

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 216**

51 Int. Cl.:

**C07D 403/12** (2006.01)

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61K 31/4353** (2006.01)

**A61K 31/4184** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2010 E 10725373 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2443105**

54 Título: **Nuevos derivados de fenilimidazol como inhibidores de la enzima PDE10A**

30 Prioridad:

**19.06.2009 WO PCT/DK2009/050134**

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

**21.01.2015**

73 Titular/es:

**H. LUNDBECK A/S (100.0%)  
Ottliavej 9  
2500 Valby, DK**

72 Inventor/es:

**RITZEN, ANDREAS;  
KEHLER, JAN;  
LANGGÅRD, MORTEN;  
NIELSEN, JACOB;  
KILBURN, JOHN PAUL y  
FARAH, MOHAMED M.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 527 216 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).

## DESCRIPCION

Nuevos derivados de fenilimidazol como inhibidores de la enzima PDE10A

Campo de la invención

5 La invención proporciona un compuesto que es un inhibidor de la enzima PDE10A, y como tal es útil para tratar trastornos neurodegenerativos y psiquiátricos. La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de la invención y el compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de trastornos.

Antecedentes de la invención

10 Los nucleótidos cíclicos monofosfato de adenosina cíclico (cAMP por sus siglas en inglés) y monofosfato de guanosina cíclico (cGMP por sus siglas en inglés) funcionan como mensajeros secundarios intracelulares que regulan un amplio conjunto de procesos en las neuronas. Los cAMP y cGMP intracelulares están generados por adenil- y guanil-ciclasas, y son degradados por las fosfodiesterasas de los nucleótidos cíclicos (PDEs por sus siglas en inglés). Los niveles intracelulares de cAMP y cGMP están controlados por señalización intracelular, y la estimulación/represión de las adenil- y guanil-ciclasas en respuesta a la activación de los GPCR (receptores acoplados a proteínas G) es un modo bien caracterizado de controlar las concentraciones de nucleótidos cíclicos (Antoni, F.A., *Front Neuroendocrinol.* 2000, 21, 103-132). Los niveles de cAMP y cGMP controlan a su vez la actividad de las cinasas dependientes de cAMP y cGMP al igual que otras proteínas con elementos de respuesta a los nucleótidos cíclicos, que a través de una posterior fosforilación de proteínas y otros procesos regulan las funciones neuronales claves como la transmisión sináptica, diferenciación y supervivencia neuronal.

20 Hay 21 genes de fosfodiesterasas que pueden dividirse en 11 familias de genes. Las PDEs son una clase de enzimas intracelulares que regulan los niveles de cAMP y cGMP vía hidrólisis de los nucleótidos cíclicos en sus respectivos monofosfatos de nucleótidos. Algunas PDEs degradan el cAMP, algunas el cGMP y algunas ambos. La mayoría de las PDEs tiene una expresión generalizada y tienen funciones en muchos tejidos, mientras algunas son más específicas de un tejido.

25 La fosfodiesterasa 10A (PDE10A) es una fosfodiesterasa de especificidad dual que puede convertir ambos cAMP en AMP y cGMP en GMP (Loughney, K. *et al. Gene* 1999, 234, 109-117; Fujishige, K. *et al. Eur. J. Biochem.* 1999, 266, 1118-1127 y Soderling, S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, 96, 7071-7076). La PDE10A se expresa principalmente en las neuronas del cuerpo estriado, núcleo accumbens y en el tubérculo olfatorio (Kotera, J. *et al. Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1999, 261, 551-557 y Seeger, T.F. *et al. Brain Research*, 2003, 985, 113-126).

30 La PDE10A de ratón es el primer miembro identificado de la familia de PDE10A de las fosfodiesterasas (Fujishige, K. *et al. J. Biol. Chem.* 1999, 274, 18438-18445 y Loughney, K. *et al. Gene* 1999, 234, 109-117) y se han identificado las variantes de corte y empalme en N-terminal de ambos genes de rata y ser humano (Kotera, J. *et al. Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1999, 261, 551-557 y Fujishige, K. *et al. Eur. J. Biochem.* 1999, 266, 1118-1127). Existe un alto grado de homología entre las especies. La PDE10A se localiza únicamente en mamíferos respecto a otras familias de PDE. El mRNA para PDE10A está altamente expresado en los testículos y en el cerebro (Fujishige, K. *et al. Eur. J. Biochem.* 1999, 266, 1118-1127; Soderling, S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, 96, 7071-7076 y Loughney, K. *et al. Gene* 1999, 234, 109-117). Estos estudios indican que dentro del cerebro, la más alta expresión de PDE10A está en el cuerpo estriado (núcleo caudado y putamen), núcleo accumbens y en el tubérculo olfatorio. Más recientemente, se ha realizado un análisis del modelo de expresión en el cerebro de roedores del mRNA de PDE10A (Seeger, T.F. *et al. Abst. Soc. Neurosci.* 2000, 26, 345.10) y proteínas de PDE10A (Mennitis, F.S. *et al. William Harvey Research Conference "Phosphodiesterase in Health and Disease"*, Oporto, Portugal, Dic. 5-7, 2001).

La PDE10A se expresa en niveles altos mediante las neuronas espinosas mediales (MSN) del núcleo caudado, del núcleo accumbens y las neuronas correspondientes del tubérculo olfatorio. Estos constituyen el núcleo del sistema de ganglios basales. Las MSN tienen un papel clave en el bucle talamocortical de ganglios córtico-basales, que integra el aporte convergente cortical/talámico, y que envía esta información integrada de vuelta a la corteza. Las MSN expresan dos clases funcionales de neuronas: la clase D<sub>1</sub> que expresa receptores de dopamina D<sub>1</sub> y la clase D<sub>2</sub> que expresa receptores de dopamina D<sub>2</sub>. La clase D<sub>1</sub> de neuronas es parte de la ruta "directa" de salida estriatal, que funciona en líneas generales para facilitar las respuestas de comportamiento. La clase D<sub>2</sub> de neuronas es parte de la ruta "indirecta" de salida estriatal, que funciona para suprimir las respuestas de comportamiento que compiten con las que son facilitadas por la ruta "directa". Estas rutas competitivas actúan como el freno y el acelerador de un coche. A simple vista, la limitación del movimiento en la enfermedad de Parkinson resulta de una sobreactividad de la ruta "indirecta", mientras que el exceso de movimiento en trastornos como la enfermedad de Huntington representa una sobreactividad de la ruta directa. La regulación por la PDE10A de la señalización de cAMP y/o cGMP en el compartimiento dendrítico de estas neuronas puede estar implicada en el filtrado del aporte córtico/talámico en las MSN. Además, la PDE10A puede estar implicada en la regulación de la liberación de GABA en la sustancia negra y globo pálido (Seeger, T.F. *et al. Brain Research*, 2003, 985, 113-126).

