



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 365 897**

51 Int. Cl.:
C07D 307/87 (2006.01)
A61K 31/343 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07736486 .7**
96 Fecha de presentación : **21.06.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2029566**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.03.2009**

54 Título: **Nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina como fármacos que tienen actividad limitada al sistema periférico.**

30 Prioridad: **22.06.2006 US 815582 P**

73 Titular/es: **Ramot at Tel Aviv University Ltd.**
P.O.B. 39296
61392 Tel Aviv, IL

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.10.2011

72 Inventor/es: **Rehavi, Moshe y**
Gurwitz, David

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.10.2011

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 365 897 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina como fármacos que tienen actividad limitada al sistema periférico

Campo y antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos terapéuticamente activos y, más en concreto, a nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina (“serotonin reuptake inhibitors”, SRI) y a su uso como agentes terapéuticos para tratar enfermedades y trastornos asociados con la agregación plaquetaria, así como otros trastornos médicos periféricos.

10 El infarto de miocardio agudo (IMA o IM), también conocido como ataque al corazón, es un trastorno que aparece cuando se interrumpe el suministro de sangre a una parte del corazón, y la isquemia (falta de oxígeno) resultante provoca daños y la muerte potencial del tejido cardíaco. En la actualidad, el IM es la principal causa de muerte en hombres y mujeres en todo el mundo, provocando 12,6% de las muertes a nivel mundial (una tasa de mortalidad mayor que el cáncer). Según los informes de la Organización Mundial de la Salud, las tasas de muertes relacionadas con el IM son mucho mayores en países con mayores esperanzas de vida, y continúan aumentando a medida que se hacen disponibles mejores tratamientos contra cánceres comunes, tales como cánceres de colon y de mama. Algunos de los principales factores de riesgo son una historia previa de enfermedad vascular, tal como enfermedad cardíaca coronaria aterosclerótica y/o angina, un ataque al corazón o un ictus previos, cualquier episodio previo de ritmo cardíaco anómalo o síncope, la edad (hombres mayores de 40 años y mujeres mayores de 50 años), tabaquismo, consumo excesivo de alcohol, abuso de ciertos fármacos ilícitos, niveles altos de triglicéridos, niveles altos de LDL y niveles bajos de HDL, diabetes, presión sanguínea alta, obesidad, y niveles crónicamente altos de estrés mental.

15 El riesgo de un infarto de miocardio nuevo o recurrente disminuye con un control estricto de la presión sanguínea y con cambios en el estilo de vida, principalmente dejar de fumar, hacer ejercicio con regularidad, una dieta sensata para pacientes con enfermedad cardíaca, y la limitación de la ingesta de alcohol. A los pacientes que han experimentado un acontecimiento coronario generalmente se les prescriben varias medicaciones crónicas con el objetivo de prevenir acontecimientos cardiovasculares secundarios, tales como otros infartos de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva o accidentes cerebrovasculares (CVA). Estas medicaciones incluyen fármacos antiplaquetas, tales como aspirina y/o clopidogrel (Plavix), que reducen el riesgo de la ruptura de placas y del infarto miocárdico recurrente.

20 La enfermedad cardíaca isquémica o enfermedad de las arterias coronarias (CAD), el ictus, o la embolia pulmonar son enfermedades que comparten el fenómeno de la formación espontánea de pequeños trombos sanguíneos, no relacionados con lesiones de los vasos sanguíneos e iniciados por la agregación de plaquetas sanguíneas en el interior de vasos sanguíneos intactos. Estos pequeños agregados de plaquetas son transportados por la corriente sanguínea hasta que alcanzan capilares pequeños, en los que pueden provocar una isquemia local bloqueando los capilares pequeños en el tejido del corazón, de los pulmones o del cerebro. Estos minúsculos trombos también están implicados en el bloqueo de vasos sanguíneos en las piernas, una complicación habitual de la diabetes. Por tanto, los fármacos que pueden tratar la isquemia pueden utilizarse de modo beneficioso para tratar trastornos médicos que incluyen la enfermedad cardíaca isquémica (IHD), el infarto de miocardio (IM), el ictus cerebral, la embolia pulmonar, y las anomalías vasculares asociadas a la diabetes de tipo 2.

25 La aspirina, introducida a finales del siglo XIX por Bayer (Alemania), es el primer fármaco sintético que se comercializó como fármaco contra el dolor y antiinflamatorio. En la segunda mitad del siglo XX se demostró que la aspirina actúa inhibiendo la actividad de las enzimas ciclooxigenasas, una etapa clave para la síntesis de prostaglandinas, mediadores endógenos del dolor y de la inflamación. Se comprendió que, puesto que las prostaglandinas desempeñan un papel clave en el aumento de la agregación plaquetaria asociado con la inflamación, la aspirina podía actuar como un potente agente antiplaquetas cuando se administra de forma crónica y, por tanto, puede proteger frente a enfermedades tales como CAD, IM, ictus y embolia pulmonar. Por tanto, la aspirina se ha convertido en el fármaco que más ampliamente se receta en todo el mundo, y se administra como tratamiento preventivo para CAD [1, 2]. La aspirina también se receta como tratamiento preventivo contra las complicaciones cardiovasculares en la diabetes de tipo 2 [3].

30 Sin embargo, el bloqueo de la producción de prostaglandinas por la aspirina no protege totalmente a los individuos del aumento en la agregación plaquetaria, principalmente porque se ha descubierto que otros moduladores endógenos (tales como, por ejemplo, trombina y adenosina) están implicados en la agregación plaquetaria durante la inflamación. Además, la aspirina está contraindicada en individuos con úlcera, gastritis, colitis ulcerosa, debido a su tendencia a aumentar el sangrado gastrointestinal. Por tanto, existe una validez clínica para desarrollar otros fármacos antiplaquetas, como terapia añadida para individuos que reciben aspirina de modo crónico, o como

sustitución de la aspirina en individuos en los que la aspirina está contraindicada.

El clopidogrel produce una inhibición irreversible del receptor de la adenosina difosfato (ADP) (P2Y₁₂) sobre las membranas celulares de las plaquetas, que es un participante clave en el proceso de la agregación plaquetaria. La obturación de este receptor inhibe la agregación plaquetaria bloqueando la activación de la vía de la glicoproteína IIb/IIIa. El clopidogrel está indicado para la prevención profiláctica de acontecimientos isquémicos vasculares en pacientes con aterosclerosis sintomática, en casos de síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (la parte de un electrocardiograma que sigue inmediatamente al complejo QRS y que se funde con la onda T) (NSTEMI) junto con la aspirina, y para la prevención de la tromboembolia después de la colocación de un implante de estenosis intracoronario, también junto con la aspirina. El uso de clopidogrel frente a la aspirina se recomienda en pacientes con una historia de úlceras gástricas que requieren terapia antiplaquetas. Sin embargo, un estudio reciente ha demostrado que los pacientes con úlceras inducidas por aspirina curadas que reciben aspirina más el inhibidor de la bomba de protones esomeprazol, tienen una menor incidencia de sangrado de úlceras recurrente que los pacientes que reciben clopidogrel. Además, se ha descubierto que las dosis antitrombóticas de clopidogrel tienen efectos limitados sobre el sangrado y las mediciones convencionales de la agregación plaquetaria [4]. Además, el clopidogrel está asociado con otros efectos adversos graves que incluyen neutropenia grave, púrpura trombocitopénica trombótica, hemorragia que se agrava por la coadministración de aspirina, hemorragia gastrointestinal, hemorragia cerebral y disfunción eréctil.

La serotonina (5-HT) es un importante neurotransmisor de monoamina del sistema nervioso central (SNC), que se sintetiza en neuronas serotoninérgicas en el SNC (aproximadamente 10%) y en células enterocromafines (EC; células de Kulchitsky) en el tracto gastrointestinal de animales (aproximadamente 90%). La serotonina también se encuentra en muchos hongos y plantas. La serotonina se almacena fuera del cerebro fundamentalmente en plaquetas de la corriente sanguínea. La serotonina se aisló por primera vez y fue nombrada en 1948 por Rapport, Green y Page, que la identificaron inicialmente como una sustancia vasoconstrictora en el suero sanguíneo y de ahí el nombre serotonina, un agente sérico que afecta al tono muscular. Rapport y sus colegas también identificaron químicamente a la serotonina como 5-hidroxitriptamina (5-HT) y desde entonces se ha estudiado y se ha descubierto que desempeña una amplia gama de papeles fisiológicos.

La mayoría de la 5-HT es sintetizada por la triptófano hidroxilasa-1 (TPH1), que se expresa casi exclusivamente en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal. La 5-HT se segrega hacia la sangre y es captada por el transportador de 5-HT (5-HTT) principalmente hacia el interior de las plaquetas, en donde se encuentra el depósito más abundante de 5-HT en la periferia. En la sangre, la 5-HT se almacena casi exclusivamente en los gránulos densos de las plaquetas y está casi ausente del plasma. De manera notable, los linfocitos sanguíneos (tanto linfocitos B como linfocitos T) también expresan 5-HTT funcional y pueden acumular 5-HT. Sin embargo, la capacidad de los linfocitos para almacenar y liberar 5-HT no se ha probado hasta la fecha; el depósito en los linfocitos parece ser más pequeño comparado con la mayor capacidad de las plaquetas para almacenar 5-HT.

Como sustancia activa en el SNC, la serotonina desempeña un papel importante en la regulación de la agresión, el estado de ánimo, la temperatura corporal, el sueño, los vómitos, el impulso sexual y el apetito. Unos niveles bajos de serotonina o una baja biodisponibilidad están asociados a varios trastornos, tales como una mayor agresividad y comportamientos de ira, depresión clínica, trastorno obsesivo-compulsivo (OCD), migraña, síndrome del intestino irritable (IBS), tinnitus, fibromialgia (FM o FMS), trastorno bipolar, trastornos de ansiedad y experiencias religiosas intensas. Además, se han asociado las neuronas serotoninérgicas anómalas con el riesgo del síndrome de muerte súbita del lactante (SMSL). Cuando se ingiere por vía oral, la 5-HT no pasa hacia las vías serotoninérgicas del SNC porque no puede atravesar la barrera hematoencefálica (BHE).

Además de sus actividades en el SNC, la 5-HT está implicada en varias actividades periféricas; éstas incluyen efectos moduladores cardiovasculares (vasoconstrictores y vasodilatadores), potente actividad protrombótica, acción mitógena endotelial, así como efectos moduladores inmunológicos.

Un procedimiento para modular los niveles de 5-HT periféricos es el uso crónico de fármacos inhibidores de la recaptación selectiva de serotonina (SSRI), tales como alaproclato, dapoxetina, etoperidona, citalopramo, escitalopramo, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina y zimelidina. Sin embargo, debe advertirse que todos los fármacos mencionados penetran la BHE con facilidad y, por tanto, tienen actividades en el SNC además de sus actividades periféricas modulando los niveles de 5-HT. En efecto, los SSRI se utilizan habitualmente para tratar trastornos del SNC, tales como depresión clínica, trastorno obsesivo-compulsivo, y otros trastornos del estado de ánimo y, por tanto, pertenecen a la clase de fármacos antidepresivos.

Proveniente de las amplias investigaciones sobre la serotonina, se sucede que el bloqueo de la actividad transportadora de 5-HT (5-HTT) en la periferia por los fármacos SSRI conduce a una disminución en la capacidad de almacenamiento de 5-HT de las plaquetas y, por tanto, esto conduce a una menor disponibilidad biológica del 5-

HT de plaquetas. Esto, a su vez, conduce a una menor agregación plaquetaria durante la inflamación.

Varios estudios, que incluyen el uso de ratones transgénicos deficientes en la síntesis de 5-HT periférica, sugieren que la reducción de los niveles de 5-HT periférica puede ser beneficiosa para los pacientes con enfermedad de la arteria coronaria (CAD). En otras palabras, la reducción de la capacidad de almacenamiento de 5-HT de las plaquetas se refleja en consecuencias antitrombóticas. En efecto, estudios epidemiológicos han indicado que pacientes que se están tratando de forma crónica con fármacos SSRI tienen menos probabilidad de sufrir IM y CAD [5-8].

Entre las líneas de evidencia que apuntan hacia los potenciales efectos beneficiosos de una menor 5-HT periférica se encuentra la observación de que ratones transgénicos deficientes en TPH1 (tph1 +/-) y, por tanto, en la síntesis de 5-HT, muestran un menor riesgo trombótico [9].

Existen varios estudios clínicos que demuestran que pacientes que toman fármacos SSRI de forma crónica tienen menos probabilidad de desarrollar trastornos relacionados con trombosis, de forma más notable IM, ictus y CAD [7, 8, 10]. Un estudio aleatorizado comparaba la sertralina (comercializada con el nombre Zoloft, así como con muchos otros nombres comerciales) frente a un placebo en pacientes con síndromes coronarios postagudos deprimidos (ACS), administrados junto a los agentes antiplaquetas convencionales aspirina y clopidogrel [10]. En este estudio se controlaron los marcadores plasmáticos de la activación plaquetaria, y los resultados demuestran que el tratamiento con sertralina está asociado con una liberación sustancialmente atenuada de los biomarcadores de plaquetas/endoteliales, comparado con el tratamiento con placebo.

Además, un estudio multicéntrico que incluyó 68 hospitales que se centró en los efectos del tratamiento con SSRI sobre el infarto de miocardio (IM) aparecido por primera vez indica un efecto protector: el cociente de probabilidades de IM entre usuarios de SSRI actuales comparado con no usuarios era de 0,35 [7].

El mayor estudio hasta la fecha compara 1080 casos de infarto de miocardio (IM) y 4256 controles durante un periodo de 3 años [8]. A diferencia de los estudios anteriores, este estudio incluye pacientes que reciben diversos SSRI (paroxetina, fluoxetina o sertralina), así como antidepresivos no SSRI y antidepresivos tricíclicos. El estudio indica que, de forma global, el uso de SSRI se asocia con una gran reducción en el riesgo de IM (cociente de probabilidades de 0,59, que significa una reducción del 41% del riesgo de IM durante el periodo de seguimiento de 3 años); estas reducciones no se observaron con los antidepresivos no SSRI. De manera notable, se indicó que los dos agentes antiplaquetas en el uso clínico actual, la aspirina y el clopidogrel, reducen el riesgo de IM en sólo 20% y 10%, respectivamente [1].

Debe advertirse que los presuntos efectos beneficiosos de los SSRI para reducir el IM, la CAD y el riesgo isquémico no están limitados necesariamente a su capacidad directa para reducir la trombosis. Otro mecanismo de acción atractivo para los beneficios clínicos observados en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (CHF) puede reflejar una reducción en la mitogénesis endotelial tras la adhesión endotelial de plaquetas y, por tanto, una reducción en la reestenosis en las arterias coronarias [11]. La reestenosis coronaria aparece como resultado de una mitogénesis endotelial coronaria exagerada, que pueden implicar una mayor activación de las células endoteliales por plaquetas adherentes y la liberación de serotonina por éstas. También se ha establecido que la serotonina es mitogénica para células endoteliales.

