



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 113770

(13) C2

(51) МПК

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/27 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2015 02239	(72) Винахідник(и):	Шмідт Еллен (DK), Ареберг Йохан (SE)
(22) Дата подання заявки:	06.09.2013	(73) Власник(и):	Х. ЛУННБЕК А/С, Ottiliavej 9, DK-2500 Valby, Denmark (DK)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.03.2017	(74) Представник:	Войтенко Олександр Петрович, реєстр. №23
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/698,664, 61/782,084	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 8044090 B2, 25.10.2011
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	09.09.2012, 14.03.2013		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	12.05.2015, Бюл.№ 9		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.03.2017, Бюл.№ 5		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	РСТ/EP2013/068516, 06.09.2013		

## (54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

## (57) Реферат:

Винахід стосується способу лікування хвороби Альцгеймера, при якому вводять інгібітор ацетилхолінестерази донепезил та один раз на добу вводять 30-60 мг N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну або його фармацевтично прийнятної солі.

UA 113770 C2



## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ ВІДНОСИТЬСЯ ВІНАХІД

В даному винаході описані способи лікування хвороби Альцгеймера, які передбачають введення ефективної дози сполуки I для підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази, такого як донепезил або ривастигмін. Даним винаходом також

## ПОПЕРЕДНІЙ РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

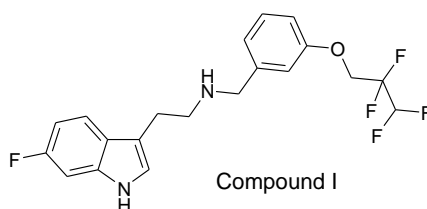
Деменція являє собою клінічний синдром, що характеризується порушеннями у багатьох сферах розумової діяльності, які не можна пояснити нормальним старінням, помітним зниженням працездатності та відсутністю делірію. Крім того, зазвичай присутні нейропсихіатричні симптоми та осередкові неврологічні прояви. Деменція також класифікується на основі етіології. Хвороба Альцгеймера (AD) є найбільш поширеною причиною деменції, після якої йде змішаний випадок AD та судинної деменції, судинна деменція, деменція з тільцями Леві (DLB) та лобно-скронева деменція.

Очікується підвищення захворюваності хворобою Альцгеймера до 2050 року з передбачуваною розповсюдженістю від 11 до 16 мільйонів випадків. В наш час Управлінням США з контролю якості харчових продуктів та лікарських засобів (FDA) схвалені два класи лікарських препаратів для лікування симптомів AD - інгібітори ацетилхолінестерази (AChEI) та антагоністи рецептора N-метил-D-аспартази (NMDA). AChEI широко застосовуються як початкові лікувальні засоби при встановленні діагнозу. AChEI - донепезил, ривастигмін, галантамін і такрин - показані при AD зі ступенем вираженості від легкого до помірного; лише донепезил схвалений для тяжкої стадії.

Попри ці доступні медикаменти, відсутні лікувальні засоби для лікування AD або для попередження або зупинки прогресування захворювання. Інгібітори ацетилхолінестерази допомагають не усім, хто страждає на хворобу Альцгеймера, та, насправді, у багатьох пацієнтів є неефективними. З урахуванням того, що AChEI і мемантин викликають лише незначний симптоматичний ефект і не можуть запобігати погіршенню перебігу AD і уповільнювати прогресування захворювання, існує велика незадоволена потреба у більш ефективних симптоматичних лікувальних засобах та видах лікувальних засобів, які модифікують/уповільнюють захворювання.

Базуючись на ряді аргументів, для лікування когнітивної дисфункції було запропоновано застосування селективних антагоністів рецептора 5-HT<sub>6</sub>. Наприклад, було показано, що селективні антагоністи рецептора 5-HT<sub>6</sub> модулюють холінергічну та глутаматергічну нейрональну функцію. Активність селективних антагоністів рецептора 5-HT<sub>6</sub> була показана на тваринних моделях когнітивної функції. З моменту відкриття перших селективних антагоністів рецептора 5-HT<sub>6</sub> було декілька звітів щодо активності цих селективних сполук у моделях когнітивної функції in-vivo. N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)-бензиламін (який називається далі "сполука I") являє собою високоактивний і селективний антагоніст рецептора 5-HT<sub>6</sub>, який проходив клінічні випробування в лікуванні когнітивного порушення, асоційованого з шизофренією, а також як лікарський засіб для AD.

## Сполука I



У листопаді 2008 року було розпочато багатоцентрове рандомізоване подвійне сліпе дослідження із застосуванням фіксованої дози (120 мг/добу, два рази на добу) для дослідження ефективності і безпеки сполуки I як додаткового лікування до рисперидону у пацієнтів з шизофренією. Загальне покращення симптомів шизофренії було оцінено за допомогою загального балу за "Шкалою оцінки позитивних і негативних синдромів" (PANSS). Сполука I не виявляла будь-якої лікувальної переваги порівняно з плацебо, як було визначено за загальним балом за шкалою PANSS. У 2010 році було заявлено, що, очевидно, не існує будь-якої лікувальної переваги порівняно з плацебо в загальному покращенні нейрокогнітивної активності пацієнтів, яку оцінювали за допомогою сумарного Z-балу за шкалою BACS і балів за когнітивною підшкалою PANSS.

В 2012 році повідомлялося про те, що рандомізоване подвійне сліпе плацебо-контрольоване дослідження, проведене в Європі, Канаді й Австралії, досягло своєї первинної кінцевої точки у лікуванні AD. Дані продемонстрували, що сполука I разом з 10 мг/добу

донепезилу значно покращувала когнітивну функцію у 278 пацієнтів із хворобою Альцгеймера порівняно з плацебо разом з донепезилом, як було визначено за когнітивною підшкалою (ADAS-cog) шкали оцінки хвороби Альцгеймера. Сполука I показала позитивні результати у вторинних кінцевих точках, включаючи виміри загального впливу та повсякденної діяльності, порівняно з

пацієнтами, які отримували лікування донепезилом.  
Добову дозу у 90 мг сполуки I у дослідженні AD вводили тричі на добу (3 × 30 мг) для подолання відносно короткого періоду напіввиведення, що спостерігався у суб'єктів у попередніх клінічних дослідженнях. Задачею для такого вибору дози було забезпечити, щоб граничний рівень впливу знаходився нижче максимальної границі впливу, яку було встановлено з доклінічних токсикологічних досліджень. Відповідно, у цьому дослідженні фіксовану дозу вводили тричі.

Оскільки рецептор 5-HT<sub>6</sub> є новою мішенню, розташованою переважно у головному мозку, ключовою проблемою у розробці є визначення величини окупації рецепторів і кореляції із вмістом речовини у плазмі. У випадку мішеней у ЦНС існують додаткові проблеми, які зосереджені навколо того, чи пройде лікарський препарат через гематоенцефалічний бар'єр і чи досягне він мішені за відповідної концентрації і з достатньою тривалістю окупації рецепторів.

Прямі виміри окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> у головному мозку можуть бути цінними для багатьох процедур прийняття рішення під час розробки лікарських засобів центральної дії, націлених на 5-HT<sub>6</sub>, для забезпечення необхідної перевірки обґрунтованості концепції й оптимізації режимів дозування. У випробуваннях на людях для кількісної оцінки в умовах in-vivo окупації ряду рецепторів нейромедіаторів, включаючи рецептори дофаміну, серотоніну і бензодіазепінів (Talbot, et al., European Neuropsychopharmacology, 2002, 12, 503-511), були застосовані такі методики дослідження, як позитронна емісійна томографія (PET) зі специфічними лігандами, міченими радіоізотопами.

Був розроблений ефективний ліганд для PET, [<sup>11</sup>C]-LuPET, і відтоді він успішно пройшов випробування для застосування на людях. Цей ліганд згодом застосовували для визначення окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> після багаторазового введення доз сполуки I у декількох діапазонах. При оцінці окупації рецепторів людям-суб'єктам вводили цю сполуку протягом щонайменше трьох днів при декількох режимах дозування.

Автори даного винаходу виявили, що високу окупацію рецепторів спостерігали після багаторазового введення доз сполуки I, і що окупація рецепторів підтримувалась протягом 24 годин після введення дози. Дані, отримані в окремому фармакокінетичному (PK) дослідженні фази I у людей похилого віку, та дані, отримані у вищезгаданому дослідженні AD, показали, що період напіввиведення сполуки I у осіб похилого віку був тривалішим (приблизно 19 годин) порівняно з молодими здоровими суб'єктами (приблизно 12 годин).

Разом з цими дослідженнями зі збіжними результатами автори даного винаходу виявили покращені способи лікування AD шляхом застосування нового і покращеного режиму дозування, який включає введення один раз на добу в новому діапазоні доз. На основі результатів, описаних у даному описі винаходу, передбачається, що очікуваний діапазон доз буде ефективним, у той же самий час забезпечуючи рівні впливу нижчі за NOAEL, внаслідок чого підвищуючи коефіцієнт безпеки. Нижче наведений більш детальний опис даного винаходу.

#### СУТЬ ВИНАХОДУ

Зберігається потреба у нових лікувальних засобах та у видах терапії хвороби Альцгеймера, а також пов'язаних з хворобою Альцгеймера розладів, таких як деменція.

У зв'язку з цим у даному описі винаходу пропонуються способи лікування хвороби Альцгеймера як додаткова терапія до лікування інгібітором ацетилхолінестерази, які передбачають введення ефективної добової дози N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну або фармацевтично прийнятної солі пацієнту, який потребує такого лікування, де ефективна добова доза, яку вводять пацієнту, становить від приблизно 30 до приблизно 60 мг.

Також пропонується N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)-бензиламін або фармацевтично прийнятна сіль для застосування у лікуванні хвороби Альцгеймера шляхом підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази, що передбачає введення ефективної добової дози вказаної сполуки пацієнту, який потребує такого лікування, де ефективна добова доза, яку вводять пацієнту, становить від приблизно 30 до приблизно 60 мг.

Даним винаходом також пропонується N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламін або фармацевтично прийнятна сіль для застосування у лікуванні хвороби Альцгеймера як додаткової терапії до лікування інгібітором ацетилхолінестерази, що передбачає введення ефективної добової дози N-(2-(6-фтор-1H-індол-

3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну або фармацевтично прийнятної солі пацієнту, який потребує такого лікування, де ефективна добова доза, яку вводять пацієнту, становить від приблизно 30 до приблизно 60 мг.

Один варіант здійснення даного винаходу направлений на спосіб лікування хвороби Альцгеймера зі ступенем вираженості від легкого до помірного. В одному варіанті здійснення фармацевтично прийнятною сіллю є гідрохлорид.

В іншому варіанті здійснення доза вводиться у вигляді складу з негайним вивільненням.

В іншому варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінестерази є донепезил.

В іншому варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінестерази є ривастигмін.

В іншому варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінестерази є галантамін.

В іншому варіанті здійснення дозу вводять один раз на добу.

Вищезгаданий варіант здійснення даного винаходу, що стосується введення сполуки I один раз на добу, має очевидні переваги для пацієнтів. Такі переваги включають, без обмеження, легкість введення, зручність та дотримання пацієнтом режиму дозування. Однак деякі варіанти здійснення даного винаходу, що базуються на даних заявника, наведених у даному описі винаходу, також включають введення сполуки I більше одного разу на добу у кількостях, що еквівалентні кількостям, розкритим у даному описі винаходу, протягом періоду у двадцять чотири години. Таким чином, варіанти здійснення даного винаходу також включають наступне:

в одному варіанті здійснення ефективна добова доза становить 30 мг;

в ще одному варіанті здійснення доза являє собою ефективну добову дозу, яка становить 40 мг або менше;

в одному варіанті здійснення доза являє собою ефективну добову дозу, яка становить 50 мг або менше;

в іншому варіанті здійснення доза являє собою ефективну добову дозу, яка становить 60 мг або менше.

Як застосовується у даному описі винаходу, сполука I являє собою N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламін, і, відповідно, даним винаходом також пропонується фармацевтична композиція, яка містить сполуку I, де композиція при введенні людині забезпечує концентрацію сполуки I у плазмі крові у діапазоні від приблизно 56 нг/мл до приблизно 310 нг/мл при плато концентрації у плазмі, та де композиція вводиться для забезпечення ефективної добової дози сполуки I, що становить приблизно 60 мг або менше.

Також пропонується фармацевтична композиція, яка містить сполуку I, де композиція при введенні людині забезпечує окупацію рецепторів сполукою I, яка перевищує або дорівнює приблизно 90 % на рецепторі 5-HT<sub>6</sub> при плато концентрації у плазмі, та де композиція вводиться для забезпечення ефективної добової дози сполуки I, що становить приблизно 60 мг або менше.

Також пропонується фармацевтична композиція, яка містить сполуку I, яка відрізняється тим, що композиція при введенні людині забезпечує окупацію рецепторів сполукою I, яка перевищує або дорівнює приблизно 80 % на рецепторі 5-HT<sub>6</sub> при плато концентрації у плазмі, та де композиція вводиться для забезпечення ефективної добової дози сполуки I, що становить приблизно 60 мг або менше.

