

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 275**

51 Int. Cl.:
A61K 31/451 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08715616 .2**
96 Fecha de presentación: **14.03.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2129377**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.12.2009**

54 Título: **FORMULACIONES LÍQUIDAS DE SALES DE 4-[2-(4-METILFENILSULFANIL)FENIL]PIPERIDINA.**

30 Prioridad:
20.03.2007 DK 200700423
15.06.2007 WO PCT/DK2007/050076
14.12.2007 DK 200701790
14.12.2007 US 13918

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2012

73 Titular/es:
H. LUNDBECK A/S
OTTILIAVEJ 9
2500 VALBY-COPENHAGEN, DK

72 Inventor/es:
LASSKOGEN, Gudrun;
STENSBØL, Tine, Bryan y
LOPEZ DE DIEGO, Heidi

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 373 275 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

Formulaciones líquidas de sales de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas líquidas.

5 Antecedentes de la invención

La solicitud de patente internacional publicada como WO 2003/029232 divulga, por ejemplo, el compuesto 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina (compuesto I) en forma de base libre y la correspondiente sal de adición de HCl. Se dice que el compuesto es un inhibidor del transportador de la serotonina y del receptor 2C de la serotonina (5-HT_{2C}), y se dice que es útil para el tratamiento de trastornos afectivos, por ejemplo, depresión y ansiedad.

10 Se ha encontrado que el compuesto I también es un potente antagonista del receptor 3 de la serotonina (5-HT₃) y del receptor 2A de la serotonina (5-HT_{2A}) por lo que el compuesto I se puede usar para el tratamiento de una amplia diversidad de indicaciones, incluyendo dolor y deterioro cognitivo. Este perfil farmacológico también se divulgó en el documento WO 2007/144006.

15 Para muchos compuestos farmacéuticos la administración oral de un comprimido, cápsula, pastilla o similar que está destinado a ser tragado es la forma de administración preferente. Sin embargo, algunos pacientes, por ejemplo, los pacientes ancianos, pueden tener dificultades a la hora de tragar, y una alternativa adecuada pueden ser las soluciones líquidas que evitan la necesidad de tragar comprimidos, cápsulas, pastillas y similares. Una solución líquida proporciona además la posibilidad de una pauta de dosificación flexible. Con el fin de limitar el volumen de la solución líquida es necesario tener una alta concentración del ingrediente activo en la solución, lo que de nuevo requiere una elevada solubilidad del ingrediente activo.

20

La presente invención se refiere a formulaciones líquidas del compuesto I.

Sumario de la invención

25 Los autores de la presente invención han descubierto de forma sorprendente que la sal de adición del ácido DL-láctico (=DL-lactato), la sal de adición del ácido glutárico (=glutarato), la sal de adición del ácido L-aspartico (=L-aspartato) y la sal de adición del ácido glutámico (=glutamato) de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina son excepcionalmente solubles. En consecuencia, la presente invención se refiere a una formulación líquida que comprende la sal de ácido del ácido DL-láctico, la sal de adición del ácido glutárico, la sal de adición del ácido L-aspartico o la sal de adición del ácido glutámico de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina.

30 En una realización, la invención se refiere al uso de sales de la presente invención en la fabricación de una composición farmacéutica líquida para el tratamiento de ciertas enfermedades.

En una realización, la invención se refiere a sales de la presente invención para uso en el tratamiento de ciertas enfermedades, en las que dichas sales están en una formulación líquida.

En una realización, la presente invención se refiere a un envase que comprende una formulación líquida de la presente invención, estando provisto dicho envase con un cuentagotas.

35 Figuras

Figura 1: Niveles de acetilcolina en la corteza prefrontal y el hipocampo ventral tras la administración del compuesto I

Figura 2: Niveles de dopamina en la corteza prefrontal tras la administración del compuesto I

Descripción detallada de la invención

Las formulaciones a las que se refiere la presente invención son todas formulaciones farmacéuticas.

40 La Tabla 2 de los ejemplos muestra la solubilidad de diversas sales de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina. Como se pone de manifiesto por los datos, las sales de adición de ácido DL-láctico, L-aspartico, glutámico y glutárico tienen una solubilidad excepcionalmente elevada. Por conveniencia, se hace referencia a estas sales como las sales de la presente invención.

45 El ácido DL-láctico es también conocido como ácido DL-2-hidroxiopropiónico, y forma una sal de adición 1:1 con 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina que se usa en la presente invención.

El ácido glutárico es también conocido como ácido 1,5-pentanodioico, y forma una sal de adición 1:1 con 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina que se usa en la presente invención.

El ácido L-aspartico forma una sal de adición 1:1 con 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina que se usa en la

presente invención.

El ácido glutámico forma una sal de adición 1:1 con 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina que se usa en la presente invención.

5 Se puede preparar 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina como se divulga en el documento WO 2003/029232. De forma alternativa, se puede preparar 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina como se describe en los ejemplos. Las sales de la presente invención se pueden preparar mediante adición del ácido apropiado seguido por precipitación, pudiéndose llevar a cabo dicha precipitación, por ejemplo, por enfriamiento, eliminación del disolvente, adición de otros disolventes o una mezcla de los mismos. Los ejemplos divulgan rutas específicas para obtener estas sales.

10 Las formulaciones líquidas pueden destinarse para administración oral o parenteral. Las formulaciones líquidas para administración parenteral, que incluyen soluciones para infusión, son similares en muchos aspectos a otras formulaciones líquidas, pero se caracterizan adicionalmente por ser estériles e isotónicas.

15 La formulación oral líquida de la presente invención puede presentarse como un jarabe, un elixir, una solución oral, una suspensión, o como una formulación oral concentrada. Una ventaja de estas formas de administración es que el paciente no tiene que tragar una forma sólida, lo cual puede ser dificultoso, en particular, para pacientes ancianos o para pacientes con traumatismos en la boca o la garganta.

20 Los jarabes y elixires son, de forma típica, líquidos edulcorados y aromatizados que contienen un ingrediente farmacéutico activo. Los jarabes tienen de forma típica un elevado contenido en azúcar, y los elixires con frecuencia contienen también alcohol. Una solución oral es una solución del ingrediente activo. Una suspensión es un sistema bifásico que comprende partículas sólidas dispersadas en un líquido. La administración de jarabes, elixires, soluciones orales y suspensiones conlleva de forma típica la ingesta de cantidades relativamente grandes de líquido, es decir, de 10 a 50 ml.

25 Por el contrario, las formulaciones concentradas de la presente invención se administran al paciente midiendo un volumen previamente determinado de dicha formulación de un dispensador adecuado, añadiendo el volumen resultante a un vaso de líquido (bebida, por ejemplo, agua, zumo o similar) después de lo cual el paciente bebe el líquido. Por conveniencia, el volumen medido es pequeño, por ejemplo, menos de 2 ml, tal como menos de 1 ml, tal como menos de 0,5 ml. En una realización particular, las formulaciones orales concentradas de la presente invención se administran al paciente midiendo un número previamente determinado de gotas de dicha formulación desde un dispensador adecuado, por ejemplo, un envase con un cuentagotas, añadiendo las gotas a un vaso de líquido (agua, zumo o similar) después de lo cual el paciente bebe el líquido. En este contexto, un cuentagotas es un aplicador
30 incorporado en un envase tal que hace que el líquido que se encuentra en el interior de dicho envase pueda dispensarse desde dicho envase en forma de gotas discretas.

35 La concentración de las sales de la presente invención en formulaciones orales concentradas se determina por el número de gotas (o el volumen) que se desea recoger y la cantidad de las sales que se desea administrar. Por lo general se sostiene que medir aproximadamente 10 a 20 gotas es un compromiso óptimo entre, por un lado, seguridad/eficacia del tratamiento y, por otro lado, conveniencia. Si la concentración de las sales de la presente invención es demasiado alta, es decir, si solo es necesario medir un número bajo de gotas, esto puede comprometer la seguridad o eficacia del tratamiento. Con un número bajo de gotas, una o dos gotas más que las deseadas aumentará de forma significativa la incertidumbre en la dosis proporcionada. Por otro lado, si la concentración de las sales de la presente invención es demasiado baja, el número de gotas que se deberán medir es elevado, lo cual es
40 un inconveniente para el paciente o el cuidador.

Con dosificaciones diarias de sales de la presente invención de 5 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 5 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 5 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 20 gotas para una dosis de 5 mg.

45 Con dosificaciones diarias de sales de la presente invención de 5 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 10 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 10 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 5 mg.