A lo largo de los años se han descubierto más indicaciones clínicas potenciales para unos probables efectos beneficiosos de SSRI u otros compuestos moduladores de serotonina para indicaciones no psiquiátricas. Estas incluyen trastornos crónicos en los que se ha indicado una mayor actividad de plaquetas que se ha implicado en el avance de la enfermedad. Estas enfermedades y trastornos incluyen hipertensión pulmonar, en la que se advirtió una reducción del 50% del riesgo de muerte en usuarios de SSRI [12]; reestenosis tras realizar un implante de estenosis coronario optativo de arterias coronarias nativas, que se ha demostrado que se reduce mediante el bloqueo de la acción de 5-HT periférica [13]; artritis reumatoide [14]; diabetes, en la que se ha demostrado que el fármaco SSRI fluvoxamina mejora la captación de glucosa hepática en un perro [15]; trastornos autoinmunitarios (por ejemplo, esclerosis múltiple, psoriasis), en los que se demostró que ratones que carecen de 5-HTT (una situación que imita el bloqueo crónico de 5-HTT con un fármaco SSRI) son menos sensible a la inducción de encefalomielite autoinmunitaria experimental (EAE), un modelo animal bien definido de enfermedad autoinmunitaria del sistema nervioso central que imita características de las enfermedades humanas esclerosis múltiple [16], insuficiencia renal [17] y enfermedad del intestino inflamatoria (IBD) [18].

En publicaciones recientes, también se ha sugerido una aplicación terapéutica potencial de inhibidores de 5-HTT en la hipertensión arterial pulmonar humana, en la que se demostró que ratones transgénicos que sobreexpresan 5-HTT en músculo liso desarrollan hipertensión pulmonar, lo cual indica que el bloqueo de 5-HTT con SSRI puede resultar protector frente a este trastorno [19].

Sin embargo, en la actualidad el tratamiento crónico con fármacos SSRI se reserva en el entorno clínico para trastornos afectivos (también conocidos como trastornos del estado de ánimo), de manera más notable la depresión y los trastornos compulsivos, y su uso está injustificado como tratamiento crónico para personas en riesgo de CAD, IM, ictus u otras enfermedades isquémicas, que forman un gran segmento de población mayor de 50 años. Esto es debido principalmente a los graves efectos secundarios adversos relacionados con el SNC del tratamiento crónico con SSRI, tales como náuseas, sopor o somnolencia, dolor de cabeza, rechinamiento de dientes, sueños extremadamente vívidos y extraños, mareos, cambios en el apetito, pérdida/ganancia de peso, cambios en el comportamiento sexual (líbido reducida), mayor sensación de depresión y ansiedad que a veces puede provocar ataques de pánico, temblores, disfunción autónoma que incluye hipotensión ortostática, pensamientos suicidas, despersonalización (desrealización), emociones de desánimo y mayor agresividad. De esta lista de efectos adversos conocidos, los tres que se observan con más frecuencia en usuarios de SSRI son una líbido menor, unas emociones de desánimo y una mayor agresividad.

Por tanto, existe una necesidad ampliamente reconocida de nuevos compuestos que exhiban una actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina principalmente en la periferia y, así, que puedan utilizarse en el tratamiento de diversos trastornos periféricos sin entrar en el SNC ni afectar al almacenamiento cerebral ni a las acciones de la 5-HT en el cerebro.

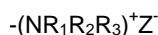
Sumario de la invención

La serotonina se almacena en las plaquetas sanguíneas y se sabe que participa en muchos procesos que se producen en el sistema periférico y, por tanto, la regulación de sus niveles y/o de su actividad es una etapa clave para la terapia. Por tanto, la presente invención se refiere a nuevos compuestos para tratar enfermedades y trastornos asociados con la serotonina periférica y, más en concreto, a nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina y su uso como agentes terapéuticos que tienen actividad limitada al sistema periférico.

Por tanto, según un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI) que está modificado para incluir al menos un grupo con carga positiva, que se selecciona para que el compuesto SRI modificado mantenga su carga a pH fisiológico y, al mismo tiempo, mantenga sustancialmente su actividad de inhibición de la recaptación de serotonina.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI) se deriva de un inhibidor de la recaptación de serotonina selectivo (SSRI), un inhibidor de la recaptación de serotonina-norepinefrina (SNRI), o un inhibidor de la recaptación de serotonina-noradrenalina-dopamina (SNDRI) seleccionados del grupo que consiste en alaproclato, brasofensina, citalopramo, dapoxetina, desvenlafaxina, duloxetina, etoperidona, fluoxetina, fluvoxamina, milnaciprano, nefazodona, nomifensina, paroxetina, sertralina, tesofensina, venlafaxina y zimelidina.

En algunas realizaciones, el grupo con carga positiva es un grupo amonio cuaternario o un grupo sulfonio terciario; el grupo de amonio cuaternario tiene la fórmula:



en la que:

Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo;

y el grupo sulfonio terciario tiene la fórmula:



en la que:

Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, R₁, R₂ y R₃ son cada uno independientemente un alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el alquilo es metilo.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI presentado en la presente

se deriva del citalopramo.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI presentado en la presente es *N*-alquilcitalopramo.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el alquilo es metilo.

- 5 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI presentado en la presente es sustancialmente incapaz de modular un nivel y/o actividad de la serotonina en el SNC.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI presentado en la presente es sustancialmente incapaz de reducir un nivel y/o actividad de la serotonina en el SNC.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona *N*-alquilcitalopramo.

- 10 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona *N*-metilcitalopramo.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar el compuesto SRI presentado en la presente, realizándose dicho procedimiento modificando el compuesto SRI para generar dicho al menos un grupo con carga positiva.

- 15 Según otras características en las realizaciones preferidas de la invención descritas a continuación, el compuesto SRI tiene un grupo amina.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la modificación del compuesto SRI se realiza *N*-alquilando o *N*-arilando el grupo amina.

- 20 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la modificación del compuesto SRI se realiza mediante un agente alquilante seleccionado del grupo que consiste en un alquilsulfonato, un arilsulfonato, una alquilenimina, fosgeno, un tosilato de alquilo, un tosilato de arilo, un triflato de alquilo, un triflato de arilo, un haluro de alquilo, un haluro de arilo, un sulfato de dialquilo, un sulfato de diarilo, un alumoxano, un trialkilaluminio y un tris(trialquilil)aluminio.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el agente alquilante es yoduro de metilo.

- 25 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto SRI tal como se presenta en la presente, para la modulación de un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto mientras se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central en el sujeto.

- 30 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la modulación de un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto se realiza para tratar un trastorno médico en el que resulta beneficioso modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto mientras se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central en el sujeto.

- 35 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el trastorno médico se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno cardiovascular, una enfermedad o trastorno cerebrovascular, enfermedad cardíaca isquémica (IHD), infarto de miocardio (IM), ictus cerebral, embolia pulmonar, anomalías vasculares asociadas a la diabetes de tipo 2, hipertensión arterial pulmonar, enfermedad oclusiva arterial periférica, artritis reumatoide, un trastorno autoinmunitario, insuficiencia renal, enfermedad del intestino inflamatoria, síndrome coronario agudo y reestenosis tras un bypass de arteria coronaria tras un injerto.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto SRI tal como se presenta en la presente, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en el que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias.

- 40 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, un compuesto SRI tal como se presenta en la presente, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 45 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la composición farmacéutica se envasa en un material de envasado y se identifica con una impresión, en el material de envasado o sobre éste, para su uso en el tratamiento de un trastorno médico en el que resulta beneficioso modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto mientras se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina del SNC, tal como se describe en la presente.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la composición farmacéutica se envasa en un material de envasado y se identifica con una impresión, en el material de envasado o sobre éste, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o de un trastorno en el que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias, tal como se describe en la presente.

5 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI es sustancialmente incapaz de modular un nivel de serotonina en el SNC del sujeto.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI es sustancialmente incapaz de aumentar un nivel o actividad de serotonina en el SNC del sujeto.

10 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el compuesto SRI es sustancialmente incapaz de reducir un nivel o actividad de serotonina en el SNC del sujeto.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la reducción o la prevención de la agregación plaquetaria y/o de las interacciones endoteliales-plaquetarias se realiza mientras se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina del SNC, evitando con ello los efectos relacionados con el SNC.

15 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, la composición farmacéutica y los usos del SRI presentados en la presente incluyen además una cantidad terapéuticamente eficaz de otro agente terapéuticamente activo.

Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el otro agente terapéuticamente activo es un agente antiplaquetas.

20 Según otras características en las realizaciones preferidas descritas, el agente antiplaquetas se selecciona del grupo que consiste en aspirina, clopidogrel, abciximabo, argatrobano, cilostazol, danaparoid, dazoxibeno, dipiridamol, eptifibatida, ticlopidina y tirofiban.

25 La presente invención soluciona con éxito los defectos de las configuraciones conocidas en la actualidad, proporcionando nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina con actividad limitada al sistema periférico, así como composiciones y procedimientos que los utilizan, que son mucho mejores que los SRI que se emplean en la actualidad porque están sustancialmente exentos de efectos en el SNC.

30 A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que el que entienden de modo habitual los expertos en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque pueden utilizarse procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente en la práctica o el ensayo de la presente invención, los procedimientos y materiales adecuados se describen a continuación. En caso de conflicto, dominará la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

35 Tal como se emplea en la presente, el término "procedimiento" se refiere a las maneras, medios, técnicas y procedimientos para realizar una tarea dada incluyendo, pero sin limitarse a aquellas maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos, o desarrollados con facilidad a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos por aquellos que practican la ciencia química, farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

Tal como se emplea en la presente, el término "tratar" incluye abrogar, sustancialmente inhibir, frenar o revertir el avance de un trastorno, sustancialmente mejorar los síntomas clínicos o estéticos de un trastorno, o sustancialmente prevenir la aparición de los síntomas clínicos o estéticos de un trastorno.

40 Tal como se emplea en la presente, el término "prevenir" incluye impedir que un organismo adquiera un trastorno por primera vez.

El término "comprende" significa que pueden añadirse otras etapas e ingredientes que no afecten al resultado final. Este término incluye las expresiones "consiste en" y "consiste esencialmente en".

45 La expresión "consiste esencialmente en" significa que la composición o el procedimiento puede incluir otros ingredientes y/o etapas, pero solo si los otros ingredientes y/o etapas no alteran materialmente las características básicas y nuevas de la composición o del procedimiento reivindicados.

Tal como se emplea en la presente, la forma singular "un/una" y "el/la" incluye las referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo sus mezclas.

A lo largo de la descripción, diversos aspectos de esta invención pueden presentarse en un formato de intervalo.

5 Debe entenderse que la descripción en el formato de intervalo se realiza simplemente por conveniencia y brevedad, y no debe considerarse una limitación inflexible del alcance de la invención. Por consiguiente, la descripción de un intervalo debe considerarse que describe específicamente todos los posibles subintervalos, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, la descripción de un intervalo, por ejemplo de 1 a 6, debe considerarse que describe específicamente subintervalos, tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como los números individuales dentro del intervalo, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

10 Cuando en la presente se indica un intervalo numérico, significa que incluye cualquier número citado (fraccionario o integral) dentro del intervalo indicado. Las expresiones “que varía/varía entre” un primer número indicado y un segundo número indicado y “que varía/varía desde” un primer número indicado “hasta” un segundo número indicado se emplean de modo intercambiable en la presente y pretenden incluir el primer y el segundo número indicado y todos los números fraccionarios e integrales entre ellos.

Breve descripción de los dibujos

15 La invención se describe en la presente, sólo como ejemplo, haciendo referencia a los dibujos adjuntos. Haciendo una referencia específica a los dibujos en detalle, se recalca que los detalles mostrados son sólo ejemplos y se muestran solo con un objetivo de análisis ilustrativo de las realizaciones preferidas de la presente invención, y se presentan porque proporcionan lo que se cree que es la descripción más útil y fácilmente entendible de los principios y aspectos conceptuales de la invención. A este respecto, no se intentan mostrar detalles estructurales de la invención con más detalle del necesario para una comprensión fundamental de la invención; la descripción, junto con los dibujos, evidencia a los expertos en la técnica cómo pueden realizarse las diversas formas de la invención en la práctica.

En los dibujos:

25 la FIGURA 1 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la unión de [³H]citalopramo (2 nM) al transportador de serotonina (5-HTT) de membranas de plaquetas humanas por *N*-metilcitalopramo (NMC, marcado como “M-cit”) o citalopramo (marcado como “cit”) como una función de la concentración del inhibidor competitivo, y demuestra que NMC muestra una afinidad de unión al 5-HTT muy similar a la del citalopramo (valores *K_i* de 2,8 y 1,8 nM para NMC y citalopramo, respectivamente);

30 la FIGURA 2 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la captación de serotonina en plaquetas humanas intactas recién preparadas, realizada por la presencia de los compuestos ensayados, NMC (marcado como “M-cit”) o citalopramo (marcado como “cit”), expresada en porcentaje de inhibición de la captación de [³H]serotonina (50 nM) como una función de la concentración de los compuestos ensayados, y que muestra unos valores de la constante de inhibición (*K_i*) de 3,3 nM para NMC y para el citalopramo;

35 la FIGURA 3 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la unión de [³H]citalopramo (1 nM) al transportador de serotonina (5-HTT) de membranas de cerebro de ratas por *N*-metilcitalopramo (NMC, marcado como “M-cit”) o citalopramo (marcado como “cit”) como una función de la concentración del inhibidor competitivo, y que muestra unos valores de la constantes de inhibición (*K_i*) de 7,5 nM para NMC y 0,4 nm para el citalopramo;

40 la FIGURA 4 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la captación de serotonina en sinaptosomas de cerebro de rata recién preparados, realizada por la presencia de los compuestos ensayados, NMC o citalopramo, expresada en porcentaje de inhibición de la captación de [³H]serotonina (50 nM), y que muestra unos valores de la constante de inhibición (*K_i*) de 30 nM para NMC y de 4 nM para el citalopramo;

45 la FIGURA 5 presenta gráficas comparativas de la medición de la agregación plaquetaria registrada para una muestra procedente de un donante sano, que muestra el porcentaje de inhibición de la agregación de plaquetas humanas realizada por el citalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 4” y de color marrón), por el *N*-metilcitalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 3” y de color azul) y por PBS control (indicado en la gráfica como “Canal 2” y de color rojo);

50 la FIGURA 6 presenta una repetición de los experimentos presentados en la figura 5, medida a partir de una muestra procedente del mismo donante sano, que muestra el porcentaje de inhibición de la agregación de plaquetas humanas realizada por el citalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 3” y de color azul), por el *N*-metilcitalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 2” y de color rojo) y por PBS control (indicado en la gráfica como “Canal 1” y de color verde); y

la FIGURA 7 presenta gráficas comparativas de la acumulación de los acontecimientos de desintegración por minuto (DPM) de [³H] en muestras de corteza cerebral de ratones después de los tiempos indicados tras la inyección intraperitoneal de [³H]*N*-metilcitalopramo (marcado con círculos rojos) o [³H]citalopramo (marcado con rectángulos

negros) (los valores representan la media \pm desviaciones estándar para 3 ratones para cada compuesto y en cada momento del tiempo, con la excepción de los 40 minutos, en el que sólo un ratón fue inyectado con cada compuesto).

Descripción de las realizaciones preferidas

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos que tienen actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina, que pueden utilizarse como fármacos para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones
10 médicas en los que resulta beneficiosa la regulación de los niveles de serotonina en el sistema periférico. De manera más específica, los nuevos inhibidores de la recaptación de serotonina presentados en la presente muestran su actividad principalmente en el sistema periférico, mientras que no tienen un efecto significativo sobre
15 los niveles de serotonina en el SNC y, por tanto, pueden utilizarse de manera beneficiosa para tratar, por ejemplo, enfermedades crónicas en las que una elevada agregación plaquetaria y un aumento de las interacciones endoteliales-plaquetarias son parte del proceso de la enfermedad, tal como es el caso de la trombosis y los riesgos relacionados de isquemia, enfermedad cardíaca isquémica (IHD), infarto de miocardio (IM), ictus cerebral, embolia pulmonar, y anomalías vasculares asociadas a la diabetes de tipo 2, así como otras enfermedades y trastornos en los que la inhibición de la serotonina periférica resulta beneficiosa.

