

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 708**

51 Int. Cl.:
C07D 207/08 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61P 25/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09703808 .7**
96 Fecha de presentación: **13.01.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2252581**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.11.2010**

54 Título: **Antagonista selectivo del receptor opioide kappa**

30 Prioridad:
22.01.2008 EP 08380012
25.03.2008 US 39121 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.10.2012

73 Titular/es:
ELI LILLY AND COMPANY
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:
DIAZ BUEZO, Nuria;
MCKINZIE, David, Lee;
MITCH, Charles, Howard y
PEDREGAL-TERCERO, Concepcion

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 388 708 T3

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

DESCRIPCIÓN

Antagonista selectivo del receptor opioide kappa

5 El trastorno por el uso de etanol es un problema de salud mundial significativo y prevalente y es un factor causal en varias afecciones y comportamientos médicos serios, tales como cirrosis hepática, cáncer hepático, enfermedad cardíaca coronaria, accidente cerebrovascular isquémico, síndrome alcohólico fetal, accidentes y víctimas mortales en el tránsito y violencia doméstica.

10 La dependencia de etanol es un trastorno recurrente crónico y la recaída representa un desafío principal para los intentos de tratamiento. Hasta el momento no existe una intervención terapéutica que haya demostrado ser satisfactoria para prevenir la recaída y mantener la abstinencia. Existe la necesidad de tener productos farmacoterapéuticos nuevos y más efectivos que permitan a los pacientes controlar mejor su consumo de etanol, así como luchar contra los riesgos de recaída.

15 Los actuales estándares farmacológicos para el tratamiento de la dependencia de etanol en humanos en los Estados Unidos son naltrexona (un antagonista de opioides), acamprosato (un antagonista de glutamato funcional) y disulfiram (un inhibidor de aldehído deshidrogenasa). En combinación con el manejo del comportamiento, estos agentes están aprobados para mantener la abstinencia. Si bien se observa una eficacia moderada con estos tratamientos, todos ellos sufren de problemas de cumplimiento, al menos en parte, que contribuyen a las necesidades clínicas insatisfechas. Por ejemplo, muchos pacientes a los que se les diagnostica dependencia de etanol tienen síntomas concurrentes de ansiedad y/o depresión o esquizofrenia. Los tratamientos actuales descritos anteriormente no proporcionan un beneficio para estos síntomas comórbidos que pueden jugar un papel en la posterior recaída del trastorno por el uso de etanol. La presente invención proporciona un agente que permitirá al paciente abstenerse o reducir el consumo excesivo de etanol y aliviar los síntomas concomitantes de ansiedad y/o depresión o esquizofrenia.

25 La naltrexona es un antagonista de receptores opioides con preferencia por el receptor mu que tiene actividad antagonista en cada uno de los tres receptores opioides: mu, kappa y delta. Clínicamente, la naltrexona ha demostrado eficacia para mantener la abstinencia de etanol y reducir el deseo por el etanol. Sin embargo, la naltrexona puede ocasionar hepatotoxicidad en dosis que exceden 50 mg por día y se requiere un monitoreo adecuado. Esta hepatotoxicidad es particularmente preocupante en una población de pacientes con mayor susceptibilidad al daño hepático dado su uso de etanol.

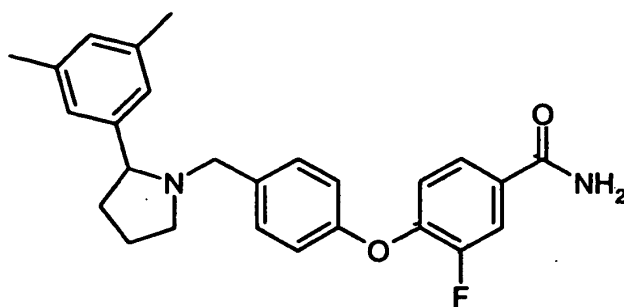
30 Dependiendo de las condiciones experimentales, se ha mostrado que la activación selectiva de receptores opioides kappa aumenta o reduce el consumo de etanol; las discrepancias en la bibliografía pueden relacionarse con efectos farmacológicos adicionales (por ejemplo, disforia e interrupción cognitiva) de agonistas kappa. Por otra parte, se ha mostrado que el antagonismo del receptor kappa farmacológico selectivo o la eliminación genética de receptores kappa reducen la auto-administración de etanol en modelos animales de alcoholismo. Esto sugiere que un agente farmacéutico que sea un antagonista selectivo para los receptores opioides kappa versus mu y delta podría satisfacer una necesidad significativa en la terapia del trastorno por el uso de etanol.

35 Existe una necesidad de un agente farmacéutico en la terapia del trastorno por el uso de etanol que pruebe la selectividad del antagonista del receptor opioide kappa. También está la necesidad de un agente farmacéutico que mejorará los resultados en uno o más de: número de días de abstinencia en un régimen mensual; número de días de ingesta excesiva en un régimen mensual; y el número de tomas por día de ingesta en un régimen de un mes. Hay una necesidad adicional para la terapia del trastorno por el uso de etanol para un agente que demostrará una eficacia para ansiedad y depresión o esquizofrenia que son afecciones comórbidas con frecuencia independientes en pacientes con trastorno por el uso de etanol.

Se han divulgado antagonistas de receptores opioides, tales como los compuestos en el documento WO 2004/026305.

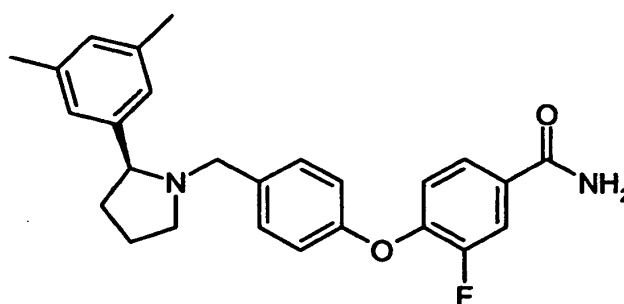
45 El compuesto divulgado en la presente es un antagonista del receptor opioide kappa. Las propiedades del compuesto lo hacen adecuado como agente terapéutico para facilitar la abstinencia del trastorno por el uso de etanol tal como reducir la cantidad de etanol usada en cada sesión de ingesta en un período de tiempo definido; reducir la frecuencia de los días de uso de etanol en un período de tiempo determinado; mantener la cantidad reducida y/o la frecuencia de uso en un período de tiempo determinado; o la abstinencia del consumo de etanol en un período de tiempo determinado. Las propiedades de los compuestos como se muestran en modelos animales pequeños lo hacen adecuado para tratar los trastornos de ansiedad y/o depresión o esquizofrenia en pacientes que tienen dicho trastorno, o como un trastorno comórbido independiente en pacientes que también tienen trastorno por el uso de etanol.

Un aspecto de la presente invención proporciona:



3-Fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Un segundo aspecto la presente invención proporciona:



5 (S)-3-Fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10 Un tercer aspecto de la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en asociación con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un cuarto aspecto de la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en asociación con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Un quinto aspecto de la presente invención proporciona un compuesto 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para el uso en la terapia.

Un sexto aspecto de la presente invención proporciona un compuesto 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para el uso en el tratamiento del trastorno por el uso de etanol.

20 Un séptimo aspecto de la presente invención proporciona un compuesto 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para el uso en el tratamiento de:

- a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; o
- 25 b) una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar; o
- c) un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- d) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a); o
- e) trastorno por el uso de etanol y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- 30 f) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- g) esquizofrenia; o
- h) trastorno por el uso de etanol y esquizofrenia.

Un octavo aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para fabricar un medicamento para el tratamiento del trastorno por el uso de etanol.

5 Un noveno aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto 3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para fabricar un medicamento para el tratamiento de:

a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; o

10 b) una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar; o

c) un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o

d) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a); o

e) trastorno por el uso de etanol y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o

15 f) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o

g) esquizofrenia; o

h) trastorno por el uso de etanol y esquizofrenia.

Un décimo aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria seleccionado de amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina y (+)-trimipramina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Una realización preferida de esta composición comprende (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma e imipramina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Un undécimo aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria seleccionado de amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina y (+)-trimipramina o una o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de:

a) trastorno por el uso de etanol; o

b) una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar; o

35 c) trastorno por el uso de etanol y una enfermedad depresiva seleccionada de b). Una realización preferida de este aspecto de la presente invención comprende (S)-3-fluoro-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, e imipramina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Un duodécimo aspecto de la presente invención proporciona un compuesto (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para el uso en el tratamiento de:

40 a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; o

b) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a).

Un decimotercer aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de:

a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; o

b) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a).

Se ha mostrado que el antagonismo selectivo del receptor opioide kappa reduce la auto-administración de etanol

inducida por la dependencia en ratas Wistar dependientes de etanol mientras que los animales no dependientes no fueron afectados, Walker y Koob, *Neuropsychopharmacology*, publicación anticipada en línea, 2 mayo 2007, pgs. 1-10. De forma similar, los ratones que no tenían el gen que produce el receptor opioide kappa o el precursor de ligando endógeno preprodinorfina, tomaron significativamente menos etanol que los ratones de tipo salvaje (Kovacs et al., *Alcohol: Clin & Exp. Res.* 2005, 29: 730-739; Blednov et al., *Alcohol* 2006, 40: 73-86).

