

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 247**

51 Int. Cl.:

**C07D 211/22** (2006.01)

**A61K 31/4409** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2009 E 09752988 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2012 EP 2358676**

54 Título: **Forma cristalina de un compuesto 4-[2-(2-fluorofenoximetil)fenil]piperidina**

30 Prioridad:

**14.11.2008 US 114541 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**05.03.2013**

73 Titular/es:

**THERAVANCE, INC. (100.0%)  
901 Gateway Boulevard  
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**PATTERSON, LORI JEAN;  
CHAO, ROBERT y  
RAPTA, MIROSLAV**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 397 247 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**

Forma cristalina de un compuesto 4-[2-(2-fluorofenoximetil)fenil]piperidina

5 Antecedentes de la invención

Área de la invención

10 La presente invención está relacionada con una nueva forma cristalina de un compuesto 4-[2-(2-fluorofenoximetil)fenil]piperidina, que posee actividad como inhibidor de la recaptación de serotonina (5-HT) y norepinefrina (NE). Esta invención también está relacionada con composiciones farmacéuticas que comprenden la forma cristalina.

15 Se describen los procesos e intermediarios para la preparación de la forma cristalina, y los métodos para la utilización de tales compuestos en el tratamiento de un trastorno doloroso, como el dolor neuropático, y otros alimentos.

Estado de la materia

20 El dolor es una sensación desagradable y una experiencia emocional asociada con el daño en los tejidos, ya sea real o potencial, o descrito en términos de dicho daño (terminología del dolor de la International Association for the Study of Pain (IASP)). El dolor crónico persiste más allá del dolor agudo o más allá del tiempo previsto de curación de una herida (American Pain Society. "Pain Control in the Primary Care Setting." 2006:15). El dolor neuropático es un dolor que se inicia o causado por una lesión o disfunción primaria en el sistema nervioso. El dolor periférico neuropático ocurre cuando la lesión o disfunción afecta el sistema nervioso periférico y el dolor neuropático central cuando la lesión o disfunción afecta el sistema nervioso central (IASP).

30 Actualmente se utilizan varios tipos de agentes terapéuticos para tratar el dolor neuropático, lo que incluye por ejemplo, antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina, ligandos de los canales de calcio (por ejemplo, gabapentina y pregabalina), lidocaína tópica y agonistas opioides (por ejemplo, morfina, oxicodona, metadona, levorfanol y tramadol).

La WO 2004/087155 describe ciertos inhibidores de la recaptación de norepinefrina y sales de los mismos.

35 La 4-[2-(2-fluorofenoximetil)fenil]piperidina, descrita aquí, inhibe la recaptación de la serotonina y de la norepinefrina mediante la unión a los transportadores de la serotonina y de la norepinefrina. Cuando se preparan compuestos para el almacenamiento a largo plazo y cuando se preparan composiciones y formulaciones farmacéuticas, a menudo es deseable tener una forma cristalina del agente terapéutico que no es ni higroscópico ni deliquescente. También es una ventaja tener una forma cristalina que posea un punto de fusión relativamente alto (es decir, superior a alrededor de 150°C), que permite procesar al material, por ejemplo, micronización sin una descomposición significativa. Por lo tanto, existe una necesidad de una forma estable, no deliquescente de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina que posee un nivel aceptable de higroscopicidad y un punto de fusión relativamente alto.

Resumen de la invención

45 La presente invención está relacionada con una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina.

50 Un aspecto de la invención está relacionado con procesos para preparar una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina. En una realización, un proceso para preparar una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina comprende los pasos de: a) tratar una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina con acetato de etilo y etanol hasta completar la disolución; b) enfriar para realizar la cristalización; c) aislar los sólidos resultantes para proporcionar la sal de clorhidrato cristalina de la invención. En otra realización, esta sal de clorhidrato cristalina de se d) trata además con isopropanol y agua hasta completar la disolución; e) enfriar para realizar la cristalización; y f) aislar los sólidos resultantes para proporcionar la sal de clorhidrato cristalina de la invención.

60 Otro aspecto de la invención está relacionado con un proceso para purificar 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina. En una realización, este proceso comprende la formación de una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-fluorofenoximetil)fenil]piperidina.

65 Un aspecto de la invención está relacionado con una composición farmacéutica que comprende un transportador farmacéuticamente aceptable y una sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina. Dichas composiciones pueden contener opcionalmente otros agentes activos como agentes contra el Alzheimer, anticonvulsivos, antidepresivos, agentes contra el Parkinson, inhibidores duales de la recaptación de serotonina-norepinefrina, agentes antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la recaptación de la norepinefrina, agonistas

opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de los mismos. De acuerdo con esto, en aún otro aspecto de la invención, una composición farmacéutica comprende la sal cristalina de la invención, un segundo agente activo, y un transportador farmacéuticamente aceptable. Otro aspecto de la invención está relacionado con una combinación de agentes activos, que comprende la sal cristalina de la invención y un segundo agente activo. La sal cristalina de la invención puede formularse junto o de forma separada de uno o varios agentes adicionales. Cuando se formula de forma separada, puede incluirse un transportador farmacéuticamente aceptable con los agentes adicionales. Así, otro aspecto de la invención está relacionada con una combinación de composiciones farmacéuticas, la combinación comprende: una primera composición farmacéutica comprende la sal cristalina de la invención y un primer transportador farmacéuticamente aceptable; y una segunda composición farmacéutica que comprende un segundo agente activo y un segundo transportador farmacéuticamente aceptable. La invención puede utilizarse en forma de un equipo que contiene dichas composiciones farmacéuticas, por ejemplo en la que la primera y segunda composición farmacéutica son composiciones farmacéuticas separadas.

4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina posee actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina y actividad inhibitoria de la recaptación de norepinefrina. La sal de clorhidrato cristalina de este compuesto se espera que tenga la misma actividad y por lo tanto la misma utilidad que un agente terapéutico para el tratamiento de pacientes que sufren de una enfermedad o trastorno que es tratado por la inhibición de la serotonina y/o el transportador de norepinefrina. Así, la invención encuentra utilidad en un método de tratamiento de: un trastorno de dolor, como dolor neuropático o fibromialgia, trastorno depresivo, tales como depresión mayor; un trastorno afectivo, tal como un trastorno de ansiedad; trastorno por déficit de atención con hiperactividad, un trastorno cognitivo tal como la demencia; incontinencia urinaria por estrés, síndrome de fatiga crónica, obesidad, o los síntomas vasomotores asociados con la menopausia, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención.

Otro aspecto de la invención se refiere al compuesto cristalino de la invención para utilizar en terapia. Puede ser utilizado en la fabricación de medicamentos, especialmente para la fabricación de medicamentos útiles para el tratamiento de trastornos de dolor, trastornos depresivos, trastornos afectivos, trastorno por déficit de atención con hiperactividad, trastornos cognitivos, incontinencia urinaria por estrés, para la inhibición de la recaptación de serotonina en un mamífero, o para la inhibición de la recaptación de norepinefrina en un mamífero. Otros aspectos y realizaciones de la invención se describen en el presente documento.

#### Breve descripción de las figuras

Varios aspectos de la presente invención se ilustran mediante referencia a los dibujos adjuntos.

La figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos x de polvo (PXRD) de la sal cristalina de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina. La figura. 2 muestra un termógrafo de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y un análisis termogravimétrico de trazas (TGA). La figura. 3 muestra un perfil de dinámica de absorción de humedad (DMS). La figura. 4 es una imagen micrográfica. La figura. 5 es una imagen microscópica de una unidad de cristal.

#### Descripción detallada de la invención

Esta invención proporciona una sal cristalina de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina. Sorprendentemente, este compuesto cristalino se ha encontrado que no es deliquescente, incluso cuando se expone a la humedad atmosférica. Además, este compuesto cristalino tiene un nivel aceptable de higroscopicidad y un punto de fusión alto.

El cristal único de la molécula de fármaco presenta una simetría monoclinica (grupo espacial  $P2_1C$ ), con los siguientes parámetros de celda unidad:  $A = C = 90^\circ$ ,  $B = 104,595^\circ$ ;  $a = 11,631 \text{ \AA}$ ,  $b = 7,057 \text{ \AA}$ ,  $c = 42,532 \text{ \AA}$ . Aunque no se desea estar limitado por la teoría, basándose en los datos de la cristalografía de rayos X, el cristal se cree que está construido alrededor de la molécula de agua y el contenido de agua se determina a partir del factor de ocupación del agua en la celda unitaria utilizando los parámetros de movimiento térmico de los átomos y en los factores generales de estructura observados.

Así, en una realización, la sal cristalina de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina puede contener una cierta cantidad de agua que se absorbe en la superficie del material cristalino o forma parte de la estructura cristalina.

En una realización particular, la sal de clorhidrato cristalina puede contener una cantidad de agua que varía de aproximadamente 0,2% en peso a aproximadamente 0,8% en peso que se absorbe en la superficie del cristal, y en otra realización entre aproximadamente 0,4% en peso hasta aproximadamente 0,6% en peso.

En otra realización particular, la sal del clorhidrato cristalino puede contener aproximadamente de 0,25 a aproximadamente 0,50 moles de agua que forma parte de la estructura cristalina, y en otra realización entre

aproximadamente 0,30 a aproximadamente 0,40 moles. En una realización ejemplar, hay alrededor de 0,32 moles de agua presentes por cada mol de la sal de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina.

#### Definiciones

5 Cuando se describen los compuestos, composiciones, métodos y procesos de la invención, los siguientes términos poseen los siguientes significados a no ser que se indique de otro modo. Adicionalmente, como se utiliza aquí, la formas singulares "el, la" y "un, una" incluyen las correspondientes formas plurales a no ser que el contexto en el que se utilicen claramente dicte lo contrario. Los términos "que comprende", "que incluye," y "posee" pretenden ser  
10 inclusivos y significan que pueden haber otros elementos adicionales distintos a los que elementos indicados. Todos los números que expresan cantidades de ingredientes, las propiedades como el peso molecular, las condiciones de reacción, y otros que se utilizan aquí, debe entenderse que se modifican en todos los ejemplos por el término "alrededor de", a no ser que se indique de otro modo. De acuerdo con ello, los números que aquí se indican son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretende obtener mediante la  
15 presente invención. Al menos, y sin pretender limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, por lo menos debe interpretarse cada número teniendo en cuenta los dígitos significativos indicados y aplicar las técnicas de redondeo habituales.

20 Como se utiliza aquí, la frase "de fórmula", "con la fórmula" o "con la estructura" no pretende ser limitante y se utiliza del mismo modo en el que el término "que comprende" se utiliza habitualmente.

EL término "punto de fusión" tal como se utiliza aquí indica la temperatura en la que se observa el máximo flujo de calor endotérmico mediante calorimetría de barrido diferencial, para la transición térmica que corresponde al cambio de fase sólido a líquido.

25 El término "aceptable a nivel farmacéutico" se refiere a un material que no es inaceptable ni a nivel biológico ni de otro modo cuando se utiliza en la invención. Por ejemplo, el término "transportador aceptable a nivel farmacéutico" se refiere a un material que puede incorporarse en una composición y administrarse a un paciente sin causarle efectos biológicos inaceptable o interaccionar de una forma inaceptable con otros componentes de la composición. Tales materiales aceptables a nivel farmacéutico normalmente cumplen los estándares necesarios de las pruebas  
30 toxicológicas y de elaboración, e incluyen aquellos materiales identificados ingredientes inactivos adecuados por la Food and Drug Administration estadounidense.

El término "cantidad efectiva a nivel terapéutico" significa una cantidad suficiente para un tratamiento efectivo cuando se administra a un paciente en necesidad del mismo, es decir, la cantidad de fármaco necesaria para obtener el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, una cantidad efectiva a nivel terapéutico para el tratamiento del dolor neuropático es una cantidad de compuesto necesaria para, por ejemplo, reducir, suprimir, eliminar o prevenir los síntomas del dolor neuropático o para tratar la causa subyacente del dolor neuropático. Por otro lado, el término "cantidad efectiva" significa una cantidad suficiente para obtener el resultado deseado, que no necesariamente debe ser un resultado terapéutico. Por ejemplo, cuando se estudia un sistema que comprende un transportador de norepinefrina, una "cantidad efectiva" puede ser la cantidad necesaria para inhibir la recaptación de la norepinefrina.

El término "tratar" o "tratamiento" como se utiliza aquí, significa la forma de tratar o el tratamiento de una enfermedad o estado médico (como el dolor neuropático) en un paciente, como un mamífero (en particular un humano), que incluye uno o más de los siguientes pasos: (a) evitar la aparición de la enfermedad o estado médico, es decir, el tratamiento profiláctico de un paciente; (b) mejorar la enfermedad o estado médico, es decir, eliminar o causar la regresión de la enfermedad o estado médico en un paciente; (c) suprimir la enfermedad o estado médico, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de la enfermedad o estado médico en un paciente; o (d) aliviar los síntomas de la enfermedad o estado médico en un paciente. Por ejemplo, el término "el tratamiento de dolor neuropático" incluiría la prevención de la aparición de dolor neuropático, la mejora del dolor neuropático, la supresión del dolor neuropático, y el alivio de los síntomas del dolor neuropático. El término "paciente" pretende incluir aquellos mamíferos, como los humanos, que tienen necesidad de tratamiento o de prevención de una enfermedad, que actualmente están siendo tratados para la prevención de una enfermedad o el tratamiento de una enfermedad o estado médico específico, así como los sujetos de prueba en los que tales compuestos de la invención se están evaluando o se están utilizando en un ensayo, por ejemplo un modelo animal.

55 Todos los otros términos utilizados en el presente documento se pretende que tengan su significado ordinario como es entendido por los expertos en la técnica a la que pertenecen.

60 El compuesto cristalino de la invención se puede sintetizar a partir de materiales de partida fácilmente disponibles como se describe a continuación y en los Ejemplos. Se apreciará que donde las condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, proporciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.) se dan, otras condiciones del proceso también se pueden utilizar a menos que se indique lo contrario. Se apreciará que mientras que las condiciones específicas de proceso (es decir, temperaturas de cristalización, tiempos, proporciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.) se dan, otras condiciones del proceso también se puede utilizar a menos que se indique lo contrario. En algunos casos, las reacciones o cristalizaciones se

llevaron a cabo a temperatura ambiente y no se tomó ninguna medición de la temperatura real. Se entiende que la temperatura ambiente puede tomarse para significar una temperatura dentro del intervalo comúnmente asociado con la temperatura ambiente en un entorno de laboratorio, y típicamente estará en el intervalo de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 50 °C. En otros casos, las reacciones o cristalizaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente y la temperatura se midió y registró realmente.

Generalmente, la cristalización se lleva a cabo en un adecuado sistema de diluyente o disolvente inerte, ejemplos de los cuales incluyen, pero no se limitan a, metanol, etanol, isopropanol, isobutanol, acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano, éter metil-t-butilo, y similares, y mezclas de los mismos, que contienen opcionalmente agua. Una vez completada la cristalización, el compuesto cristalino se puede aislar de la mezcla de reacción mediante cualquier medio convencional tal como precipitación, concentración, centrifugación y similares.