Con dosificaciones diarias de compuestos de la presente invención de 10 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 20 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 20 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 10 mg.

50 Con dosificaciones diarias de compuestos de la presente invención de 20 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 40 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 40 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 20 mg.

55 Con dosificaciones diarias de compuestos de la presente invención de 30 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 60 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 60 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 30 mg.

Con dosificaciones diarias de compuestos de la presente invención de 40 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 80 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 80 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 40 mg.

5 Con dosificaciones diarias de compuestos de la presente invención de 50 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 100 mg de ingrediente activo por ml. Una concentración de 100 mg por ml y un número de gotas de 20 gotas/ml posibilitarían administrar 10 gotas para una dosis de 50 mg.

10 En una realización, la formulación de gotas oral concentrada se administra desde un aparato con un dispositivo de dosificación de tipo pluma o jeringa. Ejemplos de tales aparatos de administración se proporcionan, por ejemplo, en los documentos WO 03/061508, US 2004/0186431, US 2003-089743. Estos aparatos contienen la formulación oral concentrada de la presente invención en una cámara herméticamente cerrada, por ejemplo, un cartucho, y están provistos de medios para proporcionar una cantidad medida de la solución oral concentrada. Con el fin de limitar el tamaño del dispositivo, el volumen de la solución oral concentrada es pequeño (0,01 a 1 ml) lo que de nuevo requiere que las sales sean muy solubles. Estos dispositivos de dosificación de tipo pluma o jeringa son convenientes para
15 puede servir para ocultar que se trata de un dispensador de medicamentos.

Con dosificaciones diarias de sales de la presente invención de 5 a 10 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 100 mg de ingrediente activo por ml. Esto significaría que se liberan 0,05 ml para una dosis de 5 mg y que se liberan 0,1 ml para una dosis de 10 mg.

20 Con dosificaciones diarias de los compuestos de la presente invención de 20 a 50 mg, sería apropiada una formulación oral concentrada con una concentración de 200 mg de ingrediente activo por ml. Esto significaría que se liberan 0,1 ml para una dosis de 20 mg y que se liberan 0,25 ml para una dosis de 50 mg.

25 En consecuencia, las formulaciones orales concentradas de la presente invención comprenden aproximadamente 5 a 250 mg/ml de sales de la presente invención. Ejemplos particulares incluyen aproximadamente 10 a 100 mg/ml, aproximadamente 20 a 200 mg/ml, aproximadamente 150 a 200 mg/ml, aproximadamente 20 a 80 mg/ml, aproximadamente 30 a 70 mg/ml, y aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/ml. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 5 mg/ml de sales de la presente invención. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 10 mg/ml de sales de la presente invención. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 20 mg/ml de una sal de la presente invención. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 30 mg/ml de una sal de la presente invención. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 50 mg/ml de una sal de la presente invención. En una realización, la formulación de gotas orales de la presente invención comprende al menos 80 mg/ml de una sal de la presente invención.

35 Además de las sales de la presente invención, las soluciones orales de la presente solicitud y, en particular, las formulaciones orales concentradas pueden comprender disolventes, tampones, tensioactivos, modificadores de la tensión superficial, modificadores de la viscosidad, conservantes, antioxidantes, colorantes, enmascaradores del sabor, aromas y similares.

40 Ejemplos de disolventes incluyen agua y otros disolventes, que sean miscibles con agua o agentes solubilizadores, y sean adecuados con fines de administración oral. Ejemplos de disolventes adecuados son etanol, propilenglicol, glicerol, polietilenglicoles, poloxamers, sorbitol, alcohol bencílico. La solubilidad acuosa del ingrediente activo se puede potenciar aun más por la adición a la solución de un disolvente común farmacéuticamente aceptable, una ciclodextrina o uno de sus derivados.

45 Se puede usar un sistema tampón para mantener el pH de la formulación en un intervalo óptimo de pH. Un sistema tampón es una mezcla de cantidades apropiadas de un ácido débil tal como ácido acético, fosfórico, succínico, tartárico, láctico o cítrico y su base conjugada. De forma ideal, el sistema tampón tiene capacidad suficiente para mantener el intervalo de pH deseado tras la dilución con una bebida neutra, ligeramente ácida o ligeramente básica.

50 Los tensioactivos son sustancias que solubilizan compuestos activos, que no son suficientemente solubles en un medio acuoso, normalmente con la formación de micelas. De preferencia, el tensioactivo usado será no iónico debido a la menor toxicidad. Se pueden usar altas concentraciones de tensioactivos para permitir la dilución durante la administración sin precipitación. Ejemplos de tensioactivos incluyen Tweens, Spans y mono- y diglicéridos. Se pueden incluir modificadores de la tensión superficial para ajustar el número de gotas para las formulaciones de gotas orales. Un ejemplo de modificador de la tensión superficial es etanol, que reduce la tensión superficial y aumenta el número de gotas.

55 Se pueden incluir modificadores de la viscosidad para ajustar la velocidad de caída para una formulación oral concentrada. La velocidad de caída para una formulación que se va a medir en gotas discretas desde un envase provisto con un cuentagotas no superará por conveniencia las 2 gotas por segundo. Ejemplos de modificadores de la viscosidad incluyen etanol, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hipromelosa, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, poletilenglicol y glicerina.

5 Se pueden añadir agentes conservantes para prevenir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias, levaduras y hongos en las formulaciones líquidas, que probablemente se van a usar repetidas veces. Los conservantes adecuados serán farmacéuticamente aceptables, fisicoquímicamente estables y eficaces en el intervalo de pH deseado. Ejemplos de agentes conservantes incluyen etanol, ácido benzoico, ácido sórbico, metilparabeno, propilparabeno y alcohol bencílico.

Puesto que una sustancia farmacéutica es más sensible a la degradación química en forma disuelta que en forma sólida, puede ser necesario incluir un antioxidante en la formulación líquida. Ejemplos de antioxidantes incluyen galato de propilo, palmitato de ascorbilo, ácido ascórbico, sulfito sódico, ácido cítrico y EDTA.

10 Se pueden usar agentes colorantes en algunas formulaciones para introducir una uniformidad de apariencia en el producto. Algunos ingredientes activos pueden ser incluso más sensibles a la luz y puede ser necesario añadir agentes colorantes a las formulaciones de gotas para protegerlas de la luz y con el objeto de estabilizarlas. Agentes colorantes adecuados incluyen, por ejemplo, tartrazina y amarillo amanecer.

15 Los agentes edulcorantes pueden enmascarar el sabor desagradable asociado con algunas formulaciones o conseguir un sabor deseado. Ejemplos de edulcorantes son sacarina, sal sódica de sacarina, glucosa, sorbitol, glicerol, acesulfamo potásico y neohesperidina dihidrocalcona. El sabor se puede optimizar adicionalmente mediante la adición de una o más sustancias aromatizantes. Sustancias aromatizantes adecuadas son aromas de frutas tales como aroma de cereza, de frambuesa, de grosella negra, de limón o de fresa u otros aromas tales como regaliz, anís, menta, caramelo y similares.

20 Ejemplos particulares de una formulación oral concentrada que se puede administrar con un cuentagotas son (4-[2-(4-metilfenilsulfanil)-fenil]piperidina = Compuesto I)

0,73% de glutarato del Compuesto I que corresponde a 0,5% de la base libre del Compuesto I

Agua, c.s.p 100%

1,58% de glutamato del Compuesto I que corresponde a 1% de la base libre del Compuesto I

25 0,08% de parahidroxibenzoato de metilo

0,02% de parahidroxibenzoato de propilo

Agua, c.s.p. 100%

2,94% de L-aspartato del Compuesto I que corresponde a 2% de la base libre del Compuesto I

30 0,08% de parahidroxibenzoato de metilo

0,02% de parahidroxibenzoato de propilo

7% de etanol

Agua, c.s.p. 100%

35 10,54% de DL-lactato del Compuesto I que corresponde a 8% de la base libre del Compuesto I

0,08% de parahidroxibenzoato de metilo

0,02% de parahidroxibenzoato de propilo

Agua, c.s.p. 100%

40 Un ejemplo particular de una formulación oral concentrada, que se puede administrar con un dispositivo del tipo pluma o jeringa es

26,36% de DL-lactato del Compuesto I que corresponde a 20% de la base libre del Compuesto I

