kontroltælling}) - (\text{forsøgstælling}) \times 100}{(\text{kontroltælling}) - (\text{baggrundstælling})}$$

Baggrundsstrålingen bestemtes ved inkubering af kontroller ved 0°C .

Forsøgene gentoges med tre forskellige aminkoncentrationer og den molære koncentration af den forbindelse som gav 50% inhibering af aminoptagelsen ($\text{IC } 50$) bestemtes ved lineær regressionsanalyse.

Ved det ovenfor beskrevne forsøg opnåedes følgende resultater for forbindelsen med formel I fremstillet som beskrevet i eksempel 1, forbindelsen fremstillet i eksempel A, dothiepin og tre andre kommercielt tilgængelige antidepressanter.

Forbindelse	IC50 for 5HT x 10 ⁻⁶ M	IC50 for NA x 10 ⁻⁶ M	$\frac{\text{IC50 for 5HT}}{\text{IC50 for NA}}$
Produkt af eksempel 1	2,1	11	0,19
Produkt af eksempel A	1,3	6,2	0,21
Dothiepin	4,6	1,5	3,1
Imipramin	2,1	0,7	3,0
Clomipramin	0,6	1,6	0,38
Amitriptylin	2,1	0,9	2,33
Cianopramin	1,7	0,5	3,4

Resultaterne viser at forbindelsen I inhiberer den neuronale genoptagelse af 5-hydroxytryptamin og noradrenalin og at værdierne for IC50 (den koncentration af forbindelsen, der nedsætter genoptagelsen med 50%) er af lignende størrelsesorden som hos de kendte antidepressanter; samt at den er selektiv til inhibering af 5-hydroxytryptamin i modsætning til cianopramin, der inhiberer noradrenalin selektivt.

Virkningen af den ifølge eksempel 1 fremstillede forbindelse på optagelsessystemer for 5HT i hjernen undersøgtes også in vivo ved følgende metode, der indebærer anvendelse af p-kloramfetamin som depletormiddel (udtømmningsmiddel) som går ind i centralnervesystemets neuroner via aminoptagelsesstederne. Når depletormidlet først er inde i neuronene fortrænger det amintransmitteren fra dens oplagringssteder til cellens cytoplasma, hvor den metaboliseres af monoaminoxidase. Dette resulterer i en nedsættelse af de niveauer af amintransmitteren, der kan opdages eksperimentelt. Niveauerne for amintransmitteren bevares ved forbehandling af optagelsesstederne med en optagelsesinhibitor. I de nedenfor refererede forsøg fik rotter af stammen Charles River CD orale doser af en suspension af den til afprøvning værende forbindelse i en 0,25% opløsning af hydroxyetylcellulose (forhandlet under mærket "Cellosolve" [®]) i vand ved en dosis på 30 mg/kg. Efter 30 minutter blev en opløsning af p-kloramfetamin i destilleret vand injiceret intraperitonealt i en dosis på 5 mg/kg. Efter

yderligere 4 timers forløb blev dyrene aflivet og mængden af 5HT i hjernen bestemt fluorometrisk.

Mængden af eller niveauet for 5HT i hjernen bestemtes også hos kontroldyr som kun modtog bærevæske-opløsninger og for dyr som modtog bærevæske oralt i stedet for testforbindelsen, efterfulgt af intraperitoneale injiceringer af depletor-midlet. Disse sidstnævnte dyr benævnes i det følgende "udtømte kontroller". Den procentuelle inhibering af depletionen (I_b) beregnedes efter formlen

$$I_b = \frac{[5HT]_{\text{forsøgsdyr}} - [5HT]_{\text{udtømte kontroller}}}{[5HT]_{\text{kontroldyr}} - [5HT]_{\text{udtømte kontroller}}} \times 100$$

I disse forsøg opnåedes følgende værdier for I_b :

Produktet af eksempel I	82%
Produktet af eksempel A	0%
Dotiepin	9%
Imipramin	18%
Clomipramin	8%

Disse forsøg viser at produktet ifølge opfindelsen udviser langt højere inhibering af udtømningen eller depletionen end den strukturelt beslægtede forbindelse, fremstillet i henhold til eksempel A, samt dothiepin og de ligeledes afprøvede anti-depressanter udviser.

