

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 404**

51 Int. Cl.:

**A01N 43/42** (2006.01)

**A61K 31/41** (2006.01)

**A61K 31/47** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2010 E 10775425 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2429293**

54 Título: **Formas cristalinas de (S)-7-([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y sus usos**

30 Prioridad:

**12.05.2009 US 177486 P**

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

**10.02.2015**

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)  
Route 206 and Province Line Road  
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**WEI, CHENKOU;  
ROSSO, VICTOR W. y  
GAO, QI**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 528 404 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

Formas cristalinas de (S)-7-([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y sus usos

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a los compuestos, las formas cristalinas, las composiciones, y usos para el tratamiento de diversos trastornos neurológicos y psicológicos. En particular, la presente invención se refiere a tales compuestos, formas cristalinas, composiciones y usos, donde los compuestos son novedosos derivados de tetrahidroisoquinolina [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridinil-6-il-sustituída. La invención también se refiere a un método de fabricación de estos compuestos. Particularmente, en la presente invención se describen las formas cristalinas SA-1 y N-2.

## Antecedentes de la invención

15 Los inhibidores de la reabsorción de monoamina elevan los niveles extracelulares de serotonina (5-HT), norepinefrina (NE) y/o dopamina (DA) en el cerebro mediante la unión a uno o más de los transportadores responsables de la reabsorción, a saber, el transportador de serotonina (SERT), el transportador de norepinefrina (NET) y el transportador de dopamina (DAT), bloqueando así la reabsorción del(los) neurotransmisor(es) de la hendidura sináptica. Los inhibidores de la reabsorción de monoaminas son una clase de fármaco establecida que ha demostrado ser de utilidad para el tratamiento de un número de trastornos del SNC, especialmente el trastorno depresivo mayor (MDD).

Desde la introducción de los antidepresivos tricíclicos (TCAs) hace casi 50 años, los inhibidores selectivos de la reabsorción de monoaminas con perfiles de seguridad muy mejorados han mejorado significativamente el tratamiento de la depresión. Aunque los TCAs son antidepresivos muy eficaces, los efectos secundarios, cardiovasculares, anticolinérgicos y sedantes son comunes debido a la interacción de los TCAs con los receptores muscarínicos, histamínicos y adrenérgicos. La introducción revolucionaria de los inhibidores selectivos de la reabsorción de serotonina (SSRIs) en la década de 1980 permitió que una población de pacientes mucho más grande se tratara debido al perfil de seguridad muy mejorado. Durante las últimas décadas, los inhibidores que bloquean selectivamente la reabsorción de NE o DA, o dos de los tres neurotransmisores simultáneamente, se han vuelto disponibles para el tratamiento de trastornos del SNC, incluyendo la depresión, ansiedad, trastorno obsesivo compulsivo (OCD), trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD), el dolor y la incontinencia urinaria. Dos revisiones recientes representativas (Liu and Molino, Annual Reports in Medicinal Chemistry, 42:13 (2007); Walter, Drug Dev. Res., 65:97 (2005)) sobre los inhibidores de la reabsorción de monoaminas resumen la historia y el desarrollo reciente en el área de inhibidores de reabsorción de la monoamina.

35 En la actualidad, el principal esfuerzo en el campo de los inhibidores selectivos de la reabsorción de monoaminas se centra en la mejora de la eficacia antidepresiva dado que el 30-40% de los pacientes no responden al tratamiento con antidepresivos disponibles actualmente. Un objetivo adicional importante es mejorar el inicio de acción. Los antidepresivos actuales por lo general requieren 2-6 semanas de tratamiento antes de que se vea la eficacia clínica. Los ensayos clínicos que exploran estrategias de aumento, en las que un inhibidor de la reabsorción de DA o inhibidor de la reabsorción dual de NE/DA se combina con un SSRI, han resultado en la mejora de la eficacia en pacientes con depresión refractario al tratamiento con SSRI solo (Patkar et. al, J. Clin. Psychopharmacol., 26:653 (2006); Zisook et al, Biol. Psychiat., 59:203 (2006)). Los resultados mejorados de los ensayos clínicos de este tipo sirven para justificar el enfoque considerable en el desarrollo de inhibidores que bloquean simultáneamente la reabsorción de 5-HT, NE y DA. Debido a la continua necesidad de mejores fármacos para tratar la depresión y las oportunidades para nuevas indicaciones clínicas, los esfuerzos para descubrir nuevos inhibidores selectivos de la reabsorción de monoaminas continúan sin descanso.

El metilfenidato, que se utiliza actualmente para el tratamiento del trastorno de déficit de atención con hiperactividad, es conocido por ser selectivo para la inhibición de DAT. También, la Patente de Estados Unidos No. 5,444,070 revela los inhibidores selectivos de la reabsorción de la dopamina como tratamientos para la enfermedad de Parkinson, adicción o abuso a las drogas incluyendo la cocaína y las anfetaminas.

Los inhibidores selectivos de la reabsorción de noradrenalina (NARI) también se han revelado. La Patente de Estados Unidos No. 6,352,986 describe los métodos para tratar el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (ADHD), trastornos adictivos, y los trastornos por consumo de sustancias psicoactivas con reboxetina. También, la atomoxetina (Strattera) se comercializa actualmente como un inhibidor selectivo de la reabsorción de NET para el ADHD.

Se ha demostrado que el uso de inhibidores selectivos de la reabsorción de serotonina (SSRI) es eficaz en el tratamiento de trastornos depresivos. La sertralina, el citalopram, el escitalopram, la paroxetina, la fluoxetina y la fluvoxamina son ejemplos bien conocidos de los SSRI utilizados para tratar trastornos como la depresión, el trastorno obsesivo-compulsivo y ataques de pánico. Existen varias dificultades conocidas con la clase de SSRI de la terapéutica, incluyendo el lento comienzo de la

acción, los efectos secundarios no deseados, y la existencia de un subconjunto importante de la población que no responde a la terapia de SSRI. Recientes esfuerzos en el desarrollo clínico de nuevos SSRI se han centrado en el tratamiento de la eyaculación precoz (PE) mediante el aprovechamiento de los efectos secundarios del retraso de la eyaculación de los SSRI. Aunque los SSRI se han prescrito fuera de lo indicado en la etiqueta para tratar esta condición, un SSRI con un rápido inicio de acción y la eliminación rápida podrían ser preferidos para el tratamiento de acuerdo con las necesidades de PE. Se describe que la dapoxetina (LY210448, 6), un SSRI estructuralmente relacionado con la fluoxetina con una vida media más corta, era un tratamiento eficaz y generalmente bien tolerado para hombres con PE moderada a grave en los ensayos clínicos (Feret, *Formulary*, 40:227 (2005); Pryor et al, *Lancet*, 368:929 (2006)).

Los inhibidores selectivos de la reabsorción de DAT, NET y SERT también se pueden administrar conjuntamente entre sí o con otros medicamentos. La Patente de Estados Unidos No. 5,532,244 revela el uso de inhibidores selectivos de la reabsorción de serotonina en combinación con un antagonista 1A de la serotonina, para el tratamiento del trastorno obsesivo-compulsivo, la depresión y la obesidad. El uso de un inhibidor de la reabsorción de serotonina o norepinefrina, en combinación con un antagonista del receptor de neuroquinina-1 ha sido revelado en la Patente de Estados Unidos No. 6,121,261 para el tratamiento de ADHD. La Patente de Estados Unidos No. 4,843,071 revela el uso de un inhibidor de la reabsorción de norepinefrina en combinación con un precursor de la norepinefrina en el tratamiento de la obesidad, abuso de drogas, o la narcolepsia. Patente de Estados Unidos No. 6,596,741 revela el uso de un NE, DA, o un inhibidor de 5-HT, ya sea con un antagonista del receptor de la neuroquinina-1 o un antagonista 1A de la serotonina, para el tratamiento de una amplia variedad de condiciones.

También es ventajoso el uso de compuestos que inhiben uno o más de los neurotransmisores al mismo tiempo. Las cualidades antidepresivas del inhibidor dual de la reabsorción de NET y de SERT, duloxetina se revela en la Patente Europea No. EP 273658. La venlafaxina se revela en la Patente de Estados Unidos No. 4,535,186 como un inhibidor de la reabsorción tanto de NE y 5-HT para el tratamiento de los trastornos depresivos. La Patente de Estados Unidos No. 6,635,675 revela el uso del inhibidor dual de la reabsorción de NE y 5-HT, milnacipran para el tratamiento de síndrome de fatiga crónica y el síndrome de la fibromialgia. Además, los inhibidores duales de la reabsorción de NE y 5-HT también se revelan en la Patente de Estados Unidos No. 6,136,083 para el tratamiento de la depresión. También se reconoce que los compuestos que inhiben la reabsorción de NE, DA, y 5-HT en diferentes proporciones no mencionado específicamente en este documento también sería ventajoso.

Como el primer fármaco SNRI aprobado, la venlafaxina se ha convertido en una de las opciones de primera línea para la depresión y el trastorno de ansiedad. Un metabolito activo, desvenlafaxina, también está en desarrollo clínico para el tratamiento de los trastornos depresivos mayores. Los estudios preclínicos indican también que la desvenlafaxina puede ser eficaz en el alivio de los síntomas vasomotores asociados con la menopausia (por ejemplo, sofocos y sudores nocturnos) (Sorbera, et al, *Drugs of Future.*, 31:304 (2006); Albertazzi, J. Br. *Menopause Soc.*, 12:7 (2006)). Se informó que la desvenlafaxina está en desarrollo clínico para el tratamiento de la fibromialgia y dolor neuropático, así como los síntomas vasomotores asociados con la menopausia.

Además de tratar el trastorno depresivo mayor, la duloxetina fue aprobada como el primer agente para el tratamiento de la neuropatía diabética dolorosa en los EE.UU. También se ha utilizado para la incontinencia urinaria en las mujeres en Europa. En 2007, la duloxetina fue aprobada para el tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada en los EE.UU. Más recientemente, fue aprobada por la FDA para el tratamiento de la fibromialgia.

Milnacipran se encuentra actualmente disponible para su uso como antidepresivo en varios países fuera de los EE.UU. También se encuentra en desarrollo clínico para evaluar su posible papel en el tratamiento del síndrome de fibromialgia.

Después de más de una década de uso, bupropión, se considera un antidepresivo seguro y eficaz, apropiado para uso como tratamiento de primera línea. Además está aprobado para dejar de fumar y trastorno afectivo estacional. También se prescribe fuera de la etiqueta, para tratar la disfunción sexual inducida por los SSRI. El bupropión se refiere a menudo como un antidepresivo atípico. Tiene mucha menor afinidad por los transportadores de monoaminas en comparación con otros inhibidores de la reabsorción de monoaminas. El mecanismo de acción del bupropión es todavía incierto, pero puede estar relacionado con la inhibición de los transportadores de la reabsorción de norepinefrina y la dopamina, como resultado de metabolitos activos. En un ensayo clínico descrito recientemente, el bupropión de liberación prolongada (XL) tuvo un perfil de tolerancia sexual significativamente mejor que el del escitalopram con puntuaciones totales de tasas similares de remisión y Ansiedad y Depresión Hospitalaria (HAD) en pacientes con trastorno depresivo mayor (Clayton et al. *J. Clin. Psychiatry*, 67:736 (2006)).

El tratamiento de enfermedades mediante la inhibición de la reabsorción de las tres monoaminas, ya sea a través de la terapia de combinación o "inhibidores triples", también puede tener un beneficio clínico. Los inhibidores triples están considerados como los antidepresivos de nueva generación (Liang and Richelson, *Primary Psychiatry*, 15(4):50 (2008)). La

justificación de la inclusión de un componente de mejora de la dopamina en la terapia antidepresiva incluye el déficit observado en la función dopaminérgica, el éxito de la terapia de combinación con agonistas dopaminérgicos y los antidepresivos tradicionales, y un aumento de la sensibilidad de los receptores de dopamina debido a la administración crónica antidepresivo (Skolnick et al., Life Sciences, 73:3175-3179 (2003)). La terapia de combinación con un SSRI y un inhibidor de la reabsorción de noradrenalina y dopamina ha demostrado ser más eficaz en pacientes con depresión resistente al tratamiento (Lam et al, J. Clin. Psychiatry, 65(3):337-340 (2004)). Los estudios clínicos que utilizan la combinación de bupropión y un SSRI o SNRI han mostrado una mayor eficacia para el tratamiento del MDD en pacientes refractarios al tratamiento con SSRI, SNRI, o bupropión solo (Zisook et al, Biol. Psychiat., 59:203 (2006); Papkostas, Depression and Anxiety, 23:178-181 (2006); Trivedi et al, New Engl. J. Med., 354:1243 (2006)). Otros estudios que utilizan metilfenidato, la fórmula tanto de liberación inmediata como de liberación prolongada, han demostrado que es eficaz como un agente de aumento en la depresión resistente al tratamiento (Patkar et al, J. Clin. Psychopharmacol., 26:653 (2006); Masand et al, Depression and Anxiety, 7:89 (1998)). Además, se encontró que la combinación de bupropión SR, ya sea con SSRI o inhibidores selectivos de la reabsorción de norepinefrina y dopamina induce la disfunción sexual menos que la monoterapia (Kennedy et al, J. Clin. Psychiatry, 63(3):181-186 (2002)). Como tal, la actividad inhibitoria contra la reabsorción de DA, además de la reabsorción de NE y 5-HT, se espera que proporcione un inicio más rápido del efecto antidepresivo que otros inhibidores mixtos que son selectivos para NET y SERT sobre DAT. Publicación Internacional PCT Nos. WO 03/101453 y WO 97/30997 revelan una clase de compuestos que son activos contra los tres transportadores de monoamina. También, la publicación PCT de Patente internacional No. WO 03/049736 revela una serie de piperidinas 4-sustituidas, cada una de las cuales muestra una actividad similar contra los transportadores de DA, NE, y 5-HT. Los biciclo [2.2.1] heptanos (Axford et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 13:3277-3280 (2003)) y azabicyclo [3.1.0] hexanos (Skolnick et al., Eur. J. Pharm., 461:99-104 (2003)) también se describen como inhibidores triples de los tres transportadores de monoamina. El 1- (3,4-diclorofenil) -3-azabicyclo [3.1.0] hexano ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la depresión en los ensayos clínicos (Beer et al, J. Clin. Pharmacol., 44:1360-1367 (2004)). Se cree que el actual medicamento sibutramina contra la obesidad ampliamente utilizado, trabaja a través de la inhibición de los tres transportadores de DAT, SERT y NET (Ryan, Pharmacotherapy of Obesity, 245-266 (2004)).

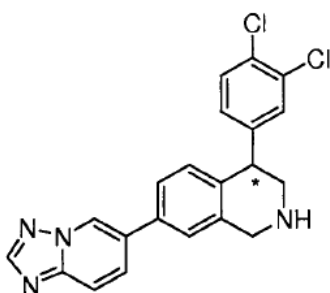
Aprobaciones recientes de fármacos con SNRI para el tratamiento de la fibromialgia y la neuropatía diabética refuerzan la utilidad de esta clase de fármacos en el tratamiento del dolor neuropático. Otras áreas en gran parte sin explotar que quedan por explotar con esta clase de fármacos incluyen la disfunción sexual, tal como la eyaculación precoz, síndrome del intestino irritable, la obesidad, las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson, el síndrome de piernas inquietas, y el abuso de sustancias y la adicción.

Existe todavía una gran necesidad de compuestos que bloqueen la reabsorción de la norepinefrina, la dopamina y la serotonina y que traten diversos trastornos neurológicos y psicológicos.

La presente invención se dirige al logro de este objetivo.

Resumen de la invención

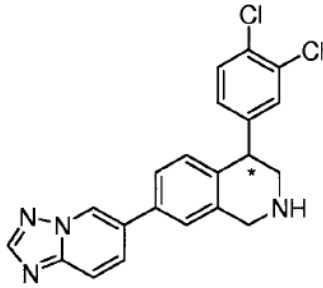
La presente invención se refiere a la forma cristalina SA-1 de



Fórmula I

en donde el átomo de carbono designado \* está en la configuración S, o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

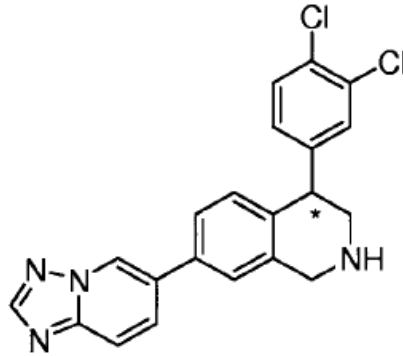
La presente invención también se refiere a la Forma cristalina N-2



Fórmula I

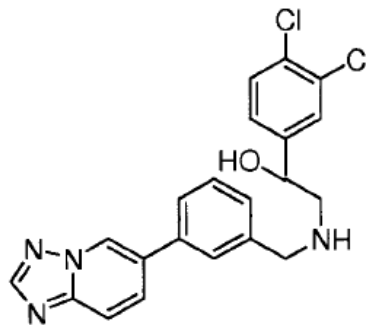
5 en donde el átomo de carbono designado \* está en la configuración S, o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto del producto de fórmula (I)



Fórmula I

10 en donde el átomo de carbono señalado con \* está en la configuración R o S. Este proceso comprende tratar un primer compuesto intermedio de fórmula (II):



Fórmula II

15 con un ácido en condiciones eficaces para producir el compuesto del producto.

Breve descripción de los dibujos

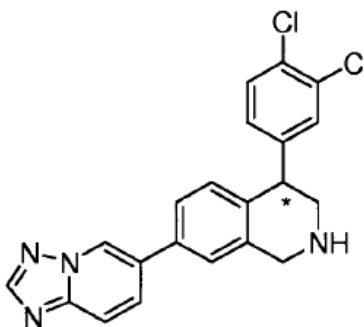
La Figura 1 ilustra los patrones de difracción de rayos X en polvo experimental y simulada (PXRD) ( $\text{CuK}\alpha\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$  en T = temperatura ambiente) de la Forma SA-1.

La Figura 2 ilustra el patrón de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma SA-1.

