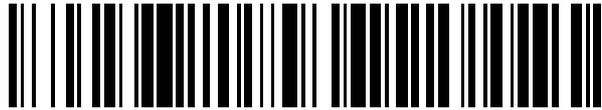


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 582 660**

51 Int. Cl.:

**C07D 271/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2008 E 08732213 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 2121785**

54 Título: **Sidnoniminas - inhibidores específicos de la recaptación de la dopamina y su uso en el tratamiento de los trastornos relacionados con la dopamina**

30 Prioridad:

**14.03.2007 US 894739 P**

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

**14.09.2016**

73 Titular/es:

**CALIPER LIFE SCIENCES, INC. (100.0%)  
605 FAIRCHILD DRIVE  
MOUNTAIN VIEW, CA 94043-2234, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, HAO;  
LIU, MING;  
SU, QI y  
RAISINGHANI, MANISH**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 582 660 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

Sidoniminas - inhibidores específicos de la recaptación de la dopamina y su uso en el tratamiento de los trastornos relacionados con la dopamina

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a determinados derivados de sidonimina que se unen específicamente a las proteínas transportadoras de la dopamina (DAT) o al sitio de recaptación de la dopamina, a las composiciones comprenden los mismos, y al uso de dichos derivados para tratar, o retrasar la progresión de, diversos trastornos y enfermedades aliviados por la inhibición de la recaptación de la dopamina.

10

**Antecedentes de la invención**

Los neurotransmisores son "mensajeros" químicos que funcionan retransmitiendo señales eléctricas a través del hueco o la hendidura sináptica entre una neurona, o célula nerviosa, y otra. Los neurotransmisores se almacenan en diminutos sacos denominados vesículas, localizados en los extremos nerviosos. A medida que una señal eléctrica llega al terminal de la neurona, las vesículas se mueven hacia la membrana neural y liberan sus moléculas neurotransmisoras en la hendidura sináptica. Los neurotransmisores formados en la neurona presináptica (o transmisora) se difunden a través del hueco y bloquean los sitios de unión o receptores sobre la membrana de una neurona postsináptica adyacente (o receptora). Diversos procesos bioquímicos ponen en movimiento en la neurona postsináptica cuando un neurotransmisor ocupa un receptor sobre su superficie, incluyendo el transporte iónico y la liberación o inhibición de determinadas enzimas. El resultado es que se genera una nueva señal eléctrica en la neurona post sináptica y la señal continúa activa.

15

20

25

La dopamina es un tipo de neurotransmisor que se forma en el cerebro y efectúa el proceso que regula el movimiento, la motivación, la respuesta emocional y la capacidad de sentir placer y dolor. La dopamina es vital para llevar a cabo movimientos equilibrados y controlados. Una vez que la dopamina queda unida a un receptor en el proceso de transmitir señales nerviosas, se libera y elimina eventualmente de la hendidura sináptica, de vuelta a la neurona presináptica o la célula glial mediante un proceso de recaptación que funciona bajo la influencia de una proteína, conocida como transportador de la dopamina (DAT), presente en la membrana externa de la neurona. En otras palabras, la proteína DAT actúa para retirar la dopamina de la hendidura sináptica, un proceso que es esencial para la transmisión normal de las señales nerviosas.

30

35

Adicionalmente, la proteína DAT es un determinante principal de la intensidad y la duración de la señal dopaminérgica. Los ratones inactivados génicamente que carecen del transportador de la dopamina (ratones DAT-KO) presentan cambios marcados en la homeostasia de la dopamina que dan como resultado un elevado tono dopaminérgico y una pronunciada hiperactividad locomotora (Gainetdinov et al. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci., 98:11047-54; Hall y col. (2003) Neuropsychopharmacology, 28:620-8; Mateo et al. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci., 101:372-7).

40

Numerosos trastornos conductuales y otras enfermedades debilitantes pueden aliviarse por agentes terapéuticos que se unen a las proteínas DAT e inhiben la recaptación de la dopamina. Estos incluyen la adicción a la cocaína, trastorno por déficit de atención, depresión, enfermedad de Parkinson, obesidad debida a narcolepsia, y esquizofrenia, por nombrar unos pocos.

45

La adicción a la cocaína continúa siendo un grave problema de salud en los Estados Unidos. De acuerdo con un informe del U.S. Department of Health and Human Services ([aspe.hhs.gov/health/reports/cocaine/](http://aspe.hhs.gov/health/reports/cocaine/)), existen aproximadamente 2 millones de personas adictas a la cocaína en Estados Unidos. En un informe de octubre de 2002, la red de alerta de drogodependencias (DAWN) indicó que hubo 638.484 visitas a urgencias en Estados Unidos en 2001 relacionadas con drogodependencias, de las que casi un tercio fueron debidas a cocaína.

50

Aunque la investigación ha mostrado que la cocaína se une a varios neurotransmisores en el cerebro, incluyendo no solo la dopamina, sino la serotonina y la norepinefrina, también, el efecto reforzante de la cocaína, que es un factor en la adicción, se cree que está mediado por la unión de la proteína DAT, que produce la inhibición del transporte de dopamina. Un importante efecto conductual de la cocaína y otros inhibidores de la captación de la dopamina es la estimulación de la actividad locomotora. Existe una correlación significativa entre las afinidades de unión [3H] WIN 35.428 (un inhibidor DAT) y la potencia de la actividad estimulante de la cocaína y otros compuestos estructuralmente similares en comparación con la estimulación de la actividad locomotora en ratones (Izenwasser et al. (2004) Eur. J. Pharmacol., 263:277-83; Kunko et al. (1998) Pharmacol. Exp. Ther., 285:277-84). Existe una amplia evidencia de que atenuando la actividad del receptor de la dopamina con agonistas o antagonistas del receptor afectará el comportamiento del paciente en la adicción (Campiani et al. (2003) J. Med. Chem., 46:3822-39; Garcia-Ladona y Fox (2003) CNS Drug Rev., 9:141-58; Schlussman et al. (2003) Pharmacol. Biochem. Behav., 75:123-31; Platt et al. (2003) Psychopharmacology (Berl.), 166:298-305; Vorel et al. (2002) J. Neurosci., 22:9595-603; Ellinwood et al. (2002) Eur. Neuropsychopharmacol., 12:407-15).

55

60

65

Se ha notificado que se pueden usar compuestos selectivos del transportador de la dopamina solos o en combinación con inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina disponibles clínicamente (SSRI) para tratar la drogadicción y drogodependencia de la cocaína (Owens et al. (2002) *Encephale.*, 28:350-5; Zhang et al. (2002) *J. Med. Chem.*, 45:1930-41; Sanchez et al. (2003) *Psychopharmacology (Berl.)*, 167:353-62; Fish et al. (2004) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 308:474-80). De hecho, Sora et al. demostraron la importancia de la participación simultánea de las proteínas transportadoras de la dopamina y de las proteínas transportadoras de la serotonina (SERT) en el mecanismo de dependencia y adicción mediante evidencias de modelos de neurotransmisores-transportadores inactivados génicamente en ratones (Sora et al. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98:5300-5). En este estudio, se ha mostrado, con modelos de ratones con doble inactivación génica de DAT y SERT, que los ratones sin gen transportador de la dopamina y, o bien una copia o ninguna copia del transportador de la serotonina no expresaron preferencia por lugares donde se había recibido previamente cocaína. Es decir, sin la recaptación concurrente de dopamina y serotonina, los ratones ya no son "adictos" a la cocaína. Es concebible que los sistemas de transporte de la dopamina y la serotonina puedan haberse compensado entre sí, y que la dependencia de la cocaína y el comportamiento de retirada pueden estar mediados a través de esta redundancia o mecanismo compensatorio.