El antagonismo del receptor de dopamina D<sub>2</sub> está bien establecido en el tratamiento de la esquizofrenia. Desde la década de 1950, el antagonismo del receptor de dopamina D<sub>2</sub> ha sido el principal pilar en el tratamiento de la psicosis y todos los fármacos antipsicóticos eficaces son antagonistas los receptores D<sub>2</sub>. Los efectos de D<sub>2</sub> probablemente están mediados principalmente por las neuronas en el cuerpo estriado, núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio, puesto que estas áreas reciben las proyecciones dopaminérgicas más densas y tienen la expresión más fuerte de los receptores D<sub>2</sub> (Konradi, C, y Heckers, S. *Society of Biological Psychiatry*, 2001, 50, 729-742). El agonismo del receptor de dopamina D<sub>2</sub> conduce a la disminución de los niveles de cAMP en las células en las se expresa a través de la inhibición de la adenilato-ciclasa, y esto es un componente de la señalización de D<sub>2</sub> (Stoof, J. C.; Keabian J. W. *Nature* 1981, 294, 366-368 y Neve, K. A. *et al. Journal of Receptors and Signals Transduction* 2004, 24, 165-205). A la inversa, el antagonismo del receptor D<sub>2</sub> aumenta eficazmente los niveles de cAMP, y este efecto puede ser imitado por la inhibición de las fosfodiesterasas que degradan el cAMP.

Muchos de los 21 genes de fosfodiesterasas están ampliamente expresados; por lo tanto es probable que la inhibición tenga efectos secundarios. Debido a que la PDE10A, en este contexto, tiene el perfil de expresión deseado con una expresión alta y relativamente específica en las neuronas del cuerpo estriado, núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio, la inhibición de PDE10A es probable que tenga efectos similares al antagonismo del receptor D<sub>2</sub> y por lo tanto tenga efectos antipsicóticos.

Aunque se espera que la inhibición de PDE10A imite en parte el antagonismo del receptor D<sub>2</sub>, se puede esperar que tenga un perfil diferente. El receptor D<sub>2</sub> tiene componentes de señalización además del cAMP (Neve, K. A. *et al. Journal of Receptors and Signal Transduction* 2004, 24, 165-205), por cuya razón la interferencia con cAMP a través de la inhibición de PDE10A puede modular negativamente en lugar de antagonizar directamente la señalización de dopamina a través de los receptores D<sub>2</sub>. Esto puede reducir el riesgo de los efectos secundarios extrapiramidales que se observan con el fuerte antagonismo de D<sub>2</sub>. A la inversa, la inhibición de PDE10A puede tener algunos efectos no vistos con el antagonismo del receptor D<sub>2</sub>. La PDE10A se expresa también en los receptores D<sub>1</sub> que se expresan en las neuronas del cuerpo estriado (Seeger, T. F. *et al. Brain Research*, 2003, 985, 113-126). Puesto que el agonismo del receptor D<sub>1</sub> conduce a la estimulación de la adenilato-ciclasa y resulta en el aumento de los niveles de cAMP, la inhibición de PDE10A es probable que tenga también efectos que imiten el agonismo del receptor D<sub>1</sub>. Finalmente, la inhibición de PDE10A no solamente aumentará el cAMP en las células, sino que se puede esperar también que aumente los niveles de cGMP, puesto que la PDE10A es una fosfodiesterasa de especificidad dual. El cGMP activa una serie de proteínas diana en las células como el cAMP y también interactúa con las rutas de señalización del cAMP. En conclusión, la inhibición de PDE10A es probable que imite el antagonismo del receptor D<sub>2</sub> en parte y por lo tanto tenga un efecto antipsicótico, pero el perfil puede diferir del observado con los antagonistas clásicos del receptor D<sub>2</sub>.

El inhibidor de la PDE10A, papaverina, se muestra activo en varios modelos antipsicóticos. La papaverina potenciaba el efecto cataléptico del antagonista del receptor D<sub>2</sub> haloperidol en ratas, pero no causaba catalepsia por sí misma (documento WO 03/093499). La papaverina reducía la hiperactividad en ratas inducidas por PCP (fenciclidina), mientras la reducción de la hiperactividad inducida por la anfetamina era insignificante (documento WO 03/093499). Estos modelos sugieren que la inhibición de la PDE10A tiene el potencial antipsicótico clásico que se esperaría a partir de consideraciones teóricas. El documento WO 03/093499 describe además el uso de inhibidores de PDE10 selectivos para el tratamiento de trastornos neurológicos psiquiátricos asociados. Además, la inhibición de PDE10A invierte los déficits subcrónicos inducidos por la PCP en el desplazamiento de la atención en las ratas (Rodefer *et al. Eur. J. Neurosci.* 2005, 4, 1070-1076). Este modelo sugiere que la inhibición de PDE10A podría aliviar los déficits cognitivos asociados a la esquizofrenia.

La distribución en los tejidos de la PDE10A indica que los inhibidores de PDE10A pueden usarse para aumentar los niveles de cAMP y/o cGMP en células que expresan la enzima PDE10, especialmente neuronas que comprenden los ganglios basales, y los inhibidores de PDE10A de la invención serían útiles por lo tanto en el tratamiento de una variedad de estados neuropsiquiátricos asociados que implican los ganglios basales como trastornos psiquiátricos y neurológicos, esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno obsesivo compulsivo, y similares, y puede tener el beneficio de no poseer efectos secundarios no deseados, que están asociados con las terapias actuales en el mercado.

Además, las publicaciones recientes (documentos WO 2005/120514, WO 2005012485, Cantin *et al.* *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 (2007) 2869-2873 sugieren que los inhibidores de PDE10A pueden ser útiles para el tratamiento de la obesidad y de la diabetes no dependiente de insulina.

Con respecto a los inhibidores de PDE10A, el documento EP 1250923 describe el uso de inhibidores de PDE10A selectivos en general, y de la papaverina en particular, para el tratamiento de ciertos trastornos neurológicos y psiquiátricos.

El documento WO 05/113517 describe compuestos estereoespecíficos de benzodiazepina como inhibidores de fosfodiesterasas, especialmente los tipos 2 y 4, y la prevención y tratamiento de patologías que implican un trastorno central y/o periférico. El documento WO 02/88096 describe derivados de benzodiazepina y sus usos como inhibidores de fosfodiesterasas, especialmente del tipo 4 en el campo terapéutico. El documento WO 04/41258 describe derivados de benzodiazepina y sus usos como inhibidores de fosfodiesterasas, especialmente del tipo 2 en el campo terapéutico.

Las pirrolohidroisoquinolinas y sus variantes se describen como inhibidores de la PDE10 en los documentos WO 05/03129 y WO 05/02579. Las quinazolinas e isoquinolinas sustituidas con piperidinilo que sirven como inhibidores de la PDE10 se describen en el documento WO 05/82883. El documento WO 06/11040 describe compuestos de quinazolina e isoquinolina sustituidas que sirven como inhibidores de la PDE10. El documento US 20050182079 describe derivados de quinazolina e isoquinolina sustituida con tetrahidroisoquinolinilo que sirven como inhibidores eficaces de fosfodiesterasas (PDE). En particular, el documento US 20050182079 se refiere a dichos compuestos, que son inhibidores selectivos de la PDE10. Análogamente, el documento US 20060019975 describe derivados de quinazolina e isoquinolina con piperidina que sirven como inhibidores eficaces de fosfodiesterasas (PDE). El documento US 20060019975 se refiere también a compuestos que son inhibidores selectivos de la PDE10. El documento WO 06/028957 describe derivados de cinolina como inhibidores de fosfodiesterasas tipo 10 para el tratamiento de síndromes psiquiátricos y neurológicos. Sin embargo, estas descripciones no tienen relación con el compuesto de la invención, que no están estructuralmente relacionados con ninguno de los inhibidores conocidos de la PDE10 (Kehler, J. *et al. Expert Opin. Ther. Patents* 2007, 17, 147-158).