Tal como se analizó anteriormente en la presente, cuando atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE), los inhibidores de la recaptación de serotonina aumentan el nivel extracelular de serotonina inhibiendo su recaptación hacia el interior de la células presinápticas y aumentado con ello el nivel de serotonina disponible para la unión al receptor postsináptico. En el sistema periférico se ha demostrado que los inhibidores de la recaptación de serotonina reducen los niveles de serotonina en las plaquetas que actúan como recipientes de almacenamiento para ella y, así, los inhibidores de la recaptación de serotonina conocidos en la actualidad, en particular los SSRI, han demostrado tener efectos antiplaquetas. Se requiere que los SSRI que se conocen en la actualidad, que fueron desarrollados como antidepresivos, penetren la BHE y ejerzan su efecto sobre el SNC. Sin embargo, se sabe que los SSRI provocan varios efectos adversos relacionados con el SNC, tales como náuseas, sopor o somnolencia, dolor de cabeza, rechinamiento de dientes, sueños extremadamente vívidos y extraños, mareos, cambios en el apetito, pérdida/ganancia de peso, cambios en el comportamiento sexual (líbido reducida), mayor sensación de depresión y ansiedad, ataques de pánico, temblores, disfunción autónoma que incluye hipotensión ortostática, sudoración mayor o menor, acatisia, despersonalización (desrealización), emociones de desánimo y mayor agresividad.

30 Por tanto, a pesar de las muchas pruebas de que los SSRI conocidos en la actualidad son potentes candidatos a fármaco para muchos trastornos médicos crónicos e incluso muestran una mejor actividad comparados con otros fármacos, no se recetan para su tratamiento debido a los graves efectos adversos relacionados con el SNC.

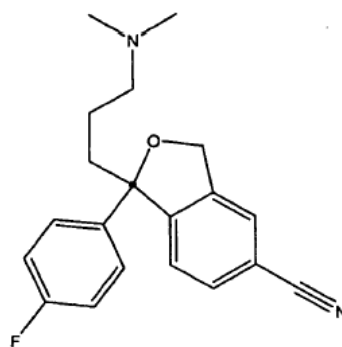
35 Cuando estaban concibiendo la presente invención, los presentes inventores plantearon la hipótesis de que los compuestos que tienen actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina (SRI) pueden modificarse para reducir su capacidad para atravesar la BHE. También plantearon la hipótesis de que los inhibidores de la recaptación de serotonina selectivos y no selectivos conocidos en la actualidad, denominados conjuntamente en la presente inhibidores de la recaptación de serotonina (SRI), modificados químicamente para que contengan uno o más grupos cargados pero sin afectar a su actividad SRI, pueden utilizarse como fármacos para tratar trastornos médicos en los que la modulación del nivel de serotonina periférica resulta beneficioso. Por ejemplo, los SRI
40 modificados que conservan su capacidad de unirse al 5-HTT periférico en plaquetas tendrían una actividad antiplaquetas potencial similar a los SRI conocidos en la actualidad. Sin embargo, dichos SSRI modificados no mostrarían los efectos adversos relacionados con el SNC, muy indeseados, puesto que se sabe que las moléculas cargadas no tienen la capacidad de atravesar la BHE.

45 La base subyacente para este concepto se base en la hipótesis de que los SRI se unen al 5-HTT basándose en factores de reconocimiento molecular que no son necesariamente sensibles a los cambios en la carga global del compuesto. Además, se ha supuesto que los compuestos cargados son incapaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) debido a la estructura exclusiva de las células endoteliales de los capilares cerebrales, que incluyen confluencias ajustadas en lugar de confluencias con huecos entre las células de la pared del capilar, evitando con ello el paso de moléculas cargadas. Por tanto, la modificación de un SRI para que tenga un grupo cargado puede tener poco o ningún efecto sobre la afinidad de unión del SRI modificado al 5-HTT, pero puede tener
50 un efecto importante sobre su capacidad para ejercer una actividad SRI en el cerebro.

55 Cuando redujeron la presente invención a la práctica, los presentes inventores demostraron que el citalopramo, uno de los SSRI que más se recetan, es un ejemplo de compuesto de ensayo para realizar dicha modificación, y prepararon el *N*-metilcitalopramo (NMC) que tiene un grupo amonio cuaternario. Este grupo amonio cuaternario, al no ser capaz de participar en interacciones de intercambio de protones, tiene carga positiva en un amplio intervalo

de niveles de pH, pero de forma más importante, este grupo mantiene su carga positiva a pH fisiológico.

5 El citalopramo (véase la ilustración de su estructura química a continuación) es un fármaco antidepresivo SSRI que se emplea habitualmente para tratar la depresión asociada con trastornos del estado de ánimo, en ocasiones para el tratamiento del trastorno dismórfico corporal y la ansiedad. Su nombre IUPAC es 1-(3-dimetilaminopropil)-1-(4-fluorofenil)-1,3-dihidroisobenzofuran-5-carbonitrilo, y se comercializa con los nombres de marca Celexa™ (EEUU, Forest Laboratories, Inc.), Cipramil™, Citrol™, Sipralaxa™, Seropram™ (Europa y Australia), Zetalo (India), Celepram™, Ciazil™ (Australia), Zentius™ (Sudamérica, Roemmers) y Cipram™ (Dinamarca, H. Lundbeck A/S).



Citalopramo

10 El citalopramo se comercializa generalmente como una mezcla racémica que consiste en 50% del enantiómero R-(-)-citalopramo y 50% del enantiómero (S)-(+)-citalopramo. Sin embargo, se ha descubierto que sólo el S-(+)-enantiómero tiene el efecto antidepresivo deseado y, así, Lundbeck comercializa el S-(+)-enantiómero con el nombre genérico de escitalopramo. Mientras que el citalopramo se suministra como una sal hidrobromuro, el escitalopramo se comercializa como la sal oxalato, y en ambos productos la forma salina permite que estos compuestos, que en otras circunstancias son lipófilos, se disuelvan en agua.

15 Tal como se demuestra en la sección de ejemplos que aparece a continuación, se ha sintetizado el NMC y se ha demostrado que: (a) se une e inhibe la actividad del transportador de serotonina de plaquetas (5-HTT) con una afinidad similar a su compuesto de origen, el citalopramo; (b) se une e inhibe la actividad del transportador de serotonina cerebral con una afinidad aproximadamente 10 veces menor comparado con su compuesto de origen, el citalopramo; y (c) tiene una capacidad sustancialmente limitada para penetrar la BHE.

20 Por tanto, según un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI), que se modifica para que incluya al menos un grupo con carga positiva que se selecciona de forma que el compuesto SRI modificado conserve su carga a pH fisiológico, mientras que mantiene sustancialmente su actividad SRI. A lo largo de la presente, los compuestos SRI presentados que se modifican para que incluyan al menos un grupo con carga positiva se denominan de forma intercambiable SRI modificados o compuestos SRI modificados.

25 La expresión "compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina", abreviado en la presente como SRI, tal como se emplea en la presente, se refiere a compuestos que tienen la capacidad para modular los niveles de serotonina en el cuerpo inhibiendo su reabsorción por el transportador molecular, 5-HTT. De forma más específica, los SRI muestran una inhibición competitiva del 5-HTT. Los inhibidores de la recaptación de serotonina que pueden utilizarse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, inhibidores de la recaptación de serotonina selectivos (SSRI), inhibidores de la recaptación de serotonina-norepinefrina (SNRI) o inhibidores de la recaptación de serotonina-noradrenalina-dopamina (SNDRI), tales como , pero sin limitarse a alaproclato, brasofensina, citalopramo, dapoxetina, desvenlafaxina, duloxetina, etoperidona, fluoxetina, fluvoxamina, milnaciprano, nefazodona, nomifensina, paroxetina, sertralina, tesofensina, venlafaxina y zimelidina.

35 Según las realizaciones preferidas, el compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI) es un inhibidor de la recaptación de serotonina selectivo (SSRI).

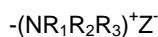
40 La expresión "grupo con carga positiva", tal como se emplea en la presente, se refiere a un átomo o a un grupo de átomos que forma una parte de una molécula orgánica, y que se caracteriza por una carga electrostática positiva. Los compuestos que incluyen uno o más grupos con carga positiva son iones moleculares que a menudo se denominan cationes moleculares. Un grupo de átomos con carga positiva tiene al menos un electrón menos que el número de protones en estos átomos. Los grupos con carga positiva incluyen, como ejemplo no limitante, grupos amonio y sulfonio.

Un grupo con carga positiva que mantiene su carga a pH fisiológico es un grupo que no es capaz de participar en interacciones de intercambio de protones a un intervalo de pH que es típico del entorno fisiológico en el que el SRI es activo. Generalmente, el pH fisiológico es de aproximadamente 7,4; por tanto, un grupo con carga positiva que conserva su carga a pH fisiológico se refiere a un grupo químico con carga positiva que se mantiene ionizado en un intervalo de pH de aproximadamente 5-8. Se advierte que, incluso en el tracto GI, en donde el nivel de pH es extremadamente bajo en términos de pH fisiológico, el grupo con carga positiva según las realizaciones preferidas permanece con carga positiva y, por tanto, los compuestos SRI modificados según la presente invención diseñados para la administración oral no se ven afectados de forma adversa por los niveles de pH GI.

Se sabe que los grupos amonio cuaternario tienen carga positiva en cualquier intervalo de pH, incluyendo el intervalo de pH fisiológico, y por tanto el grupo con carga positiva según las realizaciones preferidas de la presente invención es un grupo amonio cuaternario.

La expresión "amonio cuaternario", tal como se emplea en la presente, se refiere a un átomo de nitrógeno que forma parte de una molécula (una amina, tal como se define a continuación en la presente) que está unida a cuatro sustituyentes que no son hidrógeno y, por tanto, tiene carga positiva.

Por tanto, según las realizaciones preferidas, el SRI se modifica para que tenga un grupo amonio cuaternario que tiene la fórmula general:



en la que:

Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo.

Preferiblemente, R₁, R₂ y R₃ son cada uno un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y más preferiblemente R₁, R₂ y R₃ son cada uno metilo, dando como resultado el grupo con carga positiva, o el grupo amonio cuaternario - (NMe₃)⁺.

Tal como se emplea en la presente, el término "amina" describe un grupo -NR'R", en el que cada R' y R" es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heteroalíclico, arilo o heteroarilo, tal como se definen estos términos en la presente.

Tal como se emplea en la presente, el término "alquilo" describe un hidrocarburo alifático que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. Preferiblemente, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono, y más preferiblemente 1-10 átomos de carbono. Cuando en la presente se menciona un intervalo numérico, por ejemplo "1-10", implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc. hasta 10 átomos de carbono inclusive. El alquilo puede estar sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, el sustituyente puede ser, por ejemplo, un alquilo, un alquenilo, un alquinilo, un cicloalquilo, un arilo, un heteroarilo, un haluro, un hidroxilo, un alcoxi y un hidroxialquilo, tal como se definen estos términos en la presente. El término "alquilo", tal como se emplea en la presente, también incluye un hidrocarburo saturado o insaturado, por tanto este término también incluye alquenilo y alquinilo.

El término "alquenilo" describe un alquilo insaturado, tal como se define en la presente, que tiene al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono. El alquenilo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más sustituyentes, tal como se describió anteriormente en la presente.

El término "alquinilo", tal como se define en la presente, es un alquilo insaturado que tiene al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. El alquinilo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más sustituyentes, tal como se describió anteriormente en la presente.

El término "arilo" describe grupos monocíclicos o policíclicos de anillos condensados (es decir, anillos que comparten pares de átomos de carbono adyacentes) compuestos sólo por carbonos, que tienen un sistema de pi-electrones completamente conjugados. El grupo arilo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más sustituyentes, tal como se describió anteriormente en la presente.

El término "heteroarilo" describe un grupo monocíclico o de anillos condensados (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos) que tiene en el anillo o anillos uno o más átomos tales como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, además, tiene un sistema de pi-electrones completamente conjugados. Los ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinoleína, isoquinoleína y purina. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más

sustituyentes, tal como se describió anteriormente en la presente. Los ejemplos representativos son tiadiazol, piridina, pirrol, oxazol, indol, purina y similares.

5 El grupo con carga positiva puede formarse sobre el SRI a partir de un grupo existente que forme parte del SRI, concretamente convirtiendo un grupo parcialmente cargado o no cargado en un grupo con carga positiva, o convirtiendo un grupo con carga positiva existente que puede participar en una interacción de intercambio de protones, en otro que no puede participar en dicha interacción, convirtiéndolo en una carga positiva irreversible o en una carga positiva permanente, modificando con ello el SRI.

10 Como alternativa, el grupo con carga positiva puede añadirse al SRI sustituyendo uno o más átomos de carbono con un grupo con carga positiva, por ejemplo sustituyendo un átomo de hidrógeno o cualquier otro sustituyente por un grupo amonio cuaternario o un grupo sulfonio terciario.

Las presentes realizaciones también incluyen cualquier enantiómero, profármaco, solvato, hidrato y/o sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos descritos en la presente.

15 Tal como se emplea en la presente, el término “enantiómero” se refiere a un estereoisómero de un compuesto que puede superponerse con respecto a su homólogo sólo mediante una completa inversión/reflejo (imagen especular) del otro. Se dice que los enantiómeros tienen “lateralidad”, puesto que se relacionan entre sí como la mano izquierda y derecha. Los enantiómeros tienen idénticas propiedades químicas y físicas excepto cuando están presentes en un entorno que, en sí mismo, tiene lateralidad, tal como todos los sistemas vivos.

20 El término “profármaco” se refiere a un agente que se convierte en el compuesto activo (el fármaco de origen activo) *in vivo*. Los profármacos son útiles generalmente para facilitar la administración del fármaco de origen. Por ejemplo, pueden ser biodisponibles mediante la administración oral, mientras que el fármaco de origen no lo es. Un profármaco también puede tener mejor solubilidad comparado con el fármaco de origen en composiciones farmacéuticas. Los profármacos también se utilizan a menudo para lograr una liberación sostenida del compuesto activo *in vivo*. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco sería un compuesto de la presente invención que tiene uno o más restos ácido carboxílico, que se administra como un éster (el “profármaco”). Este profármaco se hidroliza *in vivo* para proporcionar, con ello, el compuesto libre (el fármaco de origen). El éster seleccionado puede afectar a las características de solubilidad y a la velocidad de hidrólisis del profármaco.

30 El término “solvato” se refiere a un complejo de estequiometría variable (por ejemplo, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, etc.) que está formado por un soluto (el compuesto de la presente invención) y un disolvente, en el que el disolvente no interfiere con la actividad biológica del soluto. Los disolventes adecuados incluyen, por ejemplo, etanol, ácido acético y similares.

El término “hidrato” se refiere a un solvato, tal como se definió anteriormente en la presente, en el que el disolvente es agua.

35 Tal como se emplea en la presente, la expresión “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la U.S. Pharmacopeia u otra farmacopea reconocida en general para su uso en animales y, más concretamente, en seres humanos. En la presente, las expresiones “fisiológicamente adecuado” y “farmacéuticamente aceptable” se emplean de modo intercambiable y se refieren a una sustancia aprobada que no provoca una significativa irritación en un organismo y que no abroga la actividad biológica ni las propiedades del agente administrado.