Se ha establecido que hay una relación entre el trastorno por el uso de etanol y los trastornos de ansiedad y/o depresión, como afecciones comórbidas independientes en los mismos pacientes. *Arch. Gen. Psychiatry*, 61, 807-816 (2004). Esta asociación apunta al deseo de tratar el trastorno por el uso de etanol y los trastornos de ansiedad y/o depresión comórbidos independientes en pacientes con un agente farmacéutico activo único. También se ha establecido que hay una relación entre el trastorno por el uso de etanol y la esquizofrenia como afecciones comórbidas independientes en los mismos pacientes. Gregg et al., *Clinical Psychology Review*, 27, 494-510 (2007). Esta asociación apunta al deseo de tratar el trastorno por el uso de etanol y la esquizofrenia comórbida independiente en pacientes con un agente farmacéutico activo único.

El trastorno por el uso de etanol es un grupo de síntomas cognitivos, de comportamiento y fisiológicos que demuestran que hay un uso continuo de la sustancia a pesar de problemas relacionados con el uso significativo. Existe un patrón de auto-administración repetido que resulta en la tolerancia, abstinencia y comportamiento compulsivo de ingesta de la sustancia. Los problemas relacionados con el trastorno por el uso de etanol son variados. Puede haber una imposibilidad repetida para cumplir con las obligaciones principales, uso repetido en situaciones en las que es peligroso físicamente, múltiples problemas legales y problemas sociales e interpersonales recurrentes. Estos problemas ocurren repetidamente durante el mismo período de 12 meses.

La tolerancia es la necesidad de grandes cantidades de etanol para lograr el efecto deseado, o un efecto reducido con uso continuado de la misma cantidad de etanol.

Generalmente, la abstinencia es un cambio de comportamiento que tiene componentes fisiológicos y cognitivos que ocurren cuando las concentraciones en sangre o tejido de etanol declinan en un individuo que había tenido un uso prolongado excesivo de etanol. Luego de desarrollar síntomas de abstinencia, es probable que un individuo consuma etanol para aliviar o evitar estos síntomas.

Como se usa en la presente, el término "paciente" significa mamífero; "mamífero" significa la clase Mammalia de altos vertebrados; y el término "mamífero" incluye, a modo no taxativo, un humano.

El trastorno por el uso de etanol incluye abuso de etanol y dependencia de etanol; el término dependencia denota una manifestación psicológica y/o fisiológica de la dependencia de etanol. En particular, la expresión "trastornos por el uso de etanol" incluye trastornos de la abstinencia tales como abstinencia de etanol con o sin alteraciones de la percepción y delirio por abstinencia de etanol. Ver DSM-IV-TR., *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Revisado, 4ta Ed., revisión del texto (2000). También, *The International Classification of Diseases*, décima revisión, (ICD-10) y las actualizaciones proporcionan la clasificación para varios de los trastornos descritos en la presente. El experto en la técnica reconocerá que hay nomenclaturas y sistemas de clasificación alternativos para los trastornos descritos en la presente y aquellos descritos en DMS-IV-TR e ICD-10 y que los sistemas de terminología y clasificación evolucionan con el progreso científico médico.

Como se usa en la presente, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" es sinónima de "dosis terapéuticamente efectiva" y significa una cantidad del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable que es suficiente en una o más administraciones para tratar trastornos por el uso de etanol, un trastorno de ansiedad como se describió anteriormente, una enfermedad depresiva como se describió anteriormente, una combinación de trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad o una enfermedad depresiva, esquizofrenia o una combinación de trastorno por el uso de etanol y esquizofrenia.

Los términos "tratamiento" y "tratar" como se usan en la presente significan el manejo y cuidado de un paciente con el objetivo de reducir o discontinuar la auto-administración y uso de etanol. El término pretende incluir el espectro total de la intervención para el trastorno por el uso de etanol que el paciente está sufriendo, tal como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones para retrasar el avance del trastorno por el uso de etanol y para reducir la cantidad de etanol consumido por día de ingesta en un régimen de un mes o los días de uso excesivo en un régimen mensual o ambos. El manejo y cuidado de un paciente con el objetivo de combatir el trastorno por el uso de etanol incluye la administración del compuesto activo para inhibir el inicio fisiológico o psicológico de síntomas para reanudación del uso, uso continuado o uso mejorado. El paciente a ser tratado es preferiblemente un mamífero, en particular un ser humano. Los términos "tratamiento" y "tratar" como se usan en la presente también significan el manejo y cuidado de un paciente con un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastornos de ansiedad generalizado, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar; o ambos; esquizofrenia y puede también incluir el trastorno por el uso de etanol en dicho paciente.

El término pretende incluir el espectro total de intervención para los trastornos que el paciente está sufriendo, tales

como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones y para retrasar el avance del trastorno. El paciente a ser tratado es preferiblemente un mamífero, en particular un ser humano.

El espectro de uso de etanol varía de nulo (abstinencia) a uso de bajo riesgo; luego el uso no saludable (excesivo) que abarca el uso riesgoso y el uso problemático; a trastornos por el uso de etanol que incluyen abuso de etanol y dependencia de etanol. El consumo de etanol es excesivo cuando causa o eleva el riesgo para los problemas relacionados con el etanol o complica el manejo de otros problemas de salud. Debería apreciarse que la ingesta en aumento más excesiva (días de ingesta excesiva por mes, cantidad consumida por día de ingesta durante un mes o ambos) se correlaciona con consecuencias adversas en aumento para el paciente y los umbrales mayores entre el espectro del uso de etanol hasta que el patrón alcanza etapas definitivas de estados de enfermedad de etanol (abuso de etanol y dependencia de etanol). En los Estados Unidos, los hombres que toman cinco o más tragos estándares en un día (o quince o más por semana) y las mujeres que toman cuatro o más en un día (u ocho o más por semana) corren el riesgo de presentar problemas relacionados con el etanol (es decir uso riesgoso). En Europa, los hombres que toman 4 unidades (32 g) por día y las mujeres que toman 3 unidades (24 g) por día corren el riesgo de presentar problemas relacionados con el etanol (uso riesgoso). Sin embargo, las respuestas individuales para el etanol varían y el consumo de etanol en un nivel de uso riesgoso puede ser un problema que requiera un tratamiento dependiendo de varios factores, tales como edad, afecciones coexistentes y uso de medicación.

Una bebida estándar en los Estados Unidos es cualquier bebida que contiene aproximadamente catorce gramos de etanol puro (aproximadamente 0,6 onzas líquidas o 1,2 cucharadas). Los equivalentes de bebidas estándares son: 12 oz. de cerveza o refresco de vino; 8-9 oz. de licor de malta; 5 oz. de vino de mesa; 3-4 oz. de vino fortificado (tal como jerez o porto); 2-3 oz. de jarabe de fruta, licor o aperitivo; 1,5 oz. de brandy (una única medida); y 1,5 oz. de bebidas espirituosas (una única medida de graduación alcohólica 80 de gin, vodka, whisky, etc.). Esto es aproximado, dado que las diferentes marcas y tipos de bebidas varían en su contenido real de etanol. En Europa, una unidad es una bebida estándar y comprende media pinta de cerveza de fuerza común; una única medida de bebidas espirituosas; y un vaso estándar de vino. Como con las medidas de los Estados Unidos, estos son aproximados dado que diferentes marcas y tipos de bebidas varían en su contenido real de etanol.

Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de la presente invención y la metodología para prepararlas se conocen bien en la técnica. Ver por ejemplo P. Stahl, et al., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, enero 1977.

El término "formulación", como en la formulación farmacéutica, o la expresión "composición farmacéutica" pretende abarcar un producto que comprende (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o en una mezcla con su enantiómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el o los ingredientes inertes que representan el portador. Por consiguiente, las formulaciones farmacéuticas abarcan cualquier composición realizada mezclando (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, sola o en mezcla con su enantiómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones de la presente invención que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria seleccionada de amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina y (+)-trimipramina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden convenientemente administrarse en una composición farmacéutica que contiene los componentes activos en combinación con un portador, diluyente y/o excipiente adecuado (farmacéuticamente aceptable). Dichas composiciones farmacéuticas pueden prepararse por métodos y contienen un portador, diluyente y/o excipientes conocidos en la técnica. Un compendio generalmente reconocido de dichos métodos e ingredientes es Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* Mack Publishing Co., 19na Ed., 1995). Las composiciones pueden administrarse parenteralmente (por ejemplo de forma intravenosa) u oralmente. La cantidad de compuesto activo en dichas composiciones útiles terapéuticamente es tal que se proporcionará un nivel de dosificación efectivo para cada ingrediente activo.

Se comprenderá que el compuesto de la presente invención existe como un estereoisómero. Como se usa en la presente, las referencias al compuesto de la presente invención pretenden también incluir mezclas racémicas del mismo. En la presente, las designaciones Cahn-Ingold-Prelog de (R)- y (S)- se usan para referirse a isómeros específicos. Los estereoisómeros específicos pueden prepararse mediante síntesis estereoespecífica usando materiales de partida enantioméricamente puros o enriquecidos. Los estereoisómeros específicos de materiales o compuestos de partida pueden resolverse mediante técnicas bien conocidas en la técnica, tales como aquellas que se encuentran en *Stereochemistry of Organic Compounds*, E. I. Eliel y S. H. Wilen (Wiley 1994) y *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, J., Jacques, A. Collet, y S. H. Wilen (Wiley 1991), incluyendo cromatografía en fases estacionarias quirales, resoluciones enzimáticas o cristalización fraccionaria o cromatografía de diastereómeros formados para dicho objetivo, tales como sales diastereoméricas. Cuando un compuesto quiral se resuelve en sus isómeros, pero no se determinan configuraciones absolutas o rotaciones ópticas, los isómeros se designan arbitrariamente como isómero 1, isómero 2, etc. Mientras que todas las mezclas que contienen el compuesto de la

presente invención están contempladas dentro de la presente invención, la realización preferida es un enantiómero único.