La Figura 3 ilustra el análisis termogravimétrico (TGA) de la Forma SA-1.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I):



Fórmula I

en donde:

el átomo de carbono designado \* está en la configuración R o S; o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, y las formas cristalinas SA-1 y N-2 en donde el carbono designado \* está en la configuración S o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

Como se uso anteriormente, y a lo largo de la descripción de la invención, los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, se entenderá que tienen los siguientes significados:

El término "compuestos de la invención", y las expresiones equivalentes, tienen el propósito de abarcar los compuestos de fórmula general (I) como se reivindica en este documento, que la expresión incluye las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos, por ejemplo, hidratos, cuando el contexto así lo permita. Del mismo modo, la referencia a intermedios, estén o no ellos mismos se reivindican, pretende abarcar sus sales, y solvatos, cuando el contexto así lo permita.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" significa las sales de adición de ácido relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas y las sales de adición de base, de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos. En particular, las sales de adición de ácido se pueden preparar haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico apropiado y aislando la sal así formada. Ejemplos de las sales de adición de ácidos incluyen las sales bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, sulfamatos, malonatos, salicilatos, propionatos, metilen-bis-b-hidroxinaftoatos, gentisatos, isetionatos, di-p-toluoiltartratos, metano-sulfonatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, p-toluenosulfonatos, ciclohexilsulfamatos y quinateslaurilsulfonato, y similares (véase, por ejemplo, Berge et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66:1-9 (1977) y Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418). Las sales de adición de base también se pueden preparar haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma ácida con una base orgánica o inorgánica apropiada y aislando la sal así formada. Las sales de adición de base incluyen sales de amina y de metal farmacéuticamente aceptables. Las sales metálicas apropiadas incluyen las sales de sodio, potasio, calcio, bario, zinc, magnesio y de aluminio. Se prefieren las sales de sodio y potasio. Las sales de adición de bases inorgánicas apropiadas se preparan a partir de bases de metales que incluyen, por ejemplo, hidruro de sodio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de aluminio, hidróxido de litio, hidróxido de magnesio e hidróxido de zinc. Las sales de adición de base de amina apropiadas se preparan a partir de aminas que tienen basicidad suficiente para formar una sal estable, y preferiblemente incluyen aquellas aminas que se utilizan frecuentemente en química medicinal debido a su baja toxicidad y aceptabilidad para uso médico, tal como amoníaco, etilendiamina, N- metil-glucamina, lisina,

arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-bencilfenetilamina, dietilamina, piperazina, tris (hidroximetil)-aminometano, hidróxido de tetrametilamonio, trietilamina, dibencilamina, efenamina, dehidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, aminoácidos básicos, por ejemplo, lisina y arginina, dicitclohexilamina, y similares.

5 El término "sustancialmente puro" se refiere a la pureza química y a la pureza de la forma. Por ejemplo, la Forma SA-1 sustancialmente pura (o la Forma N-2) comprende al menos aproximadamente 95% en peso, preferiblemente al menos aproximadamente 98% en peso, más preferiblemente al menos aproximadamente 99% en peso de la Forma SA-1 y menos de aproximadamente 5 % en peso, preferiblemente menos de aproximadamente 2% en peso, y más preferiblemente menos de aproximadamente 1% en peso de otros compuestos que tienen una estructura química diferente que el enantiómero S de Fórmula (I). Además, la Forma SA-1 sustancialmente pura (o la Forma N-2) comprende al menos aproximadamente 95% en peso, preferiblemente al menos aproximadamente 98% en peso, más preferiblemente al menos aproximadamente 99% en peso de la Forma SA-1 y menos de aproximadamente 5 wt %, preferiblemente menos de aproximadamente 2% en peso, y más preferiblemente menos de aproximadamente 1% en peso de cualquier otra forma cristalina del enantiómero S, de la fórmula (I). Esto significa que la Forma SA-1 (o la Forma N-2) preferiblemente contiene menos de aproximadamente 5% en peso de otros compuestos, y menos de aproximadamente 5% en peso de cualquier otra forma (también denominada como "homogeneidad de la fase").

20 El término "cantidades terapéuticamente eficaces" significa que describe una cantidad del compuesto de la presente invención eficaz en el aumento de los niveles de serotonina, norepinefrina, o dopamina en la sinapsis y así producir el efecto terapéutico deseado. Tales cantidades varían generalmente según un número de factores bien conocidos dentro del alcance de expertos en la técnica, dada la descripción proporcionada en este documento para determinar y explicar. Estos incluyen, sin limitación: el sujeto particular, así como su edad, peso, altura, condición física general, y el historial médico, el compuesto particular usado, así como el portador en el cual se formula y la ruta de administración seleccionado para esta; y, la naturaleza y gravedad de la afección que se trata.

30 El término "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) y al menos un componente que comprende portadores, diluyentes, adyuvantes, excipientes, o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes conservantes, agentes de carga, agentes disgregantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes de dispensación, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y formas de dosificación. Ejemplos de agentes de suspensión incluyen alcoholes de isoestearilo etoxilados, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, o mezclas de estas sustancias. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por el uso de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos apropiados incluyen agua, etanol, polioles, mezclas apropiadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva), y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Ejemplos de excipientes incluyen lactosa, azúcar de la leche, citrato de sodio, carbonato de calcio, y fosfato dicálcico. Ejemplos de agentes desintegrantes incluyen almidón, ácido algínico, y ciertos silicatos complejos. Ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio, talco, así como polietilenglicoles de alto peso molecular.

45 El término "farmacéuticamente aceptable" significa que, dentro del alcance del juicio médico, es apropiado para uso en contacto con las células de humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

50 El término "formas de dosificación farmacéuticamente aceptables" significa formas de dosificación del compuesto de la invención, e incluye, por ejemplo, comprimidos, grageas, polvos, elixires, jarabes, preparaciones líquidas, incluyendo suspensiones, aerosoles, comprimidos inhalantes, pastillas, emulsiones, soluciones, gránulos, cápsulas y supositorios, así como preparaciones líquidas para inyecciones, incluyendo preparaciones de liposomas. Las técnicas y formulaciones generalmente se pueden encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., última edición.

55 El compuesto de fórmula (I) puede ser un (+) - estereoisómero.

El compuesto de fórmula (I) puede ser un (-) - estereoisómero.

60 El compuesto de fórmula (I) puede tener el átomo de carbono designado \* en la configuración R.

El compuesto de fórmula (I) pueden tener el átomo de carbono designado \* en la configuración S.

El compuesto de fórmula (I) puede ser un (S)(+) - estereoisómero.

El compuesto de fórmula (I) puede ser un (R)(-) - estereoisómero.

Se puede proveer una mezcla de compuestos estereoisómeros de fórmula (I) en donde \* está en la configuración S o R.

Los enantiómeros individuales, cualquier mezcla de enantiómeros, incluyendo mezclas racémicas, o diastereómeros (ambos separados y como cualquier mezcla) de los compuestos (I) también están incluidos.

En los compuestos de fórmula (I), uno o más de los átomos, por ejemplo, C o H, pueden sustituirse por los correspondientes isótopos radiactivos de ese átomo (por ejemplo, C reemplazado por  $^{14}\text{C}$  y H reemplazado por  $^3\text{H}$ ), o un isótopo estable de ese átomo (por ejemplo, C reemplazado por  $^{13}\text{C}$  o H reemplazado por  $^2\text{H}$ ). Tales compuestos tienen una variedad de usos potenciales, por ejemplo, como estándares y reactivos en la determinación de la capacidad de un producto farmacéutico potencial para unirse a proteínas de neurotransmisores. Además, en el caso de isótopos estables, tales compuestos pueden tener el potencial de modificar favorablemente las propiedades biológicas, por ejemplo, propiedades farmacológicas y/o farmacocinéticas, de los compuestos de fórmula (I). Los detalles relativos a la selección de sitios apropiados para la incorporación de isótopos radiactivos en los compuestos son conocidos por los expertos en la técnica.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una forma cristalina de 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridinil-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, en particular, la Forma SA-1 o la Forma N-2, como se describe en el presente documento. Para propósitos de aclaración, el base libre del racemato de rac-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridinil-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina está representado por la Fórmula (I). Las Formas SA-1 y N-2 son formas cristalinas particulares del enantiómero S de Fórmula (I) ((S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridinil-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina), como se describe en este documento.

Por lo tanto, una modalidad de la presente invención se refiere a la Forma SA-1. Un aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma SA-1, caracterizada por los siguientes parámetros de la célula unitaria:

Dimensiones de la célula:

$a = 11.0668(9)\text{Å}$

$b = 7.3750(6)\text{Å}$

$c = 15.3927(14)\text{Å}$

$\alpha = 90^\circ$

$\beta = 100.594(7)^\circ$

$\gamma = 90^\circ$

Grupo espacial: Monocíclico,  $P2_1$

Volumen:  $1234.90(18)\text{Å}^3$

Z, Densidad Calculada: 2,  $1.363\text{ Mg/m}^3$

Otro aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma SA-1, caracterizada por coordenadas atómicas fraccionadas dentro de la célula unitaria como se indica en la Tabla 6, Coordenadas Atómicas.

Un aspecto adicional de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma SA-1 con picos característicos en el patrón de difracción de rayos X en polvo a valores de  $2\theta$  de  $5.8 \pm 0.1$ ,  $8.1 \pm 0.1$ ,  $9.1 \pm 0.1$ ,  $10.8 \pm 0.1$ ,  $11.7 \pm 0.1$ ,  $13.0 \pm 0.1$ ,  $13.3 \pm 0.1$ ,  $14.5 \pm 0.1$ ,  $15.1 \pm 0.1$ ,  $15.4 \pm 0.1$ ,  $16.2 \pm 0.1$ , y  $16.8 \pm 0.1$ , a una temperatura entre aproximadamente  $20^\circ\text{C}$  y aproximadamente  $25^\circ\text{C}$ , basado en un patrón de alta calidad recolectado con un difractómetro ( $\text{CuK}\alpha$ ) con un capilar de rotación con  $2\theta$  calibrado con un estándar de National Institute of Standards and Technology (NIST) u otro apropiado.

Otro aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma SA-1 caracterizada por una fusión con descomposición endotérmica con inicio por lo general de  $85^\circ\text{C}$ .

Un aspecto adicional de esta modalidad de la presente invención se refiere a Forma SA-1 sustancialmente pura.

Otra modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2. Un aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2, caracterizada por los siguientes parámetros de la célula unitaria:



Dimensiones de la célula:

5 a = 7.1183(2) Å  
 b = 21.2160(7) Å  
 c = 26.3602(9) Å  
 alfa = 90°  
 beta = 90°  
 10 gamma = 90°

Grupo espacial: Ortorrómbico,  $P2_12_12_1$   
 Volumen: 3981.0 (2) Å<sup>3</sup>  
 Z, Densidad Calculada: 8, 1.441 Mg/m<sup>3</sup>

15 Otro aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2, caracterizada por coordenadas atómicas fraccionadas dentro de la célula unitaria como se indica en la Tabla 8, Coordenadas Atómicas.

20 Un aspecto adicional de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2 con picos característicos en el patrón de difracción de rayos X en polvo a valores de 2 theta de  $8.3 \pm 0.1$ ,  $8.9 \pm 0.1$ ,  $10.9 \pm 0.1$ ,  $14.2 \pm 0.1$ ,  $14.7 \pm 0.1$ ,  $16.7 \pm 0.1$ ,  $17.3 \pm 0.1$ ,  $18.0 \pm 0.1$ ,  $18.4 \pm 0.1$ ,  $18.8 \pm 0.1$ ,  $20.2 \pm 0.1$ , y  $21.9 \pm 0.1$ , a una temperatura entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 25 °C, basado en un patrón de alta calidad recolectado con un difractor (cuK $\alpha$ ) con un capilar de rotación con 2 $\theta$  calibrado con un estándar NIST u otro apropiado.

25 Otro aspecto de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2 caracterizada por una fusión con descomposición endotérmica con inicio por lo general de aproximadamente 250 °C.

Un aspecto adicional de esta modalidad de la presente invención se refiere a la Forma N-2 sustancialmente pura.

30 Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) en la Forma cristalina SA-1 o N-2 como se describe en el presente documento y un portador farmacéuticamente aceptable.

35 Otro aspecto de la presente invención se refiere a la Forma cristalina SA-1 o la Forma cristalina N-2 de un compuesto de fórmula (I), o una sal de este farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de un trastorno que se crea o depende de la menor disponibilidad de serotonina, norepinefrina o dopamina. El uso implica administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de un compuesto de fórmula (I), o una sal de este farmacéuticamente aceptable. Los compuestos son capaces de tratar diversos trastornos neurológicos y psiquiátricos, incluyendo, sin limitación: el trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD), deterioro cognitivo, trastornos de ansiedad, trastorno de ansiedad generalizada (GAD), trastorno de pánico, trastorno bipolar o depresión maníaca o trastorno maníaco-depresivo, el trastorno obsesivo compulsivo (OCD), el trastorno de estrés postraumático (PTSD), trastorno de estrés agudo, la fobia social, fobias simples, trastorno disfórico premenstrual (PMDD), trastorno de ansiedad social (SAD), trastorno depresivo mayor (MDD), la depresión postnatal, distimia, depresión asociada con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, o la psicosis, parálisis supranuclear, trastornos de la alimentación, la obesidad, la anorexia nerviosa, la bulimia nerviosa, trastorno por atracón, diabetes, enfermedades isquémicas, dolor, trastornos de abuso de sustancias, dependencia de sustancias químicas, adicción a la nicotina, adicción a la cocaína, la adicción a las anfetaminas, adicción al alcohol, síndrome de Lesch-Nyhan, enfermedades neurodegenerativas, la enfermedad de Parkinson, el síndrome de finales de la fase lútea o la narcolepsia, los síntomas psiquiátricos, la ira, la sensibilidad al rechazo, trastornos del movimiento, síndrome extrapiramidal, trastornos de tics, síndrome de piernas inquietas (RLS), discinesia tardía, parálisis supranuclear, trastorno alimentario relacionado con el sueño (SRED), síndrome del comedor nocturno (NES), incontinencia urinaria de esfuerzo (SUI), migraña, dolor neuropático, la neuropatía diabética, dolor en la zona lumbar, síndrome de fibromialgia (FS), dolor de la osteoartritis, dolor de la artritis, el síndrome de fatiga crónica (CFS), la disfunción sexual, la eyaculación precoz, impotencia masculina, trastornos de termorregulación (por ejemplo, los sofocos asociados a la menopausia) y el síndrome del intestino irritable, (IBS).

55 Las formas cristalinas/compuestos proporcionadas en este documento son particularmente útiles en el tratamiento de estos y otros trastornos debido, al menos en parte, a su capacidad para unirse selectivamente a las proteínas transportadoras para ciertos agentes neuroquímicos con una mayor afinidad que a las proteínas transportadoras para otros neuroquímicos.

60 El uso anterior puede implicar además la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del receptor de la serotonina 1A o una sal de este farmacéuticamente aceptable. Los antagonistas del receptor de la serotonina

1A apropiados incluyen WAY 100135 y espiperona. WAY 100135 (N-(t-butil)-3-[a-(2-metoxifenil)piperazin-1-il]-2 fenilpropanamida) se revela como que tiene una afinidad por el receptor de serotonina 1A en la Patente de Estados Unidos No. 4,988,814 a Abou-Gharbia et al.. También, Cliffe et al., J Med Chem 36:1509-10 (1993) demostraron que el compuesto es un antagonista de la serotonina 1A. La espiperona (8- [4- (4-fluorofenil) -4-oxobutil] -1-fenil-1,3,8-triaza-espiro [4,5] decan-4-ona) es un compuesto conocido y se describe en las Patentes de Nos. 3,155,669 y 3,155,670. La actividad de espiperona como un antagonista de la serotonina 1A se describe en Middlemiss et al., Neurosc and Biobehav Rev. 16:75-82 (1992).

El uso anterior también puede implicar además la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del receptor de la neuroquinina-1 selectivo o una sal de este farmacéuticamente aceptable. Los antagonistas del receptor de neuroquinina-1 que se pueden utilizar en combinación con el compuesto de fórmula (I) o forma cristalina, en la presente invención se describen completamente, por ejemplo, en las Patentes de EE. UU Nos. 5,373,003, 5,387,595, 5,459,270, 5,494,926, 5,162,339, 5,232,929, 5,242,930, 5,496,833, and 5,637,699; La publicación PCT de Patente Internacional Nos. WO 90/05525, 90/05729, 94/02461, 94/02595, 94/03429,94/03445, 94/04494, 94/04496, 94/05625, 94/07843, 94/08997, 94/10165, 94/10167, 94/10168, 94/10170, 94/11368, 94/13639, 94/13663, 94/14767,94/15903, 94/19320, 94/19323, 94/20500, 91/09844, 91/18899, 92/01688, 92/06079, 92/12151,92/15585, 92/17449, 92/20661, 92/20676, 92/21677, 92/22569, 93/00330, 93/00331, 93/01159, 93/01165, 93/01169, 93/01170, 93/06099, 93/09116, 93/10073, 93/14084, 93/14113, 93/18023, 93/19064, 93/21155, 93/21181, 93/23380, 93/24465, 94/00440, 94/01402, 94/26735, 94/26740, 94/29309, 95/02595, 95/04040, 95/04042, 95/06645, 95/07886, 95/07908, 95/08549, 95/11880, 95/14017, 95/15311, 95/16679, 95/17382, 95/18124, 95/18129, 95/19344, 95/20575, 95/21819, 95/22525, 95/23798, 95/26338, 95/28418, 95/30674, 95/30687, 95/33744, 96/05181, 96/05193, 96/05203, 96/06094, 96/07649, 96/10562, 96/16939, 96/18643, 96/20197, 96/21661, 96/29304,96/29317, 96/29326, 96/29328, 96/31214, 96/32385, 96/37489, 97/01553, 97/01554, 97/03066, 97/08144, 97/14671, 97/17362, 97/18206, 97/19084, 97/19942, 97/21702, y 97/49710; y en la Solicitud de Patente del Reino Unido Nos. 2 266 529, 2 268 931, 2269 170, 2 269 590, 2 271 774, 2 292 144, 2 293168, 2 293 169, y 2 302 689; Publicación de Patente Europea de solicitud de patentes Nos. EP 0 360 390, 0 517 589, 0 520 555, 0 522 808, 0 528 495, 0 532 456, 0 533 280, 0 536 817, 0 545 478, 0 558 156, 0 577 394, 0 585 913, 0 590 152, 0 599 538, 0 610 793, 0 634 402, 0 686 629, 0 693 489, 0 694 535, 0 699 655, 0 394 989, 0 428 434, 0 429 366, 0 430 771, 0 436 334, 0 443 132, 0 482 539, 0 498 069, 0 499 313, 0 512 901, 0 512 902, 0 514 273, 0 514 274, 0 514 275, 0 514 276, 0 515 681, 0 699 674, 0 707 006, 0 708 101, 0 709 375, 0 709 376, 0 714 891, 0 723 959, 0 733 632 y 0 776 893. Las preparaciones de tales compuestos se describen completamente en las patentes y publicaciones mencionadas anteriormente.

El uso anterior también puede implicar además la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un precursor de la norepinefrina o una sal de este farmacéuticamente aceptable. Los precursores de norepinefrina apropiados incluyen la L-tirosina y la L-fenilalanina.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para su uso en la inhibición de la absorción de norepinefrina sináptica. El uso implica la administración de una cantidad inhibitoria terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento. Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para uso en la inhibición de la absorción de serotonina sináptica. El uso implica la administración de una cantidad inhibitoria terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento. Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para uso en la inhibición de la absorción de dopamina sináptica. El uso implica la administración de una cantidad inhibitoria terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento.

En el uso de un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento, se puede emplear el (+) - estereoisómero del compuesto de fórmula (I).

En el uso de un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento, se puede emplear el (-) - estereoisómero del compuesto de fórmula (I).

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento, y al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: un compuesto antagonista del receptor de la serotonina 1A, un compuesto antagonista selectivo del receptor de la neuroquinina-1, y un compuesto precursor de la norepinefrina, se puede suministrar como un kit.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para su uso en el tratamiento de un trastorno denominado en este documento anteriormente. El uso implica la inhibición sináptica de la absorción de norepinefrina, dopamina y serotonina mediante la administración de una cantidad inhibitoria terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento, que funciona como un inhibidor de la reabsorción de norepinefrina, dopamina, y serotonina de triple acción.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para su uso en la inhibición de la absorción de serotonina en mamíferos. El uso implica administrar a un mamífero que requiere un aumento de la neurotransmisión de la serotonina, una cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento.

