

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 200**

51 Int. Cl.:
C07D 295/08 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)
A61P 25/32 (2006.01)
A61P 25/34 (2006.01)
A61P 25/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07764495 .3**
96 Fecha de presentación: **15.06.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2044043**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.04.2009**

54 Título: **1-[2-(2,4-Dimetilfenilsulfanyl)fenil]piperazina como compuesto con recaptación de serotonina combinada con actividad 5-HT3 y 5-HT1A para el tratamiento del deterioro cognitivo**

30 Prioridad:
16.06.2006 DK 200600824
16.06.2006 US 805014 P
22.09.2006 DK 200601223
22.09.2006 US 826666 P
25.10.2006 DK 200601384
25.10.2006 US 862826 P
20.03.2007 DK 200700427

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.04.2012

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

72 Inventor/es:
BANG-ANDERSEN, Benny;
FALDT, André;
MØRK, Arne;
LOPEZ DE DIEGO, Heidi;
HOLM, René;
STENSBØL, Tine Bryan;
RINGGAARD, Lone Munch;
MEALY, Michael J.;
ROCK, Michael Harold;
BRODERSEN, Jørgen;
JØRGENSEN, Morten y
MOORE, Nicholas

74 Agente/Representante:
de Elizaburu Márquez, Alberto

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).

ES 2 379 200 T3

DESCRIPCIÓN

1-[2-(2,4-Dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina como compuesto con recaptación de serotonina combinada con actividad 5-HT₃ y 5-HT_{1A} para el tratamiento del deterioro cognitivo

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a compuestos que manifiestan actividad de inhibición de la recaptación de serotonina, combinada con actividad sobre el receptor de serotonina 1A (5-HT_{1A}) y el receptor de serotonina 3 (5-HT₃), y que, por tanto, son útiles para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el SNC.

Antecedentes de la invención

- 10 Los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) han sido durante muchos años los primeros compuestos terapéuticos de elección para el tratamiento de ciertas enfermedades del SNC, en particular la depresión, la ansiedad y las fobias sociales, debido a que son eficaces, bien tolerados y a que poseen un perfil de seguridad favorable en comparación con los compuestos empleados anteriormente, es decir, los clásicos compuestos tricíclicos.

- 15 Sin embargo, el tratamiento terapéutico que utiliza SSRI está estorbado por una parte importante de sujetos no respondedores (es decir, pacientes que no responden o que solamente responden en una extensión limitada al tratamiento con SSRI). Además, típicamente, el tratamiento con SSRI no comienza a mostrar efecto hasta después de varias semanas de tratamiento.

- 20 Con objeto de obviar algunas de estas deficiencias del tratamiento con SSRI, los psiquiatras frecuentemente hacen uso de estrategias de aumento. El aumento de antidepresivos puede conseguirse, por ejemplo, por combinación con estabilizantes del humor, tales como el carbonato de litio o la triyodotironina, o mediante el uso paralelo de electrochoque.

- 25 Es sabido que una combinación de inhibición del transportador de serotonina (SERT) con actividad sobre uno o más receptores de serotonina, puede ser beneficiosa. Se ha encontrado anteriormente que la combinación de un inhibidor de la recaptación de serotonina con un compuesto que posea efecto antagonístico de 5-HT_{2C} o efecto agonístico inverso, (compuestos que poseen una eficacia negativa en el receptor 5-HT_{2C}), proporciona un aumento considerable del nivel de 5-HT (serotonina) en zonas terminales, medido en experimentos de microdiálisis (documento WO 01/41701). Esto podría implicar un período más corto de iniciación del efecto antidepresivo en la clínica y un aumento o potenciación del efecto terapéutico del inhibidor de la recaptación de serotonina (SRI).

- 30 De modo semejante, se ha indicado que la combinación de pindolol, que es un agonista parcial de 5-HT_{1A}, con un inhibidor de la recaptación de serotonina da lugar a una iniciación rápida del efecto [Psych. Res. 125, 81-86, 2004].

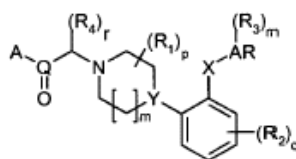
Las enfermedades relacionadas con el SNC tales como, por ejemplo, la depresión, la ansiedad y la esquizofrenia, son frecuentemente comórbidas con otros trastornos o disfunciones, tales como déficits o deterioros cognitivos [Scand. J. Psych., 43, 239-251, 2002; Am. J. Psych., 158, 1722-1725, 2001].

- 35 Se supone que diversos neurotransmisores están implicados en los acontecimientos neuronales que regulan la cognición. En particular, el sistema colinérgico desempeña un papel prominente en la cognición, y los compuestos que afectan al sistema colinérgico son, por tanto, potencialmente útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo. Se sabe que los compuestos que afectan al receptor 5-HT_{1A} y/o al receptor 5-HT₃ afectan al sistema colinérgico y que, por consiguiente, pueden ser útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo.

- 40 Por tanto, podría esperarse que un compuesto que ejerza actividad de receptor 5-HT_{1A} y/o 5-HT₃ pudiera ser útil para el tratamiento del deterioro cognitivo. Un compuesto que, además, ejerciera también actividad de SERT sería particularmente útil para el tratamiento del deterioro cognitivo en pacientes depresivos, puesto que tal compuesto proporcionaría, asimismo, una iniciación rápida del tratamiento de la depresión.

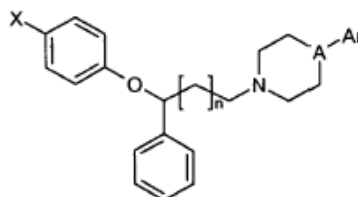
El documento WO 03/029232 describe, por ejemplo, el compuesto 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (ejemplo 1e) como un compuesto que posee actividad de SERT.

- 45 El documento WO 03/053942 describe compuestos de la fórmula



cuyos compuestos se dice que son útiles para el tratamiento de trastornos cognitivos.

El documento WO 2005/094896 describe compuestos de la fórmula



5 cuyos compuestos se dice que son inhibidores de la recaptación de serotonina y que poseen actividad de 5-HT₃.

El documento ES 2154605 describe compuestos de la fórmula



cuyos compuestos se dice que poseen actividad de 5-HT₃ y 5-HT_{1A}.

Sumario de la invención

10 Los solicitantes presentes han encontrado, sorprendentemente, que el compuesto 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]-piperazina ejerce una combinación de inhibición de SERT, antagonismo de 5-HT₃ y agonismo parcial de 5-HT_{1A}. Por consiguiente, en una realización la presente invención proporciona el compuesto I que es 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina y sus sales farmacéuticamente aceptables, cuyo compuesto es cristalino.

En una realización, la invención proporciona el uso del compuesto I en terapia.

15 En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto I.

En una realización, la invención proporciona el uso del compuesto I para preparar un medicamento.

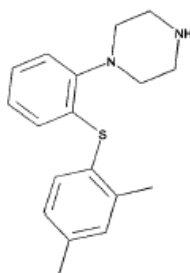
Figuras

- Figura 1: XRPD de la base cristalina
- Figura 2: XRPD de la forma alfa de la sal hidrobromuro
- 20 Figura 3: XRPD de la forma beta de la sal hidrobromuro
- Figura 4: XRPD de la forma gamma de la sal hidrobromuro
- Figura 5: XRPD del hemihidrato de la sal hidrobromuro
- Figura 6: XRPD de la mezcla del solvato de acetato de etilo y la forma alfa de la sal hidrobromuro
- Figura 7: XRPD de la sal hidrocloreuro
- 25 Figura 8: XRPD del monohidrato de la sal hidrocloreuro
- Figura 9: XRPD de la sal mesilato
- Figura 10: XRPD de la sal fumarato
- Figura 11: XRPD de la sal maleato

- Figura 12: XRPD de la sal mesotarttrato
 Figura 13: XRPD de la sal L-(+)-tartrato
 Figura 14: XRPD de la sal D-(-)-tartrato
 Figura 15: XRPD de la sal sulfato
 5 Figura 16: XRPD de la sal fosfato
 Figura 17: XRPD de la sal nitrato
 Figura 18: Efecto de compuestos de la presente invención en el ensayo con formalina intradérmica. El eje X muestra la cantidad de compuesto administrada; el eje Y muestra el periodo de tiempo (segundos) consumido en la lamedura de las patas. Figura 18a: Respuesta en el periodo de 0-5 minutos.. Figura 18b: Respuesta en el periodo
 10 de 20-30 minutos.
 Figura 19a: Niveles extracelulares de acetilcolina en el córtex prefrontal de ratas que se muevan libremente, después de la administración de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.
 Figura 19b: Niveles extracelulares de acetilcolina en el hipocampo ventral de ratas que se mueven libremente, después de la administración de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.
 15 Figura 20: Efecto de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina sobre el condicionamiento de temor contextual en ratas Sprague-Dawley, administrada 60 minutos antes de la adquisición. El comportamiento de inmovilización fue calificado durante un periodo de habituación de 58 s antes de la descarga a las patas US (adquisición de descarga previa) (*barras blancas*). El comportamiento de inmovilización fue calificado 24 horas después del entrenamiento (ensayo de retención) (*barras negras*).
 20 Figura 21: Efecto de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. sobre el condicionamiento de temor contextual en ratas Sprague-Dawley, administrada 1 hora antes del ensayo de retención. El comportamiento de inmovilización fue calificado durante 58 segundos antes de la descarga a las patas US (adquisición) (*barras blancas*). El comportamiento de inmovilización fue medido 24 horas después del entrenamiento (ensayo de retención) (*barras negras*).
 25 Figura 22: Efecto de la sal HBr 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, sobre el condicionamiento al temor contextual en ratas Sprague-Dawley, administrada inmediatamente después de la adquisición. El comportamiento de inmovilización fue calificado durante 58 segundos antes de la descarga a las patas US (adquisición antes de la descarga) (*barras blancas*). El comportamiento de inmovilización se midió 24 horas después del entrenamiento (ensayo de retención) (*barras negras*).
 30 *XRPD : Difracción de rayos-X de polvo

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere al compuesto I, 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, cuya estructura es :



y sus sales farmacéuticamente aceptables, cuyo compuesto es cristalino.

- 35 En una realización, dichas sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido de ácidos que son no tóxicos. Dichas sales incluyen sales de ácidos orgánicos tales como los ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, oxálico, bis-metilenosalicílico, metanosulfónico, etanodisulfónico, acético, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, málico, mandélico, cinámico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, itacónico, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico y teofilina-acético, así como las 8-haloteofilinas, por ejemplo, la 8-bromoteofilina. Dichas sales pueden obtenerse también a partir de ácidos inorgánicos, tales como
 40 los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico y nítrico. Se hace una mención particular de las sales obtenidas a partir del ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido mesotartárico, ácido (+)-tartárico, ácido (-)-tartárico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosforoso y ácido nítrico. Se hace mención especial de la sal hidrobromuro.
 45 Las formas farmacéuticas para administración oral, y en particular, los comprimidos, son frecuentemente preferidas por los pacientes y por el médico debido a la facilidad de administración y, por consiguiente, a la mejor aceptación.

Para preparar comprimidos, es preferible que los ingredientes activos sean cristalinos. Los compuestos de la presente invención son cristalinos.

5 En una realización, los cristales de la presente invención son solvatos, es decir, cristales en los que moléculas de disolventes forman parte de la estructura del cristal. El solvato puede formarse a partir de agua, en cuyo caso los solvatos se denominan frecuentemente hidratos. Alternativamente, los solvatos pueden formarse a partir de otros disolventes tales como, por ejemplo, etanol, acetona o acetato de etilo. La cantidad exacta de solvato depende frecuentemente de las condiciones. Por ejemplo, típicamente, los hidratos pierden agua a medida que aumenta la temperatura o a medida que disminuye la humedad relativa.

En una realización, los compuestos de la presente invención son cristales sin solvatar.

10 Algunos compuestos son higroscópicos, es decir, absorben agua cuando se exponen a humedad. La higroscopicidad se considera generalmente una propiedad indeseada de compuestos que han de ser presentados en un preparado farmacéutico., en particular en una forma farmacéutica seca tal como la de comprimidos. En una realización, la invención proporciona cristales con baja higroscopicidad. Para forma farmacéuticas para vía oral que emplean ingredientes activos cristalinos es beneficioso también que dichos cristales estén bien definidos. En el
15 contexto presente, la expresión "bien definidos" significa, en particular, que la estequiometría está bien definida, es decir, que la razón entre los iones que forman la sal es la razón de los números enteros sencillos, tales como 1:1, 1:2, 2:1, 1:1:1, etc. En una realización los compuestos de la presente invención son cristales bien definidos.

20 Los compuestos cristalinos de la presente invención pueden existir en más de una forma, es decir, pueden existir en formas polimórficas. Existen formas polimórficas si un compuesto puede cristalizar en más de una forma. La presente invención está destinada a englobar todas tales formas polimórficas, tanto si se trata de compuestos puros como de mezclas de los mismos.

En una realización. los compuestos de la presente invención están en forma purificada. La expresión "forma purificada" se entiende que indica que el compuesto está esencialmente exento de otros compuestos o de otras formas del mismo compuesto, como puede ser el caso.

25 En una realización, la invención proporciona sales cristalinas de compuestos de la presente invención con XRPD como se muestra en las Figuras 1-17 y, en particular, en las Figuras 2, 3, 4 y 5.

La tabla que se expone a continuación muestra las reflexiones principales de XRPD de compuestos de la presente invención.

30 Posiciones seleccionadas de los picos de rayos -X (2θ). Todos los valores $\pm 0,1^\circ$

Base cristalina	11,10	16,88	17,42	22,23
-hidrobromuro (α)	5,85	9,30	17,49	18,58
-hidrobromuro (β)	6,89	9,73	13,78	14,62
-hidrobromuro (γ)	11,82	16,01	17,22	18,84
-hidrobromuro (hidrato)	10,69	11,66	15,40	17,86
-hidrobromuro (solvato de acetato de etilo)	8,29	13,01	13,39	16,62
-hidrocloruro	9,41	12,37	19,66	22,55
-hidrocloruro (monohidrato)	7,72	13,45	15,39	17,10
-mesilato	8,93	13,39	15,22	17,09
-hidrogenofumarato	5,08	11,32	17,12	18,04
-hidrogenomaleato	9,72	13,19	14,72	17,88
-mesohidrogenotartrato	9,51	10,17	16,10	25,58
-L-(+)-hidrogenotartrato	13,32	13,65	14,41	15,80
-D-(-)-hidrogenotartrato	13,32	13,65	14,41	15,80
-hidrogenosulfato	11,82	17,22	17,72	20,13
-dihidrogenofosfato	7,91	11,83	15,69	17,24
-nitrato	12,50	17,41	18,12	18,47

Como ponen de manifiesto, por ejemplo, las figuras 2-5, los compuestos de la presente invención, en su caso la sal hidrobromuro, pueden existir en varias formas, es decir, ser polimórficos. Las formas polimórficas poseen

propiedades diferentes, como muestra el ejemplo 4d. La forma beta de la sal hidrobromuro es la más estable como se demuestra por el mayor punto de fusión en el ensayo de DSC y la menor solubilidad. Además, la forma beta posee una combinación atractiva de baja higroscopicidad y solubilidad, lo que hace que este compuesto sea especialmente adecuado para fabricar comprimidos. Por consiguiente, en una realización, la invención proporciona la sal hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina con reflexiones de XRPD en aproximadamente 6,89, 9,73, 13,78 y 14,62 ($^{\circ}$), y en particular con XRPD como muestra la figura 3.

La solubilidad de un ingrediente activo tiene también importancia para la elección de la forma farmacéutica ya que esto puede tener un impacto directo sobre la biodisponibilidad. Se opina que, para formas farmacéuticas de administración oral, una mayor solubilidad del ingrediente activo es generalmente beneficiosa ya que esto aumenta la biodisponibilidad.

La neurotransmisión colinérgica relacionada con el córtex cerebral y el hipocampo es de gran importancia para la cognición, y muchas observaciones preclínicas destacan la importancia del receptor de serotonina 1A (5-HT_{1A}) para este sistema. T. Koyama en *Neurosci. Lett.*, 265, 13-36, 1999 indica que el agonista de 5-HT_{1A} BAYX3702 aumenta el flujo de acetilcolina desde el córtex cerebral y el hipocampo de la rata. De modo interesante, el antagonista de 5-HT_{1A} WAY-100635 es capaz de eliminar el efecto del BAYX3702 lo que pone de manifiesto que el efecto de BAYX3702 es mediado por el 5-HT_{1A}.

Diversos estudios han indicado el efecto de moduladores del 5-HT_{1A} sobre el deterioro cognitivo. A. Meneses en *Neurobiol. Learn. Memory*, 71, 207-218, 1999, expone que el agonista parcial de 5-HT_{1A} (\pm)-8-hidroxi-2-di-n-propilamino)tetralina, HCl, (8-OH-DPAT), facilita la consolidación de aprendizaje en la rata normal y normaliza las funciones cognitivas en la rata deteriorada cognitivamente.

Estas observaciones preclínicas parecen reflejarse también en la clínica. T. Sumiyoshi en *Am. J. Psych.*, 158, 1722-1725 expone un estudio en el que pacientes recibieron antipsicóticos típicos, tales como haloperidol, sulpirida y pimozida, todos los cuales carecen de actividad del 5-HT_{1A}, en combinación con placebo o tandospirona, que es un agonista del 5-HT_{1A}. Los pacientes que habían recibido tandospirona además del antipsicótico pusieron de manifiesto una mejora de su comportamiento cognitivo, mientras que los pacientes que habían recibido placebo no lo hicieron. De modo semejante, los antipsicóticos atípicos tales como clozapina, que también son agonistas del 5-HT_{1A}, intensifican el conocimiento en pacientes esquizofrénicos, mientras que los antipsicóticos típicos, tales como el haloperidol, que no tiene actividad de 5-HT_{1A}, no lo hace. Y. Chung, *Brain Res.*, 1023, 54-63, 2004.

Como se ha mencionado anteriormente, se opina que el sistema colinérgico está implicado en los acontecimientos neuronales que regulan la cognición, y el sistema colinérgico puede estar sujeto a un control inhibitorio por el receptor 3 de serotonina (5-HT₃) [(Giovannini et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998, 285:1219-1225; Costall y Naylor, *Current Drug Targets – CNS and Neurobiol Disord*, 2004, 3:27-37)]

En un ensayo de habituación en ratones, en una tarea de alternación reforzada de laberinto en T de la rata, y en tarea objeto de discriminación y aprendizaje invertido en titis, el ondansetrón redujo el deterioro ocasionado por el antagonista muscarínico escopolamina o las lesiones de los caminos colinérgicos que emergen desde el nucleus basalis (Barnes et al., *Pharmacol. Biochem. Behv.*, 1990, 35:955-962; Carey et al., *Pharmacol. Biochem. Behv.*, 1992, 42:75-83). Boast et al (*Neurobiol. Learn. Mem.*, 1999, 71:259-271) utilizaron MK-801, un antagonista no competitivo del receptor de NMDA, para interrumpir el comportamiento cognitivo de ratas entrenadas en una tarea retardada sin equiparar con un laberinto radial de muestra. Se puso de manifiesto que el ondansetrón bloqueaba el deterioro cognitivo. Además, en un estudio sobre el efecto amnésico del etanol en una tarea de evitación pasiva en el ratón, este efecto amnésico del etanol fue restaurado parcialmente al normal por el ondansetrón (Napiorkowska-Pawlak et al., *Fundam. Clin. pharmacol.*, 2000, 14:125-131). Por tanto, la facilitación de la transmisión colinérgica por antagonismo del 5-HT₃ después de deterioro del sistema colinérgico en modelos preclínicos (Diez-Ariza et al., *Psychopharmacology*, 2003, 169:35-41; Gil-Bea et al., *Neuropharmacol.*, 2004, 47:225-232), sugiere una base para usar este tratamiento en la terapia de trastornos cognitivos.

En un estudio cruzado a doble ciego, efectuado aleatoriamente, en sujetos machos sanos, la evaluación de la memoria verbal y espacial y la atención mantenida, demostraron que el antagonista de 5-HT₃ alosetrón atenuaba los déficits inducidos por escopolamina en la memoria verbal y espacial (Preston, *Recent Advances in the treatment of Neurodegenerative disorders and cognitive function*, 1994, (compiladores) Racagni y Langer, Basel Karger, páginas 89-93)

En conclusión, se opina que los compuestos que ejercen actividad agonística parcial de 5-HT_{1A} en combinación con la actividad antagonística del 5-HT₃, son particularmente útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo. Los compuestos que, además, ejercen inhibición de la recaptación de serotonina, podrían ser especialmente útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo asociado con depresión, ya que la inhibición de la recaptación de serotonina en

combinación con el agonismo parcial del 5-HT_{1A} puede conducir a una iniciación más rápida del efecto del tratamiento de la depresión.

5 Como ilustra el ejemplo 1, los compuestos de la presente invención son inhibidores potentes del transportador de serotonina humana, es decir, estos compuestos inhiben la recaptación de la serotonina. Además, los compuestos son antagonistas potentes en el receptor 5-HT₃ del ratón, la rata, el cobaya y canino. En el receptor 5-HT₃ humano, clonados en oocitos, se encontró que los compuestos eran antagonistas en concentraciones bajas (IC₅₀ aproximadamente 30 nM), mientras que en concentraciones mayores los compuestos manifiestan propiedades agonísticas (ED₅₀ = 2,1 μM). Una aplicación subsiguiente de los compuestos de la presente invención en concentración alta no mostraron respuesta agonística alguna, lo que pudiera ser debido a una disminución rápida de la sensibilidad o a un antagonismo directo *in vitro*. Por consiguiente, en concentraciones bajas los compuestos de la presente invención ponen de manifiesto un antagonismo marcado en el receptor 5-HT₃ humano tal como el observado sobre el receptor 5-HT₃ procedente de otras especies.