La 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina empleada en la invención se pueden preparar fácilmente a partir de materiales de partida comercialmente disponibles y reactivos mediante los procedimientos descritos en los Ejemplos. Las relaciones molares descritas en los métodos de la invención se pueden determinar fácilmente por diversos métodos disponibles para los expertos en la técnica. Por ejemplo, tales relaciones molares se pueden determinar fácilmente mediante RMN <sup>1</sup>H. Alternativamente, los métodos de análisis elemental y HPLC se pueden utilizar para determinar la relación molar.

En general, el compuesto cristalino de la invención se puede preparar mediante el tratamiento de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina con un diluyente inerte para completar la disolución. Los diluyentes inertes adecuados incluyen, a modo de ilustración y sin limitación, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, metil etil cetona, metanol, etanol, isopropanol, agua, etc. Otros diluyentes inertes adecuados se incluyen a modo de ilustración y sin limitación, las combinaciones de diluyentes inertes tales como acetona con agua, acetonitrilo con agua, etanol y acetato de etilo, metanol y agua, e isopropanol y agua. En una realización particular, el diluyente inerte es acetato de etilo o una combinación de isopropanol con agua. Generalmente, la disolución se lleva a cabo a una temperatura que varía desde aproximadamente 50 ° C a aproximadamente 90 ° C, en una realización a una temperatura que varía entre aproximadamente 60-80 ° C, y en otra realización a una temperatura en un rango de aproximadamente 65-75 ° C. La solución se enfría a continuación para formar el compuesto cristalino de la invención. En una realización particular, la solución se enfría a aproximadamente 20-30 ° C, tal como 25 ° C. Después de una cantidad adecuada de tiempo, se observaron los cristales. En una realización, los cristales se observaron después de un período de aproximadamente 1 hora. Después de observar los cristales, el volumen del licor madre se puede reducir y aislar y secar los cristales. En una realización, una vez que se observan cristales, los cristales se dejan desarrollar durante un período de aproximadamente 12-24 horas antes de su aislamiento.

En una realización, el compuesto cristalino de la invención se prepara mediante tratamiento de la sal de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina con acetato de etilo y etanol para completar la disolución y enfriamiento para efectuar la cristalización. Los cristales se aíslan entonces para proporcionar una sal cristalina de clorhidrato que tiene una pureza normalmente superior al 99%. Normalmente, este proceso puede llevarse a cabo en cualquiera de los rangos de temperatura mencionados anteriormente. Por ejemplo, la disolución se puede hacer a aproximadamente 65-70 °C, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente.

La misma forma cristalina se puede preparar con una pureza ligeramente mayor y mejores propiedades higroscópicas mediante recristalización. Así, en otra realización, la sal del clorhidrato cristalina preparada usando acetato de etilo y etanol se recristaliza con isopropanol y agua, es decir, se trata con isopropanol y agua para completar la disolución y se enfría para efectuar la cristalización. Los sólidos resultantes se pueden aislar y secar para proporcionar el compuesto cristalino de la invención. Normalmente, este proceso puede llevarse a cabo en cualquiera de los rangos de temperatura mencionados anteriormente. Por ejemplo, la disolución se puede hacer a aproximadamente 75 °C, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente. La relación en volumen de isopropanol con agua estará normalmente en el intervalo de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 21:1, por ejemplo, en una realización alrededor de 10:1, y en otra realización en aproximadamente 20:1.

El material de partida de sal de clorhidrato puede prepararse mediante técnicas que son bien conocidas en la técnica, y se proporcionan ejemplos en los Ejemplos de este documento. Por ejemplo, 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina -1-carboxilato de t-butilo se puede desproteger usando ácido clorhídrico en etanol, para proporcionar la sal de clorhidrato.

#### Propiedades cristalinas

Entre otras ventajas, se ha descubierto que la formación de una sal cristalina de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina, es útil para purificar el compuesto en sí. Por ejemplo, la sal del clorhidrato cristalino de la invención tiene una pureza mayor del 99,0%.

Como es bien conocido en el campo de la difracción de rayos X en polvo, las alturas relativas de los picos de los espectros de PXRD dependen de un número de factores relacionados con la preparación de la muestra y la geometría del instrumento, mientras que las posiciones de los picos son relativamente insensibles a detalles

experimentales. Se obtuvo un patrón de PXRD tal como se expone en el Ejemplo 4. Así, en una realización, el compuesto cristalino de la invención se caracteriza por un patrón de PXRD que tiene ciertas posiciones de pico.

- 5 El compuesto cristalino se caracteriza por un patrón de PXRD en el que las posiciones de los picos están sustancialmente de acuerdo con aquellas mostradas en la figura. 1. Estos picos se enumeran a continuación, en orden descendente de intensidad relativa. Todas las intensidades de los picos de PXRD se corrigieron restando la intensidad de fondo correspondiente para cada pico.

I%	2-Theta		I%	2-Theta
100	17,16		30	27,24
66	16,06		26	29,60
55	10,22		16	4,44
51	26,32		24	31,94
43	18,38		19	23,76
33	21,78		22	8,11
32	13,18			

- 10 Así, en una realización, el compuesto cristalino se caracteriza por una difracción de rayos X en polvo (PXRD) que comprende picos de difracción a valores de  $2\theta$  de  $4,44\pm 0,20$ ,  $10,22\pm 0,20$ ,  $17,16\pm 0,20$  y  $21,78\pm 0,20$ , y caracterizado además por que tiene uno o más picos de difracción adicionales a valores  $2\theta$  seleccionados de  $8,11\pm 0,20$ ,  $13,18\pm 0,20$ ,  $16,06\pm 0,20$ ,  $18,38\pm 0,20$ ,  $23,76\pm 0,20$ ,  $26,32\pm 0,20$ ,  $27,24\pm 0,20$ ,  $29,60\pm 0,20$ , y  $31,94\pm 0,20$ .
- 15 Un análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC) se obtuvo tal como se expone en el Ejemplo 5. Así, en una realización, el compuesto cristalino se caracteriza por su termógrafo DSC. En una realización, el compuesto cristalino se caracteriza por un termógrafo de DSC que muestra un punto de fusión de aproximadamente  $196,9\text{ }^\circ\text{C}$ , sin una descomposición térmica significativa por debajo de aproximadamente  $200,0\text{ }^\circ\text{C}$ , como se ve en la figura. 2.
- 20 El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó en el compuesto cristalino tal como se describe en el Ejemplo 5. Así, en una realización, el compuesto cristalino se caracteriza por su TGA de trazas. En una realización, el compuesto cristalino se caracteriza por una TGA de trazas que muestra una pérdida de disolventes y / o agua (aproximadamente 0,5%) a temperaturas por debajo de aproximadamente  $150,0\text{ }^\circ\text{C}$ , como se ve en la figura. 2.
- 25 El compuesto cristalino de la invención ha demostrado que tiene un perfil reversible de absorción / desorción con niveles aceptables de higroscopicidad. Por ejemplo, el compuesto cristalino no tiene o tiene una mínima propensión a la higroscopicidad, y ha presentado menos de aproximadamente 2,0% de aumento de peso cuando se expone a un máximo de 90% de humedad relativa, como se ve en la figura. 3.
- 30 Estas propiedades del compuesto cristalino de la invención se ilustran adicionalmente en los siguientes Ejemplos.

#### Utilidad

- 35 4-[2-(2,4,6- trifluorofenoximetil)fenil]piperidina posee actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina y de la norepinefrina. Por lo tanto, es esperable que este compuesto, así como el compuesto cristalino de la invención, posean una utilidad terapéutica como inhibidores combinados de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI).

- 40 La constante de inhibición ( $K_i$ ) de un compuesto es la concentración de ligando que compite en un ensayo de competición que ocuparía un 50% de los transportadores si no estuviera presente el radioligando. Los valores de  $K_i$  pueden determinarse a partir de los estudios de unión competitiva de radioligandos con  $^3\text{H}$ -nisoxetina (para el transportador de norepinefrina, NET) y  $^3\text{H}$ -citalopram (para el transportador de serotonina, SERT), como se describe en el Ensayo 1. Estos valores de  $K_i$  se derivan de los valores de  $\text{CI}_{50}$  en el ensayo de unión utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff y la  $K_d$  del radioligando (Cheng & Prusoff (1973) Biochem. Pharmacol. 22(23): 3099-3108). Los
- 45 valores de  $\text{CI}_{50}$  funcionales pueden determinarse en los ensayos de inhibición funcional de la recaptación descritos en el Ensayo 2. Estos valores de  $\text{CI}_{50}$  pueden convertirse en valores de  $K_i$  utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff y la  $K_m$  del transmisor de ese transportador. Debe hacerse notar que aunque las condiciones del ensayo de recaptación descritas en el Ensayo 2 son tales que los valores de  $\text{CI}_{50}$  son muy similares a los valores de  $K_i$ , sería deseable una conversión matemática, ya que la concentración de neurotransmisor (5-HT o NE) utilizada en el
- 50 ensayo está muy por debajo de su  $K_m$  para el transportador respectivo.

- Ejemplos de ensayos para la determinación de la actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina y/o de norepinefrina del compuesto cristalino de la invención incluyen, a modo de ilustración y no como limitación, los ensayos que miden la unión a SERT y NET, por ejemplo, como se describe en el Ensayo 1. Además, es útil
- 55 entender el nivel de unión a DAT y la recaptación en un ensayo como el que se describe en el Ensayo 1. Otros ensayos secundarios útiles incluyen los ensayos de recaptación de neurotransmisor para medir la inhibición competitiva de la recaptación de serotonina y norepinefrina en células que expresan el respectivo transportador

recombinante de humano o de rata (hSERT, hNET o hDAT) como se describe en el Ensayo 2, y los ensayos de recaptación de neurotransmisor y de unión de radioligando ex vivo que se utilizan para determinar la ocupación in vivo de SERT, NET y DAT en tejidos, como se describe en el Ensayo 3. Otros ensayos que son útiles para evaluar las propiedades farmacológicas de los compuestos de prueba incluyen aquellos que se indican en el Ensayo 4. Ejemplos de ensayos in vivo incluyen la prueba de la pata en formalina descrito en el Ensayo 5, que es un predictor de confianza de la eficacia clínica del tratamiento del dolor neuropático, y el modelo de ligación del nervio espinal descrito en el Ensayo 6. Los ensayos anteriormente mencionados son útiles para determinar la utilidad terapéutica, por ejemplo la actividad aliviando el dolor neuropático, del compuesto cristalino de la invención. Otras propiedades y utilidades del compuesto cristalino de la invención puede demostrarse utilizando varios ensayos in vitro e in vivo bien conocidos para los expertos en la materia.

Es esperable que el compuesto cristalino de la invención sea útil para el tratamiento y/o la prevención de condiciones médicas en las que la regulación de la función del transportador de monoaminas esté implicada, en particular aquellas condiciones mediadas o que responden a la inhibición de la recaptación de la serotonina y de la norepinefrina. Por lo tanto, es esperable que los pacientes que sufren una enfermedad o trastorno que se trata mediante la inhibición del transportador de la serotonina y/o de la norepinefrina puedan tratarse administrando una cantidad efectiva a nivel terapéutico de un compuesto cristalino de la invención. Tales condiciones médicas incluyen, a modo de ejemplo: trastornos dolorosos como el dolor neuropático, fibromialgia y dolor crónico, trastornos depresivos como la depresión severa, trastornos afectivos como el trastorno de ansiedad; trastorno de hiperactividad con déficit de atención, trastornos cognitivos como la demencia e incontinencia urinaria por estrés.

La cantidad de agente activo administrado por dosis o la cantidad total diaria administrada puede predeterminarse o puede determinarse en base a una paciente concreto teniendo en cuenta numerosos factores, lo que incluye la naturaleza y gravedad del estado del paciente, el trastorno a tratar, la edad, peso y estado de salud general del paciente, la tolerancia del paciente al agente activo, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas como los perfiles de actividad, eficacia, farmacocinética y toxicología del agente activo y cualquier agente secundario que se vaya a administrar, y similares. El tratamiento de un paciente que sufre una enfermedad o estado médico (como el dolor neuropático) puede iniciarse con una dosificación predeterminada o una dosis determinada por el facultativo responsable del tratamiento, y continuará durante el periodo de tiempo necesario para evitar, reducir, suprimir o aliviar los síntomas de la enfermedad o estado médico. Los pacientes que se sometan a dicho tratamiento normalmente se monitorizarán en base a una rutina para determinar la efectividad de la terapia. Por ejemplo, en el tratamiento de dolor neuropático, una medida de la efectividad del tratamiento puede involucrar la valoración de la calidad de vida del paciente, por ejemplo, las mejoras en el patrón de sueño del paciente, asistencia al trabajo, capacidad de hacer ejercicio y estar ambulatorio, etc. También pueden utilizarse escalas de dolor, que operan en base a puntos, para evaluar el nivel de dolor de un paciente. Los indicadores para el resto de enfermedades y estados aquí descritos son bien conocidos para los expertos en la materia, y estarán fácilmente disponibles para el facultativo al cargo del tratamiento. La monitorización continua del facultativo asegurará que se está administrando la cantidad óptima de agente activo en cualquier momento dado, así como facilitará la determinación de la duración del tratamiento. Esto es de particular importancia cuando también se están administrando otros agentes secundarios, ya que su selección, dosificación y duración de la terapia también puede requerir ajustes. De este modo, el régimen de tratamiento y el programa de dosificación puede ajustarse a lo largo del curso de la terapia de manera se administre la menor cantidad de agente activo que muestre la efectividad deseada y, además, que se mantenga la administración sólo durante el tiempo necesario para tratar de forma exitosa la enfermedad o estado médico.