Det har været foreslået at blodplader på mange måder virker ligesom hjernesynaptosomer, og de har (fx af Lenehan, Omer og Darragh i Arch. int. Pharmacodyn 249, 147-152, 1981) været anvendt som model for CNS-serotoninerge neuroner. Produktet fra eksempel 1, produktet fra eksempel A og dothiepin er blevet undersøgt ved følgende forsøg:

Helblod indsamledes fra både mennesker og rotter og prøver på 10 ml fortyndedes med 1,5 ml antikoagulerende opløsning indeholdende 8 mg.ml⁻¹ citronsyre, 22 mg.ml⁻¹ natriumcitrat og 24,5 mg.ml⁻¹ glukose. De fortyndede prøver centrifugeredes ved 4°C, 150 g i 20 minutter og den ovenstående væske indeholdende det blodpladerige plasma opsamledes og fortyndedes med et lige så stort rumfang 0,9% saltopløsning.

Rør indeholdende 4,7 ml oxygeneret Krebs opløsning, 0,1 ml testopløsning og 0,1 ml ^{14}C -radiomærket 5-hydroxytryptamin (slutkoncentration $3,4 \times 10^{-8}\text{M}$) anbragtes i et vandbad der holdtes på 37°C . Efter 10 minutter tilsattes der en prøve af den blodpladerige plasmaopløsning til hvert rør og inkuberingen fortsattes i 5 minutter. Derefter filtreredes indholdet af rørene under vakuum gennem membranfiltre ($0,22\ \mu\text{m}$) og filtrene vaskedes med $3 \times 4\ \text{ml}$ Krebs opløsning. Filtrene anbragtes derpå i 10 ml scintillationsvæske og radioaktiviteten bestemtes ved væske-scintillationsspektroskopi. Der målttes samtidig kontrolprøver der ikke indeholdt nogen testforbindelse samt baggrundprøver (ved 0°C) således at den procentuelle inhibering I_c af 5-HT optagelsen kunne beregnes ved hjælp af ligningen

$$I_c = \frac{(\text{kontroltælling}) - (\text{testtælling}) \times 100}{(\text{kontroltælling}) - (\text{baggrundstælling})}$$

Der opnåedes resultater under anvendelse af flere forskellige koncentrationer af testforbindelsen og den molære koncentration af testforbindelsen, der gav 50% inhibering af optagelsen i blodpladerne (IC_{50}) bestemtes grafisk. Der opnåedes følgende resultater:

	IC_{50} blodplader fra mennesker (M)	IC_{50} blodplader fra rotter (M)
Produkt af eksempel 1	$1,1 \times 10^{-9}$	$2,0 \times 10^{-7}$
Produkt af eksempel A	$1,3 \times 10^{-8}$	$3,5 \times 10^{-7}$
Dothiepin	$2,4 \times 10^{-8}$	$1,5 \times 10^{-7}$
Imipramin ^x	1×10^{-8}	
Clomipramin ^x	$4,5 \times 10^{-9}$	
Amitriptylin ^x	3×10^{-8}	
Cianopramin	7×10^{-10}	

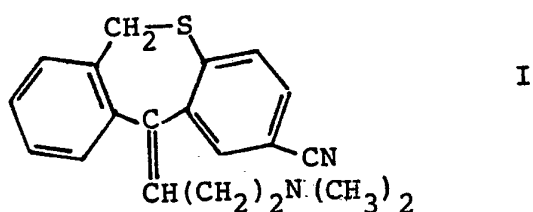
x Tal opnået fra litteraturen (Lenahan, Omer and Darragh, Arch. int. Pharmacodyn 249, 147-152, 1981).

Disse resultater viser at produktet ifølge opfindelsen

og cianopramin er mere effektive til at inhibere optagelsen i menneskeblodplader end i rotteblodplader og at de i menneskeblodplader er mere effektive end de andre afprøvede forbindelser.

P a t e n t k r a v

1. Dihydrodibenzotiepinderivat, k e n d e t e g n e t ved at det er 11-(3-dimetylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo(b,e)-tiepin-2-karbonitril med formlen



eller et farmaceutisk acceptabelt syreadditionssalt deraf.

2. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at den er 11-(3-dimetylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo(b,e)-tiepin-2-karbonitril-hydrobromid.

3. Farmaceutisk præparat, k e n d e t e g n e t ved at det indeholder en forbindelse som angivet i krav 1 eller krav 2 sammen med et farmaceutisk acceptabelt fortyndingsmiddel eller bærestof.