El compuesto de la invención se describe por primera vez en el documento WO 09/152825 del cual se reivindica la prioridad de la solicitud. El compuesto de la invención prueba ser un inhibidor de la enzima PDE10A eficaz y un compuesto activo in vivo que revierte la hiperactividad inducida por PCP en un 99% y puede por lo tanto ofrecer alternativas a los tratamientos actuales en el mercado para los trastornos neurodegenerativos y/o psiquiátricos, que no son eficaces en todos los pacientes. Por lo tanto, hay una necesidad de métodos alternativos de tratamiento.

#### Sumario de la invención

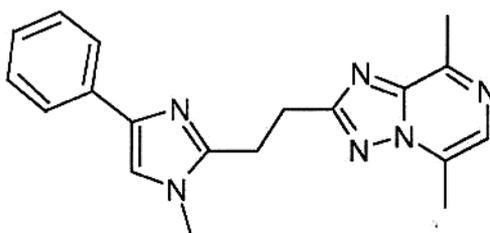
El objetivo de la invención es proporcionar un compuesto que sea un inhibidor selectivo de la enzima PDE10A.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un compuesto que tenga dicha actividad, y tenga, buena, preferiblemente mejorada, solubilidad, estabilidad metabólica y/o biodisponibilidad comparado con los compuestos de la técnica anterior.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un tratamiento eficaz, en particular tratamiento a largo plazo, de un paciente humano, sin causar los efectos secundarios asociados típicamente con las terapias actuales para los trastornos neurológicos y psiquiátricos.

Otros objetivos de la invención se harán evidentes al leer la especificación.

De acuerdo con esto, la invención se refiere al compuesto 5,8-dimetil-2-[2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-etil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina de fórmula I:



Fórmula I – compuesto de la invención

En el contexto de la presente solicitud la expresión “compuesto de la invención” incluye 5,8-dimetil-2-[2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-etil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina de fórmula I y sus sales de diferentes pH.

La invención proporciona además el compuesto de la invención, o una de sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, para uso como un medicamento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona además el uso del compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico.

La invención proporciona además el compuesto de la invención para uso en el tratamiento de un trastorno psiquiátrico elegido entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo de tipo paranoide, desorganizada, catatónica, no diferenciada, o residual; trastorno esquizofrenicoide; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o de tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol,

anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.

Descripción detallada de la invención

5 En toda esta solicitud los términos PDE 10, PDE 10A y enzima PDE 10A se usan de manera intercambiable.

El compuesto de la invención tiene, cuando se ensaya como se describe en la sección ensayo de inhibición de la enzima PDE10A, un valor de  $CI_{50}$  de aproximadamente 2,2 nM que lo hace útil como compuesto para la inhibición de la actividad de la enzima PDE 10A.

10 Además, el compuesto ha sido ensayado por su capacidad para revertir la hiperactividad inducida por la fenciclidina (PCP). La reversibilidad del efecto de la PCP se mide tal como se describe en la sección "hiperactividad inducida por la fenciclidina (PCP)". El experimento muestra que el compuesto de la invención es un compuesto activo *in vivo* que revierte la hiperactividad inducida por la PCP al 99%.

Sales farmacéuticamente aceptables

15 La invención también comprende sales del compuesto de la invención, típicamente, sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales incluyen sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición incluyen sales de ácidos inorgánicos al igual que ácidos orgánicos.

20 Los ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, sulfámico, nítrico y similares. Ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácidos fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, glicólico, itacónico, láctico, metanosulfónico, maléico, málico, malónico, madélico, oxálico, pírico, pirúvico, salicílico, succínico, metanosulfónico, etanosulfónico, tartárico, ascórbico, pamoico, bismetilen-salicílico, etanodisulfónico, glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, EDTA, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ácidos teofilin-acéticos, al igual que 8-haloteofilinas, por ejemplo 8-bromoteofilina y similares. Otros ejemplos de sales de adición de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente  
25 aceptables incluyen las sales farmacéuticamente aceptables listadas en Berge, S.M. et al. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 2, cuyo contenido se incorpora en este texto como referencia.

Además, el compuesto de esta invención puede existir en formas no solvatadas al igual que solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tal como agua, etanol y similares. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de la esta invención.

30 Composiciones farmacéuticas

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

35 El compuesto de la invención puede administrarse solo o en combinación con vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables, bien en dosis únicas o múltiples. Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables al igual que cualquier otro adyuvante o excipiente conocidos de acuerdo con técnicas convencionales como aquellas descritas en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19ª Edición, Gennaro, Ed. Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

40 Las composiciones farmacéuticas pueden formularse específicamente para administración por cualquier vía adecuada como vías oral, rectal nasal, pulmonar, tópica (incluido bucal y sublingual), transdérmica, intracisternal, intraperitoneal, vaginal y parenteral (incluida subcutánea, intramuscular, intratecal, intravenosa e intradérmica). Se apreciará que la vía dependerá del estado general y edad del paciente a tratar, la naturaleza de la enfermedad a tratar y el ingrediente activo.

45 Las composiciones farmacéuticas para administración oral incluyen formas farmacéuticas sólidas como cápsulas, comprimidos, grageas, píldoras, comprimidos para chupar, polvos y gránulos. Cuando es apropiado, las composiciones pueden prepararse con recubrimientos como recubrimientos entéricos o pueden formularse de manera a proporcionar una liberación controlada del ingrediente activo como una liberación sostenida o prolongada según métodos bien conocidos en la técnica. Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones, siropes y elixires.

50 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones inyectables acuosas y no acuosas estériles, dispersiones, suspensiones o emulsiones al igual que polvos estériles para ser reconstituidas en soluciones o dispersiones inyectables estériles antes de su uso. Otras formas de administración adecuadas incluyen,

sin ser limitantes, supositorios, pulverizaciones, ungüentos, cremas, geles, inhalantes, parches dérmicos e implantes.

5 Las dosis orales típicas del compuesto de la invención están en un intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. Las dosis orales típicas también están en un intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día. Las dosis orales típicas del compuesto de la invención además están en un intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día. Las dosis orales se administran habitualmente en una o más dosis, típicamente, una a tres dosis por día. La dosis exacta dependerá de la frecuencia y modo de administración, el sexo, la edad, peso y estado general del paciente a tratar, la naturaleza y severidad de la enfermedad a tratar y cualquier enfermedad concomitante a tratar y otros factores evidentes a los expertos en la técnica.

10 Las composiciones pueden presentarse también en una forma farmacéutica unitaria por métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica. Con fines ilustrativos, una forma farmacéutica unitaria típica para administración oral puede contener de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 200 mg del compuesto de la invención.

15 Para las vías parenterales como administración intravenosa, intratecal, intramuscular y similares, las dosis típicas son del orden de la mitad de la dosis empleada para administración oral.