0,08% de parahidroxibenzoato de metilo

0,02% de parahidroxibenzoato de propilo

Agua, c.s.p. 100%

El perfil farmacéutico de las sales de la presente invención se divulga en los Ejemplos. En resumen, las sales de la presente invención son inhibidores del transportador de la serotonina y el receptor 2C de la serotonina (5-HT_{2C}) y antagonistas del receptor 3 de la serotonina (5-HT₃), el receptor 2A de la serotonina (5-HT_{2A}) y el receptor α_1 adrenérgico, y parecen provocar un incremento del nivel extracelular de acetilcolina en la corteza prefrontal y el hipocampo ventral y los niveles de dopamina en la corteza prefrontal. Adicionalmente, las sales de la presente invención son eficaces en el tratamiento del dolor, como se muestra en los ejemplos. Cabe esperar que el perfil farmacológico en combinación con los datos preclínicos se refleje en la utilidad clínica de las sales de la presente invención. Por tanto, se cree que las sales de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades que incluyen trastornos del estado de ánimo, trastorno de depresión mayor, trastorno de ansiedad general, depresión atípica, depresión bipolar, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático, abuso, trastorno de la alimentación, trastorno del sueño, enfermedad de Alzheimer, demencia, dolor crónico, depresión asociada con deterioro cognitivo, depresión asociada con psicosis, deterioro cognitivo en esquizofrenia, depresión o ansiedad asociada con dolor, alteraciones del comportamiento en ancianos, TDAH, melancolía, depresión resistente al tratamiento y depresión son síntomas residuales.

Los receptores 5-HT_{2C} se localizan, por ejemplo, sobre neuronas dopaminérgicas, en las que la activación ejerce una influencia inhibitoria tónica sobre la liberación de dopamina, y los antagonistas de 5-HT_{2C} producirán un incremento de los niveles de dopamina. Los datos presentados en los ejemplos muestran que el compuesto I, en realidad, provoca un incremento de los niveles de dopamina extracelulares en el cerebro. Sobre esta base se puede postular la hipótesis de que los antagonistas de 5-HT_{2C} son particularmente adecuados para el tratamiento de la depresión que es resistente al tratamiento con inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. Esta hipótesis encuentra apoyo en varios estudios clínicos en los que se muestra que una combinación de mirtazapina y un ISRS es superior al ISRS solo para el tratamiento de pacientes deprimidos con una respuesta clínica inadecuada (depresión resistente al tratamiento, DRT o depresión resistente) [*Psychother. Psychosom.*, 75, 139-153, 2006]. Mirtazapina también es un antagonista de 5-HT₂ y de 5-HT₃, lo que indica que los compuestos que ejercen inhibición de la recaptación de serotonina en combinación con acción antagonista de 5-HT₂ y 5-HT₃, tales como el compuesto I, son útiles para el tratamiento de la DRT, es decir, aumentarán el índice de remisión para pacientes que sufren depresión resistente al tratamiento.

Los datos presentados en los ejemplos muestran que el compuesto I provoca un incremento de los niveles extracelulares de acetilcolina en el cerebro. Desde hace tiempo existen pruebas clínicas de que el incremento de los niveles de acetilcolina en el cerebro es un modo de tratar la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo en general, véase el uso de inhibidores de la acetilcolinesterasa en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Sobre esta base, se cree que el compuesto I es útil en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo, además de en los trastornos del estado de ánimo, tales como la depresión asociada con la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo.

Un segmento de pacientes deprimidos responderá al tratamiento con, por ejemplo, ISRS, en el sentido de que mejorará en las escalas de depresión clínicamente pertinentes, como las escalas MADRD y HAMD, pero los otros síntomas, como las alteraciones del sueño y el deterioro cognitivo permanecerán. En el presente contexto, estos pacientes se denominan respondedores parciales y sufren depresión con síntomas residuales. Debido a los efectos descritos anteriormente sobre los niveles de acetilcolina, cabe esperar que el compuesto I sea útil en el tratamiento del deterioro cognitivo además de la depresión. En los estudios clínicos se ha demostrado que el compuesto prazosina, que es un antagonista del receptor α_1 adrenérgico, reduce las alteraciones del sueño [Raskind, *Biol. Psychiatry*, 2006 en prensa]. Además, también se cree que la acción antagonista de 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} de los compuestos de la presente invención tiene un efecto sedante y de mejora del sueño [*Neuropharmacol.*, 33, 467-471, 1994], de modo que los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de los respondedores parciales (depresión con síntomas residuales) o, expresado de otro modo, el tratamiento de pacientes deprimidos con el compuesto I reducirá la fracción de respondedores parciales.

El compuesto de la invención se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día.

Una dosificación típica está en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día, preferentemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal al día, administrados en una o más dosis, tal como de 1 a 3 dosis. La dosis exacta dependerá de la frecuencia y modo de administración, del sexo, la edad, el peso y el estado de salud general del sujeto tratado, la naturaleza y la gravedad de la afección tratada y de cualquier enfermedad concomitante que se vaya a tratar y de otros factores evidentes para el experto en la técnica.

Una dosis oral típica para adultos está en el intervalo de 1-100 mg/día de un compuesto de la presente invención, tal como 1-30 mg/día o 5-25 mg/día. Normalmente, esto se puede conseguir mediante la administración de 0,1-50 mg, tal como 1-25 mg, tal como 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 o 60 mg del compuesto de la presente invención una o dos veces al día.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto, como se usa en el presente documento, significa una cantidad suficiente para curar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y

sus complicaciones en una intervención terapéutica que comprende la administración de dicho compuesto. Una cantidad adecuada para conseguir esto se define como una "cantidad terapéuticamente eficaz". La expresión también incluye cantidades suficientes para curar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y sus complicaciones en un tratamiento que comprende la administración de dicho compuesto. Las cantidades eficaces para cada fin dependerán de la gravedad de la enfermedad o lesión, además del peso y del estado general del sujeto. Se entenderá que la determinación de una dosificación adecuada se puede realizar usando experimentos rutinarios, construyendo una matriz de valores y probando diferentes puntos en la matriz, todo ello dentro de la experiencia de un médico preparado.

Los términos "tratamiento" y "tratar", como se usan en el presente documento, significa la gestión y la atención de un paciente con el fin de combatir una afección, tal como una enfermedad o un trastorno. Con el término se pretende incluir todo el espectro de tratamientos para una afección dada que sufre el paciente, tal como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones, retasar la progresión de la enfermedad, trastorno o afección, aliviar o atenuar los síntomas y complicaciones y/o curar o eliminar la enfermedad, trastorno o afección, así como prevenir la afección, en el que prevención debe entenderse como la gestión y la atención de un paciente con el fin de combatir la enfermedad, trastorno o afección, e incluye la administración de los compuestos activos para prevenir el inicio de los síntomas o complicaciones. No obstante, los tratamientos profiláctico (preventivo) y terapéutico (curativo) constituyen dos aspectos distintos de la invención. Preferentemente, el paciente que se va a tratar es un mamífero, en particular un ser humano.

En una realización, la invención se refiere al uso de una sal de la presente invención para la fabricación de una formulación líquida para el tratamiento de una enfermedad seleccionada de trastornos del estado de ánimo, trastorno de depresión mayor, trastorno de ansiedad general, depresión atípica, depresión bipolar, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático, abuso, trastorno de la alimentación, trastorno del sueño, enfermedad de Alzheimer, demencia, dolor crónico, depresión asociada con deterioro cognitivo, depresión asociada con psicosis, deterioro cognitivo en esquizofrenia, depresión o ansiedad asociada con dolor, alteraciones del comportamiento en ancianos, TDAH, melancolía, depresión resistente al tratamiento y depresión son síntomas residuales. En una realización, dicha formulación líquida es una formulación oral concentrada.

En una realización, la presente invención se refiere a sales de la presente invención para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de trastornos del estado de ánimo, trastorno de depresión mayor, trastorno de ansiedad general, depresión atípica, depresión bipolar, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático, abuso, trastorno de la alimentación, trastorno del sueño, enfermedad de Alzheimer, demencia, dolor crónico, depresión asociada con deterioro cognitivo, depresión asociada con psicosis, deterioro cognitivo en esquizofrenia, depresión o ansiedad asociada con dolor, alteraciones del comportamiento en ancianos, TDAH, melancolía, depresión resistente al tratamiento y depresión son síntomas residuales, en el que dicha sal está en una formulación líquida. En una realización, dicha formulación líquida es una formulación de gotas orales concentrada.