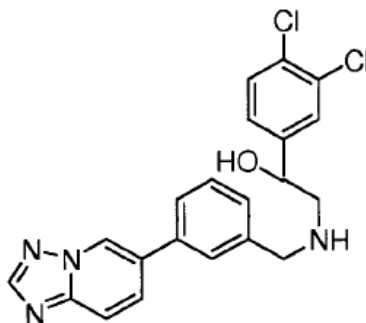
Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para su uso en la inhibición de la absorción de dopamina en los mamíferos. El uso implica administrar a un mamífero que requiere un aumento de la neurotransmisión de dopamina, una cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para su uso en la inhibición de la absorción de norepinefrina en mamíferos. El uso implica administrar a un mamífero que requiere un aumento de la neurotransmisión de la norepinefrina, una cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para uso en suprimir el deseo de los seres humanos de fumar. El uso implica administrar a un ser humano en necesidad de tal supresión, una dosis efectiva, para aliviar el deseo de fumar, del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento.

Un compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento es apropiado para uso en suprimir el deseo de los seres humanos de consumir alcohol. El uso implica administrar a un ser humano en necesidad de tal supresión, una dosis efectiva, para aliviar el deseo de consumir alcohol, del compuesto de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en este documento.

Otra modalidad de la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de un producto del compuesto de Fórmula (I). Este proceso comprende tratar un primer compuesto intermedio de fórmula (II):



Fórmula II

con un ácido en condiciones eficaces para producir el compuesto del producto.

Los ácidos apropiados incluyen, pero no se limitan a, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido fosfórico, y ácido L-tartárico.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que para mayor claridad, se describen en el contexto de modalidades separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola modalidad. A la inversa, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación apropiada.

Los compuestos utilizados de acuerdo con la invención, por ejemplo, los materiales iniciales, intermedios, o productos, se preparan como se describe en este documento o mediante la aplicación o adaptación de métodos conocidos, por lo que se entiende los métodos utilizados hasta ahora o descritos en la literatura.

Los compuestos útiles de acuerdo con la invención se pueden preparar por la aplicación o adaptación de métodos conocidos, por lo que se entiende métodos utilizados hasta ahora o descritos en la literatura, por ejemplo, los descritos por Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, Wiley-VCH publishers, New York (1989).

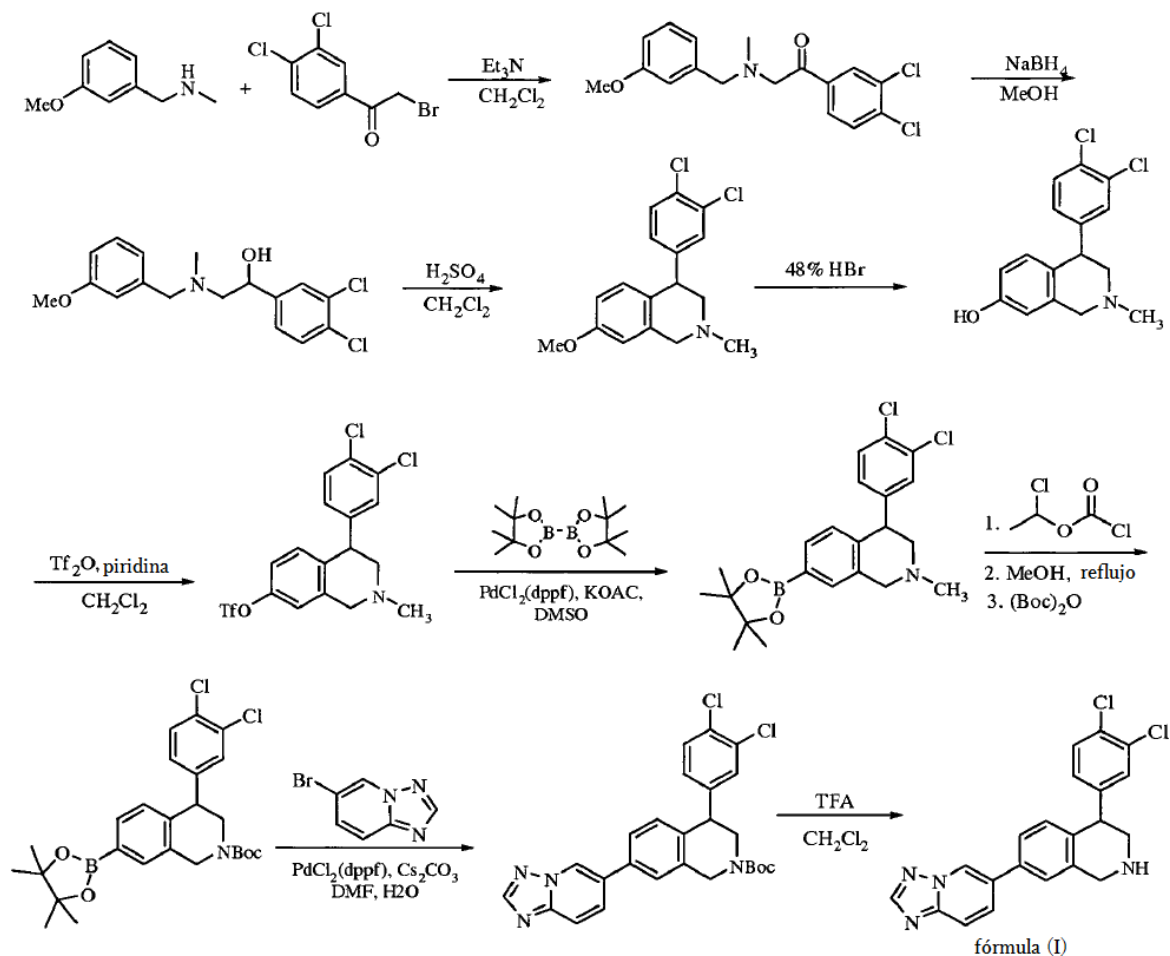
5 Un compuesto de fórmula (I) incluyendo un grupo que contiene uno o más átomos de anillo de nitrógeno, se pueden convertir en el compuesto correspondiente en donde uno o más átomos de anillo de nitrógeno del grupo se oxidan a un N-óxido, preferiblemente mediante la reacción con un perácido, por ejemplo ácido peracético en ácido acético o ácido m-cloroperoxibenzoico en un solvente inerte tal como diclorometano, a una temperatura de aproximadamente la temperatura ambiente hasta el reflujo, preferiblemente a temperatura elevada.

10 En las reacciones descritas a partir de ahora, puede ser necesario proteger los grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxí, amino, imino, tio o carboxí, cuando éstos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores convencionales pueden ser utilizados de acuerdo con la práctica habitual (por ejemplo, Wuts et al., *Protective Groups in Organic Chemistry* (4th Edition), Wiley (2006), and McOmie, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press (1973)).

Los nuevos inhibidores de la reabsorción de tetrahydroisoquinolina de Fórmula (I) se pueden preparar mediante la ruta sintética representada en el Esquema 1.

20

### Esquema 1

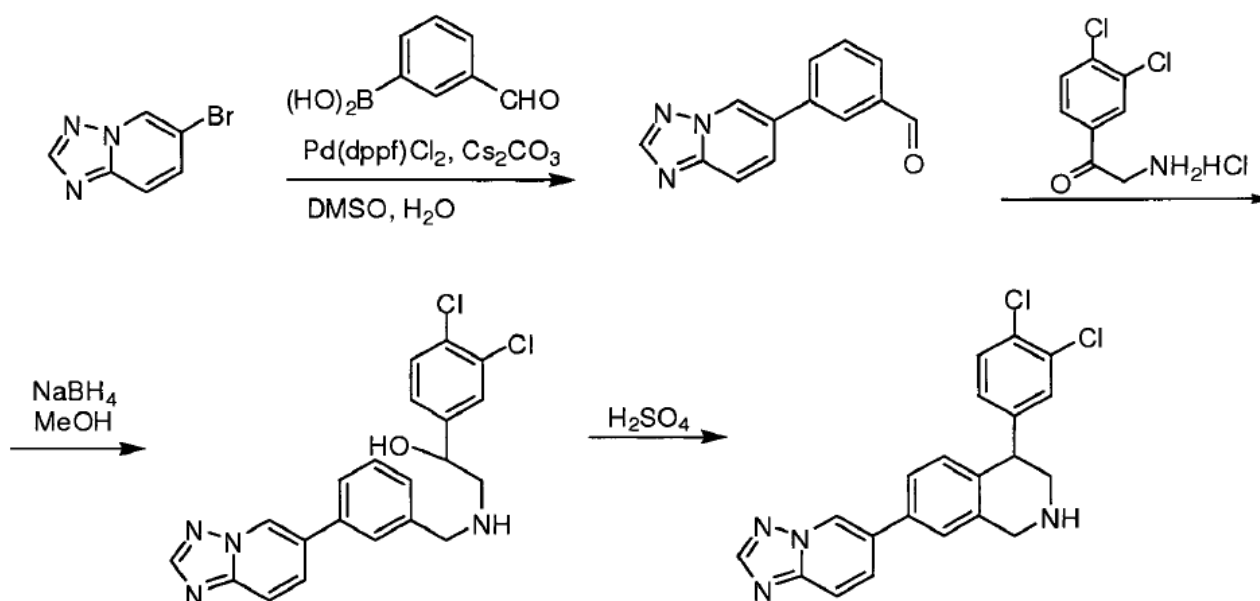


La 1-(3-metoxifenil)-N-metilmetanamina se hace reaccionar con bromuro de 3,4-diclorofenacilo en presencia de trietilamina para dar la 1-(3, 4-diclorofenil)-2-((3-metoxibencil)(metil)amino)etanona. La reducción de esta cetona por borohidruro de sodio produce el 1-(3, 4-diclorofenil)-2-((3-metoxibencil)(metil)amino)etanol, que se somete a ciclación mediada por ácido para dar la 4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina. Este derivado de tetraisoquinolina racémico se puede separar a través de HPLC quiral o cromatografía de fluidos supercríticos (CFS) para proporcionar los enantiómeros individuales. Alternativamente, la separación quiral se puede conseguir mediante la recristalización usando ácidos quirales tales como el ácido di-*p*-toluoil-D-tartárico o ácido di-*p*-toluoil-L-tartárico.

La 4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina se convierte en el fenol correspondiente por el tratamiento con HBr al 48% a reflujo. El fenol resultante se convierte después en el trifilato correspondiente que se transforma adicionalmente en el derivado de borato de pinacol correspondiente 4-(3,4-diclorofenil)-2-metil-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina. La desmetilación utilizando cloroforniato de 1-cloroetilo seguido de protección con Boc provee el *tert*-butil 4-(3,4-diclorofenil)-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1H)-carboxilato. La reacción de esta tetraisoquinolina Boc protegida con la 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridina en condiciones de acoplamiento de Suzuki proporciona el *tert*-butil 7-([1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1H)-carboxilato, que luego se desprotege por medio de TFA para proporcionar la 7-([1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina o fórmula (I).

Una ruta sintética alternativa para preparar los compuestos de fórmula (I) se representa en el Esquema 2.

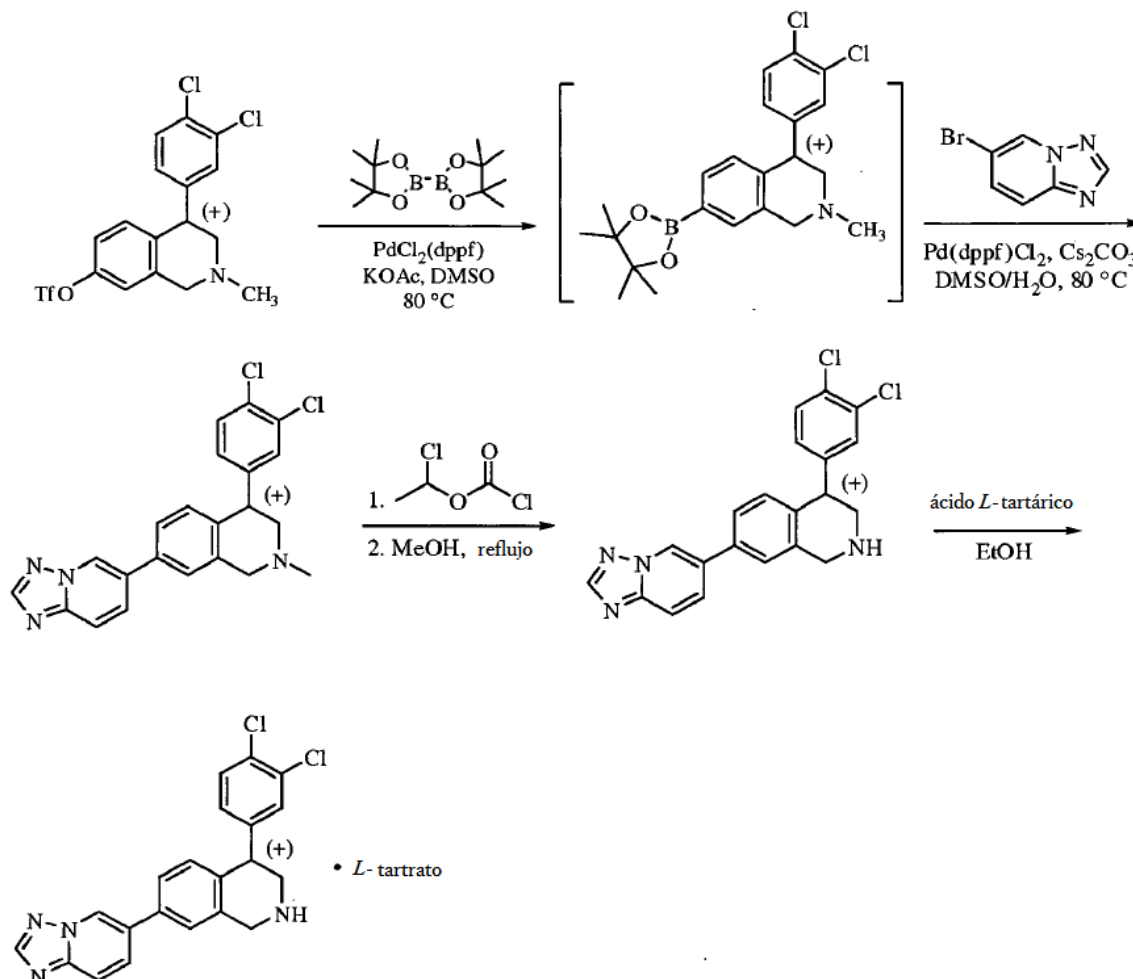
### Esquema 2



El acoplamiento de Suzuki del ácido 3-formilfenilborónico y 6-bromo-[1,2,4] triazolo [1,5-*a*] piridina provee el 3-([1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)benzaldehído. Este aldehído se somete a una aminación reductora para proveer el 2-(3-([1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)bencilamino)-1-(3,4-diclorofenil)etanol, que a continuación, se somete a ciclación mediada por medio del ácido sulfúrico para proporcionar la 7-([1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina.

Una ruta sintética de la preparación de sales L-tartrato de los compuestos (I) se representa en el Esquema 3.

## Esquema 3



5 Los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener en forma (R) y (S) enantioméricamente enriquecidos por cristalización con sales quirales también conocidas por un experto en la técnica, o, alternativamente, pueden ser aislados a través de HPLC quiral empleando columnas quirales disponibles comercialmente.

10 Será apreciado que los compuestos descritos en este documento pueden contener centros asimétricos. Estos centros asimétricos pueden estar independientemente en la configuración R o S y tales compuestos son capaces de rotar un plano de luz polarizada en un polarímetro. Si dicho plano de luz polarizada es causada por el compuesto para girar en una dirección en sentido antihorario, el compuesto se dice que es el estereoisómero (-) del compuesto. Si dicho plano de luz polarizada es causada por el compuesto para girar en sentido horario, el compuesto se dice que es el estereoisómero (+) del compuesto. Será evidente para los expertos en la técnica que ciertos compuestos descritos en este documento también pueden exhibir isomería geométrica. Se debe entender que los compuestos descritos en este documento incluyen los isómeros geométricos individuales y estereoisómeros y mezclas de los mismos, incluyendo mezclas racémicas, de los compuestos de fórmula (I) mencionados anteriormente. Tales isómeros se pueden separar de sus mezclas, por medio de la aplicación o adaptación de métodos conocidos, por ejemplo técnicas cromatográficas y técnicas de recristalización, o se preparan por separado a partir de los isómeros apropiados de sus intermedios.

20 Los compuestos radiomarcados se pueden sintetizar por medio de una serie de técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de materiales iniciales que incorporan en estos uno o más radioisótopos. Los compuestos descritos en este documento donde un radioisótopo estable, como el carbono 14, el tritio, yodo-121, u otro radioisótopo, se ha introducido de forma sintética son agentes de diagnóstico útiles para la identificación de las áreas del

cerebro o del sistema nervioso central que pueden ser afectados por trastornos en los que transportadores de la norepinefrina, dopamina, o serotonina y su mecanismo de absorción están implicados.

5 Las formas cristalinas se pueden preparar por una variedad de métodos, incluyendo, por ejemplo, cristalización o  
recristalización en un solvente apropiado, sublimación, crecimiento a partir de una masa fundida, transformación en estado  
sólido a partir de otra fase, cristalización a partir de un fluido supercrítico, y pulverización de chorro. Las técnicas para la  
cristalización o recristalización de formas cristalinas a partir de una mezcla de solventes incluyen, por ejemplo, la  
10 evaporación del solvente, la disminución de la temperatura de la mezcla de solventes, la siembra de cristales de una mezcla  
de solvente supersaturada de la molécula y/o sal, liofilización de la mezcla de solventes, y la adición de antidisolventes  
(solventes en contracorriente) a la mezcla de solventes. Las técnicas de cristalización de alto rendimiento se pueden  
emplear para preparar formas cristalinas incluyendo los polimorfos. Los cristales de fármacos, incluyendo polimorfos, los  
métodos de preparación y caracterización de cristales de fármacos se discuten en Bryn et al., *Solid-State Chemistry of*  
*Drugs*, 2nd Edition, SSCI, West Lafayette, Indiana (1999).

15 Para las técnicas de cristalización que emplean solventes, la elección del solvente o solventes por lo general depende de  
uno o más factores, tales como la solubilidad del compuesto, la técnica de cristalización, y la presión de vapor del solvente,  
o la capacidad para proporcionar una forma cristalina sustancialmente pura. Las combinaciones de solventes se pueden  
emplear, por ejemplo, el compuesto se puede solubilizar en un primer solvente para proporcionar una solución, seguido por  
20 la adición de un antidisolvente para disminuir la solubilidad del compuesto en la solución y para proporcionar la formación de  
cristales. Un antidisolvente es un solvente en el que el compuesto tiene baja solubilidad.