Даним винаходом також пропонується фармацевтична композиція, яка містить 60 мг або менше сполуки I, де композиція при введенні людині забезпечує концентрацію сполуки I у плазмі крові в діапазоні від приблизно 56 нг/мл до приблизно 310 нг/мл при плато концентрації у плазмі.

В одному варіанті здійснення композицією є склад з негайним вивільненням.

В одному варіанті здійснення ефективна добова доза становить 30 мг.

В ще одному варіанті здійснення ефективна добова доза становить 40 мг або менше.

В одному варіанті здійснення ефективна добова доза становить 50 мг або менше.

Даний винахід описує нові способи лікування і попередження деменції, викликані судинними захворюваннями; деменції, асоційованої з хворобою Паркінсона; деменції з тільцями Леві; комплексу СНІД-деменції; помірних когнітивних порушень; вікових порушень пам'яті; когнітивних порушень та/або деменції, асоційованої з неврологічними та/або психіатричними станами, включаючи епілепсію, пухлини головного мозку, пошкодження головного мозку, розсіяний склероз, синдром Дауна, синдром Рета, прогресуючий над'ядерний параліч, синдром лобної доли та шизофренію і споріднені психічні порушення; когнітивних порушень, викликаних травматичним пошкодженням головного мозку, наслідками шунтування коронарних артерій, електрошоковою терапією та хіміотерапією, які передбачають введення терапевтично ефективної кількості N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензаміну для підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази.

Даний винахід також описує нові способи лікування і попередження делірію, синдрому Турета, тяжкої псевдопаралітичної міастенії, синдрому дефіциту уваги з гіперактивністю, аутизму, дислексії, манії, депресії, апатії та міопатії, асоційованої з діабетом або викликаного діабетом, що передбачають введення терапевтично ефективної кількості N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну для підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази. Даний винахід також описує нові способи затримки початку хвороби Альцгеймера, посилення когнітивних функцій, лікування і попередження нападу апное уві сні, полегшення синдрому відміни тютюну і лікування порушень при хворобі Гентингтона, які передбачають введення терапевтично ефективної кількості N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну для підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази.

В даному описі винаходу пропонуються способи лікування хвороби Альцгеймера шляхом підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінестерази, які передбачають введення дози N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну щонайменше один раз на добу. В одному варіанті здійснення доза вводиться один раз на дві доби.

Нижче наведений більш детальний опис даного винаходу.

Стислий опис фігур

ФІГУРА 1 - криві залежності час-активність (TAC) вибраних ділянок головного мозку, які позначають середні значення вихідного сканування (секція A) під час здійснення частини B дослідження та сканування через 3 години після введення дози (секція B). Путамен і хвостате ядро чітко показали високий рівень накопичення радіоактивності, у той час як мозочок проявив найменше накопичення серед ділянок головного мозку. (SUV - це стандартизований рівень накопичення ізотопу).

ФІГУРА 2 - часовий профіль загальної кількості радіоактивних метаболітів [ $^{11}\text{C}$ ]LuPET у плазмі (секція A), усереднене значення за вихідними скануваннями частини B дослідження. Криві залежності час-активність (TAC), загальна кількість і кількість з поправкою на метаболіти у плазмі (секція B), виражені в стандартизованих рівнях накопичення ізотопу (SUV) як усереднені значення вихідних сканувань, обмеження вісі до 1000 nKi/мл слугує для чіткого зображення пізніших частин TAC. Вставка призначена для чіткого зображення піків.

ФІГУРА 3 - гістограми (з "вусами" стандартної похибки середнього (SEM)) об'єму розподілення ( $V_T$ ) у мозочку, Cb (секція A), встановлені за допомогою графічного аналізу із плазмою як вхідною функцією (PRGA) для вихідного сканування (B) та сканування через 3 години (3H) та другого сканування після введення дози (P2), й об'єм розподілення незаміщуваного компартмента,  $V_{ND}$ , отриманий за допомогою графіків Ласена регіонального  $V_T$  вихідного та 3H (3H) сканувань, а також вихідного і P2 (P2) сканувань (секція B).

ФІГУРА 4 - гістограми (з "вусами" SEM) оцінок мінливості результатів при повторному тестуванні (TRV) потенціалу зв'язування,  $BP_{ND}$ , для методів із застосуванням плазми як вхідної функції (секція A) і методів референтних тканин (секція B) у вибраних ділянках головного мозку. Пунктирні горизонтальні лінії показують рівень 10 %, який часто вважають переважним рівнем TRV.

ФІГУРА 5: - гістограми (з "вусами" SEM) об'єму розподілення  $V_T$  (секція A) у вибраних ділянках головного мозку, встановлені за допомогою PRGA, і потенціалу зв'язування,  $BP_{ND}$ , встановленого за допомогою PRGA та RTGA (секція B).

ФІГУРА 6 - гістограма заміщення (%) [ $^{11}\text{C}$ ]LuPET однією разовою дозою оланзапіну, що становить 10 мг, у вибраних ділянках головного мозку (секція A). Трансаксіальні зображення потенціалу зв'язування  $BP_{ND}$  на рівні, який показує путамен (Pu) і хвостате ядро (CN) на вихідному скануванні (B) та скануванні після введення оланзапіну (C). Окремі зображення  $BP_{ND}$  були нормалізовані у просторі та усереднені за суб'єктами (n=5).

ФІГУРА 7 - гістограми (середнє значення з "вусами" стандартної похибки (SE)) окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> сполукою I за схеми дозування для моментів часу через 3 години (секція A) та другого сканування після введення дози (секція B). Схеми дозування включають 5 мг (5Q; частина B4) один раз на добу (QD), 30 мг QD (30Q; частина B3), 30 мг двічі на добу (b.i.d.) (30B; частина B2) та 60 мг b.i.d. (60B; частина B1).

ФІГУРА 8 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки I у плазмі) для путамену (Pu), хвостатого ядра (CN) та вентрального стріатуму (vS) в момент часу через 3 години після введення дози. Криві прогностичних моделей (тобто найкраща відповідність за рівнянням 3) показані пунктирними лініями.

ФІГУРА 9 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки I в плазмі) для путамену (Pu), хвостатого ядра (CN) та вентрального стріатуму (vS) в моменти часу другого сканування після введення дози. Криві прогностичних моделей (тобто найкраща відповідність за рівнянням 3)

показані пунктирними лініями.

ФІГУРА 10 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки I в плазмі) для путамену (Pu), хвостатого ядра (CN) та вентрального стріатуму (vS), які поєднують два моменти часу після введення дози. Криві прогностичних моделей (тобто найкращі відповідності за рівнянням 3) показані пунктирними лініями.

ФІГУРА 11 - трансаксіальні зображення потенціалу зв'язування  $BP_{ND}$  на рівні, що показує путамен (Pu) і хвостате ядро (CN) для вихідного сканування та через 51 годину після введення дози (n=4; лише одна разова доза, що становить 30 мг; C). Зображення  $BP_{ND}$  [ $^{11}C$ ]MDL100,809 у здорових молодих суб'єктів (n=8) показано для порівняння на секції D. Окремі зображення  $BP_{ND}$  були нормалізовані у просторі та усереднені за учасниками.

ФІГУРА 12 - окупація рецепторів 5-HT<sub>6</sub> в залежності від концентрації сполуки I в плазмі.

ФІГУРА 13 - імітаційна модель окупації 5-HT<sub>6</sub> у хвостатому ядрі при плато для групи пацієнтів з хворобою Альцгеймера.

#### ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Перед детальним викладенням даного винаходу може бути корисним надання визначень деяких термінів, які будуть застосовуватися у даному описі винаходу. Якщо не визначено інше, усі технічні і наукові терміни, які застосовуються у даному описі винаходу, мають такі самі значення, які зазвичай розуміються спеціалістом у даній галузі, до якої належить даний винахід.

N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламін являє собою високоактивний і селективний антагоніст рецептора 5-HT<sub>6</sub> в клінічному випробуванні щодо лікування AD та називається сполукою I. Синтез сполуки I, її застосування для лікування порушень, пов'язаних з когнітивною дисфункцією, та фармацевтичні композиції, які містять цю речовину, розкриті в патентах США №№ 7157488 та 8044090. Якщо не визначено інше або чітко не вказано в тексті, посилання на сполуку I, застосовну у терапії за даним винаходом, включає як вільну основу, так і усі фармацевтично прийнятні солі сполук. Переважною сіллю сполуки I є гідрохлорид.

Дослідження хвороби Альцгеймера (AD), наведене у розділі "Попередній рівень техніки", згадується у даній заявці як "дослідження 12936A". Дослідження шизофренії, наведене у розділі "Попередній рівень техніки", згадується у даній заявці як "дослідження 12450A".

В одному варіанті здійснення даного винаходу в даному описі винаходу пропонуються способи лікування хвороби Альцгеймера шляхом підвищення або посилення ефекту інгібітора ацетилхолінерастери, які передбачають введення один раз на день ефективної дози N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну або фармацевтично прийнятної солі пацієнту, який потребує цього лікування, де діапазон доз становить від приблизно 30 до приблизно 60 мг. Даним винаходом також пропонуються способи лікування хвороби Альцгеймера (AD) за допомогою сполуки I як додаткового лікувального засобу до інгібіторів ацетилхолінерастери.

Один варіант здійснення даного винаходу направлений на способи лікування хвороби Альцгеймера з легким ступенем вираженості, у той час як окремий варіант здійснення стосується способів лікування хвороби Альцгеймера з помірним ступенем вираженості.

Ще один варіант здійснення стосується способів лікування хвороби Альцгеймера з важким ступенем вираженості.

Один варіант здійснення стосується способів лікування хвороби Альцгеймера зі ступенем вираженості від легкого до помірного.

В іншому варіанті здійснення сполуку I вводять у вигляді складу з негайним вивільненням. В іншому варіанті здійснення сполуку I вводять у вигляді фармацевтично прийнятної солі.

В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у вигляді гідрохлоридної солі.

В одному варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінерастери є донепезил.

В іншому варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінерастери є ривастигмін.

В ще одному варіанті здійснення інгібітором ацетилхолінерастери є галантамін.

В одному варіанті здійснення доза являє собою кількість від 10 до 80 мг.

В окремому варіанті здійснення доза являє собою кількість від 10 до 70 мг.

В одному варіанті здійснення доза являє собою кількість від 10 до 60 мг.

В одному варіанті здійснення доза являє собою кількість від 10 до 50 мг.

В одному варіанті здійснення доза являє собою кількість від 20 до 50 мг.

В одному варіанті здійснення доза являє собою кількість від 20 до 40 мг.

В окремому варіанті здійснення сполука вводиться у дозі 10 мг.

В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 20 мг.

В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 30 мг.

В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 40 мг.

В іншому варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 50 мг.  
 В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 60 мг.  
 В ще одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 70 мг.  
 В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 80 мг.  
 В одному варіанті здійснення сполуку I вводять у дозі 90 мг.

Застосовані у даному описі винаходу наступні терміни будуть мати значення, які викладені нижче.

"Терапевтично ефективною дозою" сполуки I є кількість, достатня для забезпечення спостережуваної лікувальної дії порівняно з вихідними клінічно спостережуваними ознаками та симптомами хвороби Альцгеймера, вимірними за шкалою ADAS-cog, та пов'язаної з хворобою Альцгеймера деменції, лікування якої здійснювали із застосуванням комбінованої терапії.

Мається на увазі, що "негайне вивільнення" включає традиційне вивільнення, при якому вивільнення лікарського засобу починається негайно після введення. Застосований у даному описі винаходу термін "негайне вивільнення" включає лікарські форми, які дозволяють лікарському засобу розчинятися у вмісті шлунково-кишкового тракту, що не припускає затримку або подовження розчинення або всмоктування лікарського засобу. Метою є швидке вивільнення лікарського засобу після введення, наприклад, щоб забезпечити можливість вивільнення щонайменше 80 % лікарського засобу для лікування деменції у межах приблизно 30 хвилин після початку розчинення у тесті розчинення.

Термін "інгібітор ацетилхолінестерази" відомий спеціалістам у даній галузі і включає сполуки, вибрані з групи, що складається з донепезилу, ривастигміну, галантаміну та такрину. Дозування інгібітора ацетилхолінестерази, схвалені FDA, охоплені даним винаходом. Наприклад, способи охоплюють дозування донепезилу, які, як показано, були ефективними в контрольованих клінічних дослідженнях з лікування хвороби Альцгеймера зі ступенем вираженості від легкого до помірного, що становлять 5 мг або 10 мг, які вводять перорально один раз на добу. Пероральна доза донепезилу, яка вводиться один раз на добу, що становить 23 мг, також схвалена для лікування AD зі ступенем вираженості від помірного до тяжкого.