Las sales de la presente invención se pueden administrar solas o en combinación con otro compuesto terapéuticamente activo, de modo que los dos compuestos se pueden administrar de forma simultánea o secuencial. Ejemplos de compuestos terapéuticamente activos que pueden combinarse de forma ventajosa con el compuesto I incluyen sedantes o hipnóticos, tales como benzodiazepinas; anticonvulsivos, tales como lamotrigina, ácido valproico, topiramato, gabapentina, carbamazepina; estabilizantes del estado de ánimo, tal como litio; fármacos dopaminérgicos, tales como agonistas de la dopamina y L-Dopa; fármacos para tratar el TDAH, tales como atomoxetina; psicoestimulantes, tales como modafinilo, ketamina, metilfenidato y anfetaminas; otros antidepresivos, tales como mirtazapina, mianserina y bupropiona; hormonas, tales como T3, estrógenos, DHEA y testosterona; antipsicóticos atípicos, tales como olanzapina y aripiprazol; antipsicóticos típicos, tales como haloperidol; fármacos para tratar la enfermedad de Alzheimer, tales como inhibidores de la colinesterasa y memantina, folato; S-Adenosil-Metionina; inmunomoduladores, tales como interferones; opiáceos, tales como buprenorfinas; antagonistas del receptor 1 de la angiotensina II (antagonistas AT1); inhibidores de la ECA; estatinas; y antagonista alfa1 adrenérgico, tal como prazosina.

El uso de los términos "un" y "una/uno" y "el/la" y referencias similares en el contexto de la descripción de la invención se deberá interpretar para que abarquen tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o esté claramente contraindicado por el contexto. Por ejemplo, la frase "el compuesto" debe entenderse que se refiere a varios "compuestos" de la invención o aspecto concreto descrito, a menos que se indique lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, todos los valores exactos proporcionados en el presente documento son representativos de los correspondientes valores aproximados (por ejemplo, todos los valores de ejemplo exactos proporcionados con respecto a un factor o medida concreta se pueden considerar para proporcionar también una medida aproximada, modificada por "aproximadamente", cuando sea adecuado).

La descripción en el presente documento de cualquier aspecto o aspecto de la invención usando términos tales como "que comprende", "que tiene"; "que incluye" o "que contiene" con referencia a un elemento o elementos se pretende

que proporcionen apoyo para un aspecto o aspecto de la invención similar que “consiste en”, “consiste esencialmente en” o “comprende sustancialmente” dicho elemento o elementos concretos, a menos que se indique lo contrario que claramente esté contradicho por el contexto (por ejemplo, una composición que en el presente documento se describe como que comprende un elemento concreto deberá entenderse que también describe una composición que consiste en dicho elemento, a menos que se indique lo contrario o que claramente esté contradicho por el contexto).

Ejemplos

Ejemplo 1 Perfil farmacológico

Ejemplo 1A Inhibición de la captación de serotonina (5-HT) y norepinefrina (NE)

Se preincubaron alícuotas del compuesto de ensayo y de preparación de sinaptosoma cortical de rata durante 10 min/37 °C y después se añadió [³H]NE o [³H]5-HT (concentración final 10 nM). La captación no específica se determinó en presencia de talsupram o citalopram 10 μM y la captación total se determinó en presencia de tampón. Los alícuotas se incubaron durante 15 minutos a 37 °C. Tras la incubación, la [³H]NE o [³H]5-HT captada por los sinaptosomas se separó mediante filtración a través de Unifilter GF/C, previamente empapado en PEI al 0,1 % durante 30 minutos usando un programa Tomtec Cell Harvester. Los filtros se lavaron y contaron en un contador Wallac MicroBeta.

En NET el compuesto I muestra un valor de la CI_{50} de 23 nM. En SERT, el compuesto I muestra un valor de CI_{50} de 8 nM.

Ejemplo 1B Efecto antagonista de 5-HT_{2A}

El compuesto I se sometió a ensayo para determinar las afinidades por los receptores de serotonina y se descubrió que exhibía un perfil de antagonismo con la afinidad en los receptores 5-HT_{2A} (K_i 54 nM). La afinidad se calculó a partir de $Y = 100/(1 + 10^{(X - \log CI_{50})})$, donde Y indica el % de unión y X indica la concentración del compuesto. Para calcular el valor de la CI_{50} se usaron 5 concentraciones del compuesto (1, 10, 30, 100, 1000 nM). La K_i se calculó a partir de la ecuación de Cheng Prusoff: $K_i = (CI_{50}/(1 + ([L]/K_d)))$. La afinidad se determinó en MDL Pharmaservice, número de catálogo 271650.

En células de mamífero que expresan los receptores 5-HT_{2A} humanos, el compuesto I muestra propiedades antagonistas competitivas. El compuesto se une a los receptores 5-HT_{2A} con una $K_i < 100$ nM y en un ensayo funcional, los compuestos antagonizan la liberación provocada en 5-HT de Ca^{2+} a partir de los depósitos intracelulares con una K_b de 67 nM. Un análisis de Schild reveló un antagonismo competitivo con una K_b de 100 nM.

El experimento se llevó a cabo del siguiente modo: 2 o 3 días antes del experimento, las células CHO que expresan 250 fmol/mg de receptores 5-HT_{2A} humanos se siembran a una densidad suficiente para dar una capa monoconfluente el día del experimento. Las células se cargan con pigmento (Ca^{2+} -kit de Molecular Devices) durante 60 minutos a 37 °C en un incubador con CO₂ al 5 % y una humedad del 95%. La fluorescencia basal se monitorizó en un lector de placas de imágenes fluorométricas o FLIPR³⁸⁴ de Molecular Devices (Sunnyvale, CA) con una longitud de onda de excitación de 488 nm y un intervalo de emisión de 500 a 560 nm. La intensidad del láser se fijó en un nivel adecuado para obtener valores basales de aproximadamente 8000-10 000 unidades de fluorescencia. La variación de la fluorescencia basal deberá ser inferior al 10%. Los valores de la CE_{50} se evalúan incrementando las concentraciones del compuesto de ensayo cubriendo al menos 3 décadas. Los valores de pA₂ se evalúan exponiendo las curvas de respuesta a la dosis completa de 5-HT a cuatro concentraciones diferentes del compuesto (150, 400 1500 y 4000 nM). Los valores de K_b también se evaluaron exponiendo 2 décadas de concentraciones a las sustancias de ensayo con CE_{85} de 5-HT. Las sustancias de ensayo se añaden a las células 5 minutos antes de 5-HT. Los valores de K_i se calcularon usando la ecuación de Cheng-Prusoff.

Ejemplo 1C Efecto antagonista de 5-HT_{3A}

En oocitos que expresan los receptores 5-HT_{3A} homoméricos humanos, el 5-HT activa corrientes con una CE_{50} de 2600 nM. Esta corriente se puede antagonizar con antagonistas clásicos de 5-HT₃, tal como ondansetrón. El ondansetrón muestra un valor de K_i inferior a 1 nM en este sistema. El compuesto I exhibe una potente acción antagonista a concentraciones bajas (0,1 nM - 100 nM) ($CI_{50} \sim 10$ nM/ $K_b \sim 2$ nM) y propiedades agonistas cuando se aplica a concentraciones mayores (100 - 100 000 nM) ($CE_{50} \sim 2600$ nM) alcanzando una corriente máxima de aproximadamente el 70-80% de la corriente máxima provocada por la propia 5-HT. En oocitos que expresan los receptores 5-HT_{3A} homoméricos de rata, el 5-HT activa corrientes con una CE_{50} de 3,3 μM. Los experimentos se llevaron a cabo del siguiente modo: Mediante cirugía se extrajeron oocitos de hembras maduras de *Xenopus laevis* anestesiadas en 0,4 % de MS-222 durante 10-15 min. Los oocitos se digirieron después a temperatura ambiente durante 2-3 horas con 0,5 mg/ml de colagenasa (tipo IA Sigma-Aldrich) en tampón OR2 (NaCl 82,5 mM, KCl 2,0 mM, MgCl₂ 1,0 mM y HEPES 5,0 mM, pH 7,6). Los oocitos fuera de la capa folicular se seleccionaron e incubaron durante 24 horas en tampón salino modificado de Barth [NaCl 88 mM, KCl 1 mM, HEPES 15 mM, NaHCO₃ 2,4 mM, CaCl₂ 0,41 mM, MgSO₄ 0,82 mM, Ca(NO₃)₂ 0,3 mM] suplementado con piruvato sódico 2 mM, 0,1 U/l de penicilina y 0,1 μg/l de estreptomina. Los oocitos en estadio IV-IV se identificaron e inyectaron con 12-48 nl de agua exenta nucleasa que contenía 14-50 pg de ARNc que codifica los receptores de 5-HT_{3A} humanos y se incubaron a 18 °C hasta que se

usaron para registros electrofisiológicos (1-7 días después de la inyección). Los oocitos con expresión de receptores de 5-HT₃ humanos se colocaron en un baño de 1 ml y se perfundieron con tampón de Ringer (NaCl 115 mM, KCl 2,5 mM, HEPES 10 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgCl₂ 0,1 mM, pH 7,5). Las células se atravesaron con electrodos 0,5-1 MΩ con agar que contenían KCl 3M y se fijó a una tensión de -90 mV mediante un amplificador GeneClamp 500B. Los oocitos se perfundieron de forma continua con tampón de Ringer y los fármacos se aplicaron en el perfundido. Se aplicaron soluciones agonistas de 5-HT durante 10-30 s. Las potencias de los antagonistas del receptor de 5-HT₃ se analizaron midiendo la concentración-respuesta frente a la estimulación con 5-HT 10 μM.