40 Puesto que el SRI modificado según las presentes realizaciones es un compuesto cargado por definición, concretamente está en forma catiónica, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a otras especies cargadas del compuesto SRI, es decir su ion bipolar o su especie con múltiples cargas y su contraión o contraiones, que se emplea generalmente para modificar las características de solubilidad del compuesto de origen y/o para reducir cualquier irritación significativa en un organismo provocada por el compuesto de origen, pero sin abrogar la actividad biológica ni las propiedades del compuesto administrado. Los ejemplos no limitantes de un anión incluyen cloruro, bromuro, oxalato, maleato, mesilato y similares.

45 Según otras realizaciones preferidas, el SRI se modifica para que tenga un grupo sulfonio que tiene la fórmula general:



en la que:

50 Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo.

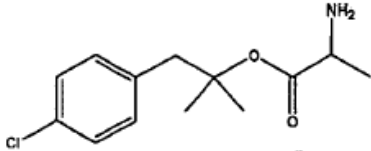
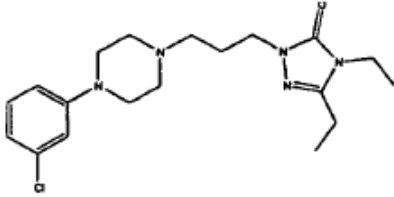
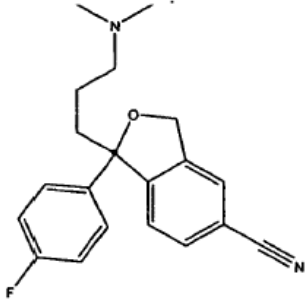
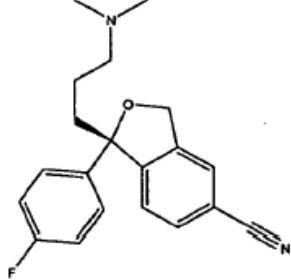
R₄ y R₅ son preferiblemente cada uno un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y más preferiblemente, R₄ y R₅ son cada uno metilo, dando como resultado el grupo con carga positiva, o el sulfonio $-(SMe_2)^+$.

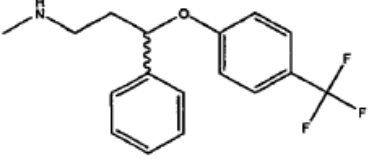
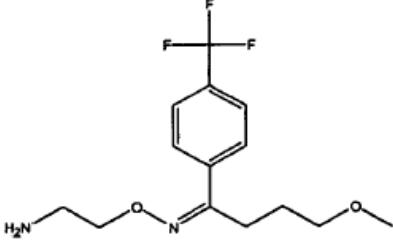
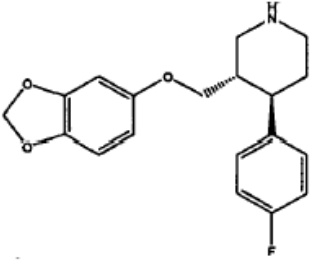
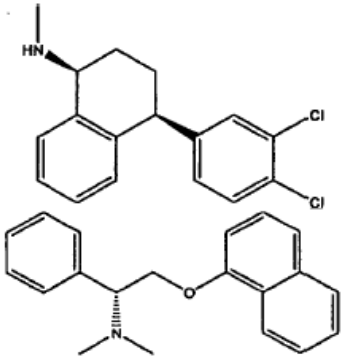
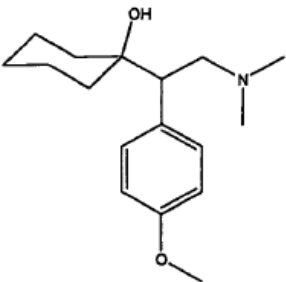
5 El término "sulfonio", tal como se emplea en la presente, se refiere a $-S^+R'R''$, en el que R' y R'' son cada uno independientemente alquilo, cicloalquilo, heteroalíclico, arilo o heteroarilo.

Los ejemplos de SRI a partir de los cuales pueden derivarse los compuestos descritos en la presente incluyen, sin limitación, SSRI tales como citalopramo, alaproclato, dapoxetina, etoperidona, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, venlafaxina y zimelidina. Estos compuestos se presentan en la tabla 1 que aparece a continuación.

10 Otros SRI que inhiben la recaptación de serotonina, incluyendo, por ejemplo SNRI y SNDRI, tales como, por ejemplo, desvenlafaxina, duloxetina, milnaciprano, nefazodona, venlafaxina, brasofensina, tesofensina y nomifensina, también pueden modificarse para que tengan un grupo con carga positiva, y pueden utilizarse de modo similar a los SSRI presentados en la presente. La tabla 1 presenta los SSRI conocidos en la actualidad, incluyendo sus nombres comerciales y su estructura química.

Tabla 1

Nombre del SSRI	Nombre o nombres comerciales	Estructura
Alaproclato	N/A	
Etoperidona	N/A	
Citalopramo	Celexa, Cipramilo, Seropramo, Celepramo, Ciazilo, Emocal, Sepramo, Seropramo	
Escitalopramo	Lexapro, Cipralex, Esertia	

Fluoxetina	Prozac, Fontex, Seromex, Seronilo, Sarafemo, Fluctina	
Fluvoxamina	Luvox, Faverina, Fevarina, Dumyrox	
Paroxetina	Paxil, Seroxato, Aropax, Deroxato, Rextina, Xetanor, Paroxato	
Sertralina	Zoloft, Sertralina, Lustral, Apo-Sertral, Asentra, Glademo, Serlift, Stimulotón, Xydep, Serlaína, Concorz	
Dapoxetina	N/A	
Venlafaxina	Depurol, Dobupal, Efectina, Efexor, Elafax, Faxina, Flavix, Norpileno, Trevilor, Vandral, Velafax, Venlafaxina, Venlax, Venlor, Viepax	

Zimelidina	Normud, Zelmid	
------------	----------------	--

5 Como puede observarse en la tabla 1, todos estos SSRI comprenden al menos un grupo amina, que puede convertirse con facilidad en un amonio cuaternario, es decir, un grupo con carga positiva. Como también puede observarse en la tabla 1, todos estos SSRI ofrecen una multitud de posiciones de sustitución sobre las cuales puede añadirse un grupo con carga positiva. Uno de los requisitos para estas modificaciones químicas es el mantenimiento de la actividad SSRI.

10 Por ejemplo, la etoperidona puede metilarse en uno o ambos átomos de nitrógeno de la piperazina, que convierte a cada uno de estas aminas en un amonio cuaternario. La fluvoxamina puede modificarse para que uno de los átomos de carbono alifáticos esté sustituido con un grupo tiol, que después puede modificarse para producir un grupo sulfonio terciario.

15 Tal como se mencionó anteriormente en la presente, los presentes inventores han seleccionado el citalopramo como un modelo para demostrar las presentes realizaciones y han preparado el *N*-metilcitalopramo (NMC), tal como se ejemplifica en las sección de ejemplos que aparece a continuación. Como también se demuestra en la sección de ejemplos que aparece a continuación, se descubrió que el NMC es un candidato a fármaco prometedor para un fármaco SSRI de acción periférica que carezca de actividad en el SNC.

20 Tal como se demuestra en la sección de ejemplos que aparece a continuación, el NMC reconoce el 5-HTT de plaquetas humano con afinidad similar al citalopramo, tal como se demuestra mediante experimentos de unión de competición en membranas de plaquetas humanas, utilizando [³H]citalopramo como marcador detectable. También se demostró que el NMC inhibe la captación de [³H]5-HT por plaquetas humana recién aisladas con un valor de la constante de inhibición (K_i) idéntico al determinado para el citalopramo.

El NMC es aproximadamente un orden de magnitud menos potente que el citalopramo para unirse e inhibir el 5-HTT en cerebro de rata.

25 El NMC parece penetrar la BHE en un grado mucho menor que el citalopramo, a niveles cercanos al umbral de detección en los presentes experimentos. Se calcula que la penetración cerebral del *N*-metilcitalopramo tras su inyección intraperitoneal es aproximadamente 50 veces menor que la del citalopramo.

El citalopramo y el NMC muestran una fuerte inhibición de la agregación de plaquetas humanas.

30 Por tanto, estos datos demuestran que el NMC es un potente fármaco antiplaquetas, en el que al ser un compuesto de nitrógeno cuaternario (con carga positiva a cualquier pH fisiológico), se limita sustancialmente su capacidad para atravesar la BHE. Por tanto, NMC y otros compuestos SRI modificados (por ejemplo, amonio cuaternario) son potentes agentes antiplaquetas (disminuyen la agregación plaquetaria) que están exentos de los efectos indeseados en el SNC de los SRI conocidos en la actualidad.

35 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar el SRI presentado en la presente, realizándose el procedimiento modificando un SRI para que incluya uno o más grupos con carga positiva con conservan su carga a pH fisiológico, mientras que conservan sustancialmente su actividad SRI.

Preferiblemente, el procedimiento se realiza alquilando o arilando un grupo químico existente sobre el SRI, tal como un grupo amina. Como alternativa, un grupo amina y/o un grupo sulfonio pueden añadirse al SRI.

Cuando se alquila o se arila un grupo amina preexistente, el procedimiento se realiza *N*-alquilando o *N*-arilando este grupo amina.

40 La *N*-alquilación y la *N*-arilación se realizan generalmente utilizando un agente alquilante/arilante. La expresión "agente alquilante/arilante", tal como se emplea en la presente, se refiere a un reactivo químico cuyo uso puede colocar un alquilo o un arilo, tal como se define en la presente, en una posición designada sobre un compuesto reactante concreto.

Los ejemplos de agentes alquilantes o arilantes incluyen, sin limitación, un alquil- o arilsulfonato, una alquilenimina,

fosgeno, un tosilato de alquilo o de arilo, un triflato de alquilo o de arilo, un haluro de alquilo o de arilo, un sulfato de dialquilo o de diarilo, un alumoxano, un trialkilaluminio y un tris(trialquilil)aluminio. Preferiblemente, el agente alquilante es yoduro de metilo.

5 Las reacciones de alquilación (metilación) se han empleado y practicado habitualmente en aminas y otros grupos químicos durante muchas décadas, y pueden implicar otras etapas preparativas, tales como la conversión de una amina cargada presente en el compuesto de origen hidrosoluble en su forma de base libre soluble en disolventes orgánicos, generalmente mediante una reacción bifásica con una base suave, tal como bicarbonato de sodio, que permite a la forma de base libre del compuesto de origen pasar a la fase orgánica tras perder su carga.

10 La expresión “forma de base libre”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a una forma básica autónoma de un grupo amina no cuaternaria, en oposición a su forma de sal de amonio hidrosoluble. Por ejemplo, R-NH₂ es la forma de base libre de R-NH₃⁺.

15 Siguiendo vías sintéticas similares, pueden obtenerse más SRI nuevos con un grupo con carga positiva mediante una única, doble o triple *N*-metilación de un grupo amina que ya forma parte de la molécula incluyendo, por ejemplo, *N,N,N*-trimetilalaproclato, *N*-metildapoxetina, *N*-metilpiperazinetoperidona, *N,N*-dimetilfluoxetina, *N,N,N*-trimetilfluoxamina, *N,N*-dimetilpiperidinparoxetina, *N,N*-dimetilsertralina y *N*-metilvenlafaxina.

Tal como se analizó en la presente anteriormente y se demuestra en la sección de ejemplos que aparece a continuación, un SRI modificado para que tenga al menos un grupo con carga positiva es un candidato a fármaco muy prometedor que puede utilizarse de modo beneficioso para tratar trastornos médicos que están asociados a niveles de serotonina periférica.

20 Por tanto, según las realizaciones de la presente invención, los compuestos SRI presentados en la presente pueden utilizarse para modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto, mientras que se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central en el sujeto.

25 La expresión “modular el nivel y/o actividad”, tal como se emplea en la presente, se refiere al resultado de una acción prevista que altera de modo indirecto (aumenta o disminuye) la concentración (su nivel) y/o la actividad de una sustancia en ciertos sitios corporales previstos en un sujeto.

La expresión “que mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad”, tal como se emplea en la presente, significa lo opuesto a la definición previa, concretamente, la concentración (su nivel) y/o la actividad de una sustancia en ciertos sitios corporales previstos en un sujeto no se altera (aumenta o disminuye) como resultado de una acción prevista.

30 En el contexto de las realizaciones presentes, los SRI modificados presentados en la presente tienen la capacidad de modular el nivel y/o actividad de la serotonina en el sistema periférico, mientras que al mismo tiempo no afectan (mantienen sustancialmente) el nivel y/o actividad de la serotonina en el SNC.

35 Según realizaciones preferidas, la modulación del nivel y/o actividad de la serotonina periférica puede utilizarse para tratar ciertos trastornos médicos en los que este tipo de modulación resulta beneficiosa. Estos trastornos médicos incluyen, sin limitación, enfermedades o trastornos cardiovasculares, enfermedades o trastornos cerebrovasculares, enfermedad cardíaca isquémica (IHD), infarto de miocardio (IM), ictus cerebral, embolia pulmonar, anomalías vasculares asociadas a la diabetes de tipo 2, hipertensión arterial pulmonar, enfermedad oclusiva arterial periférica, artritis reumatoide, trastornos autoinmunitarios, insuficiencia renal, enfermedad del intestino inflamatoria, síndrome coronario agudo y reestenosis tras un bypass de arteria coronaria tras un injerto.

40 Tal como se analizó anteriormente en la presente, los niveles de serotonina periférica se han implicado principalmente en la agregación plaquetaria y, a su vez, la agregación plaquetaria se ha implicado en varios trastornos médicos, la mayoría de los cuales son muy letales. Éstos incluyen enfermedades o trastornos cardiovasculares, IHD, IM, ictus, embolia pulmonar, anomalías vasculares asociadas a la diabetes, hipertensión pulmonar y enfermedades oclusivas arteriales, así como medidas preventivas contra la formación de trombos y otros tratamientos antiembólicos profilácticos.

45 Por tanto, según las realizaciones de la presente invención, los compuestos SRI presentados en la presente pueden utilizarse para tratar una enfermedad o un trastorno en el que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias. Tal como se analizó anteriormente en la presente, el compuesto SRI se modifica para que comprenda al menos un grupo con carga positiva que conserva su carga a pH fisiológico, mientras que conserva sustancialmente su actividad SRI.

En todos los usos presentados en la presente, el SRI modificado es sustancialmente incapaz de modular el nivel de serotonina en el SNC de un sujeto, tanto aumentando como disminuyendo los niveles de serotonina del SNC,

evitando con ello los efectos relacionados con el SNC.

Los SRI de la presente invención, cuando se utilizan, por ejemplo, como medidas preventivas contra la formación de trombos o como tratamiento antiembólico profiláctico, pueden emplearse en combinación con otro agente terapéutico, preferiblemente un agente antiplaquetas y otros inhibidores de la función de plaquetas.