La invención también proporciona un procedimiento para fabricar una composición farmacéutica que comprende mezclar el compuesto de la invención y al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20 El compuesto de esta invención se utiliza generalmente como sustancia libre o como una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25 Para la administración parenteral, se pueden emplear las soluciones estériles del compuesto de la invención en solución acuosa, propilenglicol acuoso, vitamina E acuosa o aceite de sésamo o cacahuete. Tales soluciones acuosas deberían ser adecuadamente tamponadas si fuera necesario y el diluyente líquido se hace primero isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Las soluciones acuosas son particularmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. El compuesto de la invención puede incorporarse rápidamente en medios acuosos estériles conocidos usando técnicas estándares conocidas por aquellos expertos en las técnicas.

30 Los vehículos farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o cargas sólidos inertes, soluciones acuosas estériles y varios disolventes orgánicos. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, talco, gelatina, agar-agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico y éteres de celulosa con alquilos inferiores. Los ejemplos de vehículos líquidos incluyen, sin ser limitantes, jarabes, aceite de cacahuete, aceite de oliva, fosfolípidos, ácidos grasos, aminas de ácidos grasos, polioxietileno y agua. Similarmente, el vehículo o diluyente puede incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica, como monoestereato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o mezclado con una cera. Las composiciones farmacéuticas formadas al combinar el compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable se administran luego rápidamente en una variedad de formas farmacéuticas adecuadas para las vías de administración descritas. Las composiciones pueden presentarse convenientemente en una forma farmacéutica unitaria mediante métodos conocidos en la técnica de la farmacia.

35 40 Las composiciones de la invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas como cápsulas o comprimidos, conteniendo cada una cantidad predeterminada del ingrediente activo, y opcionalmente un excipiente adecuado. Además, las composiciones oralmente disponibles pueden estar en forma de un polvo o gránulos, una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o una emulsión líquida aceite-en-agua o agua-en-aceite.

45 Si se usa un vehículo sólido para administración oral, la preparación puede comprimirse, situarse en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o pelet o puede estar en la forma de una pastilla o comprimido para chupar. La cantidad de vehículo sólido podrá variar ampliamente pero estará en un intervalo de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosis. Si se usa un vehículo líquido, la preparación puede estar en forma de un sirope, emulsión, cápsula de gelatina blanda o líquido inyectable estéril como una suspensión o solución líquida acuosa o no acuosa.

50 55 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse mediante métodos convencionales de la técnica. Por ejemplo, los comprimidos pueden prepararse mezclando el ingrediente activo con adyuvantes y/o diluyentes ordinarios y posteriormente comprimir la mezcla en una máquina de comprimir convencional para preparar comprimidos. Los ejemplos de adyuvantes o diluyentes comprenden: almidón de maíz, almidón de patata, talco, estearato de magnesio, gelatina, lactosa, gomas, y similares. Se puede usar cualquier otro adyuvante o aditivo usados habitualmente para tales propósitos como colorantes, aromatizantes, conservantes, etc siempre que sean compatibles con los ingredientes activos.

Tratamiento de trastornos

Tal como se ha mencionado anteriormente, el compuesto de la invención es un inhibidor de la enzima PDE10A y por lo tanto útil para tratar trastornos neurológicos y psiquiátricos asociados.

5 La invención proporciona por lo tanto un compuesto de fórmula I, el compuesto de la invención al igual que una composición farmacéutica que contiene tal compuesto, para uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo, trastorno psiquiátrico o adicción a drogas en pacientes; donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infarto, demencia por alcohol u otras demencias relacionadas con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o demencia relacionada con el SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; deterioro cognitivo relacionado con la edad; y donde el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, amfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide; y donde la adicción a las drogas es una adicción al alcohol, amfetamina, cocaína, u opioides.

20 El compuesto de la invención puede usarse en combinación con uno o más otros fármacos en el tratamiento de enfermedades o estados para los cuales el compuesto de la invención tiene utilidad, donde la combinación de los fármacos juntos es más segura o más eficaz que cualquier fármaco solo. Adicionalmente, el compuesto de la invención puede usarse en combinación con uno o más fármacos que tratan, previenen, controla, alivian, o reducen el riesgo de efectos secundarios o toxicidad del compuesto de la invención. Tales otros fármacos pueden administrarse, mediante una vía y en una cantidad usada habitualmente por lo tanto, de forma simultánea o secuencial con el compuesto de la invención. De acuerdo con esto, las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen aquellas que contienen uno o más ingredientes activos, además del compuesto de la invención. Las combinaciones pueden administrarse como parte de un producto en combinación con una forma farmacéutica unitaria, o como un kit o protocolo de tratamiento donde se administran uno o más fármacos en formas farmacéuticas separadas como parte de un régimen de tratamiento.

30 El compuesto de la invención puede administrarse en combinación con al menos un agente neuroléptico (que puede ser un agente antipsicótico típico o atípico) para proporcionar un tratamiento mejorado de los trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia. Las combinaciones, usos y métodos de tratamiento de la invención pueden proporcionar también ventajas en el tratamiento de pacientes que no responden adecuadamente o que son resistentes a otros tratamientos conocidos.

35 La expresión "agente neuroléptico" tal como se usa en este texto se refiere a fármacos, que tienen efecto sobre la cognición o comportamiento, fármacos agentes antipsicóticos que reducen la confusión, delirios, alucinaciones, y agitación psicomotriz en pacientes con psicosis. Conocidos también como fármacos tranquilizantes y antipsicóticos, los agentes neurolépticos incluyen, sin ser limitantes: fármacos antipsicóticos típicos, incluidas fenotiazinas, que se dividen además en alifáticas, piperidinas, y piperazinas, tioxantenos (p.ej. cisordinol), butirofenonas (p.ej. haloperidol), dibenzoxazepinas (p.ej., loxapina), dihidroindolonas (p.ej. molindona), difenilbutilpiperidinas (p.ej. pimozida), y fármacos antipsicóticos atípicos, incluido benzisoxazoles (p.ej. risperidona), sertindol, olanzapina, quetiapina, osanetant y ziprasidona.

Son particularmente preferidos los agentes neurolépticos para uso en la invención sertindol, olanzapina, risperidona, quetiapina, aripiprazol, haloperidol, clozapina, ziprasidona y osanetant.

45 La expresión "adicción a las drogas", tal como se usa en este texto, significa un deseo anormal por una droga y se caracteriza generalmente por alteraciones motivacionales como una compulsión por tomar la droga deseada y episodios de intensa ansia por la droga.

50 La adicción a las drogas se considera en términos generales como un estado patológico. El trastorno de adicción implica la progresión del abuso de drogas hasta el desarrollo de un comportamiento de busca de la droga, la vulnerabilidad para las recaídas, y la reducción y ralentización de la capacidad para responder a estímulos naturalmente gratificantes. Por ejemplo, The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Cuarta Edición (DSM-IV) ha catalogado tres etapas de la adicción: obsesión/anticipación, consumo compulsivo/intoxicación, y síndrome de abstinencia/efecto negativo. Estas etapas se caracterizan, respectivamente, en todas partes por ansias y obsesión constantes por obtener la sustancia; usando más cantidad de sustancia de la necesaria para experimentar los efectos intoxicantes; y experimentar los síntomas de tolerancia, síndromes de abstinencia, y disminución de la motivación por actividades de la vida normal.