Термін "плато концентрації у плазмі" означає, що рівень сполуки I у плазмі був досягнутий і підтримується при введенні наступних доз сполуки I (переважно підтримується плато концентрації (steady-state concentration (C<sub>ss</sub>))).

Термін "добовий" означає визначений безперервний період, що дорівнює двадцяти чотирьом (24) годинам.

Термін "доза" застосовується у даному описі винаходу для позначення введення сполуки I в одній лікарській формі пацієнту, який отримує лікування. В деяких варіантах здійснення доза являє собою одиничний пероральний склад. В деяких варіантах здійснення доза складена як таблетка, капсула, пілюля або пластир, які застосовує пацієнт.

Термін "ефективна добова доза" означає загальну кількість сполуки I, яку вводять пацієнту, який потребує лікування, за безперервний період, що дорівнює двадцяти чотирьом (24) годинам. Як необмежувальний приклад, що застосовується у даному описі винаходу виключно для ілюстрації значення цього терміну, ефективна добова доза, що становить 90 мг, буде означати і включати введення разової дози 90 мг за період, що дорівнює двадцяти чотирьом годинам, введення двох доз по 45 мг кожна протягом періоду, що дорівнює двадцяти чотирьом годинам, та введення трьох доз по 30 мг кожна протягом періоду, що дорівнює двадцяти чотирьом годинам, тощо. При введенні сполуки I в такий спосіб, тобто більше одного разу протягом періоду, що дорівнює двадцяти чотирьом годинам, такі введення можна розподілити рівномірно протягом періоду, що дорівнює двадцяти чотирьом годинам, або навіть вводити одночасно або практично одночасно.

Термін "діапазон дози", застосований в даному описі винаходу, стосується верхньої та нижньої межі припустимої варіації кількості визначеного засобу. Як правило, пацієнтам, які підлягають лікуванню, можна вводити дозу засобу у будь-якій кількості в межах визначеного діапазону.

Термін "лікувати" застосовується в даному описі винаходу для вказування на пом'якшення, зниження або зменшення щонайменше одного симптому захворювання у суб'єкта. Наприклад, у випадку деменції термін "лікувати" може означати пом'якшення або зменшення когнітивного порушення (такого як порушення пам'яті та/або орієнтації) або порушення глобальної функції (функціонального статусу, включаючи щоденну діяльність) та/або уповільнення або обернення прогресуючого погіршення у глобальному або когнітивному порушенні.

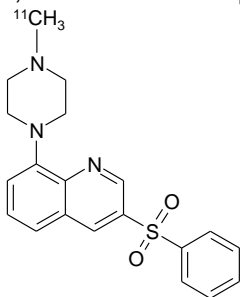
Термін "суб'єкт" передбачає включення тварин, які можуть страждати від деменції або уражатися деменцією, асоційованою з порушенням у ЦНС, включаючи без обмеження нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, синдром Дауна та деменція,



що зумовлена цереброваскулярним захворюванням, або будь-яке порушення, яке включає прямо або опосередковано хворобу Альцгеймера. У деяких варіантах здійснення суб'єкт являє собою людину, наприклад, людину, яка страждає на хворобу Альцгеймера або деменцію, асоційовану з хворобою Альцгеймера, або деменцією з тільцями Леві, знаходиться під загрозою страждання на ці захворювання або потенційно здатна страждати на ці захворювання.

Застосування термінів в однині у контексті опису даного винаходу (особливо у контексті наступної формули винаходу) слід розуміти, як таке, що включає однину та множину, якщо в даному описі винаходу не вказано інше або це явно не суперечить контексту. Терміни "що передбачає", "що має", "що включає" та "що містить" слід розуміти як відкриті терміни (тобто які означають "що включає без обмеження"), якщо не вказано інше. Передбачається, що перелічування діапазонів значень у даному описі винаходу буде слугувати виключно як скорочений спосіб індивідуального вказування кожного окремого значення, яке входить у діапазон, якщо в даному описі винаходу не вказано інше, та кожне окреме значення включено в даний опис так, мовби воно було індивідуально згаданим у даному описі винаходу.

Ліганд PET, застосований в дослідженні за допомогою позитронної емісійної томографії, яке описано в Експериментальному розділі, позначається як [ $^{11}\text{C}$ ]LuPET та має наступну структуру:



#### Фармацевтично прийнятні солі

Даний винахід також включає солі сполуки I, як правило, фармацевтично прийнятні солі.

Такі солі включають фармацевтично прийнятні кислотні-адитивні солі. Кисотно-адитивні солі включають солі неорганічних кислот, а також органічних кислот. Типові приклади придатних неорганічних кислот включають хлористоводневу, бромистоводневу, йодистоводневу, фосфорну, сірчану, сульфамінову, азотну кислоти тощо. Типові приклади придатних органічних кислот включають мурашину, оцтову, трихлороцтову, трифтороцтову, пропіонову, бензойну, коричну, лимонну, фумарову, гліколеву, ітаконову, молочну, метансульфонову, малеїнову, яблучну, малонову, мигдалеву, щавлеву, пікринову, піровиноградну, саліцилову, бурштинову, метансульфонову, етансульфонову, винну, аскорбінову, памову, бісметиленсаліцилову, етандисульфонову, глюконову, цитраконову, аспарагінову, стеаринову, пальмітинову, EDTA, гліколеву, п-амінобензойну, глютамінову, бензолсульфонову, п-толуолсульфонову кислоти, теофілін-оцтові кислоти, а також 8-галогентеофіліни, наприклад, 8-бромтеофілін тощо. Подальші приклади фармацевтично прийнятних кислотно-адитивних солей неорганічних та органічних кислот включають фармацевтично прийнятні солі, наведені в роботі Berge, et al., J. Pharm. Sci. 1977, 66, 2, зміст якої, таким чином, включено в даний опис винаходу за допомогою посилання.

Крім того, сполука I та її солі можуть існувати в несольватованій, а також у сольватованій формах з фармацевтично прийнятними розчинниками, такими як вода, етанол тощо.

#### Фармацевтичні композиції

Даним винаходом також пропонується фармацевтична композиція, яка містить терапевтично ефективну кількість сполуки I та необов'язково фармацевтично прийнятний носій або розріджувач. Сполуку I можна вводити окремо або в комбінації з фармацевтично прийнятними носіями, розріджувачами або наповнювачами, як одноразові дози або дози для багаторазового прийому. Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можна складати з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами, а також будь-якими іншими відомими допоміжними засобами і наповнювачами відповідно до традиційних методик, таких як розкриті в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

Придатні фармацевтичні носії включають інертні тверді розріджувачі або наповнювачі, стерильний водний розчин та різні органічні розчинники. Прикладами твердих носіїв є лактоза, каолін, сахароза, циклодекстрин, тальк, агар, пектин, аравійська камедь, стеаринова кислота та нижчі алкілові етери целюлози, кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль, тальк, стеарат магнію, желатин, лактоза, камеді тощо. Інші допоміжні засоби та добавки, що зазвичай

застосовуються для таких цілей, такі як барвники, ароматизатори, консерванти тощо, можуть застосовуватися за умови, що вони є сумісними з активними інгредієнтами.

5 Фармацевтичні композиції, що утворюються шляхом об'єднання сполуки I і фармацевтично прийнятних носіїв, потім легко вводяться у вигляді різних лікарських форм, придатних для розкритих шляхів введення. Склади можуть бути введені в лікарську форму за допомогою способів, відомих в галузі фармації.

10 Склади за даним винаходом, придатні для перорального введення, можуть бути представлені у вигляді дискретних одиниць, таких як капсули або таблетки, кожна з яких містить попередньо визначену кількість активного інгредієнта та може включати один або декілька придатних наповнювачів. Доступні для перорального введенняклади можуть бути у формі порошку або гранул, розчину або суспензії у водній або неводній рідині або у рідкій емульсії типу "олія-у-воді" або "вода-в-олії". Якщо для перорального введення застосовується твердий носій, то препарат може бути таблетованим, поміщеним у тверду желатинову капсулу в порошкоподібній або гранульованій формі, або він може мати форму пастилки або пастилки для розсмоктування.

15 Без обмеження обсягу даного винаходу прикладом складу з негайним вивільненням з дозою, що містить 30 мг фармацевтично прийнятної солі сполуки I, яка вводиться один раз на добу, є наступний:

моногідроклорид сполуки I	32,75 мг
двозаміщений фосфорнокислий кальцій	222,0 мг
колоїдний діоксид кремнію NF (Aerosil 200)	3,900 мг
стеарат магнію NF (рослинний)	1,300 мг.

Цей склад може бути поміщений в желатинову капсулу розміром № 3.

20 Подібним чином можуть бути отримані фармацевтичні композиції, які передбачають введення сполуки I, де діапазони доз, що вводяться, знаходяться в межах від приблизно 30 мг до приблизно 60 мг.

Способи лікування

25 В даному описі винаходу пропонується комбінована терапія, придатна для лікування хвороби Альцгеймера легкого, помірного та тяжкого ступеня вираженості, а також симптомів, асоційованих з хворобою Альцгеймера зі ступенем вираженості від легкого до помірного. Як розглянуто далі, способи, запропоновані у даному описі винаходу, мають ряд переваг.

30 Термін "хвороба Альцгеймера" стосується прогресуючого захворювання центральної нервової системи людини. Вона проявляється деменцією, як правило, у людей похилого віку, дезорієнтацією, втратою пам'яті, ускладненістю мови, правило, у людей похилого віку, дезорієнтацією, втратою пам'яті, ускладненістю мови, рахування або візуально-просторових навичок, а також психічними проявами. Вона пов'язана з дегенерацією нейронів у декількох ділянках головного мозку. Застосовуваний у даному описі винаходу термін "деменція" включає без обмеження деменцію Альцгеймера з наявністю психічних симптомів або без психічних симптомів.

35 В конкретному варіанті здійснення терапевтичні способи, які пропонуються у даному описі винаходу, є ефективними для лікування хвороби Альцгеймера з легким, помірним та тяжким ступенем вираженості у суб'єкта. Фази хвороби Альцгеймера також включають "помірно тяжке зниження когнітивних здібностей", що також називається "хвороба Альцгеймера з помірним або проміжним ступенем вираженості"; "тяжке зниження когнітивних здібностей", що також називається "хвороба Альцгеймера з помірно тяжким або проміжним ступенем вираженості", та "дуже тяжке зниження когнітивних здібностей", що також називається "хвороба Альцгеймера з тяжким ступенем вираженості або у пізній стадії". Помірно тяжке зниження когнітивних здібностей характеризується суттєвими провалами пам'яті, а також виникненням недостатності когнітивної функції. На цій стадії виникає потреба у деякій допомозі у щоденній діяльності. При тяжкому зниженні когнітивних здібностей продовжують погіршуватися проблеми з пам'яттю, можуть виникати суттєві зміни особистості, та враженні індивіди потребують суттєвої допомоги у звичній щоденній діяльності. Хвороба Альцгеймера на останній стадії або дуже тяжке зниження когнітивних здібностей є кінцевою стадією захворювання, коли індивіди втрачають здатність реагувати на їхнє оточення, здатність говорити і, нарешті, здатність контролювати рух.

50 В іншому варіанті здійснення пацієнт, який підлягає лікуванню комбінованою терапією за даним винаходом, має бал за шкалою MMSE від 12 до 22. "MMSE" означає "Коротку шкалу оцінки психічного стану", яка застосовується спеціалістами з оцінювання когнітивних функцій.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ РОЗДІЛ

5-HT <sub>2A</sub>	підтип 2A рецептора 5-гідрокситриптамін
5-HT <sub>6</sub>	підтип 6 рецептора 5-гідрокситриптамін
%	відсоткова частка
AD	хвороба Альцгеймера
AIC	інформаційний критерій Акаїке
ANOVA	дисперсійний аналіз
A(t)	концентрація радіоактивності радіоліганду у ділянці головного мозку в момент часу t після ін'єкції (одиниці)
B <sub>avail</sub>	щільність рецепторів, доступних (неокупованих) для зв'язування радіоліганду in vivo (нмоль·л <sup>-1</sup> або нмоль рецептора·1000 см <sup>-3</sup> тканини)
BP <sub>ND</sub>	потенціал зв'язування in vivo (безрозмірний показник)
°C	градуси Цельсія
CIAS	когнітивний розлад, асоційований з шизофренією
COV	коефіцієнт варіації
CRO	контрактна дослідницька організація
C(t)	концентрація радіоактивності радіоліганду у плазмі в момент часу t після ін'єкції
D	BP <sub>ND</sub> після введення дози
ECG	електрокардіограма
EC <sub>50</sub>	ефективна концентрація, яка спричиняє 50 % максимальної окупації
наприклад	exempli gratia (наприклад)
f <sub>ND</sub>	вільна фракція в незаміщуваному компартменті (безрозмірний показник)
FWHM	повна ширина при половині максимуму
г	грами
г.	година
HPLC	високоєфективна рідинна хроматографія
HRRT	дослідницька томографія високого розділення
тобто	id est (тобто)
IRB	експертна рада організації
iv	внутрішньовенно
JHU	Університет Джонса Гопкінса
K <sub>1</sub>	константа швидкості переносу артеріальної крові з плазми у тканину (мл/хв./г або мл/хв./см <sup>3</sup> )
k <sub>2</sub>	константа швидкості фракційного кліренсу радіоліганду з головного мозку в кров (хв <sup>-1</sup> )
k <sub>2</sub> '	константа відтоку назад до плазми; див. Коерпе et al., 1991
k <sub>3</sub>	константа асоціації радіоліганду (хв <sup>-1</sup> )
k <sub>4</sub>	константа швидкості дисоціації радіоліганду (хв <sup>-1</sup> )
K <sub>D</sub>	константа дисоціації
мкг	мікрограм
мКи	мілікюри
мг	міліграм
мл	мілілітр
хв	хвилина
MRI	магнітно-резонансна томографія
n	кількість
нг	нонотграм
OBD	Optimum Bed Density, торговельна марка компанії Waters Corporation, Мілфорд, Масачусетс
O <sub>max</sub>	максимальна окупація
OTCM	модель з одним компартментом
PET	позитронно-емісійна томографія
pH	узятий зі зворотним знаком логарифм відносної концентрації протонів водню (H <sup>+</sup> )