#### 45 Trastornos dolorosos

Se ha demostrado que los SNRI poseen un efecto beneficioso sobre el dolor, como la neuropatía diabética dolorosa (duloxetina, Goldstein et al. (2005) Pain 116:109-118; venlafaxina, Rowbotham et al. (2004) Pain 110:697-706), la fibromialgia (duloxetina, Russell et al. (2008) Pain 136(3):432-444; milnacipran, Vitton et al. (2004) Human Psychopharmacology 19: S27-S35), y la migraña (venlafaxina, Ozyalcin et al. (2005) Headache 45(2):144-152). Por lo tanto, una realización de la invención encuentra utilidad en un método para el tratamiento de un trastorno doloroso, que comprende la administración a un paciente de una cantidad efectiva a nivel terapéutico del compuesto cristalino de la invención. Normalmente, la cantidad efectiva a nivel terapéutico será la cantidad que es suficiente para aliviar el dolor. Ejemplos de trastornos dolorosos incluyen, a modo de ilustración, el dolor agudo, el dolor persistente, el dolor crónico, dolor inflamatorio y dolor neuropático. Más específicamente, estos incluyen el dolor asociado o causado por la artritis, dolor lumbar incluyendo el dolor lumbar crónico, cáncer, lo que incluye el dolor relacionado con el tumor (por ejemplo, dolor óseo, dolor de cabeza, dolor facial o dolor visceral) y el dolor asociado con la terapia del cáncer (por ejemplo, síndrome posterior a la quimioterapia, síndrome del dolor postquirúrgico crónico y síndrome posterior a la radiación), síndrome del túnel carpiano, fibromialgia, dolores de cabeza, incluyendo los dolores de cabeza por tensión crónicos, la inflamación asociada con la polimialgia, artritis reumatoide y osteoartritis, la migraña, el dolor neuropático, lo que incluye el síndrome del dolor regional complejo, dolor general, dolor postoperatorio, dolor en el hombro, síndromes de dolor central, lo que incluye el dolor posterior a una apoplejía y el dolor asociado con los traumatismos en la médula espinal y la esclerosis múltiple, el dolor del miembro fantasma, el dolor asociado con la enfermedad de Parkinson y el dolor visceral (por ejemplo, el síndrome del colon irritable). Es de particular interés el tratamiento del dolor neuropático, que incluye la neuropatía periférica diabética (DPN), neuropatía relacionada con el VIH, neuralgia postherpética (PHN) y la neuropatía periférica inducida por la

quimioterapia. Cuando se utiliza para tratar trastornos dolorosos como el dolor neuropático, los compuestos de la invención pueden administrarse en combinación con otros agentes terapéuticos, lo que incluye anticonvulsivos, antidepresivos, relajantes musculares, AINE, agonistas opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, bloqueantes de los canales de sodio y simpaticolíticos. Aquí se describen ejemplos de compuestos dentro de estas clases.

#### Trastornos depresivos

Otra forma de realización de la invención encuentra utilidad en el método de tratamiento de un trastorno depresivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Normalmente, la cantidad terapéuticamente efectiva será la cantidad que es suficiente para aliviar la depresión y proporcionar una sensación de bienestar general. Ejemplos de trastornos depresivos incluyen, a modo de ilustración pero sin limitación: depresión asociada con la enfermedad de Alzheimer, trastorno bipolar, cáncer, abuso infantil, infertilidad, enfermedad de Parkinson, infarto de miocardio y psicosis; distimia, síndrome del anciano gruñón o irritable, depresión inducida; depresión mayor, depresión pediátrica, depresión posmenopáusica, depresión post-parto, depresión recurrente, depresión de episodio único, y la depresión sintomática subsíndrome. Es de particular interés el tratamiento de la depresión mayor. Cuando se utilizan para tratar los trastornos depresivos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo antidepresivos e inhibidores duales de la recaptación de serotonina y norepinefrina. Se describen aquí compuestos ejemplares dentro de estas clases.

#### Trastornos afectivos

Otra forma de realización de la invención encuentra utilidad en el método de tratamiento de un trastorno afectivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Ejemplos de trastornos afectivos incluyen, a modo de ilustración y sin limitación: trastornos de la ansiedad tales como trastorno de ansiedad general, trastorno de personalidad por evitación; trastornos de la alimentación tales como anorexia nerviosa, bulimia nerviosa y obesidad, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de pánico, trastornos de la personalidad, tales como trastorno de personalidad por evitación y trastorno de déficit de atención con hiperactividad (TDAH), síndrome de estrés postraumático, fobias, como la agorafobia, así como otras fobias simples y específicas, y fobia social, síndrome premenstrual, trastornos psicóticos, como la esquizofrenia y la manía, trastorno afectivo estacional; disfunción sexual, incluyendo la eyaculación precoz, impotencia masculina, y disfunción sexual femenina como el trastorno de la excitación sexual femenina, trastorno de ansiedad social, trastornos de abuso de sustancias, incluidas las dependencias químicas como adicciones al alcohol, benzodiazepinas, cocaína, heroína, nicotina y fenobarbital, así como los síndromes de abstinencia que pueden surgir de estas dependencias. Cuando se usa para tratar los trastornos afectivos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo los antidepresivos. Se describen aquí compuestos ejemplares dentro de estas clases.

La atomoxetina, que es 10 veces más selectiva que NET, está aprobada para la terapia del trastorno de déficit de atención con hiperactividad (TDAH), y los estudios clínicos han demostrado que el IRSN, venlafaxina, puede también tener un efecto beneficioso en el tratamiento de el TDAH (Mukaddes et al. (. 2002) Eur. Neuropsychopharm. 12 (Supl. 3): 421). Por lo tanto, se espera también que el compuesto cristalino de la invención sea útil en métodos para el tratamiento del trastorno de déficit de atención con hiperactividad mediante la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención. Cuando se utiliza para tratar la depresión, los compuestos cristalinos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo los antidepresivos. Se describen aquí compuestos ejemplares dentro de estas clases.

#### Trastornos cognitivos

Otra realización de la invención encuentra utilidad en el método de tratamiento de un trastorno cognitivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención. Ejemplos de trastornos cognitivos incluyen, a modo de ilustración y sin limitación: demencia, que incluye la demencia degenerativa (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Greutzfeldt-Jakob, la corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, y la demencia senil), demencia vascular (por ejemplo, demencia por infartos múltiples), y la demencia asociada con lesiones que ocupan el espacio intracraneal, traumatismos, infecciones y condiciones relacionadas (incluida la infección por el VIH), metabolismo, toxinas, anoxia y deficiencia de vitaminas, y leve deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento, como el deterioro cognitivo de la memoria asociada con la edad, trastorno amnésico y descenso cognitivo relacionado con la edad. Cuando se usa para tratar trastornos cognitivos, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo agentes contra el Alzheimer y contra el Parkinson. Se describen aquí compuestos ejemplares dentro de estas clases.

#### Otros trastornos

Los IRSN también han demostrado ser eficaces para el tratamiento de la incontinencia urinaria por estrés



(Dmochowski (2003) *Journal of Urology* 170 (4): 1259-63). Así, otra realización de la invención encuentra utilidad en un método para el tratamiento de la incontinencia urinaria por estrés, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención. Cuando se utiliza para tratar la incontinencia urinaria por estrés, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo los anticonvulsivos. Se describen aquí compuestos ejemplares dentro de estas clases.

La duloxetine, un SNRI, se encuentra en ensayos clínicos para evaluar su eficacia en el tratamiento del síndrome de fatiga crónica, y recientemente han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la fibromialgia (Russell et al. (2008) *Pain* 136 (3):432-444). El compuesto cristalino de la invención, debido a su capacidad para inhibir SERT y NET, se espera que también tenga esta utilidad, y otra realización de la invención está relacionada con un método para el tratamiento del síndrome de fatiga crónica, que comprende la administración a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención.

La sibutramina, un inhibidor de la recaptación de dopamina y norepinefrina, ha demostrado ser útil en el tratamiento de la obesidad (Wirth et al. (2001) *JAMA* 286 (11):1331-1339). El compuesto cristalino de la invención, debido a su capacidad para inhibir NET, se espera también que tenga esta utilidad, y otra forma de realización de la invención está relacionada con un método para el tratamiento de la obesidad, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención.

La desvenlafaxina, un IRSN, ha demostrado aliviar los síntomas vasomotores asociados con la menopausia (Deecher et al. (2007) *Endocrinology* 148 (3):1376-1383). El compuesto cristalino de la invención, debido a su capacidad para inhibir la SERT y NET, se espera también que tenga esta utilidad, y otra forma de realización de la invención está relacionada con un método para el tratamiento de síntomas vasomotores asociados con la menopausia, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto cristalino de la invención.

#### Herramientas para la investigación

Ya que los compuestos de la invención poseen ambas actividades de inhibición de la recaptación de serotonina e inhibición de la recaptación de norepinefrina, este compuesto también es útil como herramienta de investigación para la investigación o el estudio de sistemas biológicos o muestras que tengan transportadores de serotonina o norepinefrina. Cualquier sistema o muestra biológica adecuado que tengan transportadores de serotonina y / o de norepinefrina pueden emplearse en dichos estudios que pueden llevarse a cabo tanto in vitro como in vivo. Sistemas biológicos o muestras representativos adecuados para tales estudios incluyen, pero no se limitan a, células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejidos, órganos aislados, mamíferos (tales como ratones, ratas, cobayas, conejos, perros, cerdos, seres humanos, y así sucesivamente), y similares, siendo los mamíferos de particular interés. Por ejemplo, la recaptación de serotonina en un mamífero está inhibida por la administración de una cantidad de un compuesto cristalino de la invención inhibidor de la recaptación de serotonina, o la recaptación de norepinefrina en un mamífero está inhibida por la administración de una cantidad de un compuesto cristalino de la invención inhibidor de la recaptación de norepinefrina. El compuesto cristalino de la invención también puede utilizarse como herramienta de investigación mediante la realización de ensayos biológicos usando dichos compuestos.

Cuando se utiliza como una herramienta de investigación, se pone en contacto normalmente un sistema biológico o muestra que comprende un transportador de serotonina y / o un transportador de norepinefrina con una cantidad de un compuesto cristalino de la invención inhibidor de la recaptación de serotonina o inhibidor de la recaptación de norepinefrina. Después de que el sistema biológico o muestra se exponga al compuesto, los efectos de la inhibición de la recaptación de serotonina y / o recaptación de norepinefrina se determinan utilizando procedimientos y equipo convencionales. La exposición abarca poner en contacto células o tejido con el compuesto, administrar el compuesto a un mamífero, por ejemplo mediante administración i.p. o por vía intravenosa, y así sucesivamente. Este paso de determinación puede comprender la medición de una respuesta, es decir, un análisis cuantitativo o puede comprender una observación, es decir, un análisis cualitativo. Medir una respuesta implica, por ejemplo, la determinación de los efectos del compuesto en el sistema biológico o muestra utilizando un equipo y procedimientos convencionales, tales como ensayos de recaptación de serotonina y norepinefrina. Los resultados del ensayo pueden utilizarse para determinar el nivel de actividad así como la cantidad de compuesto necesario para lograr el resultado deseado, es decir, una cantidad inhibidora de la recaptación de serotonina y una cantidad inhibidora de la recaptación de norepinefrina.

Además, el compuesto cristalino de la invención puede utilizarse como herramienta de investigación para la evaluación de otros compuestos químicos, y por lo tanto también son útiles en ensayos de selección para descubrir, por ejemplo, nuevos compuestos que tienen tanto la actividad inhibidora de la recaptación de serotonina como actividad inhibidora de la recaptación de norepinefrina. De esta manera, el compuesto cristalino de la invención se usa como estándar en un ensayo para permitir la comparación de los resultados obtenidos con un compuesto prueba y con el compuesto cristalino de la invención para identificar aquellos compuestos prueba que tienen una actividad inhibidora de la recaptación de serotonina aproximadamente igual o superior, si los hay. Por ejemplo, los

datos de recaptación para un compuesto prueba o un grupo de compuestos prueba se compara con los datos de la recaptación de un compuesto cristalino de la invención para identificar aquellos compuestos prueba que tienen las propiedades deseadas, por ejemplo, compuestos prueba que tienen la actividad de inhibición de la recaptación aproximadamente igual o superior a un compuesto cristalino de la invención, si la hay. Este aspecto de la invención incluye, como formas de realización separadas, tanto la generación de datos de comparación (usando los ensayos apropiados) y el análisis de los datos de prueba para identificar compuestos prueba de interés. Por lo tanto, un compuesto prueba se puede evaluar en un ensayo biológico, por un método que comprende los pasos de: (a) llevar a cabo un ensayo biológico con un compuesto prueba para proporcionar un primer valor de ensayo; (b) llevar a cabo el ensayo biológico con el compuesto cristalino de la invención para proporcionar un segundo valor de ensayo; en el que el paso (a) se lleva a cabo antes, después o simultáneamente al paso (b); y (c) comparar el primer valor del ensayo del paso (a) con el segundo valor de ensayo del paso (b). Los ejemplos de ensayos biológicos incluyen ensayos de recaptación de serotonina y norepinefrina.

#### Composiciones farmacéuticas y formulaciones

El compuesto cristalino de la invención se administra normalmente a un paciente en forma de una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al paciente mediante cualquier ruta aceptable de administración que incluye, pero no se limita a formas de administración oral, rectal, vaginal, nasal, inhalada, tópica (incluyendo transdérmica) y parenterales. No obstante, un experto en la materia entenderá que una vez formulado el compuesto cristalino de la invención, no volverá a estar en forma cristalina, es decir, se disolverá en un transportador adecuado. Además, el compuesto cristalino de la invención puede administrarse, por ejemplo por vía oral, en dosis múltiples por día (por ejemplo, dos veces, tres veces o cuatro veces al día), en una sola dosis diaria, en una dosis dos veces al día, en una sola dosis semanal, y así sucesivamente.

Por consiguiente, en una realización, la invención está relacionada con una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto cristalino de la invención. Las composiciones pueden contener otros agentes terapéuticos y / o agentes de formulación si se desea. Cuando se habla de composiciones, el "compuesto cristalino de la invención" puede también denominarse aquí como el "agente activo", para distinguirlo de otros componentes de la formulación, como el transportador.

Las composiciones farmacéuticas de la Invención normalmente contienen una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Los expertos en la materia reconocerán, sin embargo, que una composición farmacéutica puede contener más de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, composiciones de relleno, o menos de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para administración múltiple para lograr una cantidad terapéuticamente efectiva. Normalmente, la composición contendrá entre aproximadamente 0,01-95% en peso del agente activo, incluyendo, desde aproximadamente 0,01-30% en peso, tal como de aproximadamente 0,01-10% en peso, con la cantidad real dependiendo de la propia formulación, la ruta de administración, la frecuencia de dosificación, y así sucesivamente. En una realización, una composición adecuada para una forma de dosificación oral, por ejemplo, puede contener aproximadamente de 5 a 70% en peso, o desde aproximadamente 10 a 60% en peso de agente activo. En una realización ejemplar, una composición farmacéutica contiene aproximadamente de 1 a 20 mg de agente activo, incluyendo desde aproximadamente 1 a 15 mg de agente activo y aproximadamente de 1 a 10 mg de agente activo. En otra forma de realización ejemplar, una composición farmacéutica contiene aproximadamente de 5 a 20 mg de agente activo, incluyendo desde aproximadamente 7,5 a 15 mg de agente activo. Por ejemplo, el agente activo puede formularse en dosis unitarias de 1 mg y de 10 mg.

Cualquier transportador o excipiente convencional puede utilizarse en las composiciones farmacéuticas de la invención. La elección de un transportador o excipiente particular, o combinaciones de transportadores o excipientes, dependerá del modo de administración que se utilizará para tratar a un paciente particular o tipo de condición médica o estado de la enfermedad. En este sentido, la preparación de una composición adecuada para un modo particular de administración está dentro del alcance de los expertos en la materia farmacéutica. Además, los transportadores o excipientes utilizados en dichas composiciones están disponibles comercialmente. A modo de ilustración adicional, las técnicas de formulación convencional describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000), y H.C. Ansel et al, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Ejemplos representativos de materiales que pueden servir como transportadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitados a, los siguientes: azúcares, tales como lactosa, sacarosa y glucosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, tales como celulosa microcristalina, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar, agentes tamponantes, tales como hidróxido de aluminio e hidróxido de magnesio, ácido alginico; agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, soluciones de tampón fosfato; gases propelentes comprimidos, como clorofluorocarbonos e hidrofurocarbonos, y otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas se preparan normalmente mezclando fuertemente y a conciencia o fundiendo el agente activo con un transportador farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. La mezcla resultante uniformemente mezclada puede entonces darse forma o cargarse en comprimidos, cápsulas, píldoras, botes, cartuchos, dispensadores, y similares, utilizando procedimientos y equipo convencionales.