15 Los compuestos de la presente invención se unen con muy baja afinidad al receptor 5-HT_{1A} en homogeneizado de cerebro de la rata y el ratón, ambos. Sin embargo, los compuestos de la presente invención se unen al receptor 5-HT_{1A} humano con una K_i de 40 nM. Además, resultados funcionales muestran que los compuestos de la presente invención son agonistas parciales en el receptor 5-HT_{1A} humano, poniendo de manifiesto una eficacia de 85%,

Se ha anticipado que la actividad de la presente invención en el SERT, y los receptores 5-HT₃ y 5-HT_{1A}, contribuye al perfil *in vivo* del compuesto en los seres humanos.

20 Como se muestra en el ejemplo 26, los compuestos de la presente invención dan lugar a un aumento en el nivel extracelular de acetilcolina en el córtex prefrontal y el hipocampo ventral de la rata. Estos descubrimientos preclínicos se espera que sean traducidos en un efecto clínico para el tratamiento de deterioros cognitivos, como el uso de inhibidores de la acetilcolina esterasa en el tratamiento de deterioros cognitivos, por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer. Apoyos adicionales a esta posición pueden encontrarse en el ejemplo 27, en el que los resultados obtenidos muestran que los compuestos de la presente invención intensifican la memoria contextual en la rata. En conjunto, el perfil farmacológico de los compuestos de la presente invención combinado con los efectos sobre los niveles de acetilcolina y la memoria de la rata, sugieren fuertemente que los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo.

30 Los déficits cognitivos o el deterioro cognitivo incluyen una caída de las funciones cognitivas o de los dominios cognitivos, por ejemplo, memoria de trabajo, atención y vigilancia, aprendizaje verbal y memoria, aprendizaje visual y memoria, razonamiento y resolución de problemas, por ejemplo, función ejecutiva, velocidad de procesamiento y/o cognición social. En particular, los déficits cognitivos o el deterioro cognitivo pueden indicar déficits de atención, pensamiento desorganizado, pensamiento lento, dificultad para entender, mala concentración, daño de resolución de problemas, mala memoria, dificultades para expresar pensamientos y/o dificultades para integrar pensamientos, sensaciones y comportamiento, o dificultades para la extinción de pensamientos irrelevantes. Las expresiones "déficits cognitivos" y "deterioro cognitivo" están destinadas a indicar lo mismo y se emplean indistintamente.

40 En una realización, dicho paciente está diagnosticado asimismo con otros trastornos del SNC, tales como trastornos afectivos, tales como depresión; depresión generalizada; trastorno depresivo mayor; trastornos de ansiedad con inclusión de trastorno general de ansiedad y trastorno de pánico; trastorno obsesivo compulsivo; esquizofrenia; Parkinson; demencia; demencia de SIDA; ADHD; deterioro de la memoria asociado a la edad; o enfermedad de Alzheimer.

45 El deterioro cognitivo se encuentra entre las características clásicas de la depresión, tal como, por ejemplo, el trastorno depresivo mayor. Los trastornos cognitivos pueden ser, en alguna extensión, secundarios respecto a la depresión en el sentido de que una mejoría del estado depresivo conducirá también a una mejoría del deterioro cognitivo. Sin embargo, existe una evidencia clara de que los trastornos cognitivos son, sin duda, independientes de la depresión. Por ejemplo, estudios realizados han puesto de manifiesto deterioro cognitivo persistente después de la recuperación de una depresión [J. Nervous Mental Disease, 185, 748-754,197]. Además el efecto diferencial de los antidepresivos sobre la depresión y los deterioros cognitivos aporta un apoyo adicional a la noción de que la depresión y el deterioro cognitivo son independientes, aunque con frecuencia son estados comórbidos. Si bien medicamentos de serotonina y noradrenalina proporcionan mejorías comparables de los síntomas depresivos, diversos estudios han puesto de manifiesto que la modulación del sistema noradrenérgico no mejora las funciones cognitivas tanto como la modulación de la serotonina [Brain Res. Bull., 58, 345-350, 2002; Hum. Psychopharmacol., 8, 41-47, 1993].

El tratamiento del deterioro cognitivo en pacientes depresivos mediante la administración de los compuestos de la presente invención, se piensa que es particularmente ventajoso. La actividad farmacológica multifacetada de los

compuestos de la presente invención, en particular la actividad de SERT, 5-HT₃ y 5-HT_{1A} se espera que conduzca a una mejoría del funcionamiento cognitivo en combinación con un tratamiento de iniciación rápida, del estado depresivo.

5 El deterioro cognitivo tiene una consideración particularmente importante en la vejez. El deterioro cognitivo normalmente aumenta con la edad, y, además, con depresión. Por consiguiente, en una realización, el paciente que ha de ser tratado de deterioro cognitivo es de edad avanzada y en particular de edad avanzada con depresión.

10 Las funciones cognitivas, como se ha mencionado antes, están frecuentemente deterioradas en pacientes esquizofrénicos. Estudios realizados han llegado también a la conclusión de que el funcionamiento cognitivo va asociado con el funcionamiento vocacional en la esquizofrenia [Scizophrenia Res., 45, 175-184, 2000]. En una realización el paciente a tratar de deterioro cognitivo es esquizofrénico.

Antagonistas del receptor 5-HT₃ han sido sugeridos adicionalmente para el tratamiento de enfermedades tales como emesis, emesis inducida por quimioterapia, ansia, abuso de sustancias, dolor, síndrome de intestino irritable (IBS), esquizofrenia y trastornos de la alimentación [Eur. J. Pharmacol., 560, 1-8, 2007; Pharmacol. Therapeut, 111, 855-876, 2006; Alimentary Pharmacol. Ther, 24, 183-205, 2006].

15 Estudios clínicos realizados muestran que una combinación de mirtazipina y un SSRI es superior a los SSRI solos para el tratamiento de pacientes depresivos con una respuesta clínica inadecuada (depresión resistente al tratamiento, TRD, o depresión refractaria) [Psychother. Psychosum., 75, 139-153, 2006]. La mirtazipina es un 5-HT₂ y un antagonista de 5-HT₃, que apoya la noción de que los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de la TRD.

20 Los sonrojos (calorinas) son un síntoma asociado con la transición menopáusica. Algunas mujeres pueden sufrir este síntoma en una extensión tal que interfiere con el sueño o con las actividades en general, y en que es necesario tratamiento. La terapia de reemplazo hormonal con estrógenos ha sido práctica establecida durante décadas, sin embargo, recientemente, han surgido preocupaciones respecto a efectos secundarios, tales como cáncer de mama y acontecimientos cardiacos. Ensayos clínicos realizados con SSRIs han puesto de manifiesto que estos compuestos tienen efecto sobre los sonrojos, aunque menor que el de los estrógenos [J. Am. Med. Ass., 295, 2057-2071, 2006]. El tratamiento de los sonrojos con compuestos que inhiben la recaptación de la serotonina, por ejemplo, los compuestos de la presente invención, podría constituir, sin embargo, un tratamiento alternativo de las mujeres que no puedan aceptar estrógenos.

30 La apnea del sueño o el síndrome obstructivo de apnea-hiponea del sueño o respiración obstructiva desordenada en el sueño, es un trastorno para el que queda por identificar una farmacoterapia eficaz. No obstante, diversos estudios en animales sugieren que los antagonista de 5-HT₃, por ejemplo, los compuestos de la presente invención, pueden ser eficaces en el tratamiento de estas enfermedades [Sleep, 21, 131-136, 1998; Sleep, 8, 878, 2001].

35 Es bien sabido que el tratamiento con antidepresivos en general y los SSRI en particular, puede estar asociado con disfunción sexual y que frecuentemente conduce a la interrupción del tratamiento. Tanto como el 30-70% de los pacientes tratados con SSRIs han indicado déficits de la función sexual [J. Clin. Psych., 66, 844-848, 2005], cuyos déficits incluyen libido disminuida, orgasmos retardados, reducidos o ausentes, excitación sexual disminuida, y disfunción eréctil. Un total de 114 sujetos han sido tratados con compuestos de la presente invención en ensayos clínicos; de estos 114 sujetos, solamente uno informó de disfunción sexual. Estos resultados sugieren que la intervención clínica utilizando compuestos de la presente invención va asociada con déficits sorprendentemente bajos del funcionamiento sexual.

40 Según se ha mencionado anteriormente, los compuestos de la presente invención son especialmente adecuados para el tratamiento del dolor crónico. El dolor crónico incluye indicaciones tales como el dolor de la extremidad fantasma, dolor neuropático, neuropatía diabética, neuralgia post-herpética (PHN), síndrome del túnel carpiano, (CTS), neuropatía de HIV, síndrome de dolor regional complejo (CPRS), neuralgia del trigémino / tic doloroso, intervención quirúrgica (por ejemplo, analgésicos posoperativos), vasculopatía diabética, resistencia capilar o síntomas diabéticos asociados con insulinitis, dolor asociado con angina, dolor asociado con la menstruación, dolor asociado con el cáncer, dolor dental, dolor de cabeza, migraña, dolor de cabeza de tipo tensional, neuralgia del trigémino, síndrome de la articulación temporomandibular, daño muscular por dolor miofascial, síndrome de fibromialgia, dolor de los huesos y de las articulaciones (osteoartritis), artritis reumatoide y edema resultante de trauma asociado con quemaduras, dolor por torcedura o fractura ósea debidas a osteoartritis, osteoporosis, metástasis ósea o razones desconocidas, gota, fibrositis, dolor miofascial, síndrome de derrame torácico, dolor de la parte superior de la espalda o dolor de la parte baja de la espalda (en los que el dolor de la espalda resulta de una enfermedad de la espina dorsal sistemática, regional o primaria (radiculopatía), dolor pélvico, dolor del pecho de

origen cardiaco, dolor del pecho de origen no cardiaco, dolor asociado con daño de la espina dorsal (SCI) , dolor posapopléptico central, neuropatía cancerosa, dolor de SIDA, dolor de las células falciformes o dolor geriátrico.

5 Los resultados presentados en el ejemplo 16 ponen de manifiesto que los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento del dolor, y que estos compuestos pueden poseer, incluso, un efecto analgésico. Estudios adicionales de dolor neuropático realizados en un modelo de animales confirman esta observación.

10 El término “tratamiento” y “trato” tal como se emplean en esta memoria, significa el seguimiento y el cuidado de un paciente con la finalidad de combatir un estado tal como una enfermedad o un trastorno. Este término está destinado a incluir el espectro total de tratamientos de un estado dado del que está aquejado el paciente, tal como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones, retardar la progresión de la enfermedad, el trastorno o el estado, aliviar los síntomas y las complicaciones, y/o curar o eliminar la enfermedad, trastorno o estado, así como también prevenir el estado, en el que la prevención ha de entenderse como el proceder y el cuidado de un paciente con la finalidad de combatir la enfermedad, estado o trastorno, e incluye la administración de los compuestos activos para evitar la aparición de los síntomas o de las complicaciones. No obstante, el tratamiento profiláctico (preventivo) y el tratamiento terapéutico (curativo) son dos aspectos de la invención separados. El paciente que ha de ser tratado es, preferiblemente, un mamífero, en particular un ser humano.

Típicamente, el tratamiento llevado a cabo utilizando los compuestos de la presente invención implica la administración diaria de los compuestos de la presente invención. Esto puede llevar consigo la administración una vez al día o la administración dos veces al día o incluso más frecuentemente.

20 En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para fabricar un medicamento para el tratamiento de trastornos afectivos, depresión, trastorno depresivo mayor, depresión posnatal, depresión asociada con un trastorno bipolar, enfermedad de Alzheimer, psicosis, cáncer, enfermedades de la edad o enfermedad de Parkinson, ansiedad, trastorno de ansiedad general, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de pánico, ataques de pánico, fobia, fobia social, agorafobia, incontinencia urinaria por estrés, emesis, IBS, trastornos de la alimentación, dolor crónico, pacientes de respuesta parcial, depresión resistente al tratamiento, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo, ADHD, melancolía, PTSD, sofocos, apnea del sueño, abuso de sustancias que estimulan el ansia de alcohol, nicotina o hidratos de carbono, o abuso de alcohol o drogas.

30 En una realización, la invención se refiere a compuestos de la presente invención para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre trastornos afectivos, depresión, trastorno depresivo mayor, depresión posnatal, depresión asociada con un trastorno bipolar, enfermedad de Alzheimer, psicosis, cáncer, enfermedades de la edad o enfermedad de Parkinson, ansiedad, trastorno de ansiedad general, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de pánico, ataques de pánico, fobia, fobia social, agorafobia, incontinencia urinaria por estrés, emesis, IBS, trastornos de alimentación, dolor crónico, pacientes de respuesta parcial, depresión resistente al tratamiento, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo, ADHD, melancolía, PTSD, sofocos, apnea del sueño, abuso de sustancias que estimulan el ansia de alcohol, nicotina o hidratos de carbono, o abuso de alcohol o drogas

40 El efecto de los compuestos de la presente invención sobre la cognición en los seres humanos puede ser evaluado de varios modos. El efecto puede ser evaluado en ensayos en los que se administran los compuestos a voluntarios sanos, seguido de medida del comportamiento cognitivo mediante ensayos reconocidos, tales como, por ejemplo, el ensayo auditorio de aprendizaje verbal (Auditory Verbal Learning Test)(AVLT), el ensayo de ordenación de cartas , de Wisconsin (Wisconsin Card Sorting Test) (WCST), o de atención sostenida [Psychopharmacol, 163, 106-110, 2002; Psychiatry Clin. Neurosci., 60, 70-76, 2006]. Como es natural, el efecto puede ser evaluado en pacientes aquejados de deterioro cognitivo usando el mismo tipo de ensayos. Alternativamente, pueden utilizarse modelos cognitivos en los que es inducido deterioro cognitivo en voluntarios sanos y en los que se mide el efecto restaurativo de los compuestos de la presente invención. El daño cognitivo puede ser inducido, por ejemplo, por escopolamina, privación de sueño, alcohol, y agotamiento de triptófano.

50 Las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse por métodos convencionales existentes en la técnica. Se hace una mención particular de los comprimidos, que pueden ser preparados mezclando el ingrediente activo con adyuvantes y/o diluyentes ordinarios y comprimiendo seguidamente la mezcla en una máquina de comprimir convencional. Los ejemplos de adyuvantes o diluyentes comprenden: hidrogenofosfato de calcio anhidro, PVP, copolímeros de PVP-VA, celulosa microcristalina, almidón glicolato sódico, almidón de maíz, manitol, fécula de patata, talco, estearato magnésico, gelatina, lactosa, gomas y materiales semejantes. Cualesquiera otros adyuvantes o aditivos empleados habitualmente para otros fines, tales como colorantes, saborizantes, agentes conservantes, etc., pueden ser usados con tal que sean compatibles con los ingredientes activos,

Pueden prepararse soluciones para inyecciones disolviendo el ingrediente activo y posibles aditivos, en una parte del disolvente para inyección, preferiblemente agua estéril, ajustando la solución al volumen deseado, esterilizando la solución y llenándola en ampollas o viales adecuados. Puede añadirse cualquier aditivo adecuado, empleado convencionalmente en la técnica, tal como agentes de isotonicidad, agentes conservantes, antioxidantes, etc,

- 5 Las composiciones farmacéuticas de esta invención o aquellas que son fabricadas según esta invención, pueden ser administradas por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, jarabes, etc, o por vía parenteral, en forma de soluciones para inyección. Para preparar tales composiciones pueden emplearse métodos bien conocidos en la técnica, y pueden usarse cualesquiera vehículos, diluyentes, excipientes u otros aditivos normalmente empleados en la técnica.
- 10 Convenientemente, los compuestos de la invención se administran en forma farmacéutica de dosis unitaria que contiene dichos compuestos en una cantidad de 1 a 50 mg aproximadamente. Se considera que el límite superior está fijado por la dependencia de concentración de la actividad del 5-HT₃. La dosis diaria total está habitualmente en el intervalo de 1-20 mg, aproximadamente, tal como 1 a 10 mg, aproximadamente, 5-10 mg , aproximadamente, 10-20 mg, aproximadamente, o 10-15 mg, aproximadamente, del compuesto de la invención. Se hace una mención particular de dosis diarias de 5, 10, 15 ó 20 mg.

Los comprimidos que comprenden un compuesto de la presente invención pueden ser preparados convenientemente por granulación en húmedo. Utilizando este método, los sólidos secos (ingredientes activos, materiales de carga, aglutinante, etc.) se mezclan y se humedecen con agua u otro agente humectante (por ejemplo, un alcohol) y se producen aglomerados o gránulos partiendo de los sólidos humedecidos. El proceso de amasado en húmedo se continúa hasta conseguir el tamaño de partícula homogéneo deseado, después de lo cual el producto granulado se deseca. Los compuestos de la presente invención se mezclan, típicamente, con lactosa monohidrato, almidón de maíz y copovidona en un mezclador de alta cizalla, junto con agua. Después de la formación de granulados, estos granulados pueden ser tamizados en un tamiz de un tamaño adecuado, y se secan. Los gránulos secados que resultan se mezclan luego con celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica y estearato magnésico, después de lo cual se obtienen los comprimidos. Alternativamente, la granulación en húmedo de los compuestos de la presente invención puede conseguirse utilizando manitol, almidón de maíz y copovidona, y los gránulos obtenidos se mezclan con celulosa microcristalina, almidón glicolato sódico y estearato de magnesio antes de producir los comprimidos. Alternativamente, la granulación en húmedo de los compuestos de la presente invención puede conseguirse utilizando hidrogenofosfato cálcico anhidro, almidón de maíz y copovidona, y los gránulos se mezclan con celulosa microcristalina, almidón glicolato sódico (tipo A), talco y estearato magnésico antes de producir los comprimidos. La copovidona es un copolímero de PVP-VA.

En una realización, el compuesto de la presente invención es la sal del ácido bromhídrico, por ejemplo, en la forma beta, y pueden obtenerse comprimidos adecuados del modo que sigue – los porcentajes indicados son en % peso en peso.

35	Sal de HBr	2-20%
	Lactosa monohidrato	30-50%
	Almidón	125-30%
	Copovidona	3-5%
40	Celulosa microcristalina	15-25%
	Croscarmelosa sódica	2-5%
	Estearato magnésico	0,5-5%

En particular, los comprimidos pueden componerse como sigue.

45	Sal de HBr	3-4%
	Lactosa monohidrato	44-46%
	Almidón	22-23%
	Copovidona	3-4%
50	Celulosa microcristalina	20-22%
	Croscarmelosa sódica	3-3,5%
	Estearato magnésico	0,5-1%

ó

55	Sal de HBr	15-16%
	Lactosa monohidrato	35-38%
	Almidón	18-20%

5	Copovidona	3-4%
	celulosa microcristalina	20-22%
	Croscarmelosa sódica	3-3,5%
	Estearato magnésico	0,5-1%

10 ó

	Sal de HBr	1-2%
	Lactosa monohidrato	44-46%
	Almidón	20-24%
15	Copovidona	3-4%
	Celulosa microcristalina	22-24%
	Croscarmelosa sódica	3-4%
	Estearato magnésico	0,5-1%

20 En una realización, el compuesto de la presente invención es la sal del ácido bromhídrico, por ejemplo, en la forma beta, y pueden componerse comprimidos adecuados como sigue

	Sal de HBr	2-30%
	Manitol	25-45%
25	Almidón de maíz	10-20%
	Copovidona	2-4%
	Celulosa microcristalina	22-27%
	Almidón glicolato sódico	4-5%
	Estearato magnésico	0,25-5%, tal como 0,25-2%

30 En particular, los comprimidos pueden componerse como sigue

	Sal de HBr	20-22%
	Manitol	35-36%
35	Almidón de maíz	10-12%
	Copovidona	2,5-3%
	Celulosa microcristalina	24-25%
	Almidón glicolato sódico	3-4%
	Estearato magnésico	0,25-1%

40 ó

	Sal de HBr	12-13%
	Manitol	36-37%
45	Almidón de maíz	18-19%
	Copovidona	3-4%
	Celulosa microcristalina	24-25%
	Almidón glicolato sódico	3-4%
	Estearato magnésico	0,25-1%

50 ó

	Sal de HBr	25-27%
	Manitol	27-29%
55	Almidón de maíz	13-15%
	Copovidona	3-4%
	Celulosa microcristalina	24-25%
	Almidón glicolato sódico	3-5%
	Estearato magnésico	0,25-1%

60 ó

	Sal de HBr	3-4%
--	------------	------

	Manitol	40-42%
	Almidón de maíz	20-22%
	Copovidona	3-4%
	Celulosa microcristalina	26-28%
5	Almidón glicolato sódico	3-5%
	Estearato magnésico	0,5%

En una realización, el compuesto de la presente invención es la sal del ácido bromhídrico y pueden componerse comprimidos adecuados con la composición que sigue

	Sal de HBr	3-4%
10	Hidrogenofosfato cálcico anhidro	35-45%
	Almidón de maíz	15-25%
	Copovidona	2-6%
	celulosa microcristalina	20-30%
	Almidón glicolato sódico	1-3%
15	Talco	2-6%
	Estearato magnésico	0,5-2%

En particular, los comprimidos pueden componerse como sigue

	Sal de HBr	aproximadamente 5%
	Hidrogenofosfato cálcico anhidro	aproximadamente 39%
20	Almidón de maíz	aproximadamente 20%
	Copovidona	aproximadamente 3%
	Celulosa microcristalina	aproximadamente 25%
	Almidón glicolato sódico	aproximadamente 3%
	Talco	aproximadamente 4%
25	Estearato magnésico	aproximadamente 1%.

Pueden obtenerse comprimidos con cantidades diferentes de compuesto activo, tales como correspondientes, por ejemplo, a 2,5, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60 u 80 mg de la base libre, eligiendo la cantidad correcta del compuesto de la presente invención en combinación con un comprimido de tamaño apropiado.