PI	головний дослідник
PK	фармакокінетичний
po	per os, перорально
PRGA	графічний аналіз із плазмою як вхідною функцією
RO	окупація рецепторів
R <sup>2</sup>	коефіцієнт детермінації для лінійної регресії
SPGR	градієнтне ехо з очищенням, тип отримання даних для MRI
T	Тесла
TAC	криві залежності час-(радіо)активність
TTCM-UC	підхід на основі моделі двох компартментів з 5 параметрами
TTCM-C	підхід на основі обмеженої моделі двох компартментів з 5 параметрами
V <sub>0</sub>	судинний об'єм у тканині (мл/мл)
V <sub>ND</sub>	незаміщуваний об'єм розподілення, представлений як співвідношення K <sub>1</sub> -k <sub>2</sub> в TTCM-UC і TTCM-C (мл/мл)
V <sub>T</sub>	повний об'єм розподілення (мл/мл)
VOI	досліджувані ділянки
Структури головного мозку	
Am	мигдалина
Cb	мозочок
Cg	поясна кора
CN	хвостате ядро
Fr	лобна кора
Fs	веретеноподібна звивина
GP	бліда куля
Hr	гіпокамп
In	острівкова кора
Os	потилична кора
Pa	тім'яна кора
PH	парагіпокамп
Pu	путамен
vS	вентральний стріатум
Th	таламус
Tr	скронева кора

#### Приклад 1. Отримання [<sup>11</sup>C]LuPET

Попередником є 3-фенілсульфоніл-8-(пиперазин-1-іл)хінолін (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S; м.м.: 353,4), і він являє собою відому та офіційно розкриту сполуку. Попередник розчиняли в ацетонітрилі та переносили до системи BioScan Autoloop, а потім піддавали реакції з [<sup>11</sup>C]-йодметаном, отриманим наступним чином. <sup>11</sup>CO<sub>2</sub>, отриманий внаслідок бомбардування газоподібного азоту високої чистоти, що містить від 0,5 до 1,0 % кисню, прискореними протонами, піддавали реакції з воднем на колонці з молекулярним ситом:нікелевим каталізатором при температурі 380°C з утворенням <sup>11</sup>CH<sub>4</sub>, який піддавали реакції з парами йоду, нагрітими до температури 740°C з утворенням <sup>11</sup>CH<sub>3</sub>I. [<sup>11</sup>C]-йодметан пропускали через піч, яка містила трифлат срібла, для перетворення міченого радіоактивним ізотопом йодметану в [<sup>11</sup>C]-метилтрифлат. [<sup>11</sup>C]-метилтрифлат вводили в систему метилювання у петлі із застосуванням газоподібного гелію при витраті потоку приблизно 20 мл/хв. при температурі навколишнього середовища. Накопичення [<sup>11</sup>C]-радіоактивності у петлі спостерігали за допомогою внутрішнього радіаційного дозиметра, доки радіоактивність не досягала плато. Реакційну суміш у петлі залишали при кімнатній температурі на 4,5 хвилини. Неочищений [<sup>11</sup>C]LuPET очищували за допомогою препаративної рідинної хроматографії високого тиску (HPLC) із застосуванням колонки Waters XBridge Prep OBD C18 10 мкм 10 × 150 мм за допомогою 30 % ацетонітрилу:70 % водного буфера (57 мМ TEA, доведений до pH 7,2 орто-фосфорною кислотою) при витраті потоку 10 мл/хв. Фракцію [<sup>11</sup>C]LuPET, визначену за допомогою вбудованого радіометричного детектора, збирали у резервуар з водою. В резервуарі створювали підвищений тиск для завантаження [<sup>11</sup>C]LuPET на картридж C18 Sep-Pak. Потім C18 Sep-Pak промивали 10 мл 0,9 % розчину хлориду натрію для ін'єкцій. [<sup>11</sup>C]LuPET елюювали з C18 Sep-Pak 1 мл етанолу, потім 10 мл 0,9 % розчину хлориду натрію для ін'єкцій крізь стерилізувальний фільтр з діаметром пор 0,22 мкм в стерильний апірогенний флакон, попередньо заповнений 4 мл розчину хлориду натрію для ін'єкцій.

Приклад 2. Експерименти із застосуванням позитронної емісійної томографії (частини А та В)

Оскільки дози радіоліганду раніше не вводили людям, спочатку оцінювали його кількість у головному мозку людини для виявлення оптимального способу кількісного визначення і валідації радіоліганду як мітки для PET (частина А). Головною метою цього дослідження була оцінка окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> після багаторазового перорального введення доз сполуки І у здорових суб'єктів із застосуванням PET з [<sup>11</sup>C]LuPET як радіоліганду (частина В).

#### Суб'єкти

Вісім здорових суб'єктів-чоловіків (вік: 30,6 ± 7,7 років; діапазон: 22-44 роки) брали участь в частині А, та шістнадцять здорових суб'єктів-чоловіків (вік: 32,3 ± 7,6 років; діапазон: 21-44 роки) брали участь в частині В цього дослідження.

#### Експерименти із застосуванням PET

Дослідження із застосуванням PET виконували на томографі GE Advance (GE Medical Systems, Вокеша, Вісконсин, США). Суб'єктам встановлювали один венозний катетер для ін'єкції радіоліганду та один артеріальний катетер для отримання зразків артеріальної крові для визначення радіоактивності в плазмі. Потім суб'єктів поміщали в сканер, при цьому голову утримували виготовленою на замовлення термопластичною маскою для зменшення рухів голови при отриманні даних PET. Потім для визначення поправки на послаблення сигналу здійснювали 10-хвилинне трансмісійне сканування за допомогою джерела <sup>68</sup>Ge, що обертається. Після цього здійснювали збір даних PET в динамічному режимі у тривимірному режимі протягом 90 хв. з наступною внутрішньовенною болюсною ін'єкцією [<sup>11</sup>C]LuPET. Загалом отримували 30 кадрів PET (4 × 15, 4 × 30, 3 × 60, 2 × 120, 5 × 240 і 12 × 300 секунд). Для визначення радіоактивності плазми спочатку зразки артеріальної крові відбирали з дуже короткими інтервалами (<5 с), поступово подовжуючи інтервали (після 30 хв. через кожні 15 хв.) протягом дослідження із застосуванням PET. Вибрані зразки, відібрані в моменти часу 0, 5, 10, 30, 45, 60 і 90 хвилин, аналізували за допомогою HPLC на наявність радіоліганду та його радіоактивних метаболітів, як описано в іншому документі (Hilton et al., 2000).

В частині А дослідження для перевірки відтворюваності результатів PET вихідні сканування повторювали в той самий день (n=1) або інші дні (n=7) з інтервалом в діапазоні 1-18 днів. Третє сканування здійснювали через 5 годин після введення однієї разової дози (10 мг) оланзапіну (n=5), який використовували як стандартну речовину з високою афінністю до рецепторів 5-HT<sub>6</sub>.

В частині В дослідження після одного вихідного сканування здійснювали одне сканування після введення дози через 3 години (сканування "3H") і через 10, 11, 27 або 51 годину (друге сканування після введення дози, P2) з наступним пероральним введенням дози сполуки І протягом як мінімум трьох днів.

Реконструкція даних PET: емісійні сканування PET реконструювали із застосуванням алгоритму зворотної проекції за допомогою пилкоподібного фільтра із застосуванням програмного забезпечення, яке постачається виробником, з поправкою на послаблення сигналу, розсіювання і час запізнювання (Kinahan and Rogers, 1989). Для радіоактивності вводили поправку з урахуванням фізичного розпаду до часу ін'єкції. Кожний кадр PET складався з 128 (зліва направо) на 128 (від назіону до ініону) на 35 (від шиї до черепу) вокселів. Очікувана просторова роздільна здатність для цих установок реконструкції складала 5,5 і 6,1 мм повної ширини при половині максимуму (FWHM) в радіальному та тангенціальному напрямках, відповідно, при радіусі 10 см від центра до зони візуалізації (Lewellen et al., 1996).

#### Отримання даних магнітно-резонансної томографії

В окремому випадку послідовність MRI з градієнтною луною з очищенням (SPGR) отримували для кожного суб'єкта для анатомічної ідентифікації досліджуваних структур із застосуванням наступних параметрів: час повторення 35 мс; час луни 6 мс; кут нахилу вектора 458°; товщина зрізу 1,5 мм без пропуску; зона візуалізації 24 × 18 см<sup>2</sup>; матриця отримання зображення 256 × 192, переформатована у 256 × 256.

#### Аналіз даних PET

Досліджувані ділянки (VOI): VOI кори автоматично визначали за допомогою програмного забезпечення Freesurfer та об'єднували в стандартні ділянки, які включали: лобну (Fr), скроневу (Tr), тім'яну (Pa) та потиличну (Oc) кору, веретеноподібну звивину (Fs), поясну кору (Cg) та острівкову кору (In). Субкортикальні ділянки визначали за допомогою програмного забезпечення FIRST (Patenaude et al., 2011) і коригували вручну на індивідуальних MRI. Субкортикальні ділянки включали путамен (Pu), хвостате ядро (CN), вентральний стріатум (vS), біду кулю (GP), таламус (Th), гіпокамп (Hp) та мигдалину (Am). VOI переносили з просторів MRI в PET після параметрів сумісного дослідження MRI-PET, представлених у SPM5 (Ashburner J, Friston 2003; Maes et al., 1997) для отримання кривих залежності час-активність (TAC) для ділянок.

Загалом 25 ділянок на кожному скануванні використовували для методологічних оцінок (частина А), у той час як розрахунок окупації обмежували ділянками Pu, CN та vS (частина В).

Отримання результатів PET: первинними результатами PET є повний об'єм розподілення,  $V_T$ , та потенціал зв'язування,  $BP_{ND}$  ( $=f_{ND} \cdot B_{avail}/K_D$ , де  $f_{ND}$  означає фракцію незаміщованого компартмента,  $B_{avail}$  означає щільність доступних (неокупованих) рецепторів 5-HT<sub>6</sub> та  $K_D$  означає константу дисоціації; Innis et al., 2007).

Набір стандартних методів із застосуванням плазми як вхідної функції використовували для виявлення оптимального способу виведення об'єму регіонального розподілення ( $V_T$ ) для [<sup>11</sup>C]LuPET, включаючи модель одного компартменту (OTCM) з трьома параметрами ( $K_1$  та  $k_2$ ; див. Коерре et al., 1991, щодо визначень, і  $v_0$ , судинний об'єм тканини), моделі двох компартментів з п'ятьма параметрами ( $K_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  та  $v_0$ ; див. Innis et al., 2007, щодо визначень), без обмеження та з обмеженням співвідношення  $K_1$ - $k_2$  (незаміщуваний об'єм розподілення,  $V_{ND}$  (Abi-Dargham et al., 1994) щодо оцінки мозочка (TTCM-UC та TTCM-C, відповідно), та графічний аналіз з плазмом як вхідною функцією (PRGA; Logan et al., 1990). В TTCM-UC і TTCM-C  $BP_{ND}$  був представлений як співвідношення  $k_3$ - $k_4$ . В PRGA  $BP_{ND}$  може бути отриманий як відношення  $V_T$  ділянки до  $V_T$  мозочку (Cb) мінус одиниця, якщо було підтверджено, що на  $V_T$  мозочку (Cb) не впливало введення сполуки I. ТАС плазми з поправкою на метаболіти отримували шляхом застосування відсоткових профілів часу батьківського ліганду, представлених за допомогою HPLC-аналізу, до ТАС усієї плазми, після інтерполяції на моменти часу для зразків плазми із застосуванням кусково-кубічної інтерполяції Ерміта, реалізованої в Matlab (Mathworks, Кембридж, Масачусетс, США) та застосованої в методах із застосуванням плазми як вхідної функції.