Como la cocaína interactúa con numerosos procesos de neurotransporte en el cerebro, como se ha indicado anteriormente, el descubrimiento de una medicación que sea capaz de antagonizar el efecto de la cocaína en ensayos clínicos, sin producir efectos secundarios sedantes u otros efectos secundarios indeseables, ha demostrado ser una formidable tarea, y hasta la fecha no se ha completado satisfactoriamente. De hecho, numerosas medicaciones clínicamente disponibles homologadas para otras indicaciones terapéuticas, especialmente los bloqueantes de la recaptación/transportadores y/o los agonistas del receptor, se han sometido a ensayo, o se está haciendo, en ensayos clínicos para la eficacia en restringir la ansiedad, dependencia, y adicción ocasionadas por la cocaína; sin embargo, ninguna ha demostrado todavía la eficacia a largo plazo.

Se han implicado los desequilibrios en el sistema dopaminérgico como factores contribuyentes en la incidencia de algunos trastornos neuropsiquiátricos, incluyendo el trastorno por déficit de atención, la depresión y determinados síntomas de esquizofrenia.

El trastorno por déficit de atención es un trastorno de aprendizaje que implica una falta de atención inapropiada en términos de desarrollo, con o sin hiperactividad. Los signos primarios de trastorno por déficit de atención son la falta de atención del paciente y la impulsividad. La falta de atención inapropiada produce tasas aumentadas de actividad o relucencia a participar o responder. Un paciente que padece un trastorno por déficit de atención presenta un modelo consistente de falta de atención y/o hiperactividad-impulsividad que es más frecuente y grave del que se observa normalmente en individuos a un nivel comparable de desarrollo. Utilizando la tomografía de emisión de positrones (PET) para estudiar los niveles de dopamina en los cerebros de sujetos humanos sanos, se encontró que niveles menores de dopamina en el cerebro pueden ser un factor contribuyente para niños TDAH (Volkow et al., *J. Neurosci.* 21(2) Re 121, (2001). El metilfenidato (Ritalin®), un compuesto de un perfil farmacológico similar a la cocaína, aumenta específicamente el nivel de dopamina en el cerebro, presentando por tanto los efectos terapéuticos fenotípicos.

El mecanismo por el cual los psicoestimulantes actúan como agentes calmantes en el tratamiento del trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) o trastorno hiperkinético es actualmente desconocido. Los experimentos han mostrado que los ratones que carecen del gen que codifica el DAT tienen elevado tono dopaminérgico y presentan una marcada hiperactividad. Esta actividad está exacerbada por la exposición a un entorno novedoso. Además, estos ratones tenían alterada la función espacial cognitiva, y mostraron una disminución en la locomoción en respuesta a psicoestimulantes. Este efecto de calma paradójica de los psicoestimulantes dependió de la neurotransmisión serotoninérgica. Los paralelismos entre los ratones inactivados génicamente DAT y los individuos con TDAH sugieren que pueden subyacer mecanismos comunes en algunos comportamientos y respuestas a psicoestimulantes. Se ha mostrado que haloperidol produce un efecto sedante sobre dichos ratones.

La depresión es uno de los trastornos emocionales más comunes, que tiene una tasa de morbilidad de alrededor del 10 % en la población general. La depresión se caracteriza por sentimientos de tristeza intensa, desesperación, lentitud mental, pérdida de concentración, preocupación pesimista, agitación, y autodesprecio (Harrison's Principles of Internal Medicine, 2490-2497 (Fauci et al., eds., 14º ed. 1998)). La depresión puede tener manifestaciones físicas incluyendo insomnio, hipersomnia, anorexia, pérdida de peso, sobrealimentación, disminución de la energía, disminución de la libido, y perturbación de los ritmos circadianos normales de actividad, temperatura corporal, y funciones de la endosina. Además, incluso de un 10 % a un 15 % de los individuos deprimidos presenta comportamientos suicidas. R. J. Bladessarini, *Drugs and the Treatment of Psychiatric Disorders: Depression and Mania*, en Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 431 (9ª ed. 1996). Se han propuesto estrategias para aumentar las concentraciones sinápticas de la dopamina como tratamientos antidepresivos. (Véase, por ejemplo, D'Aquila et al., 2000, *Eur. J. Pharmacol.*, 405: 365-373).

La esquizofrenia se considera por los profesionales médicos como un trastorno del pensamiento, un trastorno del estado de ánimo y un trastorno de ansiedad. No existe cura conocida para la esquizofrenia. Por tanto, el tratamiento se dirige a los síntomas de la esquizofrenia e implica a menudo la administración de una combinación de fármacos antipsicóticos, antidepresivos y ansiolíticos. Los fármacos antipsicóticos, tales como haloperidol, se han utilizado en

el tratamiento de la esquizofrenia desde al menos la década de los 50 del siglo XX. Estos fármacos conocidos actúan bloqueando los receptores de la dopamina y controlan por tanto las alucinaciones, delirios y confusión de la esquizofrenia. Mientras tanto, se han introducido nuevos fármacos, por ejemplo, fumarato de quetiapina, y risperidona, que interactúan con los receptores de la dopamina y la serotonina, con el fin de tratar la amplia gama de síntomas de la esquizofrenia.

Uno de los principales impedimentos al éxito de los tratamientos para la esquizofrenia es que los pacientes abandonan frecuentemente la(s) medicación(ones) prescritas, especialmente aquellas que tienen efectos secundarios indeseables, tales como visión borrosa, mareos, espasmos musculares, calambres, temblores y otros síntomas similares al Parkinson.

Los movimientos incontrolados observados en pacientes de enfermedad de Parkinson se deben a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, la pérdida de los terminales nerviosos y la consiguiente deficiencia de dopamina. Los estudios han mostrado que los ratones silvestres tratados con una clase de compuestos denominada bloqueantes DAT y los ratones "inactivados genéticamente DAT" son resistentes a los efectos negativos de las neurotoxinas específicas, tales como 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en neuronas dopaminérgicas. Por tanto, un bloqueo farmacológico de la proteína DAT por inhibidores potentes y selectivos puede proporcionar un tratamiento eficaz para prevenir el inicio o el retraso de la progresión de la enfermedad de Parkinson, y otros beneficios sintomáticos asociados con aumentos en los niveles de dopamina en el SNC.

La obesidad es un trastorno caracterizado por un aumento anormal de la grasa en los tejidos conectivos subcutáneos. Entre los agentes terapéuticos actualmente usados para tratar la obesidad están los que aumentan la captación de alimento, tales como los fármacos que interfieren con los receptores de la monoamina, por ejemplo, receptores de la serotonina, receptores de la dopamina, receptores noradrenérgicos y receptores de la histamina.