Ejemplo 1D Efecto antagonista del receptor α_{1A}

Se sometió el compuesto I a ensayo para determinar las afinidades por el receptor α_{1A} y se descubrió que exhibía un perfil antagonista con afinidad media por los receptores α_{1A} (K_i = 34 nM).

El día de los experimentos se descongelaron membranas (véase más adelante una descripción de la preparación de las membranas) y se homogeneizaron en tampón usando un ultra turrax y se diluyeron hasta la concentración deseada (5 μg / pocillo ~ 5 μg / 900 μl, se almacenaron en hielo hasta su uso).

El experimento se inicia mezclando 50 μl del compuesto de ensayo, 50 μl de [³H]-Prazosina y 900 μl de membranas y la mezcla se incuba durante 20 minutos a 25 °C. La unión no específica se determinó en presencia de WB-4101 10 μM y la unión total se determinó en presencia de tampón. Tras la incubación, el ligando unido se separó del no unido mediante filtración a través de Unifilter GF/B, previamente empapado en PEI al 0,1 % durante 30 minutos usando un programa Tomtec Cell Harvester (D4.2.4). 96 pocillos. Los filtros se lavan 3 veces con 1 ml de tampón enfriado en hielo, se secan a 50 °C y se añaden a los filtros 35 μl de líquido de centelleo/pocillo. La radiactividad unida se cuenta en un contador Wallac OY 1450 MicroBeta. La afinidad se calcula a partir de $Y = 100 / (1 + 10^{(X - \log Cl_{50})})$ en la que Y indica el % de unión y X indica la concentración del compuesto. Para calcular el valor de Cl₅₀ se usaron concentraciones del compuesto que abarcan 2 décadas. La K_i se calculó a partir de la ecuación de Cheng Prusoff, $K_i = (Cl_{50} / (1 + ([L] / K_d)))$.

En un ensayo funcional, los compuestos de la presente invención antagonizan la liberación de Ca²⁺ provocada por adrenalina desde los depósitos intracelulares y un ensayo funcional reveló que los compuestos eran antagonistas.

Estos experimentos se llevaron a cabo esencialmente como se describe a continuación.

Todas las células se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de BCS, L-glutamina 4 mM (o 2 mM en el caso de COS-7) y 100 unidades/ml de penicilina más 100 μg/ml de estreptomina, a 37 °C, en CO₂ al 5%.

Veinticuatro horas antes de los ensayos, las células CHO que expresaban los receptores alfa_{1A-7} humanos se sembraron en placas de microvaloración de paredes negras y 384 pocillos revestidas con poli-D-lisina. El medio de cultivo se aspiró y las células se cargaron con pigmento con Fluo-4 1,5 μM en tampón de ensayo compuesto por solución salina equilibrada de Hank (NaCl 138 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 1,3 mM, MgCl₂ 0,5 mM, MgSO₄ 0,4 mM, KH₂PO₄ 0,3 mM, Na₂HPO₄ 0,3 mM, glucosa 5,6 mM) más HEPES 20 mM a pH 7,4, 0,05% de BSA y probenecid 2,5 mM (50 μl/pocillo) durante 1 hora en CO₂ al 5% a 37 °C. Después de desechar el exceso de pigmento, las células se lavaron en tampón de ensayo y se colocaron en capas con un volumen final igual a 45 μl/pocillo (o 30 μl/pocillo para el ensayo de antagonistas). En el caso de la evaluación de antagonistas, se añadió antagonista o vehículo en este punto en forma de un alícuota de 15 μl en tampón con 4% de DMSO a 4x la concentración final (DMSO final = 1 %), seguida por una incubación de 20 minutos. La fluorescencia basal se monitorizó en un lector de placas de imágenes fluorométricas o FLIPR™ de Molecular Devices (Sunnyvale, CA) con una longitud de onda de excitación de 488 nm y un intervalo de emisión de 500 a 560 nm. La energía de excitación con láser se ajustó de modo que las lecturas de fluorescencia basal fueran aproximadamente 8000 unidades de fluorescencia relativa (UFR). Las células se estimularon después a temperatura ambiente con agonistas diluidos en tampón de ensayo (15 μl) y se midieron las UFR a intervalos de 1,5 segundos en un periodo de 2,5 minutos. Para cada pocillo, se calculó el cambio máximo en la fluorescencia. Las curvas de concentración-respuesta derivadas del cambio máximo en la fluorescencia se analizaron mediante regresión no lineal (Ecuación de Hill). Para las determinaciones de agonistas, tras 20 minutos de incubación del compuesto (como se ha indicado anteriormente) se añadieron concentraciones fijas de agonistas estándar de serotonina.

Ejemplo 2A 4-[2-(4-Metilfenilsulfanil)fenil]piperidina, sal HBr

Bromuro de 2-(4-tolilsulfanil)-fenilo

En un reactor cubierto con nitrógeno agitado se inyectó N-metil-pirrolidona, NMP (4,5 l) con nitrógeno durante 20 minutos. Se añadió 4-metilbencenotiol (900 g, 7,25 ml) y a continuación 1,2-dibromobenceno (1709 g, 7,25 mol). Se añadió finalmente terc-butóxido potásico (813 g, 7,25 mol) como último reaccionante. La reacción fue exotérmica provocando un aumento de temperatura de la mezcla de reacción hasta 70 °C. La mezcla de reacción se calentó entonces hasta 120 °C durante 2 - 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió acetato de etilo (4 l) y solución acuosa de cloruro sódico (15%, 2,5 l). La mezcla se agitó durante 20 minutos. Se separó la fase acuosa y se extrajo con otra porción de acetato de etilo (2 l). La fase acuosa se separó y las fases orgánicas se reunieron y se lavaron con solución de cloruro sódico (15%, 2,5 l). La fase orgánica se separó, se secó

con sulfato sódico y se evaporó a presión reducida hasta un aceite rojo que contenía 20 - 30% de NMP. El aceite se diluyó hasta el doble del volumen con metanol y la mezcla se llevó a reflujo. Se añadió más metanol hasta que se obtuvo una solución color rojo transparente. La solución se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente mientras se iniciaba la cristalización. El producto cristalizó como cristales blanquecinos, éstos se aislaron por filtración y se lavaron con metanol y secaron a 40 °C en un horno de vacío hasta peso constante.

4-Hidroxi-4-(2-(4-tolilsulfanil)fenil)-piperidin-1-carboxilato de etilo

En un reactor agitado bajo cubierta de nitrógeno se suspendió bromuro de 2-(4-tolilsulfanil)-fenilo (600 g, 2,15 mol) en heptano (4,5 l). A temperatura ambiente, se añadió BuLi 10 M en hexano (235 ml, 2,36 mol) durante 10 minutos. Solo se apreció una ligera exotermia. La suspensión se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se enfrió hasta -40 °C. Se añadió 1-carbetoxi-4-piperidona (368 g, 2,15 mol) disuelta en THF (1,5 l) a una velocidad tal que la temperatura de reacción se mantenía por debajo de -40 °C. Cuando la reacción hubo llegado a su finalización, ésta se calentó hasta 0 °C y se añadió HCl 1M (1 l) manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C. La fase acuosa ácida se separó y se extrajo con acetato de etilo (1 l). Las fases orgánicas se reunieron y se extrajo con solución de cloruro sódico (15%, 1 l). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó hasta una masa semicristalina. Ésta se suspendió con éter etílico (250 ml) y se separó por filtración. Se secó en un horno de vacío a 40 °C hasta peso constante.