Додатково використовували методи із референтною тканиною, а саме полілінійний спосіб із референтною тканиною з 2 параметрами (MRTM2; Ichise et al., 2002) і графічний аналіз із референтною тканиною (RTGA; Logan et al., 1996). За RTGA  $k_2^R$  (константа швидкості кліренсу з головного мозку в кров для мозочку (Cb)) була визначена як  $0,076 \text{ хв}^{-1}$ , середнє значення  $k_2$  (за вихідними скануваннями), встановлене за допомогою TTCM-UC.

Для цього розділу застосовували сканування при первинному та повторному тестуваннях частини А дослідження і вихідні сканування частини В дослідження.

Незалежна оцінка об'єму розподілення незаміщованого компартмента,  $V_{ND}$ : було показано, що графік розсіювання  $\Delta V_T$  (вихідне значення мінус значення після введення дози) у порівнянні з вихідним  $V_T$ , який часто називають графіком Ласена, може дати "теоретично вірний"  $V_{ND}$  як точку перетину з віссю x лінії регресії, якщо графік вирівнювався лінійно (Lassen et al., 1995; Cunningham et al., 2010). Слід звернути увагу, що даний метод дає одне значення  $V_{ND}$ , яке є загальним для усіх ділянок вихідного сканування та сканування після введення дози. Застосування графіка Ласена може допускатися для розрахунку окупації, тільки якщо графік вирівнюється лінійно. Значення  $V_{ND}$ , встановлене за допомогою графіка, застосовують для оцінки того, чи може  $V_T$  мозочку (Cb) застосовуватися як оцінка  $V_{ND}$  (тобто незначна кількість рецепторів 5-HT<sub>6</sub> в Cb) в PRGA для отримання  $BP_{ND}$  і окупації рецептора.

Мінливість результатів при повторному тестуванні: відтворюваність  $V_T$  і  $BP_{ND}$  [<sup>11</sup>C]LuPET оцінювали за мінливістю результатів при повторному тестуванні (TRV), яка представлена наступною формулою (наприклад, Sudo et al., 2001):

$$TRV = \sum_{i=1}^n \frac{|V_{test} - V_{retest}|}{(V_{test} + V_{retest})/2} / n \quad (1),$$

де  $v_{test}$  і  $v_{retest}$  означають оцінки  $V_T$  або  $BP_{ND}$  сканувань для ділянки при первинному та повторному тестуванні, відповідно. У ряді робіт TRV на рівні 10 % використовувався як критерій припустимої відтворюваності для радіоліганду (Hirvonen et al., 2009). Тому в цьому повідомленні цей рівень використовували як референтне значення. Для цього розділу застосовували лише сканування при первинному та повторному тестуванні частини А дослідження.

Взаємозв'язок між окупацією і окупацією-РК: окупацію рецепторів 5-HT<sub>6</sub> (RO в %) сполукою I (частина В дослідження) і оланзапіном (частина А дослідження) розраховували за допомогою наступного рівняння:

$$RO = \left(1 - \frac{BP_{ND}^D}{BP_{ND}^B}\right) \times 100 \quad (2),$$

де верхні індекси вказують  $BP_{ND}$  вихідне (B) та після введення дози (D), відповідно.

Було показано, що у здорових суб'єктів-чоловіків одноразова пероральна доза 10 мг оланзапіну приводила до окупації дофамінових рецепторів  $D_2$ , яка становила приблизно 60 % (Nyberg et al., 1997). Повідомлялося, що в умовах in vitro афінність рецепторів людини до

оланзапіну для рецепторів 5-HT<sub>6</sub> та дофамінових рецепторів D<sub>2</sub> є порівняною із значеннями K<sub>i</sub>, які становлять приблизно 10 нМ та 30 нМ, відповідно (Kroeze et al, 2003), тому при дозі 10 мг можна очікувати щонайменше порівняну окупацію 5-HT<sub>6</sub> (=60 %). Оскільки у оланзапіну була навіть більш висока афінність до рецептору 5-HT<sub>2A</sub>, слід очікувати деякий внесок 5-HT<sub>2A</sub> у виміряне повне заміщення після введення дози оланзапіну. В стріатумі щільність 5-HT<sub>6</sub> є високою (Woolley et al., 2004), а щільність 5-HT<sub>2A</sub> низькою (Pompreiano et al., 1994), й, отже, основний внесок буде спостерігатися від заміщення рецепторів 5-HT<sub>6</sub> в цій ділянці.

Взаємозв'язок окупація-РК (концентрація сполуки І в плазмі) описували за допомогою наступного модифікованого рівняння Хілла першого порядку:

$$RO = \frac{PK \cdot O_{\max}}{PK + EC_{50}} \quad (3),$$

де O<sub>max</sub> означає окупацію, яка може максимально досягатися, а EC<sub>50</sub> стосується РК, яка досягає 50 % від O<sub>max</sub>. Інформаційний критерій Акаїке (AIC; Akaike 1974; Burnham and Anderson 2004) застосовували для дослідження критерію відповідності для компартментальних моделей та для перевірки взаємозв'язків окупація-РК із застосуванням рівняння 3.

#### Результати

Наступні результати частин А і В дослідження надані з посиланням на фігури графічних матеріалів даного винаходу. ТАС тканин: на вихідних скануваннях ТАС Р<sub>u</sub> і CN утворювали піки до 10 хв., а після цього демонстрували безперервне збільшення протягом періоду, який дорівнює 90 хвилинам (фігура 1), у той час як ТАС інших ділянок головного мозку досягали відповідних піків за час, менший ніж 20 хвилин, та після цього відбувалося незмінне зниження. Мозочок (Cb) показав найменше накопичення радіоактивності серед ділянок головного мозку. У скануваннях після введення дози форми ТАС Р<sub>u</sub> та CN ставали ближчими до ТАС інших ділянок головного мозку дозозалежним чином (секція В). ТАС Cb для вихідного сканування та сканування після введення доз залишалися відносно схожими між собою.

Фігура 1 - криві залежності час-активність (ТАС) вибраних ділянок головного мозку. ТАС плазми: загальна кількість радіоактивних метаболітів у плазмі збільшувалася як функція від часу після введення мітки (фігура 2, секція А), сягаючи 69 ± 9 % на 90-ту хвилину. Сканування 3Н та друге сканування після введення дози показали нерозрізненні часові профілі за HPLC з вихідними скануваннями. ТАС загальної кількості у плазмі і ТАС плазми з поправкою на метаболіти показано на секції В. Обидві утворювали піки протягом 1 хвилини (введення) та після цього моноекспоненційно знижувалися. Слід звернути увагу на те, що в аналізі даних частини А дослідження застосовували середній часовий профіль за HPLC для 8 сканувань з результативними HPLC, оскільки HPLC не була результативною для 12 сканувань, що залишилися, через технічні проблеми. Часові профілі за HPLC індивідуальних сканувань застосовували в частині В дослідження.

Фігура 2 - часовий профіль загальної кількості радіоактивних метаболітів [<sup>11</sup>C]-LuPET у плазмі. Оцінка методів за результатами PET: AIC підтвердив перевагу TTCM над OTCM (тобто OTCM показав більш високі значення AIC, ніж TTCM-UC або TTCM-C в 99,8 % або 99,1 % усіх 434 ділянок, відповідно), що свідчить про те, що для [<sup>11</sup>C]LuPET гематоенцефалічний перенос може бути кінетично відділений від процесів асоціації-дисоціації. Таким чином, для даного радіоліганду OTCM була відкинута. Проте TTCM-UC та TTCM-C давали викиди (визначені довільно як: V<sub>T</sub> > 20 мл/мл, найвище значення за PRGA, та BP<sub>ND</sub> > 15, у 3 рази більше, ніж найвище значення за PRGA) у 8,1 % та 6,2 % усіх ділянок для V<sub>T</sub> та 7,2 % і 4,4 % для BP<sub>ND</sub>. Таким чином, було зроблено висновок, що TTCM-UC та TTCM-C не були достатньо надійними для оцінки V<sub>T</sub> і BP<sub>ND</sub> за допомогою [<sup>11</sup>C]LuPET. Графіки PRGA наблизилися до асимптот щонайменше в момент часу 40 хв. і показали відмінну лінійність (R<sup>2</sup>, коефіцієнти детермінації > 0,93 в усіх ділянках). Додаткові оцінки PRGA запропоновані у наступних двох розділах.

З двох методів референтних тканин RTGA (= x) показав більш сильну кореляцію з PRGA (y=0,72·x+0,073; R<sup>2</sup>=0,926), ніж MRTM2 (y=0,73·x+0,22; R<sup>2</sup>=0,878), хоча в обох методах BP<sub>ND</sub> був занижений у ділянках з високим BP<sub>ND</sub>.

Оцінка графіка Ласена та V<sub>T</sub> мозочка: у порівнянні з вихідним скануванням V<sub>T</sub> мозочка (Cb) знижувався на скануванні 3Н (t = -3,09; p<0,01; парний t-критерій) та на другому скануванні після введення дози (t = -2,56; p<0,05), як показано на фігурі 3, секція А. Статистичних розбіжностей між скануванням 3Н та другим скануванням після введення дози не спостерігалось (t=1,06; p>0,3). Графік Ласена був лінійним (R<sup>2</sup>>0,9) в усіх випадках за виключенням одного випадку (вихідне сканування у порівнянні зі скануванням через 51 годину після введення дози у суб'єкта 502, у якого спостерігали найнижчу окупацію; R<sup>2</sup>=0,501), оцінка V<sub>ND</sub> якого становила -0,39 мл/мл. Оцінки V<sub>ND</sub> залишилися незмінними на скануваннях 3Н та P2 (секція В). Однак, наявність викиду

обмежувала застосування графіка Ласена для розрахунку окупації у даному дослідженні. Коли викид було виключено,  $V_T$  мозочка ( $C_b$ ) ( $= y$ ) корелював з  $V_{ND}$ , встановленим за допомогою графіка Ласена ( $y=0,90 \cdot x+0,08$ ;  $R^2=0,945$ ), але був нижчим за  $V_{ND}$  ( $t = -4,36$ ;  $p<0,001$ ). Даний результат ( $V_T$  у  $C_b$  при  $3H < V_{ND}$ , встановлений за графіком Ласена) свідчив про невелике завищення  $V_{ND}$  за графіком. Разом із статистично значущими, але незначними розбіжностями (середня різниця 0,39 мл/мл між вихідним скануванням і скануванням  $3H$ ) відносно високих значень  $V_T$ , спостережуваних в ділянках смугастого тіла ( $V_T \sim 10$  мл/мл в ділянках-мішенях), оцінки у даному розділі виправдовували застосування PRGA для розрахунку окупації [ $^{11}C$ ]LuPET із застосуванням  $C_b$  як референтної ділянки.

Фігура 3 - гістограми (з "вусами" SEM) об'єму розподілення ( $V_T$ ) у мозочку. Мінливість результатів при повторному тестуванні: PRGA показав низькі значення TRV у  $V_T$  (діапазон: 12,7 % - 15,6 %), які досягали потрібного рівня 10 % у різних ділянках, тоді як TTCM-C (діапазон: 13,3 % - 45,8 %) показав більш високі значення TRV. Щодо  $BP_{ND}$ , то значення TRV ділянок-мішеней (тобто Pu та CN) були близькими до 20 % за PRGA та трохи більшими за TTCM-C (фігура 4, секція A). Методи референтних тканин показали неприйнятні значення TRV у різних кортикальних та субкортикальних ділянках (секція B). Однак RTGA показав значення TRV в ділянках-мішенях, які були дуже близькі до рівня 10 %.

Фігура 4 - гістограми (з "вусами" SEM) мінливості результатів при повторному тестуванні (TRV). Результати з розділу оцінки методів, включаючи оцінку мінливості результатів при повторному тестуванні, показали, що PRGA являє собою найбільш придатний метод для отримання  $V_T$ ,  $BP_{ND}$  та окупації [ $^{11}C$ ]LuPET серед загальновизнаних методів аналізу даних PET. Таким чином, далі у даному описі винаходу представлені головним чином результати, отримані за допомогою PRGA. За необхідності також представлені результати RTGA, оскільки у розділі методів також вказано, що RTGA може бути корисним, якщо введення артеріального катетеру та відбір артеріальної крові можуть бути причиною виникнення похибки, хоча метод може давати заниженні значення  $BP_{ND}$  у ділянках з високим  $BP_{ND}$ . Регіональні значення  $V_T$ , встановлені за допомогою PRGA, та  $BP_{ND}$ , встановлені за допомогою PRGA та RTGA, представлені на фігурі 5 для демонстрації регіональних розподілів  $V_T$  і  $BP_{ND}$  у здорових суб'єктів-чоловіків у досліджуваних вікових діапазонах.