En un método para preparar cristales, un compuesto se suspende y/o agita en un solvente apropiado para proveer una  
lechada, que se puede calentar para promover la disolución completa o parcial. El término "suspensión", como se usa en  
este documento, significa una solución saturada del compuesto, que también puede contener una cantidad adicional del  
25 compuesto para proporcionar una mezcla heterogénea del compuesto y un solvente a una temperatura dada.

Los cristales de semilla se pueden adicionar a cualquier mezcla de cristalización para promover la cristalización. La siembra  
se puede emplear para controlar el crecimiento de un polimorfo particular o para controlar la distribución del tamaño de  
partícula del producto cristalino y/o proporcionar una forma cristalina sustancialmente pura. En consecuencia, el cálculo de  
30 la cantidad de semillas necesaria depende del tamaño de la semilla disponible y el tamaño deseado de una partícula media  
del producto como se describe, por ejemplo, en Mullin et al., "Programmed Cooling of Batch Crystallizers," *Chemical*  
*Engineering Science*, 26:369-377 (1971). En general, se necesitan semillas de pequeño tamaño para controlar eficazmente  
el crecimiento de cristales en el lote. Las semillas de tamaño pequeño se pueden generar por tamizado, molienda, o la  
micronización de cristales grandes, o mediante micro-cristalización de soluciones. Se debe tener cuidado de que la molienda  
35 o micronización de cristales no dé lugar a ningún cambio en la cristalinidad de la forma cristalina deseada (es decir, cambiar  
a amorfa o a otro polimorfo).

Una mezcla de cristalización refrigerada se puede filtrar bajo vacío, y los sólidos aislados se pueden lavar con un solvente  
apropiado, tal como solvente de recristalización frío, y se secan bajo una purga de nitrógeno para producir la forma cristalina  
40 deseada. Los sólidos aislados se pueden analizar por medio de una técnica espectroscópica o analítica apropiada, tales  
como resonancia nuclear magnética de estado sólido, difracción de polvo de rayos X, o similares, para asegurar la  
formación de la forma cristalina preferida del producto. Por lo general, la forma cristalina resultante se produce en una  
cantidad mayor que aproximadamente 70 por ciento en peso de rendimiento aislado, preferiblemente mayor que 90 por  
45 ciento en peso del rendimiento aislado, basado en el peso del compuesto empleado originalmente en el procedimiento de  
cristalización. El producto puede ser co-triturado o pasado por un tamiz de malla para desaglomerar el producto, si es  
necesario.

Las formas cristalinas se pueden preparar, por ejemplo, directamente a partir del medio de reacción del procedimiento para  
preparar un compuesto de fórmula (I). Esto se puede conseguir, por ejemplo, empleando en la etapa de proceso final un  
50 solvente o una mezcla de solventes a partir del cual se pueden cristalizar la Forma SA-1 o la Forma N-2. Alternativamente,  
las formas cristalinas se pueden obtener por técnicas de destilación o de adición de solvente. Los solventes apropiados para  
este propósito incluyen, por ejemplo, solventes no polares y solventes polares, incluyendo solventes próticos polares tales  
como alcoholes, y solventes polares apróticos tales como cetonas, los detalles y la selección de los cuales son conocidos  
por los expertos en la técnica.

55 La presencia de más de un polimorfo en una muestra se puede determinar mediante técnicas tales como difracción de rayos  
X en polvo (PXRD) o espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido (SSNMR). Por ejemplo, la presencia  
de picos adicionales en un patrón de PXRD medido experimentalmente cuando se compara con un patrón PXRD simulado  
puede indicar más de un polimorfo en la muestra. El PXRD simulado se puede calcular a partir de los datos de rayos X de  
60 un solo cristal (véase Smith, "A FORTRAN Program for Calculating X-Ray Powder Diffraction Patterns," *Lawrence Radiation*

Laboratory, Livermore, California, UCRL-7196 (April 1963)). En un aspecto, la Forma SA-1 o la Forma N-2 tiene una homogeneidad de fase indicado por menos de 5 por ciento, preferiblemente menos de 2 por ciento, y más preferiblemente menos de 1 por ciento del área total del pico en el patrón PXRD medido experimentalmente que surge de los picos extras que están ausentes de un patrón de PXRD simulado.

5 Preferiblemente, la técnica de cristalización provee un producto que comprende la Forma SA-1 o la Forma N-2 sustancialmente pura. El material cristalizado comprende preferiblemente al menos 95% en peso de la Forma SA-1/Forma N-1, basado en el peso del compuesto de fórmula (I) en la composición. El material restante puede comprender otra(s) forma(s) del compuesto y/o impurezas de reacción y/o impurezas del procesamiento que surgen de su preparación. La presencia de impurezas de la reacción y/o impurezas de procesamiento se puede determinar mediante técnicas analíticas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, cromatografía, espectroscopía de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, o espectroscopía infrarroja.

10 La Forma SA-1 y la Forma N-1 se pueden caracterizar utilizando diversas técnicas, que son bien conocidas por los expertos en la técnica. Ejemplos de métodos de caracterización incluyen, pero no se limitan a, difracción de rayos X de monocristal, difracción de rayos X en polvo (PXRD), patrones de rayos X en polvo simulados (Yin et al., American Pharmaceutical Review, 6(2):80 (2003)), calorimetría diferencial de barrido (DSC), <sup>13</sup>C RMN de estado sólido (Earl et al., J. Magn. Reson., 48:35-54 (1982)), espectroscopía Raman, espectroscopía infrarroja, isothermas de absorción de humedad, análisis termogravimétrico (TGA), y las técnicas de superficie caliente.

15 Las formas se pueden caracterizar y distinguir usando difracción de rayos X de monocristal, que se basa en mediciones de célula unitaria de un monocristal de la Forma SA-1 o la Forma N-2. Una descripción detallada de células unitarias se proporciona en Stout et al., X-Ray Structure Determination: A Practical Guide, Macmillan Co., New York (1968), Capítulo 3. Por otra parte, la disposición única de átomos en relación espacial dentro de la red cristalina se puede caracterizar de acuerdo con las coordenadas atómicas fraccionadas observadas. Otros medios de caracterizar la estructura cristalina es por análisis de difracción de rayos X en polvo, en el cual el perfil de difracción se compara con un perfil simulado que representa el material en polvo puro, ambos se ejecutan a la misma temperatura analítica, y las mediciones para la forma sujeto caracterizadas como una serie de valores 2θ.

20 Un experto en la técnica apreciará que un patrón de difracción de rayos X se puede obtener con una medida de error que depende de las condiciones de medición empleadas. En particular, se sabe en general que las intensidades en un patrón de difracción de rayos X pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición empleadas. Se debe entender, además, que las intensidades relativas también pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales y, por consiguiente, el orden exacto de la intensidad no debe ser tener en cuenta. Además, un error de medición del ángulo de difracción para un patrón de difracción de rayos X convencional, por lo general es de aproximadamente 5 por ciento o menos, y tal grado de error de medición debe tenerse en cuenta como perteneciente a los ángulos de difracción antes mencionados. En consecuencia, se debe entender que las formas cristalinas de la presente divulgación no se limitan a las formas de cristal que proporcionan patrones de difracción de rayos X completamente idénticos a los patrones de difracción de rayos X representados en las Figuras adjuntas reveladas en este documento. Cualquier forma de cristal que provee un patrón de difracción de rayos X, y el termograma DSC sustancialmente idéntico a los revelados en las figuras adjuntas cae dentro del alcance de la presente descripción. La capacidad de determinar identidades sustanciales de patrones de difracción de rayos X está dentro del alcance de un experto en la técnica.

25 Las composiciones que contienen las formas cristalinas/compuestos se describen en el presente documento, incluyendo, en particular, las composiciones farmacéuticas que comprenden cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos/formas cristalinas y portadores farmacéuticamente aceptables.

30 Los kits que tienen una pluralidad de ingredientes activos (con o sin portador) pueden ser a condición que, juntos, puedan ser utilizados eficazmente para llevar a cabo las nuevas terapias de combinación.

35 Se puede proporcionar una composición farmacéutica que sea eficaz, en y por sí misma, para su uso en una terapia de combinación beneficiosa porque incluye una pluralidad de ingredientes activos.

40 Se pueden proporcionar kits o paquetes individuales que combinan dos o más ingredientes activos útiles en el tratamiento de la enfermedad. Un kit puede proporcionar (solo o en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable) los compuestos de fórmula (I) o una forma cristalina como se describe en el presente documento y el ingrediente activo adicional (solo o en combinación con diluyente o portador) seleccionado de un antagonista del receptor de la serotonina 1A, un antagonista selectivo de los receptores de la neuroquinina-1, y un precursor de la norepinefrina.



En la práctica, los compuestos/formas cristalinas generalmente se pueden administrar por vía parenteral, por vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, colónica, nasal, intraperitoneal, rectal, o por vía oral.

5 Los productos de acuerdo con la presente invención se pueden presentar en formas que permiten la administración por la vía más apropiada y la invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen al menos un producto de acuerdo con la invención que son apropiadas para uso en medicina humana o veterinaria. Estas composiciones se pueden preparar de acuerdo con los métodos habituales, usando uno o más adyuvantes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los adyuvantes comprenden, *inter alia*, diluyentes, medios acuosos estériles, y los diversos solventes orgánicos no tóxicos. Las composiciones pueden presentarse en forma de comprimidos, píldoras, gránulos, polvos, soluciones o 10 suspensiones acuosas, soluciones inyectables, elixires o jarabes, y pueden contener uno o más agentes elegidos del grupo que comprende edulcorantes, aromatizantes, colorantes, o estabilizadores con el fin de obtener preparaciones farmacéuticamente aceptables.

15 La elección del vehículo y el contenido de la sustancia activa en el vehículo se determinan generalmente de acuerdo con las propiedades de solubilidad y químicas del producto, el modo particular de administración y las disposiciones que deben observarse en la práctica farmacéutica. Por ejemplo, los excipientes tales como lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato dicálcico y agentes desintegrantes tales como almidón, ácidos alginicos y ciertos silicatos complejos combinados con lubricantes tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio, y talco se pueden utilizar para la preparación de comprimidos. Para preparar una cápsula, es ventajoso usar lactosa y polietilenglicoles de alto peso 20 molecular. Cuando se usan suspensiones acuosas, éstas pueden contener agentes emulsionantes o agentes que facilitan la suspensión. También se pueden utilizar, los diluyentes tales como sacarosa, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, glicerol y cloroformo o mezclas de los mismos.

25 Para la administración parenteral, se utilizan emulsiones, suspensiones o soluciones de los productos según la invención en aceite vegetal, por ejemplo aceite de sésamo, aceite de cacahuete, o aceite de oliva, o soluciones orgánicas acuosas, tales como agua y propilenglicol, ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo, así como soluciones acuosas estériles de las sales farmacéuticamente aceptables. Las soluciones de las sales de los productos según la invención son especialmente útiles para administración por inyección intramuscular o subcutánea. Las soluciones acuosas, que comprenden también soluciones de las sales en agua destilada pura, se pueden usar para administración intravenosa con la 30 condición de que su pH se ajuste adecuadamente, que se regulan acertadamente y se vuelvan isotónicas con una cantidad suficiente de glucosa o cloruro de sodio, y que se esterilizan mediante calentamiento, irradiación o microfiltración.

35 Las composiciones apropiadas que contienen los compuestos/formas cristalinas de la presente invención se pueden preparar por medios convencionales. Por ejemplo, los compuestos/las formas cristalinas de la presente invención se pueden disolver o suspender en un portador apropiado para su uso en un nebulizador o una suspensión o solución en aerosol, o pueden ser absorbidos o adsorbidos sobre un portador sólido apropiado para uso en un inhalador de polvo seco.

40 Las composiciones sólidas para administración rectal incluyen supositorios formulados de acuerdo con métodos conocidos y que contienen al menos un compuesto de fórmula (I)/forma cristalina.

45 El porcentaje del ingrediente activo en las composiciones de la presente invención se puede variar, siendo necesario que constituya una proporción tal que se obtendrá una dosificación apropiada. Obviamente, varias formas de dosificación unitaria se pueden administrar a aproximadamente el mismo tiempo. La dosis empleada será determinada por el médico, y depende del efecto terapéutico deseado, la ruta de administración y la duración del tratamiento, y la condición del paciente. En el adulto, las dosis son generalmente de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, preferiblemente de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día por inhalación, de 50 aproximadamente 0.01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, preferiblemente de 0.1 a 70 mg/kg de peso corporal, más especialmente de 0.1 a 10 mg/kg de peso corporal por día por administración oral, y de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, preferiblemente de 0.01 a 10 mg/kg de peso corporal por día por administración vía intravenosa. En cada caso particular, las dosis se determinarán de acuerdo con los factores distintivos del sujeto a ser tratado, tales como la edad, peso, estado general de salud y otras características que pueden influir en la eficacia del producto medicinal.

55 Los productos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar tan frecuentemente como sea necesario con el fin de obtener el efecto terapéutico deseado. Algunos pacientes pueden responder rápidamente a una dosis mayor o menor y pueden encontrar dosis de mantenimiento mucho más débiles apropiadas. Para otros pacientes, puede ser necesario tener tratamientos a largo plazo en la proporción de 1 a 4 dosis por día, de acuerdo con los requisitos fisiológicos de cada paciente particular. Generalmente, el producto activo se puede administrar por vía oral 1 a 4 veces por día. No falta decir que, para otros pacientes, será necesario prescribir no más de una o dos dosis por día.

La presente invención provee compuestos que inhiben la absorción sináptica de la norepinefrina, la dopamina y la serotonina y, por lo tanto, se cree que son útiles en el tratamiento de un trastorno que se produce por o es dependiente de la disponibilidad disminuida de serotonina, norepinefrina, o dopamina. Aunque los compuestos de fórmula (I) inhiben la absorción sináptica de la norepinefrina, la dopamina y la serotonina, en cualquier compuesto individual, estos efectos inhibitorios se pueden manifestar a las mismas o muy diferentes concentraciones o dosis. Como resultado, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de dicho trastorno a dosis a las cuales la absorción sináptica de la norepinefrina puede ser inhibida sustancialmente pero en la cual la absorción de serotonina sináptica o la absorción de dopamina no se inhibe sustancialmente, o viceversa. Además, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de un trastorno de este tipo en dosis a las cuales la absorción sináptica de dopamina se puede inhibir sustancialmente pero a la cual la absorción sináptica de la norepinefrina o de la serotonina no se inhibe sustancialmente, o viceversa. Y, a la inversa, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de un trastorno de este tipo en dosis a las cuales la absorción sináptica de la serotonina sináptica puede ser inhibida sustancialmente pero en la que la absorción sináptica de la norepinefrina o de la dopamina no se inhibe sustancialmente, o viceversa. Los compuestos de fórmula (I) también pueden ser útiles en el tratamiento de un trastorno de este tipo en dosis a las que la absorción sináptica de la norepinefrina, la dopamina y serotonina se inhibe sustancialmente.

Las concentraciones o dosis a las que un compuesto de ensayo inhibe la absorción sináptica de la norepinefrina, la dopamina y serotonina se determina fácilmente por el uso de técnicas y de ensayo estándar, bien conocidos y apreciados por un experto en la técnica. Por ejemplo, el grado de inhibición a una dosis particular en ratas se puede determinar por el método de Dudley, *J Pharmacol Exp Ther*, 217:834-840 (1981).

La dosis inhibitoria terapéuticamente eficaz es una que es eficaz para inhibir sustancialmente la absorción sináptica de la norepinefrina, la absorción sináptica de dopamina o la absorción sináptica de serotonina o la inhibición de la absorción sináptica de dos o más de la absorción de la norepinefrina, la dopamina y la serotonina. La dosis inhibitoria terapéuticamente eficaz se puede determinar fácilmente por los expertos en la técnica utilizando técnicas convencionales de búsqueda del intervalo y los resultados análogos obtenidos en los sistemas de prueba descritos anteriormente.

Los compuestos de esta invención proveen un índice terapéutico particularmente beneficioso con relación a otros compuestos disponibles para el tratamiento de trastornos similares. Sin pretender estar limitado por la teoría, se cree que esto es debido, al menos en parte, a los compuestos que tienen afinidades de enlace más altas para uno o dos de los transportadores de neurotransmisores, por ejemplo, la selectividad hacia la proteína transportadora de serotonina ("SERT") lo largo de los transportadores para otros neuroquímicos, por ejemplo, la proteína transportadora de dopamina ("DAT") y la proteína transportadora de norepinefrina ("NET").

Las afinidades de enlace se demuestran por un número de medios bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, sin limitación, los descritos en la sección de Ejemplos a continuación. Brevemente, por ejemplo, los extractos que contienen proteínas de las células, por ejemplo, células HEK293E, que expresan las proteínas transportadoras se incuban con ligandos radiomarcados para las proteínas. El enlace de los radioligandos con las proteínas es reversible en presencia de otros ligandos de proteínas, por ejemplo, los compuestos de la presente invención; dicha reversibilidad, como se describe a continuación, proporciona un medio para medir afinidades de enlace de los compuestos de las proteínas ( $IC_{50}$  o  $K_i$ ). Un valor más alto de  $IC_{50}/K_i$  para un compuesto es indicativo de que el compuesto tiene una afinidad de enlace inferior para una proteína que es así para un compuesto con un  $IC_{50}/K_i$  menor; por el contrario, los valores de  $IC_{50}/K_i$  más bajos son indicativas de afinidades de enlace mayores.

Por consiguiente, la diferencia en la selectividad de compuesto para las proteínas es indicada por un  $IC_{50}/K_i$  menor para la proteína para la cual el compuesto es más selectivo, y un  $IC_{50}/K_i$  mayor para la proteína para la cual el compuesto es menos selectivo. Por lo tanto, cuanto mayor es la relación de los valores de  $IC_{50}/K_i$  de un compuesto para la proteína A sobre la proteína B, mayor es la selectividad de los compuestos para el último sobre el primero (el primero que tiene un  $IC_{50}/K_i$  mayor y el último un  $IC_{50}/K_i$  inferior para ese compuesto).

Los compuestos ("los inhibidores de reabsorción del transportador de triple acción") de la presente invención tienen una afinidad de enlace potente simultáneamente para los tres transportadores de aminas biogénicas, NET, DAT, o SERT. Por ejemplo, los compuestos de esta invención poseen valores de  $IC_{50}/K_i$  de NET, DAT, SERT potentes de menos de 200 nM.

La afinidad *in vivo* de los compuestos con las tres proteínas transportadoras, SERT, DAT, y NET se demuestran por medios bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, sin limitación, los descritos en la sección de Ejemplos a continuación.

Por consiguiente, la diferencia en la selectividad de compuesto *in vivo* de la proteína se indica por un valor de porcentaje de ocupación superior (o porcentaje de inhibición del compuesto del ligando [ $^3H$ ] utilizado en la sección de Ejemplos) en la

proteína transportadora para la cual el compuesto es más selectivo y un porcentaje de ocupación (o porcentaje de inhibición del compuesto de ligando  $^3\text{H}$ ) utilizado en la sección de Ejemplos) inferior para la proteína para la cual el compuesto es menos selectivo.