Otros trastornos que pueden tratarse según la invención son trastornos obsesivo/compulsivo, síndrome de Tourette y otros trastornos de tics.

5 Tal como se usa en este texto, y a menos que se indique lo contrario, un “trastorno o estado neurodegenerativo” se refiere a un trastorno o estado que está causado por la disfunción y/o la muerte de neuronas en el sistema nervioso central. El tratamiento de estos trastornos y estados pueden facilitarse con la administración de un agente que previene la disfunción o muerte de las neuronas en riesgo en estos trastornos o estados y/o mejora la función de las neuronas dañadas o sanas de modo que se compense por la pérdida de la función causada por la disfunción o muerte de neuronas en riesgo. La expresión “agente neurotrófico” tal como se usa en este texto se refiere a una sustancia o agente que tiene algunas o todas estas propiedades.

10 Los ejemplos de los trastornos y estados neurodegenerativos que pueden tratarse según la invención incluyen, sin ser limitantes, enfermedad de Parkinson; enfermedad de Huntington; demencia, por ejemplo enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infarto, demencia relacionada con el SIDA, y demencia fototemporal; neurodegeneración asociada con trauma cerebral; neurodegeneración asociada con ictus, neurodegeneración asociada con infarto cerebral; neurodegeneración inducida por hipoglucemia; neurodegeneración asociada con ataque epiléptico; neurodegeneración asociada con intoxicación por neurotoxinas; y atrofia multi-sistema.

15 En una realización de la invención, el trastorno o estado neurodegenerativo implica la neurodegeneración de las neuronas espinosas mediales del cuerpo estriado en un paciente.

En otra realización de la invención, el trastorno o estado neurodegenerativo es la enfermedad de Huntington.

En otra realización, la invención proporciona el compuesto de la invención para uso en un método para tratar un paciente para reducir la grasa corporal o peso corporal, o tratar la diabetes mellitus no dependiente de insulina (NIDDM por sus siglas en inglés), síndrome metabólico, o intolerancia a la glucosa.

20 En algunas realizaciones, el paciente tiene sobrepeso o es obeso y el compuesto de la invención se administra oralmente. En otra realización preferida de la invención, el método comprende además la administración de un segundo agente terapéutico al paciente, preferiblemente un agente anti-obesidad, p.ej., rimonabant, orlistat, sibutramina, bromocriptina, efedrina, leptina, pseudoefedrina, o péptido YY3-36, o sus análogos.

25 La expresión “síndrome metabólico” tal como se usa en este texto se refiere a una diversidad de estados donde la gente tiene un alto riesgo de enfermedad de las arterias coronarias. Estos estados incluyen diabetes de tipo 2, obesidad, presión sanguínea alta, y un pobre perfil de lípidos con colesterol LDL alto (“malo”), colesterol HDL bajo (“bueno”), y triglicéridos altos. Todos estos estados están asociados a niveles altos de insulina en sangre. El defecto fundamental en el síndrome metabólico es la resistencia a la insulina en ambos tejido adiposo y músculo.

30 Los títulos y subtítulos se usan en este texto solamente por conveniencia, y no deben interpretarse como limitantes de la invención de ninguna manera.

El uso de cualquiera o todos los ejemplos, o lenguaje de los ejemplos (incluido “por caso”, “por ejemplo”, “p.ej.”, y “como”) en la especificación presente pretende meramente ilustrar mejor la invención, y no supone una limitación al alcance de la invención a menos que se indique lo contrario.

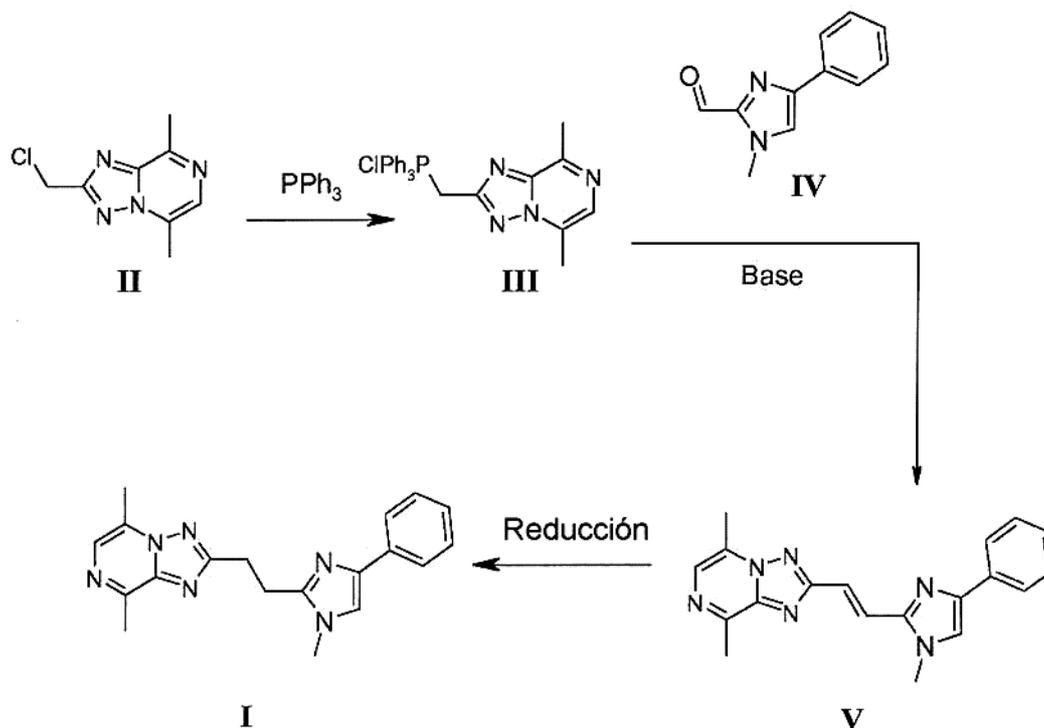
35 La citación e incorporación de los documentos de patentes en este texto se hace solamente por conveniencia, y no refleja ninguna visión de validez, patentabilidad y/o exigibilidad de tales documentos de patente.

La invención incluye todas las modificaciones y equivalentes del tratamiento del paciente citado en las reivindicaciones adjuntas, tal como permite la ley en vigor.