Los compuestos empleados como materiales de partida iniciales en la síntesis del compuesto de la presente invención son bien conocidos y, en caso de no estar disponibles comercialmente, se sintetizan fácilmente usando referencias específicas proporcionadas o mediante procedimientos estándares empleados comúnmente por los expertos en la técnica o se encuentran en textos de referencia general.

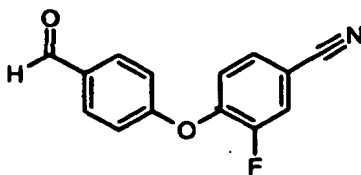
Ejemplos de procedimientos y métodos conocidos incluyen los descritos en textos de referencia general tales como Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers Inc, 1989; Compendium of Organic Synthetic Methods, Volúmenes 1-10, 1974-2002, Wiley Interscience; Advanced Organic Chemistry, Reactions Mechanisms, and Structure, 5ta Edición, Michael B. Smith y Jerry March, Wiley Interscience, 2001; Advanced Organic Chemistry, 4ta Edición, Parte B, Reactions and Synthesis, Francis A. Carey y Richard J. Sundberg, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2000, etc., y las referencias allí citadas.

Los inhibidores de la recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria amitriptilina, clomipramina, doxepina e imipramina están disponibles comercialmente como sales de clorhidrato. El compuesto (+)-trimipramina está comercialmente disponible como una sal de maleato. La preparación de sales farmacéuticamente aceptables alternativas a partir de la forma de sal disponible comercialmente se lleva a cabo mediante procedimientos estándares empleados comúnmente por los expertos en la técnica.

Como se usa en la presente, "equiv" se refiere a equivalentes; "mg" se refiere a miligramos; "g" se refiere a gramos; "kg" se refiere a kilogramo; "mmol" se refiere a milimoles; "mL" se refiere a mililitros; "Pm" se refiere a micrómetro; "cm" se refiere a centímetro; "L" se refiere a litros; "°C" se refiere a grados Celsius; "M" se refiere a molar; "Å" se refiere a Ångstroms; "h" se refiere a hora u horas; "v/v" se refiere a la expresión "en volumen" para describir la concentración de una sustancia en una mezcla o solución; "DMA" se refiere a dimetilacetamida; "DCE" se refiere a dicloroetano; "AcOH" se refiere a ácido acético; "DCM" se refiere a diclorometano; "EtOH" se refiere a etanol; "MS" se refiere a espectro de masas; "APCI" se refiere a ionización química a presión atmosférica; "API" se refiere a ionización a presión atmosférica; "EIC" se refiere a cromatografía de iones extraídos; "t_R" se refiere a tiempo de retención; la expresión "exceso enantiomérico" o "ee" se refiere al porcentaje por el cual un enantiómero, E1, está en exceso en una mezcla de los dos enantiómeros, E1 más E2, de modo que $\{(E1-E2)/(E1+E2)\} \times 100 = \%ee$; "DTT" se refiere a ditiotreitol o reactivo de Cleland; "HEPES" se refiere a ácido N-(2-hidroxiethyl)piperazina-N'-(2-etanosulfónico); "EDTA" se refiere a ácido etilendiaminotetraacético; "GTP" se refiere a guanosina 5'-trifosfato; "GDP" se refiere a guanosina 5'-difosfato; "MTEP" se refiere a 3-[(2-metil-1,3-tiazol-4-il)etil]piridina; "sc" se refiere a subcutáneo; "ip" se refiere a intraperitoneal; "po" se refiere a por os (vía oral); "i.v." se refiere a intravenoso.

Preparación del intermediario 1

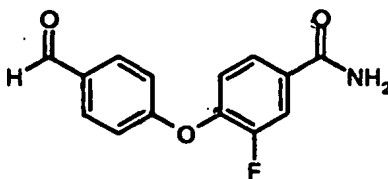
3-Fluoro-4-(4-formil-fenoxi)-benzonitrilo



Agite una mezcla de 4-hidroxi-benzaldehído (50 g, 1,00 equiv, 409,4 mmol) y 3,4-difluoro-benzonitrilo (56,96 g, 1,00 equiv) en DMA (750 mL) a 23°C hasta que se disuelva completamente. Agregue carbonato de potasio (1,5 equiv, 84,88 g) y caliente la mezcla a 100°C durante 3 h. Enfríe hasta temperatura ambiente. Vierta la mezcla de reacción sobre H₂O-helado (1,5 L). Filtre el sólido sobre papel de filtro, lave el sólido con agua dos veces y seque a presión reducida para obtener el intermediario 1. (82,40 g, 83% de rendimiento). MS (APCI): (M⁺-1) 240,0.

Preparación del intermediario 2

3-Fluoro-4-(4-formil-fenoxi)-benzamida

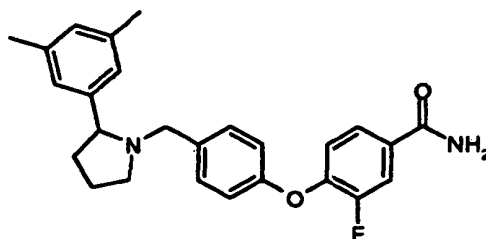


A una solución agitada de 3-fluoro-4-(4-formil-fenoxi)-benzonitrilo (17,72 g, 1,00 equiv; 73,460 mmol) en dimetil sulfóxido (75 mL) agregue carbonato de potasio (0,5 equiv, 5,08 g). Enfríe la mezcla hasta 10°C y agregue peróxido de hidrógeno (35% en agua, 7,4 mL, 1,05 equiv) por goteo, manteniendo la temperatura interna por debajo de 40°C. Luego de la adición, agite la mezcla de reacción durante 3 h. Vierta la mezcla sobre H₂O-helado (300 mL). Filtre el

sólido sobre filtro de papel, lave el sólido con agua dos veces y seque a presión reducida para obtener el intermediario 2. (17,30 g, 91% de rendimiento). MS (APCI): (M++1)260,1

Ejemplo 1

4-{4-[2-(3,5-Dimetil-fenil)-pirrolidin-1-ilmetil]-fenoxi}-3-fluoro-benzamida



5

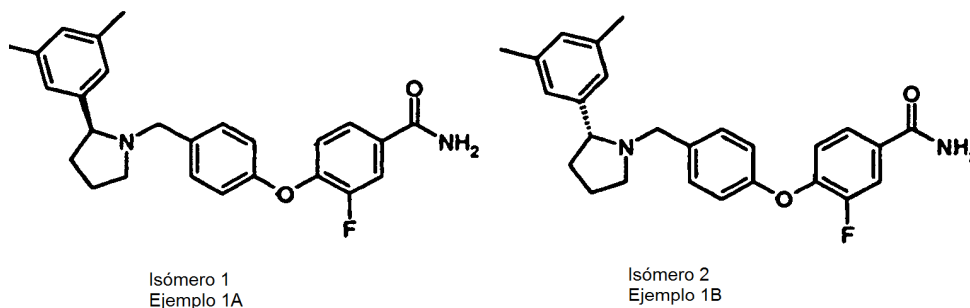
Parte 1- 4-{4-[2-(3,5-Dimetil-fenil)-pirrolidin-1-ilmetil]-fenoxi}-3-fluoro-benzamida racémica

Agregue una solución de 3-fluoro-4-(4-formil-fenoxi)benzamida en DCE: AcOH, 25:2 (100 mg, 1 eq en 6,7 mL, 0,06 M) a 2-(3,5-Dimetil-fenil)-pirrolidina (70 mg, 0,4 mmol, 1 eq) en un tubo sellado. Agite orbitalmente la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente. Agregue triacetoxiborohidruro de sodio (1,5 eq; 127 mg) en dos porciones. Agite la mezcla a temperatura ambiente durante 10 h. Retire el disolvente bajo una corriente de gas N₂ a 40°C durante toda la noche. Disuelva la mezcla de reacción bruta en DCM y adsorba en Stratta-NH₂® (55 micrómetros, 70ÅA) Phenomenex, Inc., 411 Madrid Avenue, Torrance, California, 90501-1430, Estados Unidos. Purifique mediante cromatografía instantánea en cartucho de SiO₂ usando un gradiente de CHCl₃: EtOH: NH₄OH (97:3: 0,3 a 88:12:1,2) para proporcionar el compuesto del título (100 mg, 60%) como una mezcla racémica. MS(EIC): (M+1) 419.

Parte 2

4-{4-[2-(3,5-Dimetil-fenil)-pirrolidin-1-ilmetil]-fenoxi}-3-fluoro-benzamida

Isómeros 1 y 2



Isómero 1
Ejemplo 1A

Isómero 2
Ejemplo 1B

Una mezcla racémica (40 mg) de enantiómeros del ejemplo 1, parte 1, se purifica mediante cromatografía quiral usando Chiralpak AD (250 mm X 4,6mm, 10Pm) eluyendo con Hex-0,2%DMEA/EtOH 90/10; tasa de flujo 1 ml/min; t_R=6,7 min, para proporcionar el compuesto del isómero 1 (9,6 mg). La pureza (%) mediante LC/MS: 99%, ee(%) 98%; MS(EIC): (M+1) 419 (denominado en la presente como ejemplo 1A). Un Segundo enantiómero de elución (9,7 mg), t_R=12,9 min. se designa como el compuesto del isómero 2 (denominado en la presente como ejemplo 1B). La pureza (%) mediante LC/MS: 99%, ee(%) 98%; MS(EIC): (M+1) 419.