- 5 Los compuestos de la presente invención, cuando se administran a una dosis farmacéuticamente factible a través de medios tales como, pero no limitado a, oral, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal e intramuscular, tienen un valor(es) de porcentaje de ocupación estadísticamente significativo en uno, dos o la totalidad de los transportadores de aminas biogénicas NET, DAT, o SERT.
- 10 Los compuestos de la presente invención, cuando se administran a una dosis farmacéuticamente factible a través de medios tales como, pero no limitado a, oral, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal e intramuscular, tienen valor(es) de ocupación de 10% -100% en uno, dos o todos los transportadores de aminas biogénicas NET, DAT, o SERT. En una modalidad preferida, los compuestos de la presente invención tienen valor(es) de ocupación de 40% -100% en al menos uno de los transportadores de aminas biogénicas NET, DAT, o SERT.

15

## EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Preparación de la 7-([1,2,4] triazolo [1,5- a]piridin-6-il) -4- (3,4-diclorofenil) -1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, Sal L-tartrato.

20

Etapa A: A una solución de 3-metoxibenzaldehído (180 g, 1,32 mol) en metanol (1 L) se le adicionó una solución acuosa al 40% de metilamina (113 ml, 1,31 mol) seguido de 1 hora de agitación a 0 ° C. Se adicionó en porciones a 0 ° C borohidruro de sodio (75 g, 1,98 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La solución se concentró a un volumen más pequeño, se diluyó con agua (200 ml) y la solución resultante se extrajo con cloruro de metileno (3 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proporcionar la N-metilbencilamina en bruto (220 g, cuantitativo) como un aceite transparente, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional:  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.23 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 6,92-6,88 (m, 2H), 6,81-6,78 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,73 (s, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,07 (s ancho, 1H).

25

30 Etapa B: A una solución de la amina anterior (6.2 g, 41.00 mmol) a partir de la Etapa A en cloruro de metileno (100 mL) se le adicionó 3,4-diclorofenacilo bromuro (10.0 g, 37.3 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 0 ° C, durante 1 hora antes de la adición de trietilamina (5.20 mL, 37.31 mmol), seguido por 1 hora de agitación a 0 ° C. La mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) a continuación, la fase acuosa se extrajo con cloruro de metileno adicional (3 x 75 mL). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron para proporcionar la 1-(3,4-diclorofenil)-2-((3-metoxibencil)(metil)amino)etanol (15.08 g) como un aceite de color amarillo claro, el cual se utilizó en la siguiente etapa sin una purificación adicional:  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.08 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.78 (dd,  $J = 8.5$ ; 2.0 Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 6.82 (dd,  $J = 8.0$ ; 2.5 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.33 (s, 3H).

35

40 Etapa C: A una solución de la cetona (~37 mmol) a partir de la Etapa B en metanol (150 mL), se le adicionó en porciones borohidruro de sodio (2.11 g, 55.79 mmol) a 0 ° C. La mezcla de reacción en primer lugar se agitó, durante 2 horas luego, se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con cloruro de metileno (3 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron a sequedad bajo presión reducida para proporcionar el alcohol en bruto (14.14 g) como un aceite de color amarillo, el cual se utilizó sin una purificación adicional en la siguiente etapa:  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.45 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.28-7.23 (m, 1H), 7.16 (dd,  $J = 8.0$ ; 2.0 Hz, 1H), 6.90-6.81 (m, 3H), 4.70-4.65 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.70 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H), 3.50 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H), 2.54-2.49 (m, 2H), 2.32 (s, 3H).

45

Etapa D: A una solución del alcohol (~37 mmol) a partir de la Etapa C en cloruro de metileno (200 mL) se le adicionó ácido sulfúrico concentrado (12 mL, 235 mol) y la mezcla se agitó a 0 ° C, durante 28 horas. La reacción se apagó mediante la adición de una solución de NaOH 6N hasta pH~9. La fase acuosa se extrajo con más cloruro de metileno (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (1:1:1 a 1:1:2 diclorometano/hexanos/acetato de etilo) para proporcionar la 4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (7.0 g, 59% en 3 etapas) como un aceite de color amarillo claro:  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.33 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.29 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.03 (dd,  $J = 8.5$ ; 2.0 Hz, 1H), 6.76 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 6.66 (dd,  $J = 8.5$ ; 3.0 Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 4.16-4.11 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.67-3.59 (m, 2H), 2.92 (dd,  $J = 11.5$ ; 5.5 Hz, 1H), 2.55 (dd,  $J = 11.5$ ; 7.0 Hz, 1H), 2.39 (s, 3H). El isómero 5-metoxi no deseado también se aisló (1.20 g, 10% durante 3 etapas).

50

55

60 Etapa E: La 4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina racémica (7.0 g) a partir de la anterior Etapa D se resolvió por HPLC quiral preparativa (columna CHIRALPAK AD, utilizando como eluyente heptano/2-propanol/dietilamina

80:20:0.1) para proveer el (+)-enantiómero ( $[\alpha]^{25}_D +31.9^\circ$  (c 0.49, metanol)) (3.68 g) como un aceite incoloro y el (-)-enantiómero (3.99 g) como un aceite incoloro.

5 Etapa F: Una solución de (+)-4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (3.68 g, 11.42 mmol) en una mezcla de ácido acético (20 mL) y solución acuosa de ácido bromhídrico al 48% (50 mL) se sometió a reflujo, durante 8 horas. La mezcla de reacción enfriada se basificó con una solución acuosa concentrada de hidróxido de sodio y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio hasta alcanzar un pH de aproximadamente 8-9 y se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron *in vacuo* para proporcionar el alcohol en bruto (2.6 g) como un sólido de color amarillo.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.32 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.26 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J = 8.0$ ; 2.0 Hz, 1H), 6.65 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.54 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 6.49 (amplitud s, 1H), 4.15-4.10 (m, 1H), 3.60 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 3.56 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 11.5$ ; 5.7 Hz, 1H), 2.52 (dd,  $J = 11.5$ , 8.0 Hz, 1H), 2.39 (s, 3H).

15 Etapa G: A una solución del fenol de la anterior Etapa F (2.1 g, 6.81 mmol) y piridina (0.72 mL, 8.85 mmol) en diclorometano (60 mL) se le adicionó anhídrido trifluorometanosulfónico (1.37 mL, 8.14 mmol) a  $-78^\circ\text{C}$ . La reacción se dejó calentar a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó, durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con diclorometano (3 x). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron para proveer el triflato en bruto como un aceite de color amarillo.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.36 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.30 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.03-6.98 (m, 3H), 6.94 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 4.19-4.15 (m, 1H), 3.68 (s, 2H), 2.96 (dd,  $J = 11.7$ ; 5.5 Hz, 1H), 2.60 (dd,  $J = 11.7$ , 7.5 Hz, 1H), 2.42 (s, 3H).

25 Etapa H: Una mezcla del triflato de la anterior Etapa G (~ 6.8 mmol), bis(pinacolato)diboro (2.07 g, 8.15 mmol), y acetato de potasio (2.05 g, 20.8 mmol) en dimetil sulfóxido (35 mL) se desgasificó con argón. A esta mezcla se le adicionó dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) (0.40 g, 0.55 mmol). La mezcla resultante se desgasificó con argón y luego se calentó a  $85^\circ\text{C}$ , durante 2 horas. La mezcla de reacción fría se diluyó con acetato de etilo (150 mL). La solución resultante se lavó con agua (2 x 40 mL), salmuera (1 x 40 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron *in vacuo*. Una Purificación por columna de cromatografía instantánea (eluyente, 1:1:1 a 1:1:2 diclorometano/hexanos/acetato de etilo) proporcionó el éster de boronato deseado (2.6 g, 91% en 2 etapas) como un sólido de color amarillo.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.55 (s, 1H), 7.52 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.28 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J = 8.0$ , 2.0 Hz, 1H), 6.85 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.23 (t,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 3.71 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 3.67 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 2.98 (dd,  $J = 11.4$ , 5.3 Hz, 1H), 2.56 (dd,  $J = 11.4$ , 7.5 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H), 1.33 (s, 12H).

35 Etapa I: A una solución del éster de boronato (2.6 g, 6.22 mmol) de la Etapa F y esponja de protones (2.6 g, 12.1 mmol) en dicloroetano (80 mL) a  $0^\circ\text{C}$  se le adicionó cloroformiato de 1-cloroetilo (2.4 mL, 22.1 mmol). La mezcla se agitó a  $0^\circ\text{C}$ , durante 15 minutos, luego se sometió a reflujo, durante 40 minutos y se concentró *in vacuo*. El residuo se filtró a través de una almohadilla pequeña de sílica gel (eluyente, diclorometano/hexanos/acetato de etilo 1:1:1) y el filtrado se concentró *in vacuo*. El residuo se diluyó con metanol (160 mL), se calentó a reflujo, durante 1 hora y se concentró *in vacuo* para proveer la 4-(3,4-diclorofenil)-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina como una espuma de color marrón.

40 Etapa J: Una solución del producto de la Etapa I (~ 6.2 mmol),  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (3.60 g, 16.4 mmol), trietilamina (1.5 mL, 10.7 mmol) y DMAP (0.26 g, 2.20 mmol) en diclorometano (120 mL) se agitó a temperatura ambiente, durante 4 horas. La reacción se apagó mediante la adición de agua (50 mL), después, la fase acuosa se extrajo con diclorometano adicional (2 x 100 mL). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron *in vacuo*. Una purificación por cromatografía de columna instantánea (eluyente, diclorometano/hexanos/acetato de etilo 47.5:47.5:5 a 1:1:1) proporcionó la tetrahidroisoquinolina protegida con boc (1.82 g, 58% en 3 etapas) como una espuma de color blanco.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.65 (s, 1H), 7.58 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.95 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 6.97-6.93 y 6.83-6.78 (m, 1H), 5.01-4.95 y 4.48-4.43 (m, 1H), 4.56-4.52 (m, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.83-3.44 (m, 2H), 1.43 y 1.26 (2s, 9H), 1.33 (s, 12H).

50 Etapa K: Un matraz seco se cargó con el éster de boronato (0.8 g, 1.59 mmol) de la Etapa J, 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (0.35 g, 1.78 mmol), carbonato de cesio (0.97 g, 2.98 mmol), y dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] paladio(II) diclorometano aducto (87 mg, 0.12 mmol). El matraz se cubrió con argón luego, se adicionaron DMF (20 mL) y agua (4 mL) seguido por una breve sonicación. La mezcla de reacción se calentó a  $80^\circ\text{C}$ , durante 1 hora. La mezcla de reacción fría se diluyó con agua (20 mL) y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 60 mL). Las fases orgánicas combinadas se concentraron *in vacuo*. La purificación por cromatografía de columna instantánea (eluyente, diclorometano/hexanos/acetato de etilo 1:1:1 a 1:1:2) proporcionó la 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina Boc-prottegida (0.86 g, cuantitativa) como una espuma de color blanco.

Etapa L: Una solución de la 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina Boc-protegida (0,85 g, 1,72 mmol) y ácido clorhídrico concentrado (4,0 ml) en etanol (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a sequedad *in vacuo*. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano (14 mL) y TFA (10 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y después se concentró *in vacuo*. El jarabe así obtenido se diluyó con diclorometano y se trató con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio hasta pH 8-9. La fase acuosa se extrajo con más diclorometano (3x) y las fases orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y concentraron *in vacuo* para proveer la 7 - ([1,2,4] triazolo [1,5-a] piridin-6- il) -4- (3,4-diclorofenil) -1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0,59 g, 87%) como una espuma de color blanco.

Etapa M: A una solución del producto (0.59 g, 1.49 mmol) a partir de la Etapa B en etanol se le adicionó ácido *L*-tartárico (0.22 g, 1.49 mmol). La suspensión se filtró. La torta se enjuagó con etanol y se secó para proveer 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, sal *L*-tartrato (0.49 g, 59%, AUC HPLC > 99%) como un sólido de color blanco.  $[\alpha]_{D}^{25} +9.0^{\circ}$  (c 0.11, metanol).  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9.09 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.02 (dd,  $J = 9.0$ , 2.0 Hz, 1H), 7.86 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.64-7.61 (m, 1H), 7.55 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.48 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.24 (dd,  $J = 8.0$ , 2.0 Hz, 1H), 7.04 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.65-4.57 (m, 2H), 4.52 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.79 (dd,  $J = 12.5$ , 6.0 Hz, 1H), 3.44 (t,  $J = 12.5$  Hz, 1H). ESI MS  $m/z$  395  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Anal. Calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4 \cdot \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}$ , 54.16; H, 4.18; N, 10.11. Encontrado: C, 54.07; H 3.92; N, 9.97.

La *L*-tartrato de la (-)-7-([1,2,4] triazolo [1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina se preparó utilizando (-)-4-(3,4-diclorofenil)-7-metoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina siguiendo las etapas similares a las descritas para la síntesis de la (+)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, sal *L*-tartrato ( $[\alpha]_{D}^{24} -6.0^{\circ}$  (c 0,10, metanol)).

#### Ejemplo 2 - Síntesis Alternativa del Ejemplo 1

Etapa A: A una solución del triflato (9.5 g, 21.6 mmol) de la etapa G en el Ejemplo 1 y bis (pinacolato) diboro (6.6 g, 25.9 mmol) en dimetil sulfóxido (200 ml) se le adicionó acetato de potasio (6.4 g, 64.8 mmol). La solución se desgasificó con argón durante 5 minutos y después se le adicionó dicloro [1,1'-bis (difosforino) ferroceno] paladio (II) (1.6 g, 2.2 mmol) a la misma. La mezcla de reacción se desgasificó con argón durante 5 minutos, se calentó a 80 °C durante 1 hora, y después se enfrió a temperatura ambiente. A esta solución se le adicionó 6-bromo- [1,2,4] triazolo [1,5- $\alpha$ ] piridina (4.8 g, 23.8 mmol) y una solución acuosa de carbonato de cesio (21.1 g, 64.8 mmol en 87 ml de agua). La solución resultante se desgasificó con argón y luego se le adicionó dicloro [1,1'-bis (difosforino) ferroceno] paladio (II) (0.8 g, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con argón y se calentó a 80 °C durante 1 hora. Se formó un aceite pegajoso oscuro durante la reacción. La solución sobrenadante oscura se vertió, se diluyó con agua, y se extrajo con acetato de etilo (3x), que se secó sobre sulfato de sodio y se concentró *in vacuo*. El aceite sobrante se disolvió en diclorometano y la solución resultante se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró *in vacuo*. El producto en bruto combinado se purificó por cromatografía de columna instantánea (100% de acetato de etilo a acetato de hidróxido de etilo/metanol/amonio 92:7.2:0.8) para proveer la 7-([1,2,4]triazolo[1,5- $\alpha$ ]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (7.7 g, 87%, AUC HPLC 97.6%) como una espuma de color marrón:  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.77 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.82 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.39-7.32 (m, 4H), 7.09 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 4.26 (t,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 3.75 (app s, 2H), 3.01 (dd,  $J = 11.5$ , 5.5 Hz, 1H), 2.64 (dd,  $J = 11.5$ , 6.5 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H).

Etapa B: A una solución de la 7-([1,2,4]triazolo[1,5- $\alpha$ ]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (7.2 g, 17.6 mmol) de la anterior etapa A en 1,2-dicloroetano (180 mL) a 0 °C se le adicionó esponja de protones (3.8 g, 17.6 mmol), seguido por la adición de cloroformiato de 1-cloroetilo (2.3 mL, 21.1 mmol). Después de la adición, la solución de reacción se agitó a 0 °C, durante 20 minutos y a temperatura ambiente, durante 14 horas. Se le adicionó más cloroformiato de 1-cloroetilo (0,5 ml, 4,6 mmol) a la solución de reacción. La solución de reacción se agitó durante otras 3 horas y luego se enfrió a 0 °C, se lavó con ácido clorhídrico acuoso (1N). Se forma un precipitado durante el lavado con ácido. El extracto orgánico se separó, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró *in vacuo*. El residuo obtenido se purificó por cromatografía de columna instantánea (diclorometano a diclorometano/metanol/hidróxido de amonio 95: 4.5: 0.5) para proveer dos lotes de productos intermedios de carbamato parcialmente purificados, que se disolvieron en metanol y se calentaron a reflujo durante 1 hora. Las soluciones de reacción se concentraron *in vacuo* y el producto en bruto obtenido se purificó mediante una combinación de cromatografía de columna instantánea (acetato de etilo a acetato de etilo/metanol/hidróxido de amonio 88:10.2:0.8) y cromatografía en capa fina preparativa (acetato de etilo/metanol/hidróxido de amonio 90:9:1) para proveer la deseada des-metil tetrahidroisoquinolina (3.8 g, 54%; AUC HPLC 98.7%) como una espuma de color rosa claro:  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.78-8.77 (m, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.83 (dd,  $J = 9.5$ , 1.0 Hz, 1H), 7.77 (dd,  $J = 9.0$ , 1.5 Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.05-7.00 (m, 2H), 4.24 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 4.17 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 4.13-4.11 (m, 1H), 3.44 (dd,  $J = 12.5$ , 5.0 Hz, 1H), 3.11 (dd,  $J = 13.0$ , 6.0 Hz, 1H).

Etapa C: A una solución de des-metil tetrahidroisoquinolina (3.75 g, 9.48 mmol) de la etapa B anterior en etanol (80 mL) se le adicionó carbón activado (3.0 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El carbono se retiró por filtración y el filtrado obtenido se concentró *in vacuo*. El aceite resultante se disolvió en etanol (60 ml) y se le adicionó una solución de ácido L-tartárico (1.44 g, 9,5 mmol) en etanol (20 ml). Sobre la cual, se formó inmediatamente un precipitado de color blanco. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se filtró. La torta obtenida se agitó en etanol caliente (70 °C) durante 3 horas y se filtró. La torta obtenida se secó *in vacuo* a 50-60 °C durante 40 horas para proveer el (+)-7-([1,2,4]triazolo[1,5- $\alpha$ ]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina L-tartrato (3.7 g, 73%; AUC HPLC 99,4% a 250 nm) sólido de color blanco crema [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 16.8 ° (c 0.13, metanol): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  9.09 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.02 (dd, *J* = 9.0; 2.0 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.64-7.61 (m, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 8.0; 2.0 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.65-4.57 (m, 2H), 4.52 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.79 (dd, *J* = 12.5; 6.0 Hz, 1H), 3.44 (t, *J* = 12.5 Hz, 1H). ESI MS *m/z* 395 [M+H]<sup>+</sup> Anal. Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>•C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>•0.5H<sub>2</sub>O: C, 54.16; H, 4.18; N, 10.11. Encontrado: C, 53.96; H 3.98; N, 9.94.

### Ejemplo 3 - Síntesis Alternativa del Ejemplo 1 (clorhidrato)

Etapa A: A un matraz de fondo redondo de 1 L se le adicionó 2-amino-5-bromopiridina (100 g, 578 mmol), DMF-DMA (101 ml, 751 mmol) y 2-propanol (200 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 h para proveer una solución de color oscuro claro. A continuación se enfrió a 50 °C y se le adicionó clorhidrato de hidroxilamina (52.2 g, 751 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante la noche para proveer una suspensión de color amarillo. El precipitado se recogió por filtración. El filtrado de color negro se concentró y el residuo se agitó en EtOH (20 ml) durante 20 min. El sólido se recogió por filtración. Los sólidos combinados se secaron en un horno para proveer N-(5-bromopiridin-2-il)-N'-hidroxiformimidamido como un sólido arenoso (94 g, rendimiento 75%).