Фігура 5 - гістограми (з "вусами" SEM) об'єму розподілення  $V_T$  у вибраних ділянках головного мозку. Заміщення зв'язування [ $^{11}C$ ]LuPET оланзапіном: одна доза оланзапіну, що становить 10 мг, заміщувала зв'язування [ $^{11}C$ ]LuPET у ділянках приблизно на 80 % (фігура 6), хоча спостерігалися деякі регіональні розбіжності. Результати відповідали очікуваному заміщенню, яке обговорювали у розділі "Взаємозв'язок між окупацією та окупацією-РК" у розділі методів. Слід звернути увагу, що майже подібні результати отримували залежно від того, чи застосовувалося сканування первинного або повторного тестування як вихідне сканування для розрахунку заміщення.

Фігура 6 - гістограма заміщення (%) [ $^{11}C$ ]LuPET однією разовою дозою оланзапіну, що становить 10 мг, у вибраних ділянках головного мозку. Взаємозв'язки між окупацією рецепторів 5-HT<sub>6</sub> сполукою I та окупацією-РК: спостережувані значення окупації для схем дозування показані на фігурі 7. Графіки окупації-РК для сканувань  $3H$  показані на фігурі 8 разом з найкращою відповідністю графіків за рівнянням 3 (тобто прогностична модель). AIC підтвердив двопараметричну відповідність (тобто оцінку  $O_{max}$  та  $EC_{50}$ ) замість однопараметричної відповідності (фіксація  $O_{max}$  при 100 %) у трьох ділянках. Оцінки  $O_{max}$ ,  $EC_{50}$  та РК, які за прогнозом викликають 80 % окупації (80 % RO), наведені в таблиці 2.

Фігура 7 - гістограми (середнє значення з "вусами" SE) окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> сполукою I за схеми дозування для моментів часу через 3 години та другого сканування після введення дози. Графіки розсіювання для окупації ( $=y$ ) у залежності від концентрації сполуки I у плазмі (середнє від 30 до 90 хвилин після ін'єкції мітки) для сканувань  $3H$  (фігура 8) будували за допомогою рівняння 3, припускаючи 100 %  $O_{max}$  (модель 1; один параметр для оцінки,  $EC_{50}$ ) та при оцінюванні як  $O_{max}$ , так і  $EC_{50}$  (модель 2). Модель 2 мала перевагу над моделлю 1 в Pu, CN та vS за інформаційним критерієм Акаїке (AIC; чим меншим є значення AIC, тим кращою є відповідність) (Akaike 1974) та F-тестом, що порівнює залишкові суми квадратів (RSS) двох моделей (таблиця 1).

Фігура 8 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки I в плазмі) для путамену, хвостатого ядра та вентрального стріатуму в момент часу через 3 години після введення дози.

Фігура 9 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки I в плазмі) для путамену, хвостатого ядра та вентрального стріатуму в моменти часу другого сканування після введення дози. Графіки з об'єднаними даними для усіх моментів часу були краще описані за допомогою моделі 2, ніж за допомогою моделі 1, для Pu та CN, з чого можна припустити, що  $O_{max}$  можна було



виявляти виключно в цих структурах. Для самих по собі даних для моменту часу 3Н (червоні пунктирні криві) та даних для усіх моментів часу (чорні пунктирні криві) криві прогностичних моделей були суттєво ідентичними для Pu і CN. Екстраполяції кривих прогностичних моделей даних P2 самих по собі (зелені пунктирні криві) також відповідали прогностичним кривим об'єднаних даних.

Відповідно, оцінки  $O_{\max}$  і  $EC_{50}$  були узгоджені у наборів даних 3Н, P2 та об'єднаних даних. Ці результати не були переконливими для vS, що, ймовірно, відображує нестабільні оцінки окупації в даній ділянці.

Графічний аналіз із референтною тканиною (RTGA), для якого не потрібні ТАС плазми, надав аналогічні оцінки  $EC_{50}$  для Pu, CN та vS, але трохи занижені оцінки  $O_{\max}$ , ніж PRGA, також наводяться значення РК, які, як прогнозовано, створюють окупацію у 80 %, припускаючи, що цей рівень окупації міг викликати оптимальний клінічний ефект. Згідно з PRGA, значення РК становили приблизно 120 нг/мл для CN і vS та приблизно 50 нг/мл для Pu. Згідно з RTGA, значення РК становило приблизно 100 нг/мл для CN, але не було отримано для Pu і vS через той факт, що оцінки  $O_{\max}$  в даних структурах були нижчими за 80 %.

Фігура 10 - графіки окупація-РК (концентрація сполуки І в плазмі) для путамену (Pu), хвостатого ядра (CN) та вентрального стріатуму (vS), які поєднують два моменти часу після введення дози. Криві прогностичних моделей (тобто найкращі відповідності за рівнянням 3) показані як вказано.

Фігура 11 - трансаксіальні зображення потенціалу зв'язування на рівні, що показує путамен (Pu) і хвостате ядро (CN), для вихідного сканування та через 51 годину після введення дози: трансаксіальні зображення потенціалу зв'язування  $BP_{ND}$  на рівні, що показує путамен (Pu) і хвостате ядро (CN), для вихідного сканування (В) та сканування через 51 годину після введення дози (n=4; 30 мг, лише одна разова доза; С). Зображення  $BP_{ND}$  [ $^{11}C$ ]MDL100,809 у здорових молодих суб'єктів (n=8) показані для порівняння на панелі D. Індивідуальні зображення  $BP_{ND}$  були нормалізовані у просторі та усереднені за учасниками.

Таблиця 1

Статистична оцінка двох моделей рівняння окупація-РК (рівняння 3)

	Путамен (Pu)		Хвостате ядро (CN)		Вентральний стріатум (vS)	
	AIC Модель 1 у порівнянні з моделлю 2	F-тест	AIC Модель 1 у порівнянні з моделлю 2	F-тест	AIC Модель 1 у порівнянні з моделлю 2	F-тест
3Н	86,56 >> 64,69	48,25**	75,26 >> 66,26	13,84**	86,78 ~ 75,45	18,19**
P2	82,20 > 79,66	4,06	83,87 ~ 85,44	0,38	100,36 ~ 102,13	0,36
3Н+P2	166,82 >> 146,20	31,17**	160,09 > 156,55	5,67*	193,33 ~ 191,56	3,74

AIC: >> впевнено підтверджує модель 2; > підтверджує модель 2; ~ явно не розрізняються. Ступені свободи для F-тесту становили (1,14), (1,13) та (1,29) для 3Н, P2 та 3Н+P2, відповідно. Зірочки вказують рівні значущості: \* для  $p < 0,05$ ; \*\* для  $p < 0,001$ .

Однакові графіки для сканувань P2 показані на фігурі 9. Обидва тести, AIC та F-тест, не підтверджують перевагу моделі 2 над моделлю 1, можливо тому, що не спостерігалось достатньої кількості "близьких до насичення" даних вимірювання для точної оцінки  $O_{\max}$  в цих пізніших моментах часу.

Таблиця 2

Оцінки  $O_{max}$ ,  $EC_{50}$  та PK, які за прогнозом викликають 80 % окупацію

	Путамен (Pu)			Хвостате ядро (CN)			Вентральний стріатум (vS)		
	$O_{max}$ (%)	$EC_{50}$ (нг/мл)	80 % RO (нг/мл)	$O_{max}$ (%)	$EC_{50}$ (нг/мл)	80 % RO (нг/мл)	$O_{max}$ (%)	$EC_{50}$ (нг/мл)	80 % RO (нг/мл)
	PRGA								
3H	82,8	4,9	137,8	90,3	6,4	50,1	85,5	4,6	66,5
P2	83,8	5,5	116,7	93,9	8,4	48,0	89,7	16,2	133,5
3H+P2	83,2	5,2	131,7	91,3	7,2	51,1	86,0	9,0	121,0
	RTGA								
3H	77,5	5,4	-	85,2	6,7	102,8	78,2	4,6	-
P2	76,6	6,0	-	87,1	9,0	101,5	72,1	4,9	-
3H+P2	77,3	5,8	-	85,7	7,8	108,4	76,5	5,2	-

Негативний знак вказує на те, що окупація у 80 % може не досягатися.

Зображення  $BP_{ND}$ , отримані шляхом застосування моделі PRGA воксель за вокселем, представлені на фігурі 11: для візуального відображення змін  $BP_{ND}$  після введення сполуки I.

Обговорення

У розділі методологічної оцінки даного дослідження PRGA визнаний оптимальним методом для отримання  $V_T$ ,  $BP_{ND}$  та окупації на основі даних PET із застосуванням радіоліганду серед загальноновизнаних стандартних методів аналізу даних PET. Застосування  $C_b$  як референтної ділянки було виправданим для  $[^{11}C]LuPET$ , оскільки оцінки  $V_T$  у  $C_b$  були дещо нижчими (але з кореляцією з ними) за оцінки  $V_{ND}$ , встановлені за графіками Ласена для випадків, коли графік надавав успішний результат.

Слід відзначити, що оцінки за TRV із використанням плазми як вхідної функції (TTCM і PRGA) не могли бути такими точними, якими вони повинні були б бути, через застосування середніх значень для часових профілів HPLC для сканувань частини А дослідження через невдалість HPLC для 60 % сканувань. Однак при застосуванні даних HPLC для індивідуальних сканувань в частині В дослідження відповідність (за середніми значеннями AIC) графіків окупація-ПК теоретичним очікуванням (тобто рівнянню 3), яку спостерігали в даному дослідженні, була не гіршою, ніж значення AIC, які спостерігали, згідно нашому досвіду, в інших дослідженнях окупації рецепторів, що, у свою чергу, підтверджує, що спостережувані значення  $O_{max}$  і  $EC_{50}$ , отримані в частині В дослідження, були точними.

Розподілення  $BP_{ND}$  у головному мозку людини, оцінені з використанням  $[^{11}C]LuPET$ , суттєво відрізнялися від розподілення  $BP_{ND}$  за оцінкою  $[^{11}C]MDL100,907$ , ліганда-антагоніста з високою афінністю до рецепторів 5-HT<sub>2A</sub> (див. фігуру 11): Pu і CN показали найвищий  $BP_{ND}$  з  $[^{11}C]LuPET$ , але були порівняно обмеженими з  $[^{11}C]MDL100,907$ , у той час як кортикальні ділянки показали високий  $BP_{ND}$  з  $[^{11}C]MDL100,907$ , але порівняно низький  $BP_{ND}$  з  $[^{11}C]LuPET$ .

Графіки окупація-ПК відповідали рівнянню Хілла першого порядку (рівнянню 3) для сканувань 3H і P2 самих по собі або для об'єднаних разом сканувань 3H і P2. Крім того, прогностичні криві цих трьох наборів даних були по суті ідентичними. Ці результати вказували на те, що взаємозв'язки окупація-ПК відповідали скануванням P2 (діапазон тривалості після введення дози: 10-51 година; діапазон PK: 0,54-204 нг/мл) і скануванням 3H, в яких значення PK знаходилися в діапазоні PK сканувань P2 у 12 з 15 суб'єктів. Таким чином, очевидно, що сполука I пов'язана з відносно швидким відокремленням від рецепторів та виведенням з головного мозку (тобто немає доказів тривалого зв'язування).

На основі результатів для Pu та CN, які продемонстрували переконливі статистичні дані, це дослідження давало підстави прогнозувати, що пероральне введення сполуки I буде пов'язано з  $O_{max}$ , що становить приблизно 90 %, та  $EC_{50}$ , яка становить дещо більше, ніж 6 нг/мл. Нарешті, RTGA, для якого не потрібен відбір артеріальної крові, надавав аналогічні значення  $EC_{50}$  у порівнянні з більш інвазивним PRGA. Було зроблено припущення, що невелике, але суттєве блокування у референтній ділянці ( $C_b$ ) може пояснювати заниження  $O_{max}$  при RTGA у порівнянні з PRGA. Таким чином, RTGA можна застосовувати для досліджень окупації рецепторів лікарськими засобами при дослідженні групи пацієнтів, для яких відбір артеріальної крові не є бажаним. Нарешті, слід згадати, що результатам для vS була властива невизначеність (тобто значення AIC вказували на меншу відповідність рівнянню 3), ймовірно, через менші об'єми (~0,8 мл для кожної сторони), ніж Pu та CN (>3 мл).

Окупація рецепторів 5-HT<sub>6</sub> після введення сполуки I в дозі 60 мг BID, 30 мг BID та 30 мг QD

була високою, тобто  $>90\%$ ,  $>85\%$  та  $\sim 80\%$ , відповідно, при  $C_{\max}$ , та лише незначно знижувалася через 24 години після введення дози.