La configuración absoluta del isómero 1 (ejemplo 1A) e isómero 2 (ejemplo 1B) están determinadas para ser, respectivamente, (S) y (R), usando el conocido método de Mosher. Generalmente, este método implica la derivación de un sustrato quiral con los dos enantiómeros del reactivo quiral ácido alfa-metoxi-alfa(trifluorometil)fenil acético (MTPA), seguido por el análisis comparativo del espectro de ¹H NMR de los diastereómeros. También es posible determinar la configuración absoluta de 2-fenilpirrolidinas mediante la multiplicidad de la señal H₂. Si la configuración del resto MTPA en la amida de Mosher es (R) y la señal H₂ es un doblete de dobletes (uno de los acoplamientos es aproximadamente el doble que el otro), la configuración absoluta de la amina bajo análisis es (S). Si esta señal es un triplete aparente (ambos acoplamientos son similares) la configuración absoluta es (R). Por el contrario, si la configuración del MTPA auxiliar es (S), H₂ aparece como un triplete en la (S)-2-fenilpirrolidina y como un doblete de dobletes en la (R)-2-fenilpirrolidina. Los detalles adicionales se encuentran en P. Vidal, et al., Organic Letters, 9 (21), 4123-4126 (2007).

Como se describió anteriormente, una mezcla racémica de enantiómeros se prepara y se separa en los ejemplos 1A y 1B mediante cromatografía quiral. Un método preferido para preparar el ejemplo 1A es síntesis enantioselectiva usando 2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidina enantioméricamente pura y siguiendo básicamente los procedimientos descritos

anteriormente en el ejemplo 1, parte 1.

Como se indicó anteriormente, el compuesto del ejemplo 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es un antagonista selectivo, o bloqueando selectivamente el efecto de agonistas, en el receptor opioide kappa. Las características del compuesto del ejemplo 1A son una o más de sus características estructurales y propiedades biológicas proporcionadas mediante dichas características, incluyendo selectividad del receptor kappa (afinidad de unión), actividad del receptor kappa (potencia del antagonista), eficacia para reducir la captación de etanol en modelos animales pequeños, biodisponibilidad en modelos animales pequeños y tolerancia con respecto a los efectos secundarios indeseados en modelos animales pequeños. Además, el compuesto del ejemplo 1A prueba la actividad ansiolítica, antidepresiva y antipsicótica en ensayos de modelos animales pequeños.

Como se usa en la presente, la selectividad del receptor opioide kappa significa una afinidad de unión in vitro en el receptor kappa menor que 1 nM y más particularmente menor o igual a 0,6 nM.

Por el contrario, la afinidad de unión in vitro en los receptores opioides mu y delta es mayor que 5 nM y generalmente mayor que 8 nM.

También, como se usa en la presente, potencia del antagonista selectivo del receptor opioide kappa significa desplazo de unión competitiva in vitro de un antagonista conocido a menos de 6 nM y más particularmente menos de 3 nM.

Por el contrario, el desplazamiento de unión competitivo in vitro de agonistas del receptor mu y delta conocidos es mayor que 15 nM y generalmente mayor que 20 nM.

El compuesto de la presente invención se describe como un antagonista selectivo de receptores opioides kappa. Esta descripción pretende incluir el "antagonista neutro" y el "agonista inverso" dentro de su alcance. Un "antagonista neutro" es un ligando de receptor reversible sin actividad intrínseca. No influye en la propia actividad basal del receptor (actividad del receptor constitutiva) y evita la unión, de una forma competitiva, de un agonista (endógeno o no endógeno) al receptor. Un "agonista inverso" es un ligando con actividad negativa intrínseca. Inhibe la propia actividad del receptor (actividad del receptor constitutiva) cambiando el equilibrio de la conformación del receptor a su estado inactivo e inhibe la unión de un agonista al receptor. En un entorno de actividad de receptor constitutivo alto, un agonista inverso se diferenciará de un antagonista neutro.

El compuesto del ejemplo 1A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es efectivo en un rango de dosificación amplio en el tratamiento de trastornos por el uso de etanol y en el tratamiento de la ansiedad comórbida independiente y/o depresión o esquizofrenia, que también puede estar presente. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente entrarán dentro del rango de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. En el tratamiento de humanos adultos, el rango de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg/kg, en dosis únicas o divididas, es típico. Sin embargo, se comprenderá que la cantidad del compuesto efectivamente administrada será determinada por un facultativo a la luz de las circunstancias correspondientes, incluyendo la afección o afecciones comórbidas a tratarse, la edad, peso y respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y la vía elegida de administración y, por lo tanto, no se pretende que los rangos de dosificación anteriores limiten el alcance. También debe comprenderse que la cantidad del compuesto administrada debería estar dentro de un rango de dosis que proporcione la ocupación de receptor kappa central selectivo y no bloquee apreciablemente los receptores opioides mu o delta u otros. El compuesto puede administrarse mediante una variedad de vías, tales como vía oral, transdérmica, subcutánea, sublingual, intranasal, intramuscular o intravenosa.

Como se sabe, la dosificación de cada componente en un medicamento de dos componentes depende de varios factores tales como la potencia del compuesto específico seleccionado, el modo de administración, la edad y el peso del paciente, la gravedad de la afección a tratarse y similares. Esto se considera que está dentro de la habilidad del técnico y puede revisarse la bibliografía para determinar la dosificación óptima para el componente de inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria.

La dosificación de adultos diaria promedio de los inhibidores de la recaptación de norepinefrina es:

	Dosis amplia mg/día	Dosis habitual mg/día
amitriptilina	25-300	10-200
clomipramina	25-250	10-200
doxepina	25-300	10-200
imipramina	25-300	10-200
(+)-trimipramina	25-300	75-200

Estas composiciones, que contienen dos componentes activos, pueden administrarse en la misma forma física o concomitantemente de acuerdo con las dosificaciones descritas anteriormente. Las dosificaciones para cada componente activo pueden medirse por separado y pueden proporcionarse como una dosis combinada única o proporcionarse por separado. Pueden administrarse en el mismo momento o en momentos diferentes siempre y cuando ambos componentes activos estén en el paciente en determinado momento en un período de 24 horas. Las administraciones concomitantes o concurrentes significan que el paciente ingiere un fármaco aproximadamente 5 minutos después de tomar el otro fármaco. Dado que el objetivo es proporcionar un alivio sintomático rápido al paciente, en la mayoría de los casos cuando el tratamiento se inicia los dos fármacos se administrarán al paciente cerca en el tiempo y típicamente concomitantemente; luego, el tiempo de cada administración del fármaco puede ajustarse siempre y cuando ambos agentes estén activos en el paciente al mismo tiempo durante un período de 24 horas.

Los criterios para la dependencia de etanol establecidos en el DSM-IV-TR son un patrón de uso de etanol que conduce al deterioro o aflicción clínicamente significativos manifestados por al menos tres opciones seleccionadas del siguiente grupo, que se producen en cualquier momento dentro del mismo período de doce meses: (1) tolerancia, definida como (a) la necesidad de tener cantidades sustancialmente aumentadas de etanol para lograr la intoxicación o el efecto deseado; o (b) efecto sustancialmente disminuido con el uso continuado de la misma cantidad de etanol; (2) abstinencia, según se demuestra por (a) el síndrome característico de abstinencia para el etanol; o (b) se ingiere la misma sustancia o una sustancia muy similar para aliviar o evitar los síntomas de la abstinencia; (3) el etanol se ingiere con frecuencia en cantidades mayores o durante un período mayor que lo que se pretendía; (4) hay un deseo persistente o intentos fallidos de reducir o controlar el uso de etanol; (5) se pasa mucho tiempo en actividades necesarias para obtener etanol, usar etanol o recuperarse de sus efectos; (6) se renuncia a actividades sociales, ocupacionales o recreativas importantes o se reducen debido al uso de etanol; y (7) el uso de etanol es continuado a pesar del conocimiento de tener un problema físico o psicológico persistente o recurrente que es probable que haya sido causado o exacerbado por el etanol.

La dependencia de etanol puede darse con dependencia fisiológica, lo que prueba que la tolerancia o la abstinencia están presentes, o sin dependencia fisiológica, donde no se presentan pruebas de tolerancia o abstinencia. Sin embargo, debería comprenderse que la denominada "dependencia psicológica" puede ser el resultado de una abstinencia prolongada en donde los síntomas físicos no se detectan fácilmente y con frecuencia se manifiestan como quejas psicológicas tales como disforia o anhedonia.

La característica esencial del abuso de etanol es un patrón desadaptativo de uso de etanol manifestado por las consecuencias adversas recurrentes y significativas relacionadas con el uso repetido de etanol. De modo de cumplir con un criterio de abuso, el problema relacionado con el etanol debe haber ocurrido repetidamente durante el mismo período de 12 meses o haber sido persistente. Puede haber una imposibilidad repetida de cumplir con las principales obligaciones, uso repetido en situaciones en las cuales es peligroso físicamente, múltiples problemas legales y problemas sociales e interpersonales recurrentes. A diferencia de los criterios para la dependencia de etanol, los criterios para el abuso de etanol no incluyen tolerancia, abstinencia o un patrón de uso compulsivo y a su vez incluyen sólo las consecuencias dañinas del uso repetido. Un diagnóstico de abuso de etanol se adelanta mediante el diagnóstico de la dependencia de etanol si el patrón de uso de etanol del individuo ha cumplido alguna vez con los criterios para la dependencia.

Información adicional y detalles acerca del trastorno por el uso de etanol que se trata con el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentra en DSM-IV-TR.