La narcolepsia es un trastorno neurológico marcado por una compulsión incontrolable recurrente súbita al sueño, asociada también con cataplexia (es decir, una pérdida súbita de tono muscular y parálisis de los músculos voluntarios asociados con una fuerte emoción), parálisis del sueño, alucinaciones hipnagógicas y comportamientos automáticos. La enfermedad afecta a todas las razas, mujeres y hombres por igual. Puede variar en gravedad, apareciendo los síntomas más normalmente en personas adolescentes y en torno a los veinte años. La narcolepsia se trata clínicamente utilizando estimulantes del sistema nervioso central (SNC), tales como Ritalin® que ejercen muchos de sus efectos a través del bloqueo de la captación de la dopamina de las neuronas adrenérgicas centrales, y en particular mediante el bloqueo de las proteínas DAT.

Se ha descubierto que Sidnocarb (3-(1-metil-2-feniletil)-N-(fenilcarbamoil) sidnona imina) tiene un efecto estimulador del SNC, marcado por un aumento en la actividad locomotora sin prácticamente acción simpaticomimética periférica, como se describe en la patente GB 1.262.830 y en la publicación Offenlegungsschrift alemana 2028880. Este descubrimiento condujo a la síntesis de varios análogos de sidnocarb, que actúan también como estimulantes del SNC. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos con números 4.277.609, 4.301.285, 4.371.697 y 4.446.322. Sin embargo, sidnocarb, también conocido como mesocarb, y alguno de sus análogos estrechamente relacionados son de hecho derivados de anfetamina, un psicoestimulante muy adictivo. Cuando se administra a un sujeto humano, es muy probable que los metabolitos de los individuos puedan convertir sidnocarb en una anfetamina. De esta manera, sidnocarb puede presentar mayor potencial que de dependencia aquellos compuestos que no tienen la propensión de convertirse de esta manera. De hecho, sidnocarb se relaciona entre los estimulantes prohibidos en 2006 en la Guide to Prohibited Substances and Prohibited Methods of Doping, edición 6, Tabla 6, en 30, United States Anti-Doping Agency, Colorado Springs, CO (diciembre de 2005) ([www.usantidoping.org](http://www.usantidoping.org)).

Además, sidnocarb y los derivados estrechamente relacionados son modestos inhibidores de la recaptación. Aunque tienen alguna afinidad preferente hacia las proteínas de recaptación de la dopamina, estos compuestos presentan también afinidad hacia los transportadores de la recaptación de la norepinefrina.

Debido al papel central y periférico jugado por las DAT en el sistema dopaminérgico, es una diana atractiva para la intervención terapéutica frente a trastornos y enfermedades tales como los descritos anteriormente que son aliviados por compuestos que se unen selectivamente a DAT e inhiben la recaptación de la dopamina. Los compuestos que inhiben de forma específica la recaptación de la dopamina y carecen de efectos estimuladores del sistema nervioso central son medicaciones inherentemente más valiosas, dado que dichos agentes tendrían análogamente menos efectos secundarios en inducir dependencia de la medicación y drogodependencia potencial del fármaco. De acuerdo con ello, existe un interés continuado en el desarrollo de dichos compuestos.

## Sumario de la invención

En resumen, la presente invención proporciona, en un aspecto, un compuesto para su uso en un método de tratamiento de o en el retraso de la progresión de trastornos que se alivian por la inhibición de la recaptación de la dopamina, implicando el método administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado entre N-fenilcarbamoil-3-(p-metil-bencil)-sidnonimina y N-

fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona novedosos derivados de sidnonimina seleccionados entre N-fenilcarbamoil-3-(p-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los derivados de sidnonimina anteriores combinados con un medio transportador farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos inhibidores de DAT descritos en el presente documento difieren de sidnocarb, no solo en la estructura, pero, de forma más importante, en sus efectos observados sobre el comportamiento animal. De forma notable, sidnocarb es un estimulante, como se evidenció por su efecto estimulante locomotor en estudios de campo abierto. J. Witkin et al., J. Pharm. Exptl. Therap., 288(3): 1298-1310 (1999). En contraste, el mismo estudio de modelo animal, que llevó a cabo también NIDA, ha mostrado que los compuestos de la presente invención tienen el efecto de suprimir la actividad locomotora de una manera dependiente de la dosis. Se espera que el efecto dopaminérgico central de estos compuestos, sin la estimulación del sistema nervioso central, conduzca a una miríada de aplicaciones terapéuticas para las cuales sidnocarb sería ineficaz. Además, a diferencia de sidnocarb y sus análogos previamente conocidos, los compuestos de la presente invención son inhibidores potentes y específicos de la recaptación de la dopamina, que no tienen afinidad apreciable hacia las proteínas recaptadoras de la norepinefrina. Otra ventaja de los compuestos descritos en el presente documento es que no presentan propensión para la conversión en anfetamina *in vivo*.

#### Breve descripción de los dibujos

La FIGURA 1 es una representación gráfica del perfil de la  $CI_{50}/K_i$  de los ejemplos representativos de los derivados de sidnonimina concretamente, 3-(bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo (a); 3-(p-metil-bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo (b); 3-(fenilpropil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo (c); 3-(p-carboxilbencil)-sidnonimina N-fenilcarbamoilo (d); 3-(p-fluoro-bencil)-sidnonimina N-fenilcarbamoilo (e); 3-fenetil-sidnonimina-N-(3'-4'-dicloro-fenil)carbamoilo (f) y 3-(p-nitrofenetil)-sidnonimina-N-(3',4'-dinitro-fenil)carbamoilo (g).

Las FIGURAS 2A-2D son gráficos de una comparación de perfiles farmacocinéticos que muestran el compuesto del Ejemplo 6 (véase a continuación; -■-), que presenta una biodisponibilidad ligeramente mayor que el compuesto del Ejemplo 3 (-◆-) a la misma dosificación utilizando diferentes rutas de administración.

La FIGURA 3 es un gráfico de una comparación de perfiles farmacocinéticos que muestran que el compuesto del Ejemplo 6 (-■- = 10 mg/kg; -●- = 30 mg/kg) demuestra mejor la biodisponibilidad oral que el compuesto del Ejemplo 3 (-+- = 10 mg/kg; -◆- = 30 mg/kg) a diferentes dosificaciones.

Las FIGURAS 4A y 4B son gráficos que muestran que el compuesto del Ejemplo 3 demuestra una supresión dependiente de la dosis de la actividad locomotora espontánea (NIDA).

Las FIGURAS 5A y 5B son gráficos que muestran que el compuesto del Ejemplo 6 demuestra una supresión dependiente de la dosis de la actividad locomotora espontánea (NIDA).

Las FIGURAS 6A y 6B son representaciones gráficas de resultados de ensayo que demuestran que el compuesto del Ejemplo 3 y el compuesto del Ejemplo 6, respectivamente, son capaces de suprimir la actividad locomotora espontánea durante al menos 3 horas (-●- = inhibidor DAT y -o- = vehículo en las Figuras 6A y 6B).