En una realización, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral. Un régimen de dosificación ejemplar sería una forma de dosificación oral administrada una vez o dos veces al día. Las composiciones adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, sellos, grageas, polvos, gránulos; soluciones o suspensiones en una solución líquida acuosa o no acuosa; emulsiones líquidas aceite-en-agua o agua-en-aceite; jarabes o elixires, y similares; conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del agente activo.

Cuando la composición se destina para administración oral en forma de dosificación sólida (es decir, como cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares), comprenderá típicamente el agente activo y uno o mas transportadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico. Las formas sólidas de dosificación pueden comprender también: agentes de relleno o extendedores, tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y / o ácido silícico; aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y / o acacia; humectantes, tales como glicerol, agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y / o carbonato de sodio, agentes retardantes de la solución, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternarios, agentes humectantes, tales como alcohol cetílico y / o monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y / o arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y / o mezclas de los mismos, agentes colorantes, y agentes de tamponamiento.

Agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden también estar presentes en las composiciones farmacéuticas. Ejemplos de agentes de revestimiento para comprimidos, cápsulas, píldoras y similares, incluyen los utilizados para revestimientos entéricos, tales como ftalato acetato de celulosa, ftalato acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico-metacrilato, trimelitato de acetato de celulosa, carboximetil etil celulosa, acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa, y similares. Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, sulfito de sodio, y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y agentes quelantes del metal, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetracético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las composiciones pueden también formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo utilizando, a modo de ejemplo, hidroxipropil metil celulosa en diversas proporciones u otras matrices poliméricas, liposomas y / o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener agentes opacificantes y pueden formularse de manera que liberen el principio activo sólo, o preferentemente, en una porción determinada del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones embebidas que pueden utilizarse incluyen ceras y sustancias poliméricas. El agente activo puede también estar en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes anteriormente descritos.

Las formas adecuadas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, a modo de ilustración, emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Las formas farmacéuticas líquidas comprenden típicamente el agente activo y un diluyente inerte, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3- butilenglicol, aceites (por ejemplo, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva ,de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de de los mismos. Las suspensiones pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

Cuando se destinan para la administración oral, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden envasar en forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para la dosificación a un paciente, es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado ya sea solo o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, tales formas de dosificación unitarias pueden ser cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares.

En otra realización, las composiciones de la invención son adecuadas para la administración por inhalación, y será típicamente en forma de un polvo o aerosol. Dichas composiciones se administran generalmente utilizando

dispositivos de liberación bien conocidos, tales como un nebulizador, polvo seco, o inhalador de dosis medida. Los dispositivos nebulizadores producen un flujo de aire de alta velocidad que hace que la composición se pulverice como una niebla que es transportada al tracto respiratorio de un paciente. Un ejemplo de formulación en forma de nebulizador comprende el agente activo disuelto en un vehículo para formar una solución, o micronizado y combinado con un vehículo para formar una suspensión de partículas micronizadas de tamaño respirable. Los inhaladores de polvo seco administran el agente activo como un polvo que fluye libremente que se dispersa en una corriente de aire durante la inspiración del paciente. Un ejemplo de formulación de polvo seco comprende el agente activo mezclado en seco con un excipiente tal como lactosa, almidón, manitol, dextrosa, ácido poliláctico, poliláctido-co-glicólido, y combinaciones de los mismos. Los inhaladores de dosis medidas descargan una cantidad medida del agente activo utilizando gas comprimido propelente. Un ejemplo de formulación de un inhalador de dosis medida comprende una suspensión o solución del agente activo en un propelente licuado, como un clorofluorocarbono o hidrofluoroalcano. Los componentes opcionales de dichas formulaciones incluyen co-solventes, tales como etanol o pentano, y tensioactivos, como trioleato de sorbitán, ácido oleico, lecitina, y glicerina. Dichas composiciones se preparan típicamente añadiendo hidrofluoroalcano enfriado o presurizado a un recipiente adecuado que contiene el agente activo, etanol (si está presente) y el tensioactivo (si está presente). Para preparar una suspensión, el agente activo es micronizado y entonces combinado con el propelente. Alternativamente, una formulación de suspensión se puede preparar secando por pulverización un revestimiento de tensioactivo sobre partículas micronizadas del agente activo. La formulación se carga entonces en un bote de aerosol, que forma una porción del inhalador.

El compuesto cristalino de la invención puede también administrarse parenteralmente (por ejemplo, por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, o intraperitoneal). Para dicha administración, el agente activo se proporciona en una solución estéril, suspensión, o emulsión. Ejemplos de disolventes para la preparación de dichas formulaciones incluyen agua, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular, tales como propilenglicol, polietilenglicol, aceites, ésteres de gelatina, ácidos grasos tales como oleato de etilo, y similares. Una típica formulación parenteral es una solución acuosa estéril a pH 4-7 del agente activo. Las formulaciones parenterales pueden contener también uno o más solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. Estas formulaciones pueden mantenerse estériles mediante el uso de un medio inyectable estéril, un agente de esterilización, filtración, irradiación, o calor.

El compuesto cristalino de la invención puede administrarse por vía transdérmica utilizando también sistemas de liberación transdérmica y excipientes. Por ejemplo, el compuesto se puede mezclar con potenciadores de la permeación, tales como propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, azacicloalcan-2-onas, y similares, e incorporados en un parche o sistema de administración similar. Pueden utilizarse excipientes adicionales, incluyendo agentes gelificantes, emulsionantes y tampones, en tales composiciones transdérmicas si se desea.

Si se desea, el compuesto cristalino de la invención puede administrarse en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos. Así, en una realización, las composiciones de la invención pueden contener opcionalmente otros fármacos que se administran conjuntamente con un compuesto de la invención. Por ejemplo, la composición puede comprender además uno o más fármacos (también referidos como "agentes secundarios") seleccionados del grupo de agentes contra el Alzheimer, anticonvulsivos (antiepilépticos), antidepresivos, agentes contra el Parkinson, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE), inhibidores de la recaptación de norepinefrina, agonistas de opioides (analgésicos opioides), antagonistas de opioides, inhibidores selectivos de recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de los mismos. Numerosos ejemplos de tales agentes terapéuticos son bien conocidos en la materia, y se describen ejemplos en el presente documento. Mediante la combinación del compuesto cristalino de la invención con un agente secundario, se puede lograr la terapia triple, es decir, actividad inhibitoria de la recaptación de serotonina, actividad inhibitoria de la recaptación de norepinefrina, y actividad asociada con el agente secundario (por ejemplo, actividad antidepresiva), utilizando sólo dos componentes activos. Ya que las composiciones farmacéuticas que contienen dos componentes activos son típicamente más fáciles de formular que las composiciones que contienen tres componentes activos, tales composiciones de dos componentes proporcionan una ventaja significativa sobre las composiciones que contienen tres componentes activos. Por consiguiente, en otro aspecto adicional de la invención, una composición farmacéutica comprende el compuesto cristalino de la invención, un segundo agente activo, y un transportador farmacéuticamente aceptable. Puede también incluirse en la composición un tercer, cuarto, etc., agente activo. En terapia de combinación, la cantidad de compuesto de la invención que se administra, así como la cantidad de agentes secundarios, puede ser menor que la cantidad típicamente administrada en monoterapia.

El compuesto cristalino de la invención puede mezclarse físicamente con el segundo agente activo para formar una composición que contiene ambos agentes; o cada agente puede estar presente en diferentes composiciones y administrarse al paciente simultáneamente o secuencialmente. Por ejemplo, el compuesto cristalino de la invención se puede combinar con un segundo agente activo utilizando procedimientos convencionales y equipamiento para formar una combinación de agentes activos que comprende el compuesto cristalino de la invención y un segundo agente activo. Además, los agentes activos se pueden combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica que comprende el compuesto cristalino de la invención, un segundo agente activo y un transportador farmacéuticamente aceptable. En esta realización, los componentes de la composición normalmente se mezclan o combinan para crear una mezcla física. La mezcla física se administra entonces en una

cantidad terapéuticamente efectiva utilizando cualquiera de las rutas descritas aquí.

Alternativamente, los agentes activos pueden permanecer separados antes de la administración al paciente. En esta realización, los agentes no se mezclan físicamente juntos antes de la administración pero se administran simultáneamente o en momentos distintos como composiciones separadas. Dichas composiciones se pueden envasar por separado o se pueden envasar conjuntamente en un equipo. Cuando se administran en momentos separados, el agente secundario se administrará típicamente menos de 24 horas después de la administración del compuesto de la invención, que va desde la administración concurrente del compuesto de la invención hasta aproximadamente 24 horas después de la dosis. Esto se conoce también como administración secuencial. Por lo tanto, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar oralmente simultáneamente o secuencialmente con otro agente activo usando dos comprimidos, con un comprimido por cada agente activo, en el que secuencial puede significar que se administra inmediatamente después de la administración del compuesto de la invención o en algún tiempo predeterminado más tarde (por ejemplo, una hora más tarde o tres horas más tarde). Alternativamente, la combinación puede administrarse por diferentes vías de administración, es decir, uno por vía oral y el otro puede ser por inhalación.

En una realización, el equipo comprende una primera forma de dosificación que comprende el compuesto cristalino de la invención y al menos una forma adicional de dosificación que comprende uno o más de los agentes secundarios establecidos en este documento, en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos de la invención. La primera forma de dosificación y la segunda forma de dosificación juntas (o tercera, etc.) comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de agentes activos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición médica en un paciente.

Los agentes secundarios, cuando se incluyen, están presentes en una cantidad terapéuticamente efectiva, es decir, se administran normalmente en una cantidad que produce un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se administra conjuntamente con un compuesto de la invención. El agente secundario puede estar en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero ópticamente puro, y así sucesivamente. Así, los agentes secundarios enumerados a continuación pretenden incluir todas estas formas, y están disponibles comercialmente o se pueden preparar usando procedimientos convencionales y reactivos.

Los agentes representativos contra el Alzheimer incluyen, pero no se limitan a: donepezil, galantamina, memantina, rivastigmina, selegilina, tacrina, y combinaciones de los mismos.

Anticonvulsivos representativos (antiepilépticos) incluyen, pero no se limitan a: acetazolamida, albutoína, ácido 4-amino-3-hidroxi-butírico, beclamida, carbamazepina, cinromida, clometiazol, clonazepam, diazepam, dimetadiona, eterobarbo, etadiona, etosuximida, etotoína, felbamato, fosfenitoína, gabapentina, lacosamida, lamotrigina, lorazepam, bromuro de magnesio, sulfato de magnesio, mefenitoína, mefobarbital, metsuximida, midazolam, nitrazepam, oxazepam, oxcarbazepina, parametadiona, fenacemida, feneturida, fenobarbital, fensuximida, fenitoína, bromuro de potasio, pregabalina, primidona, progabida, bromuro de sodio, valproato de sodio, sultiamo, tiagabina, topiramato, trimetadiona, ácido valproico, valpromida, vigabatrina, zonisamida, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el anticonvulsivo se selecciona de carbamazepina, gabapentina, pregabalina, y combinaciones de los mismos.

Los antidepresivos representativos incluyen, pero no se limitan a: adinazolam, amitriptilina, clomipramina, desipramina, dotiepinina (por ejemplo, clorhidrato de dotiepinina), doxepina, imipramina, lofepramina, mirtazapina, nortriptilina, protriptilina, trimipramina, venlafaxina, zimelidina, y combinaciones de los mismos.

Agentes representativos contra el Parkinson incluyen, pero no se limitan a: amantadina, apomorfina, benzotropina, bromocriptina, carbidopa, difenhidramina, entacapona, levodopa, pergolida, pramipexol, ropinirol, selegilina, tolcapona, trihexifenidilo, y combinaciones de los mismos.

Inhibidores duales selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI) representativos incluyen, pero no se limitan a: bicifadina, desvenlafaxina, duloxetina, milnacipran, nefazodona, venlafaxina, y combinaciones de los mismos.

Agentes antiinflamatorios no esteroideos representativos (AINE) incluyen, pero no se limitan a: acemetacina, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, alclofenaco, alminoprofeno, amfenaco, amiprilosa, amoxiprina, aniolaco, apazona, azapropazona, benorilato, benoxaprofeno, bezpiperilona, broperamol, ácido buclórico, carprofeno, clidanaco, diclofenaco, diflunisal, diftalona, enolicam, etodolac, etoricoxib, fenbufeno, fenclofenaco, ácido fenclórico, fenoprofeno, fentiazaco, feprazona, ácido flufenámico, flufenisal, fluprofeno, flurbiprofeno, furofenaco, ibufenaco, ibuprofeno, indometacina, indoprofeno, isoxepaco, isoxicam, ketoprofeno, ketorolaco, lofemizol, lornoxicam, meclofenamato, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, meloxicam, mesalamina, miroprofeno, mofebutazona, nabumetona, naproxeno, ácido niflúmico, nimesulida, nitroflurbiprofen, olsalazina, oxaprozina, oxpinaco, oxifenbutazona, fenilbutazona, piroxicam, piroprofeno, pranoprofeno, salsalato, sudoxicam, sulfasalazina, sulindac, suprofeno, tenoxicam, tiopinaco, ácido tiaprofénico, tioxaprofeno, ácido tolfenámico, tolmetina, triflumidato, zidometacina, zomepirac, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el AINE se selecciona de

etodolac, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, meloxicam, naproxeno, oxaprozina, piroxicam, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el AINE se selecciona entre ibuprofeno, indometacina, nabumetona, naproxeno (por ejemplo, naproxeno sódico), y combinaciones de los mismos.

5 Relajantes musculares representativos incluyen, pero no se limitan a: carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, diflunisal, metaxalona, metocarbamol, y combinaciones de los mismos.

10 Inhibidores de la recaptación de norepinefrina representativos incluyen, pero no se limitan a: atomoxetina, bupropiona y el metabolito de bupropion hidroxibupropion, maprotilina, reboxetina (por ejemplo, (S, S)-reboxetina), viloxazina, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el inhibidor de la recaptación de norepinefrina se selecciona de atomoxetina, reboxetina, y combinaciones de los mismos.

15 Agonistas de opioides (analgésicos opioides) y antagonistas representativos incluyen, pero no se limitan a: buprenorfina, butorfanol, codeína, dihidrocodeína, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, levalorfanol, levorfanol, meperidina, metadona, morfina, nalbufina, nalmefeno, nalorfina, naloxona, naltrexona, nalorfina, oxycodona, oximorfona, pentazocina, propoxifeno, tramadol, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el agonista opioide se selecciona de entre codeína, dihidrocodeína, hidrocodona, hidromorfona, morfina, oxycodona, oximorfona, tramadol, y combinaciones de los mismos.