30 El tamaño de los cristales utilizados para preparar comprimidos que comprenden compuestos de la presente invención, tiene importancia. Si los cristales son demasiado pequeños pueden adherirse a los punzones de las máquinas de comprimir. Por otra parte, los cristales tampoco pueden ser demasiado grandes. La velocidad de disolución en el intestino disminuye al aumentar el tamaño del cristal. Por tanto, si los cristales son demasiado grandes su tamaño puede comprometer la biodisponibilidad de los compuestos. Puede describirse la distribución del tamaño de partícula usando cuantiles, por ejemplo, D5%, D10%, D50%, D90%, D95% y D98%. Tal como se emplea
35 en esta memoria, "distribución del tamaño de partícula" significa la distribución acumulativa de tamaños, en volumen, de diámetros esféricos equivalentes, determinados mediante difracción de láser en una presión de dispersión de 0,1 MPa en un aparato Sympatec Helos.

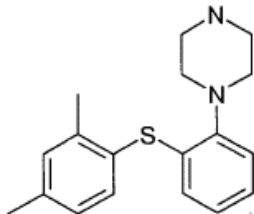
40 En una realización, los cristales del compuesto de la presente invención y, en particular la forma beta de la sal de ácido hidrobromuro poseen una distribución del tamaño de partícula que corresponde a: D98%:650-680 μm ; D50%: 230-250 μm ; y D5%: 40-60 μm . En otra realización, la distribución del tamaño de partícula corresponde a: D98%: 370-390 μm ; D50%: 100-120 μm ; D5%: 5-15 μm . En otra realización, todavía, la distribución de tamaños de partícula corresponde a D98%: 100-125 μm ; D50%: 15-25 μm ; y D5%: 1-3 μm . En aún otra realización, la distribución de tamaños de partículas corresponde a D98%: 50-70 μm ; D50%: 3-7 μm ; y D5%: 0,5-2 μm .

45 La base libre de la presente invención puede prepararse según se describe en el documento WO 2003/029232. Las sales de la presente invención pueden prepararse disolviendo la base libre en un disolvente apropiado, añadiendo el ácido de interés, seguido de precipitación. La precipitación puede efectuarse o bien mediante la adición de un segundo disolvente y/o evaporación, y/o enfriamiento. Alternativamente, la base libre de la presente invención y en último lugar, los compuestos de la presente invención, pueden sintetizarse en una reacción catalizada con paladio según se describe a continuación.

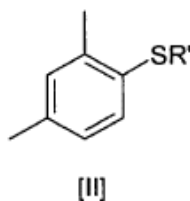
50 La formación de enlaces aromáticos carbono-heteroátomo, puede conseguirse mediante reacciones de sustitución aromática nucleófila o reacciones de Ullman con mediación de cobre. Más recientemente, se ha puesto de

manifiesto que el paladio es un catalizador potente para la formación de tales enlaces y, en particular, la formación de enlaces C-N y C-S, véase, por ejemplo, el documento US 5.573.460.

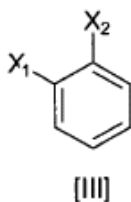
En una realización, la invención proporciona un procedimiento de preparación de



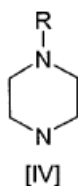
5 cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar el compuesto II



en el que R' representa hidrógeno o un ion de un metal monovalente, con un compuesto de fórmula III



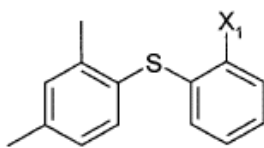
en cuya fórmula X₁ y X₂ representan, independientemente, halógeno, y un compuesto de fórmula IV



10

en cuya fórmula R representa hidrógeno o un grupo de protección, en presencia de un disolvente, una base y un catalizador de paladio que consiste en un origen de paladio y un ligando de fosfina, a una temperatura entre 60°C y 130°C..

15 En una realización, el procedimiento está dividido en sub-procedimientos en los que el compuesto II y el compuesto III se hacen reaccionar en una primera reacción para obtener un compuesto de la fórmula



Este compuesto, opcionalmente, es purificado después hasta un grado adecuado antes de hacerle reaccionar con el compuesto IV para proporcionar 4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

Las síntesis de "un recipiente", es decir, las síntesis en las que todos los reactantes se mezclan juntos al comienzo de la reacción o del proceso, son particularmente útiles debido a su sencillez intrínseca. Por otra parte, el número de posibles reacciones secundarias indeseadas aumenta espectacularmente, lo que de nuevo significa que puede aumentar el número y/o la cantidad de productos secundarios indeseados y, por consiguiente, disminuir el rendimiento del producto deseado. Para el procedimiento presente en particular, puede observarse que la piperazina posee dos átomos de nitrógeno cada uno de los cuales podría participar, potencialmente, en la formación de un enlace C-N. Se ha encontrado, sorprendentemente, que el procedimiento presente puede llevarse a cabo como una síntesis de "un recipiente", es decir, un procedimiento en el que el compuesto II, el compuesto III y el compuesto IV se mezclan desde el comienzo, al tiempo que se mantiene un alto rendimiento de un compuesto puro.

El compuesto II es un tiol o el tiolato correspondiente. Desde una perspectiva ocupacional de la salud puede ser beneficioso utilizar un tiolato, tal como el tiolato de Li^+ , Na^+ o K^+ , para evitar los problemas de olor asociados a los tioles. No obstante, en una realización, R' es hidrógeno.

El compuesto III es un benceno activado con dos átomos de halógeno en las posiciones 1,2, y los halógenos pueden ser cualquiera de Cl, Br y I. En particular el compuesto III es el 1-bromo-2-yodobenceno ó 1,2-dibromobenceno.

El disolvente utilizado en el procedimiento de la presente invención puede seleccionarse entre disolventes orgánicos apróticos o mezclas de tales disolventes, con temperatura de ebullición dentro del intervalo de temperaturas de reacción, es decir, 60-130°C. Típicamente, el disolvente está seleccionado entre tolueno, xileno, trietilamina, tributilamina, dioxano, N-metilpirrolidona o entre una de sus mezclas. Se menciona en particular el tolueno como disolvente.

De la mayor importancia para el procedimiento presente es el uso de un catalizador de paladio sin el cual las reacciones no tienen lugar. El catalizador de paladio consiste en un origen de paladio y un ligando de fosfina. Los orígenes de paladio útiles incluyen paladio en diferentes estados de oxidación, tales como, por ejemplo, 0 y II. Son ejemplos de orígenes de paladio que pueden ser empleadas en el procedimiento de la presente invención Pd_2dba_3 , $\text{Pd}(\text{dba})_2$ y $\text{Pd}(\text{OAc})_2$. dba es la abreviatura de dibencilidenacetona. Se hace mención particular de $\text{Pd}(\text{dba})_2$ y Pd_2dba_3 . La fuente de paladio se emplea típicamente en una cantidad de 0,1-10% en moles, tal como 1-10% en moles, tal como 1-5% en moles. En toda esta solicitud, % en moles se calcula con respecto al reactante limitador.

Numerosos ligandos de fosfina son conocidos, tanto monodentados como bidentados. Los ligandos de fosfina útiles incluyen los compuestos 2,2'-bis-difenilfosfanil[1,1']binaftalenilo (rac-BINAP), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (DPPF), bis-(2-difenilfosfinofenil)éter (DPEfos), tri-t-butilfosfina (sal de Fu), bifeníl-2-il-di-t-butil-fosfina, bifeníl-2-il-diciclohexil-fosfina, (2'-diciclohexilfosfanil-bifeníl-2-il)dimetilamina, [2'-(di-t-butilfosfanil)bifeníl-2-il]dimetilamina, y diciclohexil-2',4',6'-tripropilbifeníl-2-il)fosfano. Además, pueden usarse en lugar de ligandos de fosfina, ligandos de carbeno tales como, por ejemplo, el cloruro de 1,3-bis-(2,6-diisopropenilfenil)-3H-imidazol-1-ilo. En una realización el ligando de fosfina es rac-BINAP, DPPF o DPEfos, y en particular el rac-BINAP. El ligando de fosfina se emplea habitualmente en una cantidad entre 0,1 y 10% en moles, tal como 1 y 5% en moles y, típicamente, alrededor de 1-2% en moles.

Se añade un compuesto básico a la mezcla de reacción para aumentar el pH. En particular son útiles bases seleccionadas entre $\text{NaO}(\text{t-Bu})$, $\text{KO}(\text{t-Bu})$ y Cs_2CO_3 . También pueden utilizarse bases orgánicas tales como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno y 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO). Se hace mención particular de $\text{NaO}(\text{t-Bu})$ y de $\text{KO}(\text{t-Bu})$. Típicamente, la base se añade en una cantidad en torno a 1-5 equivalentes, tal como 1-3 equivalentes, por ejemplo, 2-3 equivalentes

El compuesto IV es un compuesto de piperazina. La piperazina posee dos átomos de nitrógeno, uno de los cuales solamente, participa en la formación de enlaces C-N. En una realización se evita la formación de enlaces con el segundo nitrógeno usando una piperazina monoprotectida., es decir, una realización en la que R es un grupo de protección. Muchos grupos de protección son conocidos en la técnica y como ejemplos útiles de los mismos se incluyen boc, Bn, Cbz, C(O)O y Me, y en particular el boc. Bn es la abreviatura de bencilo; boc es la abreviatura de t-butiloxycarbonilo; y cbz es la abreviatura de benciloxycarbonilo. Si se utiliza en las reacciones una piperazina protegida, el grupo de protección ha de ser separado en una etapa subsiguiente, típicamente mediante la adición de una solución acuosa de un ácido. Si se usa metilo como grupo de protección, el grupo metilo puede ser separado en una reacción con carbamato y la separación subsiguiente de este grupo.

Se ha descubierto, sorprendentemente, que puede usarse piperazina sin proteger así como sin la formación de enlaces indeseados con el segundo nitrógeno. Las piperazinas protegida y sin proteger poseen solubilidades

diferentes en distintos disolventes; como ejemplo, la piperazina es prácticamente insoluble en tolueno mientras que la piperazina protegida con el grupo boc es muy soluble en tolueno. Normalmente, sería de esperar que un requisito necesario para obtener una reacción con éxito sería que todos los reactivos fueran solubles en el disolvente empleado. No obstante, se ha descubierto que el procedimiento de la presente invención se realiza con alto rendimiento con tolueno como disolvente y con piperazina sin proteger, es decir, en una realización en la que R es hidrógeno. Por consiguiente, en una realización el disolvente es tolueno y el compuesto IV es piperazina. En otra realización, se usa esta combinación de condiciones es una síntesis de "un recipiente".

5

En una realización, la temperatura bajo la que se lleva a cabo el procedimiento es, aproximadamente, 80°C – aproximadamente, 120°C.

10 En una realización, se prepara el compuesto 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en un proceso que comprende las etapas siguientes, que consisten en:

- a. Disolver o dispersar en tolueno 1-1,5 equivalentes de los compuestos II, III y IV para obtener la mezcla A;
- b. Añadir a la mezcla A 1-2% en moles de Pd(dba)₂, y 1-2% en moles de rac-BINAP junto con 2-3 equivalentes de NaO(t-Bu), opcionalmente dispersos o disueltos en tolueno, para obtener la mezcla B, que se calienta a 100°C aproximadamente hasta que los compuestos II y III están totalmente convertidos, típicamente 5-10 horas;
- c. Aumentar la temperatura de la mezcla obtenida en la etapa b a 120°C aproximadamente hasta que el compuesto IV está totalmente convertido, típicamente 16-32 horas; y
- d. Opcionalmente, retirar el grupo de protección mediante la adición de una solución acuosa de un ácido, si el compuesto III es una piperazina protegida.

15

20 Opcionalmente, pueden incluirse etapas de purificación en la secuencia anterior de etapas de reacción.

En una realización, se dispersa en tolueno 1-1,5 equivalentes de 2,4-dimetiltiol, 1-bromo-2-yodobenceno (o 1,2-dibromobenceno) y piperazina, seguido de la adición de 2-5, por ejemplo 3 equivalentes, de NaO(t-Bu) y 1-2% en moles de Pd₂(dba)₃, y rac-BINAP dispersos en tolueno, obteniendo una mezcla que se calienta a reflujo durante 2-10 horas, típicamente, 3-5 horas obteniendo 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. Opcionalmente este producto puede hacerse reaccionar posteriormente con solución acuosa de HBr para obtener la correspondiente sal de adición del ácido bromhídrico.

25

En una realización se dispersan en tolueno 2-5 equivalentes de NaO(t-Bu), 2-5 equivalentes de piperazina, 0,2-0,6 % en moles de Pd(dba)₂ y 0,6-1% en moles de rac-BINAP, obteniendo la mezcla A', a cuya mezcla se añade aproximadamente, 1 equivalente de 2-bromoyodobenceno obteniendo la mezcla B', a cuya mezcla se añade 1 equivalente de 2,4-dimetiltiofenol, y la mezcla que resulta se calienta a reflujo durante 3-7 horas, por ejemplo 4-6 horas, obteniendo 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. Opcionalmente, este producto puede hacerse reaccionar posteriormente con solución acuosa de HBr para conseguir la correspondiente sal de adición del ácido bromhídrico.

30

En algunos casos puede ser deseable obtener una sal de adición de ácido de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en vez de la base libre. Pueden obtenerse sales de adición de ácido en una etapa posterior del procedimiento en el que la base libre obtenida se hace reaccionar con un ácido importante, tal como, por ejemplo, el ácido fumárico, el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico o el ácido bromhídrico. El ácido puede añadirse directamente a la mezcla de reacción o, alternativamente, la base libre puede ser purificada hasta un grado adecuado, inicialmente, antes de tal etapa. Si la base libre ha de ser aislada como un compuesto seco, puede ser necesario emplear un disolvente con objeto de disolver la base libre antes de realizar una reacción con el ácido. En una realización, se añade directamente a la mezcla de reacción una solución acuosa de ácido bromhídrico sin purificar inicialmente la base libre.

35

En procesos en que ha sido utilizada una piperazina protegida, el grupo de protección ha de ser separado mediante la adición de una solución acuosa de un ácido, según se ha explicado anteriormente. En una realización, dicha solución acuosa de ácido puede seleccionarse para conseguir dos transformaciones, es decir, la desprotección de la piperazina protegida y la formación de una sal de adición de ácido. En particular, puede emplearse en una etapa del procedimiento, una solución acuosa de ácido bromhídrico para desproteger la piperazina protegida y para obtener la sal de adición del ácido bromhídrico.

45

Ha de indicarse para todas las reacciones y mezclas de reacción citadas en esta memoria, que puede ser ventajoso purgarlas con un gas inerte o llevarlas a cabo bajo una capa de un gas inerte. El nitrógeno es ejemplo de un gas inerte barato y que puede obtenerse fácilmente.

50

El uso de los términos “un” y “uno o una” y “el o la” y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención, ha de interpretarse que cubre tanto el singular como el plural, a menos que se especifique de otro modo en esta memoria o que se contradiga claramente por el contexto. Por ejemplo, la frase “el compuesto” ha de interpretarse como que alude a diversos compuestos de la invención o a un aspecto particular descrito, a menos que se indique de otro modo.

A menos que se indique de otro modo, todos los valores exactos proporcionados en esta memoria son representativos de los correspondientes valores aproximados (por ejemplo, todos los valores exactos que sirven de ejemplo, proporcionados con respecto a un factor particular o una medida particular, puede considerarse que proporcionan también la correspondiente medida aproximada, modificada por “aproximadamente”, cuando sea apropiado).

La descripción en esta memoria de cualquier aspecto o aspectos de la invención empleando términos y expresiones tales como “que comprende”, “que tiene o que posee”, “que incluye” o “que contiene”, con referencia a un elemento o elementos, están destinados a proporcionar apoyo para un aspecto o aspectos de la invención que “consiste en”, “consiste esencialmente en” o “comprende sustancialmente” tal elemento o tales elementos particulares, a menos que se especifique de otro modo o que contradiga claramente el contexto (por ejemplo, una composición descrita en esta memoria que comprende un elemento particular ha de entenderse que describe asimismo una composición que consiste en tal elemento, a menos que se especifique de otro modo o que se contradiga claramente por el contexto).

Ejemplos

Métodos analíticos

Los espectros de resonancia magnética nuclear del protón, $^1\text{H NMR}$, se registran a 500,13 MHz en un instrumento Bruker Avance DRX500. Se emplea como disolvente sulfóxido de dimetilo (99,8%), y se emplea tetrametilsilano (TMS) como patrón interno de referencia.

Los puntos de fusión se determinan utilizando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). El equipo es un TA-Instruments DSC-Q1000 calibrado a 5°/minuto para proporcionar el punto de fusión como valor inicial. Aproximadamente 2 mg de muestra se calienta a 5°/minuto en un recipiente firmemente cerrado bajo corriente de nitrógeno.

El análisis termogravimétrico (TGA) utilizado para estimar el contenido de disolvente/agua del material desecado se lleva a cabo usando un aparato de TA-instruments TGA-Q500. 1-10 mg de muestra se calientan a 10°/minuto en un recipiente abierto bajo corriente de nitrógeno.

Los espectros de difracción (difractogramas) de rayos X de polvo fueron obtenidos en un difractómetro PANalytical X'Pert PRO X-Ray, usando la radiación CuK_{α} . Las muestras fueron medidas en modo de reflexión en el intervalo 2 θ de 5-40° utilizando un detector X'celerator.

Ejemplo 1: Farmacología de receptores in vitro

Transportador de serotonina de la rata: IC_{50} 5,3 nM (bloqueo de la absorción de 5-HT)
 Transportador de serotonina humana: IC_{50} 40 nM (bloqueo de la absorción de 5-HT)
 Receptor 5-HT_{1A} humano: K_i 40 nM con agonismo parcial (eficacia, 85%)
 Receptor 5-HT₃ de la rata: IC_{50} 9,2 nM (antagonismo en ensayo funcional)
 Receptor 5-HT_{1A} humano: IC_{50} en torno a 20 nM (antagonismo en ensayo funcional). A mayor concentración, el compuesto manifiesta actividad agonística con una ED_{50} de 2,1 μM . El compuesto de la invención mostró también alta afinidad para el receptor 5-HT₃ humano en un ensayo de unión in vitro (K_i 4,5 nM).

Ejemplo 2: Efectos cognitivos

Según se ha discutido anteriormente, los compuestos de la presente invención interaccionan con el sistema colinérgico, y podría esperarse observar efecto en uno o más de los dos modelos siguientes, *in vivo*.

- * Ensayo de tiempo de reacción serial de elección cinco (5-CSRT), que es útil para demostrar un efecto sobre la atención continua
- * Ensayo espacial de laberinto en Y que es útil para demostrar efectos a corto y largo plazo y la memoria de trabajo

- * Modelo de cambio de fijación de atención, que es útil para demostrar efectos sobre el funcionamiento ejecutivo, es decir razonamiento y resolución de problemas.

Ejemplo 3a: Preparación de la base libre del compuesto I

- 5 10 gramos de hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se trataron con una mezcla agitada de 100 ml de NaOH 3 M y 100 ml de acetato de etilo durante 10 minutos. Se separó la fase orgánica, se lavó con 100 ml de solución acuosa de NaCl al 15% en peso, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró en vacío obteniendo 7,7 gramos (98%) de la base del compuesto I en forma de un aceite incoloro, transparente. La NMR concuerda con la estructura.

Ejemplo 3b: Preparación de la base cristalina del compuesto I

- 10 3,0 gramos del aceite incoloro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se trataron con 70 ml de acetonitrilo y se calentó a reflujo. La solución, casi clara, se filtró y el filtrado claro se dejó enfriar espontáneamente, con lo que comenzó la precipitación poco tiempo después de filtrar. La mezcla se agitó a temperatura ambiente (22°C) durante 2 horas y se aisló el producto por filtración y desecación en vacío (40°C) durante la noche. Se aisló la base cristalina en forma de un sólido blanco, 2,7 gramos (90%). La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 72,40%;
15 N, 9,28%; H, 7,58% (teóricos: C, 72,26%; N, 9,36%; H, 7,42%).

Ejemplo 3c: Caracterización de la base cristalina del compuesto I

La base, tal como se prepara en el ejemplo 3b, es cristalina (XRPD)- véase la Figura 1. Tiene un punto de fusión de ~ 117°C. No es higroscópica y posee una solubilidad en agua de 0,1 mg/ml.

Ejemplo 4a: Preparación de la forma alfa de la sal hidrobromuro del compuesto I

- 20 2,0 gramos de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvieron en 30 ml de acetato de etilo caliente y se añadió 0,73 ml de solución acuosa de HBr al 48% en peso. Esta adición ocasionó la formación de una suspensión espesa y se añadieron 10 ml de acetato de etilo más con objeto de disponer de una agitación apropiada. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Por filtración y desecación en vacío (20°C) durante la noche, se obtuvo 2,0 gramos del producto en forma de un sólido blanco (80%). La NMR cumple con la estructura.
25 Análisis elemental: C, 57,05%; N, 7,18%; H, 6,16%. (Teóricos para la sal 1:1: C, 56,99%; N, 7,39%; H, 6,11%)

Ejemplo 4b: Caracterización de la forma alfa del hidrobromuro del compuesto I

La forma alfa del hidrobromuro, preparada en el ejemplo 4a, es cristalina (XRPD) – véase la Figura 2. Tiene un punto de fusión de ~226°C. Absorbe aproximadamente 0,3% de agua cuando se expone a una humedad relativa alta y posee una solubilidad en agua de 2 mg/ml.

- 30 Ejemplo 4c: Preparación de la forma beta de la sal hidrobromuro del compuesto 1

- 35 49,5 gramos del aceite incoloro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvieron en 500 ml de acetato de etilo y se añadió 18,5 ml de solución acuosa de HBr al 48% en peso. Esta adición ocasionó la formación de una suspensión espesa que se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Por filtración y desecación en vacío (20°C) durante la noche se obtuvo el producto, 29,6 gramos, en forma de un sólido blanco (47%). La NMR cumple con la estructura: Análisis elemental: C, 56,86%; N, 7,35%; H, 6,24% (Teóricos para la sal 1:1: C, 56,99%; N, 7,39%; H, 6,11%).