Etapa B: se disolvió N-(5-bromopiridin-2-il)-N'-hidroxiformimidamido en THF (1 L). A la solución a 10 °C se le adicionó lentamente anhídrido trifluoroacético (106 ml, 751 mmol) para controlar la temperatura de reacción por debajo de 20 °C. Después de completar la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Después de que se terminó, la reacción se apagó con solución acuosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para ajustar a un pH > 7. El solvente orgánico se eliminó a presión reducida, y luego el producto se extrajo con DCM (4 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron a sequedad. El residuo se agitó en éter etílico (100 ml) y el producto 6-bromo- [1,2,4] triazolo [1,5-a] piridina se recogió por filtración como un sólido de color blanco crema (50 g, 58% de rendimiento).

Etapa C: A una mezcla del ácido 3-formilfenilborónico (21.41 g, 143 mmol), 6-bromo- [1,2,4] triazolo [1,5-a] piridina (28,27 g, 143 mmol) en DMSO (600 ml) y agua (50 ml) se le adicionó Pd (dppf) Cl<sub>2</sub> (5,83 g, 7,14 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (116 g, 357 mmol). Después de la adición, la temperatura de reacción alcanzó 45 °C. La cromatografía HPLC mostró que los materiales iniciales se consumieron después de 15 min. La reacción se diluyó con agua (400 mL). El precipitado de color negro se recogió por filtración y se disolvió en DCM (300 ml), y se lavó con salmuera (200 ml). La capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de una almohadilla de Celite y el filtrado se concentró para proveer una mezcla sólida de color negro. El producto se recristalizó en metanol para proveer el 3-([1,2,4] triazolo [1,5-a] piridin-6-il) benzaldehído (27.4 g, 123 mmol, 86% de rendimiento) como un sólido de color gris pálido: *m/z* = 224.0 [M+1]; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 7.74 (t, *J* = 7.68 Hz, 1 H), 7.91 - 8.02 (m, 2 H), 8.11 (dd, *J* = 9.19, 1.89 Hz, 1 H), 8.17 (d, *J* = 7.81 Hz, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.57 (s, 1 H), 9.45 (s, 1 H), 10.11 (s, 1 H).

Etapa D: Una mezcla de  $\alpha$ -bromo-3,4 '-dicloroacetofenona (26.7 g, 100 mmol), hexametilentetramina (HMTA) (13.97 g, 100 mmol) y NaI (0.5 g) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis por HPLC indicó el consumo de los materiales iniciales. El intermedio de amonio se recogió por filtración como un sólido de color blanco, se lavó con acetona y se secó (36 g, 89% de rendimiento).

A una solución del compuesto intermedio (36 g, 88 mmol) en EtOH (500 ml) se le adicionó HCl 12 N (75 ml, 0.9 mol). La mezcla se agitó a 76 °C durante la noche, y después se enfrió a temperatura ambiente. Mediante la filtración, se obtuvo el producto 2-amino-1-(3,4-diclorofenil) etanona clorhidrato como un cristal sólido (20.2 g, 95% de rendimiento): <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSOD<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 4.62 (s, 2 H), 7.79 - 7.94 (m, 1 H), 7.98 (dd, *J* = 8.56, 2.01 Hz, 1 H), 8.26 (d, *J* = 2.01 Hz, 1 H), 8.48 (s, 3 H).

Etapa E: A una solución de 2-amino-1-(3,4-diclorofenil)etanona clorhidrato (50 g, 208 mmol) en MeOH (200 mL) se le adicionó lentamente borohidruro de sodio (7.86 g, 208 mmol) a 0 °C. La cromatografía HPLC indicó una conversión del 100% después de 10 min. Una solución de 3-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)benzaldehído (46.4 g, 208 mmol) en DCM/MeOH (180mL/50mL) se le adicionó a la solución anterior en una porción a temperatura ambiente. La solución mezclada se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, a continuación se adicionó borohidruro de sodio (7.86 g, 208 mmol). La cromatografía HPLC indicó una conversión del 100% después de 10 min. La mayor parte del solvente se eliminó y el residuo se disolvió en DCM/NH<sub>4</sub>OH (4N) (1 L/1 L). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se

concentró hasta ~ 250 mL. El producto 2-(3-([1,2,4]triazolo[1,5- $\alpha$ ]piridin-6-il)bencilamino)-1-(3,4-diclorofenil)etanol en solución de DCM se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (área de HPLC 92%): m/z =413.1 [M+1]; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-D)  $\delta$  ppm 2.72 (dd, J=12.21, 8.69 Hz, 1 H), 2.96 (dd, J=12.34, 3.53 Hz, 1 H), 3.85 - 3.98 (m, 2 H), 4.69 (dd, J=8.56, 3.53 Hz, 1 H), 7.18 (dd, J=8.31, 1.76 Hz, 1 H), 7.34-7.42 (m, 2 H), 7.43-7.56 (m, 4 H), 7.72-7.88 (m, 2 H), 8.36 (s, 1 H), 8.78 (s, 1 H).

Etapa F: Una solución de ácido sulfúrico concentrado (500 g, 5.0 mol) en un matraz de fondo redondo de 3 L se enfrió a 0 °C con un baño de hielo. Al matraz se le adicionó gota a gota una solución de 2-(3-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)bencilamino)-1-(3,4-diclorofenil)etanol (79 g, 0.191 mol) en DCM (250 ml). La adición se terminó en 30 min y la temperatura de reacción se controló en el intervalo de 10-20 °C. DCM fue burbujeado con nitrógeno gaseoso durante la adición. La evaporación de DCM ayudó a reducir la temperatura de reacción. La solución de mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. HPLC indicó que no quedaba material inicial. La relación de área de HPLC de 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y 5-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina fue 75:25. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se le adicionó lentamente isopropanol (2 L) a la solución, manteniendo la temperatura < 0 °C. El sólido (isómero deseado 92% de pureza) se obtuvo por filtración. El sólido se disolvió en AcOEt (1 L) y el pH se ajustó a 10 con NH<sub>4</sub>OH. La capa acuosa se extrajo con EtOAc dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron. El residuo se disolvió en EtOH (250 ml) y a continuación se adicionó 1.1 eq de ácido metanosulfónico (20.20 g, 0.21 mol) y la solución se agitó durante la noche. Se filtró el precipitado resultante sal del ácido metanosulfónico (98% de pureza). Esta se disolvió en agua y el pH se ajustó con NH<sub>4</sub>OH a 10, después se extrajo con AcOEt dos veces. Los extractos combinados se lavaron con agua y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la eliminación del solvente, se obtuvo 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40.8 g, 54% de rendimiento): m/z = 395.0 [M+1]; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-D)  $\delta$  ppm 3.05 (dd, J=12.00, 8.00 Hz, 1 H), 3.40 (dd, J=12.00, 4.00 Hz, 1 H), 4.05-4.25 (m, 3 H), 6.96 (m, 2 H), 7.25-7.35 (m, 4 H), 7.70-7.80 (m, 2 H), 8.32 (s, 1H), 8.74(s, 1 H)..

Etapa G: A una solución de 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (25.2 g, 63.8 mmol) en DMF (30 ml) (13.91 g, 63.8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, a continuación se adicionó AcOEt (500 ml). La solución se lavó con salmuera y agua. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la eliminación del solvente, se obtuvo el *rac*-tert-butil 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1H)-carboxilato sólido (30.6 g, 61.8 mmol, rendimiento del 97%) por recristalización a partir de MeOH; m/z = 495.1 [M+1]; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-D)  $\delta$  ppm 1.30 (s, 9H), 3.60-4.15 (m, 3 H), 4.40-5.10 (m, 2H), 6.84-7.05 (m, 2H), 7.13 (d, J = 1.51 Hz, 1H), 7.35 (m, 3H), 7.78 (dd, J=8.31, 1.77 Hz, 2 H), 8.31 (s, 1H), 8.72 (s, 1H).

Etapa H: separación quiral CFS en una columna Chiralpak AS-H (3x25cm, 5 mm; eluyente: CO<sub>2</sub>/(Me-OH/TEA=100/0.2(v/v))=75/25; 220 nm) produjo el (+)-tert-butil 7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-3,4-dihidroisoquinolina-2(1H)-carboxilato (99.7% ee).

Etapa I: A una solución del (+)-enantiómero de la etapa H (32.41 g, 65.43 mmol) en DCM (150 ml) se le adicionó una solución de cloruro de hidrógeno-EtOH (2.5 N, 250 ml) y EtOH 500 ml. La mezcla de reacción se agitó a 70 °C, durante 2 h. Después de la eliminación del solvente, el residuo se sometió a reflujo en 1000 ml de AcOEt, durante 1 h. Se obtuvo el producto (+)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina clorhidrato (27.4 g, 97 % de rendimiento) después de la filtración y el secado. m/z = 395.1 [M+1]; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 3.70 (m, 2 H), 4.40-4.65 (m, 3H), 6.90 (d, 7.80 Hz, 1H), 7.35 (dd, J = 7.8, 2 Hz, 1H), 7.68 (m, 4H), 8.58 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 9.8 (bs, 2H).

#### Ejemplo 4 - Ensayo de Enlace Primario

##### *Preparación de Membranas*

Las células recombinantes HEK-293 que expresan las proteínas hSERT, hDAT o hNET se recogieron de los matraces T-175 de la siguiente manera. Se retiró el medio de los matraces y las células se enjuagaron con HBSS sin Ca y sin Mg. A continuación, las células se incubaron durante 5-10 minutos en Tris-Cl 10 mM, pH 7.5, EDTA 5 mM antes las células se cosecharon con una combinación de pipeteado y raspado, según sea necesario. La suspensión de células se recogió en botellas de centrifuga y se homogeneizó durante 30 segundos con un homogeneizador Polytron. La suspensión se centrifugó durante 30 minutos a 32,000 x g, 4 °C. El sobrenadante se decantó y el pellet se resuspendió y se homogeneizó en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, EDTA 1 mM, durante 10 segundos. La suspensión se centrifugó de nuevo durante 30 minutos a 32,000 x g, 4 °C. El sobrenadante se decantó y el pellet se resuspendió en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, EDTA 1 mM y se homogeneizaron brevemente. Se realizó un ensayo de Bradford (Bio-Rad) y la preparación de membrana diluida a 2 mg/ml con Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, EDTA 1 mM. Se prepararon alícuotas, y después se congelaron y se almacenaron a -80 °C.

## Ensayo de Enlace de Radioligando SERT

5 Los compuestos se disolvieron en 100% de DMSO a una concentración de 100 veces la concentración de ensayo más alta deseada, se diluye en serie 1:3 en DMSO al 100%, y 0.4 µl/pozo de cada solución se dispensaron con un polipropileno Nunc, placa de 384 pozos de fondo redondo. 100% de inhibición se define con 0.4 µl/pozo de fluoxetina 1 mM disueltos en DMSO. 20 µl/pozo de una preparación de membrana 2x (15 µg/ml en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5 mM) y se  
10 adicionaron 20 µl/pozo de una solución 2x radioligando (520 pM [<sup>125</sup>I] RTI-55 en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5mM) a cada pozo y la reacción se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, los contenidos de la placa de ensayo se transfirieron a una placa de filtro Millipore Multiscreen<sub>HTS</sub> GF/B que fue pretratada con 0.5% de PEI durante al menos una hora. La placa se filtró con vacío y se lavó con 7 lavados de 100 µl/pozo de Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5 mM enfriada a 4 °C. La filtración y lavado se completaron en menos de 90 segundos. Las placas se  
15 secaron al aire durante la noche, se adicionaron 12 µl/pozo de líquido de centelleo MicroScint, y las placas se contaron en un Trilux.

## Ensayo de Enlace de Radioligando DAT

20 Los compuestos se disolvieron en 100% de DMSO a una concentración de 100 veces la concentración de ensayo más alta deseada, se diluye en serie 1:3 en DMSO al 100%, y 0.4 µl/pozo de cada solución se dispensó en una placa de 384 pozos de fondo redondo de polipropileno Nunc. 100% de inhibición se define con 0.4 µl/pozo de GBR-12935 1 mM disuelto en DMSO. 20 µl/pozo de una preparación de membrana 2x (12.5 µg/ml en solución reguladora de fosfato de sodio 30 mM, pH 7.9 a 4 °C) y se adicionaron 20 µl/pozo de una solución de radioligando 2x (250 pM [<sup>125</sup>I] RTI-55 en solución reguladora de fosfato de sodio 30 mM, pH 7.9 a 4 °C) al pozo y la reacción se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. A  
25 continuación, los contenidos de la placa de ensayo se transfirieron a una placa de filtro GF/B Millipore Multiscreen<sub>HTS</sub> que fue pretratado con 0.5% de PEI durante al menos una hora. La placa se filtró con vacío y se lavó con 7 lavados de 100 µl/pozo de Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5 mM enfriado a 4 °C. La filtración y lavado se completaron en menos de 90 segundos. Las placas se secaron al aire durante la noche, se adicionaron 12 µl/pozo de líquido de centelleo MicroScint, y las placas se contaron en un Trilux.

## Ensayo de Enlace de Radioligando NET

30 Los compuestos se disolvieron en 100% de DMSO a una concentración de 100 veces la concentración más alta de ensayo deseada, se diluyó en serie 1: 3 en DMSO al 100%, y 1.0 µl/pozo de cada solución se dispensaron en una placa de 384 pozos, de fondo redondo de polipropileno Nunc. 100% de inhibición se define con 1.0 µl/pozo de desipramina 10 mM disueltos en DMSO. Se adicionaron al pozo 50 µl/pozo de una preparación de membrana 2x (0.4 mg/ml en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5 mM) y 50 µl/pozo de una solución de radioligando 2x (4 nM [<sup>3</sup>H] nisoxetina en Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, KCl 5 mM) y la reacción se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, los  
35 contenidos de la placa de ensayo se transfirieron a una placa de filtro GF/B Millipore Multiscreen<sub>HTS</sub> que fue pretratada con 0.5% de PEI durante al menos una hora. La placa se filtró con vacío y se lavó con 7 lavados de 100 ml/pozo de Tris-Cl 50 mM, pH 7.5, NaCl 120 mM, 5 mM KCl enfrió a 4 °C. La filtración y lavado se completaron en menos de 90 segundos. Las placas se secaron al aire durante la noche, se adicionaron 12 µl/pozo de líquido de centelleo MicroScint, y las placas se contaron en un Trilux.

*Análisis de Datos*

45 Los datos en bruto se normalizaron al porcentaje de inhibición utilizando pozos control que definen el 0% (solo DMSO) y 100% de inhibición (inhibidor selectivo) que se corrió en cada placa. Cada placa se corrió por triplicado, y la curva respuesta concentración así generada se ajustó utilizando la ecuación de respuesta a la dosis de cuatro parámetros,  $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}})$  con el fin de determinar el valor de IC<sub>50</sub> para cada compuesto. La concentración de radioligando elegida para cada ensayo corresponde a la concentración K<sub>d</sub> determinada a través del análisis de enlace de saturación para cada ensayo.

## Ejemplo 5 - Ensayo de ocupación

55 El procedimiento general para la recolección de tejido cerebral y la evaluación de ocupación del transportador se describe brevemente a continuación. Los ratones se sacrificaron por asfixia en CO<sub>2</sub>, las ratas por decapitación y los perros por inyección IV de la solución de eutanasia. Para los ratones y las ratas, después de que los cerebros se retiraron del cráneo, se utilizó el tejido de prosencéfalo (extirpación del tronco cerebral y cerebelo) para la evaluación de ocupación de SERT, NET, y DAT. En los perros, el cuerpo estriado se disecó para ocupación de DAT y el tejido del cerebro restante (sin el



cuerpo estriado, tronco encefálico y cerebelo) se utilizó para la evaluación de ocupación de SERT y de NET. Los tejidos cerebrales se congelaron en isopentano, se enfriaron y se almacenaron a -80 °C hasta su homogeneización.

Los tejidos cerebrales se descongelaron y a continuación se homogeneizaron, utilizando un homogeneizador Polytron (Kinematica). Las alícuotas de las muestras se congelaron inmediatamente y se almacenaron a -80 °C. El contenido de proteína se midió para cada muestra usando un kit de ensayo de proteínas Coomassie (Pierce).

En el día de enlace *ex vivo* para la evaluación de ocupación, se descongelaron las alícuotas de muestras congeladas y se homogeneizaron con varilla, y 100 µg del tejido se incubaron para el enlace SERT, NET y DAT bajo las condiciones de ensayo resumidas en la Tabla 1. Después de la incubación, las reacciones se terminaron mediante la adición de solución reguladora de ensayo enfriada con hielo y filtración rápida a través de un Brandel Cell Harvester utilizando filtros FPXLR-196. Los filtros se lavaron dos veces con solución reguladora de incubación enfriada con hielo, se perforaron en una placa clara antes de la adición de 200 µl de líquido de centelleo por pozo. El radioligando se midió utilizando un contador de centelleo líquido Wallac Microbeta.

**Tabla 1. Condiciones de Ensayo de Enlace *Ex Vivo* para la Ocupación de Transportadores de serotonina, norepinefrina y dopamina**

Transportador	Radioligando	Fármaco no específico(µM)	Solución reguladora (nM)	Tiempo de incubación y temperatura
SERT	[ <sup>3</sup> H]Citalopram 2nM	fluoxetina, 10	Tris, NaCl 50, KCl 120,	10 minutos a 4 °C
DAT	0.1 nM [ <sup>125</sup> I]RTI-55 (+ 0.5 µM citalopram)	GBR-12935, 10	Solución reguladora de fosfato de sodio, 30	10 minutos a 4°C
NET	5 nM [ <sup>3</sup> H] -Nisoxetina	Reboxetina, 10	Tris, 50 NaCl, KCl 300, 5	20 minutos a 4 °C

Se calculó el enlace específico restando el valor de enlace no específico del enlace total en cada muestra. El porcentaje de ocupación se calculó como (1- enlace específico en tratado con fármaco/enlace específico tratado con vehículo) x 100%. Para la estimación de la ocupación *in vivo* EC<sub>50</sub> (concentración plasmática total del compuesto que produce 50% de ocupación), los registros de valores de ocupación en comparación con las concentraciones plasmáticas se ajustaron a un modelo de enlace de un sitio usando regresión no lineal de acuerdo con la siguiente ecuación: % de ocupación = E<sub>max</sub> \* C/(EC<sub>50</sub> + C) donde E<sub>max</sub> es el enlace específico máximo, C es la concentración del fármaco, y EC<sub>50</sub> es la concentración plasmática total requerida para el 50% de sitio de enlace de ocupación. La regresión no lineal se realizó utilizando GraphPad Prism versión 3.00 (GraphPad Software, San Diego, Calif.).