20 Inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) representativos incluyen, pero no se limitan a: citalopram y el metabolito de citalopram desmetilcitalopram, dapoxetina, escitalopram (por ejemplo, oxalato de escitalopram), fluoxetina y el metabolito de la fluoxetina desmetilo norfluoxetina, fluvoxamina (por ejemplo, maleato de fluvoxamina), paroxetina, sertralina y el metabolito de sertralina demetilsertalina, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el ISRS se selecciona entre citalopram, paroxetina, sertralina, y combinaciones de los mismos.

Los bloqueadores de los canales de sodio representativos incluyen, pero no se limitan a: carbamazepina, fosfenitoína, lamotrigina, lidocaína, mexiletina, oxcarbazepina, fenitoína, y combinaciones de los mismos.

30 Los simpatolíticos representativos incluyen, pero no se limitan a: atenolol, clonidina, doxazosina, guanetidina, guanfacina, modafinilo, fentolamina, prazosina, reserpina, tolazolina (por ejemplo, clorhidrato de tolazolina), tamsulosina, y combinaciones de los mismos.

Las siguientes formulaciones farmacéuticas ilustran composiciones representativas de la presente invención:

35 Ejemplos de cápsulas duras de gelatina para la administración oral

40 Un compuesto de la invención (50 g), lactosa secada por pulverización (440 g) y estearato de magnesio (10 g) se mezcla exhaustivamente. La composición resultante se carga en cápsulas duras de gelatina (500 mg de composición por cápsula).

45 Alternativamente, un compuesto de la invención (20 mg) se mezcla exhaustivamente con almidón (89 mg), celulosa microcristalina (89 mg) y estearato de magnesio (2 mg). La mezcla se pasa a través de un tamiz EE.UU. del N° 45 y se introduce en una cápsula dura de gelatina (200 mg de composición por cápsula).

Ejemplos de formulación de cápsulas de gelatina para la administración oral

50 Un compuesto de la invención (100 mg) se mezcla exhaustivamente con monooleato de sorbitán polioxietileno (50 mg) y almidón en polvo (250 mg). La mezcla se introduce entonces en una cápsula de gelatina (400 mg de composición por cápsula).

55 Alternativamente, un compuesto de la invención (40 mg) se mezcla exhaustivamente con celulosa microcristalina (Avicel PH 103; 259,2 mg) y estearato de magnesio (0,8 mg). La mezcla se introduce entonces en una cápsula de gelatina (tamaño n° 1, blanco, opaco) (300 mg de composición por cápsula).

Ejemplos de formulación de comprimidos para la administración oral

60 El compuesto cristalino de la invención (10 mg), almidón (45 mg) y celulosa microcristalina (35 mg), se pasan a través de un tamiz EE.UU. del N° 20 y se mezclan exhaustivamente. Los gránulos así producidos se secan a 50-60 °C y se pasan a través de un tamiz EE.UU. del N° 16. Una solución de polivinilpirrolidona (4 mg como una solución al 10% en agua estéril) se mezcla con almidón de carboximetilo sódico (4,5 mg), estearato de magnesio (0,5 mg), y talco (1 mg), y esta mezcla se pasa a través de un tamiz EE.UU. del N° 16. Entonces se añaden a los gránulos el almidón de carboximetilo sódico, estearato de magnesio y talco. Después de mezclar, la mezcla se comprime en una máquina de comprimidos para proporcionar un comprimido que pesa 100 mg.

65 Alternativamente, el compuesto cristalino (250 mg) se mezcla exhaustivamente con celulosa microcristalina (400

mg), dióxido de silicio ahumado (10 mg), y ácido esteárico (5 mg). La mezcla se comprime entonces para formar comprimidos (665 mg de composición por comprimido). Alternativamente, el compuesto cristalino (400 mg) se mezcla exhaustivamente con almidón de maíz (50 mg), croscarmelosa de sodio (25 mg), lactosa (120 mg), y estearato de magnesio (5 mg). La mezcla se comprime entonces para formar un comprimido ranurado (600 mg de composición por comprimido).

Ejemplos de formulación de suspensión para la administración oral

Los siguientes ingredientes se mezclan para formar una suspensión que contiene 100 mg de agente activo por cada 10 ml de suspensión:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto cristalino de la invención	1,0 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloruro sódico	2,0 g
Metil paraben	0,15 g
Propil paraben	0,05 g
Azúcar granulado	25,5 g
Sorbitol (solución al 70%)	12,85 g
Veegum® K (silicato de aluminio y magnesio)	1,0 g
Aromatizante	0,035 ml
Colorantes	0,5 mg
Agua destilada	csp. 100 ml

Ejemplos de formulación inyectable para la administración por inyección

El compuesto cristalino de la invención (0,2 g) se mezcla con una solución tamponada de acetato de sodio 0,4 M (2,0 ml). El pH de la solución resultante se ajusta a pH 4 usando ácido clorhídrico acuoso 0,5 N o hidróxido de sodio acuoso 0,5 N, según sea necesario, y después se añade la cantidad suficiente de agua para inyección para proporcionar un volumen total de 20 ml. La mezcla se filtra entonces a través de un filtro estéril (0,22 micras) para proporcionar una solución estéril adecuada para la administración por inyección.

Ejemplos de composiciones para la administración por inhalación

El compuesto cristalino de la invención (0,2 mg) se microniza y después se mezcla con lactosa (25 mg). Esta mezcla se introduce entonces en un cartucho de inhalación de gelatina. El contenido del cartucho se administra utilizando por ejemplo un inhalador de polvo seco.

Alternativamente, un compuesto micronizado de la invención (10 g) se dispersa en una solución preparada disolviendo lecitina (0,2 g) en agua desmineralizada (200 ml). La suspensión resultante se pulveriza y después se seca para formar una composición micronizada que comprende partículas con un diámetro medio inferior a aproximadamente 1,5 mm. La composición micronizada se introduce entonces en cartuchos de inhalación de dosis medidas que contienen 1,1,1,2-tetrafluoroetano presurizado en una cantidad suficiente para proporcionar aproximadamente entre 10 mg y aproximadamente 500 mg del compuesto de la invención por dosis cuando se administra mediante el inhalador.

Alternativamente, un compuesto de la invención (25 mg) se disuelve en solución salina isotónica tamponada con citrato (pH 5) (125 ml). La mezcla se agita y se sonica hasta que se disuelve el compuesto. El pH de la solución se comprueba y se ajusta, si es necesario, hasta pH 5 mediante la adición lenta de hidróxido de sodio acuoso 1 N. La solución se administra mediante un dispositivo nebulizador que proporciona aproximadamente entre 10 mg y aproximadamente 500 mg del compuesto cristalino por dosis.

### Ejemplos

Las siguientes preparaciones y ejemplos se proporcionan para ilustrar realizaciones específicas de la invención. Estas formas de realización específicas, sin embargo, no pretenden limitar el alcance de la invención en modo alguno a menos que se indique de forma específica.

Las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados a no ser que se indique de otro modo y cualquier otra abreviatura que se utilice aquí y no se defina posee su significado estándar:

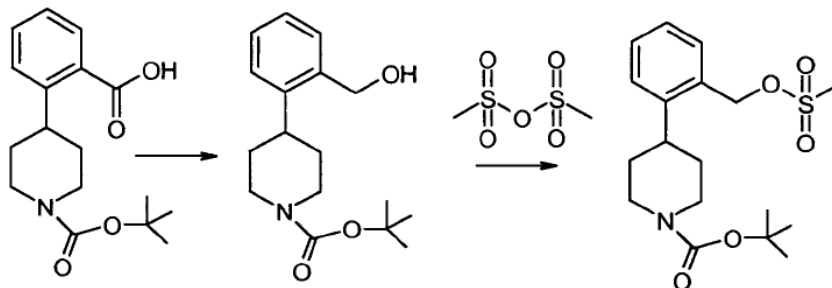
AcOH	ácido acético
BSA	albúmina de suero bovino
DCM	diclorometano (es decir, cloruro de metileno)
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
DIPEA	N, N diisopropiletilamina

	DMEM	medio de Eagle modificado de Dulbecco
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
5	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	FBS	suero bovino fetal
	hDAT	transportador de dopamina humano
	HEPES	ácido 4 - (2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico
10	hNET	transportador de norepinefrina humana
	hSERT	transportador de serotonina humano
	5-HT	5-hidroxitriptamina
	IPA	alcohol isopropílico
	IPAc	acetato de isopropilo
15	MeCN	acetonitrilo (CH <sub>3</sub> CN)
	MeOH	metanol
	NA	norepinefrina
	PBS	solución salina tamponada con fosfato
	PPh <sub>3</sub>	trifenilfosfina
20	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TsCl	cloruro de p toluenosulfonilo o cloruro de 4-metilbencenosulfonilo

Cualquier otra abreviatura utilizada aquí pero no definida posee su significado estándar, generalmente aceptado. A menos que se indique de otro modo, todos los materiales, tales como reactivos, materiales de partida y solventes, fueron comprados a proveedores comerciales (como Sigma-Aldrich, Fluka, Riedel-de Haën, y similares) y se utilizaron sin posterior purificación.

#### Preparación 1

#### 30 4-(2-metanosulfonyloximetilfenil)piperidin-1-carboxilato de *t*-butilo



35 4-(2-carboxifenil) piperidina-1-carboxilato de *t*-butilo (5,0 g, 16 mmol, 1,0 eq.) y THF (130 ml, 1,7 mol) se combinaron a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se añadió gota a gota complejo de borano-THF 1 M (32,7 ml, 32,7 mmol, 2,0 eq.) a lo largo de 10 minutos (exotermia de 5°C, producción de gas). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos, después se calentó hasta 50 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, y la reacción se detuvo con MeOH (30 ml) (exotermia ligera, producción de gas significativa), y después se concentró mediante evaporación rotativa. El material se destiló azeotrópicamente con MeOH (2x50 ml). El producto bruto se diluyó con EtOAc (100 ml), y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> (50 ml), y después NaCl acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró, y se concentró al vacío para proporcionar 4-(2-hidroximetilfenil)-piperidin-1-carboxilato de *t*-butilo (4,4 g) como un aceite transparente, de color amarillo claro que solidificó tras dejarlo reposar.

45 Se disolvió la 4-(2-hidroximetilfenil)-piperidin-1-carboxilato de *t*-butilo (50,0 g, 172 mmol, 1,0 eq.) en DCM (500 mL, 8000 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se añadió anhídrido metanosulfónico (44,8 g, 257 mmol, 1,5 eq.) de una vez. Se añadió DIPEA (47,8 mL, 274 mmol, 1,6 eq.) gota a gota a lo largo de 5 minutos y la mezcla se agitó a 0 °C durante 90 minutos. Se añadió agua (400 mL, 20 mol) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. La fases se separaron, y la capa orgánica se lavó con agua (300 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se eliminó el solvente para proporcionar el compuesto del título (70 g) como un aceite denso, que se utilizó sin posterior purificación.

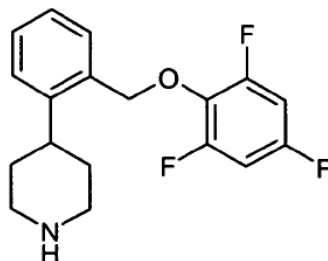
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm) 7,37-7,43 (m, 3H), 7,31 (d, 1H), 7,22 (m, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,28 (m, 2H), 2,92-3,10 (m, 1H), 2,92 (s, 3H), 2,80-2,92 (m, 2H), 1,63-1,81 (m, 4H), 1,51 (s, 9H).



## Ejemplo 1

Sal de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-Trifluorofenoximetil)fenil]piperidina cristalina

5



Se disolvió 4-[2-(metanosulfoniloximetilfenil)piperidina-1-carboxilato de t-butilo (27 g, 60,6 mmol, 1,0 eq) en MeCN (540 ml) y se añadió a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (25 g, 180 mmol, 3,0 eq.) y 2,4,6-trifluorofenol (13,5 g, 90,9 mmol, 1,5 eq.). La mezcla se agitó vigorosamente a 50 °C durante 6 horas, después se separó de la fuente de calor, y se agitó durante toda la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, y se diluyó con EtOAc (700 mL) y agua (700 mL). Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó dos veces con NaOH 1.0 M en agua (2 x 400 mL) y NaCl acuoso saturado (1 x 400 mL), luego se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el solvente se eliminó para dar lugar a 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina-1-carboxilato de t-butilo bruto (25,0 g). El producto bruto se combinó con otros procesados a pequeña escala hasta alcanzar un total de 30 g, y se purificó mediante una cromatografía (EtOAc al 0-10% en hexanos) para dar lugar al 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil] piperidina-1-carboxilato de t-butilo (22,0 g).

El éster de t-butilo (22,0 g, 31,3 mmol, 1,0 eq.) se combinó con HCl 1,25 M en EtOH (250 ml, 310 mmol, 10,0 eq.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, después se almacenó a -10 ° C durante aproximadamente 48 horas. La mayor parte del disolvente se eliminó mediante evaporación rotativa. A la suspensión espesa resultante se añadió EtOAc (80 ml), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La primera recogida se aisló por filtración, y la capa del filtro se lavó con EtOAc (20 mL) y se secó para dar lugar al compuesto del título como una sal de clorhidrato (8,5 g, pureza > 99%) blanca sólida. La HPLC del filtrado mostró ~ 25% del área de producto. Para la segunda recogida, se eliminó el disolvente mediante evaporación rotativa y el sólido resultante (~ 10 g) se suspendió en EtOAc (40 ml), primero a temperatura ambiente, después a 60 °C, y de nuevo a temperatura ambiente para producir el compuesto del título como una sal de clorhidrato (1,7 g, pureza > 99%).

Dos lotes de la sal de clorhidrato (18,5 g, 51,7 mmol) se combinaron con EtOAc (75 ml, 770 mmol). La suspensión espesa pero fluida resultante, se calentó a 65 °C durante 30 minutos, se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró. El matraz y la capa del filtro se lavaron con EtOAc (20 ml), y los sólidos se secaron a vacío elevado a temperatura ambiente durante toda la noche para proporcionar la sal de clorhidrato cristalina (18,2 g, 99,3% de pureza).

Se observó una buena cristalinidad mediante XRPD. La CL-EM (2 mg en 2 ml de 1:1 de MeCN: HCl 1M ac., sistema API 150EX LC/ MS) se encontró que era consistente con la estructura. La RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, Varian VnmrJ 400) se encontró que era consistente con la estructura y la forma de la sal.

## Ejemplo 2

Sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil] piperidina

Cloruro de acetilo (83,5 ml, 1170 mmol) se añadió lentamente a EtOH (140 ml, 2,4 mol). Se añadió 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil] piperidina-1-carboxilato de t-butilo (55,0 g, 117 mmol) disuelto en EtOH (100 ml, 2,0 mol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La mayor parte del disolvente se eliminó mediante evaporación rotativa. A la suspensión espesa resultante se añadió EtOAc (300 ml), seguido de la eliminación parcial de disolvente hasta ~ 100 ml. Se añadió EtOAc fresco (200 ml) y la suspensión resultante se agitó durante 1 hora, se filtró y se secó para proporcionar una sal de clorhidrato (28,0 g, pureza ~ 99%). El filtrado se concentró en una pasta espesa y se añadió IPAc (100 ml), se agitó durante 1 hora, se filtró y se secó para dar lugar a 5,0 g adicionales de la sal de clorhidrato (pureza ~ 99%).