Las Figuras 7A-7C son una serie de gráficos que muestran que el compuesto del Ejemplo 3 induce efectos conductuales significativos en una Batería Conductual de Irwin (A: Actividad espontánea; B: fuerza de agarre; C: tono de las extremidades).

La FIGURA 8 es un gráfico que muestra que el compuesto del Ejemplo 3 reduce la actividad locomotora en un ensayo de campo abierto (-■- = vehículo; -▼- = compuesto de ensayo, 10 mg/kg; -◆- = compuesto de ensayo, 90 mg/kg; -▲- = buspirona, 6 mg/kg).

Las FIGURAS 9A-9D son una serie de gráficos que muestran que el compuesto del Ejemplo 6 induce efectos ansiolíticos en un ensayo de campo abierto (-■- = vehículo; -△- = buspirona, 6 mg/kg; -▼- = compuesto de ensayo, 10 mg/kg; -\* = compuesto de ensayo, 90 mg/kg).

La FIGURA 10 es un gráfico que muestra que el compuesto del Ejemplo 3 que induce un efecto ansiolítico en un entorno novedoso-indujo la supresión de la alimentación (-■- = vehículo; -●- = buspirona, 6 mg/kg; -▼- = compuesto de ensayo, 10 mg/kg; -◆- = compuesto de ensayo, Ej. 3,90 mg/kg).

La FIGURA 11 es un gráfico que muestra que el compuesto del Ejemplo 3 no afecta el comportamiento del Rotarod (-■- = vehículo; -●- = EtOH; -▼- = Ej. 3, 10 mg/kg; -◆- = Ej. 3, 90 mg/kg).

### Descripción detallada de la invención

5 Como se ha indicado anteriormente, la presente invención incluye compuestos específicos definidos anteriormente, las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y el uso de dichos compuestos para tratar diversos trastornos y enfermedades aliviados por la inhibición de la recaptación de la dopamina, o prevenir o retrasar la progresión de aquellos trastornos y enfermedades.

10 Debe apreciarse que los compuestos anteriores pueden tener uno o más centros asimétricos, y de esta manera existen como estereoisómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, que se nombran usualmente de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog. Se pretende incluir todos los posibles estereoisómeros, que pueden ser mezclas racémicas u otras mezclas de los estereoisómeros R y S (mezclas escalémicas, que son mezclas de cantidades desiguales de enantiómeros), así como formas resueltas, sustancialmente puras, ópticamente activas, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 Los estereoisómeros de los compuestos anteriores pueden sintetizarse o separarse selectivamente en formas puras, ópticamente activas, usando procedimientos convencionales conocidos por expertos en la técnica de la síntesis orgánica. Por ejemplo, las mezclas de estereoisómeros pueden separarse por técnicas normalizadas que incluyen, aunque no de forma limitativa, resolución de formas racémicas, cromatografía quiral normal, y cromatografía quiral en fase inversa, formación preferente de sales, recristalización, y similares, o mediante síntesis quiral a partir tanto de materiales de partida quirales o como mediante síntesis deliberada de centros quirales diana.

25 Tal como se usa en el presente documento, el "alquilo" se refiere a radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada, que tienen 1-6 y preferentemente 1-4 átomos de carbono. El término "alqueno" se usa para referirse a radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada que incluyen al menos un doble enlace, y que tienen 2-7 y preferentemente 2-5 átomos de carbono. Dichos radicales alqueno pueden estar en configuraciones estructurales trans(E) o cis(Z). El término "alquino" se usa en el presente documento para referirse a radicales hidrocarburo insaturados de cadena lineal y ramificada que incluyen al menos un triple enlace y que tienen 2-7 y preferentemente 2-5 átomos de carbono.

30 El término "cicloalquilo" como se usa en el presente documento se refiere a un radical hidrocarburo cíclico saturado con uno o más anillos, que tiene 3-14 y preferentemente 5 o 6-10 átomos en el anillo.

35 Cualquier resto alquilo, alqueno, alquino o cicloalquilo de un compuesto descrito en el presente documento puede estar sustituido con uno o más grupos, tales como halógeno, OH, SH, NH<sub>2</sub>, monoalquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, dialquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, COOH, CN, NO<sub>2</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

40 El término "arilo" como se usa en el presente documento se refiere a un radical hidrocarburo aromático compuesto por uno o más anillos y que tiene 5 o 6-14 átomos de carbono y preferentemente 5 o 6-10 átomos de carbono, tal como fenilo, naftilo, bifenilo, fluorenilo, indanilo, o similares. Cualquier alquino o cicloalquilo de un compuesto descrito en el presente documento puede estar sustituido con uno o más grupos, tales como halógeno, OH, SH, NH<sub>2</sub>, monoalquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, dialquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, COOH, CN, NO<sub>2</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. El resto arilo está preferentemente sustituido o es un fenilo sin sustituir.

45 El término "arilalquilo" o "aralquilo" como se usa en el presente documento se refiere a radicales que tienen 6 a 20 átomos de carbono que combinan un grupo arilo y un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente. Cualquier resto aralquilo de un compuesto descrito en el presente documento puede estar opcionalmente sustituido con uno o más de los mismos grupos sustituyentes mencionados anteriormente en referencia al radical arilo.

El término "halógeno" o "halo" utilizado en el presente documento se refiere a F, Cl, Br e I.

50 El término "alcoxi" se refiere a alquil-O-, en el que "alquilo" es como se ha definido anteriormente.

55 El término "alquiltio" se refiere a alquil-S-, en el que "alquilo" es como se ha definido anteriormente.

El término "carboxi" se refiere al resto -C(=O)OH.

60 El término "carbalcoxi" se refiere al resto -C(=O)O-alquilo, en el que "alquilo" es como se ha definido anteriormente.

El término "carboxamido" se refiere al resto -C(=O)O-NR'R", en el que R' y R", representan cada uno independientemente H, alquilo, arilo o aralquilo, todos como se ha definido anteriormente.

65 El término "alquilsulfonilo" se refiere al resto -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

El término "alquilsulfoniloxi" se refiere al resto  $-\text{OS}(=\text{O})_2$ -alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

5 El término "amino(monoalquilamino-, dialquilamino-)sulfonilo" se refiere al resto  $-\text{S}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}''$  en el que R' y R'' representan cada uno independientemente H, alquilo, arilo o aralquilo, todos como se ha definido anteriormente.

El término "amino(monoalquilamino-, dialquilamino-)sulfonilo" se refiere al resto  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ , en el que R' y R'' representan cada uno independientemente H, alquilo, arilo o aralquilo, todos como se ha definido anteriormente.

10 El término "alquilsulfonilamino" se refiere al resto  $-\text{NHS}(=\text{O})_2$ -alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

El término "hidroxisulfoniloxi" se refiere al resto  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OH}$ .

15 El término "alcoxisulfoniloxi" se refiere al resto  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{O}$ -alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

El término "alquilsulfoniloxi" se refiere al resto  $-\text{OS}(=\text{O})_2$ -alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

20 El término "hidroxisulfonilo" se refiere al resto  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ .

El término "alcoxisulfonilo" se refiere al resto  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{O}$ -alquilo, en el que alquilo es como se ha definido anteriormente.