Ejemplo 4d: Caracterización de la forma beta del hidrobromuro del compuesto I

- 40 La forma beta del hidrobromuro, preparada en el ejemplo 4c, es cristalina (XRPD), véase la Figura 3. Tiene un punto de fusión de ~231°C. Absorbe aproximadamente 0,6% de agua cuando se expone a una humedad relativa alta y posee una solubilidad en agua de 1,2 mg/ml.

Ejemplo 4e: Preparación de la forma gamma de la sal hidrobromuro del compuesto I

1 g del hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, preparado en el ejemplo 4a, se añadió a 20 gramos de agua y se calentó a 85°C. La solución era casi transparente. La adición de 1 gota de HBr la hizo clara. Se añadió HBr hasta que se observó el punto de enturbiamiento. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se

secó. La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 56,63%; N, 7,18%; H, 6,21% (Teóricos para la sal 1:1: C, 56,99%; N, 7,39%; H, 6,11%).

Ejemplo 4f: Caracterización de la forma gamma del hidrobromuro del compuesto I

- 5 El hidrobromuro, preparado en el ejemplo 6e, es cristalino (XRPD) –véase la Figura 4. La curva de DSC muestra algunos acontecimientos térmicos en 100°C aproximadamente, debidos, probablemente, a cambio en la forma del cristal. Después, funde a 220°C aproximadamente. Absorbe aproximadamente 4,5% de agua cuando se expone a una humedad relativa alta, y a una HR de 30%, a temperatura ambiente, absorbe 2% de agua aproximadamente.

Ejemplo 4g: Preparación de hidrato del hidrobromuro del compuesto I

- 10 1,4 gramos del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se añadieron a 20 ml de agua y se calentó a 60°C. Se ajustó el pH a 1 utilizando HBr de 48%. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se secó. La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 55,21%; N, 7,16%; H, 6,14%. (Teóricos para el hemihidrato de la sal 1:1: C, 55,68%; N, 7,21%; H, 6,23%).

Ejemplo 4h: Caracterización del hemihidrato del hidrobromuro del compuesto I

- 15 El hidrato, preparado en el Ejemplo 4g, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 5. El contenido de agua depende fuertemente de la humedad relativa. A temperatura ambiente y 95% de HR el contenido de agua es 3,7% aproximadamente. Tiene lugar deshidratación por calentamiento a 100°C aproximadamente.

Ejemplo 4i: Preparación de solvato de acetato de etilo de la sal hidrobromuro del compuesto I

- 20 0,9 gramos del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvieron en 15 ml de acetato de etilo y se añadió 0,5 ml de solución acuosa de HBr de 48% en peso. Esta adición ocasionó la formación de una suspensión espesa que se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Por filtración y lavado con 30 ml de éter dietílico seguido de desecación en vacío (50°C) durante la noche, se obtuvo el solvato de EtOAc del HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, 1,0 gramo (65%). La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 56,19%; N, 6,60%; H, 6,56% (teóricos para la sal 1:1 corregidos para el 8% de acetato de etilo y 0,5% de agua, determinados mediante TGA y KF: C, 56,51%; N, 6,76%; H, 6,38%).

- 25 Ejemplo 4j: Caracterización del solvato de acetato de etilo del hidrobromuro del compuesto I

- 30 El solvato de acetato de etilo, preparado en el ejemplo 4i, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 6. El lote contiene una mezcla del solvato y de la forma alfa del compuesto I, probablemente debido a que la desecación ha ocasionado una desolvatación parcial. La desolvatación comienza a ~75°C cuando se calienta a 10°/minuto. Después de la desolvatación se produce la forma alfa. Si se expone a una humedad relativa alta, el acetato de etilo es reemplazado por agua, que se desprende cuando se hace bajar subsiguientemente la humedad. El sólido que resulta es higroscópico y absorbe 3,2% de agua en una humedad relativa alta.

Ejemplo 5a: Preparación de la sal hidrocioruro del compuesto I

- 35 1,0 gramo del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvió en 20 ml de acetato de etilo calentando suavemente (30°C). Cuando se obtuvo una solución clara se añadió lentamente una solución 2M de HCl en el seno de éter dietílico, hasta que el pH era, aproximadamente, 1-2. Durante la adición se observó una precipitación espontánea. Después de la adición final, la suspensión se agitó durante 1 hora antes de aislar el precipitado blanco por filtración y desecación en vacío (40°C) durante la noche. Se aisló el hidrocioruro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, 1,1 gramos, (99%) La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 64,18%; N, 8,25%; H, 6,96%. (Teóricos para la sal 1:1 corregidos para 0,66% de agua determinada por TGA: C, 64,13%; N, 8,31%; H, 6,95%).

Ejemplo 5b: Caracterización del hidrocioruro del compuesto I

El hidrocioruro, preparado en el ejemplo 5a, es cristalino (XRPD) –véase la Figura 7. Tiene un punto de fusión de ~ 236°C. Absorbe aproximadamente 1,5% de agua cuando se expone a humedad relativa alta y posee una solubilidad en agua de 3 mg/ml.

Ejemplo 5c: Preparación de monohidrato del hidrocloreto del compuesto I

11,9 gramos del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvieron en 100 ml de etanol con calentamiento. Cuando se obtuvo una solución homogénea se efectuó la adición de 3,5 ml de solución acuosa concentrada de HCl lo que causó la precipitación inmediata de un sólido blanco. La suspensión se agitó durante 5 minutos al principio y después en un baño de hielo otra hora antes de filtrar. El sólido blanco se lavó usando 100 ml de etanol de nueva aportación, frío (colocado en congelador a ~ 18°C durante 2 horas), 50 ml de acetona y, finalmente, 50 ml de éter dietílico, antes de secar en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.HCl, 5,1 gramos, (38%). La NMR cumple con la estructura, Análisis elemental: C, 61,23%; N, 7,91%; H, 7,16% (Teóricos para el monohidrato de la sal 1:1: C, 61,26%; N, 7,94%; H, 7,14%).

10 Ejemplo 5d: Caracterización del monohidrato del hidrocloreto del compuesto I

El monohidrato del hidrocloreto, preparado en el ejemplo 5c, es cristalino (XRPD)- véase la Figura 8. Se deshidrata comenzando a 50°C aproximadamente. Algunos acontecimientos térmicos, probablemente, transposición, tienen lugar por calentamiento adicional, y funde a 230°C aproximadamente seguido de recristalización y fusión a 236°C aproximadamente. No absorbe más cantidad de agua cuando se expone a humedad relativa alta y el agua unida al hidrato no se separa hasta que la humedad relativa desciende a un valor por debajo de 10% de HR a temperatura ambiente. Tiene una solubilidad en agua de 2 mg/ml aproximadamente.

Ejemplo 6a: Preparación de la sal mesilato del compuesto I

1,0 gramo del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvió en 20 ml de acetato de etilo con calentamiento (70°C). Cuando se obtuvo una solución clara se añadió lentamente 0,35 gramos de ácido metanosulfónico (1,1 equivalentes). Después de la adición final se enfrió la solución sobre hielo y se añadió lentamente éter dietílico lo que ocasionó la precipitación del producto. La suspensión se agitó durante 2 horas sobre hielo antes de aislar el precipitado blanco por filtración y secarlo en vacío (40°C) durante la noche. Se aisló 1,1 gramos (85%) de mesilato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 57,81%; N, 6,81%; H, 6,68%. (Teóricos para la sal 1:1: C, 57,81%; N, 7,10%; H, 6,64%).

25 Ejemplo 6b: Caracterización del mesilato del compuesto I

El mesilato, preparado en el ejemplo 6a, es cristalino (XRPD) –véase la Figura 9. Tiene un punto de fusión de ~ 163°C. Es higroscópico (absorbe aproximadamente 8% de agua cuando se expone a una humedad relativa de 80% y se transforma, por tanto, en una forma hidratada). El último 6% del agua absorbida no se separa hasta que la humedad relativa está por debajo del 10%. Posee una solubilidad muy alta en agua (> 45 mg/ml)

30 Ejemplo 7a: Preparación de fumarato del compuesto I

5,5 gramos del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se calentaron a reflujo en el seno de una mezcla de 50 ml de metanol y 50 ml de acetato de etilo. La solución se dejó enfriar ligeramente antes de añadir 2,1 gramos de ácido fumárico, lo que originó una reacción exotérmica y la precipitación de un sólido blanco. La suspensión se agitó al tiempo que se dejaba enfriar a temperatura ambiente seguido de 2 horas en el congelador a -18°C. Se recogió por filtración el sólido blanco y se lavó con 20 ml de acetato de etilo frío antes de secar en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló el producto en cantidad de 3,1 gramos (44%). La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 63,42%; N, 6,64%; H, 6,42% (Teóricos para una sal 1:1: C, 63,74%; N, 6,76%; H, 6,32%).

Ejemplo 7b: Caracterización del fumarato del compuesto I

El fumarato, preparado en el ejemplo 7a, es cristalino (XRPD) –véase la Figura 10. Tiene un punto de fusión de ~194°C. La solubilidad en agua es 0,4 mg/ml.

Ejemplo 8a: Preparación de maleato del compuesto I

2,5 gramos del aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina se disolvieron en 50 ml de acetato de etilo y se calentó a 60°C seguido de la adición de 1,1 gramos de ácido maleico. La mezcla se calentó de nuevo a reflujo durante 5 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agitaba. Durante el enfriamiento comenzó la precipitación y se finalizó mediante 4 horas en el congelador (-18°C). Se recogió el sólido blanco por filtración y se lavó con 50 ml de éter dietílico antes de secar en vacío (50°C) durante la noche. Esto produjo 1,3 gramos (38%) de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. Maleato (38%), que se recristalizó por tratamiento con 40 ml de acetato de etilo y 5 ml de metanol, a reflujo. La solución clara se enfrió a temperatura ambiente seguido de 2 horas en el

congelador (-18°C) antes de filtrar y lavar dos veces con 10 ml de acetato de etilo frío, seguido de desecación en vacío (50°C) durante dos días. Se aisló la cantidad de 0,9 gramos (69%) del maleato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina. La NMR cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 63,57%; N, 6,79%; H, 6,39% (Teóricos para una sal 1:1: C, 63,74%; N, 6,76%; H, 6,32%)

5 Ejemplo 8b: Caracterización del maleato del compuesto I

El maleato, preparado en el ejemplo 8a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 11. Tiene un punto de fusión de ~ 152°C. La solubilidad en agua es 1 mg/ml, aproximadamente.

Ejemplo 9a: Preparación de mesotartrato del compuesto I

10 11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en el seno de acetona, se trató con 0,5 gramos de ácido mesotartárico disueltos en 5 ml de acetona. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos durante cuyo tiempo tuvo lugar precipitación. Por filtración y lavado, primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló la sal del ácido mesotartárico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, en cantidad de 1,4 gramos (93%). NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 58,58%; N, 6,29%; H, 6,40%. (Teóricos para una sal 1:1: C, 58,91%; N, 6,25%; H, 6,29%).

15

Ejemplo 9b: Caracterización del mesotartrato del compuesto I

El mesotartrato, preparado en el ejemplo 9a, es cristalino (XRPD)-véase la Figura 12. Tiene un punto de fusión de ~ 164°C. La solubilidad en agua es ~ 0,7 mg/ml

Ejemplo 10a: Preparación de L-(+)-tartrato del compuesto I

20 11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en el seno de acetona, se trató con 0,5 gramos de ácido L-(+)-tartárico disueltos en 5 ml de acetona. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos durante cuyo tiempo tuvo lugar precipitación- Por filtración y lavado, primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló la sal del ácido L-(+)-tartárico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en cantidad de 1,2 gramos (81%). NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 58,86%; N, 6,30%; H, 6,38%. (Teóricos para una sal 1:1: C, 58,91%; N, 6,25%; H, 6,29%).

25

Ejemplo 10b: caracterización del L-(+)-tartrato del compuesto I

El L-(+)-tartrato, preparado en el ejemplo 10a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 13. Tiene un punto de fusión de ~ 171°C. La solubilidad en agua es ~ 0,4 mg/ml

30 Ejemplo 11: Preparación de D-(-)-tartrato del compuesto I

11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en acetona, se trató con 0,5 gramos de ácido D-(-)-tartárico disueltos en 5 ml de acetona. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos durante cuyo tiempo tuvo lugar precipitación- Por filtración y lavado, primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló la sal del ácido D-(-)-tartárico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en cantidad de 1,0 gramo (68%). NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 58,90%; N, 6,26%; H, 6,35%. (Teóricos para una sal 1:1: C, 58,91%; N, 6,25%; H, 6,29%)..

35

Ejemplo 11b: Caracterización del D-(-)-tartrato del compuesto I

40 El D-(-)-tartrato, preparado en el ejemplo 11a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 14. Tiene un punto de fusión de ~ 175°C. La solubilidad en agua es ~ 0,4 mg/ml

Ejemplo 12a: Preparación de sulfato del compuesto I

11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en acetona, se trató con 2,2 ml de una solución acuosa 3M de H₂SO₄. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después en un baño de hielo durante otras 4 horas antes de que tuviera lugar precipitación, y se finalizó. Por filtración y lavado,

primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló el sulfato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en cantidad de 0,51 gramos (39%).NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 54,53%; N, 7,22%; H, 6,28%. (Teóricos para una sal 1:1: C, 54,52%; N, 7,07%; H, 6,10%).

5 Ejemplo 12b: Caracterización del sulfato del compuesto I

El sulfato, preparado en el ejemplo 12a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 15. Tiene un punto de fusión de ~166°C. La solubilidad en agua es ~0,1 mg/ml.

Ejemplo 13a: Preparación de fosfato del compuesto I

10 11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en acetona, se trató con 0,2 ml de una solución acuosa al 65% de H₃PO₄. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos durante cuyo tiempo tuvo lugar precipitación. Por filtración y lavado, primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló el fosfato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en cantidad de 1,23 gramos (94%).NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 54,21%; N, 7,15%; H, 6,43%. (Teórico para una sal 1:1: C, 54,53%; N, 7,07%; H, 6,36%).

Ejemplo 13b: Caracterización del fosfato del compuesto I

El fosfato, preparado en el ejemplo 13a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 16. Tiene un punto de fusión de ~224°C. La solubilidad en agua es ~1 mg/ml.

Ejemplo 14a: Preparación de nitrato del compuesto I

20 11,1 ml de una solución 0,30 M de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en acetona, se trató con 0,2 ml de una solución acuosa 16,5M de HNO₃. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos durante cuyo tiempo tuvo lugar precipitación. Por filtración y lavado, primeramente con 5 ml de acetona y después con 3 ml de éter dietílico, se obtuvo el producto en forma de un sólido blanco que se secó en vacío (50°C) durante la noche. Se aisló el nitrato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en cantidad de 0,87 gramos (73%).NMR: cumple con la estructura. Análisis elemental: C, 59,80%; N, 11,67%; H, 6,51%. (Teóricos para una sal 1:1: C, 59,81%; N, 11,63%; H, 6,41%).

Ejemplo 14b: Caracterización del nitrato del compuesto I

El nitrato, preparado en el ejemplo 14a, es cristalino (XRPD) – véase la Figura 17. No funde sino que descompone con una reacción exotérmica, a 160°C aproximadamente. La solubilidad en agua es ~0,8 mg/ml.

30 Ejemplo 15: Comprimido

Los ejemplos que figuran a continuación muestran ejemplos representativos de cómo pueden prepararse comprimidos que comprenden compuestos de la presente invención. Ha sido utilizada en todos los ejemplos la forma beta de la sal hidrobromuro.

Ejemplo 15a

35 63,55 g de la sal hidrobromuro, 923,65 g de Lactosum 350M, 461,8 g de almidón de maíz y 76,0 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Diosna PPI con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 220 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 7 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz, tamaño 4000 µm. Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 µm. 1383,5 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 400 g de Avicel PH200 y 60 g de Ac-Di-Sol. Después de lubricación de la mezcla por mezcla con 15 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso previsto de núcleo de 200 mg y un diámetro de 8 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro especificado que correspondía a 5 mg de la base libre.

45

Ejemplo 15b

317,75 g de la sal hidrobromuro, 754,15 g de Lactosum 350M, 377,1 g de almidón de maíz y 76,0 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Diosna PPI con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 210 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 7 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1386,2 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 400 g de Avicel PH200 y 60 g de Ac-Di-Sol. Después de lubricación de la mezcla por adición de 15 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso de núcleo fijado de 200 mg y un diámetro de 8 mm, obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 25 mg de la base libre.

Ejemplo 15c

32,2 g de la sal hidrobromuro, 944,82 g de Lactosum 350M, 472,4 g de almidón de maíz y 76,0 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Diosna PPI con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 220 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 7 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1317 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 400 g de Avicel PH200 y 60 g de Ac-Di-Sol. Después de lubricar la mezcla por adición de 15 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 208 mg y un diámetro de 8 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 2,5 mg de la base libre.

Ejemplo 15d

540,85 g de la sal hidrobromuro, 953,00 g de Pearlitol 50C, 296,22 g de almidón de maíz y 70,5 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Aeromatic-Fielder PMA1 con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 241,87 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 7 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1500 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 531,91 g de Avicel PH200 y 85,11 g de Primojel.. Después de lubricar la mezcla por adición de 10,64 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 125 mg y un diámetro de 6 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 25 mg de la base libre.

Ejemplo 15e

270,45 g de la sal hidrobromuro, 772,0 g de Pearlitol 50C, 386,41 g de almidón de maíz y 70,5 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Aeromatic-Fielder PMA1 con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 195 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 5,5 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1200,3 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 425,5 g de Avicel PH200 y 68,09 g de Primojel.. Después de lubricar la mezcla por adición de 8,8 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 100 mg y un diámetro de 6 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 10 mg de la base libre.

Ejemplo 15f

504,85 g de la base libre, 552,95 g de Pearlitol 50C, 276,53 g de almidón de maíz y 65,7 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Aeromatic-Fielder PMA1 con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 182 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 5,5 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1250,7 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 443,31 g de Avicel PH200 y 70,8 g de Primojel. Después de lubricar la mezcla por adición de 8,92 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 250 mg y un diámetro de 8 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 50 mg de la base libre.

Ejemplo 15g

135,23 g de la sal hidrobromuro, 863,2 g de Pearlitol 50C, 432,69 g de almidón de maíz y 70,66 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Aeromatic-Fielder PMA1 con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 195 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 5,5 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1200 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 425,28 g de Avicel PH200 y 68,2 g de Primojel.. Después de lubricar la mezcla por adición de 8,58 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 100 mg y un diámetro de 6 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 5 mg de la base libre.

Ejemplo 15h

67,6 g de la sal hidrobromuro, 908,0 g de Pearlitol 50C, 453,9 g de almidón de maíz y 70,51 g de Kollidon VA64 se mezclaron durante 2 minutos en un mezclador de alta cizalla Diosna PP1 con una velocidad del impulsor de 1000 rpm. Seguidamente, la velocidad del impulsor se redujo a 800 rpm y se añadió 195 g de agua en el transcurso de un minuto. Se amasó durante 5,5 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un tamiz de tamaño 4000 μm . Se secaron los gránulos y se hicieron atravesar un tamiz de tamaño 710 μm . 1325 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 531,91 g de Avicel PH200 y 85,11 g de Primojel.. Después de lubricar la mezcla por adición de 10,64 g de estearato magnésico, la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 207,8 mg y un diámetro de 7 mm obteniendo comprimidos con un contenido de hidrobromuro fijado que correspondía a 5 mg de la base libre.

Ejemplo 15i

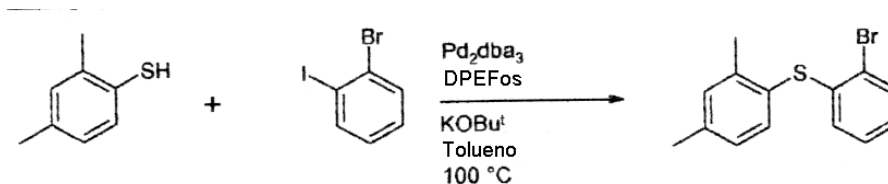
2.290,1 g de la sal hidrobromuro, 17.568 g de hidrogenofosfato cálcico anhidro, 8.783 g de almidón de maíz y 1.510 g de copovidona, se mezclaron durante 3 minutos en un mezclador de alta cizalla Aeromatic-Fielder PMA 100 con una velocidad del impulsor de 200 rpm. Seguidamente se añadió 5.130 g de agua en el transcurso de 2 minutos con una velocidad del impulsor de 150 rpm. Se amasó durante 15 minutos y los gránulos resultantes se hicieron pasar a través de un molino cónico que operaba a 2700 rpm aproximadamente con tamiz de tamaño 9,525 mm. Los gránulos se secaron y se hicieron atravesar un molino cónico que operaba a 1500 rpm, aproximadamente, con un tamiz de tamaño 2,388 mm. 28.747 g de los gránulos resultantes se mezclaron con 11.250 g de celulosa microcristalina, 1.350 de almidón glicolato sódico (tipo A) y 1.800 g de talco- Después de lubricar la mezcla por adición de 450 g de estearato magnésico la mezcla pulverulenta se hizo pasar a una máquina de comprimir. Se prepararon comprimidos con un peso fijado de 125 mg y un diámetro de 6 mm, obteniendo comprimidos con un comprimido de la sal hidrobromuro que correspondía a 5 mg de la base libre. Además, se prepararon comprimidos que tenían un peso fijado de 250 mg y un diámetro de 8 mm, obteniendo comprimidos con un contenido fijado de la sal hidrobromuro que correspondía a 10 mg de la base libre.

35 Ejemplo 16: Dolor. Efectos del ensayo de formalina intradérmica en el ratón

En este modelo, los ratones recibieron una inyección de formalina (20 μl , 4,5%) en la pata trasera izquierda. La irritación ocasionada por la inyección de formalina provocó una respuesta de comportamiento característica, en dos fases, cuantificada por la cantidad de tiempo consumido por el animal en la lamedura de la pata dañada. La primera fase (~ 0-10 minutos) representa irritación directa por el compuesto químico y nocicepción, mientras que la segunda (~ 20-30 minutos) se opina que representa dolor de origen neuropático. Las dos fases están separadas por un periodo de inactividad en el que el comportamiento vuelve al normal. La eficacia de los compuestos de ensayo para reducir los estímulos dolorosos se determina contando la extensión del periodo de tiempo consumido en las lameduras de la pata dañada, en las dos fases.