#### Sección Experimental

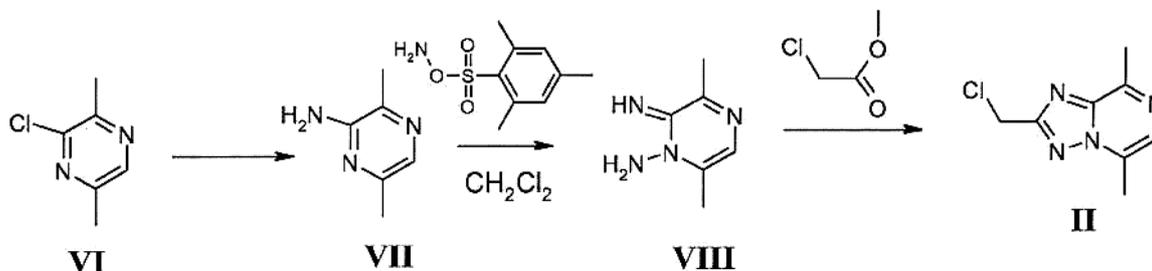
##### Preparación del compuesto de la invención

40 El compuesto de la invención puede prepararse tal como se describe en el esquema de la reacción siguiente 1



Especialmente, los compuestos de la presente invención pueden prepararse por reducción de un alqueno de fórmula V por hidrogenación usando un catalizador de metal de transición, como un metal paladio, junto con una fuente de hidrógeno, como un gas hidrógeno, hidrogenocarbonato de amonio, o ciclohexadieno. Dichos alquenos de fórmula V pueden prepararse por reacción de Wittig entre una sal de fosfonio de fórmula III y un aldehído de fórmula IV en un disolvente adecuado, como tetrahidrofurano, en presencia de una base adecuada, como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. La sal de fosfonio de fórmula III es fácilmente asequible por reacción de compuestos de fórmula II con trifetilfosfina por métodos conocidos por los químicos expertos en la técnica. Los aldehídos de fórmula IV son fácilmente asequibles y conocidos en la técnica tal como se describen en p.ej. Journal of Medicinal Chemistry (2009), 52(21), 6535-6538, o en los documentos WO-2004024705 y US -4826833.

El electrófilo II (esquema 2) puede prepararse a partir de dimetilcloropirazina de fórmula VI conocido en la técnica tal como se describe en p.ej. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry 1996, (19), 2345-2350 y Journal of Heterocyclic Chemistry (1981), 18(3), 555-8. El compuesto VI puede convertirse en la aminopirazina de fórmula VII tal como se describe en la bibliografía p.ej. Science of Synthesis (2004) 16 751-844 y Synthesis 1994, (9), 931-4. La aminación de heterociclos de seis miembros como pirazinas de fórmula VIII usando un reactivo de aminación electrofílico como p.ej. o-mesitilensulfonilhidroxilamina es bien conocido en la técnica tal como se describe en p.ej. Organic Process Research & Development 2009, 13, 263-267. La reacción del compuesto de fórmula VIII con metil-cloroacetato da el electrófilo II.



20 Esquema 2.

La invención descrita en este texto se ilustra mayormente mediante los ejemplos siguientes no limitantes.

Métodos generales

Los datos de LC-MS analíticos se obtuvieron usando uno de los siguientes métodos:

Método A:

Se usaron un instrumento PE Sciex API 150EX equipado de fotoionización a presión atmosférica y un sistema Shimadzu LC-8A/SLC-10A LC. Columna: columna 4,6 x 30 mm Waters Symmetry C18 con 3,5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula; temperatura de la columna: 60°C; sistema de disolventes: A= agua/ácido trifluoroacético (100:0,05) y B= agua/acetonitrilo/ácido trifluoroacético (5:95:0,035); Método: elución en gradiente lineal con A:B= 90:10 a 0:100 en 2,4 minutos y con un flujo de 3,3 mL/min.

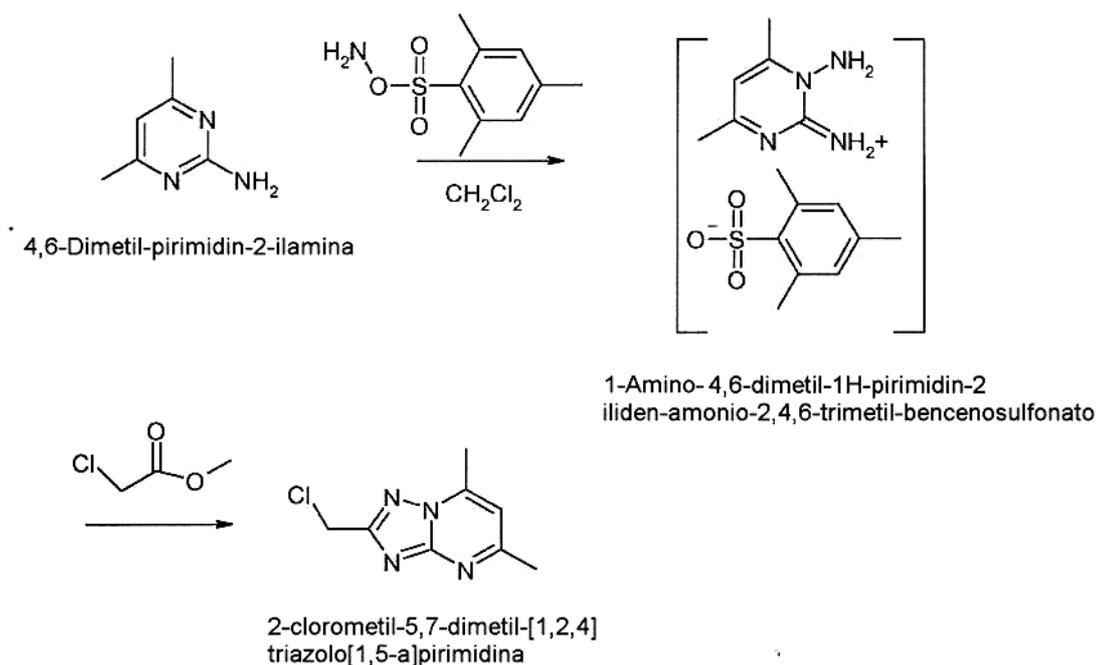
La purificación LC-MS preparativa se llevó a cabo con un instrumento PE Sciex API 150EX con ionización química a presión atmosférica. Columna: 50 x 20 mm YMC ODS-A con 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula; Método: elución en gradiente lineal con A:B= 80:20 a 0:100 en 7 minutos y con un flujo de 22,7 mL/minuto. La recogida de fracciones se llevó a cabo por detección MS con división de flujo (split-flow).

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  se registraron a 500,13 MHz en un equipo Bruker Avance AV500 o a 250,13 MHz en un equipo Bruker Avance DPX250. Se usó TMS como referencia interna estándar. Los valores de desplazamientos químicos se expresan en ppm. Las abreviaciones siguientes se usan para la multiplicidad de las señales de RMN: s= singlete, d= doblete, t= triplete, c=cuartete, q=quintuplete, h=heptete, dd= doble doblete, dt= doble triplete, dc= doble cuartete, tt= triplete de tripletes, m= multiplete, br s= singlete ancho, br= señal ancha (por sus siglas en inglés).

Las abreviaciones son conforme a la ACS Style Guide: "The ACS StyleGuide – A manual for authors and editors" Janet S. Dodd, Ed. 1997, ISBN: 0841234620.