4-(2-(4-Tolilsulfanil)fenil)-piperidin-1-carboxilato de etilo

Se cargó ácido trifluoroacético (2,8 kg, 24,9 mol) y trietilsilano (362 g, 3,1 mol) en un reactor con un agitador eficaz. Se añadió en porciones, mediante un embudo de adición, 4-hidroxi-4-(2-(4-tolilsulfanil)fenil)-piperidin-1-carboxilato de etilo (462 g, 1,24 ml). La reacción fue ligeramente exotérmica. La temperatura se elevó hasta 50 °C. Después de finalizar la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta 60 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadieron tolueno (750 ml) y agua (750 ml). La fase orgánica se aisló y la fase acuosa se extrajo con otra porción de tolueno (750 ml). Se reunieron las fases orgánicas y se lavó con solución de cloruro sódico (15%, 500 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Se separó el sulfato sódico por filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida hasta un aceite rojo que se procesó adicionalmente en la etapa siguiente.

Hidrobromuro de 4-(2-(4-tolilsulfanil)fenil)-piperidina

El 4-(2-(4-tolilsulfanil)fenil)-piperidin-1-carboxilato de etilo bruto, como aceite rojo, del Ejemplo 3 en un reactor agitado se mezcló con ácido bromhídrico en ácido acético (40%, 545 ml, 3,11 mol). La mezcla se calentó a 80 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Durante el enfriamiento, el producto cristalizó. Después de 1 hora a temperatura ambiente, se añadió éter etílico (800 ml) a la mezcla de reacción, y se agitó la mezcla durante otra hora. El producto se separó por filtración, se lavó con éter etílico y se secó en un horno de vacío a 50 °C hasta peso constante.

Ejemplo 2B 4-[2-(4-Metilfenilsulfanil)fenil]piperidina, sal HBr

A 442 gramos de éster etílico del ácido 4-(2-p-tolilsulfanil-fenil)-piperidin-1-carboxílico, agitado y ligeramente calentado (aproximadamente 45 °C) en forma de un aceite se añadieron 545 ml de HBr al 33% en peso en AcOH (5,7 M, 2,5 equivalentes). Esta mezcla dio una exotermia de 10 °C. Después de la adición final, se calentó la mezcla de reacción hasta 80 °C y se dejó durante 18 horas. Se extrajo una muestra y se analizó por HPLC y, si no se completa, debe añadirse más HBr al 33% en peso. En caso contrario, la mezcla se enfría hasta 25 °C provocando la precipitación del hidrobromuro de 4-(2-p-tolilsulfanil-fenil)-piperidina producto. Después de una hora a 25 °C se añaden a la suspensión espesa 900 ml de éter dietílico. Se continúa agitando durante otra hora antes de aislar el producto por filtración, se lava con 400 ml de éter dietílico y se seca a vacío a 40 °C durante la noche. El hidrobromuro del compuesto I se aisló como sólido blanco.

Ejemplo 2C Recristalización de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina, sal HBr

Se calentó una mezcla de 10,0 gramos de la sal HBr, por ejemplo, como la preparada antes, hasta reflujo en 10 ml de H₂O. La mezcla se volvió transparente y se disolvió totalmente a 80-90 °C. A la solución transparente se añadió 1 gramo de carbón y se continuó el reflujo durante 15 minutos antes de filtrar y dejar enfriar espontáneamente hasta temperatura ambiente. Durante el enfriamiento se produjo la precipitación del sólido blanco y se agitó la suspensión durante 1 hora a temperatura ambiente. La filtración y secado a vacío a 40 °C durante la noche produjeron 6,9 gramos (69 %) de la sal de adición de HBr de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]-piperidina.

Ejemplo 3 4-[2-(4-Metilfenulsulfanil)fenil]piperidina, otras sales

Preparación de soluciones madre de la base libre

A una mezcla de 500 ml de acetato de etilo y 200 ml de H₂O se añadieron 50 gramos de la sal HBr produciendo una suspensión bifásica. A esta suspensión se añadieron aproximadamente 25 ml de NaOH concentrado, lo que causó la formación de una solución bifásica transparente (el valor de pH se midió hasta 13-14). La solución se agitó intensamente durante 15 minutos y se separó la fase orgánica. La fase orgánica se lavó con 200 ml de H₂O, se secó

sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a vacío a 60 °C produciendo la base libre con un rendimiento de 38 gramos (99%) como un aceite casi incoloro.

Disolver 10 gramos del aceite y ajustar el volumen hasta 150 ml usando acetato de etilo produjo una solución madre 0,235 M en acetato de etilo de la cual se usaron alícuotas de 1,5 ml (100 mg de la base libre).

- 5 Disolver 10 gramos del aceite y ajustar el volumen hasta 100 ml usando EtOAc al 96% en volumen produjo una solución madre 0,353 M en EtOH de la cual se usaron alícuotas de 1,0 ml (100 mg de la base libre).

Formación de sales usando soluciones madre de la base libre

- 10 Las alícuotas indicadas se colocaron en tubos de ensayo y, mientras se agitaba, se añadió la cantidad apropiada del ácido que se indica en la Tabla 1. Si el ácido era líquido, éste se añadía puro, en caso contrario, se disolvía en el disolvente dado antes de la adición. Después de mezclar y precipitar, se continuó agitando durante la noche y el precipitado se recogió por filtración. La Tabla 2 muestra la solubilidad de sales de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)-fenil]piperidina.

Tabla 1

Ácido (Base:Ácido)	PM (g/mol)	Cantidad de ácido (mg o µl)	Disolvente	CHN (experimental)			CHN (teórico)		
Ácido palmítico, ácido hexadecanoico, 1:1	256,42	90,5	EtOAc	75,36	9,77	2,46	75,64	9,9	2,6
Ácido DL-láctico, ácido DL-2-hidroxi propiónico, 1:1	90,1	31,8	EtOAc	66,88	7,26	3,52	67,53	7,29	3,75
Ácido adípico, ácido 1,6-hexanodioico, 1:1	146,14	51,6	EtOAc	66,08	7,23	2,98	67,1	7,27	3,26
Ácido adípico, ácido 1,6-hexanodioico, 2:1	146,14	25,8	EtOAc	70,66	7,32	3,82	70,75	7,35	3,93
Ácido fumárico, 1:1	116,01	40,9	EtOH	65,71	6,41	3,35	66,14	6,31	3,51
Ácido glutárico, ácido 1,5-pentanodioico, 1:1	132,12	46,6	EtOAc	66,09	6,97	3,2	66,48	7,03	3,37
Ácido malónico, 1:1	104,1	36,7	EtOAc	65,04	6,53	3,54	65,09	6,5	3,62
Ácido oxálico, 1:1	90,1	31,8	EtOH	64,28	6,41	3,61	64,32	6,21	3,75
Ácido sebacoínico, ácido 1,8-octanodioico, 2:1	202,02	35,6	EtOAc	71,79	7,86	3,58	71,83	7,86	3,64
Ácido succínico, ácido 1,4-butanodioico, 2:1	118,1	20,8	EtOAc	65,65	6,86	3,4	65,80	6,78	3,49 (1:1, sal formada)
Ácido L-málico, ácido L-2-hidroxi butanodioico, 1:1, α	134,1	47,3	EtOAc	62,87	6,20	3,22	63,29	6,52	3,36
Ácido L-málico, ácido L-2-hidroxi butanodioico 1:1, β	134,1	47,3	EtOH	62,99	6,66	3,13	63,29	6,52	3,36
Ácido D-tartárico, ácido D-2,3-dihidroxi butanodioico 1: 1	150,1	53,0	EtOH	60,67	6,4	3,07	60,95	6,28	3,23
Ácido L-aspártico, 1:1	133,1	47,0	EtOH	59,31	6,7	7,1 (contiene exceso de ácido)	63,43	6,78	6,73
Ácido glutámico, 1:1	165,15	58,3	EtOH	56,38	6,88	7,35 (contiene exceso de ácido)	56,46	6,94	7,06 (para la sal 1:1 y ácido monohidrato 1:1)
Ácido cítrico, 2:1	192,13	33,9	EtOAc	65,93	6,72	3,44	66,46	6,64	3,69

Ácido (Base:Ácido)	PM (g/mol)	Cantidad de ácido (mg o µl)	Disolvente	CHN (experimental)	CHN (teórico)
HCl/Et ₂ O, 1:1	2 M	176,4	EtOH		
Ácido fosfórico, 1: 1	14,7 M	24,0	EtOAc	55,79 6,47 3,43	56,68 6,34 3,67