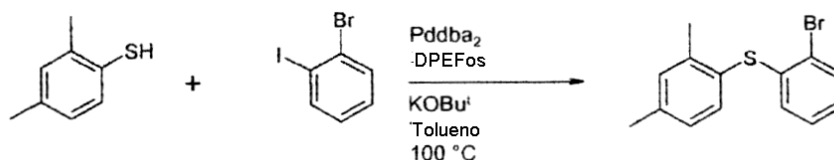
Los compuestos de la presente invención pusieron de manifiesto una disminución importante en las calificaciones del dolor en la segunda fase (Figura 18b), lo que indica eficacia contra el dolor de origen neuropático. Además, los compuestos de la presente invención mostraron una disminución importante en las calificaciones de la primera fase (Figura 18a), lo que indica una acción más analgésica a la dosis máxima. En resumen, estos resultados indican que los compuestos de la presente invención son, probablemente, eficaces para el tratamiento de trastornos dolorosos.

Ejemplo 17



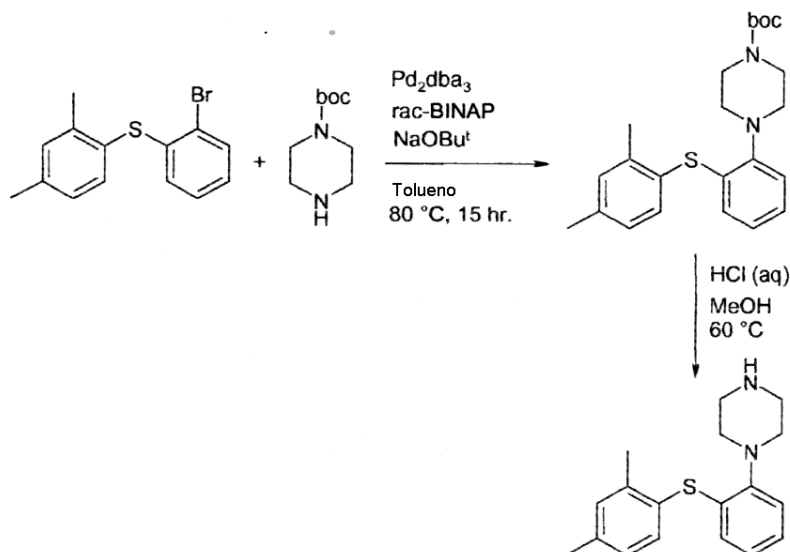
- 20 g de 2-bromoyodobenceno (71 mmol) y 9,8 g de 2,4-dimetiltiofenol (71 mmol) se disolvieron en 100 ml de tolueno. La solución se purgó con nitrógeno antes de añadir 324 mg de Pd_2dba_3 (0,35 mmol; 1% en moles) y 381 mg de DPEFos (0,71 mmol; 1% en moles). La mezcla de reacción se agitó 5 minutos durante cuyo tiempo el color cambió desde rojo oscuro a anaranjado. Tuvo lugar la adición de 8,7 g de KOBU^t (78 mmol) formándose instantáneamente una mezcla heterogénea. La suspensión se calentó a 100°C , bajo nitrógeno. Después de 1 hora la mezcla se enfrió a 0°C y se agitó durante 2 horas antes de filtrar la mezcla a través de una almohadilla de celita. El sólido sobre el filtro se lavó con 2 x 50 ml de tolueno y los filtrados reunidos se evaporaron obteniendo 21 g de un aceite anaranjado rojizo (rendimiento: 99%) que demostró una pureza $> 96\%$ por HPLC y CG-EM

Ejemplo 18



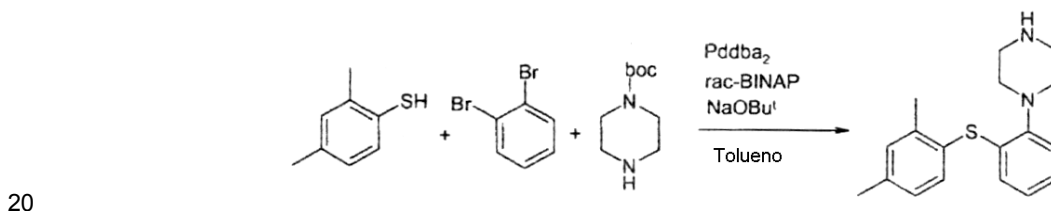
- 500 ml de tolueno se colocaron en un matraz de fondo redondo de tres bocas, de 1 litro, provisto de agitador mecánico, y se añadieron 203 mg de Pd_2dba_2 (0,35 mmol; 0,1% en moles) y 760 mg de DPEFos (1,5 mmol; 0,4% en moles). La solución, de color rojo oscuro, se purgó con nitrógeno durante 5 minutos antes de añadir 100 g de 2-bromoyodobenceno (353 mmol) y 48,9 g de 2,4-dimetiltiofenol (353 mmol). La adición de 43,6 g de KOBU^t (389 mmol) provocó una reacción exotérmica que hizo aumentar la temperatura desde 20°C a 36°C , al tiempo que la formación de una mezcla heterogénea. La suspensión se calentó a 100°C bajo nitrógeno. Después de 7 horas se enfrió la mezcla a 0°C y se agitó durante 2 horas antes de filtrar a través de una almohadilla de celita. El sólido sobre el filtro se lavó con 2 x 200 ml de tolueno y los filtrados reunidos se evaporaron obteniendo 104 g de un aceite anaranjado (105% de rendimiento) que demostró una pureza de 97% por HPLC, y que la NMR se ajustaba a la estructura deseada. El aceite solidificó durante reposo a temperatura ambiente.

Ejemplo 19



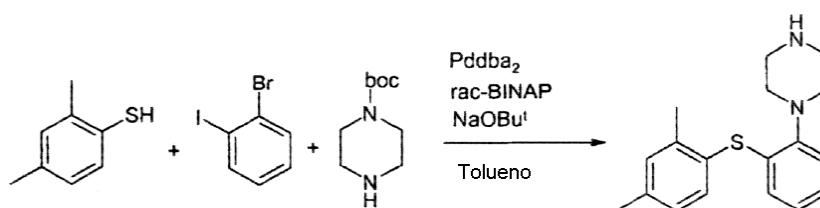
A una solución de 10 gramos de 1-[2-bromofenilsulfanil]-2,4-dimetilbenceno (34 mmol) en el seno de 50 ml de tolueno anhidro, se añadió 7 gramos de boc-piperazina (38 mmol), se desgasificó con nitrógeno durante 5 minutos, se añadió 312 mg de Pd₂dba₃ (2% en moles) y 637 mg de rac-BINAP (3% en moles), se desgasificó durante otros 3 minutos antes de añadir 3,9 gramos de Bu^tONa (41 mmol) y se calentó a 80°C durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo dos veces con 20 ml de salmuera al 15%, se secó sobre Na₂SO₄, se añadió carbón vegetal activado, se calentó a reflujo durante 15 minutos, se filtró a través de celita y se evaporó obteniendo 14,2 gramos de un aceite parduzco (4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]-BOC-piperazina) que tenía una pureza de 95% determinada por NMR. El aceite crudo se disolvió en 200 ml de MeOH y 20 ml de solución acuosa 6M de HCl y se calentó a reflujo durante 1 hora después de lo cual el análisis por HPLC mostró desprotección total. Después de enfriar a temperatura ambiente se separó el metanol en vacío en un evaporador rotatorio, se añadió 20 ml de solución concentrada de NaOH (se midió el pH que era 13-14), después de lo cual la mezcla se agitó 15 minutos con 100 ml de EtOAc. Se recogió la fase orgánica y se extrajo dos veces con 30 ml de salmuera al 15%, se secó sobre Na₂SO₄ y se añadió 5,2 g de ácido fumárico (44 mmol) en el seno de 30 ml de MeOH. Durante el calentamiento a reflujo se formó una solución homogénea desde la que tuvo lugar una precipitación rápida tanto durante calentamiento posterior como por enfriamiento. Se recogió el precipitado, se lavó con 20 ml de EtOAc y 20 ml de acetona y se secó en vacío obteniendo 9,3 gramos de fumarato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (22 mmol) en forma de un polvo blanco, con un rendimiento global de 66%, que tenía una pureza de 99,5% determinada por CL-EM.

Ejemplo 20



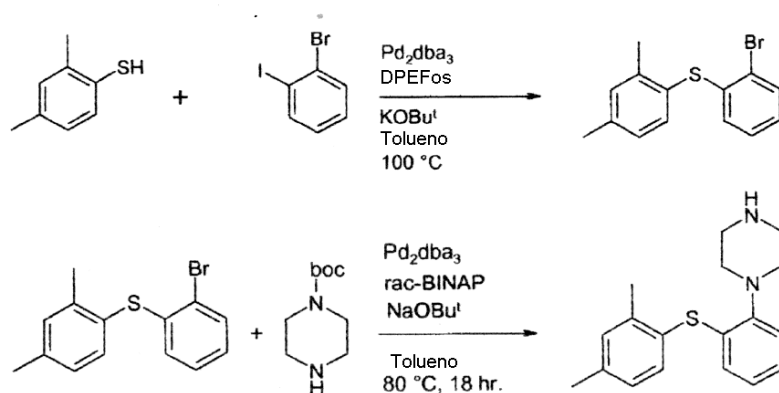
100 g de 1,2-dibromobenceno (424 mmol) y 58,6 gramos de 2,3-dimetiltiofenol (424 mmol), se disolvieron en 800 ml de tolueno. La solución se purgó con nitrógeno antes de añadir 4,6 g de Pd₂dba₂ (8 mmol; 2% en moles) y 13,1 g de rac-BINAP (21 mmol; 5% en moles). La mezcla de reacción se agitó 5 minutos durante cuyo tiempo el calor cambió desde rojo oscuro a anaranjado. Tuvo lugar la adición de 61 g de NaOBu^t (636 mmol) y 200 ml de tolueno, formándose instantáneamente una mezcla heterogénea. La suspensión se calentó a 80°C bajo nitrógeno. Después de 10 horas se enfrió la mezcla a 60°C antes de añadir una suspensión de 102,6 g de boc-piperazina (551 mmol) y otros 61 g de NaOBu^t (636 mmol) en el seno de 500 ml de tolueno. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno antes de añadir otra parte de 4,6 g de Pd₂dba₂ (8 mmol; 2% en moles) y 13,1 g de rac-BINAP (21 mmol; 5% en moles). La mezcla se calentó a reflujo esta vez (110°C) durante otras 6 horas o hasta que el ensayo por HPLC muestra conversión total. La mezcla de reacción se enfrió sobre hielo durante 2 horas antes de filtrarla a través de una almohadilla de celita. El sólido sobre el filtro se lavó con 2 x 200 ml de tolueno y los filtrados reunidos se evaporaron obteniendo 242 g de un aceite de color rojo. El aceite se disolvió en 1000 ml de MeOH y se añadió lentamente 115 ml de solución acuosa de HBr al 48% en peso, seguido de calentamiento a reflujo durante 2 horas, al cabo de cuyo tiempo se detectó desprotección total por HPLC. Se enfrió la mezcla, se añadió 1000 ml de EtOAc y se separó el MeOH por evaporación. La adición de 1000 ml de Et₂O causó una precipitación. Se continuó agitando a temperatura ambiente durante 2 horas antes de dejar la suspensión en el congelador durante la noche (-18°C). Por filtración y lavado dos veces con 200 ml de Et₂O se obtuvieron 172 g de un sólido de color parduzco después de secar en vacío a 40°C. El sólido parduzco se trató con 1500 ml de H₂O hirviendo durante 1 hora antes de enfriar a temperatura ambiente durante otras 2 horas. Por filtración y desecación en vacío a 40°C durante la noche se obtuvo 98 g de hidrobromuro de 4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (61%).

Ejemplo 21



102 g de 2-bromoyodobenceno (362 mmol) y 50 g de 2,4-dimetiltiofenol (362 mmol) se disolvieron en 1000 ml de tolueno. A esta solución se añadió 81 g de BOC-piperazina (434 mmol) seguido de 2,08 g de Pd₂dba₃ (1% en moles) y 4,51 g de rac-BINAP (2% en moles). La mezcla se purgó con nitrógeno durante 5 minutos antes de añadir una suspensión de 87 g de NaOBu^t (905 mmol) en el seno de 300 ml de tolueno. La suspensión se calentó a 100°C bajo nitrógeno, durante la noche. Una análisis por CG-EM mostró conversión total en el producto intermedio (1-(2-bromofenilsulfanil)-2,4-dimetilbenceno) y la temperatura se aumentó hasta reflujo (120°C) durante otras 24 horas. El análisis por HPLC puso de manifiesto conversión total en el intermedio (1-BOC-4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina). La mezcla de reacción se enfrió sobre hielo durante una hora antes de filtrarla. El sólido sobre el filtro se lavó con 2 x 200 ml de tolueno y a los filtrados reunidos se añadió 80 ml de solución acuosa de HBr al 48% seguido de calentamiento a reflujo durante 18 horas, después de lo cual se detectó desprotección total por HPLC. Se enfrió la mezcla sobre hielo durante 2 horas y se filtró. El sólido de color parduzco se disolvió en 1000 ml de H₂O hirviente durante 1 hora junto con carbón vegetal activado (25 g), se filtró mientras estaba caliente y se dejó enfriar. El precipitado se recogió por filtración y se secó en vacío a 40°C durante la noche, obteniendo 49 g de hidrobromuro de 4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (36%) en forma de un sólido blanco.

15 Ejemplo 22

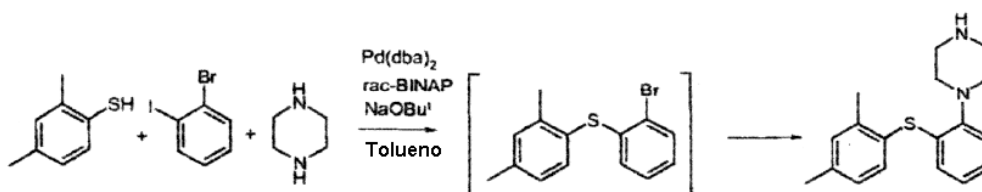


500 ml de tolueno se colocaron en un matraz de fondo redondo de tres bocas, de 1 litro, provisto de agitador mecánico y se añadió 809 mg de Pd₂dba₃ (0,88 mmol; 0,5% en moles) y 952 mg de DPEFos (1,77 mmol; 0,5% en moles). La solución de color rojo oscuro se purgó con nitrógeno durante 5 minutos antes de añadir 100 g de 2-bromoyodobenceno (353 mmol) y 48,9 g de 2,4-dimetiltiofenol (353 mmol). La adición de 43,6 g de KOBu^t (389 mmol) originó una reacción exotérmica que aumentó la temperatura desde 20°C a 42°C, al tiempo que la formación de una mezcla heterogénea, y el color cambió desde rojo oscuro a anaranjado/parduzco. La suspensión se calentó a 100°C bajo nitrógeno, Al cabo de solo 20 minutos una análisis por HPLC mostró conversión completa en 1-(2-bromofenilsulfanil)-2,4-dimetilbenceno. La mezcla se enfrió a 40°C, se añadió 600 ml de solución de NaCl al 15% en peso y se agitó durante 5 minutos. Se separó la fase orgánica y la fase acuosa se lavó con 2 x 100 ml de tolueno. Las fases orgánicas reunidas se lavaron con 100 ml de solución acuosa 2M de HCl y 100 ml de solución de NaCl al 15% en peso, se secó sobre Na₂SO₄, se calentó a reflujo durante 15 minutos con carbón vegetal activado (10 g), se filtró dos veces y se evaporó obteniendo 107,3 de un aceite de color rojo-anaranjado (103%) que se encontró por HPLC que tenía una pureza de 98%.

A una solución de 90 gramos del aceite rojo-anaranjado (307 mmol) en el seno de 500 ml de tolueno anhidro se añadió 57 gramos de boc-piperazina (307 mmol), se desgasificó con nitrógeno durante 5 minutos, se añadió 1,4 g de Pd₂dba₃ (1,53 mmol; 0,5% en moles) y 2,9 g de rac-BINAP (4,6 mmol; 1,5% en moles), se desgasificó durante otros 2 minutos antes de añadir 35,4 gramos de NaOBu^t (368 mmol) y calentar a 80°C durante 18 horas. Por HPLC se puso de manifiesto conversión total y la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el sólido sobre el filtro se lavó con 2 x 100 ml de tolueno. Los filtrados reunidos se sometieron a extracción con 2 x 150 ml de solución de NaCl al 15% en peso, se secó sobre Na₂SO₄, se añadió carbón vegetal activado, se calentó a reflujo durante 30 minutos, se filtró dos veces y se evaporó obteniendo 140,7 gramos de aceite parduzco de 4-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]-BOC-piperazina. El aceite crudo se disolvió en 300 ml de MeOH y 200 ml de solución acuosa 6M de HCl y se calentó a reflujo durante 1 hora, después de lo cual el análisis por HPLC mostró desprotección total. Después de enfriar a temperatura ambiente se separó el metanol en vacío en un evaporador rotatorio y se añadió 200 ml de solución concentrada de NaOH (pH medido: 13-14) después de lo cual la mezcla se agitó 15 minutos con 1000 ml de EtOAc. Se recogió la fase orgánica y se sometió a extracción con salmuera al 15% en peso, se secó sobre Na₂SO₄ y se añadió a una solución de 46,3 gramos de ácido fumárico (399 mmol) en el seno de 300 ml de MeOH. La mezcla se calentó a reflujo, se enfrió a temperatura ambiente y luego se dejó en el congelador durante la noche (-18°C). Se recogió el precipitado, se lavó con 100 ml de EtOAc y 100 ml de acetona, y

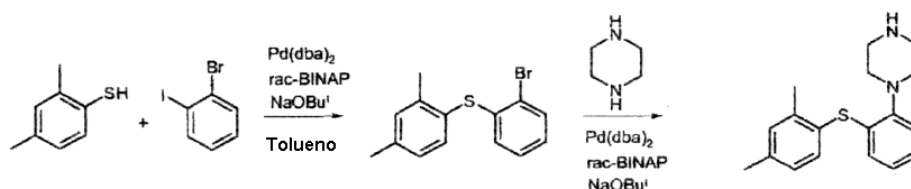
se secó en vacío (50°C) obteniendo 103,2 g de fumarato de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (249 mmol) como un polvo blanco, con un rendimiento global de 81%, que tenía una pureza de 99% determinada por CL-EM. El fumarato se transformó en la base libre, (1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, empleando EtOAc/H₂O/NaOH conc., la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y al filtrado se añadió 34 ml de solución acuosa de HBr al 48% en peso, causando la precipitación de un sólido blanco. Se recogió el sólido, se trató con 100 ml de H₂O hirviendo, que después de enfriar a temperatura ambiente formó una suspensión. El producto final (hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina) se recogió por filtración y se secó en vacío (50°C) obteniendo 83 g de polvo blanco (rendimiento global: 71%). Análisis elemental: Calculado: C, 56,99%; H, 6,11; N, 7,39%. Encontrado: C, 57,11%; H, 6,15%; N, 7,35%.

10 Ejemplo 23



815 g de NaOBu^t (8,48 mmol), 844 g de piperazina (9,8 mol), 6,6 g de Pd(dba)₂ (11,48 mmol) y 13,6 g de rac-BINAP (21,84 mmol), se agitaron con 4 litros de tolueno durante 50 minutos. Después se añadió 840 g de 2-bromoyodobenceno (2,97 mol) junto con 1,5 litros de tolueno y se continuó agitando durante 30 minutos. Finalmente se añadió 390,8 gramos de 2,4-dimetiltiofenol (2,83 mol) con 1,5 litros de tolueno. La suspensión se calentó a reflujo y se continuó el calentamiento a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar durante la noche. Se añadió 2 litros de agua y se agitó durante 1 hora antes de filtrar la mezcla a través de coadyuvante de filtración. El filtrado se lavó luego con 3 x 1 litro de salmuera. Las fases acuosas reunidas se extrajeron después con 600 ml de tolueno. Las fases de tolueno reunidas se calentaron entonces a 70°C seguido de la adición de 329,2 ml de solución acuosa de HBr al 48% en peso y 164,6 ml de agua. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. El producto final (hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina) se recogió por filtración y se secó en vacío (60°C) obteniendo 895 g (rendimiento: 84%)

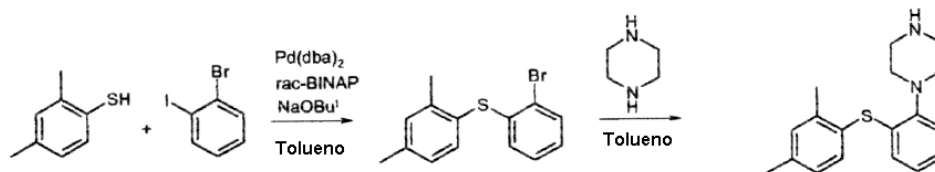
Ejemplo 24



40,76 g de NaOBu^t (424,1 mmol), 0,33 g de Pd(dba)₂ (0,57 mmol) y 0,68 g de rac-BINAP (1,09 mmol), se agitaron con 200 ml de tolueno. Se añadió 42 g de 2-bromoyodobenceno (362 mmol) y 19,54 g de 2,4-dimetiltiofenol (362 mmol) con 50 ml de tolueno. La suspensión se calentó a reflujo y se continuó el calentamiento a reflujo durante la noche. Un análisis por HPLC mostró conversión total en el producto intermedio (1-(2-bromofeniilsulfanil)-2,4-dimetilbenzoceno). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de coadyuvante de filtración. El filtrado se añadió a una mezcla de 40,76 g de NaOBu^t (424,1 mmol), 42,2 g de piperazina (489,9 mmol), 0,13 g de Pd(dba)₂ (0,57 mmol) y 0,68 g de rac-BINAP (1,09 mmol) y se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar durante la noche, se añadió 100 ml de agua y se separó completamente la fase acuosa. La fase orgánica se filtró a través de coadyuvante de filtración y el filtrado se lavó luego con 3 x 80 ml de salmuera. Las fases acuosas reunidas se extrajeron después con 50 ml de tolueno. Las fases de tolueno reunidas se calentaron luego a 70°C, seguido de la adición de 16,5 ml de solución acuosa de HBr al 48% y 8,25 ml de agua. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente durante la noche. El producto final, (hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina), se recogió por filtración y se secó en vacío (60°C) obteniendo 40,18 g de polvo casi blanco (rendimiento: 75%).