Preparación de intermedios

20 2-Clorometil-5,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina



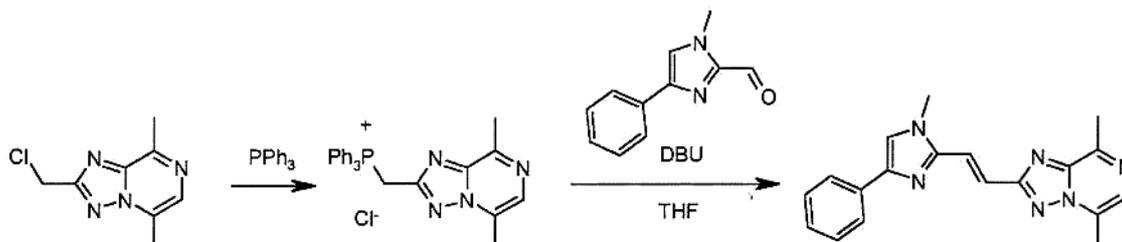
Sobre una solución de 4,6-dimetil-pirimidin-2-ilamina (25g, 200 mmol) en 400 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se añadió gota a gota una solución de hidroxilamina-2,4,6-trimetil-bencenosulfonato (105 g, 488 mmol) en 300 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a 0°C, y la mezcla se agitó a 0°C durante 1h y se filtró. El sólido recogido se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL) para dar 1-amino-4,6-dimetil-1H-pirimidin-2-iliden-amonio 2,4,6-trimetil-bencenosulfonato (40 g, rendimiento: 62%).

Se agitó una mezcla de 1-amino-4,6-dimetil-1H-pirimidin-2-iliden-amonio 2,4,6-trimetil-bencenosulfonato (40 g, 0,1 mol) y NaOH (10 g, 0,2 mol) en 500 mL de EtOH a 50~60°C durante 1 hora. Después se añadió metil éster del ácido cloroacético (16,6 g, 0,15 mol), la mezcla resultante se agitó a reflujo durante 4 horas. Después de concentrarse bajo presión reducida, el residuo se diluyó con agua (1000 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (300 mL x 3). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con sal muera (200 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron, y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 2/1) para dar 2 g de 2-Clorometil-5,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina con un 9% de rendimiento. RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8,55 (s, 1H), 6,25 (s, 2H), 4,05 (s, 3H), 3,95 (s, 3H); LC-MS ( $\text{MH}^+$ ):  $m/z$ = 196,9,  $t_R$  (min, método A)= 0,52

El intermedio siguiente se prepare de manera análoga:

2-Clorometil-5,8-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina a partir de 2-amino-3,6-dimetilpirazina. Rendimiento del 60%, RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,91 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 2,91 (s, 3H), 2,74 (s, 3H); LC-MS:  $m/z$ = 196,9 (MH $^+$ ),  $t_R$  = 0,64 min, método A

5 *Trans*-5,8-dimetil-2-[(E)-2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-vinil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina



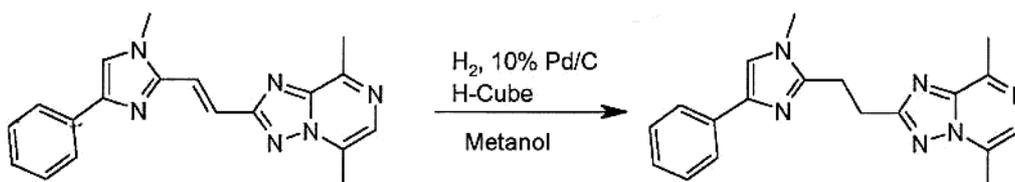
Una solución de 2-clorometil-5,8-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina (1,351 g, 6,87 mmol) y trifetilfosfina (1,80 g, 6,87 mmol) en acetonitrilo 150 mL se calentó a reflujo durante 12 h. Los disolventes se retiraron a vacío y el residuo se suspendió en éter, se filtró y se secó para dar 5,8-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetil)-trifenil-fosfonio; cloruro como un sólido blanco (2,412 g, 74,9%). LC-MS  $m/z$ = 423,2 ([M-Cl] $^+$ ),  $t_R$ = 0,86 min., método A.

Se añadió una solución de 1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-carbaldehído (220 mg, 1,18 mmol) en THF seco a (5,8-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetil)-trifenil-fosfonio; cloruro (500 mg, 1,18 mmol) bajo argón y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (176  $\mu\text{L}$ , 1,18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2h después de lo cual se evaporó sobre gel de sílice (2 g). La cromatografía sobre gel de sílice (gradiente de elución; A:B 50:50  $\rightarrow$  100:0, donde A es acetato de etilo y B es heptano) condujo al compuesto deseado (334 mg, 79%) como un sólido blanco. LC-MS:  $m/z$ = 331,4 (MH $^+$ ),  $t_R$  = 0,65 min, método A.

Preparación del compuesto de la invención

Ejemplo 1

5,8-Dimetil-2-[2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-etil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina



Se pasó una solución de *trans*-5,8-dimetil-2-[(E)-2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-vinil]-imidazo[1,2-a]pirazina (330 mg, 1,0 mmol) en metanol (50 mL) a través de un Reactor de Hidrogenación de flujo continuo H-Cube® (ThalesNano) a un flujo de 1 mL/min a través de un cartucho pequeño de Pd/C al 10% (THS01111) con una temperatura interna de 25°C y 1 bar de presión de hidrógeno. La evaporación de los volátiles condujo al compuesto del título (178 mg, 51%). LC-MS:  $m/z$ = 333,2 (MH $^+$ ),  $t_R$  = 0,57 min, método A.

Ensayos farmacológicos

Enzima PDE10A

La enzima PDE10A activa se prepara de diversas maneras para uso en ensayos de PDE (Loughney, K. *et al. Gene* 1999, 234, 109-117; Fujishige, K. *et al. Eur. J. Biochem.* 1999, 266, 1118-1127 y Soderling, S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, 96, 7071-7076). La PDE10A puede expresarse como proteínas de longitud completa o como proteínas truncadas, en tanto que expresen el dominio catalítico. La PDE10A puede prepararse en diferentes tipos de células, por ejemplo células de insecto o *E. coli*. Un ejemplo de un método para obtener PDE10A catalíticamente activa es como sigue: el dominio catalítico de la PDE10A humana (aminoácidos 440-779 de la secuencia con número de acceso NP 006652) se amplifica a partir de ARN total de cerebro humano mediante RT-PCR estándar y se clona en los sitios BamH1 y Xho1 del vector pET28a (Novagen). La expresión en *coli* se lleva a cabo según los protocolos estándar. En resumen, los plásmidos de expresión se transforman en la cepa de *E. coli* BL21 (DE3), y se dejaron crecer 50 mL de cultivos inoculados con las células hasta una DO 600 de 0,4-0,6 antes de que la expresión de la

5 proteína sea inducida con IPTG 0,5 mM. Después de la inducción, las células se incuban durante toda la noche a temperatura ambiente, después de lo cual se recogen las células por centrifugación. Las células que expresan PDE10A se resuspenden en 12 mL (TRIS-HCl 50 mM pH 8.0, MgCl<sub>2</sub> 1 mM e inhibidores de proteasa). Las células se lisan por ultrasonidos, y después de que todas las células sean lisadas, se añade TritonX100 según los protocolos de Novagen. La PDE10A se purifica parcialmente sobre sefarosa Q y se juntan las fracciones más activas.