Tabla 2

Ácido (Base:Ácido)	Solubilidad (mg/ml)
Ácido palmítico, ácido hexadecanoico 1:1	0,4
Ácido DL-láctico, ácido DL-2-hidroxi propiónico 1:1	>150
Ácido adípico, ácido 1,6-hexanodioico 1:1	2,5
Ácido adípico, ácido 1,6-hexanodioico 2:1	1,0
Ácido fumárico 1:1	0,2
Ácido glutárico, ácido 1,5-pentanodioico 1:1	13
Ácido malónico 1:1 (α)	5,2
Ácido oxálico 1:1	1,1
Ácido sebacoínico, ácido 1,8-octanodioico 2:1	0,7
Ácido succínico, ácido 1,4-butanodioico, 2:1	2,0
Ácido L-málico, ácido L-2-hidroxi butanodioico 1:1,β	2,8
Ácido D-tartárico, ácido D-2,3-dihidroxi butanodioico 1: 1	1,8
Ácido L-aspártico 1:1	39
Ácido glutámico 1:1	>35
Ácido cítrico 2:1	0,5
Ácido fosfórico 1:1	6,0
HCl	4,5
HBr	2,4

5 Ejemplo 4 Efecto sobre los niveles de acetilcolina

El experimento de diseño para evaluar los efectos del compuesto I sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en la corteza prefrontal y el hipocampo ventral de ratas en movimiento libre.

Se usaron ratas macho Sprague-Dawley de 275 a 300 g de peso inicial. Los animales se introdujeron en jaulas en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas en condiciones controladas con una temperatura interna regular (21 ± 2 °C) y humedad 55 ± 5%) con alimentos y agua corriente disponible a demanda.

Cirugía y experimentos de microdiálisis

Se anestesió a las ratas con hipnorm/dormicum (2 ml/kg) y se implantaron cánulas guía intracerebrales (CMA/12) estereotáxicamente en el hipocampo, dirigidas a la posición de la punta de la sonda para diálisis en el hipocampo ventral (coordenadas: 5,6 mm posterior a la bregma, lateral -5,0 mm, 7,0 mm ventral a la dura o en la corteza frontal (coordenadas: 3,2 mm anterior a la bregma; lateral, 0,8 mm; 4,0 mm ventral a la dura). Se usaron tornillos de anclaje y cemento acrílico para la fijación de las cánulas guía. La temperatura del cuerpo de los animales se monitorizó mediante sonda rectal y se mantuvo a 37 °C. Se dejó que las ratas se recuperaran de la cirugía durante 2 días, en jaulas de forma individual. El día del experimento, se insertó, a través de la cánula guía, una sonda para microdiálisis (CMA/12, diámetro de 0,5 mm, longitud de 3 mm).

Las sondas se conectaron a través de un pivote de canal doble a una bomba de microinyección. Poco después de la inserción de la sonda en el cerebro comenzó la perfusión de la sonda para microanálisis con solución de Ringer filtrada (NaCl 145 mM, KCl 3 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1,2 mM que contenía neostigmina 0,5 µM) y continuó durante todo el experimento a un caudal constante de 1 µl/min. Tras 180 minutos de estabilización, se iniciaron los experimentos. Los dializados se recogieron cada 20 minutos. Después de los experimentos se sacrificó a los animales, se extirparon sus cerebros, se congelaron, se laminaron para la verificación de la colocación de la sonda.

Análisis del dializado acetilcolina

La concentración de acetilcolina (ACh) en los dializados se analizó por medio de HPLC con detección electroquímica usando una fase móvil que consiste en hidrogenofosfato disódico 100 mM, ácido octanosulfónico 2,0 mM, cloruro de tetrametilamonio 0,5 mM y 0,005% de MB (ESA), pH 8,0. Un reactor enzimático pre-columna (ESA) que contiene colina oxidasa inmovilizada eliminó la colina de la muestra inyectada (10 µl) antes de la separación de la ACh en la columna analítica (ESA ACH-250); caudal 0,35 ml/min, temperatura: 35 °C. Después de la columna analítica la muestra se hizo pasar a través de un reactor de fase sólida post-columna (ESA) que contenía acetilcolinesterasa inmovilizada y colina oxidasa. El último reactor convirtió la ACh en colina y, después, la colina en betaína y H₂O₂. Esto último se detectó electroquímicamente usando un electrodo de platino (Célula analítica: ESA, modelo 5040).

Presentación de datos:

En los experimentos de inyección única, el valor medio de 3 muestras de ACh consecutivas inmediatamente antes de la administración del compuesto sirvió como nivel basal para cada experimento y los datos se convirtieron en el porcentaje del valor basal (valores medios basales previos a la inyección normalizados al 100%). Los datos se presentan en la Figura 1a y 1b.

Los datos presentados en las figuras 1a y 1b muestran un incremento dependiente de la dosis de los niveles extracelulares de acetilcolina en el cerebro. Es de esperar que este hallazgo preclínico se traduzca en una mejora de la cognición en un contexto clínico útil en, por ejemplo, el tratamiento del deterioro cognitivo y enfermedades que se caracterizan por un deterioro cognitivo.

Ejemplo 5 Efecto sobre los niveles de dopamina

Una única inyección del compuesto I aumentó de forma dependiente de la dosis de los niveles extracelulares de dopamina (DA) en la corteza frontal de las ratas. El compuesto de la presente invención a 8,9 mg/kg y 18 mg/kg por vía subcutánea potenció los niveles de DA en aproximadamente 100% y 150%, respectivamente, por encima de los niveles basales tal como se representa en la figura 2. Las cantidades se calculan como la base libre.

Procedimiento

Se usaron ratas macho Sprague-Dawley de 275 a 300 g de peso inicial. Los animales se introdujeron en jaulas en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas en condiciones controladas con una temperatura interna regular (21 ± 2 °C) y humedad 55 ± 5%) con alimentos y agua corriente disponible a demanda. Para los experimentos de tratamiento de tres días se usaron minibombas osmóticas (Alzet, 2ML1). Las bombas se cargaron en condiciones asépticas y se implantaron subcutáneamente con anestesia de sevoflurano. Los experimentos se llevaron a cabo con las minibombas integradas. Las muestras de sangre para medir los niveles en plasma del compuesto de ensayo tras 3 días de tratamiento se obtuvieron al final de los experimentos.

Cirugía y experimentos de microdiálisis.

Se anestesió a los animales con hipnorm/dormicum (2 ml/kg) y) se implantaron cánulas guías intracerebrales (CMA/12) estereotáxicamente en el hipocampo, dirigidas a la posición de la punta de la sonda para diálisis en el hipocampo ventral (coordenadas: 5,6 mm anterior a la bregma, lateral -5,0 mm, 7,0 mm ventral a la dura o en la corteza frontal (coordenadas: 3,2 mm anterior a la bregma; lateral, 3,0 mm; 4,0 mm ventral a la dura). Se usaron tornillos de anclaje y cemento acrílico para la fijación de las cánulas guía. La temperatura del cuerpo de los animales se monitorizó mediante sonda rectal y se mantuvo a 37 °C. Se dejó que las ratas se recuperaran de la cirugía durante 2 días, en jaulas de forma individual. El día del experimento, se insertó a través de la cánula guía una sonda para microdiálisis (CMA/12, diámetro de 0,5 mm, longitud de 3 mm). Las sondas se conectaron a través de un pivote de canal doble a una bomba de microinyección. Poco después de la inserción de la sonda en el cerebro comenzó la perfusión de la sonda para microanálisis con solución de Ringer filtrada (NaCl 145 mM, KCl 3 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1,2 mM) y continuó durante todo el experimento a un caudal constante de 1 (1,3) µl/min. Tras 180 minutos de estabilización se iniciaron los experimentos. Los dializados se recogieron cada 20 (30) minutos.

Después de los experimentos se sacrificó a las ratas mediante decapitación, se extirparon sus cerebros, se congelaron, se laminaron para la verificación de la colocación de la sonda.

Análisis de los dializados.

La concentración de dopamina en los dializados se analizó mediante HPLC con detección electroquímica. Las monoaminas se separaron mediante cromatografía de líquidos de fase inversa (ODS 150 x 3 mm, 3 µM). Dopamina:

Fase móvil que consiste en NaH_2PO_4 90 mM, citrato sódico 50 mM, ácido 1-octanosulfónico sódico 367 mg/l, EDTA 50 μM y 8% de acetonitrilo (pH 4,0) a un caudal de 0,5 ml/min. La detección electroquímica se consiguió usando un detector coulombimétrico, con el potencial fijado a 250 mV (celda de guarda a 350 mV) (Coulchem II, ESA).