40

Ejemplo 25



5 40,76 g de NaOBU^t (424,1 mmol), 0,33 g de Pd(dba)₂ (0,57 mmol) y 0,68 g de rac-BINAP (1,09 mmol), se agitaron con 200 ml de tolueno. Se añadieron 42 g de 2-bromoyodobenceno (148,5 mmol) y 19,54 g de 2,4-dimetiltiofenol (141,4 mmol) con 50 ml de tolueno. La suspensión se calentó a reflujo y se continuó el calentamiento a reflujo durante la noche. El análisis por HPLC mostró conversión total en el producto intermedio (1-(2-bromofenilsulfanyl)-2,4-dimetilbenceno). Se enfrió la mezcla de reacción a 50°C y se añadió 42,2 g de piperazina (489,9 mmol) junto con 100 ml de tolueno. La mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas., se enfrió a temperatura ambiente durante la noche, se añadió 100 ml de agua y la mezcla de reacción se filtró a través de coadyuvante de filtración El sólido sobre el filtro se lavó luego con 50 ml de tolueno.

15 Se separó completamente la fase acuosa y la fase orgánica se lavó después con 3 x 25 ml de salmuera y 25 ml de agua. Las fases acuosas reunidas se extrajeron luego con 30 ml de tolueno. Las fases de tolueno reunidas se calentaron después a 70°C, seguido de la adición de 16,46 ml de solución acuosa de HBr al 48% y 8,23 ml de agua. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. El producto final (hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanyl)fenil]piperazina) se recogió por filtración y se secó en vacío (60°C) obteniendo 46,8 g (rendimiento: 87%)

Ejemplo 26: Efectos sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en el cerebro de ratas que se mueven libremente

Métodos

Se administró a los animales sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanyl)fenil]piperazina.

20 Animales

Se emplearon ratas de raza Sprague-Dawley de peso inicial 275-300 g. Los animales fueron mantenidos bajo un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad y en condiciones controladas para regular la temperatura interior (21±2°C) y la humedad (55±5%), con alimento y agua normal disponibles ad libitum.

Experimentos quirúrgicos y de microdiálisis

25 Las ratas fueron anestesiadas con hypnorm/dormicum (2 ml/kg) y se implantaron estereotáxicamente en el cerebro cánulas de guía intracerebrales (CMA/12), pretendiendo situar la punta de la sonda de diálisis en el hipocampo ventral (coordenadas: 5,6 mm posterior a bregma, lateral -5,0 mm, 7,0 mm ventral a dura) o en el córtex prefrontal (coordenadas: 3,2 mm anterior a bregma, lateral, 0,8 mm; 40 mm ventral a dura). Tornillos de anclaje y adhesivo acrílico se usaron para fijar las cánulas de guía. La temperatura corporal de los animales se monitorizó mediante sonda rectal y se mantuvo en 37°C. Se dejó que las ratas se recuperaran de la cirugía durante 2 días, y se alojaron individualmente en jaulas. El día del experimento se insertó a través de la cánula de guía una sonda de microdiálisis (CMA/12, 0,5 mm de diámetro, 3 mm de longitud).

35 Las sondas se conectaron mediante un eslabón giratorio de doble canal a una bomba de microinyección. Se comenzó la perfusión de la sonda de microdiálisis con solución Ringer filtrada (NaCl 145 mM, KCl 3 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1,2 mM, que contenía neostigmina 0,5 µM) poco tiempo antes de insertar la sonda en el cerebro y se continuó durante el tiempo que duró el experimento con un caudal constante de 1 µl/minuto. Después de 180 min de estabilización se inició el experimento. Los dializados se recogieron cada 20 minutos. Después de los experimentos los animales fueron sacrificados, separados sus cerebros, congelados y cortados en láminas delgadas para verificar la colocación de la sonda.

40 El compuesto se disolvió en HPbetaCD al 10% y se inyectó por vía subcutánea (2,5-10 mg/kg). Las dosis se expresan como mg de sal/kg de peso. El compuesto se administró en un volumen de 2,5 ml/kg.

Análisis de la acetilcolina dializada

La concentración de acetilcolina (ACh) en los dializados se analizó por HPLC con detección electroquímica usando una fase móvil que consistía en hidrogenofosfato disódico 100 mM, ácido octanosulfónico 2,0 mM, cloruro de tetrametilamonio 0,5 mM y MB (ESA) al 0,005%, pH 8,0. Una precolumna (ESA) como reactor enzimático, que contenía colina oxidasa inmovilizada, eliminó la colina procedente de la muestra inyectada (10 µl) antes de separar la ACh en la columna analítica (ESA ACH-250), caudal, 0,35 ml/min, temperatura: 35°C. Después de la columna analítica la muestra atravesó una post-columna, reactor de fase sólida (ESA), que contenía acetilcolinesterasa y colina oxidasa. El último reactor convirtió la ACh en colina y seguidamente la colina en betaína y H₂O₂. La última parte se detectó electroquímicamente utilizando un electrodo de platino (Célula analítica: ESA, modelo 5040).

10 Presentación de los valores obtenidos

En experimentos de una sola inyección, el valor medio de 3 muestras consecutivas de ACh obtenidos inmediatamente antes de la administración del compuesto, sirvió como nivel basal de cada experimento y los valores obtenidos fueron convertidos en porcentaje del nivel basal (valores basales medios antes de la inyección normalizados a 100%).

15 Resultados

El compuesto aumento de modo importante los niveles extracelulares de ACh en el córtex prefrontal y el hipocampo ventral de la rata – véanse las Figuras 19a y 19b.

Ejemplo 27: Condicionamiento de temor contextual en la rata

El compuesto administrado en el presente experimento fue la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

Los solicitantes han estudiado el efecto del compuesto sobre la adquisición, consolidación y recuerdo del condicionamiento de temor contextual en la rata. En el condicionamiento de temor animales ejemplares aprenden a asociar un ambiente neutro (contexto, la cámara de entrenamiento, CS), con una experiencia de aversión (una descarga eléctrica a las patas, US). Cuando se les vuelve a exponer a la cámara de entrenamiento los animales expresan un comportamiento de inmovilidad que se toma como una medida directa de memoria relacionada con el temor (Pavlov J. Biol. Sci. 15, 177-182, 1980). La neuroanatomía del condicionamiento de temor contextual ha sido investigada a fondo y diversos estudios han demostrado que el hipocampo y la amígdala cerebelosa son necesarios para la formación de esta memoria (Hippocampus, 11, 8-17, 2001; J. Neurosci., 19, 1106-1114, 1999; Behav. Neurosci., 106, 274-285, 1992).

Animales y fármacos

Se utilizaron ratas adultas macho Sprague-Dawley (250-300 g de peso en el momento del entrenamiento) procedentes de los Laboratorios Charles River, alojadas, dos por jaula, bajo un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Disponían de alimento y agua *ad libitum*. Las ratas fueron utilizadas 1 semana después de la llegada. El compuesto se disolvió en HPbetaCD al 10% y se inyectó por vía subcutánea. El fármaco se administró en un volumen de 2,5 ml/kg.

35 Aparatos

El entrenamiento y los ensayos fueron realizados en una cámara insonorizada (30 x 20 x 40 cm) mantenida en una habitación aislada y conectada a un sistema de ventilación. Se proporcionó iluminación mediante una luz blanca (60 vatios) El piso de la cámara consistía en una rejilla metálica unida a un generador de descargas eléctricas. Antes del entrenamiento y los ensayos, la cámara se limpió con una solución de etanol de 70%. Una cámara de vídeo permitió las observaciones del comportamiento y el registro de la sesión de entrenamiento para análisis "off-line".

Adquisición y ensayo de retención

Durante la adquisición se permitió que los animales exploraran libremente el nuevo ambiente durante un período de habituación de 1 minuto, que terminaba conjuntamente con una descarga eléctrica inevitable a las patas (estímulo incondicionado, US) a través del piso de rejilla electrificable. La descarga eléctrica las patas tenía una duración de 2 segundos y una intensidad de 0,75 mA. Los animales permanecían en la cámara de condicionamiento durante otros 60 segundos después del US. El comportamiento de inmovilidad se calificó durante los primeros 58 segundos (adquisición antes de la descarga; investigador ignorante de los grupos) para determinar las respuestas de

inmovilidad de la línea de base, al contexto. Al término de la adquisición los animales fueron retirados suavemente y colocados en sus jaulas, Al cabo de 24 horas los mismos animales fueron introducidos de nuevo en el contexto de entrenamiento (cámara de condicionamiento de temor) y se llevó a cabo un ensayo de retención de 2 minutos. Durante este periodo no se aplicaron descargas a las patas. El comportamiento de inmovilidad se calificó durante el período total del ensayo, sin conocimiento de los grupos por el investigador, y los resultados se presentaron como porcentaje del período total de ensayo.

Resultados y discusión

Efecto del compuesto sobre la cognición de temor contextual en la rata

El efecto del compuesto sobre el condicionamiento de temor contextual en la rata fue estudiado (i) sobre la adquisición (fármaco aplicado antes de la adquisición, Figura 20); (ii) sobre el recuerdo de la memoria (fármaco aplicado antes del ensayo, Figura 21); y (iii) sobre la consolidación (fármaco aplicado inmediatamente después de la adquisición, Figura 22). En la primera serie de experimentos, se administró el compuesto a las dosis de 1, 5 y 10 mg/kg 1 hora antes de la sesión de adquisición. La Figura 20 representa la adquisición de comportamiento de inmovilidad durante el entrenamiento (58 segundos antes de la descarga a las patas) y el ensayo de retención 24 horas después. Se observaron los descubrimientos siguientes:

- El compuesto no afecta al comportamiento de inmovilidad de la línea de base antes de la presentación de la descarga a las patas en ninguna de las dosis ensayadas
- El compuesto, a la dosis de 5 mg/kg, tiene tendencia a aumentar el tiempo pasado en inmovilidad durante el ensayo de retención, 24 horas después de la adquisición ($39,24 \pm 13,76\%$, $n = 6$, frente a $24,30 \pm 4,40\%$, $n = 16$, en los animales tratados con vehículo)..
- El compuesto, a la dosis de 10 mg/kg, aumenta significativamente el tiempo pasado en inmovilidad durante el ensayo de retención, 24 horas después de la adquisición ($52,15 \pm 5,68\%$, $n = 10$, frente a $24,30 \pm 4,40\%$, $n = 16$, en los animales tratados con vehículo, $p < 0,01$)

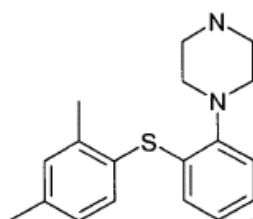
El modelo de condicionamiento de temor, descrito en la Figura 20, es un procedimiento operatorio estándar descrito en la bibliografía científica para la investigación de aprendizaje y memoria. Con objeto de esclarecer adicionalmente los efectos agudos de este fármaco sobre el recuerdo de memoria, el compuesto (5, 10 y 20 mg/kg) se aplicó 1 hora antes del ensayo de retención. Se observó que el compuesto inhibe la expresión de comportamiento de inmovilidad a la dosis de 5 mg/kg durante el ensayo de memoria ($12,86 \pm 3,57\%$, $n = 9$, frente a $33,61 \pm 4,29\%$, $n = 13$, en los animales tratados con vehículo, $p < 0,05$ (Figura 21).

Según se ha descrito anteriormente, el compuesto por sí mismo no afecta al comportamiento de inmovilidad de la línea de base antes de la iniciación del US (Figura 20) y, por tanto, la hipótesis más plausible es que el efecto observado en la Figura 21 sea debido a un efecto ansiolítico. La memoria condicionada es valorada por medio del comportamiento de inmovilidad, una respuesta que es reducida por compuestos con efectos ansiolíticos potenciales. Este experimento demuestra que el compuesto administrado agudamente antes de la recordación de la memoria posee eficacia ansiolítica y, por consiguiente, es improbable que la inmovilización aumentada que se indica en la Figura 20, sea debida a un efecto ansiogénico del compuesto.

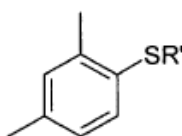
Con objeto de reforzar la idea de que el compuesto es no ansiogénico pero que posee un potencial procognitivo, se administró el compuesto a 5, 10 y 20 mg/kg después de la sesión de adquisición. Por consiguiente, en esta serie de experimentos, el compuesto no estaba "a bordo" ni durante la adquisición ni en todo el ensayo de retención. En este caso, se observó que el compuesto a la dosis de 5 mg/kg intensifica significativamente el tiempo pasado en inmovilidad durante el ensayo de retención, 24 horas después de la sesión de adquisición ($45,58 \pm 4,50\%$, $n = 8$, frente a $25,26 \pm 3,57\%$, $n = 19$, en los animales tratados con vehículo, $p < 0,05$). El porcentaje de tiempo pasado en inmovilidad durante la re-exposición contextual, ha sido descrito como medida de una memoria relacionada con el temor (Pavlov. J. Biol. Sci. 15, 177-182, 1980), que está intensificada en ratas tratadas con el compuesto en comparación con los animales tratados con vehículo (Figura 20 y 21). Tomados en conjunto, los resultados ponen de manifiesto que el compuesto intensifica la memoria contextual.

REIVINDICACIONES

- 1.- 1-[2-(2,4-Dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina y sus sales farmacéuticamente aceptables, cuyo compuesto es cristalino.
- 2.- Un compuesto según la reivindicación 1, cuyo compuesto es la sal hidrobromuro, hidrocloreuro, mesilato, fumarato, maleato, mesotartrato, L-(+)-tartrato, D-(-)-tartrato, sulfato, fosfato o nitrato.
- 3.- El compuesto según la reivindicación 2, cuyo compuesto posee una XRPD tal como se indica en cualquiera de las figuras 1-17.
- 4.- El compuesto según la reivindicación 1, que es la sal hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en una forma cristalina.
- 5.- El compuesto según la reivindicación 4, cuyo compuesto posee reflexiones de XRPD en aproximadamente 6,89, 9,73, 13,78 y 14,64 ($^{\circ}2\theta$).
- 6.- El compuesto según la reivindicación 4, cuyo compuesto posee una XRPD tal como se indica en la figura 3.
- 7.- El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para usar en terapia.
- 8.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 9.- La composición según la reivindicación 8, que comprende un compuesto según la reivindicación 4 ó 5.
- 10.- La composición según la reivindicación 8, cuya composición es un comprimido preparado mediante granulación en húmedo, que comprende hidrogenofosfato cálcico anhidro, almidón de maíz, un copolímero de PVP-VA, celulosa microcristalina, almidón glicolato sódico, talco y estearato magnésico.
- 11.- Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre trastornos afectivos, depresión, trastorno depresivo mayor, depresión posnatal, depresión asociada con trastorno bipolar, enfermedad de Alzheimer, psicosis, cáncer, enfermedad de edad o de Parkinson, ansiedad, trastorno de ansiedad general, trastorno de ansiedad social, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de pánico, ataques de pánico, fobia, fobia social, agarofobia, incontinencia urinaria por estrés, emesis, IBS, trastornos de alimentación, dolor crónico, pacientes de respuesta parcial, depresión resistente a tratamiento, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo, ADHD, melancolía, PTSD, sofocos con calor, apnea del sueño, ansia de alcohol, nicotina o carbohidratos, abuso de sustancias y abuso de alcohol o fármacos o drogas.
- 12.- Un procedimiento de preparación del compuesto según la reivindicación 1

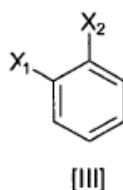


cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar el compuesto II

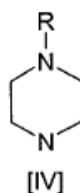


(II)

en cuya fórmula R' representa hidrógeno o un ion de un metal monovalente, con un compuesto de fórmula III

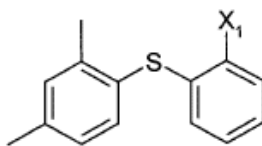


en cuya fórmula X₁ y X₂ representan, independientemente, halógeno, y un compuesto de fórmula IV



en cuya fórmula R representa hidrógeno o un grupo de protección, en presencia de un disolvente, una base y un catalizador de paladio que consiste en un origen de paladio y un ligando de fosfina, a una temperatura entre 60°C y 130°C..

13.- El procedimiento según la reivindicación 12, en el que el compuesto II y el compuesto III se hacen reaccionar en una primera reacción, y en el que el producto de reacción



de dicha primera reacción, opcionalmente, es aislado y purificado, seguido de una reacción subsiguiente con el compuesto IV.

14.- El procedimiento según la reivindicación 12, en el que el compuesto II, el compuesto III y el compuesto IV se mezclan juntos al comienzo del procedimiento.

15.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-14, en el que X₁ y X₂ representan, independientemente, Br o I.

16.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en el que dicho disolvente es un disolvente aprótico.

17.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-16, en el que el origen de paladio está seleccionado entre Pd(dba)₂, Pd(OAc)₂ y Pd₂(dba)₃.

18.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-17, en el que dicho ligando de fosfina está seleccionado entre:

2,2'-bis-difenilfosfanil-[1,1']binaftalenilo (rac-BINAP),
 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (DPPF),
 bis-(2-difenilfosfinofenil)éter (DPEFos),
 tri-t-butil-fosfina (sal de Fu),
 bifenil-2-il-di-t-butil-fosfina,
 bifenil-2-il-diciclohexil-fosfina,
 (2'-diciclohexilfosfanil-bifenil-2-il)dimetilamina,
 [2'-(di-t-butilfosfanil)bifenil-2-il]dimetilamina, y

diciclohexil-(2',4',6'-tripropil-bifenil-2-il)fosfano.

19.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-18, en el que dicha base está seleccionada entre NaO(t-Bu), KO(t-Bu), Cs₂CO₃, DBU y DABCO.

20.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-19, en el que R representa hidrógeno.

21.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-19, en el que R representa un grupo de protección seleccionado entre Boc, Bn, Cbz, C(=O)Oet y Me.

22.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12-21, en el que R' es hidrógeno.

23.- El procedimiento según la reivindicación 14, en el que 2-5 equivalentes de NaO(t-Bu), 2-5 equivalentes de piperazina, 0,2-0,6 % en moles de Pddb_{a2} y 0,6-1% en moles de rac-BINAP, se dispersan en tolueno obteniendo la mezcla A', a cuya mezcla se añade 1 equivalente, aproximadamente, de 2-bromoyodobenceno obteniendo la mezcla B', a cuya mezcla se añade 1 equivalente de 2,4-dimetiltiofenol y la mezcla que resulta se calienta a reflujo durante 3-7 horas obteniendo 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

24.- El procedimiento según la reivindicación 23, en el que dicha mezcla que resulta se calienta a reflujo durante 4-6 horas y cuyo procedimiento va seguido por una etapa posterior en la que el producto obtenido se hace reaccionar con una solución acuosa de HBr para obtener la correspondiente sal de adición del ácido bromhídrico

25.- Un procedimiento de fabricación de la sal de adición del ácido bromhídrico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina según la reivindicación 1, en cuyo procedimiento 2-5 equivalentes de NaO(t-Bu), 2-5 equivalentes de piperazina, 0,2-0,6 % en moles de Pddb_{a2} y 0,6-1% en moles de rac-BINAP, se dispersan en tolueno obteniendo la mezcla A', a cuya mezcla se añade 1 equivalente, aproximadamente, de 2-bromoyodobenceno obteniendo la mezcla B', a cuya mezcla se añade 1 equivalente de 2,4-dimetiltiofenol y la mezcla que resulta se calienta a reflujo durante 4-6 horas obteniendo 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina, que se hace reaccionar después con solución acuosa de ácido bromhídrico.