- 5 Los ejemplos de inhibidores útiles de la función de plaquetas incluyen, pero no se limitan a acadesina, anagrelida (administrada a dosis mayores que 10 mg/día), anipamilo, argatrobano, aspirina, clopidogrel, inhibidores de la ciclooxigenasa, tales como nonsteroidal, fármacos antiinflamatorios y el compuesto sintético FR-122047, clofibrato, cafeína, danaparoid sodio, hidroclicloruro de dazoxibeno, análogos de la diadenosina 5',5"-P1,P4-tetrafosfato (Ap4A), difibrotida, hidroclicloruro de dilazep, dinitrato de 1,2- y 1,3-glicerilo, dipiridamol, dopamina y 3-metoxitiramina, sulfato de efegatrano, enoxaparina sodio, glucagón, antagonistas de la glicoproteína IIb/IIIa, tales como Ro-43-8857 y L-700.462, ifetrobano, ifetrobano sodio, iloprost, éster metílico de la isocarbaccilina, isosorbida-5-mononitrato, itazigrel, quetanserina y BM-13.177, lamifibano, lifarizina, molsidomina, nifedipina, oxagrelato, PGE, antagonistas del factor activador de plaquetas, tales como lexipafanto, prostaciclina (PGI₂), pirazinas, carbamato de piridinol, ReoPro (es decir, abciximabo), sulfpirazona, los compuestos sintéticos BN-50727, BN-52021, CV-4151, E-5510, FK-409, GU-7, KB-2796, KBT-3022, KC-404, KF-4939, OP-41483, TRK-100, TA-3090, TFC-612 y ZK-36374, 2,4,5,7-tetraoctano, 2,2-dióxido de 2,4,5,7-tetraoctano, 2,4,5-tritiahexano, teofilina, pentoxifilina, tromboxano e inhibidores de la tromboxano sintetasa, tales como picotamida y sulotrobano, ticlopidina, tirofibano, trapidil y ticlopidina, trifenagrel, trilineoleína, 5,6-bis(4-metoxifenil)-1,2,4-triazinas 3-sustituidas, y anticuerpos contra la glicoproteína IIb/IIIa, así como los descritos en la patente de EEUU nº 5.440.020, y otros fármacos antiserotonina.
- 10
- 15
- 20 Más preferiblemente, el agente antiplaquetas es aspirina, clopidogrel, abciximabo, argatrobano, cilostazol, danaparoid, dazoxibeno, dipiridamol, eptifibatida, ticlopidina o tirofibano.

Otros agentes terapéuticos que pueden utilizarse de manera beneficiosa para tratar trastornos médicos que están asociados con la agregación plaquetaria incluyen anticoagulantes, tales como heparina, warfarina, acenocumarol, fenprocumón, fenindiona e hirudina, así como agentes donadores de óxido nítrico (NO).

- 25 Los SRI modificados presentados en la presente pueden utilizarse *per se* o como parte de una composición farmacéutica. Por tanto, según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que incluye, como ingrediente activo, el SRI presentado en la presente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas o los medicamentos presentados en la presente pueden incluir otros agentes terapéuticos, como los analizados anteriormente en la presente.

- 30 Tal como se emplea en la presente, una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación del SRI presentado en la presente, con otros componentes químicos, tales como vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables y adecuados. El objetivo de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

- 35 En lo sucesivo, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo o a un diluyente que no provoca una irritación significativa en un organismo y que no abroga la actividad biológica ni las propiedades del SRI administrado. Los ejemplos, sin limitación, de vehículos son propilenglicol, disolución salina, emulsiones y mezclas de disolventes orgánicos con agua, así como vehículos sólidos (por ejemplo, en polvo) y gaseosos.

- 40 En la presente, el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar aún más la administración de un fármaco. Los ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

Las técnicas para la formulación y la administración de fármacos pueden encontrarse en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición, que se incorpora en la presente por referencia.

- 45 Las composiciones farmacéuticas para su uso según la presente invención, por tanto, pueden formularse de manera convencional utilizando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y sustancias auxiliares, que facilitan el procesamiento de los SRI para producir preparaciones que pueden utilizarse de modo farmacéutico. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. La formulación, vía de administración y dosificación exactas pueden ser elegidas por el médico encargado a la vista del
- 50

trastorno del paciente (véase, por ejemplo, Fingl et al., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", cap. 1, p. 1).

5 La composición farmacéutica puede formularse para la administración mediante una o más vías dependiendo de si se elige un tratamiento o una administración locales o sistémicos, y del área que se va a tratar. La administración puede realizarse por vía oral, mediante inhalación, o por vía parenteral, por ejemplo mediante goteo intravenoso o inyección intraperitoneal, subcutánea, intramuscular o intravenosa, o por vía tópica (incluyendo oftálmica, vaginal, rectal, intranasal).

10 Las formulaciones para la administración tópica pueden incluir, pero no se limitan a lociones, ungüentos, geles, cremas, supositorios, gotas, líquidos, pulverizados y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes y similares.

Las composiciones para la administración oral incluyen polvos o gránulos, suspensiones o disoluciones en agua o un medio no acuoso, sobres, píldoras, comprimidos oblongos, cápsulas o comprimidos. Pueden resultar deseables espesantes, diluyentes, aromas, adyuvantes de la dispersión, emulgentes o ligantes.

15 Las formulaciones para la administración parenteral pueden incluir, pero no se limitan a disoluciones estériles que también pueden contener tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados. Se prevén composiciones de liberación lenta para el tratamiento.

La cantidad de una composición que se va a administrar dependerá, por supuesto, del sujeto que se está tratando, de la gravedad de la afección, de la vía de administración, del criterio del médico encargado, etc.

20 Las composiciones de la presente invención, si se desea, pueden presentarse en un envase o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA (U.S. Food and Drug Administration), que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el ingrediente activo. El envase puede comprender, por ejemplo, una lámina de metal o de plástico, tal como, pero sin limitarse a un envase de blísteres o un recipiente presurizado (para la inhalación). El envase o dispositivo dispensador puede venir acompañado de instrucciones para la administración. El envase o dispensador también puede venir acompañado de una nota asociada al recipiente en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, reflejando dicha nota la aprobación de la agencia de la forma de las composiciones para la administración humana o veterinaria. Esta nota, por ejemplo, puede ser una etiqueta aprobada por la U.S. Food and Drug Administration para fármacos con receta o un inserto del producto aprobado. Las composiciones que comprenden un SRI de la invención formuladas en un vehículo farmacéutico compatible también pueden prepararse, colocarse en un recipiente adecuado, y etiquetarse para el tratamiento de un trastorno, una enfermedad o una afección médica concreta, tal como se detalla anteriormente en la presente.

35 Según las realizaciones preferidas, la composición farmacéutica se envasa en un material de envasado y se identifica mediante una impresión, sobre o dentro del material de envasado, para su uso para el tratamiento de un trastorno médico en el que resulta beneficioso modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto, mientras que se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central, tal como se analizó anteriormente en la presente.

40 Según otras realizaciones preferidas, la composición farmacéutica se envasa en un material de envasado y se identifica mediante una impresión, sobre o dentro del material de envasado, para su uso para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en el que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias, tal como se analizó anteriormente en la presente.

Por consiguiente, se proporciona el uso del SRI modificado según se presenta en la presente para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o un trastorno en el que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias.

45 Como alternativa, se proporciona el uso del SRI modificado según se presenta en la presente, para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno médico en el que resulta beneficioso modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto, mientras que se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central.

Otros objetos, ventajas, y características nuevas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica tras estudiar los siguientes ejemplos, que no pretenden ser limitantes. Además, cada una de las diversas

realizaciones y aspectos de la presente invención, tal como han delineado anteriormente y se reivindican en la sección de reivindicaciones que aparece a continuación, encuentra apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

5 A continuación se hace referencia a los siguientes ejemplos que, junto con las anteriores descripciones, ilustran la invención de una manera no limitante.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

El citalopramo se obtuvo de Sigma-Aldrich Israel Ltd.

La serotonina (5-HT) se obtuvo de Sigma-Aldrich Israel Ltd.

La [³H]serotonina ([³H]5-HT) se obtuvo de Perkin Elmer Life Sciences (Boston, MA, EEUU).

10 El [³H]citalopramo se obtuvo de Perkin Elmer (MA, EEUU).

La homogeneización de las muestras se realizó utilizando un dispositivo homogeneizador Kinematica Polytron®, Westbury, NY, EEUU.

Las muestras de tejido cerebral se trituraron utilizando un Potter-Elvehjem, una mano de mortero de PTFE y un triturado de tubo de vidrio.

15 La concentración de tritio, expresada en DPM, se determinó utilizando un analizador de centelleo líquido de emisión β, Tri-Carb 2100TR de Packard.

Preparación de N-metilcitalopramo:

20 Se sintetizó el N-metilcitalopramo (NMC, 1,8 gramos) a partir de la forma de base libre del compuesto de origen, citalopramo, mediante metilación con yoduro de metilo. Se añadió una disolución saturada de bicarbonato de sodio (20 ml) a una disolución de citalopramo (1 gramo) en diclorometano (20 ml). La mezcla de reacción se mezcló durante unos pocos minutos, y después se dejó que se separase en dos fases. La fase orgánica se concentró a presión reducida para producir 0,5 gramos de la forma de base libre del citalopramo, que se utilizó en la siguiente etapa sin más purificación.

25 Se añadió yoduro de metilo (10 equivalentes) a una disolución fría de la forma de base libre del citalopramo (1 gramo, 3,08 mmol) en acetona. La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, y después el disolvente se eliminó a presión reducida para producir N-metilcitalopramo (NMC, 0,5 gramos, 1,5 mmol, 50 % rendimiento). La pureza del NMC y la ausencia de citalopramo se verificaron mediante HPLC.

Preparación de [³H]N-metilcitalopramo:

30 Se trasladó al vacío [³H]yoduro de metilo (C[³H]₃I), con una actividad específica de 70 Ci/mmol, a un recipiente de producción de tritización que contenía la forma de base libre del citalopramo. Tras varias horas de incubación se retiraron todos los compuestos volátiles mediante destilación a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante HPLC para producir [³H]N-metilcitalopramo con más del 99% de pureza radioquímica.

Preparación de membranas de plaquetas humanas para ensayos de unión:

35 Se recogieron muestras de sangre humana (25 ml) por la mañana (entre 8 y 10 a.m.) procedentes de voluntarios sanos, hacia tubos de sangre que contenían EDTA 1 mM como anticoagulante. El plasma rico en plaquetas se separó de las células sanguíneas mediante una centrifugación a baja velocidad (350 g durante 10 minutos), se diluyó en 20 ml de tampón Tris 50 mM/HCl, pH 7,4 (que contenía NaCl 120 mM y KCl 5 mM) y se centrifugó a 1700 g durante 20 minutos. El sobrenadante se rechazó y el sedimento de membranas final se mantuvo congelado a -70 °C hasta su uso, normalmente en 2 días.

40 En el día del uso, el sedimento de membranas de plaquetas se rompió con un Brinkman Polytron en 20 ml de tampón Tris 50 mM-HCl, pH 7,4 (que contenía NaCl 120 mM y KCl 5 mM) y se centrifugó dos veces a 27.000 g

durante 20 minutos. Después se resuspendió en 9 ml de tampón para producir una concentración de proteína final de aproximadamente 0,8 mg/ml.

Ensayo de la unión del [³H]citalopramo a plaquetas humanas:

5 Se determinó la unión del [³H]citalopramo a 5-HT transportada (5-HTT) utilizando un procedimiento modificado de Plenge et al. [20]. Un ensayo de unión convencional contiene: 200 µl de homogeneizado, 100 µl de [³H]citalopramo (2 nM) y 50 µl de tampón o fármaco de ensayo. Después de un periodo de incubación de 60 minutos a 25 °C, los homogeneizados se diluyeron en 3 ml de tampón enfriado en hielo y se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C. Los filtros se lavaron tres veces con 3 ml de tampón enfriado en hielo y se midió la radiactividad en el líquido de centelleo en un contador β. La unión específica se definió como la diferencia entre la unión de [³H]citalopramo total (muestras por triplicado) y la unión en presencia de fluoxetina 10 µM (muestras por duplicado).

Ensayo de la unión del [³H]citalopramo a membranas de cerebro de rata:

15 Se rompió la corteza cerebral de rata con un Brinkman Polytron en 50 volúmenes de tampón Tris 50 mM-HCl, pH 7,4 (que contenía NaCl 120 mM y KCl 5 mM) y se centrifugó (tres veces) a 30.000 g durante 10 minutos. Después se resuspendió en el mismo tampón para producir una concentración final de aproximadamente 21 mg/ml (peso húmedo). Se determinó la unión del [³H]citalopramo utilizando un procedimiento modificado de Plenge et al. [20]. Un ensayo de unión convencional contiene: 100 µl de homogeneizado, 100 µl de [³H]citalopramo (1 nM) y 300 µl de tampón o 250 µl de tampón y 50 µl de fármaco de ensayo. Después de un periodo de incubación de 60 minutos a 25 °C, los homogeneizados se diluyeron en 3 ml de tampón enfriado en hielo y se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C. Los filtros se lavaron tres veces con 3 ml de tampón enfriado en hielo y se midió la radiactividad en el líquido de centelleo en un contador β. La unión específica se definió como la diferencia entre la unión de [³H]citalopramo total (muestras por triplicado) y la unión en presencia de fluoxetina 10 µM (muestras por duplicado).

Aislamiento de plaquetas humanas para medir la captación de [³H]5-HT:

25 Se recogieron muestras de sangre humana (25 ml) por la mañana (entre 8 y 10 a.m.) procedentes de voluntarios sanos, hacia tubos de plástico que contenían EDTA 1 mM como anticoagulante. El plasma rico en plaquetas (PRP) se separó mediante una centrifugación a baja velocidad (350 g durante 10 minutos). El PRP se diluyó 1:1 en tampón A (tampón fosfato 19 mM, NaCl 0,119 mM, KCl 3,9 mM, MgSO₄ 0,65 mM, CaCl₂ 0,51 mM, glucosa 2 mg/ml, ácido ascórbico 0,2 mg/ml, EDTA 1,6 x 10⁻⁴ M, y pargilina 5,0 x 10⁻⁵ M, a pH 7,4) y se centrifugó a 1700 g durante 20 minutos. El sedimento de plaquetas se resuspendió con suavidad en tampón A (10⁸-10⁹ paquetas por ml) y se empleó para medir la captación de [³H]5-HT.

Ensayo de captación de [³H]5-HT por plaquetas humanas:

35 Se realizaron ensayos de captación de [³H]5-HT como se describió previamente [21]. Un ensayo convencional contiene 200 µl de plaquetas lavadas, 50 µl de [³H]5-HT, y 50 µl de tampón A o fármaco de ensayo. Los tubos se preincubaron a 37 °C durante 10 minutos, tras lo cual se añadió [³H]5-HT (50 nM). Después de un periodo de incubación de 2 minutos a 37 °C, la reacción se detuvo enfriando con rapidez los tubos en hielo, y la mezcla se filtró al vacío en filtros de fibra de vidrio (GF/C). Los filtros se lavaron en tampón A enfriado en hielo y se contó la radiactividad en líquido de centelleo en un contador β. La captación específica se define como la diferencia entre la captación de [³H]5-HT total a 37 °C (muestras por triplicado) y la captación medida a 0 °C (muestras por duplicado).

Medición de la captación de [³H]5-HT por sinaptosomas de cerebro de rata:

40 Una muestra de corteza cerebral de rata se homogeneizó en 10 volúmenes de sacarosa 0,32 M utilizando un triturador de Teflón-vidrio. La muestra de homogeneizado se centrifugó a 1000 g durante 10 minutos, y el sobrenadante resultante (sol), que contenía los sinaptosomas, se empleó para medir la captación de [³H]5-HT.

45 Los ensayos de captación de [³H]5-HT se realizaron como se describió previamente [21]. Un ensayo convencional contiene 50 µl de sinaptosomas, 50 µl de [³H]5-HT, y 900 µl de tampón A (tampón fosfato 19 mM, NaCl 0,119 mM, KCl 3,9 mM, MgSO₄ 0,65 mM, CaCl₂ 0,51 mM, glucosa 2 mg/ml, ácido ascórbico 0,2 mg/ml, EDTA 1,6 x 10⁻⁴ M, y pargilina 5,0 x 10⁻⁵ M, a pH 7,4) u 850 µl de tampón A y 50 µl de fármaco de ensayo. Los tubos se preincubaron a 37 °C durante 10 minutos, tras lo cual se añadió [³H]5-HT (50 nM). Después de un periodo de incubación de 4 minutos a 37 °C, la reacción se detuvo enfriando con rapidez los tubos en hielo, y la mezcla se filtró al vacío en filtros de fibra de vidrio (GF/C). Los filtros se lavaron en tampón A enfriado en hielo y se contó la radiactividad en

líquido de centelleo en un contador β . La captación específica se define como la diferencia entre la captación de [^3H]5-HT total a 37 °C (muestras por triplicado) y la captación medida a 0 °C (muestras por duplicado).