Ejemplo 6 Efecto sobre el dolor neuropático

5 Para demostrar la eficacia contra el dolor neuropático se analizó el compuesto 1 en el modelo de formalina de dolor neuropático [Neuropharm., 48, 252-263, 2005; Pain, 51, 5-17, 1992]. En este modelo, los ratones reciben una inyección de formalina (4,5%, 20 μl) en la superficie plantar de la almohadilla de la pata trasera y, después, se introducen en vasos de precipitado de vidrio individual (2 l de capacidad) para observación. La irritación causada por la inyección de formalina se ve por el tiempo que la rata se chupa la pata dañada. La primera fase (~0-10 minutos) representa la irritación química directa y la nocicepción, mientras que la segunda (~20-30 minutos) se piensa que representa el dolor de origen neuropático. Las dos fases están separadas por un periodo quiescente en el que el comportamiento retorna a lo normal. La medición del período de tiempo que el animal está chupando la pata dañada en las dos fases evalúa la eficacia de los compuestos de ensayo para reducir los estímulos dolorosos.

15 Se analizaron ocho ratones C57/B6 (aproximadamente 25 g) por grupo. La Tabla 3 que figura a continuación muestra el tiempo que el animal está chupando la pata dañada en dos fases, es decir 0-5 minutos y 20-30 minutos tras la inyección de formalina. La cantidad de compuesto se calcula como la base libre.

Tabla 3

	Vehículo	1,0 mg/kg	2,5 mg/kg	10 mg/kg
0-5 minutos (s)	42	37	30	37
20-30 minutos (s)	41	43	26	6

20 Los datos de la Tabla 3 muestran que el compuesto I tiene poco efecto en la primera fase que representa la irritación química directa y la nocicepción. Más notable es el hecho de que los datos también muestran una disminución evidente y dependiente de la dosis en el tiempo que el animal está chupando las patas en la segunda fase, lo que indica un efecto del compuesto I en el tratamiento del dolor neuropático.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación farmacéutica líquida que comprende una sal de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina seleccionada de la sal de adición del ácido DL-láctico, la sal de adición del ácido glutárico, la sal de adición del ácido L-aspártico y la sal de adición del ácido glutámico.
2. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha sal es la sal de adición del ácido DL-láctico.
3. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha sal es la sal de adición del ácido glutárico.
- 10 4. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha sal es la sal de adición del ácido L-aspártico.
5. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha sal es la sal de adición del ácido glutámico.
- 15 6. La formulación líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la concentración de dicha sal es superior a 5 mg/ml.
- 20 7. Una sal de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina seleccionada de la sal de adición del ácido DL-láctico, la sal de adición del ácido glutárico, la sal de adición del ácido L-aspártico y la sal de adición del ácido glutámico para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de trastornos del estado de ánimo, trastorno de depresión mayor, trastorno de ansiedad general, depresión atípica, depresión bipolar, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático, abuso, trastorno de la alimentación, trastorno del sueño, enfermedad de Alzheimer, demencia, dolor crónico, depresión asociada con deterioro cognitivo, depresión asociada con psicosis, deterioro cognitivo en esquizofrenia, depresión o ansiedad asociada con dolor, alteraciones del comportamiento en ancianos, TDAH, melancolía, depresión resistente al tratamiento y depresión son síntomas residuales, en la que dicha sal es una formulación farmacéutica líquida.
- 25 8. La sal de acuerdo con la reivindicación 7, siendo dicha sal la sal de adición del ácido DL-láctico de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina.
9. La sal de acuerdo con la reivindicación 7, siendo dicha sal la sal de adición del ácido glutárico de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina.
- 30 10. La sal de acuerdo con la reivindicación 7, siendo dicha sal la sal de adición del ácido L-aspártico de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina.
11. La sal de acuerdo con la reivindicación 7, siendo dicha sal la sal de adición del ácido glutámico de 4-[2-(4-metilfenilsulfanil)fenil]piperidina.
- 35 12. La sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en la que dicha formulación comprende más de 5 mg/ml de dicha sal.
13. Un envase provisto con un cuentagotas, comprendiendo dicho envase una formulación líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

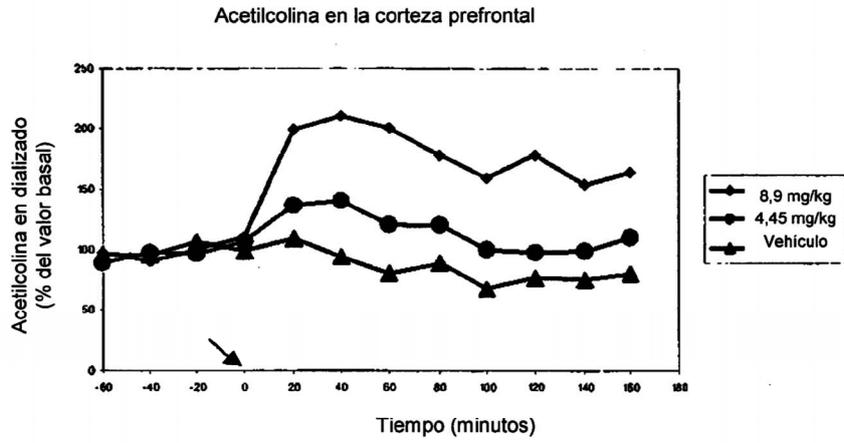


Fig. 1a

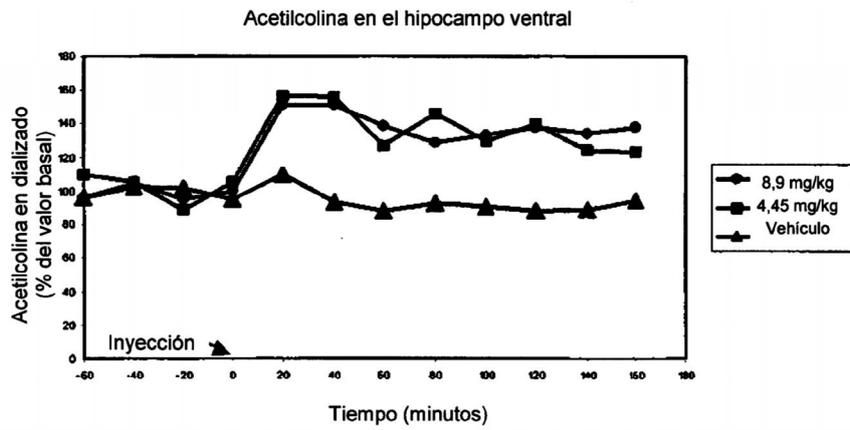


Fig. 1 b

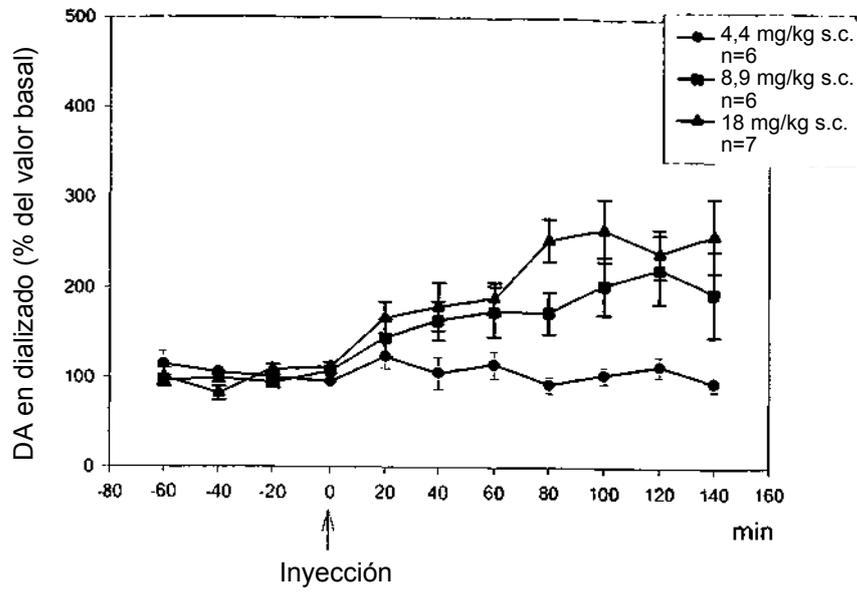


Fig. 2