25 El término "alquilsulfonilalquilo" se refiere al resto  $-\text{alquil-S}(=\text{O})_2$ -alquilo, en el que alquilo (en cada caso) es como se ha definido anteriormente.

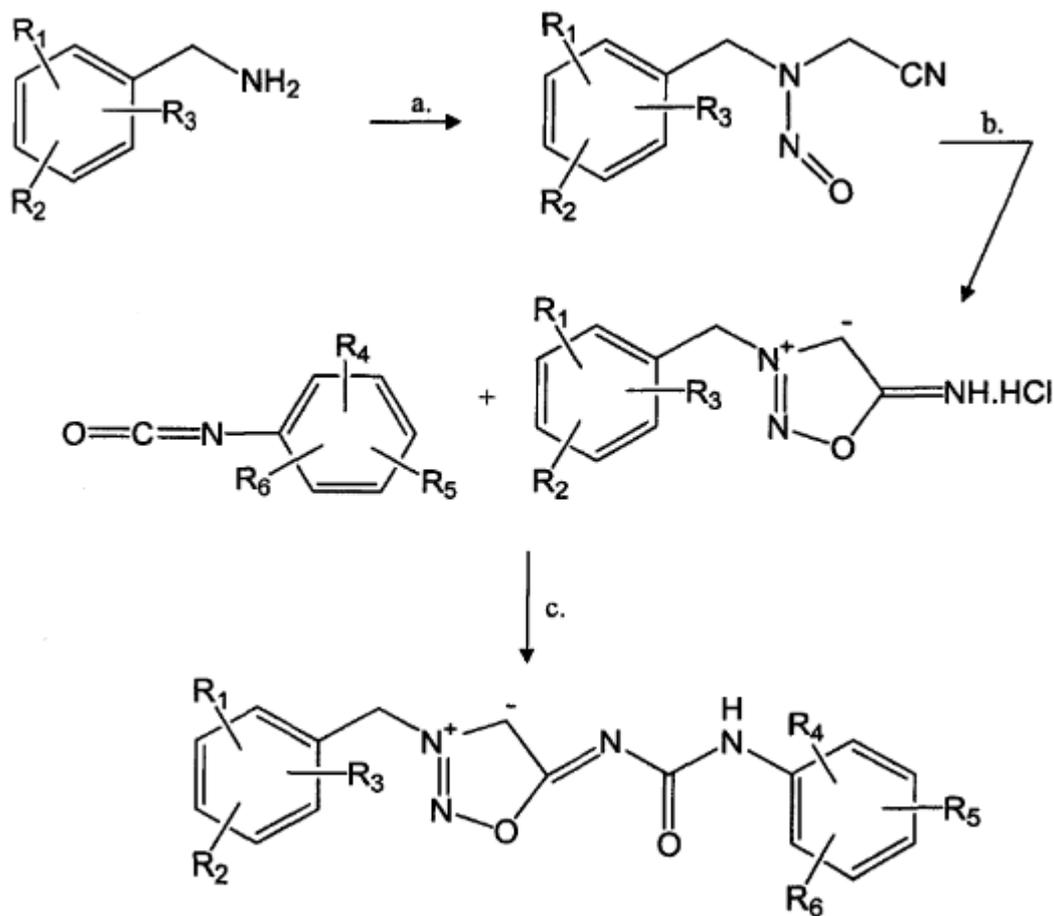
30 El término "amino(monoalquilamino-, dialquilamino-)sulfonilalquilo" se refiere a los restos  $-\text{alquil-S}(=\text{O})_2\text{-NR}'\text{R}''$ , en el que alquilo es como se ha definido anteriormente, y R' y R'' representan cada uno independientemente H, alquilo, arilo o aralquilo, todos como se ha definido anteriormente.

35 El término "amino(monoalquilamino-, dialquilamino-)sulfinilalquilo" se refiere a los restos  $-\text{alquil-S}(=\text{O})\text{-NR}'\text{R}''$ , en el que alquilo es como se ha definido anteriormente, y R' y R'' representan cada uno independientemente H, alquilo, arilo o aralquilo, todos como se ha definido anteriormente.

40 El término "sales farmacéuticamente aceptables" como se usa en el presente documento se refiere a las sales derivadas de ácidos y bases compatibles fisiológicamente no tóxicos, que pueden ser tanto inorgánicas como orgánicas. Por tanto, cuando un compuesto tiene un resto ácido, pueden formarse sales útiles a partir de bases orgánicas e inorgánicas fisiológicamente compatibles, incluyendo, sin limitación, sales de metales alcalinos y de metales alcalinotérreos, por ejemplo, Na, Li, K, Ca, Mg, así como sales de amonio, y sales de aminas orgánicas, por ejemplo, sales de amonio, trimetilamonio, dietilamonio, y tris-(hidroximetil)metilamonio. Los compuestos de la invención forman también sales con ácidos orgánicos e inorgánicos, incluyendo, sin limitación, los ácidos acético, ascórbico, láctico, cítrico, tartárico, succínico, fumárico, maleico, malónico, mandélico, málico, ftálico, salicílico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, bencenosulfónico, toluenosulfónico y similares conocidos, fisiológicamente compatibles. Además, cuando un compuesto contiene un resto básico y un resto ácido, pueden formarse iones híbridos ("sales internas") y se incluyen en el término "sal(es)" como se usa en el presente documento.

50 Los derivados de sidnominina descritos en el presente documento, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden preparar convenientemente por las personas normalmente expertas en la técnica y experimentadas en la síntesis orgánica, usando materiales de partida conocidos, y siguiendo el esquema de síntesis general que se muestra a continuación, en el que los radicales R<sub>1</sub>-R<sub>6</sub> son como sigue, en el que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub>, independientemente entre sí, son radicales seleccionados entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, OH, halógeno, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>, aralquilo C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, SH, alquinitio C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinitio C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, CN, NO<sub>2</sub> carboxi, carbalcoxi, carboxamido, alquilsulfonilo, alquilsulfoniloxi, aminosulfonilo, monoalquilaminosulfonilo, dialquilaminosulfonilo, aminosulfonilo, monoalquilaminosulfonilo, dialquilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, hidroxisulfoniloxi, alcoxisulfoniloxi, alquilsulfoniloxi, hidroxisulfonilo, alcoxisulfonilo, alquilsulfonilalquilo, aminosulfonilalquilo, monoalquilaminosulfonilalquilo, dialquilaminosulfonilalquilo, aminosulfonilalquilo, monoalquilaminosulfonilalquilo, dialquilaminosulfonilalquilo, dicho alquilo, alqueno, alquinitio o cicloalquilo radical estando opcionalmente sustituido por al menos un grupo halógeno, OH, SH, NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilmetilamino, dialquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, COOH, CN, NO<sub>2</sub>, un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, estando dicho radical arilo y aralquilo opcionalmente sustituido por al menos un halógeno, OH, SH, NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilmetilamino, dialquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, COOH, CN, NO<sub>2</sub>, grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

65



a. HCHO, NaNO<sub>2</sub>, KCN; b. HCl; c. NaHCO<sub>3</sub>

Se describen adicionalmente en detalle a continuación en el presente documento las reacciones químicas para la preparación de derivados de sidnominina específicos que se pueden usar en la práctica de la presente invención. Los materiales de partida para estas reacciones están disponibles de fuentes comerciales. Véase también, la patente de los Estados Unidos 3.277.108.