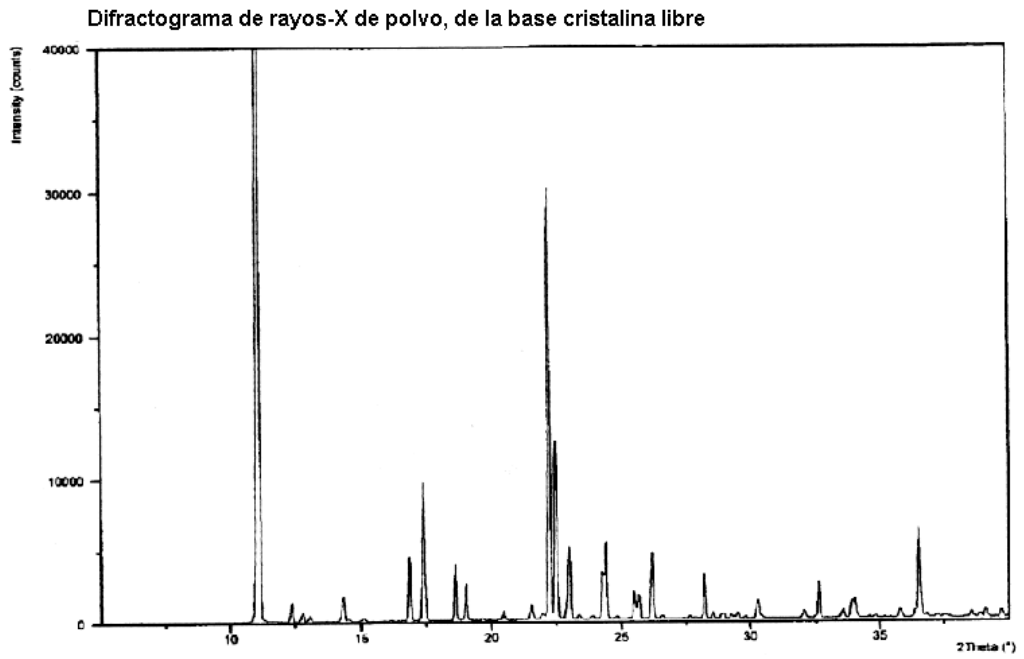


Fig. 1

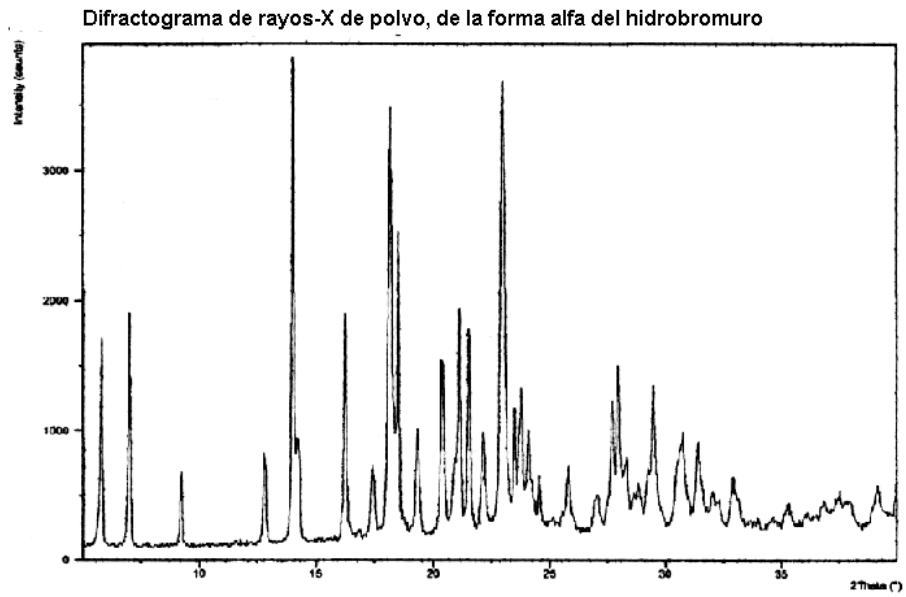


Fig. 2

Difractograma de rayos-X de polvo, de la forma beta del hidrobromuro

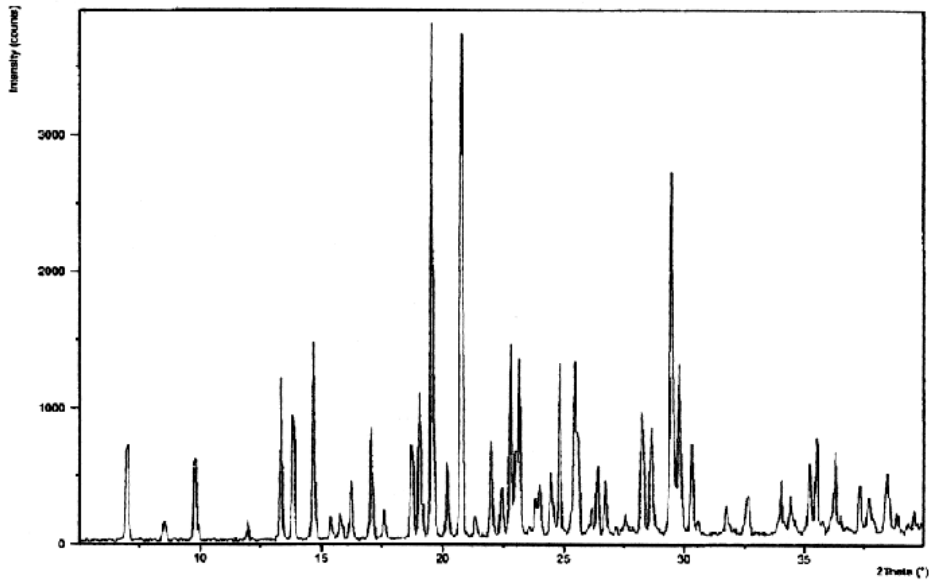


Fig. 3

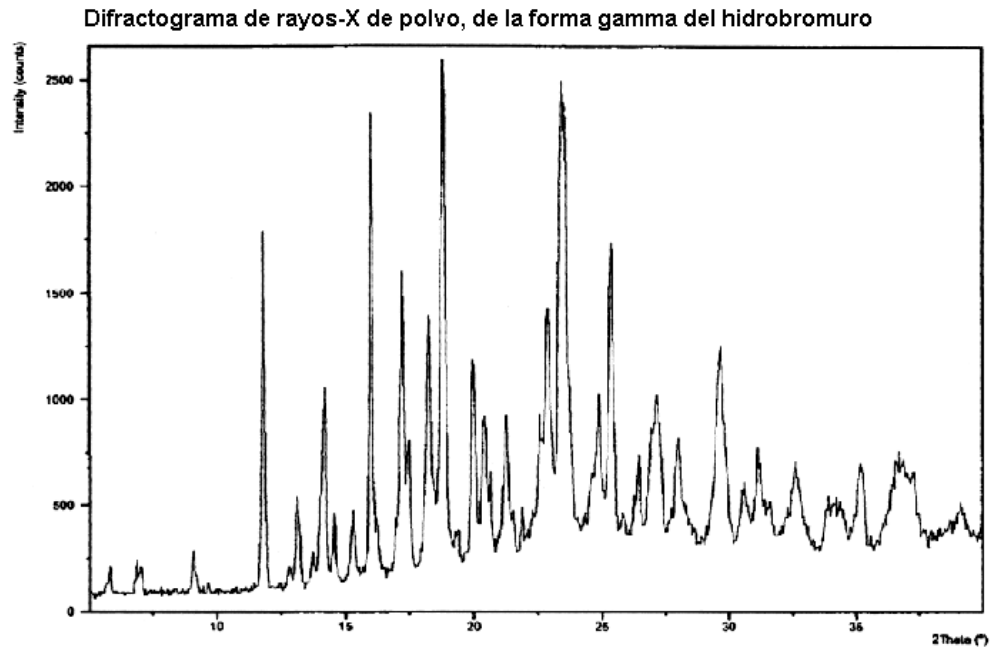


Fig. 4

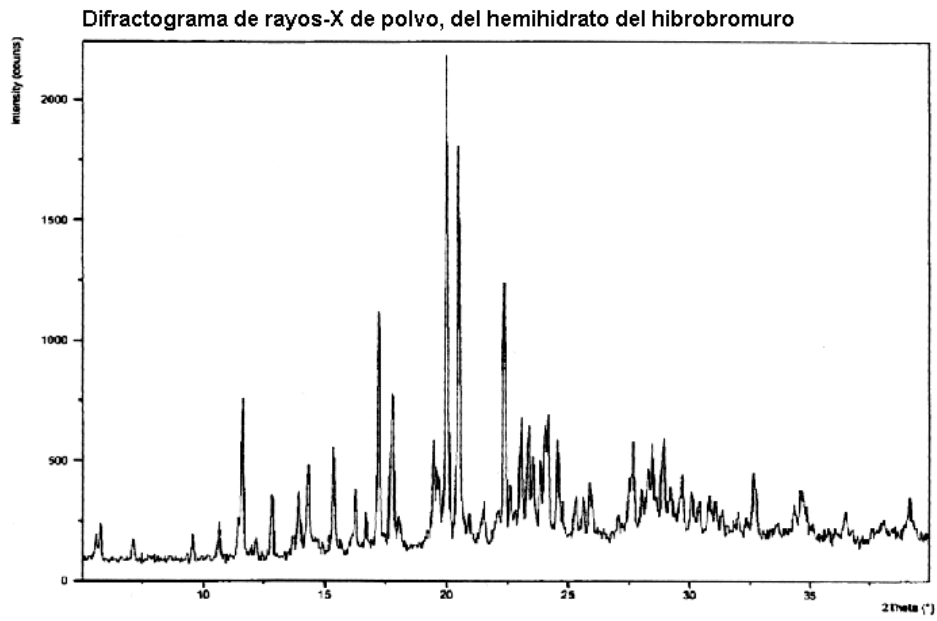


Fig. 5

Difractograma de rayos-X de polvo, de una mezcla del solvato de acetato de etilo y la forma alfa del hidrobromuro