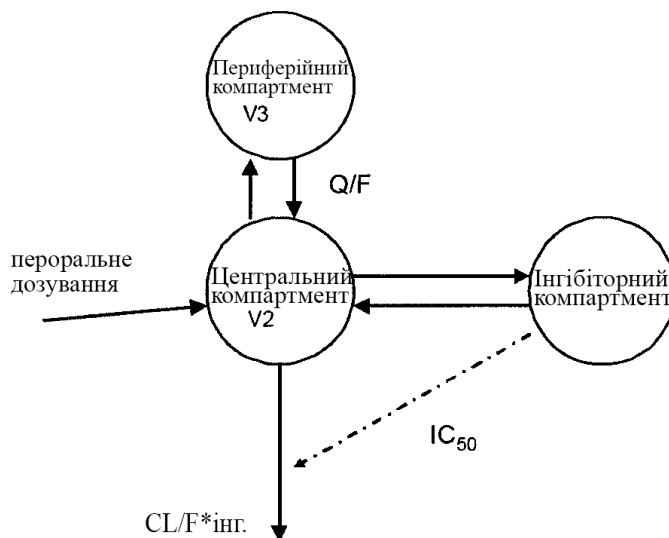
Нарешті, у даному дослідженні  $O_{\max}$  за оцінками становила приблизно  $90\%$ , а  $EC_{50}$  приблизно  $6,5$  нг/мл при пероральному введенні дози сполуки I. Ці оцінки роблять внесок в оцінювання окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub>, при якій проявляється оптимальна клінічна ефективність, коли оптимальні терапевтичні дози та пов'язані з ними концентрації сполуки I в плазмі стають доступними при застосуванні у клінічній практиці.

Приклад 3. Популяційне моделювання фармакокінетики та імітаційна ФК/ФД модель окупації 5-HT<sub>6</sub>

Метою експерименту з моделювання та імітації була оцінка окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> після багаторазових введень сполуки I у вигляді доз, що вводяться один раз на добу, у діапазоні  $5,0$ - $60$  мг в групі хворих на хворобу Альцгеймера відповідно до віку із застосуванням даних, отриманих в дослідженні за допомогою PET у прикладі 2.

Популяційна фармакокінетична модель (popPK)

Застосовували модель автоінгібування, яка базується на публікації Plock et al (Plock N. et al. Drug Metab Disp 2007, 35:1816–1823). Структура застосованої моделі popPK наведена нижче.



Дані з дослідження фази I у осіб похилого віку та дані з дослідження AD (дослідження 12936A) показали, що кліренс сполуки I знижений у осіб похилого віку, та внаслідок цього у випадку однієї дози у похилих суб'єктів спостерігаються більш високі концентрації у плазмі порівняно з більш молодими суб'єктами. Даний ефект віку був включений в модель PopPK. Загалом масив даних в моделі popPK включав 265 пацієнтів. Дози, що вводяться, одноразові або багаторазові, знаходилися в діапазоні  $9,0$ - $300$  мг.

ФК/ФД модель окупації 5-HT<sub>6</sub>

16 здорових суб'єктів включали в оцінку окупації 5-HT<sub>6</sub> після багаторазових введень сполуки I. Суб'єктам, по чотири людини у кожній групі дозування, вводили сполуку I протягом щонайменше трьох днів з дозами  $120$  (по  $60$  BID),  $60$  (по  $30$  BID),  $30$  мг/добу (QD) або  $5$  мг (QD). Загалом кожного суб'єкта сканували три рази за допомогою PET, перше вихідне сканування, друге приблизно у час  $t_{\max}$  в останній день введення дози і останнє у проміжок  $10$ - $51$  година після введення дози в останній день введення дози.

Окупація рецепторів 5-HT<sub>6</sub> в залежності від концентрації сполуки I в плазмі для хвостатого ядра показана на фігурі 12. Відношення ФК/ФД моделювали за допомогою моделі  $E_{\max}$  за формулою  $Oss = E_{\max} \cdot C_p / (EC_{50} + C_p)$ , де  $E_{\max}$  означає максимальну окупацію,  $EC_{50}$  означає концентрацію сполуки I у плазмі, яка приводить до половини  $E_{\max}$ , та  $C_p$  означає концентрацію сполуки I у плазмі. В клінічному дослідженні за допомогою PET окупація при проведенні другого сканування після вихідного сканування (виконується через  $10$ - $51$  годину після останнього введення сполуки I), очевидно, не відхилялася від кривої залежності окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> від підігнаних концентрацій у плазмі більшою мірою, ніж окупація при проведенні першого сканування після вихідного сканування (виконується приблизно в момент  $C_{\max}$ ). Це вказує на те, що між фармакркінетикою і фармакодинамікою не існує жодного вираженого гістерезису або часу відставання, які можуть спостерігатися у випадку, якщо, наприклад, швидкість дисоціації для рецептора є вищою, ніж швидкість елімінації з плазми.

Для забезпечення оцінки міжсуб'єктної варіабельності окупації виконували нелінійне

моделювання змішаних ефектів, де міжсуб'єктну варіабельність моделювали у вигляді експоненційного множника  $EC_{50}$ .  $E_{max}$  і  $EC_{50}$  для ділянки хвостатого ядра оцінювали в 91 % та 6,5 нг/мл, відповідно. Невизначеності розрахованих значень були низькими, у перерахунку на відносні стандартні похибки вони становили 1,1 % ( $E_{max}$ ) і 15 % ( $EC_{50}$ ).

#### 5 ФК/ФД модель

В дослідженні 12936A здійснювали імітацію групи пацієнтів з хворобою Альцгеймера відносно віку пацієнта (діапазон 54-90 років і середній вік 75 років). Профілі плато концентрації сполуки I у плазмі та відповідної окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub> імітували для доз 5, 10, 15, 20, 25, 30 та 60 мг/добу із розрахунку 1000 пацієнтів на дозу. Середню окупацію рецепторів 5-HT<sub>6</sub> в ділянці хвостатого ядра протягом однієї доби у стані плато оцінювали для кожного пацієнта. Медіану, 5 % і 95 % процентилі оцінювали на основі індивідуальних значень для кожної групи дозування. Отже, 90 % пацієнтів знаходяться в інтервалі між 5 % і 95 % процентилями.

Таблиця 3

Підсумкові результати впливів у стані плато в групі пацієнтів похилого віку (вік 50-90 років<sup>a</sup>), імітовані на основі моделі порРК

Стать	Доза (мг)	$C_{max}$ (нг/мл)			$C_{min}$ (нг/мл)			AUC (год·нг/мл)		
		Середнє	Медіана	SD	Середнє	Медіана	SD	Середнє	Медіана	SD
Чоло- віки	30, QD	173	136	120	100	61	116	3157	2251	2883
	60, QD	370	286	273	225	134	265	6903	4821	6575
	30, TID	529	376	510	433	273	503	11658	7928	12192
Жін- ки	30, QD	185	148	123	97	56	117	3176	2247	2947
	60, QD	393	310	280	217	124	268	6938	4812	6701
	30, TID	543	385	528	427	262	519	11753	7920	12609

<sup>a</sup>середнє значення становить 75 років, SD 7 років

#### 15 Коротке обговорення

Із застосуванням даних ФК/ФД моделі на фігурі 12 показано припущений взаємозв'язок між окупацією рецепторів 5-HT<sub>6</sub> та концентрацією сполуки I у плазмі. Вплив (див. виділений діапазон на осі X), зумовлений фіксованою дозою сполуки I в дослідженні AD, показує, що суб'єкти в дослідженні мали високі рівні окупації рецепторів 5-HT<sub>6</sub>.

20 На фігурі 13 показана імітована окупація рецепторів 5-HT<sub>6</sub> у стані плато для доз 5,0-60 мг/добу. Медіанні окупації варіювали від 56 % для 5,0 мг до 92 % для 30 мг. На основі результатів дослідження з використанням PET можна зробити висновок про те, що крива залежності окупації 5-HT<sub>6</sub> від концентрації сполуки I у плазмі представляється добре описаною.

25 Таким чином, ці дані підтверджують результати визначення добового дозування ефективної кількості, яка становить від приблизно 30 мг до приблизно 60 мг, при цьому покращується дотримання режиму дозування пацієнтом й уникають ускладнень, виявлених у попередніх клінічних дослідженнях.

#### Літературні джерела

- 30 - Abi-Dargham A, et al. (1994) SPECT measurement of benzodiazepine receptors in human brain with iodine-123-iodazepam: kinetic and equilibrium paradigms. J Nucl Med. 35:228-38.
- Akaike H. (1974) A new look at statistical model identification. IEEE Trans. Automat. Contr. AU-19:716-722.
- Burnham, K. P., and Anderson, D.R. (2004) Multimodel inference: understanding AIC and BIC in Model Selection. Sociological Methods and Research. 33: 261-304.
- 35 - Cunningham VJ, et al. (2010) Measuring drug occupancy in the absence of a reference region: the Lassen plot re-visited. J Cereb Blood Flow Metab. 30:46-50.
- East SZ, et al. (2002) 5-HT<sub>6</sub> receptor binding sites in schizophrenia and following antipsychotic drug administration: autoradiographic studies with [125I]SB-258585. Synapse 45:191-199.
- Elmenhorst D, et al. (2007) Test-retest stability of cerebral A1 adenosine receptor quantification using [18F]CPFPX and PET. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 34:1061-70.
- 40 - Frankle WG, et al. (2006) Estimation of serotonin transporter parameters with 11C-DASB in healthy humans: reproducibility and comparison of methods. J Nucl Med. 47:815-26.
- Hilton J, et al. (2000) Column-switching HPLC for the analysis of plasma in PET imaging studies. Nucl Med Biol. 2000;27:627-30.
- 45 - Hirst WD, et al. (2003) Differences in the central nervous system distribution and pharmacology

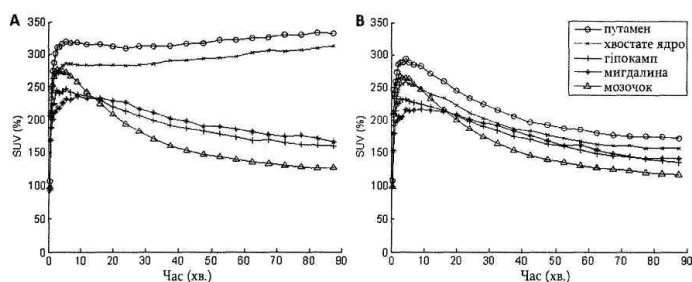
of the mouse 5-hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-directed mutagenesis, and molecular modelling. *Mol Pharmacol* 64:1295–1308.

- Hirvonen J, et al. (2001) Measurement of cortical dopamine d1 receptor binding with <sup>11</sup>C[SCH23390]: a test-retest analysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 21:1146-50.
- Hirvonen J, et al. (2009) Measurement of central mu-opioid receptor binding in vivo with PET and [<sup>11</sup>C]carfentanil: a test-retest study in healthy subjects. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 36:275-86.
- Ichise M, et al. (2002) Strategies to improve neuroreceptor parameter estimation by linear regression analysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 22:1271-81.
- Innis RB, et al. (2007) Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27:1533-9.
- Koeppe RA, et al. (1991) Compartmental analysis of [<sup>11</sup>C]flumazenil kinetics for the estimation of ligand transport rate and receptor distribution using positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab.* 11:735-44.
- Kroeze WK, et al. (2003) H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. *Neuropsychopharmacology.* 28:519-26.
- Lassen NA, et al. (1995) Benzodiazepine receptor quantification in vivo in humans using [<sup>11</sup>C]flumazenil and PET: application of the steady-state principle. *J Cereb Blood Flow Metab* 15:152–65.
- Logan J, et al. (1990) Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-<sup>11</sup>C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab.* 10:740-7.
- Logan J, et al. (1996) Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *J Cereb Blood Flow Metab.* 16:834-40.
- Lubberink M, et al. (2007) Evaluation of tracer kinetic models for quantification of P-glycoprotein function using (R)-[<sup>11</sup>C]verapamil and PET. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27:424-33.
- Marner L, et al. (2009). Kinetic modeling of [<sup>11</sup>C]SB207145 binding to 5-HT<sub>4</sub> receptors in the human brain in vivo. *J. Nucl. Med.* 50:900-908.
- Nyberg S, et al. (1997) A PET Study of 5-HT<sub>2</sub>, and D<sub>2</sub> Dopamine Receptor Occupancy Induced by Olanzapine in Healthy Subjects. *Neuropsychopharmacology* 16: 1-7.
- Pompeiano M, et al. (1994) Distribution of the serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor family mRNAs: comparison between 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Brain Res Mol Brain Res.* 23:163-78.
- Rosa-Neto P et al. (2005) Stability of alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan brain trapping in healthy male volunteers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 32:1199-204.
- Soares JC, et al. (2001) Reproducibility of in vivo brain measures of 5-HT<sub>2A</sub> receptors with PET and. *Psychiatry Res.* 106:81-93.
- Sudo Y, et al. (2001) Reproducibility of [<sup>11</sup>C]FLB 457 binding in extrastriatal regions. *Nucl Med Commun.* 22:1215-21.
- Tolboom N, et al. (2009) Test-retest variability of quantitative [(<sup>11</sup>C)]PIB studies in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 35:1629-38.
- Woolley ML, et al. (2004) 5-HT<sub>6</sub> receptors. *Current drug targets – CNS and neurological disorders.* 3:59-79.
- Yasuno F et al. (2007) PET imaging of neurokinin-1 receptors with [(<sup>18</sup>F)]SPA-RQ in human subjects: assessment of reference tissue models and their test-retest reproducibility. *Synapse.* 61:242-51.