Preparación de muestras de plaquetas humanas para las mediciones de la agregación plaquetaria:

- 5 Una de las características clave y fundamental de los compuestos presentados en la presente está relacionada con la inhibición de la agregación plaquetaria por compuestos que no penetran en el cerebro y, por tanto, están exentos de efectos en el SNC. Se espera que los potentes efectos antiplaquetas del N-metilcitalopramo puedan lograrse mediante la administración *in vivo*. A continuación se presenta el ensayo *in vitro*, que mide la actividad del N-metilcitalopramo como inhibidor de la agregación de plaquetas humanas después de inducir la agregación utilizando serotonina (5-HT).
- 10 Se preparó plasma rico en plaquetas humano (PRP) humano como sigue: se ensayaron plaquetas humanas para la agregación a las 2 horas de haber extraído muestras de sangre venosa de 10 ml de voluntarios sanos, con una edad de 25-35 años y que no estaban tomando fármacos. La sangre venosa se extrajo hacia tubos Vacutainer (BD, nº 9NC, 0,105 M) utilizando un Vacuette Holdex de Greiner Bio-one (nº de catálogo 450263) y un equipo de recogida de muestras alado (Greiner Bio-one nº 450153). Los tubos se mezclaron con suavidad invirtiéndolos unas
- 15 cuantas veces inmediatamente después de la extracción de sangre. El plasma rico en plaquetas (PRP) se preparó 45 minutos después de la recogida de sangre mediante centrifugación durante 10 minutos a 110 g a temperatura ambiente en una centrífuga de cubeta oscilante. Las muestras de PRP obtenidas se trasladaron a tubos nuevos y la sangre se volvió a centrifugar a 1900 g durante 10 min para producir un plasma pobre en plaquetas (PPP). Para cada muestra de PRP, el agregómetro se calibró con la correspondiente muestra de PPP procedente del mismo
- 20 donante.

Mediciones de la agregación de plaquetas humanas inducida por ADP:

- 25 Se midió la agregación de plaquetas en PRP utilizando un agregómetro Helena PACKS4 (Helena Laboratories, Beaumont, Texas), siguiendo un procedimiento previamente descrito [22]. Muestras que consistían en 198 μl de PRP humano recién preparado y 22 μl de compuestos de ensayo se incubaron a 37 °C durante 15 minutos en el agregómetro. Se disolvieron disoluciones madre de citalopramo o N-metilcitalopramo en disolución salina tamponada con fosfato exenta de calcio (PBS, Biological Industries, Israel, nº de catálogo 02-023-5A) para producir concentraciones en 10 veces de la concentración final indicada. Para las mediciones control se añadieron 22 μl de PBS.
- 30 En los últimos 30 segundos de incubación se añadieron 11 μl de serotonina (concentración final 50 μM , disolución de serotonina recién preparada en PBS), seguido 30 segundos después de 25 μl de adenosina difosfato (ADP, concentración final 1,25 μM , disolución de ADP recién preparada en PBS) al final de la incubación. Las mediciones de la agregación plaquetaria en el agregómetro continuaron durante 5 minutos desde el momento de la adición de ADP (momento denominado "cero").

Determinación de la penetración de la BHE por [^3H]N-metilcitalopramo *in vivo*:

- 35 Estos experimentos *in vivo* se realizaron para demostrar que el [^3H]N-metilcitalopramo no penetra en el cerebro de ratón tras inyecciones intraperitoneales.
- El [^3H]N-metilcitalopramo fue preparado por Vitrox (CA, EEUU) con una radiactividad específica de 70 Ci/mmol, y se demostró mediante HPLC que era químicamente idéntico al metilcitalopramo no marcado. Por comparación, el [^3H]citalopramo tiene una radiactividad específica de 79 Ci/mmol.
- 40 Cada uno de los compuestos radiactivos, [^3H]N-metilcitalopramo y [^3H]citalopramo, se diluyó con el mismo compuesto no radiactivo de forma que la dosis del compuesto inyectado era de 1,5 μg por gramo de peso corporal (intervalo de peso de 31-43 gramos, intervalo de volumen de inyección 155-215 μl en disolución salina). La cantidad de radiactividad (en desintegraciones inyectadas por minuto, DPM) del compuesto marcado con [^3H] era de 318.000 DPM por gramo de peso del [^3H]N-metilcitalopramo, o 174.000 DPM por gramo de peso del [^3H]citalopramo. Este protocolo permite que la cantidad de dosis de citalopramo inyectada sea similar al extremo superior de la dosificación clínica recomendada en humanos de 1,5 mg de citalopramo por kg de peso corporal.
- 45

Se administró a ratones una inyección intraperitoneal de pentobarbital 20 mg/kg diez minutos antes de ser perfusionados con disolución salina durante aproximadamente 2 minutos. La perfusión se requiere para eliminar la sangre residual de los tejidos cerebrales, y el uso de pentobarbital es obligatorio debido a las consideraciones de

bienestar del animal. La perfusión con disolución salina/heparina comenzó a los 5, 10, 20 ó 40 minutos desde el momento de las inyecciones intraperitoneales de los compuestos radiactivos. Al final de la perfusión, se cortaron las cabezas de los ratones y sus cerebros diseccionados se lavaron con disolución salina enfriada en hielo durante 30 segundos. Los tejidos de la corteza cerebral se diseccionaron según el Atlas of the Mouse Brain [23] e inmediatamente se pesaron (intervalo de peso: 132-205 mg). Después los tejidos se homogeneizaron en 10 volúmenes de agua destilada utilizando un triturador de Teflón/vidrio. La radiactividad, expresada como DPM en 500 µl de muestras homogeneizadas, se contó en un contador de centelleo líquido (modelo 2100TR, Packard, EEUU) y se corrigió para DPM utilizando un patrón interno.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

10 Preparación de *N*-metilcitalopramo:

Se sintetizó el *N*-metilcitalopramo (NMC, 1,8 gramos) mediante la metilación del citalopramo utilizando yoduro de metilo. La pureza del NMC y la ausencia de citalopramo se verificaron mediante HPLC.

Ensayo de la unión del [³H]citalopramo a plaquetas humanas:

15 La afinidad del *N*-metilcitalopramo (NMC) a la 5-HT transportada (5-HTT) en plaquetas humanas se comparó con la afinidad del citalopramo, tal como se presentó anteriormente en la presente.

La figura 1 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la unión de [³H]citalopramo al transportador de serotonina de membranas de plaquetas humanas por NMC o citalopramo, como una función de la concentración del inhibidor competitivo. El ensayo se realizó mediante experimentos de unión de competición en membranas de plaquetas humanas, utilizando [³H]citalopramo como ligando marcado.

20 Tal como puede observarse en la figura 1, el *N*-metilcitalopramo reconoce el 5-HTT de plaquetas humanas con una afinidad similar comparada con la del citalopramo (valores de K_i de 2,8 y 1,8 nM para NMC y citalopramo, respectivamente).

La figura 2 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la captación de serotonina en plaquetas humanas intactas recién preparadas, realizada por la presencia de NMC o citalopramo, expresada en porcentaje de inhibición de la captación de [³H]serotonina como una función de la concentración de los compuestos ensayados

25 Como puede observarse en la figura 2, se demuestra que el NMC inhibe la captación de [³H]5-HT en plaquetas humanas recién aisladas con una constante de inhibición (K_i) de 3,3 nM, un valor que es casi idéntico al determinado para el citalopramo.

30 El NMC es un prometedor agente antiplaquetas como resulta evidente a partir de la capacidad similar del NMC para competir por la unión del [³H]citalopramo y para inhibir la captación de [³H]5-HT en plaquetas humanas, a la del citalopramo.

Ensayo de la unión del [³H]citalopramo y de la captación de [³H]5-HT en cerebro de rata:

35 La figura 3 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la unión de [³H]citalopramo al transportador de serotonina (5-HTT) de membranas de cerebro de ratas por *N*-metilcitalopramo (NMC) o citalopramo como una función de la concentración del inhibidor competitivo. Los valores de K_i en los experimentos de unión a 5-HTT en membranas de cerebro de rata fueron de 7,5 nM para NMC y de 0,4 nM para el citalopramo.

40 La figura 4 presenta gráficas comparativas que muestran la inhibición de la captación de [³H]serotonina en sinaptosomas de cerebro de rata recién preparados, realizada por la presencia de los compuestos ensayados, NMC o citalopramo, expresada en porcentaje de inhibición de la captación de [³H]serotonina. Los valores de K_i de los experimentos de captación de [³H]5-HT en sinaptosomas de cerebro de rata fueron de 30 nM para NMC y de 4 nM para el citalopramo.

45 Como puede observarse en las figuras 3 y 4, y por contraste con las observaciones obtenidas en plaquetas humanas, en las que el NMC reconoce a 5-HTT e inhibe la captación de [³H]5-HT con afinidad similar al fármaco SSRI citalopramo (véanse las figuras 1 y 2), el NMC muestra una actividad de aproximadamente un orden de magnitud menor que la del citalopramo expresada en la unión y la inhibición del 5-HTT en cerebro de rata.

Aunque cantidades pequeñas de NMC penetren la BHE durante un tratamiento crónico, se espera que su actividad biológica en el SNC fuese aproximadamente 10 veces menos potente para el 5-HTT del SNC comparado con el citalopramo, así como comparado con la acción del NMC sobre el 5-HTT de plaquetas humanas, tal como se

muestra por su menor afinidad para competir por la unión al [³H]citalopramo (casi 20 veces menor) o para inhibir la captación de [³H]5-HT (8 veces menor) en el cerebro de rata, comparado con el citalopramo (véanse las figuras 3 y 4).

5 Esta diferencia es aún más llamativa si se consideran las proporciones para los valores de K_i de unión al [³H]citalopramo para el cerebro frente a las plaquetas para cada compuesto. Para el citalopramo, la proporción de cerebro/plaquetas es de 0,22; para NMC es de 2,7 (es decir, el valor de K_i de NMC para el cerebro es 2,7 veces mayor frente a su valor de K_i para plaquetas). Por tanto, aunque el citalopramo preferiblemente (en casi 5 veces) reconoce el 5-HTT del cerebro frente al 5-HTT de plaquetas, se observó lo opuesto para el NMC, que preferiblemente reconoce el 5-HTT de plaquetas.

10 Este patrón también se observó con los valores de K_i de captación de [³H]5-HT. La proporción de K_i de cerebro/plaquetas es de 1,2 para el citalopramo (valores de K_i casi similares en ambos tejidos) pero de 9 para el NMC (9 veces más potente para las plaquetas).

15 En la actualidad no hay ninguna explicación para la “preferencia” del NMC por las plaquetas frente al 5-HTT del cerebro. De manera notable, los seres humanos y los roedores tienen un único gen 5-HTT, y en la actualidad no existen pruebas de corte y empalme alternativo específico de tejidos de este gen, así que se supone que la secuencia de aminoácidos de 5-HTT es exactamente la misma en cerebro y plaquetas. No obstante, resulta plausible que el 5-HTT de cerebro puede tener un patrón de glicosilación diferente, u otros patrones de modificación postraduccionales y/o diferentes estados de oligomerización con una proteína o proteínas específicas del cerebro comparado con el 5-HTT de plaquetas, y estas propiedades hacen que sea más difícil que un compuesto cargado, tal como NMC, reconozca el 5-HTT de cerebro comparado con el 5-HTT de plaquetas. Siguiendo esta línea de razonamiento, una molécula muy hidrófoba, tal como el citalopramo, no tiene estas limitaciones y puede reconocer el 5-HTT de cerebro y de plaquetas con afinidades casi similares.

Mediciones de la agregación de plaquetas humanas inducida por ADP:

25 La serotonina, que se sabe aumenta los efectos de agregación plaquetaria de los clásicos agonistas de plaquetas ADP [24, 25], colágeno [26] o adrenalina [27], se empleó en estos experimentos, junto con ADP para inducir la agregación plaquetaria. Esto se empleó para demostrar que ambos compuestos ensayados, el citalopramo y el *N*-metilcitalopramo (100 μ M), pueden inhibir potentemente la agregación de plaquetas humanas inducida por ADP 1,25 μ M en presencia de serotonina 50 μ M.

30 Se preincubaron muestras de plasma rico en plaquetas (PRP) con los compuestos ensayados o con PBS control según se describió anteriormente en la presente. La figura 5 presenta gráficas comparativas de la medición de la agregación plaquetaria registrada para una muestra procedente de un donante sano, que muestra el porcentaje de inhibición de la agregación de plaquetas humanas realizada por el citalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 4” y de color marrón), por el *N*-metilcitalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 3” y de color azul) y por PBS control (indicado en la gráfica como “Canal 2” y de color rojo).

35 La figura 6 presenta una repetición del experimento presentado en la figura 5, medido a partir de una muestra procedente del mismo donante sano, que muestra el porcentaje de inhibición de la agregación de plaquetas humanas realizada por el citalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 3” y de color azul), por el *N*-metilcitalopramo (indicado en la gráfica como “Canal 2” y de color rojo) y por PBS control (indicado en la gráfica como “Canal 1” y de color verde).

40 Como puede observarse en ambas figuras 5 y 6, la adición de ADP inicia la agregación plaquetaria en aproximadamente 20 segundos. Para las muestras de PRP preincubadas durante 15 minutos con PBS como control, la agregación plaquetaria alcanza un valor de 85,1% o 91,8% de la máxima agregación posible, para las mediciones presentadas en las figuras 5 y 6, respectivamente, durante el periodo de 5 minutos de observación por el agregómetro. Para las muestras de PRP preincubadas con citalopramo (concentración final 100 μ M), la agregación alcanza un valor que representa sólo 23,1% y 28,7% para las mediciones presentadas en las figuras 5 y 6, respectivamente, de la máxima agregación posible. Para las muestras de PRP preincubadas con *N*-metilcitalopramo (concentración final 100 μ M), la agregación alcanza un valor que representa sólo 20,2% y 22,9% para las mediciones presentadas en las figuras 5 y 6, respectivamente, de la máxima agregación posible.

Ambos compuestos ensayados muestran una fuerte inhibición de la agregación plaquetaria.

50 En la presente se advierte que para ambos compuestos ensayados y el PBS control, se produjo una fase temprana de agregación plaquetaria muy similar, que tuvo lugar entre aproximadamente 40 segundos a 75 segundos tras la adición del ADP. Sin embargo, mientras que para el PBS control se produjo una segunda fase de agregación plaquetaria, que tuvo lugar desde aproximadamente 75 segundos hasta 300 segundos tras la adición del ADP, esta

segunda fase estuvo completamente ausente en las muestras de PRP que habían sido preincubadas con citalopramo o *N*-metilcitalopramo.

En particular, puede observarse que los compuestos ensayados bloquean la segunda fase (más lenta) de la agregación plaquetaria. Además, los datos representan la inhibición *in vitro*, aunque se obtuvieron con plaquetas humanas recién aisladas de un donante sano, y son la demostración más cercana posible a la obtención de un permiso para administrar los compuestos ensayados a voluntarios humanos. No obstante, considerando que uno de los compuestos ensayados, el citalopramo, ha demostrado (entre otros fármacos SSRI) reducir sustancialmente el riesgo de enfermedad cardíaca isquémica y de IM en pacientes que lo reciben de modo crónico, tal como se analizó anteriormente en la presente, en la presente se indica que el *N*-metilcitalopramo sería capaz de inducir el mismo efecto beneficioso *in vivo* pero sin penetrar en el cerebro y, por tanto, no tendría los efectos indeseables sobre el SNC típicos de los fármacos SSRI.