Los resultados se muestran en la Tabla 2, a continuación:

**Tabla 2. Valores de IC<sub>50</sub> y Ocupación**

Ejemplo	SERT IC <sub>50</sub> (nM)	DAT IC <sub>50</sub> (nM)	NET IC <sub>50</sub> (nM)	% Ocupación SERT	% Ocupación DAT	% Ocupación NET	Dosis mg/kg	punto de tiempo (horas)
1 (+) - enantiómero	1.8	30.8	26.0	75	26	11	1	3
1 (-) - enantiómero	4.2	104.6	4.8	41	30	33	1	3

**Ejemplo 6 – Ensayos de comportamiento *In vivo***

Para Todas las Pruebas

Todos los animales fueron mantenidos de acuerdo con las directrices del Comité de Animales del Bristol-Myers Squibb Company y Guide for Care and Use of Laboratory Animals, Institute of Animal Laboratory Resources, 1996. Los protocolos de investigación fueron aprobados por el Comité de Uso y Cuidad de Animales Institucional Bristol-Myers Squibb Company.

Ensayo de Suspensión de la Cola de Ratón

Ratones Swiss Webster macho fueron alojados 3-4 por jaula en cuartos mantenidos a una temperatura constante (21-23 °C) y humedad (50 ± 10%) en un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Los animales tuvieron acceso *ad libitum* a agua y comida durante todos los estudios. En el día de la prueba, se llevaron a la sala de pruebas y se dejaron aclimatar durante 1 hora.

Para comenzar la prueba, la cola se unió a un trozo de cinta que luego se une a un gancho en el techo de una cámara de sonido atenuado. La inmovilidad fue registrada de forma automática mediante el software Med Associates. Los compuestos se administraron de forma aguda en un intervalo de pretratamiento fijo antes de la sesión.

La dosis mínima eficaz del - (+) - enantiómero del Ejemplo 1, en el estudio de suspensión de cola de ratón fue de 10 mg/kg.

5

#### Ensayo de Nado Forzado en Ratas

Ratas Sprague Dawley macho se alojan en pares en cuartos mantenidos a una temperatura constante (21-23 °C) y humedad (50 ± 10%) en un ciclo luz/oscuridad de 12 horas. Los animales tienen acceso *ad libitum* a agua y comida durante todos los estudios. Los animales se manipularon por dos minutos cada uno en los dos días anteriores al inicio del experimento. En el primer día de la prueba, las ratas se colocan en el tanque de natación (un cilindro de Pyrex de 46 cm de alto x 21 cm de diámetro, lleno con 30 cm de agua que varía entre 24-26 °C) durante 15 minutos (la sesión de pre-nado). Al final de la sesión de 15 minutos, las ratas se secaron y se vuelven a colocar en su jaula de morada. Los compuestos se administran en tres momentos en la próximas 24 horas (23.5, 5 y 1 hora), antes de un segundo baño de prueba. Esta prueba de natación es de 5 minutos de duración y el comportamiento de los animales se graba en vídeo y se registraron los comportamientos activos (inmovilidad, natación, escalada). Al final de cada período de 5 segundos durante la sesión de prueba de 5 minutos el comportamiento de la rata se califica como uno de los siguientes: la inmovilidad (la rata quedó flotando en el agua sin tener que luchar e hizo solamente los movimientos necesarios para mantener su cabeza fuera del agua), natación (la rata hizo movimientos de natación activos, más de lo necesario para mantener sólo la cabeza fuera del agua, por ejemplo, moverse en el cilindro), o la escalada (la rata hizo movimientos activos con sus patas delanteras en y fuera del agua, por lo general dirigidos contra la pared del cilindro). Los compuestos sólo se identifican por un código previamente designado y el experimentador permanece cegado durante todo el experimento (incluyendo al calificar las videocintas).

25

#### Actividad locomotora de Rata y Ratón

Los animales se alojan de acuerdo a las condiciones descritas anteriormente para las dos especies. El aparato de prueba consta de cámaras de Plexiglas equipadas con monitores de actividad Digiscan (Omnitech Electrónica, Columbus, Ohio) que detectan las interrupciones de ocho rayos de luz. La actividad horizontal se registra en los contenedores de 5-minutos para un total de 60 minutos y se expresa como la distancia total cubierta (en cm). Los compuestos se administran de forma aguda en un intervalo de pretratamiento fijo antes de la prueba.

30

Ejemplo 7 - Preparación de monocristales de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina L-tartrato (sal L-tartrato)

35

La sal L-tartrato de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (20 mg) se disolvió en metanol (8 ml) con calentamiento en un vial. A continuación, se adicionó agua destilada (2 ml) a la anterior solución clara. La solución resultante se tapó y se colocó a temperatura ambiente. Los cristales aciculares de la sal L-tartrato de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina se obtuvieron después de la evaporación lenta en el aire en cuestión de días.

40

Ejemplo 8 - Preparación de monocristales de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoisopropanolato monoclóhidrato monohidrato (sal HCl; Forma SA-1)

La sal mono-HCl (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (20 mg) se disolvió en isopropanol (10 ml) bajo calentamiento en un vial. A continuación, se adicionó agua destilada (2 ml) a la anterior solución clara. La solución resultante se tapó y se colocó a temperatura ambiente. Se obtuvieron cristales de aguja larga de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina mono-HCl monohidrato monoisopropanolato, después de la evaporación lenta en el aire en cuestión de días. Los cristales en forma de aguja se separaron del licor madre por filtración y la torta húmeda se secó en un horno durante 16 horas bajo la condición de 45 °C y 100 mm de Hg.

50

Ejemplo 9 - Preparación de monocristales de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoclóhidrato (sal HCl; Forma N-2)

55

La sal mono-HCl de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (20 mg) se disolvió en metanol (8 ml) con calentamiento en un vial. A continuación se adicionó agua destilada (2 ml) a la anterior solución clara. La solución resultante se tapó y se colocó a temperatura ambiente. Se obtuvieron los monocristales aciculares de sal mono-HCl de (S)-7-([1,2,4] triazolo [1,5-a] piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina después de la evaporación lenta en el aire en cuestión de días

60

## Ejemplo 10 – Análisis de monocristal por Cristalografía de rayos X

5 Los datos de los cristales de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina L-tartrato (sal L-tartrato) y (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoclóhidrato (sal HCl, la Forma N-2) se recogieron en un difractor SMART CCD equipado con radiación Cu K $\alpha$  monocromada por grafito ( $\lambda = 1.54178$  Å) a 225K y la temperatura ambiente, respectivamente. Los datos de (S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoclóhidrato monoisopropanolato monohidrato (sal HCl; Forma SA-1) se

10 recolectaron en un difractor X8-APEXII equipado con radiación Cu K $\alpha$  monocromada por grafito ( $\lambda = 1.54178$  Å) a temperatura ambiente (APEX-II 1,0-28, software para la recopilación de datos para los dispositivos CCD Bruker. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, U.S. SAINT PLUS, software de procesamiento para los dispositivos Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, U.S.). Los parámetros finales de la célula unitaria se determinaron usando todo el conjunto de datos.

15 Todas las estructuras fueron resueltas por métodos directos y se refinaron por técnicas de mínimos cuadrados de matriz completa, utilizando el paquete de software SHELXTL (Sheldrick, GM. 1997, SHELXTL Programas de Determinación de Estructura. Versión 5.10, Bruker AXS, Madison, Wisconsin 2, EE.UU.). La función minimizada en los refinamientos fue  $\sum_w (|F_o| - |F_c|)^2$ . R se define como  $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$  mientras  $R_w = [\sum w(|F_o| - |F_c|)^2 / \sum w |F_o|]^2$ , donde w es una función de ponderación apropiada basada en los errores en las intensidades observadas. Los mapas de diferencia de Fourier se

20 examinaron en todas las etapas de refinamiento. En la forma de L-tartrato, uno de los átomos de cloro en el anillo colgante de fenil está desordenado en dos posiciones con relación de ocupación al 50% cada uno. La molécula de ácido tartárico también está desordenada, la cual no podía ser modelada bien. El número de moléculas de metanol no pudieron ser identificadas debido al desorden. Todos los átomos distintos de hidrógeno se refinaron con parámetros de desplazamiento térmicos anisotrópicos. Los átomos de hidrógeno asociados con enlaces de hidrógeno se localizaron en los mapas de

25 Fourier de diferencia finales, mientras que las posiciones de los otros átomos de hidrógeno se calcularon a partir de una geometría idealizada con longitudes y ángulos de enlace estándar. Se les asignó factores de temperatura isotrópicos y se incluyen en los cálculos del factor de estructura con parámetros fijos.

30 Los datos del cristal de la forma de sal L-tartrato se muestran en la Tabla 3 y las coordenadas atómicas fraccionadas se enumeran en la Tabla 4. Los datos de cristal de la Forma SA-1 se muestran en la Tabla 5 y las coordenadas atómicas fraccionadas se enumeran en la Tabla 6. Los datos del cristal de la Forma N-2 se muestra en la Tabla 7 y las coordenadas atómicas fraccionadas se enumeran en la Tabla 8. Se debe entender por un experto en la técnica que son posibles ligeras variaciones en las coordenadas y se consideran que están dentro del alcance de la presente descripción.

35 **Tabla 3. Datos de cristal de la Forma L-tartrato**

Fórmula empírica	C40 H40 C12 N8 O8
Peso de Fórmula	831.70
Temperatura	225 (1) K
Longitud de onda	1,54178 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	ortorrómbico, C22 <sub>1</sub>
Dimensiones de la célula unitaria	a = 7,6264 (10) Å alfa = 90 grados. b = 38,942 (5) Å beta = 90 grados. c = 24,449 (3) gamma a = 90 grados.
Volumen	7261,1 (16) Å <sup>3</sup>
Z, Densidad Calculada	8, 1.522 Mg/m <sup>3</sup>
Coefficiente de absorción	2,195 mm <sup>-1</sup>
F (000)	3472
Rango Theta para la recopilación de datos	2.27 a 66.20 grados.
Índices límites	-8 <= h <= 8, -45 <= k <= 42, -22 <= l <= 28
Reflexiones recogidas / únicas	24815/6156 [R (int) = 0.1027]
Método afinamiento	mínimos cuadrados de matriz completa en F <sup>2</sup>
Datos / retención / parámetros	6156/2/323
Bondad de ajuste en F <sup>2</sup>	2.340
Índices R Finales [ $I > 2\sigma(I)$ ]	R1 = 0.2345, wR2 = 0.4418
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.3127, wR2 = 0.4595
parámetro de la estructura Absoluto	0.00 (11)
Coefficiente de extinción	0.0075(9)
Pico y agujero de diff. mayor	0.991 y -0.773 e. Å <sup>3</sup>

**Tabla 4. Coordenadas Atómicas de la Forma L-tartrato**

Las coordenadas atómicas ( $\times 10^4$ ) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para la Forma L-tartrato. U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado.

	x	y	z	U(eq)
Cl(1)	8174(9)	94(1)	4057(2)	171(2)
Cl(2')	5256(12)	-323(2)	4561(3)	137(3)
Cl(2)	11696(16)	-83(2)	4303(4)	201(6)
C(1)	8480(30)	-296(3)	4374(6)	109(5)
C(2)	10110(40)	-377(4)	4452(8)	149(8)
C(3)	10610(20)	-698(5)	4682(7)	136(6)
C(4)	9280(20)	-919(2)	4902(4)	78(3)
C(5)	7540(20)	-803(3)	4839(5)	107(4)
C(6)	7210(20)	-477(3)	4556(5)	109(5)
C(7)	9651(19)	-1252(2)	5194(5)	97(4)
C(8)	8790(20)	-1532(3)	4886(5)	122(5)
C(9)	7840(20)	-1835(2)	5751(6)	111(5)
C(10)	8275(16)	-1504(3)	6055(6)	87(3)
C(11)	9041(16)	-1238(2)	5781(5)	83(3)
C(12)	9409(14)	-941(2)	6125(5)	71(3)
C(13)	8887(15)	-937(3)	6658(6)	82(3)
C(14)	8050(16)	-1194(3)	6915(5)	75(3)
C(15)	7808(18)	-1500(2)	6586(6)	90(4)
C(16)	7563(15)	-1182(2)	7472(6)	79(3)
C(17)	6993(17)	-875(4)	7699(6)	96(4)
C(18)	6487(18)	-1113(4)	8577(8)	100(4)
C(19)	7058(19)	-1442(5)	8390(5)	112(5)
C(20)	7492(19)	-1472(3)	7861(7)	118(5)
C(21)	5610(30)	-748(9)	8994(6)	194(13)
C(22)	7820(20)	-2663(4)	4481(6)	124(4)
O(3)	10030(30)	-2275(4)	4338(6)	225(7)
C(23)	9000(20)	-2557(4)	4090(6)	119(4)
O(2)	7170(20)	-2487(3)	4903(5)	170(4)
O(1)	7230(20)	-2972(3)	4484(5)	186(5)
N(1)	8830(20)	-1870(2)	5245(6)	138(5)
N(2)	6491(14)	-849(3)	8247(6)	109(4)
N(3)	5890(20)	-1046(4)	9099(9)	150(7)
N(4)	5882(18)	-566(3)	8552(6)	119(4)
O(8)	-840(20)	53(4)	2431(8)	235(7)
O(1W)	9327(17)	-3528(3)	4909(5)	175(4)
C(74)	450(50)	-1233(9)	3340(13)	272(14)
O(9)	-2350(140)	-964(16)	3320(30)	630(40)
O(4)	7600(60)	-2153(9)	3690(14)	400(15)
O(6)	10620(40)	-2645(6)	3106(9)	291(9)
C(72)	-2920(80)	-1321(14)	3380(20)	400(30)
O(7)	-160(50)	-761(8)	3131(12)	351(13)
C(70)	-300(120)	-361(12)	2710(20)	420(30)
C(25)	9840(80)	-2305(16)	3320(20)	440(30)
O(5)	8080(40)	-2558(7)	2969(9)	312(11)
C(24)	8360(40)	-2552(8)	3522(10)	241(11)
H(3A)	11778	-764	4690	164
H(5A)	6612	-931	4976	128
H(7A)	10920	-1291	5191	116
H(8A)	9408	-1570	4544	146
H(8B)	7592	-1469	4803	146
H(9A)	8097	-2030	5986	133
H(9B)	6598	-1839	5669	133
H(12A)	10003	-753	5980	85
H(13A)	9130	-740	6861	99

H(15A)	7325	-1695	6744	108
H(17A)	6943	-680	7479	115
H(19A)	7126	-1628	8627	134
H(20A)	7766	-1689	7730	142
H(21A)	5111	-624	9280	233
H(1A)	8376	-2045	5049	166
H(1B)	9947	-1923	5325	166

**Tabla 5. Datos del cristal de la sal HCl: Forma SA-1**

Fórmula empírica	C24 H26 C13 N4 O2
Peso de Fórmula	508.84
Temperatura	298(2) K
Longitud de onda	1.54178 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	Monocíclico, P2 <sub>1</sub>
Dimensiones de la célula unitaria	a = 11.0668(9) Å alfa = 90 deg. b = 7.3750(6) Å beta = 100.594(7) deg. c = 15.3927(14) Å gamma = 90 deg.
Volumen	1234.90(18) Å <sup>3</sup>
Z, Densidad Calculada	2, 1.363 Mg/m <sup>3</sup>
Coefficiente de absorción	3.595 mm <sup>-1</sup>
F (000)	530
Rango Theta para la recopilación de datos	4.06 a 61.98 deg.
Índices límites	-12<=h<=12, -7<=k<=6, -17<=l<=15
Reflexiones recogidas / únicas	3911 / 2687 [R(int) = 0.0253]
Integridad a theta = 61.98	89.5%
Método afinamiento	mínimos cuadrados de matriz completa en F <sup>2</sup>
Datos / retención / parámetros	2687/1/306
Bondad de ajuste en F <sup>2</sup>	1.035
Índices R Finales [ $\sigma$ (I)]	R1 = 0.0382, wR2 = 0.0994
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0423, wR2 = 0.1027
parámetro de la estructura Absoluto	0.02(2)
Pico y agujero de diff. mayor	0.270 y -0.201 e. Å <sup>-3</sup>

5

**Tabla 6. Coordenadas Atómicas de sal HCl: Forma SA-1**

Las coordenadas atómicas ( $\times 10^4$ ) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ( $\text{Å}^2 \times 10^3$ ) para la Forma SA-1. U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado.

	x	y	z	U (eq)
Cl	12265 (1)	6142 (1)	1683 (1)	49 (1)
Cl (1)	7875 (1)	12955 (2)	4765 (1)	82 (1)
Cl (2)	8143 (1)	9869 (2)	6212 (1)	87 (1)
N (1)	2603 (2)	8917 (4)	-585 (2)	34 (1)
N (2)	10328 (2)	9284 (4)	1422 (2)	39 (1)
C (3)	7992 (3)	8350 (5)	1854 (2)	31 (1)
C (4)	6974 (3)	8951 (5)	360 (2)	32 (1)
N (5)	1421 (3)	9376 (5)	-494 (2)	47 (1)
C (6)	5842 (3)	8414 (5)	549 (2)	32 (1)
C (7)	4724 (3)	8458 (5)	-145 (2)	32 (1)
C (8)	8036 (3)	8902 (5)	998 (2)	31 (1)
C (9)	3613 (3)	8927 (5)	63 (2)	36 (1)
C (10)	9143 (3)	8296 (5)	2564 (2)	35 (1)
N (11)	1476 (3)	8685 (5)	-1929 (2)	51 (1)
C (12)	5807 (3)	7820 (6)	1405 (2)	37 (1)
C(13)	8878(3)	8695(5)	3475(2)	37(1)
C(14)	6859(3)	7787(6)	2035(2)	38(1)
C(15)	4772(3)	8039(5)	-1033(2)	41(1)

Las coordenadas atómicas ( $\times 10^4$ ) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para la Forma SA-1. U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor  $U_{ij}$  ortogonalizado.

	x	y	z	U (eq)
C(16)	10107(3)	9607(5)	2333(2)	38(1)
C(17)	2614(3)	8532(5)	-1448(3)	39(1)
C(18)	9221(3)	9458(6)	715(2)	42(1)
C(19)	8304(4)	10787(6)	4526(3)	47(1)
C(20)	8550(3)	10430(5)	3699(3)	42(1)
C(21)	3747(4)	8064(6)	-1674(2)	46(1)
C(22)	821(3)	9193(6)	-1314(3)	50(1)
C(23)	8957(4)	7332(6)	4108(3)	48(1)
C(24)	8714(4)	7701(7)	4937(3)	55(1)
C(25)	8399(4)	9426(8)	5162(3)	58(1)
OW1	12197(4)	11835(6)	1559(3)	63(1)
O(01)	13401(5)	9513(6)	2783(4)	138(2)
C(01)	14893(7)	7959(17)	3801(5)	166(5)
C(02)	14430(8)	9598(14)	3370(6)	139(3)
C(03)	14517(9)	11360(20)	3818(8)	221(8)
H(2A)	10639	8162	1397	46
H(2B)	10900	10076	1311	46
H(4A)	7017	9351	-207	38
H(9A)	3554	9248	638	43
H(10A)	9484	7068	2573	42
H(12A)	5066	7445	1549	44
H(14A)	6817	7377	2600	46
H(15A)	5524	7738	-1183	49
H(16A)	9829	10844	2381	45
H(16B)	10871	9453	2750	45
H(18A)	9335	8717	216	50
H(18B)	9148	10709	518	50
H(20A)	8495	11359	3285	50
H(21A)	3795	7776	-2255	55
H(22A)	-20	9407	-1461	60
H(23A)	9175	6163	3970	58
H(24A)	8763	6773	5351	66
HW1	12650(50)	11440(80)	1990(40)	67(19)
HW2	12190(50)	12930(110)	1710(40)	90(20)
H(01D)	13362	8533	2528	207
H(01A)	14782	6981	3382	249
H(01B)	14456	7696	4270	249
H(01C)	15752	8098	4041	249
H(02A)	15024	9777	2977	167
H(03A)	14198	12289	3401	331
H(03B)	15361	11617	4062	331
H(03C)	14047	11331	4284	331