Se combinaron dos lotes de la sal de clorhidrato (83,0 g, 230 mmol, pureza ~ 99%) con EtOAc (250 ml, 2,6 mol). La suspensión resultante se calentó a 70 °C y luego se enfrió lentamente a temperatura ambiente, seguido de agitación durante la noche. La suspensión fluida resultante se filtró y la capa del filtro se lavó con EtOAc (50 ml), después se secó a vacío elevado durante aproximadamente 48 horas para proporcionar una sal de clorhidrato cristalina (81,0 g, pureza > 99%). <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 Hz) se encontró que era consistente con la estructura y la forma de la sal del Ejemplo 1.

La sal de clorhidrato cristalina (50,0 g, 1,40 mol, pureza > 99%) se disolvió en IPA (250 ml, 3,3 mol), y la suspensión resultante se calentó a 75 °C. Se añadió agua (25 ml, 1,4 mol). Se observó una disolución completa en 5 minutos, y la temperatura interna de la solución fue de 65 °C. La solución se enfrió lentamente a temperatura ambiente y después se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos resultantes se filtraron y se secaron al aire durante 2 horas para proporcionar un producto semi-seco. Los sólidos se secaron luego a un vacío elevado a temperatura ambiente durante aproximadamente 48 horas para producir la sal de clorhidrato cristalina del título (44,1 g, 99,5% de pureza). El material presentó buena cristalinidad mediante XRPD y DSC.

#### 10 Ejemplo 3

Sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil] piperidina

15 La sal de clorhidrato cristalina del título (151,1 g, pureza del 99,5%) se obtuvo también de forma similar utilizando 175,0 g de la sal de clorhidrato y 10 volúmenes de IPA con un 5% de agua (total de 90 mL de agua y 1,8 L de IPA).

#### Ejemplo 4

##### 20 Difracción de rayos X de polvo

Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo con un difractómetro Rigaku Miniflex PXRD utilizando radiación Cu K $\alpha$  (30,0 kV, 15,0 mA). El análisis se realizó con el goniómetro funcionando en modo de escaneo continuo de 2° (2 $\theta$ ) por minute con un tamaño de paso de 0,03° a lo largo de un rango de 2 a 40° en ángulo dos-theta. Las muestras se prepararon sobre soportes de muestras de cuarzo como una capa fina del material en polvo. El instrumento se calibró con un estándar de metal silicio, con un ángulo dos-theta de 60,02°. Un patrón de PXRD representativo de la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2 se muestra en la Fig. 1.

Las muestras se molieron manualmente previamente a su análisis para reducir las interferencias causadas por el tamaño de las partículas en las intensidades relativas.

30 Los numerosos e intensos picos de difracción del polvo y la línea basal relativamente plana que se muestran en la Fig. 1 son fuertemente indicativos de que la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2 posee una buena cristalinidad.

También se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo para la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 1 y se encontró que eran consistentes con los de la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2.

#### 35 Ejemplo 5

##### Análisis Térmico

40 Se realizó una calorimetría de escaneo diferencial (DSC) utilizando un módulo TA Instruments Model Q-100 con un controlador Thermal Analyst. Los datos se recogieron y analizaron utilizando un programa de TA Instruments Thermal Solutions. Una muestra de 2,8 mg de la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2 se pesó de forma precisa en una cubeta de aluminio cubierta. Tras un periodo de equilibrado isotérmico de 5 minutos a 22 °C, la muestra se calentó utilizando una rampa de calentamiento lineal de 10 °C/min

45 Desde 22 °C a 250 °C. Una termografía de DSC representativa se muestra en la Fig. 2.

La termografía de DSC muestra que el compuesto cristalino de la invención posee una excelente estabilidad térmica con un punto de fusión a alrededor de 196,9°C y sin descomposición térmica más allá de los 200,0°C.

50 Una traza de TGA representativa se muestra en la Fig. 2, e indica que una muestra de la forma cristalina del Ejemplo 2 perdió una pequeña cantidad (alrededor del 0,5%) de peso desde temperatura ambiente hasta 150,0°C, lo que es consistente con la pérdida de humedad residual o de solvente.

55 Una termografía de DSC y una traza de TGA se obtuvieron también para la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 1 y se encontró que eran consistentes con los de la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2.

#### Ejemplo 6

##### 60 Valoración de la adsorción dinámica de humedad

Se realizó una valoración de la adsorción dinámica de humedad (DMS), también conocida como un perfil de adsorción-desorción de humedad, con la sal de clorhidrato cristalina del Ejemplo 2 utilizando una microbalanza atmosférica VTI, sistema SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Se utilizó un tamaño de muestra de aproximadamente 7,3 mg y se fijó la humedad a valor ambiental al inicio del análisis. El análisis de DMS consistió en una tasa de escaneo del 5% de humedad relativa/ paso a lo largo del rango completo de humedad del 2% de

65

humedad relativa al 90% de humedad relativa. El análisis de DMS se realizó de forma isotérmica a 25 °C. En la Fig. 3 se muestra un perfil de DMS representativo.

5 El perfil de DMS demuestra que el compuesto cristalino de la invención posee un perfil de adsorción-desorción reversible con una higrscopicidad insignificante. El compuesto cristalino muestra una ganancia de peso pequeña cuando se expone a un amplio rango desde un 2% de humedad relativa hasta un 90% de humedad relativa, y menos de alrededor del 2,0% de ganancia en peso cuando se expone hasta un 90% de humedad relativa, lo que indica que la forma cristalina posee sólo un riesgo mínimo de higrscopicidad en las condiciones ambiente.

#### 10 Ejemplo 7

Valoración de la estabilidad en estado sólido

15 Se inició un estudio de la estabilidad en estado sólido con un lote representativo de la sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina en las condiciones de almacenamiento a -20 °C, 5 °C, 25 °C/ al 60% de humedad relativa (contenedor abierto) y a 40 °C/ al 75% de humedad relativa (contenedores tapados y abiertos) en vidrio. Tras 28 días de almacenamiento, en las muestras que se habían mantenido en todas las condiciones, no apareció ningún cambio detectable en la pureza química, la pureza quiral, y los perfiles de PXRD, DSC y TGA.

#### 20 Ejemplo 8

Análisis de la estructura de rayos X de un único cristal de la sal de HCl de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina

25 Se preparó una sal de clorhidrato cristalina (105,0 mg, pureza > 99%) a partir de EtOAc, como se describe en el Ejemplo 2. La sal de clorhidrato cristalina se combinó entonces con 5 mL de una solución de IPA/ agua (10% de agua). La mezcla se agitó a temperatura ambiente (alrededor de 23°C) hasta que la mayor parte del material estaba disuelto en la solución. La solución se situó entonces en una placa calefactora que se había precalentado a 60 °C. Tras 5 minutos, la solución se aclaró, lo que indica que no había ningún residuo sólido en la solución de muestra calentada. El dispositivo de calefacción se apagó entonces (tiempo total de calentamiento de alrededor de 10 minutos). La solución se dejó reposar a lo largo de dos horas para que la solución alcanzara lentamente la temperatura ambiente, en cuyo momento la solución era blanca y turbia. Entonces se enfrió la solución hasta 4°C. Tras alrededor de 7 días, se observaron grandes cristales. Entonces se aislaron los cristales y se secaron.

35 La estructura del cristal se determinó en un único cristal mediante un difractor de rayos X (difractor Nonius Kappa-CCD equipado con un enfriador de nitrógeno líquido Oxford Cryostream y utilizando radiación MoK $\alpha$ ). El tamaño de la pieza de cristal fue de 0,45 x 0,25 x 0,20 mm. Se cortó un cristal grande a lo largo de la dimensión cristalográfica para obtener un cristal de tamaño adecuado para su análisis (Fig. 5). Los datos se recogieron a una temperatura de 294 °K y a 120 °K.

40 El cristal mostró una simetría monoclinica (grupo especial P2<sub>1</sub>/C), con los siguientes parámetros de unidad-celda:

$$\text{Eje (Å): } a = 11,631, b = 7,057, c = 42,532$$

45  $\text{Ángulo (°): } B = 104,595, A = C = 90$

$$V (\text{Å}^3): 3378,4$$

50 Densidad calculada (g/cm<sup>3</sup>): 1,430

Nº reflexión: 20143

55 Se encontró que los cristales consistían en el catión 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)-fenil]piperidina, el anión cloruro y moléculas de agua. En cada celda de la unidad, habían 2,56 moléculas de agua asociadas con ocho pares de moléculas del fármaco (ocho cationes 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina y ocho aniones de cloruro), es decir había aproximadamente una molécula de agua por cada tres pares de moléculas de fármaco, en el que cada par de moléculas de fármaco consistía en: un catión 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina y un anión cloruro. Por lo tanto, en una realización de la invención, alrededor de 0,32 moles de agua están presentes por cada mol de la sal de clorhidrato cristalina de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)-fenil] piperidina, y la fórmula de tal cristal puede indicarse como: 1 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil] piperidina. 1 HCl. 0,32 H<sub>2</sub>O.

60 El cristal se construye alrededor de la molécula de agua y el contenido de agua se determinó a partir del factor de ocupación de agua en la celda de la unidad. El factor de ocupación de agua se calculó utilizando los parámetros de movimiento térmico de los átomos y factores de la estructura global observada.

#### 65 Ensayo 1

## Ensayos de unión hSERT, hNET y hDAT

Los ensayos de unión de radioligandos a membrana se utilizaron para medir la inhibición competitiva de ligando marcado ( $^3\text{H}$ -citalopram o  $^3\text{H}$ -nisoxetina o  $^3\text{H}$ -WIN35428) a membranas preparadas a partir de células que expresan el correspondiente transportador humano recombinante (hSERT o hNET o hDAT) con el fin de determinar los valores de  $pK_i$  de los compuestos de ensayo en los transportadores.

## Preparación de membranas de células que expresan hSERT, hNET, o hDAT

Se hicieron crecer líneas celulares recombinantes derivadas de riñón embrionario humano (HEK-293) transfectadas de manera estable con hNET o hSERT respectivamente, en medio DMEM suplementado con FBS dializado al 10% (para hSERT) o FBS (para hNET), 100  $\mu\text{g}$  / ml de penicilina, 100  $\mu\text{g}$  / ml de estreptomina, L-glutamina 2 mM y 250  $\mu\text{g}$  / ml del antibiótico aminoglucósido G418, en una incubadora humidificada con 5% de  $\text{CO}_2$  a 37 ° C. Cuando los cultivos alcanzaron una confluencia del 80%, las células se lavaron en PBS generosamente (sin  $\text{Ca}_2^+$  ni  $\text{Mg}_2^+$ ) y resuspendido con EDTA 5 mM en PBS. Las células se sedimentaron por centrifugación, se resuspendieron en tampón de lisis (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5 que contiene EDTA 1 mM), se homogeneizaron, se sedimentaron por centrifugación, después se resuspendieron en Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 y sacarosa al 10% a 4 ° C. La concentración de proteínas de la suspensión de membranas se determinó usando un equipo de ensayo Bradford de proteínas de Bio-Rad. Las membranas se congelaron y se almacenaron a -80 ° C. Se adquirieron membranas de ovario de hámster Chino que expresan hDAT (CHO-DAT) de PerkinElmer y se almacenaron a -80 ° C.

## Ensayos de unión

Los ensayos de unión se realizaron en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 200  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo (Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4) con 0,5, 1, y 3  $\mu\text{g}$  de proteína de membrana, para SERT, NET y DAT, respectivamente. Se llevaron a cabo estudios de saturación de unión a radioligandos, para determinar los valores de  $K_d$  de  $^3\text{H}$ -citalopram,  $^3\text{H}$  nisoxetina, o  $^3\text{H}$ -WIN35428, respectivamente, utilizando 12 concentraciones de radioligandos diferentes que van desde 0,005 hasta 10 nM ( $^3\text{H}$ -citalopram); 0,01-20 nM ( $^3\text{H}$ -nisoxetina) y 0,2-50 nM ( $^3\text{H}$ -WIN35428). Los ensayos de desplazamiento para la determinación de los valores de  $pK_i$  de los compuestos prueba se llevaron a cabo con  $^3\text{H}$ -citalopram 1,0 nM de,  $^3\text{H}$ -nisoxetina 1,0 nM o  $^3\text{H}$ -WIN35428 3,0 nM, a 11 concentraciones diferentes de compuesto prueba en un rango de 10 pM a 100  $\mu\text{M}$ .

Se prepararon soluciones de reserva (10 mM en DMSO) del compuesto prueba y se realizaron diluciones seriadas usando tampón de dilución (Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4, BSA 0,1%, ácido ascórbico 400  $\mu\text{M}$ ). La unión no específica de radioligando se determinó en presencia de duloxetina 1  $\mu\text{M}$ , desipramina 1  $\mu\text{M}$  o GBR12909 10  $\mu\text{M}$  (cada uno en tampón de dilución) para los ensayos hSERT, hNET o hDAT, respectivamente.

Después de una incubación de 60 minutos a 22 ° C (o un período de tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio), las membranas se recogieron mediante filtración rápida sobre una placa de 96-pocillos UniFilter GF/B, pretratada con polietilimina 0,3%, y se lavaron 6 veces con 300  $\mu\text{l}$  de tampón de lavado (Tris-HCl 50 mM, NaCl 0,9%, pH 7,5 a 4 ° C). Las placas se secaron durante la noche a temperatura ambiente, se añadió ~ 45  $\mu\text{l}$  de MicroScint™-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad unida mediante espectroscopia de centelleo líquida. Las curvas de inhibición competitivas y las isotermas de saturación se analizaron utilizando el paquete de programas GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los valores de  $\text{CI}_{50}$  se generaron a partir de las curvas de respuesta a la concentración utilizando la respuesta a dosis sigmoidal (pendiente variable) en el algoritmo GraphPad Prism. Los valores de  $K_d$  y  $B_{\text{max}}$  para el radioligando se generaron a partir de las isotermas de saturación utilizando el algoritmo de ajuste global de unión de saturación en Prism GraphPad. Se calcularon los valores  $pK_i$  (logaritmo negativo decimal de  $K_i$ ) para los compuestos prueba a partir de los valores  $\text{CI}_{50}$  que mejor se ajustaban, y el valor  $K_d$  del radioligando, usando la ecuación Cheng-Prusoff (Cheng & Prusoff (1973) Biochem. Pharmacol. 22 (23 ): 3099-3108):  $K_i = \text{CI}_{50} / (1 + [L] / K_d)$ , en el que [L] = concentración de radioligando.

El compuesto del ejemplo 1 (sal de TFA) se analizó en este ensayo y se encontró que presentaban una  $pK_i$  de SERT  $\geq 7,9$  y una  $pK_i$  de NET  $\geq 8,0$ .