Determinación de la penetración de la BHE por [³H]N-metilcitalopramo *in vivo*:

El experimento se diseñó para demostrar que el *N*-metilcitalopramo no penetra en el cerebro de ratón tras una inyección intraperitoneal, en oposición a su homólogo, el citalopramo, utilizando muestras marcadas con [³H]. Los valores de desintegraciones por minuto (DPM) detectadas en diferentes momentos después de la inyección de [³H]*N*-metilcitalopramo o [³H]citalopramo se muestran en la figura 7.

La figura 7 presenta gráficas comparativas de la acumulación de los acontecimientos de desintegración por minuto (DPM) de [³H] en muestras de corteza cerebral de ratones después de los tiempos indicados tras una inyección intraperitoneal de [³H]*N*-metilcitalopramo (marcado con círculos rojos) o [³H]citalopramo (marcado con rectángulos negros). Los valores representan la media ± desviaciones estándar (DE) para 3 ratones para cada compuesto, y para un único ratón para el momento del tiempo de 40 minutos. Los valores de DE para las mediciones en ratones inyectados con *N*-metilcitalopramo fueron demasiado pequeños para ser mostrados en esta escala.

Como puede observarse en la figura 7, el [³H]citalopramo entró con facilidad en el cerebro poco tiempo después de su inyección a la dosis clínicamente relevante de 1,5 mg por kg de peso corporal, alcanzando unos niveles de aproximadamente 3350 DPM por 500 µl de muestra de homogeneizado de corteza cerebral a los 40 minutos, que corresponde a aproximadamente 13.400 DPM para la corteza cerebral entera.

En fuerte contraste, sólo se detectaron cantidades muy pequeñas de radiactividad en las muestras de homogeneizado de cerebro de ratones tras unas inyecciones con una dosis similar (1,5 mg por kg de peso corporal) de [³H]*N*-metilcitalopramo, como puede observarse con claridad en la figura 7. Los niveles de radiactividad, expresada en DPM en estas muestras de homogeneizado de cerebro, eran aproximadamente 30 veces menores comparadas con los niveles de radiactividad en ratones inyectados con [³H]citalopramo. Estas cuentas de DPM, que varían de 50 DPM a los 5 minutos, a 110 DPM a los 40 minutos, sólo son ligeramente mayores que la radiactividad de fondo de aproximadamente 20 DPM.

Tomando en consideración que la cantidad de radiactividad del [³H]*N*-metilcitalopramo inyectado es casi el doble comparado con la del [³H]citalopramo, estos datos representan más de 50 veces menos penetración en el cerebro del [³H]*N*-metilcitalopramo comparado con la penetración en el cerebro del [³H]citalopramo.

Estos resultados demuestran claramente que el [³H]*N*-metilcitalopramo no penetra, o penetra en muy poca cantidad, en el cerebro de ratón tras una inyección intraperitoneal. Basándose en estos resultados, se calcula que la penetración en el cerebro del *N*-metilcitalopramo tras una inyección intraperitoneal es aproximadamente 50 veces menor que la del citalopramo. Está bien demostrado que los compuestos se comportan de modo similar con respecto a la penetración en el cerebro humano o de ratón después de su administración a un órgano periférico. Por tanto, un compuesto que no entra, o entra en muy poca cantidad, en el cerebro de ratón demostrará el mismo patrón para la penetración en el cerebro humano.

Los resultados presentados anteriormente demuestran claramente que el NMC es un prometedor fármaco antiplaquetas, de potencia similar al citalopramo, pero no es capaz de atravesar la BHE y penetrar en el cerebro y, por tanto, está exento de la influencia adversa en el SNC del citalopramo. Estas observaciones indican que es probable que compuestos SRI de nitrógeno cuaternario similares mantengan su capacidad para reconocer el 5-HTT de plaquetas humano e inhibir su actividad de modo similar al de sus compuestos de origen, en los que el átomo de nitrógeno es terciario y que, por tanto, penetran la BHE.

Así, el NMC y compuestos SRI cuaternarios similares tienen un potencial clínico como agentes antiplaquetas (disminuyen la agregación plaquetaria), mientras que está exentos de los efectos indeseados en el SNC de los fármacos SRI que actualmente se comercializan, tales como emociones de desánimo, libido reducida, y agresividad que a veces están asociadas con los compuestos SRI actuales.

Se apreciará que ciertas características de la invención que, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. A la inversa, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una única realización también pueden proporcionarse de modo separado o en cualquier subcombinación adecuada.

5 Aunque la invención se ha descrito junto con sus realizaciones específicas, resulta evidente que a los expertos en la técnica les resultarán evidentes muchas alternativas, modificaciones y variaciones. Por consiguiente, se pretende incluir todas estas alternativas, modificaciones y variaciones que se encuentran dentro del espíritu y el alcance amplio de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente en su totalidad por referencia en la memoria descriptiva,
10 hasta la misma medida en que cada publicación, patente o solicitud de patente individuales se indicase específica e individualmente para ser incorporada en la presente por referencia. Además, la cita o la identificación de cualquiera referencia en esta solicitud no debe considerarse un reconocimiento de que dicha referencia esté disponible como técnica anterior a la presente invención.

REFERENCIAS CITADAS CON NÚMEROS

(Otras referencias citadas en el texto)

1. Ho, W.K., G.J. Hankey, y J.W. Eikelboom, Prevention of coronary heart disease with aspirin and clopidogrel: efficacy, safety, costs and cost-effectiveness, *Expert. Opin. Pharmacother.*, 2004, 5(3): p. 493-503.
2. Manolis, A.S., et al., Aspirin and clopidogrel: a sweeping combination in cardiology, *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents*, 2005, 3(3): p. 203-219.
- 20 3. Nobles-James, C., E.A. James, y J.R. Sowers, Prevention of cardiovascular complications of diabetes mellitus by aspirin, *Cardiovasc. Drug. Rev.*, 2004, 22(3): p. 215-226.
4. Schumacher, W.A., et al., Biomarker optimization to track the antithrombotic and hemostatic effects of clopidogrel in rats, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007.
5. McCaffery, J.M., et al., Common genetic vulnerability to depressive symptoms and coronary artery disease: a review and development of candidate genes related to inflammation and serotonin, *Psychosom. Med.*, 2006, 68(2): p. 187-200.
- 25 6. Paraskevidis, I., et al., Selective serotonin re-uptake inhibitors for the treatment of depression in coronary artery disease and chronic heart failure: evidence for pleiotropic effects, *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, 2006, 4(4): p. 361-367.
7. Sauer, W.H., J.A. Berlin, y S.E. Kimmel, Selective serotonin reuptake inhibitors and myocardial infarction, *Circulation*, 2001, 104(16): p. 1894-1898.
- 30 8. Sauer, W.H., J.A. Berlin, y S.E. Kimmel, Effect of antidepressants and their relative affinity for the serotonin transporter on the risk of myocardial infarction, *Circulation*, 2003, 108(1): p. 32-36.
9. Walther, D.J., et al., Serotonylation of small GTPases is a signal transduction pathway that triggers platelet alpha-granule release, *Cell*, 2003, 115(7): p. 851-862.
- 35 10. Serebruany, V.L., et al., Platelet/endothelial biomarkers in depressed patients treated with the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline after acute coronary events: the Sertraline AntiDepressant Heart Attack Randomized Trial (SADHART) Platelet Substudy, *Circulation*, 2003, 108(8): p. 939-944.
11. Weyrich, A.S., S.M. Prescott, y G.A. Zimmerman, Platelets, endothelial cells, inflammatory chemokines, and restenosis: complex signaling in the vascular play book, *Circulation*, 2002, 106(12): p. 1433-1435.
- 40 12. Kawut, S.M., et al., Selective serotonin reuptake inhibitor use and outcomes in pulmonary arterial hypertension, *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2006, 19(5): p. 370-374.
13. Fujita, M., et al., Sarpogrelate treatment reduces restenosis after coronary stenting, *Am. Heart J.*, 2003, 145(3): p. E16.
- 45 14. Slaughter, J.R., et al., Clinical outcomes following a trial of sertraline in rheumatoid arthritis, *Psychosomatics*, 2002, 43(1): p. 36-41.
15. Moore, M.C., et al., Portal infusion of a selective serotonin reuptake inhibitor enhances hepatic glucose disposal

in conscious dogs, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004, 287(6): p. E1057-E1063.

16. Hofstetter, H.H., et al., Absence of reuptake of serotonin influences susceptibility to clinical autoimmune disease and neuroantigen-specific interferon-gamma production in mouse EAE, *Clin. Exp. Immunol.*, 2005, 142(1): p. 39-44.

5 17. Sidel'nikov Iu, N. y G.A. Sivoraksha, [The participation of histamine and serotonin in the genesis of acute kidney failure in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome], *Urol. Nefrol. (Moscú)*, 1990(4): p. 46-48.

18. Mikocka-Walus, A.A., et al., Antidepressants and inflammatory bowel disease: a systematic review, *Clin. Pract. Epidemiol. Ment. Health*, 2006, 2(1): p. 24.

19. Guignabert, C., et al., Transgenic mice overexpressing the 5-hydroxytryptamine transporter gene in smooth muscle develop pulmonary hypertension, *Circ. Res.*, 2006, 98(10): p. 1323-1330.

10 20. Plenge, P. y E.T. Mellerup, [3H]citalopram binding to brain and platelet membranes of human and rat, *J. Neurochem.*, 1991. 56(1): p. 248-252.

21. Rehavi, M., et al., 2-nitroimipramine: a selective irreversible inhibitor of [3H] serotonin uptake and [3H] imipramine binding in platelets, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1981, 99(3): p. 954-959.

15 22. Awabdy, D., L.J. Bryan-Lluka, y J.C. Wanstall, 5-Hydroxytryptamine and platelets: uptake and aggregation in hypoxic pulmonary hypertensive rats, *Eur. J. Pharmacol.*, 2003, 459(1): p. 1-7.

23. Sidman, R.L. y E.T. Pierce, *Atlas of the Mouse Brain and Spinal Cord*, 1971.

24. Smith, G.M., Involvement of 5-hydroxytryptamine in platelet aggregation in vivo in rats and guinea pigs, *Thromb. Haemost.*, 1989. 61(3): p. 463-467.

20 25. Vanags, D.M., et al., Potentiation of ADP-induced aggregation in human platelet-rich plasma by 5-hydroxytryptamine and adrenaline, *Br. J. Pharmacol.*, 1992. 106(4): p. 917-923.

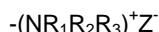
26. Takano, S., Role of 5-hydroxytryptamine in platelet thrombus formation and mechanisms of inhibition of thrombus formation by 5-hydroxytryptamine_{2A} antagonists in rabbits, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1995. 330(3): p. 297-308.

25 27. Alarayed, N.A., et al., The potentiation of adrenaline-induced in vitro platelet aggregation by ADP, collagen and serotonin and its inhibition by naftopidil and doxazosin in normal human subjects, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1995, 39(4): p. 369-374.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI), que se ha modificado para que comprenda al menos un grupo con carga positiva, seleccionándose dicho al menos un grupo con carga positiva para que el compuesto SRI modificado conserve su carga a pH fisiológico mientras conserva sustancialmente su actividad SRI, derivándose dicho compuesto inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI) de un inhibidor de la recaptación de serotonina selectivo (SSRI), un inhibidor de la recaptación de serotonina-norepinefrina (SNRI) o un inhibidor de la recaptación de serotonina-norepinefrina-dopamina (SNDRI) seleccionado del grupo que consiste en alaproclato, brasofensina, citalopramo, dapoxetina, desvenlafaxina, duloxetina, etoperidona, fluoxetina, fluvoxamina, milnaciprano, nefazodona, nomifensina, paroxetina, sertralina, tesofensina, venlafaxina y zimelidina, y dicho grupo con carga positiva es un grupo amonio cuaternario o un grupo sulfonio terciario,

teniendo dicho grupo amonio cuaternario la fórmula:



en la que:

Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo; y teniendo dicho grupo sulfonio la fórmula:



en la que:

Z es un anión orgánico o inorgánico; y

R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo.

2.- El compuesto SRI de la reivindicación 1, en el que R₁, R₂ y R₃ son cada uno independientemente un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

3.- El compuesto SRI de la reivindicación 2, en el que dicho alquilo es metilo.

4.- El compuesto SRI de la reivindicación 1 que se deriva del citalopramo.

5.- El compuesto SRI de la reivindicación 4 que es *N*-alquilocitalopramo.

6.- El compuesto SRI de la reivindicación 5, en el que dicho alquilo es metilo.

7.- El compuesto SRI de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que es sustancialmente incapaz de modular un nivel y/o actividad de serotonina en el SNC.

8.- *N*-alquilocitalopramo.

9.- *N*-metilocitalopramo.

10.- Un procedimiento para preparar el compuesto SRI de la reivindicación 1, comprendiendo dicho procedimiento modificar dicho compuesto SRI para generar dicho al menos un grupo con carga positiva, en el que cuando dicho compuesto SRI tiene un grupo amina, dicha modificación comprende *N*-alquilar o *N*-arilar dicho grupo amina.

11.- El uso del compuesto SRI de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en los que resulta beneficioso reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias.

12.- Una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, el compuesto SRI de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13.- La composición de la reivindicación 12, que está envasada en un material de envasado e identificada con una impresión, en dicho material de envasado o sobre éste, para su uso en el tratamiento de un trastorno médico en el que resulta beneficioso modular un nivel y/o actividad de la serotonina periférica (5-HT) en un sujeto, mientras se mantiene sustancialmente un nivel y/o actividad de la serotonina central.

14.- La composición de la reivindicación 13, que está envasada en un material de envasado e identificada con una

impresión, en dicho material de envasado o sobre éste, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en los que resulta benéfico reducir o prevenir la agregación plaquetaria y/o las interacciones endoteliales-plaquetarias.