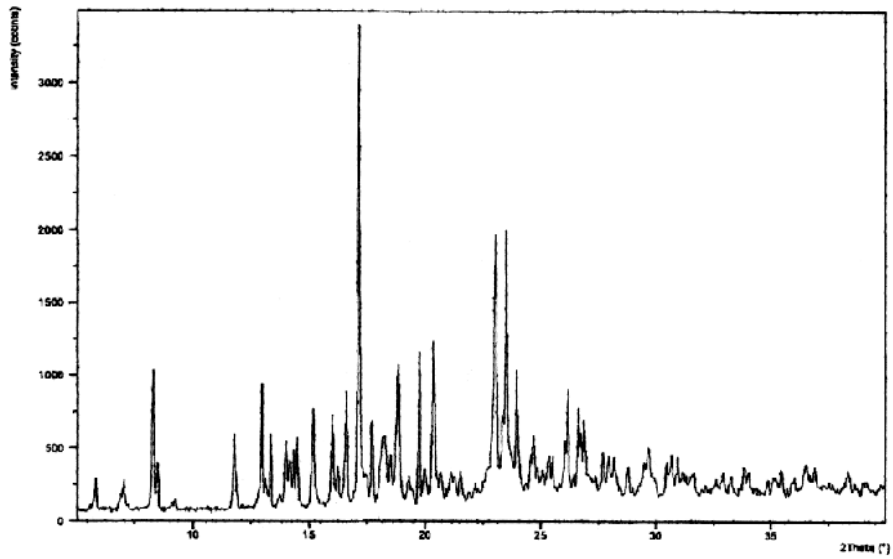


Fig. 6

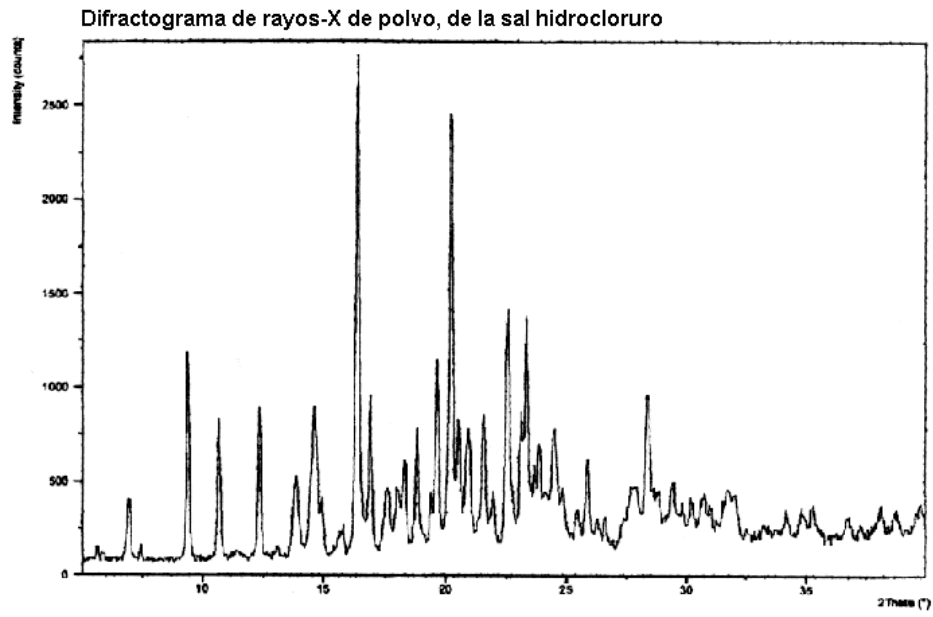


Fig. 7

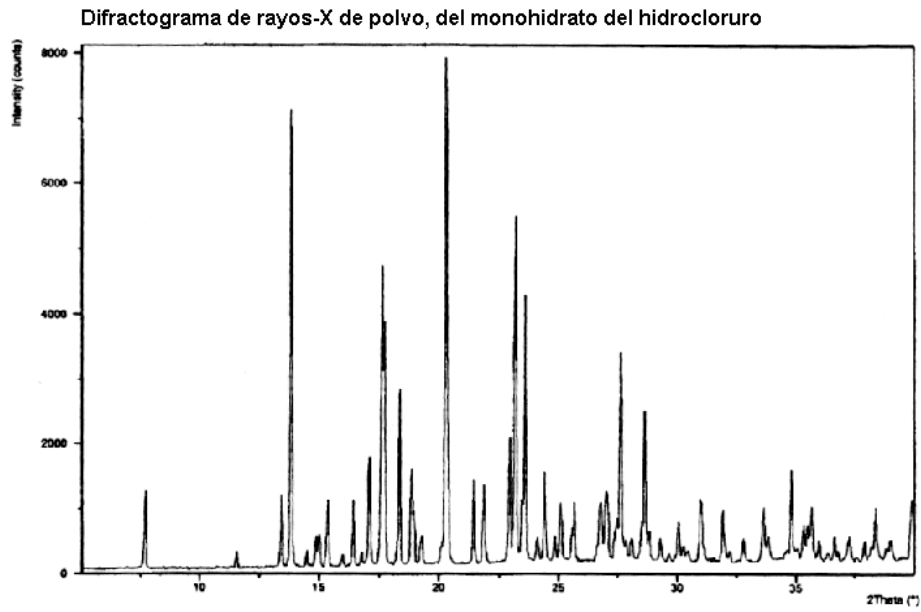


Fig. 8

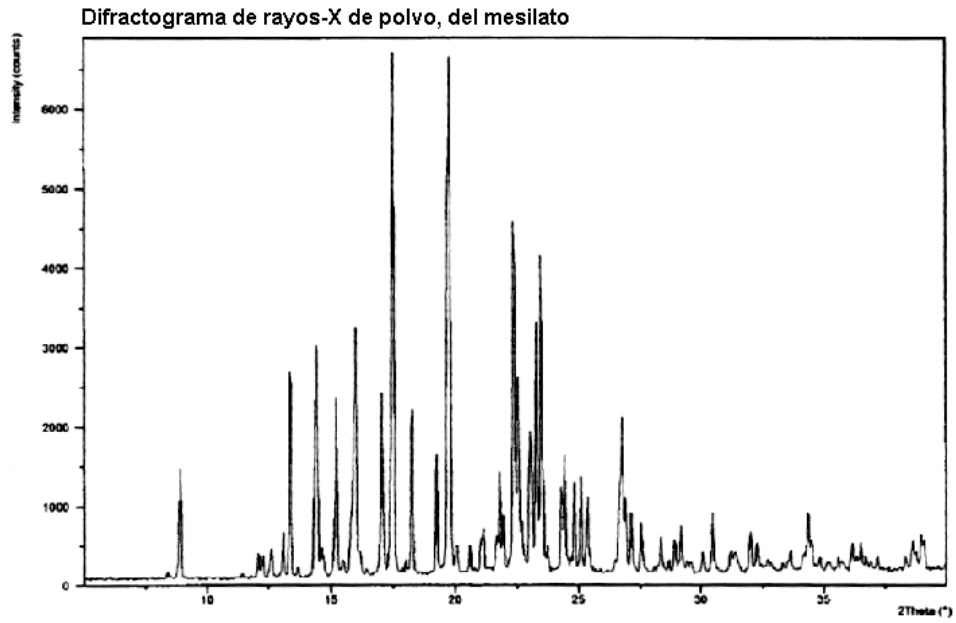


Fig. 9

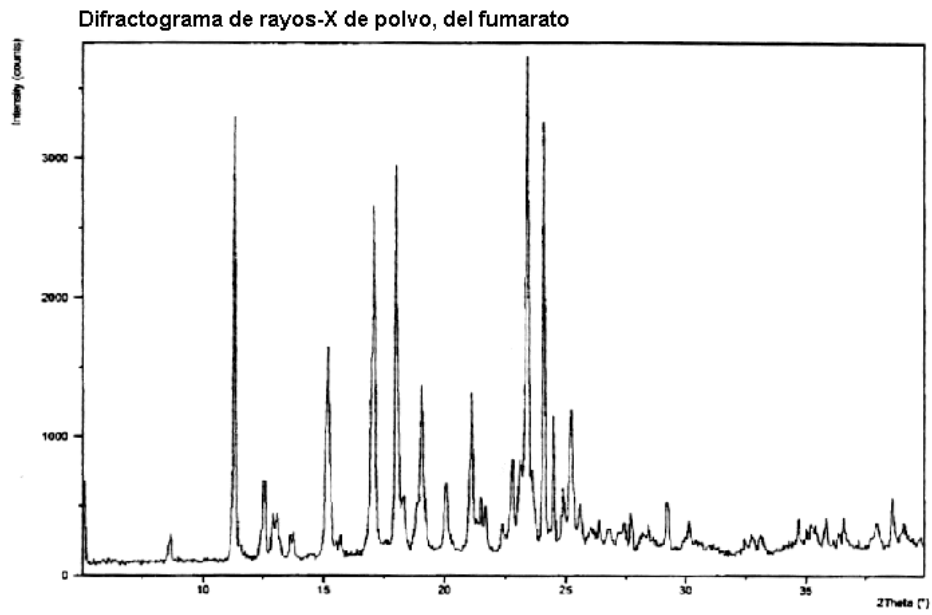


Fig. 10

Difractograma de rayos-X de polvo, del maleato

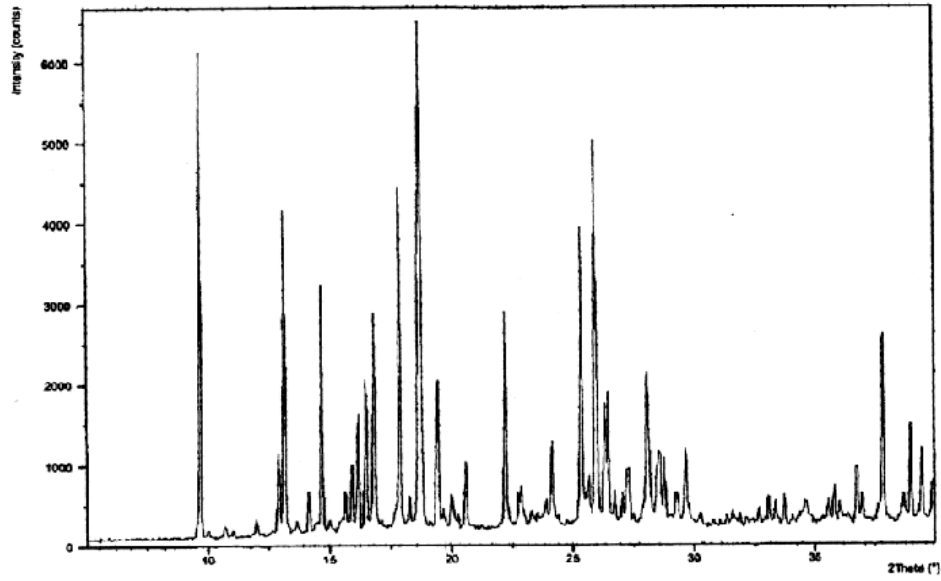


Fig. 11

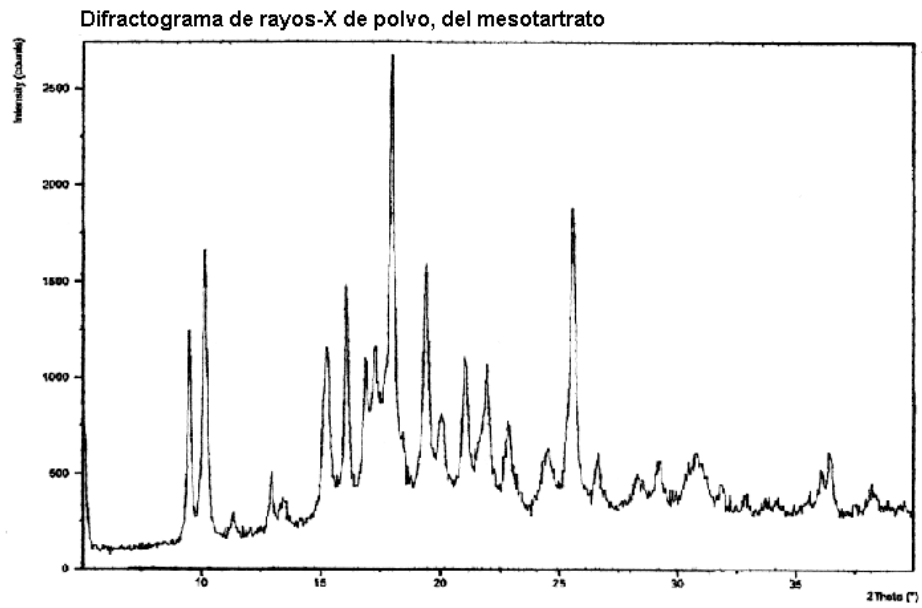


Fig. 12

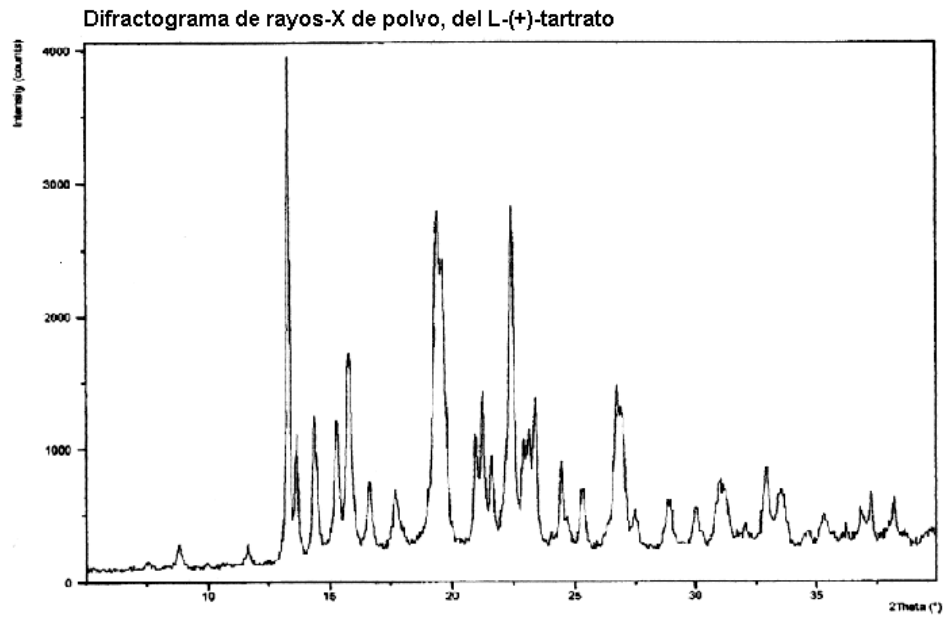


Fig. 13

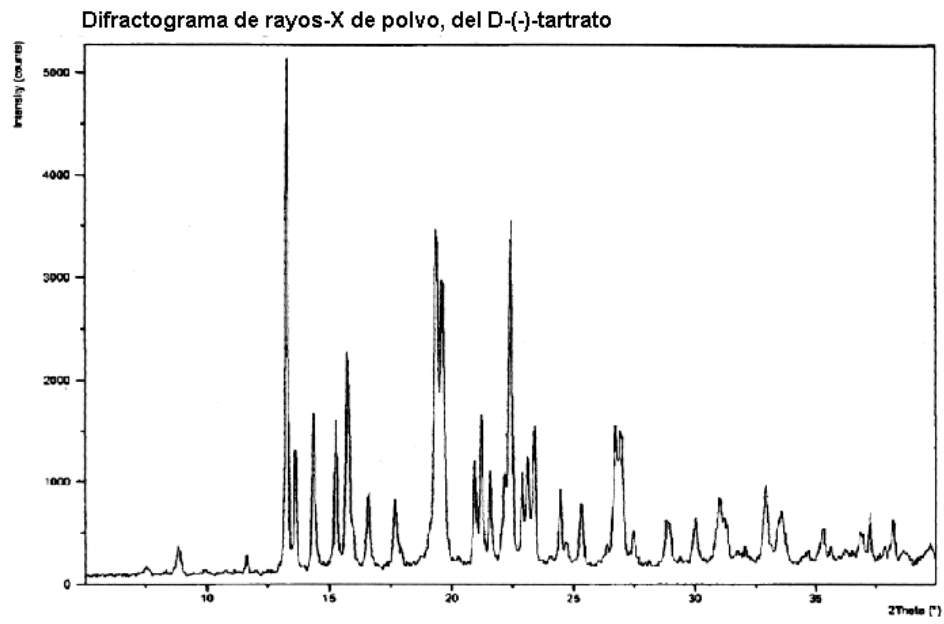


Fig. 14

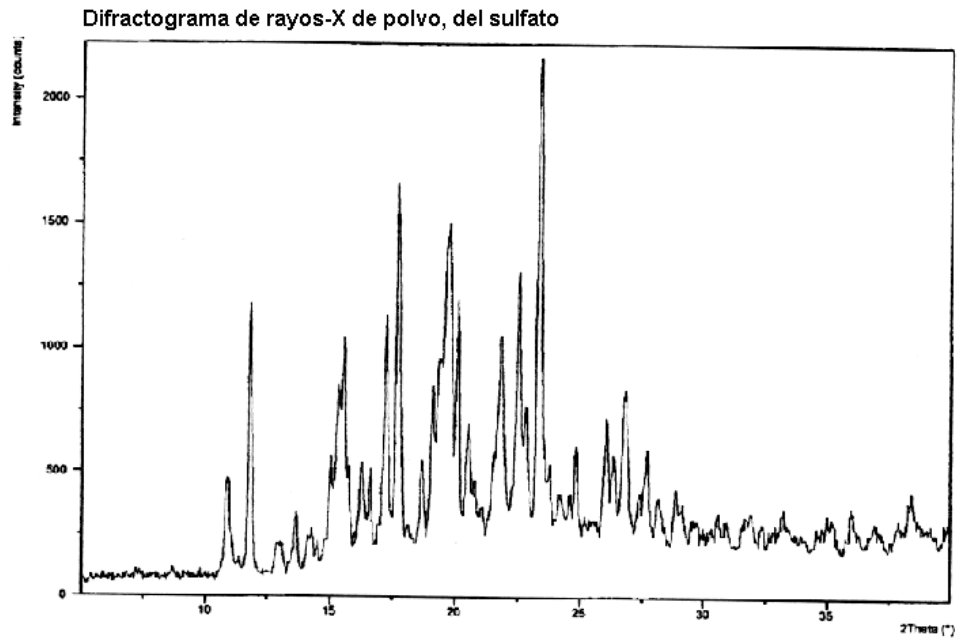


Fig. 15

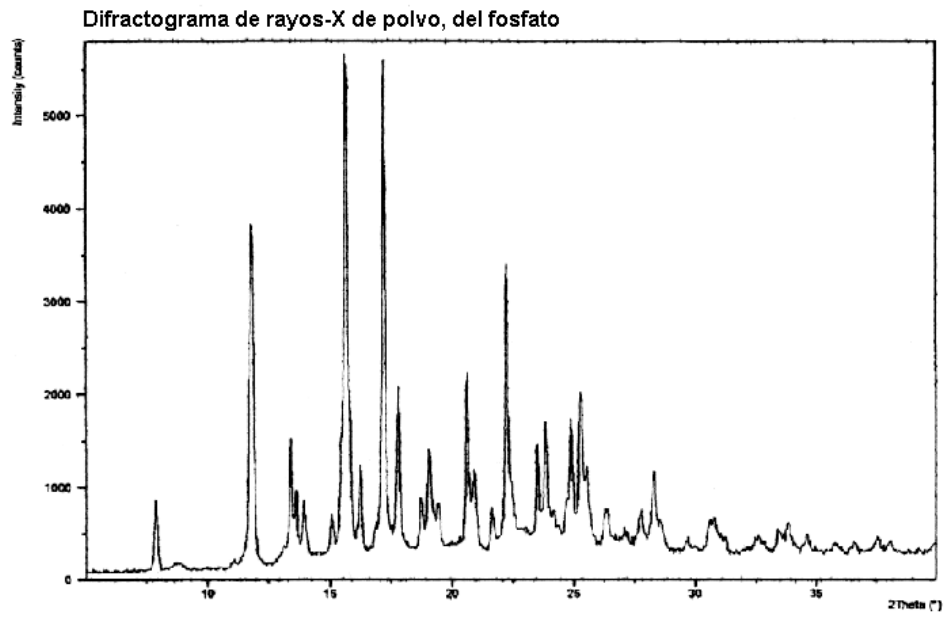


Fig. 16

Difractograma de rayos-X de polvo, de la sal nitrato

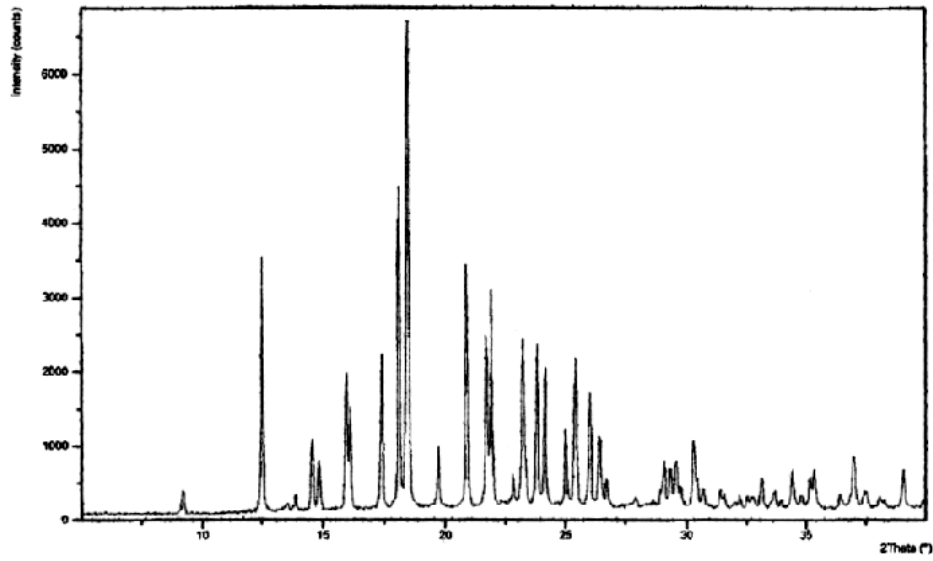


Fig. 17

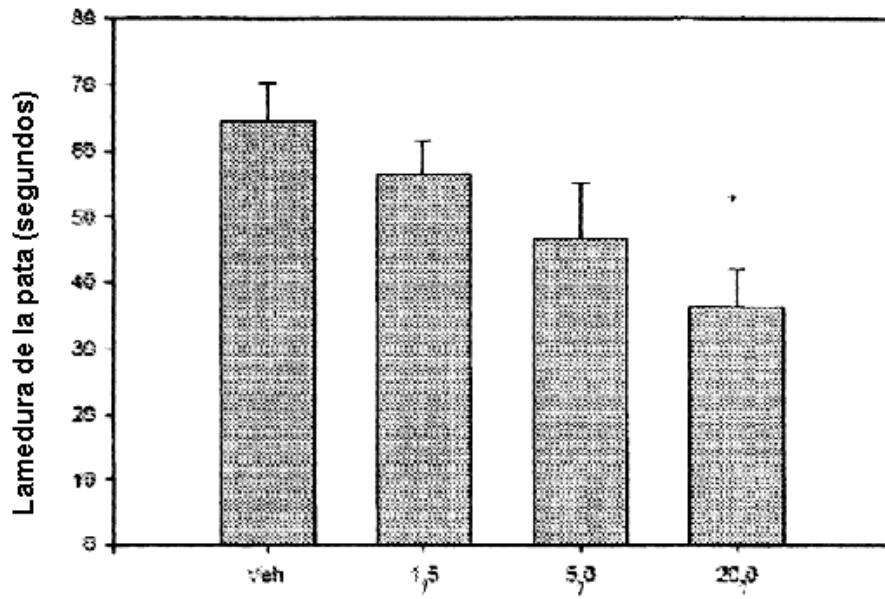


Fig.18a

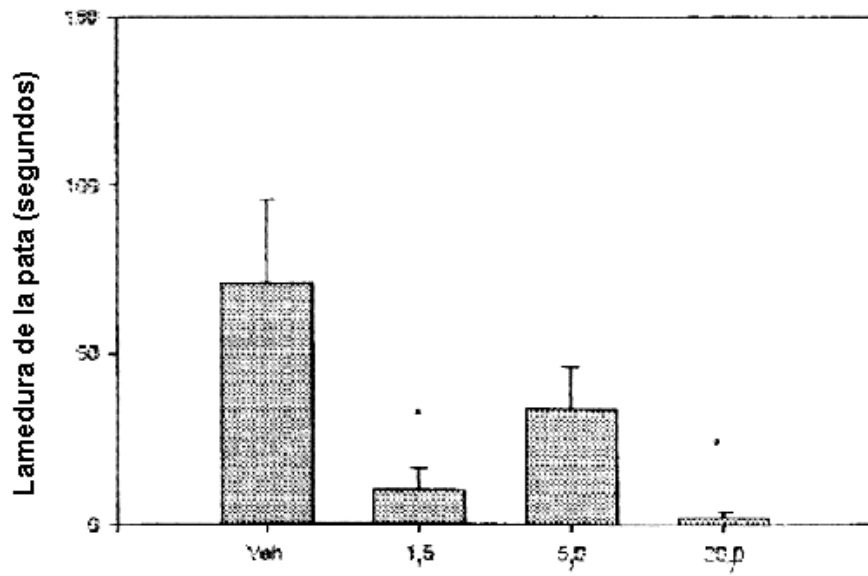


Fig. 18b

Ach en el córtex prefrontal de ratas que se mueven libremente

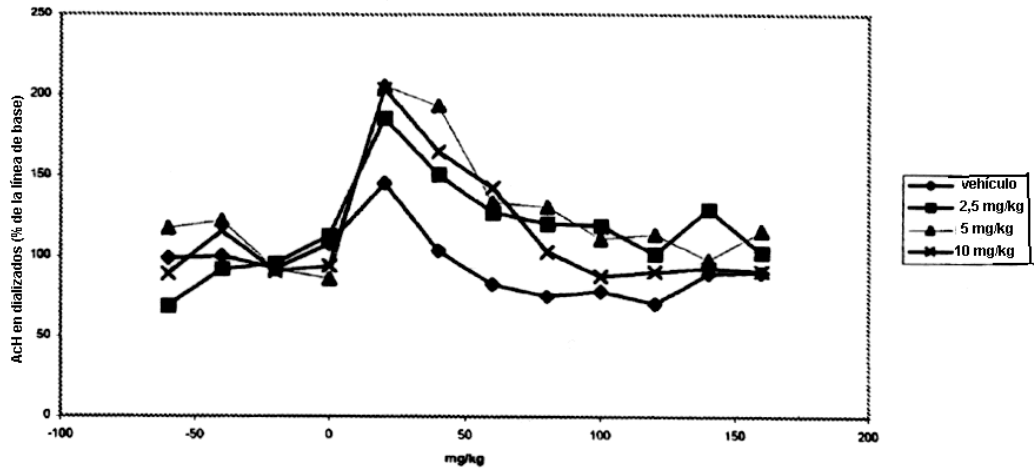


Fig. 19a

Ach en el hipocampo ventral de ratas que se mueven libremente

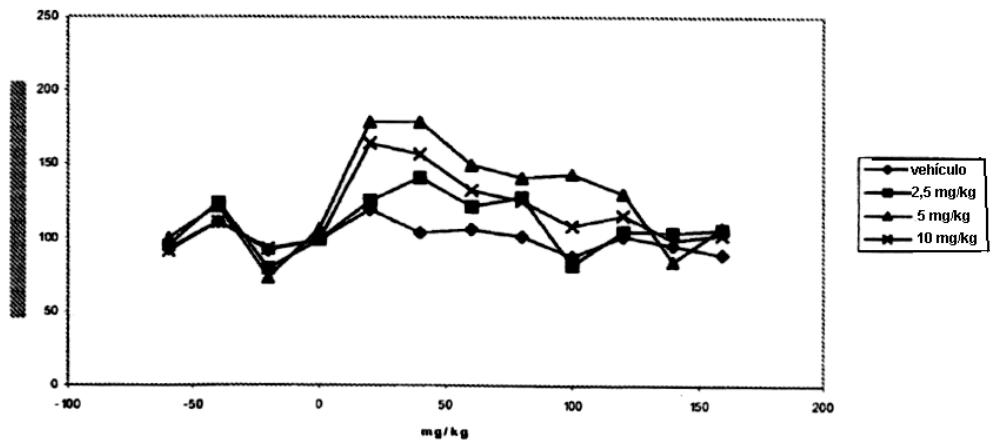


Fig. 19b

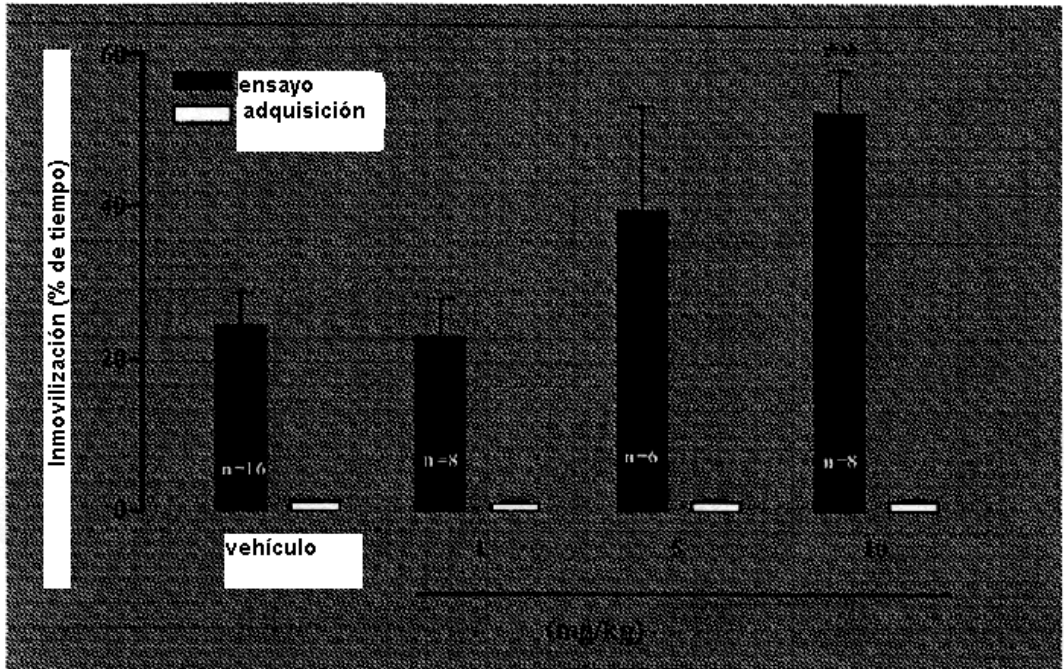


Fig. 20

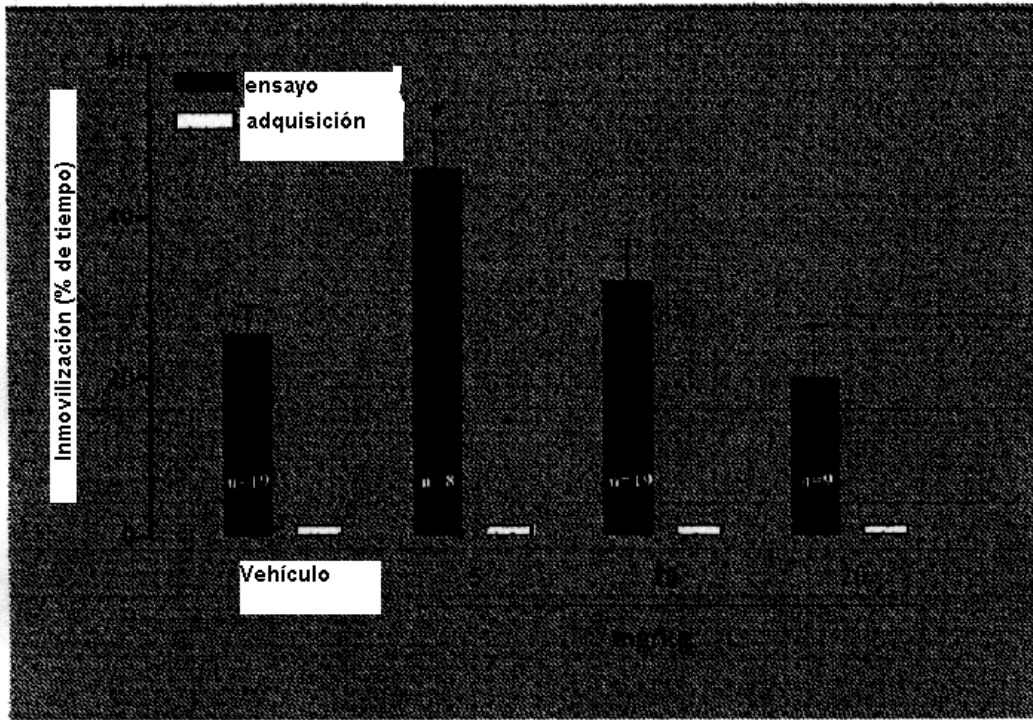


Fig. 21

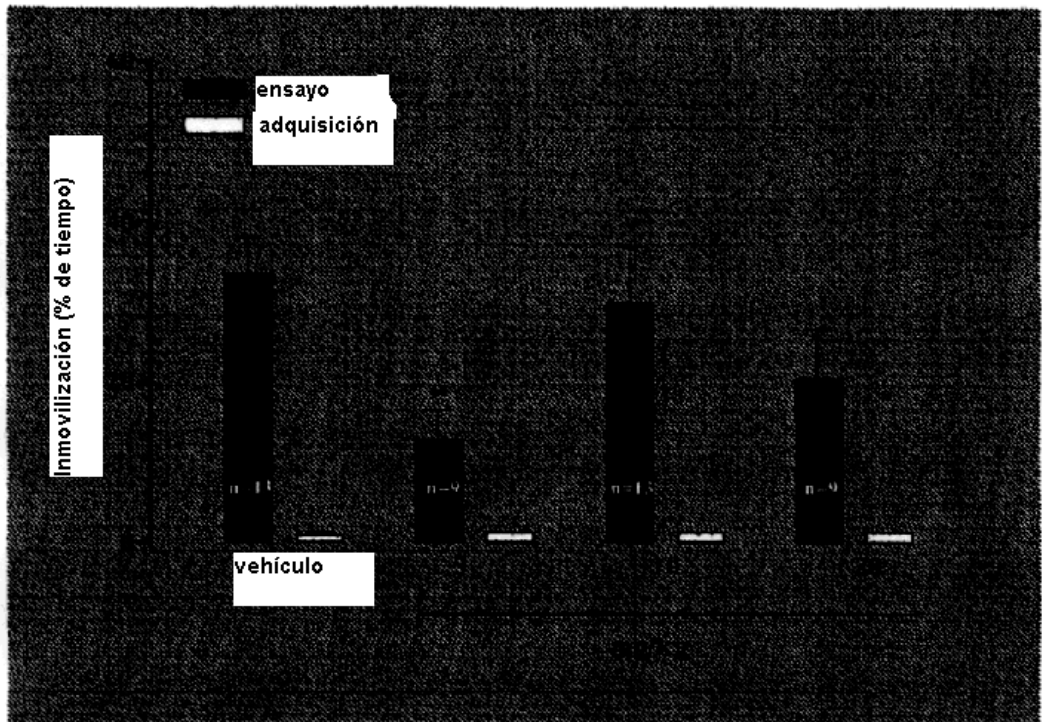


Fig. 22