## Ensayo 2

## Ensayos de recaptación de neurotransmisores hSERT, hNET, y hDAT

Los ensayos de recaptación de neurotransmisores se utilizaron para medir la inhibición competitiva de la recaptación de  $^3\text{H}$ -serotonina ( $^3\text{H}$ -5-HT),  $^3\text{H}$ -norepinefrina ( $^3\text{H}$ -NE), y  $^3\text{H}$ -dopamina ( $^3\text{H}$ -DA) en las células que expresan el correspondiente transportador (hSERT, hNET o hDAT) con el fin de determinar los valores de  $p\text{CI}_{50}$  de los compuestos prueba en los transportadores.

Ensayos de recaptación de  $^3\text{H}$ -5-HT,  $^3\text{H}$ -NE, y  $^3\text{H}$ -DA

65

Se cultivaron líneas celulares derivadas de HEK-293 establemente transfectadas con hSERT, hNET, o hDAT, respectivamente, en medio DMEM suplementado con FBS dializado al 10% (para hSERT) o FBS (para hNET y hDAT), 100 µg / ml de penicilina , 100 µg / ml de estreptomina, L-glutamina 2 mM y 250 µg / ml del antibiótico aminoglucósido G418 (para hSERT y hNET) o 800 µg/ml (para hDAT), en una incubadora humidificada con CO<sub>2</sub> al 5% a 37 ° C. Cuando los cultivos alcanzaron una confluencia del 80%, las células se lavaron en PBS generosamente (sin Ca<sub>2</sub><sup>+</sup> ni Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>) y se resuspendieron con EDTA 5 mM en PBS. Las células se recogieron por centrifugación a 1100 rpm durante 5 minutos, se lavaron una vez mediante resuspensión en PBS, después se centrifugaron. El sobrenadante se descartó y el sedimento celular se resuspendió, mediante trituración suave, en tampón de bicarbonato Krebs-Ringer a temperatura ambiente que contenía HEPES (10 mM), CaCl<sub>2</sub> (2,2 mM), ácido ascórbico (200 µM) y pargilina (200 µM), pH 7,4 . La concentración final de células en suspensión fue de 7,5 x 10<sup>4</sup> células / ml, 1,25 x 10<sup>5</sup> células / ml, y 5,0 x 10<sup>4</sup> células / ml para las líneas celulares SERT, NET, y DAT, respectivamente.

Los ensayos de recaptación de neurotransmisores se realizaron en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 400 µl de tampón de ensayo (tampón bicarbonato Krebs-Ringer que contiene HEPES (10 mM), CaCl<sub>2</sub> (2,2 mM), ácido ascórbico (200 µM) y pargilina (200 µM), pH 7,4) con 1,5 x 10<sup>4</sup> y 2,5 x 10<sup>4</sup> células, para SERT y NET, respectivamente. Los ensayos de competición para la determinación de los valores pCl<sub>50</sub> de los compuestos prueba se llevaron a cabo con 11 concentraciones diferentes, que iban desde 10 pM a 100 µM. Se prepararon soluciones de reserva (10 mM en DMSO) del compuesto prueba y se prepararon diluciones seriadas usando Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4, BSA 0,1%, ácido ascórbico 400 µM. Los compuestos prueba se incubaron durante 30 minutos a 37 ° C con las correspondientes células, antes de la adición de neurotransmisor radiomarcado, <sup>3</sup>H-5-HT (concentración final 20 nM), <sup>3</sup>H-NE (concentración final 50 nM), o <sup>3</sup>H-DA (concentración final 100 nM). Se determinó la captación de neurotransmisor no específica en presencia de duloxetina 2,5 µM o desipramina 2,5 µM (cada uno en tampón de dilución) para los ensayos hSERT, hNET, o hDAT, respectivamente.

Después de una incubación 10 minutos, a 37 ° C, con radioligando, se recogieron las células mediante filtración rápida en una placa de 96 pocillos UniFilter GF/B, pretratada con BSA 1%, que se lavó 6 veces con 650 µl de tampón de lavado (PBS enfriado en hielo). Las placas se secaron durante la noche a 37 ° C, se añadió ~ 45 µl de MicroScint™-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad incorporada mediante espectroscopia de centelleo líquido. Se analizaron las curvas de inhibición competitivas utilizando el paquete de programas GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los valores de Cl<sub>50</sub> se generaron a partir de las curvas de respuesta de concentración utilizando la respuesta a dosis sigmoidal (pendiente variable) en el algoritmo GraphPad Prism.

### Ensayo 3

#### 35 Ensayos de ocupación del transportador SERT y NET ex vivo

Los ensayos de unión a radioligando ex vivo y los ensayos de recaptación de los neurotransmisores se utilizaron para determinar la ocupación in vivo de SERT y NET, en regiones cerebrales concretas, tras la administración in vivo (aguda o crónica) de los compuestos prueba. Después de la administración de los compuestos prueba (mediante ruta intravenosa, intraperitoneal, oral, subcutánea o de otro tipo) en la dosis adecuada (0,0001 a 100 mg / kg), se sacrificaron las ratas (≥ n = 4 por grupo) en puntos de tiempo específicos (10 minutos a 48 horas) mediante decapitación y los cerebros se diseccionaron en hielo. Se diseccionaron las regiones relevantes del cerebro, y se congelaron y almacenaron a -80 ° C hasta su uso.

#### 45 Ensayos de unión a radioligando SERT y NET ex vivo

Para los ensayos ex vivo de unión de radioligandos, se monitorizaron las velocidades iniciales de asociación de los radioligandos selectivos de SERT (<sup>3</sup>H-citalopram), y de NET-(<sup>3</sup>H-nisoxetina) con homogeneizados brutos de cerebro de rata preparados a partir de animales tratados con vehículo y compuestos prueba, (véase Hess et al . (2004) J. Pharmacol. Exp. Ther. 310 (2) :488-497). Los homogeneizados brutos de tejido cerebral se prepararon mediante homogeneización de las piezas de tejido congelados en 0,15 ml (por mg de peso húmedo) de tampón Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4. Los ensayos de asociación de radioligando se realizaron en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 200 µl de tampón de ensayo (Tris-HCl 50 mM, KCl 120 mM, NaCl 5 mM, BSA 0,025%, pH 7,4) con 650 µg de tejido de peso en húmedo (equivalente a 25 µg de proteína). Los homogeneizados se incubaron durante 5 minutos con <sup>3</sup>H-citalopram (3 nM) y <sup>3</sup>H-nisoxetina (5 nM), respectivamente, antes de la terminación del ensayo mediante filtración rápida sobre una placa de 96 pocillos UniFilter GF/B pretratada con polietilenimina 0,3%. Los filtros se lavaron entonces 6 veces con 300 µl de tampón de lavado (Tris-HCl 50 mM, NaCl 0,9%, pH 7,4 a 4 ° C). La unión no específica de radioligando se determinó en presencia de duloxetina 1 µM, o despiramina 1 µM, para <sup>3</sup>H-citalopram o <sup>3</sup>H-nisoxetina, respectivamente. Las placas se secaron durante la noche a temperatura ambiente, se añadió ~ 45 µl de MicroScin™-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad unida mediante espectroscopia de centelleo líquido. Las tasas iniciales de asociación de <sup>3</sup>H-citalopram y <sup>3</sup>H-nisoxetina se determinaron mediante regresión lineal utilizando el paquete de programas GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se determinó la tasa media de asociación de radioligando a los homogeneizados de tejido cerebral de animales tratados con vehículo. El% de ocupación de los compuestos prueba se determinó después utilizando la siguiente ecuación:

% ocupación =  $100 \times (1 - (\text{tasa inicial de asociación para el tejido tratado con compuesto prueba} / \text{tasa de asociación media de tejido tratado con vehículo}))$

- 5 Los valores de  $DE_{50}$  se determinaron representando el log 10 de la dosis del compuesto prueba frente al % de ocupación. Los valores de  $DE_{50}$  se generados a partir de las curvas de respuesta a la concentración utilizando la respuesta de dosis sigmoideal (pendiente variable) en el algoritmo GraphPad Prism.

#### Ensayos de recaptación SERT y NET ex vivo

- 10 Los ensayos de recaptación de neurotransmisores ex vivo, en los que se utilizó la captación de  $^3\text{H}$ -5-HT o  $^3\text{H}$ -NE en homogeneizados brutos de cerebro de rata, preparados a partir de animales tratados con vehículos y compuestos prueba, se utilizaron para medir la ocupación de transportador SERT y NET in vivo (véase Wong et al. (1993) *Neuropsychopharmacology* 8 (1): 23-33). Los homogeneizados brutos de tejido cerebral se prepararon mediante homogeneización de las piezas de tejido congelados en 0,5 ml (por mg de peso húmedo) de tampón HEPES 10 mM
- 15 pH 7,4, que contenía sacarosa 0,32 M, ácido ascórbico 200  $\mu\text{M}$  y pargilina 200  $\mu\text{M}$ , a 22 ° C. Los ensayos de captación de neurotransmisores se realizaron en una placa Axygen de 96 pocillos en un volumen total de 350  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo (tampón bicarbonato Krebs-Ringer con HEPES 10 mM,  $\text{CaCl}_2$  2,2 mM, ácido ascórbico 200  $\mu\text{M}$  y pargilina 200  $\mu\text{M}$ , pH 7,4) con 50  $\mu\text{g}$  de proteína. Los homogeneizados se incubaron durante 5 minutos a 37 ° C con  $^3\text{H}$ -5-HT (20 nM) y  $^3\text{H}$ -NE (50 nM), respectivamente, antes de la terminación del ensayo mediante filtración rápida en
- 20 una placa de 96-pocillos UniFilter GF/B, pretratado con BSA 1%. Las placas se lavaron 6 veces con 650  $\mu\text{l}$  de tampón de lavado (PBS enfriado con hielo) y se secaron durante la noche a 37 ° C, antes de la adición de ~ 45  $\mu\text{l}$  de MicroScint™-20 (Perkin Elmer). La radioactividad incorporada se cuantificó mediante espectroscopia de centelleo líquido. Se determinó la captación de neurotransmisor no específica en ensayos paralelos en los que los homogeneizados de tejido se incubaron con  $^3\text{H}$ -5-HT (20 nM) o  $^3\text{H}$ -NE (50 nM) durante 5 minutos a 4 ° C.

#### 25 Ensayo 4

##### Otros ensayos

- 30 Otros ensayos que se utilizaron para evaluar las propiedades farmacológicas de los compuestos prueba incluyen, pero no se limitan a, ensayos cinéticos de unión a ligando frío (Motulsky y Mahan (1984) *Molecular Pharmacol.* 25 (1) :1-9) con membranas preparadas a partir de células que expresan hSERT o hNET; ensayos de unión de radioligandos a membranas convencionales utilizando compuestos prueba radiomarcados, por ejemplo, tritidos; ensayos de unión de radioligandos utilizando tejido nativo de, por ejemplo, cerebro de roedor o humano, ensayos de
- 35 recaptación de neurotransmisores utilizando plaquetas humanas o de roedores; ensayos de recaptación de neurotransmisores utilizando preparaciones de sinaptosomas brutas, o puras, de cerebro de roedores.

#### Ensayo 5

#### 40 Prueba de la pata en formalina

- Los compuestos se analizaron por su capacidad para inhibir la respuesta de comportamiento provocada por una inyección de formalina (5%) de 50  $\mu\text{l}$ . Una banda de metal se fija a la pata trasera izquierda de ratas macho Sprague-Dawley (200-250 g) y se acondiciona cada rata a la banda durante 60 minutos dentro de un cilindro de
- 45 plástico (15 cm de diámetro). Los compuestos se preparan en vehículos farmacéuticamente aceptables y se administran por vía sistémica (ip, po) en tiempos predefinidos antes de la exposición a formalina. Los comportamientos espontáneos nociceptivos que consisten en encoger la pata trasera de la inyección (bandas) se cuentan continuamente durante 60 minutos utilizando un analizador automatizado de nocicepción (UCSD Anesthesiology Research, San Diego, CA). Se determinan las propiedades antinociceptivas de los artículos prueba
- 50 comparando el número de sacudidas en las ratas tratadas con vehículo y compuesto (Yahsh et al., "An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay" (2001) *J. Appl. Physiol.* 90 (6) :2386-2402).

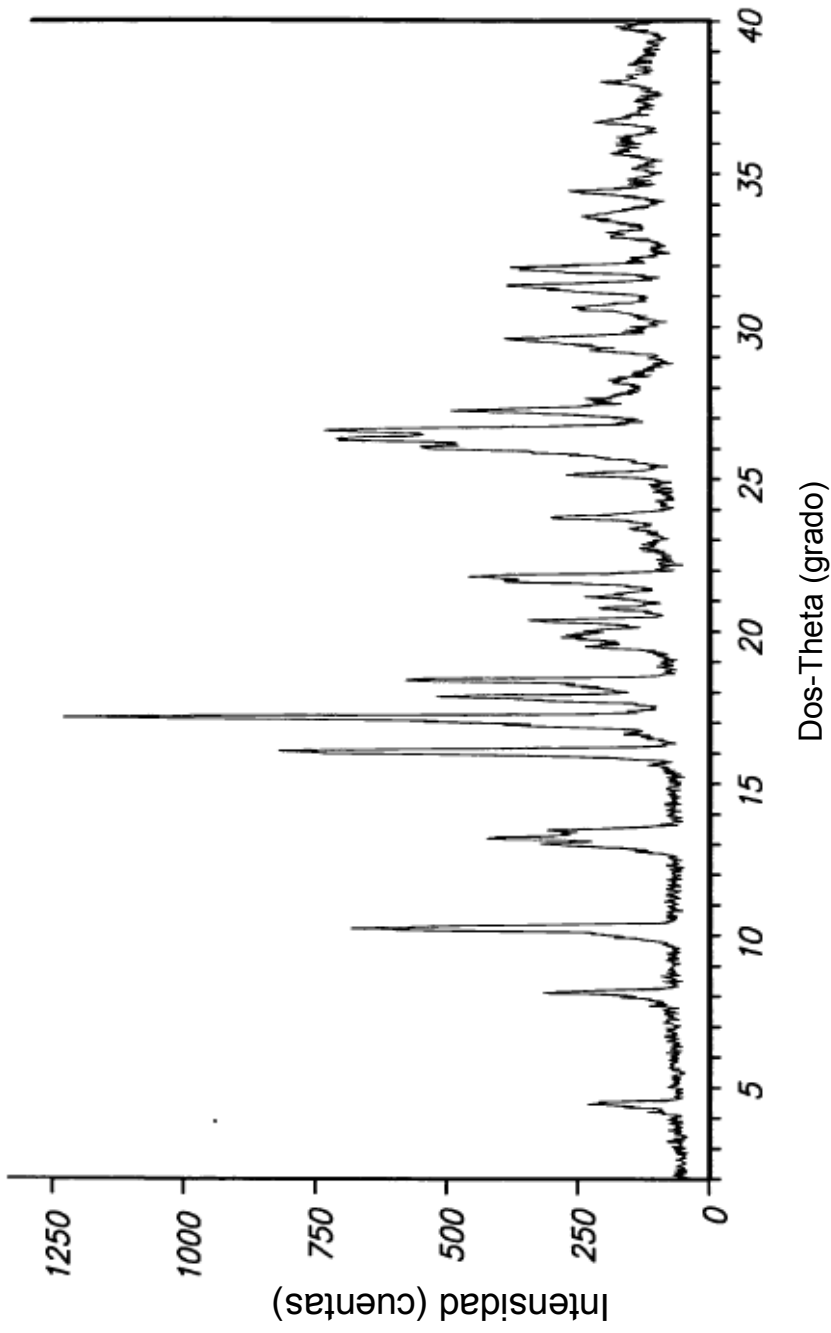
#### Ensayo 6

#### 55 Modelo de ligación del nervio espinal

- Los compuestos se analizaron por su capacidad de revertir la alodinia táctil (aumento de la sensibilidad a un estímulo mecánico inocuo) inducida por la lesión del nervio. Se prepararon quirúrgicamente ratas macho Sprague-Dawley tal como se describe en Kim y Chung "An experimental model for peripheral neuropathy produced by
- 60 segmental spinal nerve ligation in the rat" (1992) *Pain* 50 (3) :355-363. La sensibilidad mecánica se determina como el 50% de las respuestas de retirada a estímulos mecánicos inocuos (Chaplan et al., "Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw" (1994) *J. Neurosci. Methods* 53 (1) :55-63) y antes después de la lesión del nervio. Una a cuatro semanas después de la cirugía, los compuestos se prepararon en vehículos farmacéuticamente aceptables y se administraron por vía sistémica (ip, po). El grado de sensibilidad mecánica inducida por lesión del
- 65 nervio antes y después del tratamiento sirve como un índice de las propiedades antinociceptivas de los compuestos.