Figura 1

Membranas de plaquetas humanas

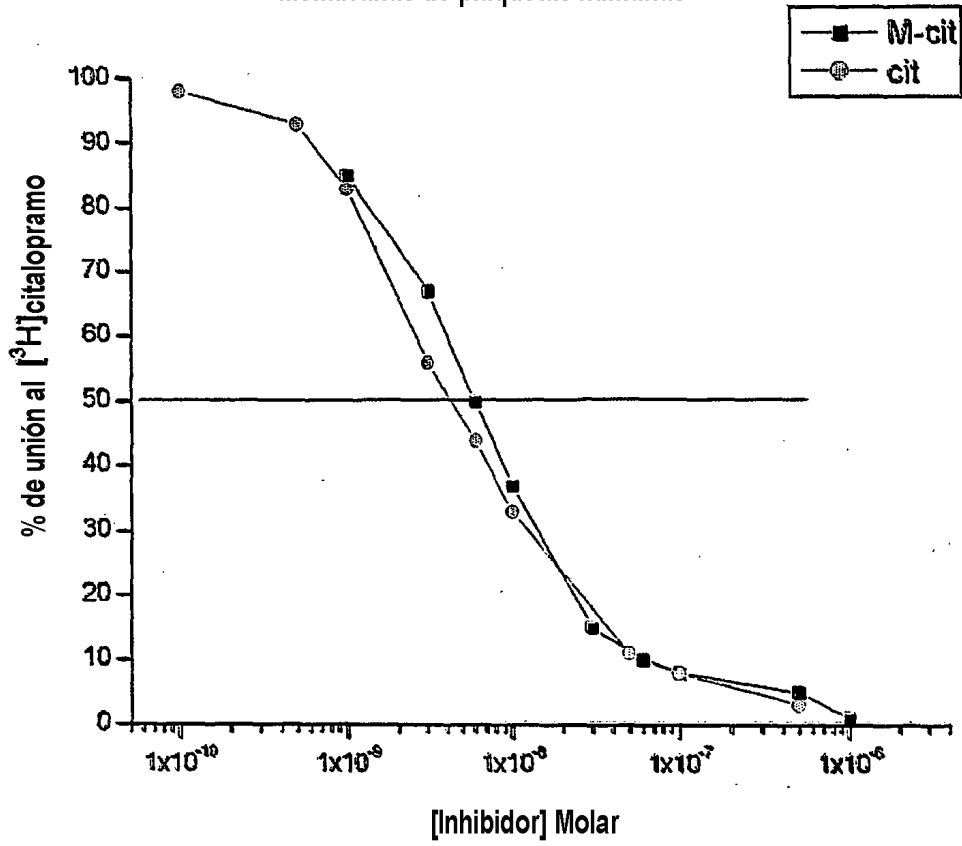


Figura 2

Plaquetas humanas

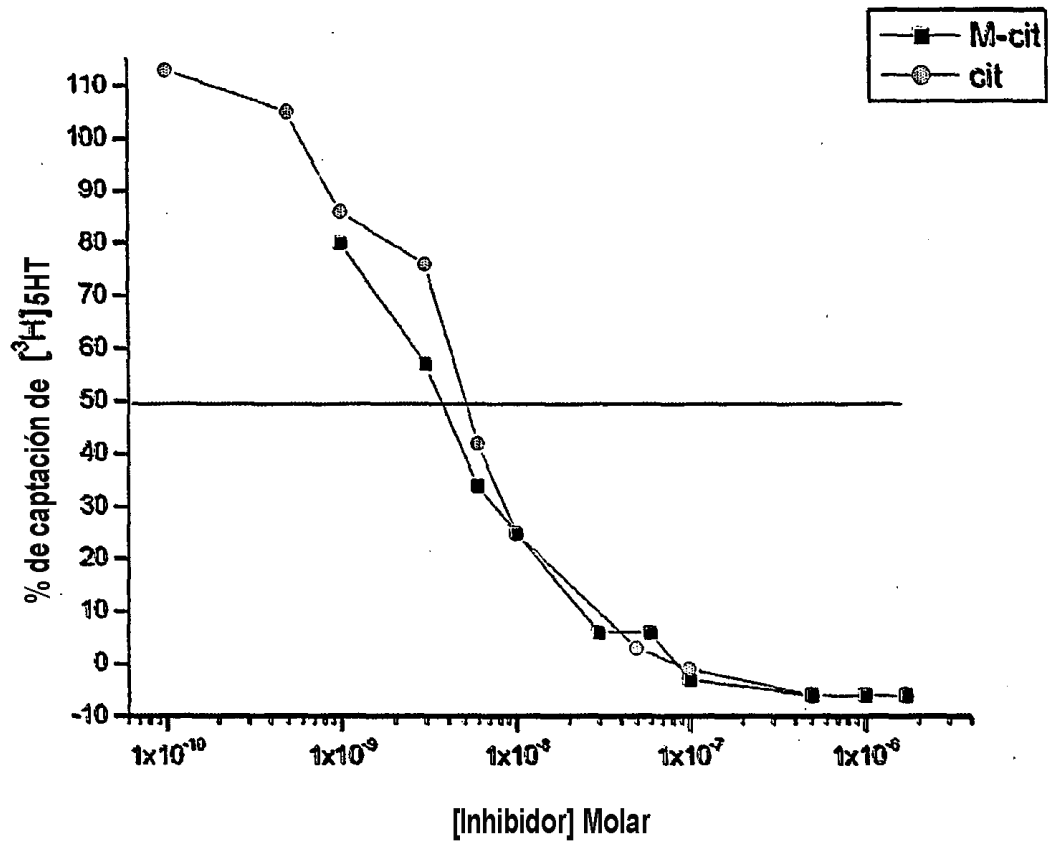


Figura 3

Membranas de cerebro de rata

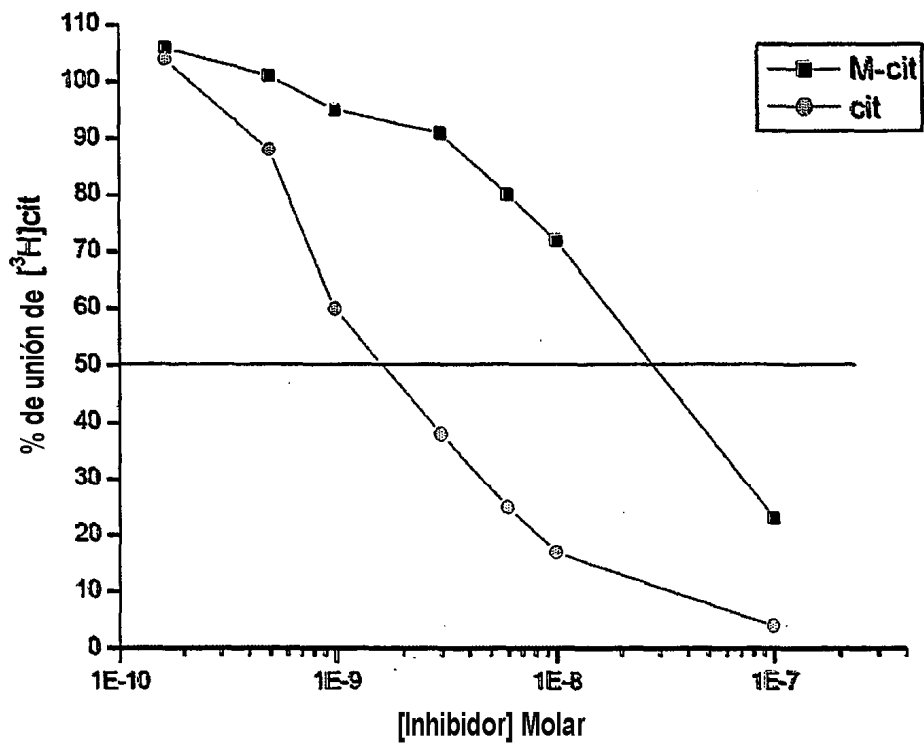
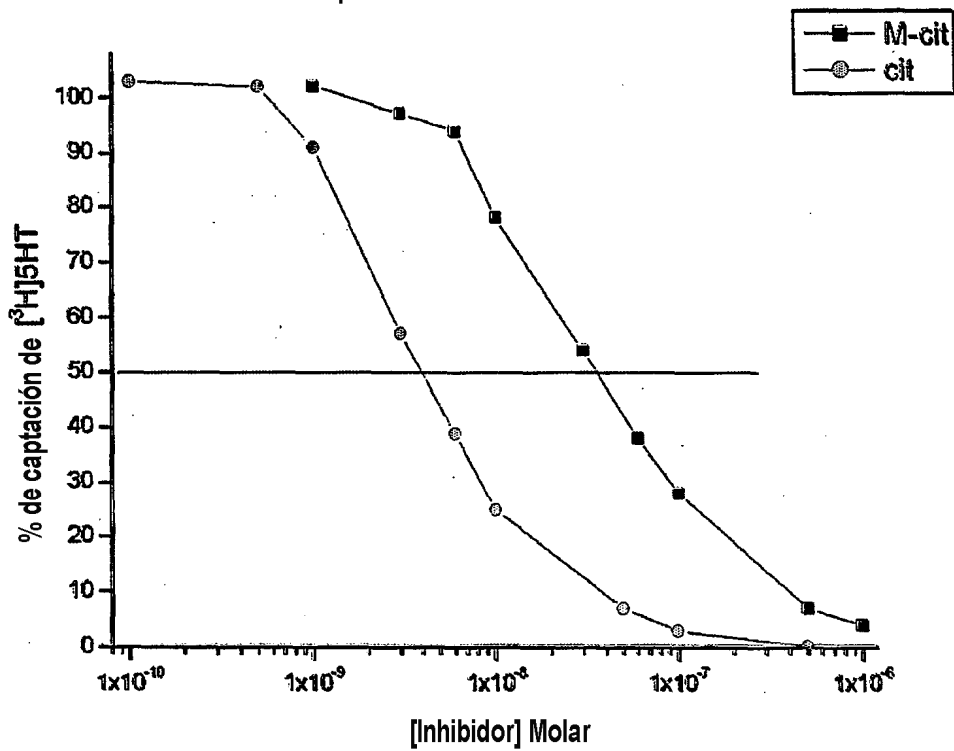


Figura 4

Sinaptosomas de cerebro de rata



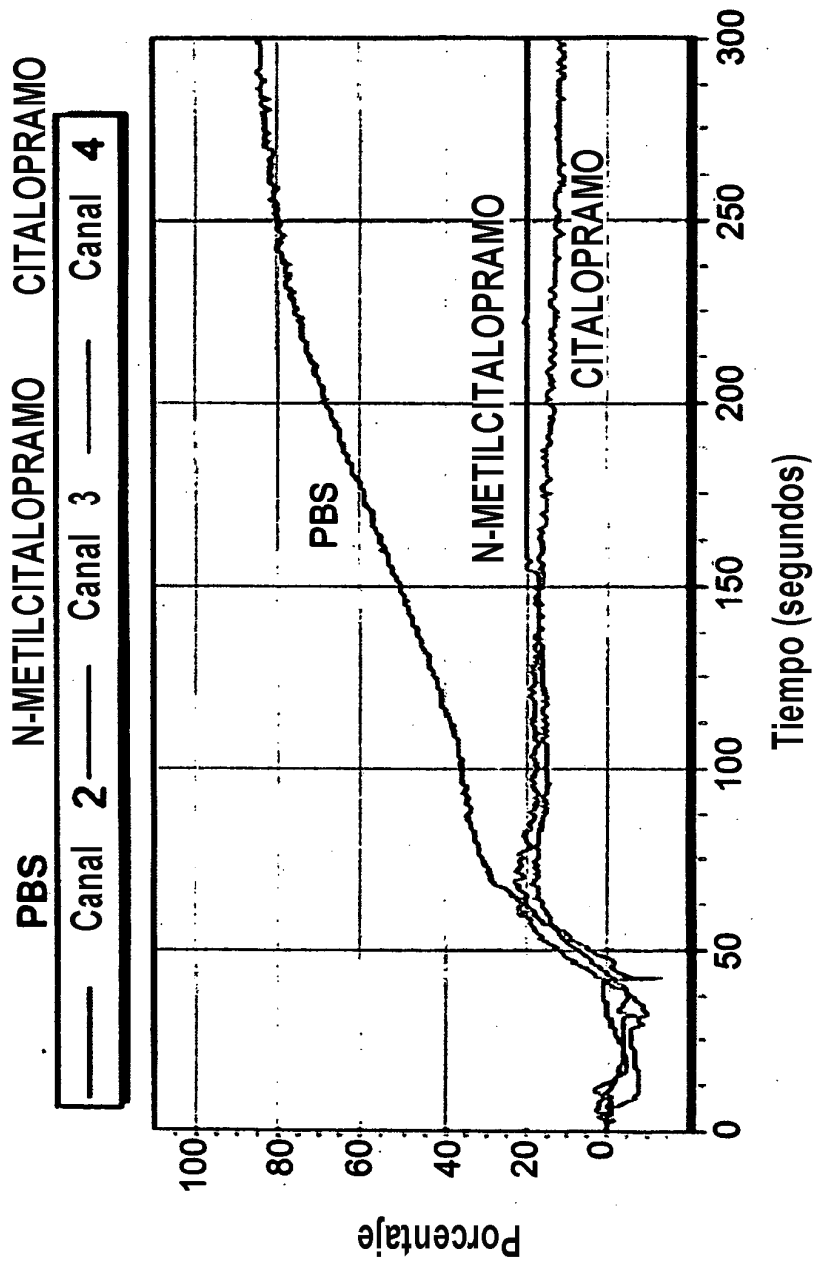


Fig. 5

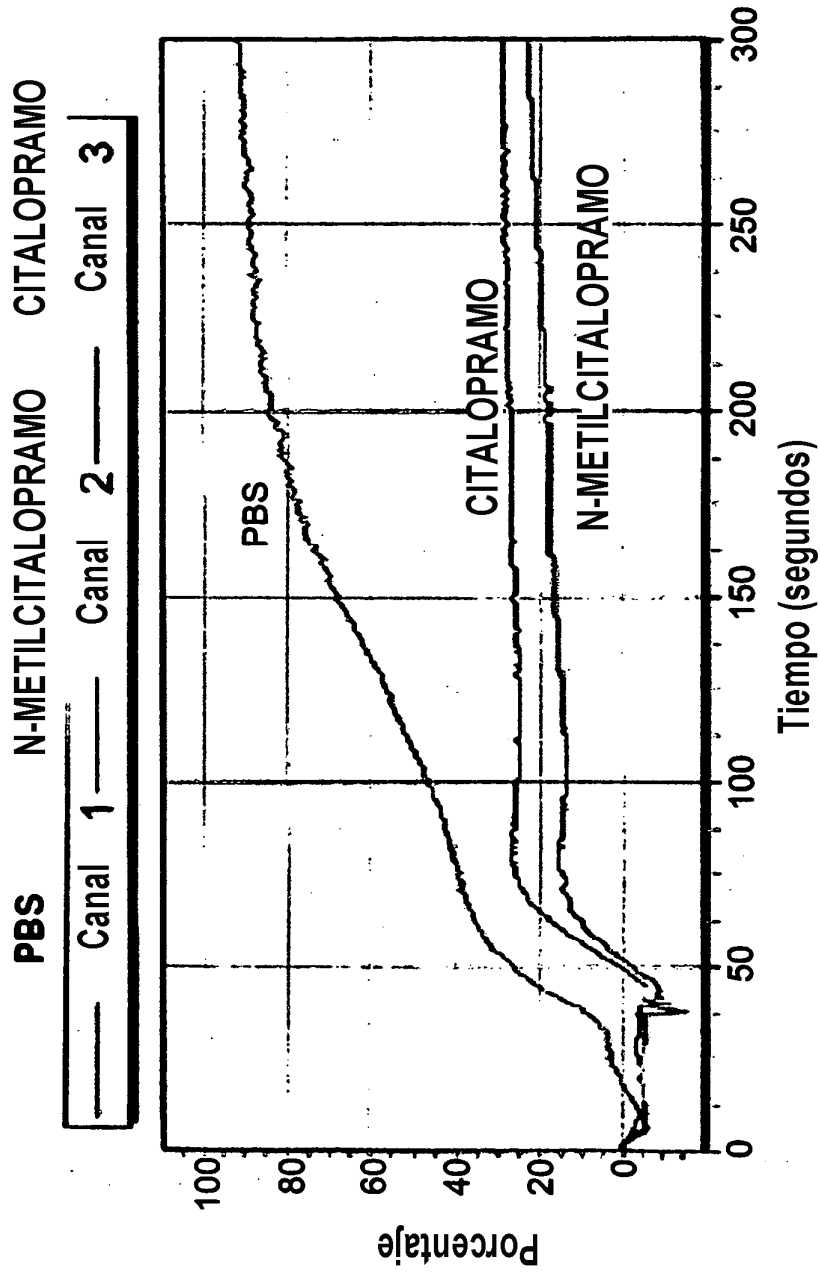


Fig. 6

Figura 7