Los trastornos de ansiedad comórbidos independientes tratados mediante el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se seleccionan a partir de trastorno de pánico, trastorno obsesivo compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno del estrés post-traumático. Estos trastornos pueden tratarse solos o concomitantemente con el trastorno por el uso de etanol en un paciente. Los trastornos de ansiedad particulares contemplados como afecciones comórbidas tratables se definen en DSM IV TR y se describen en United States Department of Health and Human Services, National Institute of Mental Health, NIH Publication No. 06-3879.

Información adicional y detalles acerca de los trastornos de ansiedad descritos anteriormente y tratados por el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentran en DSM-IV-TR.

Las enfermedades de depresión comórbida independientes tratadas por el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se seleccionan de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar. Estos trastornos pueden tratarse solos o concomitantemente con el trastorno por el uso de etanol en un paciente. Las enfermedades depresivas contempladas como afecciones comórbidas tratables por la presente invención son como se definen en DSM IV TR y se describen en United States Department of Health and Human Services, National Institute of Mental Health, NIH Publication No. 02-3561.

Información adicional y detalles acerca de los trastornos de depresión descritos anteriormente y tratados por el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentran en DSM-IV-TR.

La esquizofrenia comórbida independiente tratada por el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, incluye los subtipos paranoicos, desorganizados, catatónicos, indiferenciados y residuales. Este trastorno puede tratarse solo o concomitantemente con el trastorno por el uso de etanol en un paciente. La esquizofrenia contemplada como una afección comórbida tratable por la presente invención es como se define en DSM IV TR.

Información adicional y detalles acerca de la esquizofrenia tratada por el presente compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentran en DSM-IV-TR.

Como se indicó previamente, un trastorno de ansiedad, como se describió anteriormente, una enfermedad de la depresión, como se describió anteriormente, y el trastorno por el uso de etanol pueden tratarse simultáneamente mediante el compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o la esquizofrenia como se describió anteriormente, y el trastorno por el uso de etanol pueden tratarse simultáneamente mediante el compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto del ejemplo 1A se administra preferiblemente en relación con y/o posteriormente a un programa educativo y/o de modificación del comportamiento para mejorar la disminución en frecuencia y/o cantidad del uso o la abstinencia del etanol. Los programas pueden ser más efectivos enfocándose en objetivos educativos y de modificación del comportamiento, reduciendo la incidencia de la no terminación del programa.

Como se indicó anteriormente, el compuesto del ejemplo 1A es un antagonista selectivo del receptor opioide kappa. La selectividad se demuestra en ensayos in vitro e in vivo. Todos los experimentos ex vivo e in vivo se realizan de acuerdo con las políticas del Comité de Cuidado y Uso Animal de Eli Lilly and Company, en cumplimiento con las directivas aprobadas de la American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care.

Afinidad kappa in vitro

Ensayo de unión a GTP-γ-S

Se realiza un formato de ensayo de GTP-γ-S³⁵ basado en el ensayo de proximidad de centelleo (SPA) básicamente de acuerdo con los formatos de ensayo de Emmerson et al., J. Pharm Exp Ther. 278,1121 (1996); Horng et al., Society for Neuroscience Abstracts, 434.6 (2000) y DeLapp et al., JPET 289, 946 (1999). Se resuspenden las membranas en 20 mM de HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT y 1 mM EDTA. Se agregan cincuenta μL de GTP-γ-[³⁵S], compuesto, suspensión de membrana (20 microgramos/pocillo) y perlas de SPA recubiertas con aglutinina de germen de trigo (WGA PVT SPA, GE Healthcare, 800 Centennial Avenue, Piscataway, NJ 08854) (1mg/pocillo) a placas de ensayo de 96 pocillos de fondo claro. Se agrega GDP (200 μM para lograr una concentración final de 50 μM por pocillo) a la solución de membrana antes de la adición a las placas de ensayo. Las placas se sellan y se incuban durante cuatro horas a temperatura ambiente, luego se colocan en un refrigerador durante toda la noche para dejar que las perlas se asienten. Se determina que la estabilidad de señal a 4°C es de >60 horas. Las placas se calientan hasta temperatura ambiente y se cuentan en un contador de centelleo Wallac MicroBeta® (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, 549 Albany Street, Boston, MA 02118 Estados Unidos). Para los ensayos de antagonistas se agregan agonistas específicos en las siguientes concentraciones: receptor opioide mu (MOR) DAMGO ([D-Ala², N-Me-Fe⁴, Gli⁵-ol]-Encefalina, número de catálogo Sigma-Aldrich E7384) 1 micromolar; receptor opioide delta (DOR) DPDPE ((D-Pen², D-Pen⁵)-Encefalina, número de catálogo Bachem H-2905) 30 nM; y receptor opioide kappa (KOR) U69593 ((+)-(5α, 7α, 8β)-N-Metil-N-[7-(1-pirrolidinil)-1-oxaspiro[4.5]dec-8-il]-bencenoacetamida, número de catálogo Sigma- Aldrich U103) 300 nM. Los valores de Kb se determinan usando una modificación de la ecuación de Cheng-Prusoff (ver Cheng y Prusoff, Biochem. Pharmacol. 22, 3099 (1973) como se informó previamente (DeLapp et al., 1999). Para las evaluaciones n>1, los valores promedio resumidos son una media geométrica del número declarado de ejecuciones (n=2 o 3) calculado como Log Medio Kb=Promedio (Kb1 + Kb2 + Kb3); SE=DESEST (Kb1 + Kb2 + Kb3)/SQRT n (n=2 o 3); Media geométrica Kb (nM)=10[^] Log mEDIO Kb; SEM=SE x media geométrica Kb (nM) x LN(10).

Tabla 1

Ejemplo no.	hMu	Antagonista in vitro del receptor opioide GTP-γ-S Kb (nM) hKappa	hDelta
1 (racémico)	56,7 (n=1)	5,43 (n=1)	293 (n=1)
1A (isómero 1)	40,1 (21,3, n=3)	2,12 (1,06, n=3)	264 (111, n=3)
1B (isómero 2)	69,6 (22,8, n=2)	44,8 (14,7, n=2)	220 (149, n=2)

Los valores DE Ki se determinan usando la ecuación de Cheng y Prusoff (supra) Ki=EC50/(1+[ligando]/Kdx) y se proporcionan a continuación en la Tabla 2. Para las evaluaciones n>1, los valores promedio resumidos son una

media geométrica del número declarado de ejecuciones (n=2 o 3) calculado como Log Medio $K_i = \text{Promedio} (K_{i1} + K_{i2} + K_{i3})$; $SE = DESEST (K_{i1} + K_{i2} + K_{i3}) / \sqrt{n}$ (n=2 o 3); Media geométrica $K_i (nM) = 10^{\text{Log Medio } K_i}$; $SEM = SE \times \text{Media geométrica } K_i (nM) \times \text{LN}(10)$. Estos datos muestran que el compuesto del ejemplo 1 (racémico) y en particular el compuesto del ejemplo 1A (isómero 1) son potentes antagonistas selectivos del receptor opioide para el receptor kappa con relación a los receptores mu y delta.

Tabla 2

Ejemplo no.	Mu	Alto Na ⁺ /GDP K_i (nM) Kappa de unión in vitro	Delta
1 (racémico)	12 (n=1)	0,225 (n=1)	170 (n=1)
1A (isómero 1)	16,4 (8,25, n=3)	0,597 (0,373, n=3)	122 (38,6, n=3)
1B (isómero 2)	101 (33,7, n=2)	13,9 (0,293, n=2)	165 (18,6, n=2)

Estos datos muestran que el compuesto del ejemplo 1 (racémico) y particularmente el compuesto del ejemplo 1A (isómero 1) se unen selectivamente al receptor opioide kappa con relación a los receptores mu y delta.

10 Ocupación del receptor opioide (RO) en cerebro de ratas

De modo de conectar la potencia in vitro con la eficacia in vivo y para evaluar la ocupación del compuesto de la presente invención en los receptores opioides, se emplea un modelo de rata in vivo para monitorear la RO. En este ensayo se administran simultáneamente intravenosamente microdosis de naltrexona (10 µg/kg) ((5α)-17-(Ciclopropilmetil)-4,5-epoxi-3,14-dihidromorfinan-6-ona), naltriben (10 µg/kg) (17-(Ciclopropilmetil)-6,7-dihidro-3,14b-dihidroxi-4,5α-epoxi-5,7-2',3'-benzo[b]furanomorfinan) y GR103545 ((-)-(R)-Metil 4-[(3,4-diclorofenil)acetil]-3-1[(1-pirrolidinil)metil]-1-piperazinacarboxilato) (1,5 µg/kg) en una inyección única y usada como rastreadores de RO para los receptores mu, delta y kappa, respectivamente. La administración de los tres rastreadores permite que se entienda la selectividad relativa de los subtipos de receptores opioides ocupados y el grado de la ocupación del receptor que ocurre en un subtipo específico en la eficacia. En la RO, la distribución del rastreador en varias regiones cerebrales se mide mediante LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex), lo que proporciona un método no radioactivo para detectar las cantidades de rastreador en el cerebro con alta sensibilidad. La ocupación del receptor se calcula luego como la diferencia en la acumulación específica de rastreador en animales tratados con un compuesto de la presente invención con respecto a animales tratados con vehículo solamente. En este método, el estriado (una región de alta densidad del receptor opioide mu, delta y kappa) se toma para la acumulación de rastreador específica, mientras que el cerebelo (una región cerebral desprovista receptores opioides) representa la acumulación de rastreador no específica. La ocupación del receptor se determina 90 minutos después de una dosis oral única de un compuesto de la presente invención o 5,5 horas después de la administración para la evaluación de dosis-respuesta. Los datos representan la media ± SEM de la ocupación del receptor en 3-6 ratas por grupo de dosis, pesando cada rata aproximadamente 230 g.