Se han llevado a cabo estudios *in vitro* que demuestran la actividad de inhibición específica de DAT de los compuestos de la invención. Se ensayó la actividad de inhibición de DAT de acuerdo con el procedimiento descrito por J. Javitz et al., Mol. Pharmacol., 26: 35-44 (1984). Los resultados del ensayo de numerosos compuestos representativos de la invención se notifican a partir de ahora en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "método de tratar la enfermedad aliviada inhibiendo DAT" se refiere a un tratamiento que utiliza uno o más de los compuestos descritos anteriormente, que proporciona alivio ya sea liberando al destinatario de una enfermedad o dolencia mediada por DAT o aliviando los síntomas o efectos de dicha enfermedad o dolencia. El método de la invención se pretende para tratar, prevenir, gestionar y/o retrasar la progresión de las siguientes: dolencias pulmonares tales como edema pulmonar; lesión de isquemia por reperfusión; dolencias cardíacas, tales como insuficiencia cardíaca descompensada aguda y el síndrome cardiorenal; hiperprolactinemia (BrE), hiperprolactinemia (AmE) y microprolactinoma; dolor incluyendo dolor crónico o dolor neuropático; catatónico, discinesia, síndrome de piernas inquietas y trastornos relacionados con el movimiento; estrés, trastorno por estrés posttraumático crónico, trastornos de la ansiedad, trastornos obsesivos-compulsivos, depresión postparto; esquizofrenia, trastorno maníaco, bipolar, y afectivo; trastornos de la función ejecutiva, tales como TDAH, Síndrome de Tourette y autismo; cocaína, anfetamina, alcoholismo, y comportamiento adictivo, tal como ludopatía; trastornos reguladores neuroendocrinos; dolencias inflamatorias, enfermedades autoinmunes y reumatismo; trastornos neoplásicos, tales como carcinomas de la pituitaria, macroprolactinomas; trastornos sensoriales visuales, deficiencia de color; y disfunción sexual eyaculadora y disfunción sexual relacionada. Las enfermedades y dolencias enumeradas anteriormente se proporcionan a modo de ejemplo y como limitación.

En general, los compuestos de la invención pueden administrarse para conseguir la inhibición específica de la recaptación de la dopamina usando cualquier medio aceptable conocido en la técnica, tanto solo como en combinación con uno o más agentes terapéuticos diferentes. Por tanto, el(los) principio(s) activo(s) puede(n) administrarse por vía entérica, parenteral, tal como mediante infusión intravenosa, inyección intramuscular, intraperitoneal o subcutánea, mediante administración mediada por liposomas, por vía vaginal, mediante inhalación o insuflación, transdérmicamente o mediante administración ótica.

Normalmente, se puede administrar una dosis diaria del compuesto de la invención en el intervalo de 0,01 mg a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal. Una dosis diaria de entre 0,1 a 100, y preferentemente de 1 a 30 mg/kg por día en una o más aplicaciones por día debería ser eficaz para producir el resultado deseado. A modo de ejemplo, una dosis adecuada para la administración oral estaría en el intervalo de 1-30 mg/kg de peso corporal por día, mientras que una dosis típica para la administración intravenosa estaría en el intervalo de 1-10 mg/kg de peso corporal por día. Por supuesto, como los expertos en la materia apreciarán, la dosificación administrada realmente dependerá de la dolencia que se está tratando, el sexo, edad, salud y peso del receptor, el tipo de tratamiento simultáneo, en su caso, y la frecuencia de tratamiento. Además, un experto en la técnica puede determinar la dosificación eficaz sobre la base de un ensayo de actividad empírica rutinaria para medir la bioactividad del(de los) compuestos en un bioensayo, y de esta manera establecer la dosificación adecuada que se va a administrar.

Los compuestos de la invención se administrarán normalmente de 1-4 veces al día, con el fin de administrar la dosificación diaria anteriormente mencionada. Sin embargo, el régimen exacto de administración de los compuestos y composiciones descritos en el presente documento dependerá necesariamente de las necesidades del sujeto individual que se está tratando, el tipo de tratamiento administrado y el criterio del especialista médico a cargo del tratamiento. Tal como se usa en el presente documento, el término "sujeto" incluye seres humanos y animales.

Los compuestos de la invención se pueden administrar como tales, o en una forma a partir de la cual se pueda derivar el principio activo, tal como un profármaco. Un profármaco es un derivado de un compuesto descrito en el presente documento, cuya la acción farmacológica es el resultado de la conversión mediante procesos químicos o metabólicos *in vivo* del compuesto activo. Los profármacos incluyen, sin limitación, derivados de éster de los compuestos de fórmula I, anteriormente. Se pueden preparar otros profármacos de acuerdo con procedimientos bien conocido en el campo de la química médica y la ciencia de la formulación farmacéutica. Véase, por ejemplo, Lombaert et al., *J. Med. Chem.*, 37: 498-511 (1994); y Vepsalainen, *Tet. Letters*, 40: 8491-8493 (1999).

Los compuestos específicos de DAT descritos en el presente documento y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se formulan preferentemente en una forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria" tal como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de un agente adecuado para el paciente que se va a tratar. Cada dosis debe contener la cantidad de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, como tal, o en asociación con el medio transportador farmacéutico seleccionado y/o el(los) principio(s) activo(s) suplementario(s), en su caso. Normalmente, los compuestos inhibidores de DAT de la invención se administrarán en una forma farmacéutica que contenga aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 200 mg del principio activo, prefiriéndose un intervalo de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 100 mg.

La forma farmacéutica unitaria administrada por vía oral puede estar en la forma de comprimidos, comprimidos ovalados, grageas, píldoras, semisólidos, cápsulas de gelatina blanda o de gelatina dura, soluciones acuosas u oleosas, emulsiones, suspensiones o jarabes. Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones o suspensiones inyectables, supositorios, formulaciones en polvo, tales como microcristales o pulverizadores en aerosol. El principio activo puede incorporarse también en un sistema convencional de administración transdérmica.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención comprende uno o más de los compuestos anteriores, en combinación o premezcla con un medio transportador farmacéuticamente aceptable. La composición puede, si se desea, administrarse junto con uno o más principios activos suplementarios. Por ejemplo, el agente inhibidor de DAT se puede usar junto con l-dopa para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson; o en combinación con un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (SSRI) para el tratamiento de la drogodependencia y adicción de cocaína; o en combinación con un antagonista de la dopamina D2 para el tratamiento de la esquizofrenia; o en combinación con moduladores colinérgicos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer u otras enfermedades o dolencias en las cuales los pacientes tienen un déficit cognitivo. El(los) compuesto(s) de la invención puede(n) administrarse tanto simultáneamente (por ejemplo, en la misma formulación o no) como secuencialmente con el(los) agente(s) terapéutico(s) suplementario(s).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "medio transportador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, diluyentes, u otros vehículos líquidos, adyuvantes de la dispersión o de la suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes, cargas y similares según sea adecuado para la forma farmacéutica deseada. Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª Edición, A.R. Genaro et al., Parte 5, Pharmaceutical

Manufacturing, pp. 669-1015 (Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD/Filadelfia, PA (2000)) divulga diversos transportadores utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Excepto en la medida que cualquier medio transportador farmacéutico convencional sea incompatible con los inhibidores de DAT de la presente invención, tal como produciendo un efecto biológico indeseable o interactuando de otra forma de una manera perjudicial con cualquiera (cualesquiera) otro(s) componente(s) de una formulación que comprende dichos compuestos, su uso se contempla como incluido en el ámbito de la presente invención.