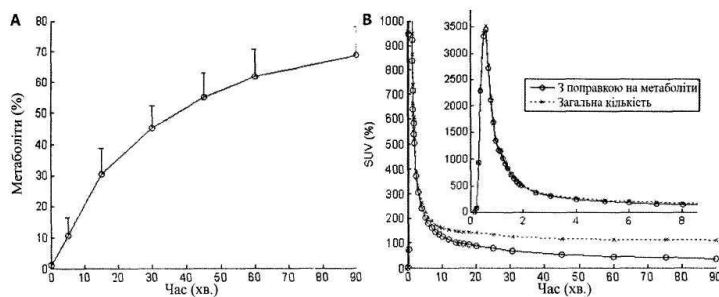
#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування хвороби Альцгеймера, при якому вводять інгібітор ацетилхолінестерази донепезил та ефективну добову дозу N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну або його фармацевтично прийнятної солі пацієнту, який потребує такого лікування, який **відрізняється** тим, що ефективну добову дозу N-(2-(6-фтор-1H-індол-3-іл)етил)-3-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)бензиламіну вводять пацієнту один раз на добу, причому вона становить 30-60 мг.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що фармацевтично прийнятною сіллю є гідрохлорид.
3. Спосіб за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що дозу вводять у вигляді складу з негайним вивільненням.
4. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що здійснюють лікування хвороби Альцгеймера зі ступенем вираженості від легкого до помірного.

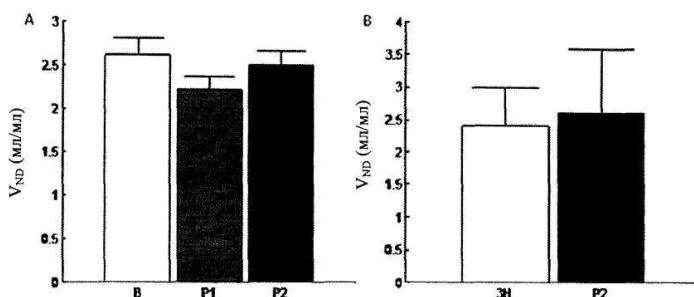
5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що ефективна добова доза становить 30 мг.
6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що ефективна добова доза становить 40 мг.
- 5 7. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що ефективна добова доза становить 50 мг або менше.
8. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що ефективна добова доза становить 60 мг.



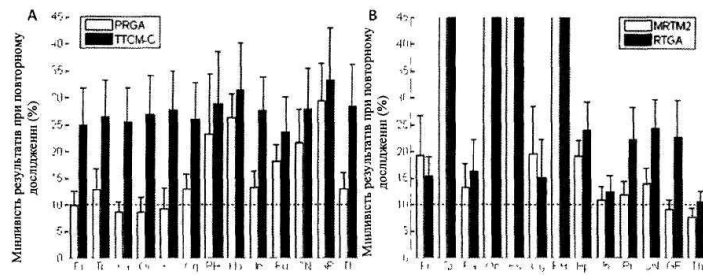
Фігура 1



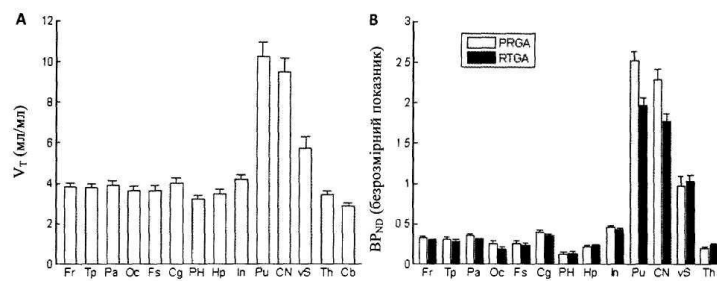
Фігура 2



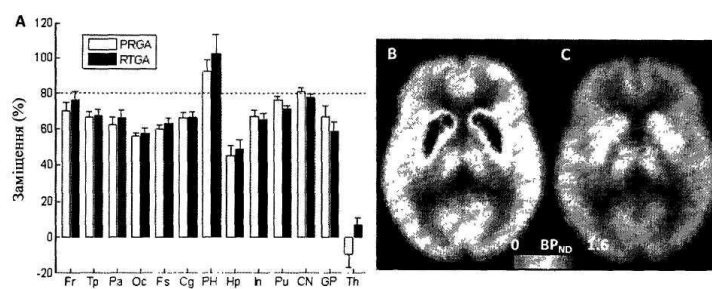
Фігура 3



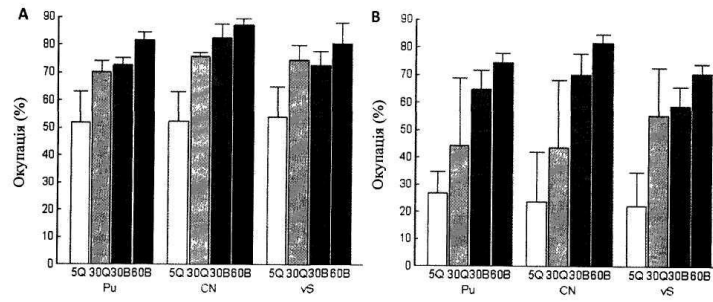
Фігура 4



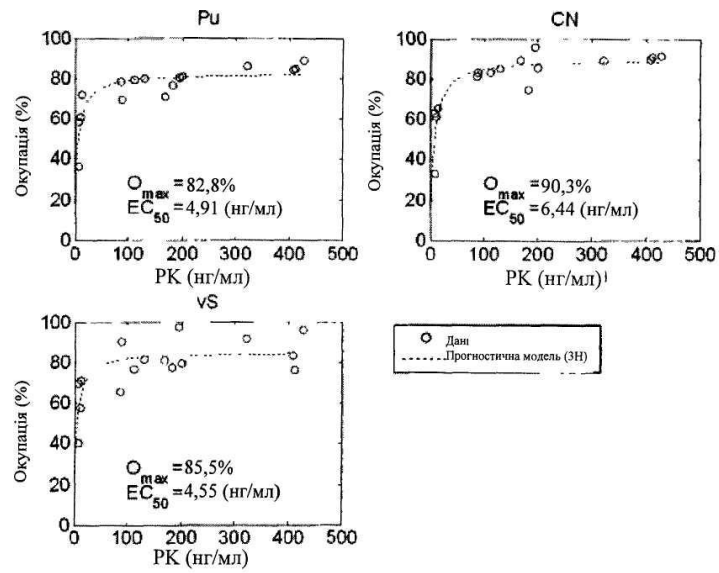
Фігура 5



Фігура 6

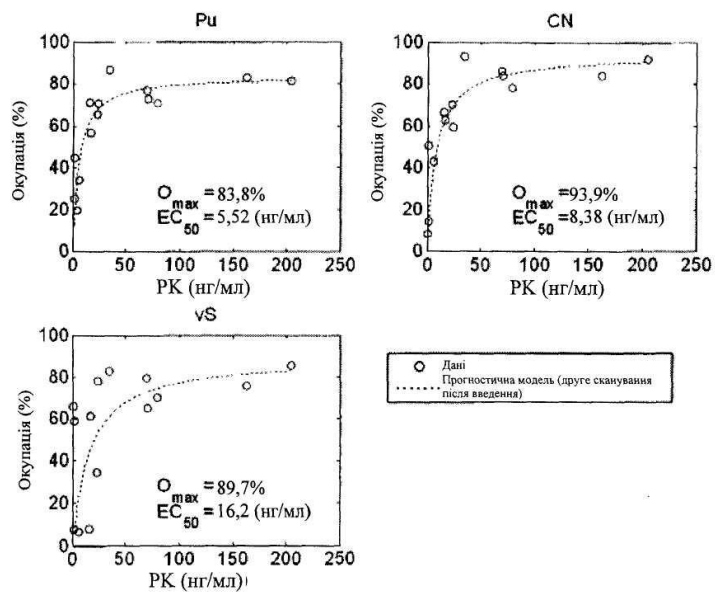


Фігура 7

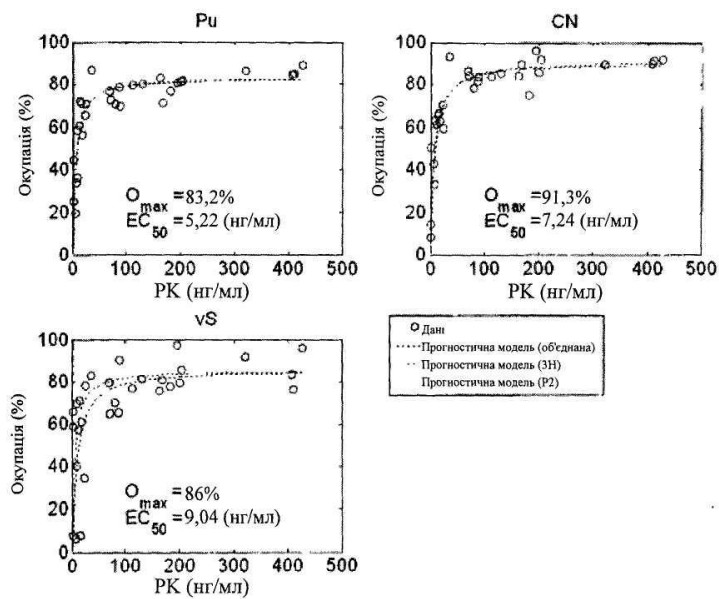


Фігура 8

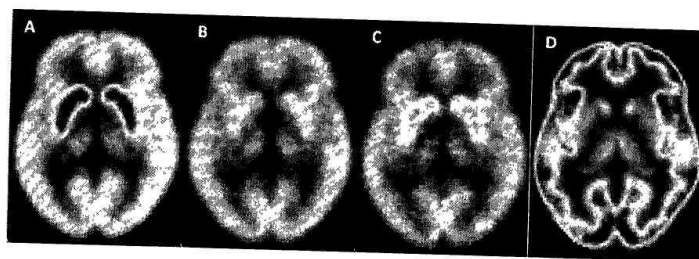




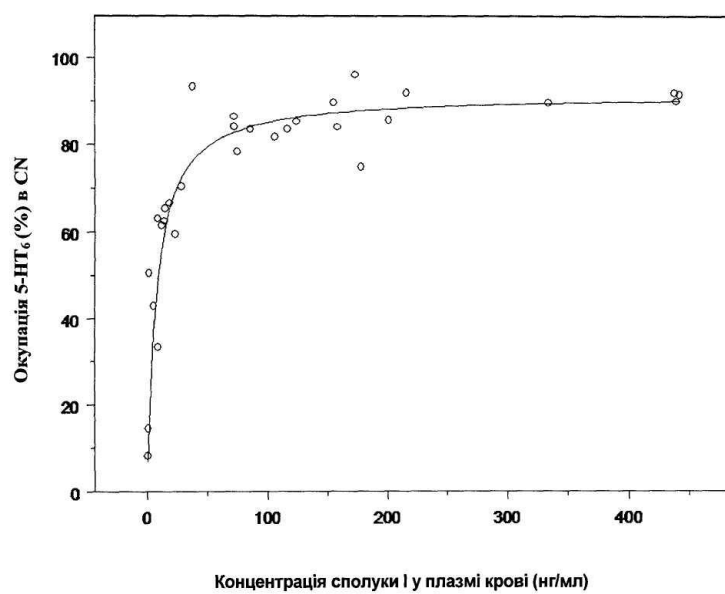
Фігура 9



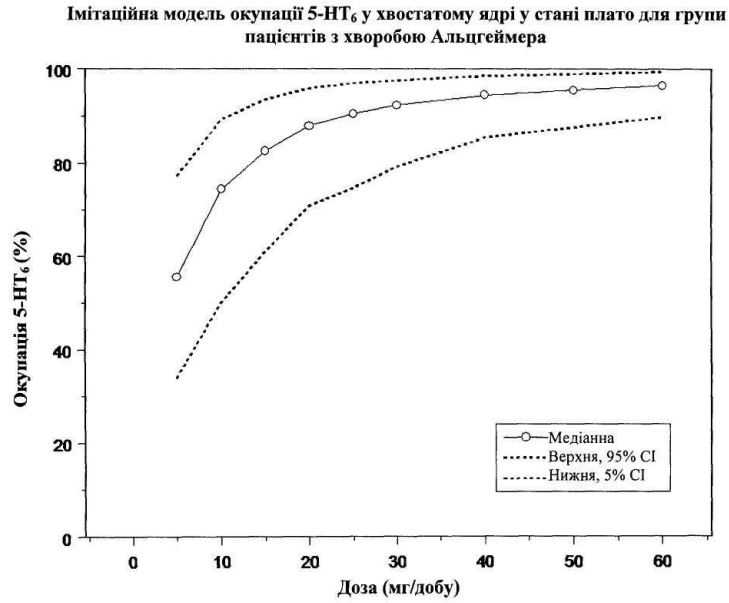
Фігура 10



Фігура 11



Фігура 12



Фігура 13

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601