Se tratan ratas Harlan Sprague Dawley macho con el compuesto del ejemplo 1A de la presente invención usando una formulación oral de 3% de ácido láctico/agua en dosis de 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 y 30 mg/kg. Los animales de prueba mostraron un nivel dependiente de la dosis de ocupación de receptor kappa en el estriado de 5,5 horas tras la administración oral. El valor de ED50 calculado para la ocupación del receptor kappa del compuesto del ejemplo 1A de la presente invención fue de 0,45 mg/kg. En concordancia con los datos de unión in vitro, el compuesto del ejemplo 1 A de la presente invención mostró una alta selectividad para el receptor opioide kappa in vivo, no produciendo una ocupación significativa de los receptores mu o delta (medidos en el estriado) en dosis de hasta 30 mg/kg, lo que significa que el valor de ED50 en dichos receptores es mayor que 30 mg/kg. Los mayores niveles de ocupación del receptor kappa son generados por aumentos aproximadamente proporcionales de la exposición en plasma y cerebro del compuesto del ejemplo 1 A de la presente invención hasta una dosis de 30 mg/kg. Estos datos respaldan que, tras la administración oral, el compuesto del ejemplo 1A se une selectivamente a los receptores opioides kappa en el cerebro de rata con alta potencia.

Los niveles de exposición del compuesto del ejemplo 1A en el estriado de la rata tras la administración se determinaron en las mismas muestras usadas para cuantificar el nivel de ocupación del receptor opioide. Los niveles del ejemplo 1A se detectan mediante LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex) y se cuantifican a partir de una curva estándar del ejemplo 1A preparada en homogenado de cerebro de rata.

Tabla 3

Niveles en cerebro			
Ejemplo 1A dosis oral mg/kg	Ejemplo 1A ng/g tejido		
		SEM	n
30	265,67	46,25	3
10	171,47	78,53	3
3	39,20	8,67	3
1	19,63	11,05	3
0,3	7,23	0,42	3
0,1	15,30	7,29	3

- 5 La exposición en plasma del ejemplo 1A de la presente invención en la rata tras la administración se determina en plasma aislado de la sangre troncal recogida en el momento de la recolección del tejido para la ocupación del receptor. Los niveles del compuesto del ejemplo 1 A se detectan mediante LC/MS/MS (API 4000, MDS Sciex) y se cuantifican a partir de una curva estándar del ejemplo 1A preparada en plasma de rata tratado con vehículo.

Tabla 4

Niveles de plasma			
Ejemplo 1A dosis oral	Ejemplo 1A ng/g		
		SEM	n
30	106,03	22,22	3
10	65,20	29,08	3
3	15,43	3,54	3
1	4,63	1,63	3
0,3	2,27	0,79	3
0,1	1,17	0,47	3

Protocolo de ratas P

10 Ingesta de etanol de 12 hr de ratas P

- Los animales de prueba son ratas con preferencia por el alcohol (P) criadas selectivamente. Estas ratas consumen voluntariamente más de 5 g/kg de etanol por día y cumplen con todos los criterios percibidos por un modelo animal de alcoholismo. Las mismas logran niveles de alcohol en sangre de entre 50-200 mg %; responderán operativamente para obtener etanol; consumen etanol por efectos farmacológicos y no por sabor, olor o propiedades calóricas; y desarrollarán tolerancia metabólica y fisiológica y finalmente dependencia con acceso al etanol crónico.
- 15

Animales

Las ratas P hembra se obtienen de instalaciones de cría en Indiana University Medical Center en Indianápolis, IN, Estados Unidos. Las ratas se albergan individualmente en una instalación ambientalmente controlada y se mantienen en un ciclo de oscuridad/luz de 12hr (sin luces a 1500 horas).

20 Compuestos

Todos los fármacos se mezclan antes del uso y se administran en un volumen de 1 mL/kg. Los compuestos se solubilizan en agua estéril mediante la adición por goteo de ácido láctico 85%. Salvo que se establezca lo contrario, los compuestos se administran oralmente antes del inicio del ciclo de oscuridad usando un diseño intra-sujeto

contrabalanceado (n = 8 -11 por experimento).

Procedimiento experimental

5 Tras la aclimatación de 4 días a la colonia, las ratas reciben acceso en la jaula a una botella de EtOH (10% v/v; Ancare, Bellmore, NY) además de la botella estándar de agua. El acceso al agua y 10% de EtOH, así como la alimentación de laboratorio estándar, están libremente disponibles. Una vez que las ratas alcanzan un nivel estable de ingesta diaria, la solución de EtOH se aumenta hasta 15% v/v. El consumo de EtOH y agua se monitorean durante aproximadamente 6 - 9 meses antes de la prueba del fármaco. La ingesta de alimentos y de fluidos se miden a través de la transducción de fuerza con un Sistema de Monitoreo de Ingesta y Alimentación controlado por PC (TSE Systems, BadHomburg, Alemania). El consumo de alimentos, agua y 15 % (v/v) de EtOH se monitorea
10 continuamente durante 12 hrs tras la administración del fármaco o vehículo. Para algunos experimentos, se realiza el monitoreo continuo durante 24 horas.

A 1 mg/kg y 3 mg/kg administrados oralmente, el compuesto del ejemplo 1A redujo la cantidad de etanol consumida ($p < 0,05$ versus vehículo).

Relación progresiva de rata P que responde al etanol

15 Esta prueba evalúa la motivación para trabajar para acceder al etanol en ratas P tras la abstinencia de etanol. Este modelo animal simula el deseo por el etanol.

Ratas P hembras (Indiana University Medical Center, Indianápolis, IN, Estados Unidos) se albergan en pares en instalaciones controladas ambientalmente y se mantienen en un ciclo de luz/oscuridad de 12 h (luces encendidas a las 06:00 horas).

20 Los compuestos se solubilizan en agua estéril mediante la adición por goteo de ácido láctico al 85%, mezclado antes del uso, y administrado en un volumen de 1 mL/kg. Salvo que se establezca lo contrario, los compuestos se administran oralmente 60 min antes de la sesión experimental. Las dosis se asignan usando un diseño intra-sujeto contrabalanceado (n = 8 - 11 por experimento).

25 De modo de reducir la evasión inducida por la novedad de etanol (EtOH), la botella de agua en la jaula se reemplaza por una botella que contiene 15% de EtOH (v/v; Ancare, Bellmore, NY) durante dos días antes del entrenamiento operante. En todo el resto del experimento, las ratas tienen acceso ad libitum al agua y al alimento de laboratorio estándar en la jaula.

30 Se realizan sesiones de 60 min diarias en cámaras operantes de ratas estándar dentro de cámaras atenuadoras del sonido (MED Associates, Inc., St. Albans, VT, Estados Unidos). Las barras de 0,5 cm de diámetro de acero inoxidable de la rejilla del suelo de las cámaras operantes se ubican a aproximadamente 1,5 cm de separación. Se colocan dos palancas retraíbles en cada cámara operante aproximadamente 15 cm por encima del suelo de la rejilla y a 13 cm de separación. Una cubeta de receso se coloca en el espacio entre las palancas, a través del cual se eleva un recipiente (0,1 mL de capacidad) para administrar etanol por respuesta condicionada (15% EtOH, v/v). Tras una respuesta reforzada, una luz de estímulo se ilumina durante el acceso al recipiente de 4 seg. La operación de
35 los estímulos y las respuestas de comportamiento se controlan y registran por computadora para su análisis fuera de línea. Al final de cada sesión, todos los estímulos se apagan y las palancas se retraen.

40 Las ratas se entrenan para presionar una palanca para el refuerzo de EtOH. Inicialmente, las respuestas en cualquier palanca se consideran respuestas correctas y se premian con el refuerzo. El acceso al refuerzo se señala iluminando una luz de estímulo sobre la palanca en la cual la respuesta se realiza. Una vez que las ratas aprenden a presionar una palanca para obtener un premio de EtOH, el condicionamiento a la respuesta se cambia de tal modo que las respuestas realizadas en una palanca (palanca activa) se refuerzan, usando un esquema de relación fija (FR)-1 de refuerzo, mientras que las respuestas en la otra palanca (inactiva) no se refuerzan. Durante un período de 3 - 4 semanas, el condicionamiento a la respuesta se aumenta a FR-3, de tal modo que se requieren 3 presiones de palanca para cada refuerzo. Una vez que se alcanza un nivel estable de respuesta, el condicionamiento a la
45 respuesta se cambia a un esquema de relación progresivo de refuerzo. Para este procedimiento, el requisito de respuesta aumenta lentamente en toda la sesión experimental de tal modo que las ratas trabajan cada vez más para recibir el premio de EtOH. Específicamente, el requisito de respuesta aumenta del siguiente modo: todas las ratas comienzan en un esquema FR-1 de refuerzo; luego de tres refuerzos, el esquema se aumenta a FR-2; luego de tres refuerzos en dicho nivel, el esquema se aumenta a FR-4; luego de tres refuerzos en FR-4, el esquema se aumenta a
50 FR-6, y así sucesivamente. Cada sesión se programa para durar un total de 60 min. Se registra la cantidad de EtOH que se consume (en mL y g/kg), así como el número de respuestas en las palancas activas e inactivas y el punto de quiebre, que se define como el valor de FR alcanzado durante la sesión.

55 El compuesto del ejemplo 1A se administra oralmente 60 min antes de evaluar a 1, 3, y 10 mg/kg. El número de respuestas de palanca activa se reduce tras la administración de 10 mg/kg ($p < 0,05$ versus vehículo). La cantidad de etanol consumido y el punto de quiebre también se reducen en la dosis de 10 mg/kg ($p < 0,05$ versus vehículo). Los datos prueban una reducción en la motivación para trabajar por el acceso al etanol a pesar de su vasta historia operante por el etanol.