Para la producción de formas farmacéuticas sólidas, incluyendo cápsulas duras y blandas, el agente terapéutico puede mezclarse con un excipiente inorgánico u orgánico farmacéuticamente inerte, tales como lactosa, sacarosa, glucosa, gelatina, malta, gel de sílice, almidón o derivados de los mismos, talco, ácido esteárico o sus sales, leche desnatada en polvo, aceites de hortalizas, petróleo, animales o sintéticos, cera, grasa, polioles, y similares. Para la producción de soluciones, emulsiones o suspensiones líquidas o jarabes, se pueden usar excipientes tales como agua, alcoholes, solución salina acuosa, dextrosa acuosa, polioles, glicerina, lípidos, fosfolípidos, ciclodextrinas, aceites de hortalizas, petróleo, animales o sintéticos. Para supositorios se pueden usar excipientes, tales como aceites de hortalizas, petróleo, animales o sintéticos, cera; grasa y polioles. Para formulaciones en aerosol, se pueden usar gases comprimidos adecuados para este fin, tales como oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono. La composición o formulación farmacéutica puede contener además uno o más aditivos incluyendo, sin limitación, conservantes, estabilizantes, por ejemplo, estabilizantes del ultravioleta, emulsionantes, edulcorantes, sales para ajustar la presión osmótica, tampones, materiales de revestimiento y antioxidantes.

La presente invención proporciona además formas farmacéuticas de liberación controlada o liberación continua para la composición farmacéutica, en las que la composición se incorpora a un sistema de administración. Esta forma farmacéutica controla la liberación del(de los) principio(s) activo(s) de tal manera que se pueda mantener una concentración eficaz del(de los) principio(s) activo(s) durante un periodo extendido de tiempo, permaneciendo la concentración en la sangre relativamente constante, para mejorar los resultados terapéuticos y/o minimizar los efectos secundarios. Además, un sistema de liberación controlada proporcionaría fluctuaciones pico a valle mínimas en los niveles de plasma en sangre del principio activo.

En las composiciones farmacéuticas de la invención, el(los) principio(s) activo(s) puede(n) estar presente(s) en una cantidad de al menos 0,5 y generalmente no más del 95 % en peso, basado en el peso total de la composición, incluyendo el medio transportador y/o el(los) principio(s) activo suplementario(s), en su caso. Preferentemente, la proporción del (de los) principio(s) activo(s) varía entre 30-90 % en peso de la composición.

Aunque sin pretender quedar limitados a teoría concreta alguna como para el mecanismo bioquímico de acción de los compuestos descrito en el presente documento, considerando que estos compuestos han mostrado 1) una interacción muy potente y específica con las proteínas recaptadoras de la dopamina, 2) absorción y distribución rápida en el sitio (por ejemplo, cerebro), y 3) poca interacción con otras proteínas incluyendo las enzimas metabólicas más prevalentes, se cree que estos compuesto se pueden usar 1) solos para mejorar las patologías, centrales y/o periféricas, cuando las funciones dopaminérgicas endógenas están aumentadas por la inhibición de la recaptación de la dopamina; 2) en combinación con la dopamina (o agonistas dopaminérgicos) para proporcionar efectos sinérgicos de las funciones dopaminérgicas endógenas aumentadas y los efectos de los fármacos; y 3) en combinación con otras medicaciones diferentes de los mecanismos dopaminérgicos, cuando el tratamiento de la enfermedad requiere la consideración de una etiología de la enfermedad compleja y multifacética.

Se proporcionan los siguientes ejemplos para describir la invención con más detalle. Estos ejemplos se proporcionan únicamente a fines ilustrativos y no se entiende que limiten la invención en forma alguna.

### Ejemplo 1

#### Preparación de N-fenilcarbamoil-3-(bencil)-sinonimiza

Se agitaron 1,2 ml de una solución acuosa de HCl 7,5 N. (a 0 °C) en una mezcla de 0,94 g de bencilamina y 0,58 g de cianuro de potasio en 2 ml de agua. A continuación se añadieron 0,7 g de formaldehído gota a gota a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y a continuación se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente una solución de 0,62 g de nitrito de sodio en 1 ml de agua a la mezcla seguido por la adición de 1,2 ml de una solución acuosa de HCl 7,5 N, enfriando al mismo tiempo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se usó éter para extraer la mezcla resultante tres veces. El combinado de soluciones etéreas se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a presión reducida. Se obtuvo N-nitrosobencilaminoacetónitrilo (véase el esquema de reacción) como un aceite de color amarillo. El compuesto intermedio se trató a continuación con 500 ml de solución etérea de HCl (2,0 M) y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se obtuvo un precipitado de color blanco y se recristalizó con 2-propanol, dando como resultado un cristal de color blanco. 2,84 g de clorhidrato de 3-bencil-sidonimina producido de esta manera se disolvió en 25 ml de agua. A la solución se añadieron 1,34 g de bicarbonato de sodio a 0 °C. A continuación se añadieron 2,45 ml de isocianato de fenilo gota a gota a la mezcla y se agitó a 0 °C durante 4 horas. A continuación se añadieron 10 ml de éter a la mezcla resultante para ayudar a precipitar al cristal amarillo. Se usó metanol como disolvente para la

recristalización. Se obtuvo el producto deseado como un cristal de color amarillo.

**Ejemplos 2-7**

5 Los compuestos N-fenilcarbamoil-3-(p-carboxilbencil-sidnonimina (2); N-fenilcarbamoil-3-(p-metil-bencil)-sidnonimina (3); N-(3',4'-diclorofenil) carbamoil-3-fenetil sidnonimina (4); N-(3',4'-dinitrofenil) carbamoil-3-p-nitrofenetil sidnonimina (5); N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina (6); y N-fenilcarbamoil-3-(p-fluoro-bencil)-sidnonimina (7) se sintetizaron siguiendo esencialmente el mismo procedimiento que se describe en el Ejemplo 1, anterior, con una sustitución adecuada de diferentes materiales de partida en cantidades equivalentes.