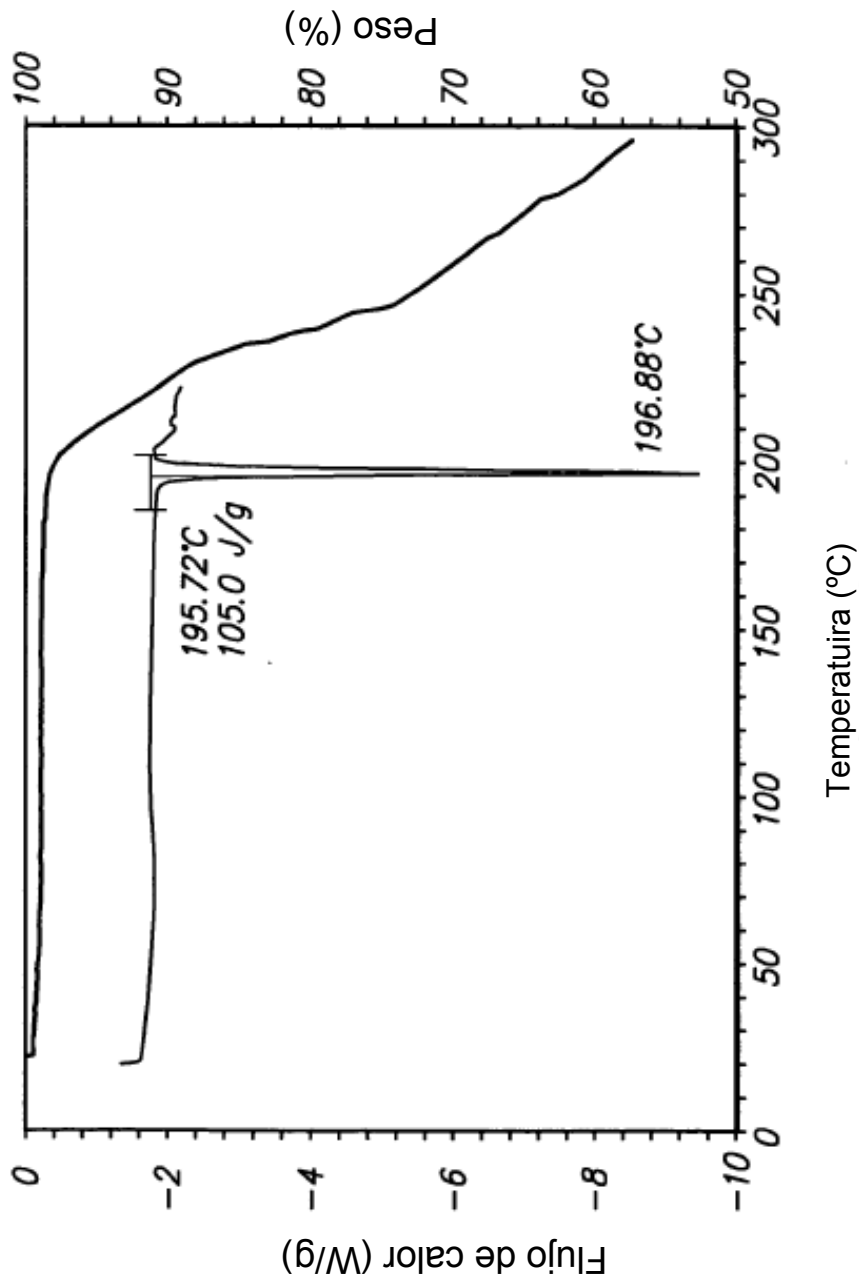
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una sal cristalina de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]-piperidina, que se caracteriza por una difracción de rayos X de polvo que comprende picos de difracción a valores de  $2\theta$  de  $4,44\pm 0,20$ ,  $10,22\pm 0,20$ ,  $17,16\pm 0,20$ , y  $21,78\pm 0,20$ .
- 10 2. El compuesto de la reivindicación 1, que se caracteriza por tener uno o más picos de difracción adicionales a valores de  $2\theta$  seleccionados de  $8,11\pm 0,20$ ,  $13,18\pm 0,20$ ,  $16,06\pm 0,20$ ,  $18,38\pm 0,20$ ,  $23,76\pm 0,20$ ,  $26,32\pm 0,20$ ,  $27,24\pm 0,20$ ,  $29,60\pm 0,20$ , y  $31,94\pm 0,20$ .
- 15 3. El compuesto de la reivindicación 1, que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo en el que las posiciones de los picos están sustancialmente de acuerdo con las posiciones de los picos del patrón que se muestra en la figura. 1.
- 20 4. El compuesto de la reivindicación 1, que se caracteriza por una traza de calorimetría de barrido diferencial que tiene un punto de fusión de aproximadamente  $196,9^\circ\text{C}$ .
- 25 5. El compuesto de la reivindicación 1, que se caracteriza por una traza de calorimetría de barrido diferencial sustancialmente de acuerdo con la que se muestra en la figura. 2.
- 30 6. Una composición farmacéutica que comprende un transportador farmacéuticamente aceptable y el compuesto cristalino de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
- 35 7. La composición de la reivindicación 6, que comprende además un agente terapéutico secundario de entre agentes contra el Alzheimer, anticonvulsivos, antidepresivos, agentes contra el Parkinson, inhibidores duales de la recaptación de serotonina y norepinefrina, agentes antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la recaptación de norepinefrina, agonistas opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de los mismos.
- 40 8. Un procedimiento para preparar la sal del clorhidrato cristalina de la reivindicación 1, que comprende el paso de:
- 45 a) tratar una sal de clorhidrato de 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina con acetato de etilo y etanol hasta la disolución completa;
- 50 b) enfriar para efectuar la cristalización; y
- 55 c) aislar los sólidos resultantes para proporcionar la sal de clorhidrato cristalina de la reivindicación 1.
- 60 9. El proceso de la reivindicación 8, que comprende además los pasos de:
- d) tratar la sal del clorhidrato cristalino con isopropanol y agua para completar la disolución;
- e) enfriar para efectuar la fijación del cristal; y
- f) aislar los sólidos resultantes para proporcionar la sal de clorhidrato cristalina de la reivindicación 1.
10. Un procedimiento para purificar 4-[2-(2,4,6-trifluorofenoximetil)fenil]piperidina que comprende formar la sal de clorhidrato cristalino de la reivindicación 1.
11. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para utilizar en terapia.
12. Un compuesto como el que se reivindica en la reivindicación 11, para utilizar en el tratamiento de un trastorno del dolor, un trastorno depresivo, un trastorno afectivo, un trastorno por déficit de atención con hiperactividad, un trastorno cognitivo, incontinencia urinaria por esfuerzo, síndrome de fatiga crónica, obesidad, , y los síntomas vasomotores asociados a la menopausia.
13. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 11, para utilizar en el tratamiento del trastorno del dolor.
14. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 13, para utilizar cuando el trastorno del dolor es dolor neuropático o fibromialgia.
15. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 11, para utilizar en el tratamiento crónico del dolor lumbar u osteoartritis.



**FIG. 1**





**FIG. 2**

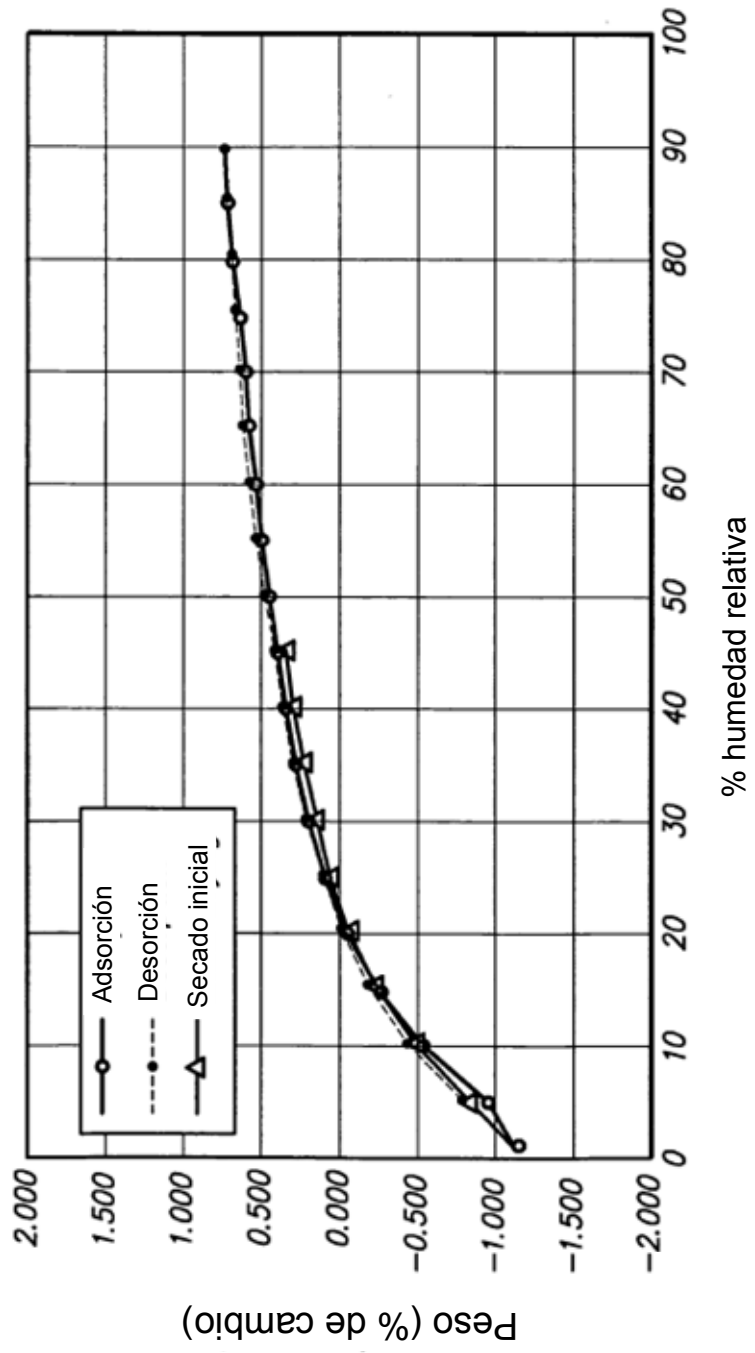
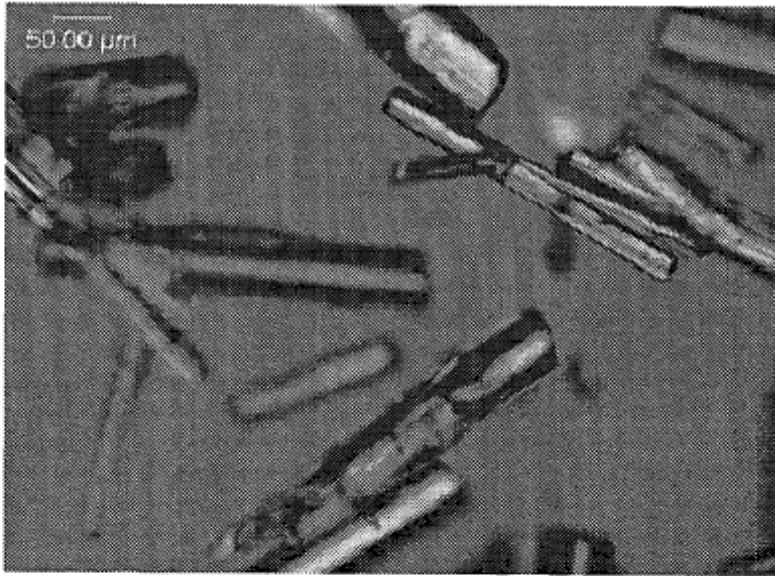
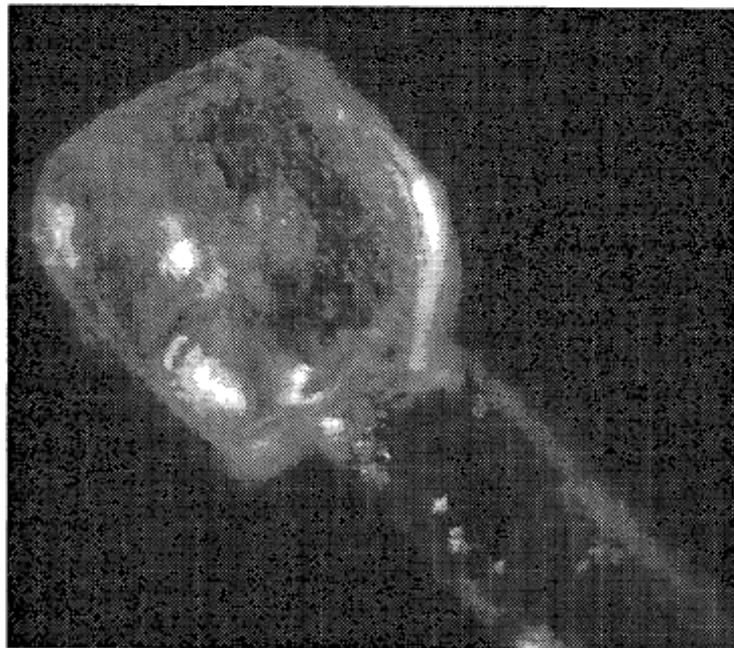


FIG. 3



**FIG. 4**



**FIG. 5**