**Tabla 7. Datos de cristal de sal HCl: Forma N-2**

Fórmula empírica	C <sub>21</sub> H <sub>17</sub> C <sub>13</sub> N <sub>4</sub>
Peso de Fórmula	431.74
Temperatura	298(2) K
Longitud de onda	1.54178 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	ortorrómbico, P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Dimensiones de la célula unitaria	a = 7.1183(2) Å $\alpha$ = 90 deg. b = 21.2160(7) Å $\beta$ = 90 deg. c = 26.3602(9) Å $\gamma$ = 90 deg.
Volumen	3981.0(2) Å <sup>3</sup>
Z, Densidad Calculada	8, 1.441 Mg/m <sup>3</sup>
Coefficiente de absorción	4.283 mm <sup>-1</sup>

F (000)	1776
Tamaño del cristal	0.16 x 0.07 x 0.06 mm
Rango Theta para la recopilación de datos	2.67 a 44.53 deg.
Índices límites	-6<=h<=5, -19<=k<=18, -23<=l<=23
Reflexiones recogidas / únicas	9626 / 2985 [R(int) = 0.070
Integridad a theta = 44.53	95.3 %
Datos / retención / parámetros	2985 / 0 / 505
Bondad de ajuste en F ^ 2	1.031
Índices R Finales [I > 2sigma (I)]	R1 = 0.0580, wR2 = 0.1446
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0780, wR2 = 0.1669
parámetro de la estructura Absoluto	0.10(4)
Pico y agujero de diff. mayor	0.260 y -0.278 e. Å <sup>-3</sup>

**Tabla 8. Coordenadas Atómicas de sal HCl: Forma N-2**

Las coordenadas atómicas ( $\times 10^4$ ) y los parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ( $\text{Å}^2 \times 10^3$ ) para la Forma N-2. U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado.

	x	y	z	U (eq)
Cl(1)	4498(5)	2054(2)	5726(1)	84(1)
Cl(2)	8606(6)	2604(2)	5897(1)	98(1)
Cl(3)	13423(5)	8143(1)	1794(1)	75(1)
Cl(4)	9097(4)	8448(1)	1988(1)	73(1)
Cl(5)	-2074(4)	5119(1)	4228(1)	71(1)
Cl(6)	3031(4)	5078(1)	2983(1)	66(1)
N(1)	2223(11)	4893(4)	4125(3)	52(2)
N(2)	61(15)	7409(6)	6214(5)	64(3)
N(3)	-573(13)	7985(6)	6078(5)	65(3)
N(4)	-306(16)	7936(6)	6927(5)	75(4)
N(5)	7228(10)	5382(4)	3091(3)	47(2)
N(6)	9780(14)	2724(5)	1073(5)	56(3)
N(7)	10462(14)	2158(6)	1235(4)	62(3)
N(8)	10074(16)	2166(6)	367(4)	70(3)
C(1)	3750(20)	3157(6)	5294(4)	67(4)
C(2)	5220(20)	2801(5)	5526(4)	62(4)
C(3)	6990(20)	3065(8)	5577(5)	75(4)
C(4)	7330(20)	3646(7)	5390(5)	75(5)
C(5)	5980(20)	3987(6)	5149(5)	67(4)
C(6)	4180(20)	3750(6)	5092(4)	57(4)
C(7)	2634(17)	4168(5)	4848(4)	53(3)
C(8)	3267(15)	4321(5)	4307(4)	54(3)
C(9)	2762(18)	5465(5)	4424(5)	63(4)
C(10)	2298(13)	5348(6)	4977(5)	44(3)
C(11)	2294(14)	4749(5)	5175(5)	42(3)
C(12)	1796(17)	4667(5)	5682(5)	57(3)
C(13)	1424(16)	5177(6)	5975(5)	57(3)
C(14)	1510(15)	5791(5)	5785(5)	45(3)
C(15)	1928(14)	5865(5)	5284(5)	44(3)
C(16)	1095(14)	6353(6)	6107(5)	44(3)
C(17)	466(16)	6920(7)	5908(5)	52(3)
C(18)	-747(19)	8258(7)	6533(8)	79(5)
C(19)	230(20)	7382(8)	6719(8)	79(4)
C(20)	856(16)	6812(7)	6955(5)	61(3)
C(21)	1241(15)	6307(6)	6639(6)	58(4)
C(31)	11260(20)	6456(5)	2095(5)	68(4)
C(32)	12471(16)	6939(6)	1978(4)	63(4)
C(33)	11878(19)	7564(6)	1953(4)	61(3)
C(34)	9939(18)	7684(5)	2033(4)	55(3)
C(35)	8744(17)	7205(5)	2162(4)	51(3)
C(36)	9370(18)	6600(5)	2199(4)	52(3)

## ES 2 528 404 T3

Las coordenadas atómicas ( $\times 10^4$ ) y los parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para la Forma N-2. U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado.

	x	y	z	U (eq)
C(37)	8002(17)	6074(5)	2356(4)	49(3)
C(38)	8399(14)	5938(5)	2920(4)	51(3)
C(39)	7870(18)	4792(5)	2834(5)	60(4)
C(40)	8081(17)	4873(6)	2263(5)	53(3)
C(41)	8178(17)	5465(5)	2060(5)	52(3)
C(42)	8419(18)	5507(5)	1536(6)	66(4)
C(43)	8611(16)	4964(7)	1238(4)	59(3)
C(44)	8532(16)	4370(6)	1459(5)	54(3)
C(45)	8220(17)	4337(5)	1978(5)	57(3)
C(46)	8796(17)	3796(6)	1143(5)	54(3)
C(47)	9454(16)	3252(7)	1367(5)	56(3)
C(48)	10601(16)	1851(6)	794(7)	67(4)
C(49)	9511(17)	2725(6)	563(7)	55(4)
C(50)	8909(16)	3292(7)	321(5)	62(4)
C(51)	8534(16)	3805(6)	614(6)	53(3)
H(1A)	2481	4958	3795	62
H(1C)	979	4827	4155	62
H(5A)	7327	5336	3429	56
H(5C)	6012	5453	3016	56
H(1B)	2535	2999	5277	81
H(4B)	8526	3818	5427	90
H(5B)	6262	4384	5021	80
H(7B)	1466	3924	4831	63
H(8B)	4609	4401	4302	65
H(8C)	3009	3966	4086	65
H(9A)	2075	5829	4301	76
H(9B)	4095	5547	4386	76
H(12A)	1718	4264	5818	68
H(13A)	1102	5116	6313	69
H(15A)	1967	6267	5145	52
H(17A)	322	6962	5559	62
H(18A)	-1175	8671	6562	94
H(20A)	998	6783	7305	73
H(21A)	1607	5926	6783	70
H(31A)	11679	6042	2104	81
H(32A)	13726	6845	1914	76
H(35A)	7486	7294	2226	62
H(37A)	6713	6232	2322	59
H(38A)	9722	5846	2967	61
H(38B)	8090	6306	3123	61
H(39A)	6970	4458	2901	71
H(39B)	9067	4664	2976	71
H(42A)	8454	5901	1382	79
H(43A)	8793	5002	890	71
H(45A)	8104	3945	2133	69
H(47A)	9678	3241	1714	67
H(48A)	11041	1439	779	80
H(50A)	8777	3311	-30	74
H(51A)	8094	4171	460	63

Ejemplo 11- Difracción de Rayos X en Polvo para las Formas SA-1 y N-2

- 5 Los datos de difracción de rayos X en polvo (PXRD) se obtuvieron usando un Bruker C2 GADDS. La radiación fue Cu K $\alpha$  (40KV, 40MA). La distancia de muestra-detector fue de 15 cm. Las muestras de polvo fueron colocadas en capilares de vidrio sellados de 1 mm o menos de diámetro; el capilar se hizo girar durante la recogida de los datos. Los datos fueron recogidos por  $3 \leq 2\theta \leq 35^\circ$  con un tiempo de exposición simple de por lo menos 1000 segundos. Los arcos de difracción



bidimensionales resultantes se integraron para crear un PXRD 1-dimensional tradicional. Los resultados del patrón de PXRD y un patrón simulado calculado a partir de los datos de monocristal para la Forma SA-1 se muestran en la Figura 1.

La Tabla 9 enumera los picos de PXRD característicos que describen la Forma SA-1 ((S)-7-([1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoclóhidrato monoisopropanolato monohidrato) y la Forma N-2 ((S)-7-([1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina monoclóhidrato). En particular, la Tabla 9 muestra las posiciones de pico de difracción, característicos (grados  $2\theta \pm 0.1$ ) a temperatura ambiente, basados en un patrón de alta calidad, recogidos con un difractómetro (CuK $\alpha$ ) con un capilar de rotación con  $2\theta$  calibrado con un estándar NIST u otro apropiado.

**Tabla 9**

<b>Forma SA-1</b>	<b>Forma N-2</b>
5.8	8.3
8.1	8.9
9.1	10.9
10.8	14.2
11.7	14.7
13.0	16.7
13.3	17.3
14.5	18.0
15.1	18.4
15.4	18.8
16.2	20.2
16.8	21.9

#### Ejemplo 12 - Calorimetría de Barrido Diferencial para la Forma SA-1

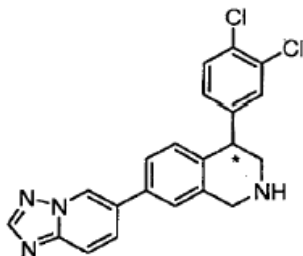
Los experimentos de calorimetría de barrido diferencial (DSC) se realizaron en un TA Instruments™ modelo Q1000 o 2920. La muestra (aproximadamente 2-6 mg) se pesó en un recipiente de aluminio sellado herméticamente agujereado y se registraron con exactitud a una centésima de miligramo, y trasladados a la DSC. El instrumento se purgó con nitrógeno gaseoso a 50 mL/min. Los datos fueron recogidos entre temperatura ambiente y 300 °C a 10 °C. velocidad de calentamiento min.. El registro se hizo con los picos endotérmicos apuntando hacia abajo. Los resultados se muestran en la Figura 2.

#### Ejemplo 13 - Análisis Termogravimétrico para la Forma SA-1

Los resultados se muestran en la Figura 3.

## REIVINDICACIONES

1. Forma cristalina SA-1 de

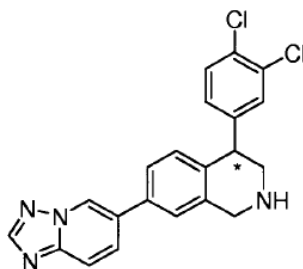


**Fórmula I**

- 5 en la que:  
el átomo de carbono designado \* está en la configuración S;  
o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.
- 10 2. La forma cristalina de la reivindicación 1, **caracterizada por** los siguientes parámetros de célula unitaria:  
Dimensiones de la célula:  
a = 11.0668(9) Å  
b = 7.3750(6) Å  
15 c = 15.3927(14) Å  
alfa = 90°  
beta = 100.594(7)°  
gamma = 90°
- 20 Grupo espacial: Monocíclico, P2<sub>1</sub>  
Volumen: 1234.90(18) Å<sup>3</sup>  
Z, Densidad calculada: 2, 1.363 mg/m<sup>3</sup>,
- 25 en donde la medición de dicha forma cristalina es a una temperatura de entre aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C.
3. La forma cristalina de la reivindicación 1, **caracterizada por** coordenadas atómicas fraccionadas dentro de la célula unitaria como se indica en la Tabla 6.
- 30 4. La forma cristalina de la reivindicación 1, que tiene los picos característicos en un patrón de difracción de rayos X en polvo a valores de 2 theta de 5.8 ± 0.1, 8.1 ± 0.1, 9.1 ± 0.1, 10.8 ± 0.1, 11.7 ± 0.1, 13.0 ± 0.1, 13.3 ± 0.1, 14.5 ± 0.1, 15.1 ± 0.1, 15.4 ± 0.1, 16.2 ± 0.1, y 16.8 ± 0.1, a una temperatura entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 25 °C.
- 35 5. La forma cristalina de la reivindicación 1, **caracterizada por** una endotermia de fusión con descomposición con la aparición de aproximadamente 85 °C.
6. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1.
- 40 7. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal de este farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado del grupo que consiste de trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD), deterioro cognitivo, trastornos de ansiedad, trastorno de ansiedad generalizada (GAD), trastorno de pánico, trastorno bipolar o depresión maníaca o trastorno manicodepresivo, trastorno obsesivo compulsivo (OCD), el trastorno de estrés postraumático (PTSD), trastorno de estrés agudo, la fobia social, fobias simples, trastorno disfórico premenstrual (PMDD), trastorno de ansiedad social (SAD), trastorno depresivo mayor (MDD), la depresión postnatal, distimia, depresión asociada con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, o psicosis, parálisis supranuclear, trastornos de la alimentación, la obesidad, la anorexia nerviosa, la bulimia nerviosa, el trastorno por atracón, la diabetes, las enfermedades isquémicas, dolor, trastornos de abuso de sustancias, dependencias químicas, la adicción a la nicotina, adicción a la cocaína, adicción a las anfetaminas, adicción al alcohol, síndrome de Lesch-Nyhan, enfermedades neurodegenerativas,
- 50 enfermedad de Parkinson, el síndrome de la fase lútea tardía o la narcolepsia, los síntomas psiquiátricos, la ira, la

sensibilidad al rechazo, trastornos del movimiento, síndrome extrapirimal, trastornos de tics, síndrome de piernas inquietas (RLS), discinesia tardía, parálisis supranuclear, trastorno de la alimentación relacionado con el sueño (SRED), síndrome del comedor nocturno (NES), incontinencia urinaria de esfuerzo (SUI), migraña, dolor neuropático, la neuropatía diabética, dolor de la zona lumbar, síndrome de fibromialgia (FS), dolor de la osteoartritis, dolor de la artritis, el síndrome de fatiga crónica (CFS), la disfunción sexual, la eyaculación precoz, impotencia masculina, trastornos de termorregulación (por ejemplo, los sofocos asociados a la menopausia) y el síndrome del intestino irritable, (IBS).

8. Forma Cristalina N-2 de



Fórmula I

10 en donde:

el átomo de carbono designado \* está en la configuración S;  
o una sal de este farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

15 9. La forma cristalina de la reivindicación 8, **caracterizada por** los siguientes parámetros de célula unitaria:

Dimensiones de la célula:

20 a = 7.1183(2) Å  
b = 21.2160(7) Å  
c = 26.3602(9) Å  
alfa = 90°  
beta = 90°  
gamma = 90°

25 Grupo espacial: Ortorrómbico, P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>  
Volumen: 3981.0(2) Å<sup>3</sup>  
Z, Densidad Calculada: 8, 1.441 Mg/m<sup>3</sup>

30 en donde la medición de dicha forma cristalina es a una temperatura de entre aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C.

35 10. La forma cristalina de la reivindicación 8, **caracterizada por** coordenadas atómicas fraccionadas dentro de la célula unitaria, como se indica en la Tabla 8.

40 11. La forma cristalina de la reivindicación 8, que tiene picos característicos en un patrón de difracción de rayos X en polvo a valores de 2 theta de 8.3 ± 0.1, 8.9 ± 0.1, 10.9 ± 0.1, 14.2 ± 0.1, 14.7 ± 0.1, 16.7 ± 0.1, 17.3 ± 0.1, 18.0 ± 0.1, 18.4 ± 0.1, 18.8 ± 0.1, 20.2 ± 0.1, y 21.9 ± 0.1, y 16.8 ± 0.1, a una temperatura entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 25 °C.

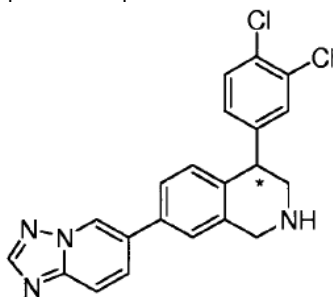
45 12. La forma cristalina de la reivindicación 8, caracterizada por una fusión con la descomposición endotérmica con un comienzo de aproximadamente 250 °C.

50 13. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 8.

14. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 8 o una sal de este farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado del grupo que consiste de trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD), deterioro cognitivo, trastornos de ansiedad, trastorno de ansiedad generalizada (GAD), trastorno de pánico, trastorno bipolar o depresión maníaca o trastorno maniaco-depresivo, trastorno obsesivo compulsivo (OCD), el trastorno de

estrés postraumático (PTSD), trastorno de estrés agudo, la fobia social, fobias simples, trastorno disfórico premenstrual (PMDD), trastorno de ansiedad social (SAD), trastorno depresivo mayor (MDD), la depresión postnatal, distimia, depresión asociada con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, o psicosis, parálisis supranuclear, trastornos de la alimentación, la obesidad, la anorexia nerviosa, la bulimia nerviosa, el trastorno por atracón, la diabetes, las enfermedades isquémicas, dolor, trastornos de abuso de sustancias, dependencias químicas, la adicción a la nicotina, adicción a la cocaína, adicción a las anfetaminas, adicción al alcohol, síndrome de Lesch-Nyhan, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad de Parkinson, el síndrome de la fase lútea tardía o la narcolepsia, los síntomas psiquiátricos, la ira, la sensibilidad al rechazo, trastornos del movimiento, síndrome extrapirimal, trastornos de tics, síndrome de piernas inquietas (RLS), discinesia tardía, parálisis supranuclear, trastorno de la alimentación relacionado con el sueño (SRED), síndrome del comedor nocturno (NES), incontinencia urinaria de esfuerzo (IUE), migraña, dolor neuropático, la neuropatía diabética, dolor de la zona lumbar, síndrome de fibromialgia (FS), dolor de la osteoartritis, dolor de la artritis, el síndrome de fatiga crónica (CFS), la disfunción sexual, la eyaculación precoz, impotencia masculina, trastornos de termorregulación (por ejemplo, los sofocos asociados a la menopausia) y el síndrome del intestino irritable, (IBS).

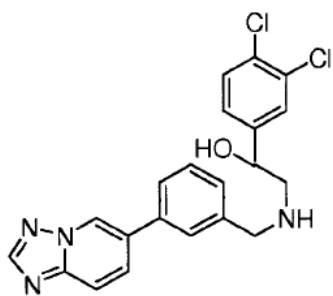
15. Un proceso para la preparación de un compuesto del producto de fórmula (I)



Fórmula I

en donde el átomo de carbono señalado con \* está en la configuración R o S, dicho proceso que comprende:

el tratamiento de un primer compuesto intermedio de fórmula (II):



Fórmula II

con un ácido en condiciones eficaces para producir el compuesto del producto.

16. El proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el ácido se selecciona de entre el grupo que consiste en ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido fosfórico, y ácido L-tartárico.