#### Ensayo de inhibición de la PDE10A

10 Un ensayo de la PDE10A por ejemplo, se puede llevar a cabo según sigue: el ensayo se lleva a cabo en muestras de 60 uL que contienen una cantidad fija de la enzima PDE relevante (suficiente para convertir 20-25% del sustrato nucleótido cíclico), un tampón (HEPES 50 mM 7,6; MgCl<sub>2</sub> 10 mM; Tween20 0,02%), 0,1 mg/ml de BSA, 225 pCi de sustrato nucleótido cíclico marcado con <sup>3</sup>H, cAMP marcado con tritio hasta una concentración final de 5 nM y cantidades variables de inhibidores. Las reacciones se inician por adición del sustrato nucleótido cíclico, y se deja que las reacciones tengan lugar durante una hora a temperatura ambiente antes de cortarlas por mezcla con 15 uL de perlas de SPA de 8 mg/mL de silicato de itrio (Amersham). Las bolas se dejan reposar durante una hora en la oscuridad antes de contar las placas en un contador Wallac 1450 Microbeta. La señal medida puede convertirse en actividad relativa a un control no inhibido (100%) y los valores de CI<sub>50</sub> pueden calcularse usando la extensión Xlfit de EXCEL.

15 En el contexto de la invención el ensayo se llevó a cabo en 60 uL de tampón para ensayo (HEPES 50 mM pH 7,6; MgCl<sub>2</sub> 10 mM; Tween20 0,02%) que contenía suficiente PDE10A para convertir 20-25% de <sup>3</sup>H-cAMP 10 nM y cantidades variantes de inhibidores. Después de 1 hora de incubación, las reacciones se terminaron por adición de 15 uL 8 mg/mL de bolas SPA de silicato de itrio (Amersham). Las perlas se dejan reposar durante una hora en la oscuridad antes de contar las placas en un contador Wallac 1450 Microbeta. Los valores de CI<sub>50</sub> se calcularon por regresión no lineal usando Xlfit (IDBS).

20 Los resultados de los experimentos mostraron que el compuesto ensayado de la invención inhibe la enzima PDE10A con un valor de CI<sub>50</sub> alrededor de 2,2 nM.

#### 25 Hiperactividad inducida por fenciclidina (PCP)

Se usan ratones macho (NMRI, Charles River) con un peso de 20-25 g. Se usan ocho ratones en cada grupo que reciben el compuesto del ensayo (5 mg/kg) más PCP (2,3 mg/kg) incluidos los grupos de control paralelos que reciben el vehículo del compuesto del ensayo más PCP o solamente inyecciones de vehículo. El volumen de inyección es de 10 ml/kg. El experimento se lleva a cabo en condiciones de luz normal en una habitación sin perturbaciones. La sustancia del ensayo se inyectó por oss 60 min antes de la inyección de PCP, que se administró por vía subcutánea.

30 Inmediatamente después de la inyección de PCP, el ratón se sitúa individualmente en jaulas para ensayo diseñadas especialmente (20 cm x 32 cm). La actividad se mide con 5x8 fuentes de luz infrarroja y fotocélulas espaciadas por 4 cm. Los haces de luz cruzan la jaula 1,8 cm por encima de la parte inferior de la jaula. El registro de un recuento de motilidad requiere la interrupción de haces de luz adyacentes, de modo que se eviten recuentos inducidos por los movimientos estacionarios del ratón.

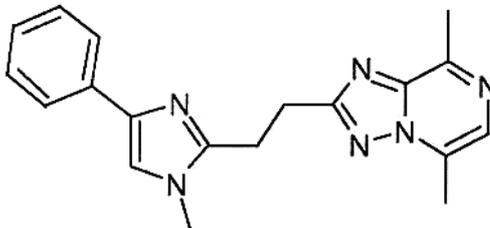
La motilidad se registra en intervalos de 5 min durante un periodo de 1 hora. El efecto del fármaco se calcula sobre el recuento total durante 1 hora de periodo de ensayo de comportamiento de la siguiente manera:

40 La motilidad media inducida por el tratamiento con vehículo en ausencia de PCP se usa como línea base. El efecto del 100 por cien de PCP se calcula por consiguiente para que sean los recuentos de motilidad total menos la línea base. La respuesta en los grupos que reciben el compuesto del ensayo se determina por lo tanto mediante los recuentos de motilidad total menos la línea base, expresado en tanto por ciento del resultado similar registrado en el grupo de control de PCP paralelo. Las respuestas en tanto por ciento se convierten en tanto por ciento de regresión de la hiperactividad inducida por PCP.

45 Los resultados de los experimentos mostraron que el compuesto de la invención es un compuesto activo *in vivo* que inhibe la hiperactividad inducida por PCP al 99%.

## REIVINDICACIONES

1. El compuesto 5,8-dimetil-2-[2-(1-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il)-etil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirazina



y una de sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

5

2. El compuesto de la reivindicación 1, para uso como un medicamento.
3. El compuesto de la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico, solo o en combinación con uno o más agentes neurolépticos seleccionados entre el grupo que consiste en sertindol, olanzapina, risperidona, quetiapina, aripiprazol, haloperidol, clozapina, ziprasidona y osanetant, donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infartos, demencia por alcohol u otras demencias relacionada con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; y un deterioro cognitivo relacionado con la edad, y el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, y trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.
4. Uso del compuesto de la reivindicación 1, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico, donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infartos, demencia por alcohol u otras demencias relacionada con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; y un deterioro cognitivo relacionado con la edad, y el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, y trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.
5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes y excipientes.
6. Uso del compuesto de la reivindicación 1, y otro compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en sertindol, olanzapina, risperidona, quetiapina, aripiprazol, haloperidol, clozapina, ziprasidona y osanetant para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico, donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infartos, demencia por alcohol u otras demencias relacionada con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; y un deterioro cognitivo relacionado con la edad, y el trastorno psiquiátrico se

- 5 selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, y trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.
7. El compuesto de la reivindicación 1, y otro compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en sertindol, olanzapina, risperidona, quetiapina, aripiprazol, haloperidol, clozapina, ziprasidona y osanetant como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico, donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infartos, demencia por alcohol u otras demencias relacionada con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; y un deterioro cognitivo relacionado con la edad, y el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, y trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.
8. El compuesto de la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o psiquiátrico, donde el trastorno neurodegenerativo se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia por multi-infartos, demencia por alcohol u otras demencias relacionada con drogas, demencia asociada con tumores intracraneales o trauma cerebral, demencia asociada con la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson, o SIDA; delirio; trastorno amnésico; trastorno por estrés post-traumático; retraso mental; un trastorno de aprendizaje, por ejemplo trastorno de lectura, trastorno para las matemáticas, o un trastorno de expresión escrita; trastorno de déficit de atención/hiperactividad; y un deterioro cognitivo relacionado con la edad, y el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo que consiste en esquizofrenia, por ejemplo del tipo paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada, o residual; trastorno esquizofreniforme; trastorno esquizoafectivo, por ejemplo del tipo delirante o del tipo depresivo; trastorno delirante; trastorno bipolar, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II, y trastorno ciclotímico; trastorno psicótico inducido por sustancias, por ejemplo psicosis inducida por el alcohol, anfetamina, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, o fenciclidina; trastorno de personalidad del tipo paranoide; y trastorno de personalidad del tipo esquizoide.