Hipertermia inducida por estrés (en ratas)

La hipertermia es un fenómeno general que fue demostrado de forma confiable en muchos espacios en respuesta al estrés y es un componente de la bien caracterizada respuesta de lucha o huida. Esta prueba evalúa un compuesto de prueba como una medida de sus efectos ansiolíticos. El método convencional y mínimamente invasivo para analizar la hipertermia inducida por el estrés consiste en medir la temperatura corporal y los aumentos inducidos por el estrés en la temperatura del cuerpo, a través de un termómetro rectal. Este procedimiento implica dosificar los animales antes de medir la lectura de la temperatura corporal de referencia (temperatura de referencia, T1). El manejo por parte del experimentador y la inserción de la sonda rectal producen un aumento moderado en la temperatura corporal que hace picos a los 10 -15 minutos. Una segunda medición de la temperatura corporal (T2) se registra 10 minutos luego de la primera medición. El cambio en la temperatura corporal (T2 menos T1) se define como la respuesta hipertérmica inducida por estrés.

Se evalúan ratas Fischer F-344 macho (Harlan, Indianápolis, IN, Estados Unidos) que pesan entre 275 - 350 g. Todos los animales se albergan individualmente con alimentos y agua automatizada disponible ad libitum, y se mantienen en un ciclo de 12 h de luz/oscuridad (luces encendidas a las 06:00). En el día anterior a cada experimento, el alimento se retira de las jaulas de las ratas diseñadas para la prueba de modo que los animales hagan ayuno por aproximadamente 12-18 horas antes del experimento. Las ratas se transportan de la sala de la colonia en grupos de n = 10 a una sala de procedimiento para la dosificación. Las ratas se dosifican oralmente en un volumen de dosis de 1 mL/kg con compuestos de prueba en el rango de 1 a 3 y 10 mg/kg disueltos en agua estéril con la adición por goteo de ácido láctico al 85%. Se usa una solución del antagonista de glutamato metabotrópico subtipo 5 (mGlu5) 3-[(2-metil-1,3-tiazol-4-il)tinil]piridina (MTEP) (10 mg/kg) disuelto en agua como control positivo. Inmediatamente tras la dosificación, las ratas retornan a su jaula y el experimentador apaga las luces y deja la sala. La sala de dosificación (sala A) se oscurece por el resto del período de pre-tratamiento de 60 min.

Luego del período de pre-tratamiento, las ratas se llevan individualmente a una sala adyacente iluminada de forma brillante (sala B) donde las temperaturas corporales de referencia se determinan mediante la inserción de la sonda rectal lubricada con aceite mineral. La temperatura corporal se evalúa usando un termómetro de microsonda Physitemp® BAT-12® con una sonda rectal para ratas Physitemp® RET-2® (Physitemp Instruments Inc., 154 Huron Ave. Clifton, NJ 07013). La sonda se inserta aproximadamente 2 cm en el recto. Se mide la temperatura corporal interior (esta es la temperatura corporal de referencia, T1, en grados C). La rata luego se coloca nuevamente en la jaula y se mantiene en la sala B. Diez minutos más tarde se registra una segunda temperatura corporal (T2). La diferencia entre la primera y la segunda medición de la temperatura corporal (T2 - T1) se usa como un índice de hipertermia inducida por estrés.

Se lleva a cabo un segundo estudio que evalúa una combinación del compuesto del ejemplo 1A dosificado junto con una dosis sub-umbral de clordiazepóxido (CDP).

Para el estudio de combinación de fármacos, el ejemplo 1A (1, 3 y 10 mg/kg, vía oral, pre-tratamiento 60 min) se dosifica junto con clordiazepóxido 1 mg/kg, vía oral, vehículo de agua) y 1 mg/kg de clordiazepóxido solo se usa como control positivo.

Estudio 1. El compuesto del ejemplo 1A se administra oralmente 60 min antes de la medición de la temperatura corporal interna de referencia a 1, 3, y 10 mg/kg. El compuesto produce una reducción dependiente de dosis pero no significativa de la hipertermia inducida por el estrés (T2 - T1). Es importante que la temperatura corporal interna de referencia no está afectada. El compuesto control positivo reduce significativamente la hipertermia inducida por el estrés ($p < 0,05$), sin afectar las temperaturas corporales de referencia.

Estudio 2. El compuesto del ejemplo 1A se administra oralmente a 1, 3 y 10 mg/kg, junto con 1 mg/kg clordiazepóxido, 60 min antes de la medición de la temperatura corporal interna de referencia. Grupos separados reciben 10 mg/kg del ejemplo 1A solo o 1 mg/kg de clordiazepóxido solo (vía oral, 60 min antes de la temperatura corporal de referencia). El compuesto del ejemplo 1A aumenta la eficacia de dosis de sub-umbral de clordiazepóxido para producir una reducción significativa en la hipertermia inducida por el estrés ($p < 0,05$). Es importante que la temperatura corporal interna de referencia no se ve afectada.

Estudio 1. El compuesto del ejemplo 1A solo: vehículo = $0,98 \pm 0,10$; 1 mg/kg ejemplo 1A = $0,84 \pm 0,07,3$ mg/kg ejemplo 1A = $0,80 \pm 0,10$; 10 mg/kg ejemplo 1A = $0,75 \pm 0,11$; MTEP control = $0,42 \pm 0,09$.

Estudio 2. El compuesto del ejemplo 1A solo clordiazepóxido: vehículo = $0,86 \pm 0,06$; 1 mg/kg CDP solo = $0,75 \pm 0,06$; 10 mg/kg ejemplo 1A solo = $0,74 \pm 0,04$; 1 mg/kg ejemplo 1A y CDP = $0,68 \pm 0,06$; 3 mg/kg ejemplo 1A y CDP = $0,70 \pm 0,07$; 10 mg/kg ejemplo 1A y CDP = $0,57 \pm 0,07$.

Los datos a partir de los estudios 1 y 2 demuestran que el compuesto del ejemplo 1A, solo, tiene un moderado efecto ansiolítico. Sin embargo, en combinación con una benzodiazepina, se ve un efecto ansiolítico más robusto con el compuesto del ejemplo 1A en dosis menores. Estos datos sugieren el uso del compuesto del ejemplo 1A solo o como un tratamiento adyuvante con un agente ansiolítico de benzodiazepina para los trastornos de la ansiedad.

Prueba de nado forzado de ratones

Esta prueba evalúa los efectos del compuesto de prueba en la movilidad de los ratones como una medición del efecto antidepresivo. Cuanto menor inmovilidad en comparación con el vehículo, más pronunciado es el efecto similar a un antidepresivo.

5 Se albergan ratones NIH suizos macho (25-30 g) (Harlan Sprague-Dawley, Indianápolis, IN, Estados Unidos) en un terrario al menos una semana antes del uso con agua y alimento para roedores disponible libremente durante este período de aclimatación. Los animales se retiran del terrario y se llevan al área de prueba es sus jaulas y se los deja adaptarse al nuevo ambiente durante al menos una hora antes de la prueba.

10 Los ratones se colocan en cilindros plásticos claros (diámetro: 10 cm; altura: 25 cm) rellenos con 6 cm de agua (22-25°C) durante seis minutos. Se registra la duración de la inmovilidad durante los últimos cuatro minutos del período de prueba de seis minutos. Se registra un ratón como inmóvil cuando flota sin movimientos o realiza solamente dichos movimientos necesarios para mantener su cabeza sobre el agua.

15 El compuesto de prueba se administra oralmente 1 hora antes de la prueba a 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg y 10,0 mg/kg, n de 8 por grupo en un vehículo de 5 ml de agua estéril y 30 ml de ácido láctico (10x) diluido. Se evalúa la imipramina como un control positivo, 15 mg/kg: p, 30 min antes de la prueba n de 4. A 10,0 mg/kg, el compuesto del ejemplo 1A demuestra actividad similar a un antidepresivo ($p < 0,05$ versus vehículo, prueba de Dunnett).

20 Se realiza un segundo estudio que evalúa dosis de 1 y 3 mg/kg del compuesto del ejemplo 1A solo y en combinación con 5 mg/kg de imipramina. La imipramina sola se evalúa en dosis de 5 y 15 mg/kg y se incluye en el estudio un vehículo. Para los estudios de combinación, el compuesto del ejemplo 1A se administra oralmente 30 minutos antes de la administración de imipramina i.p. y la prueba iniciada 30 minutos tras la administración de imipramina. Un n de 8 por grupo se evalúa para todos los grupos. Para las evaluaciones del compuesto del ejemplo 1A solo, se inicia la evaluación 60 minutos tras la administración y evaluación de animales tratados solamente con imipramina 30 minutos tras la administración. Una dosis de 3 mg/kg del compuesto del ejemplo 1A y 5 mg/kg de imipramina fue sustancialmente tan eficaz como una dosis de 15 mg/kg de imipramina sola y estadísticamente significativa con respecto a cada control con vehículo, imipramina 5 mg/kg sola y 3 mg/kg de ejemplo 1A solo. La dosis de 1 mg/kg del compuesto del ejemplo 1A y 5 mg/kg de imipramina también demostraron efectos antidepresivos estadísticamente significativos con respecto a cada control con vehículo, imipramina 5 mg/kg sola y 1 mg/kg del ejemplo 1A solo. Al igual que en el estudio final, la imipramina 15 mg/kg demostró tener un efecto antidepresivo estadísticamente significativo sobre el control con vehículo ($p < 0,05$, prueba de Dunnett para todas las evaluaciones estadísticas).

Tabla 5

Efecto del ejemplo 1A e imipramina sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado de ratones

Tratamiento	Media(s)	SE	n
Vehículo	183,90	11,23	8
Ejemplo 1A - 1mg/kg	151,53	10,59	8
Ejemplo 1A - 3mg/kg	172,02	13,05	8
Imipramina - 5mg/kg	161,94	13,54	8
Ejemplo 1A - 1mg/kg e imipramina 5mg/kg	90,93	12,35	8
Ejemplo 1A - 3mg/kg e imipramina 5mg/kg	67,98	8,47	8
Imipramina 15mg/kg	61,70	11,20	8

35 Los datos del segundo estudio muestran la potenciación del efecto de la actividad similar a un antidepresivo cuando las dosis de combinación del ejemplo 1 A e imipramina se administran en dosis que no demuestran una actividad estadísticamente significativa cuando cada compuesto se administra solo.

Inhibición por prepulso

40 La inhibición por prepulso (PPI) del reflejo de sobresalto acústico se usa para evaluar el déficit de procesamiento de la información sensorial observados en un número de afecciones neurológicas y psiquiátricas. Los pacientes esquizofrénicos muestran una abertura motora-sensorial reducida que se refleja en una inhibición por prepulso

reducida (PPI) del reflejo de sobresalto. Esta inhibición reducida puede mejorarse (revertirse) mediante agentes antipsicóticos farmacéuticos. Ciertos compuestos farmacéuticos que inducen estados similares a psicóticos (por ejemplo, agonistas de dopamina, antagonistas de NMDA) también interrumpen (suprimen) la PPI y los agentes antipsicóticos farmacéuticos pueden revertir este déficit. La PPI representa un mecanismo para la abertura y filtrado de estímulos irrelevantes o de distracción y se define operativamente como la reducción en la respuesta de sobresalto producida por un estímulo de baja densidad presentado ante un estímulo de alta intensidad, inductor del estado de sobresalto.

Métodos

Experimento 1: La reversión de (+)-(5 α ,7 α ,8 β)-N-Metil-N-[7-(1-Pirrolidinil)-1-Oxaspiro[4,5]dec-8-il]-Bencenoacetamida (U69593, un agonista selectivo de receptores opioides K) indujo la interrupción de la PPI:

Ratas Sprague Dawley, 40 machos (Harlan, Indianápolis, IN), que pesan aproximadamente 250 gramos y se mantienen con alimento ad libitum y agua en la jaula, se dividen en cinco grupos de ocho y son dosificadas (oralmente) con vehículo, 0,1, 0,3 o 1,0 mg/kg del compuesto del ejemplo 1A una hora antes de la prueba. Cada rata se dosifica con 3 mg/kg U-69593 (a través de una inyección subcutánea) o vehículo quince minutos antes de la prueba.

Procedimiento de inhibición por prepulso: Tras un período de aclimatación de 5 minutos, se inicia el primer ensayo de una sesión de 40 ensayos. Los primeros cinco ensayos consisten de 115 dB de ocurrencias de sobresalto, los restantes 35 ensayos fueron una combinación pseudo aleatoria de ensayos de prepulso y sobresalto. Los ensayos de prepulso consistieron en un sobresalto de 115 dB de sonido precedido por un prepulso de 65 dB de sonido. Los ensayos de sobresalto consistieron en ocurrencias de 115 dB de sonido. Además, hay cinco ensayos control donde se evalúa la respuesta de referencia al ruido de fondo de 60 dB.

El intervalo interensayos (ITI) varió de 15 a 45 segundos y consistió en ruido de fondo de 60 dB. La amplitud de sobresalto para cada ensayo se mide a través de un acelerómetro (Hamilton Kinder, modelo SM100RP) donde la fuerza promedio en Newtons se registra en un período de 120 milisegundos iniciado tras la presentación del estímulo de sobresalto de 40 milisegundos y 115 dB para cada ensayo.

La inhibición a la reactividad del sobresalto se mide como el cambio porcentual en cada rata de reactividad de sobresalto de prepulso media a reactividad de sobresalto de referencia media. [(Sobresalto de referencia medio – sobresalto de prepulso medio)/sobresalto de referencia medio] x 100.

El ejemplo 1A se prepara como una solución en un vehículo de agua estéril con ácido láctico al 85% agregado por goteo hasta que esté soluble y se administra a 0,1, 0,3 y 1,0 mg/kg oralmente en una dosis-volumen de 1 ml/kg.

U-69593 se prepara como una solución en un vehículo de agua estéril y se administra a 3,0 mg/kg subcutáneamente en una dosis-volumen de 1 ml/kg.

Los datos se analizan usando un ANOVA de una vía (tratamiento), con el ensayo de comparación múltiple de Dunnett para evaluar la significancia post hoc. Los análisis estadísticos se realizan en GraphPad Prism v.4.03.

Experimento 2: Reversión de interrupción inducida por morfina de la PPI:

Ratas Sprague Dawley, 56 machos (Harlan, Indianapolis, IN), que pesan aproximadamente 250 gramos y se mantienen con alimentos y agua ad libitum en la jaula, se dividen en cuatro grupos de 14 y se dosifican (oralmente) con 10 mg/kg o 30 mg/kg de ejemplo 1A o vehículo una hora antes del ensayo y luego se las dosifica con 20 mg/kg de morfina (a través de inyección subcutánea) o vehículo quince minutos antes del ensayo.

El procedimiento de inhibición por prepulso y la preparación del ejemplo 1A son como se describieron anteriormente.

La morfina se prepara como una solución en un vehículo de agua estéril y se administra a 20,0 mg/kg subcutáneamente en una dosis-volumen de 1 ml/kg.

Los datos se analizan usando un ANOVA de una vía (tratamiento) con el ensayo de comparación múltiple de Dunnett para evaluar la significancia post hoc. Los análisis estadísticos se realizan en GraphPad Prism v.4.03.

Tabla 6

Resultados PPI experimento 1; ejemplo 1A vs. U-69593					
	Vehículo/vehículo	Vehículo / 3,0 mg/kg U-69593	0,1 mg/kg ejemplo 1A / 3,0 mg/kg U-69593	0,3 mg/kg ejemplo 1A / 3,0 mg/kg U-69593	1,0 mg/kg ejemplo 1A / 3,0 mg/kg U-69593
% inhibición	41,36	29,60	25,88	66,71	61,05
	68,63	-24,89	31,40	71,91	59,31
	46,55	-20,28	29,86	33,74	30,08
	71,55	43	55,18	-1,75	52,23
	45,30	-10,05	22,97	52,00	24,91
	48,43	3,47	54,62	47,01	70,96
	40,55	43,66	31,90	0,52	55,10
	62,72	-3,46	9,79	42,14	71,68

Tabla 7

Resultados PPI experimento 1; ejemplo 1A vs. Morfina				
	Vehículo/vehículo	Vehículo / 20 mg/kg morfina	10 mg/kg ejemplo 1A / 20 mg/kg morfina	30 mg/kg ejemplo 1A / 20 mg/kg morfina
% inhibición	62,49	4,72	18,66	57,12
	59,02	50,03	63,46	41,32
	61,78	26,99	42,77	30,93
	11,92	-12,64	21,98	6,855
	15,96	34,65	-40,70	16,56
	31,67	32,59	0,18	54,32
	63,33	5,49	21,00	18,94
	68,89	49,11	21,21	45,40
	61,08	53,95	50,34	42,78
	74,24	44,81	26,48	46,29
	53,15	35,01	18,04	39,26
	45,35	-9,49	21,07	20,35
	57,72	51,85	29,49	40,02
	15,10	24,04	50,16	8,61

5 Los datos en las tablas 6 y 7 demuestran que el compuesto del ejemplo 1A puede revertir el déficit de apertura motores sensoriales inducidos por el agonista Kappa (U-69593; tabla 6) y agonista Mu (morfina; tabla 7) en ratas. Estos datos respaldan el uso del compuesto del ejemplo 1A para tratar la esquizofrenia en pacientes.

REIVINDICACIONES

1. 3-Fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 5 2. Un compuesto como se reivindica en la Reivindicación 1 que es (S)-3-Fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en la terapia.
5. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento del trastorno por el uso de etanol.
6. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento de:
- 15 a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático; o
- b) una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar; o
- c) un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- d) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a); o
- 20 e) trastorno por el uso de etanol y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- f) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a) y una enfermedad depresiva seleccionada de b); o
- g) esquizofrenia; o
- h) trastorno por el uso de etanol y esquizofrenia
- 25 7. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria seleccionado de amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina y (+)-trimipramina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 30 8. (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un inhibidor de recaptación de norepinefrina tricíclica de amina terciaria seleccionado de amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina y (+)-trimipramina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento de:
- a) trastorno por el uso de etanol, o
- 35 b) una enfermedad depresiva seleccionada de depresión mayor, distimia y trastorno bipolar, o
- c) trastorno por el uso de etanol y una enfermedad depresiva seleccionada de b).
9. Un compuesto (S)-3-fluoro-4-[4-[2-(3,5-dimetilfenil)pirrolidin-1-il-metil]fenoxi]benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un agente ansiolítico de benzodiazepina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento de:
- 40 a) un trastorno de ansiedad seleccionado de trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, fobia específica y trastorno de estrés post-traumático, o
- b) trastorno por el uso de etanol y un trastorno de ansiedad seleccionado de a).
10. El compuesto de la reivindicación 9 en donde el agente ansiolítico es clordiazepóxido.