10 **Ejemplo 8** I. ENSAYO DE UNIÓN AL TRANSPORTADOR DE LA DOPAMINA [3H]WIN 35.428

Este ensayo se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Javitch, J. J. y col., Mol. Pharmacol. 26: 35-44; 1984

15 A. PREPARACIÓN DE TEJIDO (PREPARAR TODAS LAS SOLUCIONES EN HIELO)

1. Se descongelaron cerebros congelados de cobayas macho (en tampón de ensayo) y se colocaron en TRIS-HCl 50 mM (pH 7,4 a 25°C con NaCl 120 mM). Se aísla el cuerpo estriado.
- 20 2. Se utiliza un Polytron para homogeneizar tejido en 20 vols. (p/v) de Tris-HCl 50 mM (pH 7,4 a 25°C con NaCl 120 mM).
3. El homogenizado se centrifuga a 48.400 x g durante aproximadamente 10 minutos a 4 °C. Se descarta el sobrenadante.
4. Se lava el aglomerado un tiempo adicional como se describe en las etapas 2 y 3.
- 25 5. Se guarda el aglomerado en hielo hasta que sea necesario para el ensayo de unión.
6. Usando un Polytron (ajuste 5; aproximadamente 10 segundos) se vuelve a suspender el aglomerado en Tris-HCl 50 mM (pH 7.4 a 25°C con NaCl 120 mM) a una concentración inicial de 10 mg/ml (peso húmedo original), de tal manera que la concentración final es de 8 mg/ml o 4,0 mg de tejido/tubo.

30 B. REACCIÓN DE UNIÓN

1. Cada tubo recibe los siguientes componentes:
  - 50 ul de fármaco o vehículo
  - 50 ul de [3H]-WIN 35.428
  - 400 ul de suspensión de tejido.
2. Se inicia la reacción de unión con la adición del tejido, y se incuba durante 120 h a 0 °C (en hielo).
3. Se finaliza la reacción de unión mediante filtración rápida de los contenidos de los tubos sobre filtros GF/C Whatman sin tratar.
- 40 4. Los tubos de ensayo se enjuagan una vez con TRIS HCl 50 mM enfriado en hielo (pH 7,4 a 25°C con NaCl 120 mM, BSA), a continuación, los filtros se enjuagan rápidamente con 6 x 1 ml/tubo del mismo tampón de lavado.
5. Se evalúa la radioactividad atrapada en los filtros usando una máquina LSM. Se deja reposar 3 horas en un cóctel de centelleo.

45 C. ENSAYO DE UNIÓN AL TRANSPORTADOR DE LA DOPAMINA MATERIALES Y REACTIVOS

1. [3H]-WIN 35-428 se diluyó a una concentración de 60 nM en TRIS HCl 50 mM (pH 7,4 a 25°C con NaCl 120 mM). Por tanto, la concentración final de ligando es 6 nM.
- 50 2. Se definió la unión no específica como la restante en presencia de 1 x 10<sup>-6</sup> M GBR12909 (cabina a temperatura ambiente). GBR12909 PM =523,5 g/mol. Se solubilizará en DMSO al 4 % (sonicar 15 minutos). Se pueden utilizar alícuotas (1E-3).
3. El compuesto de referencia para el ensayo es GBR12909 y se diluye en DMSO al 4 % y a continuación se analiza a las siguientes concentraciones finales: 1x10<sup>-10</sup>, 5x10<sup>-10</sup>, 2x10<sup>-9</sup>, 5x10<sup>-9</sup>, 1x10<sup>-8</sup>, 2x10<sup>-8</sup>, 5x10<sup>-8</sup>, 1x10<sup>-7</sup>, 2x10<sup>-7</sup>, 5x10<sup>-7</sup>, 1x10<sup>-6</sup>, 5x10<sup>-6</sup>.
- 55 4. El control positivo es GBR12909 y se analiza a las concentraciones finales de: 2x10<sup>-8</sup>, 1x10<sup>-7</sup>, 5x10<sup>-7</sup> M.
5. La K<sub>d</sub> para el receptor es 28,0 nM.

60 TAMPONES

Tampón de ensayo	1 l	2 l	3 l	4 l
Tris-HCl 50 mM pH 7,4	6,06 g	12,12 g	18,18 g	24,24 g
NaCl 120 mM	7,01 g	14,02 g	21,03 g	28,04 g

## ES 2 582 660 T3

Tampón de lavado (añadir 1 g de BSA/ 1 l de tampón de ensayo)

Tris-HCl 50 mM pH 7,4	24,2 g /4 l
NaCl 120 mM	28,0 g / 4 l
BSA	4 g/4 l
Ki: 2,25 - 22,5 e-9	

### II: ENSAYO DE UNIÓN AL TRANSPORTADOR DE NOREPINEFRINA (RECOMBINANTE HUMANA)

5 Se llevó a cabo este ensayo de acuerdo con el procedimiento descrito por Raisman, R, et al. Eur. Jnl. Pharmacol. 78:345-351 (1982) con modificaciones. Véase también, Langer, S., et al., Eur. Jnl. Pharmacol, 72: 423-4 (1981).

#### PREPARACIÓN DEL TEJIDO

10 1. Se diluyó hrNET (Receptor Biology; RBNET) en tampón de ensayo a 2,5 microunidades/ml, de tal manera que cada tubo recibe 0,5 microunidades, o 2 microunidades/ml.  
**NOTA: 100 microensayos, añadir 20 ml de tampón.**

#### REACCIÓN DE UNIÓN

- 15 1. Cada tubo recibe los siguientes componentes:
- 20           25 ul de fármaco o vehículo  
             25 ul de [<sup>3</sup>H]-Nisoxetina  
             200 ul de suspensión de tejido.
- 25 2. Se inicia la reacción de unión con la adición del tejido, y se incuba a **temperatura ambiente durante 1 hora.**
3. Se finaliza la reacción de unión mediante filtración rápida de los contenidos del tubo sobre PEI al **0,1 % tratado en filtros GF/C (TopCount).**
- 30 4. Los tubos de ensayo se enjuagan una vez con NaCl 50 mM frío en hielo, a continuación, los filtros se enjuagan rápidamente con 6 x 1 ml/tubo del mismo tampón de lavado.
5. Se evaluó la radioactividad atrapada sobre los filtros usando un espectrómetro de centelleo líquido tras humedecer los filtros durante al menos 1 hora en cóctel de centelleo.

#### MATERIALES Y REACTIVOS

- 35 1. La fuente receptora es CHO recombinante humana.
- 40 2. Se diluyó [3H]-Nisoxetina, a una concentración de 10 nM en tampón de ensayo, se usó como el radioligando. Por tanto, la concentración final de ligando es 1 nM.
3. Se definió la unión no específica como la restante en presencia de 1 x 10<sup>-6</sup>M desipramina (PM=302,8) (preparada recientemente: en una bolsa con 1 desecador, disuelto en agua 1E-3).
- 45 4. El compuesto de referencia para el ensayo es desipramina. Desipramina se analiza a las siguientes concentraciones finales:  
 1 x 10<sup>-10</sup>, 2 x 10<sup>-10</sup>, 5 x 10<sup>-10</sup>, 1 x 10<sup>-9</sup>, 2 x 10<sup>-9</sup>, 5 x 10<sup>-9</sup>, 1 x 10<sup>-8</sup>, 2 x 10<sup>-8</sup>, 5 x 10<sup>-8</sup>, 1 x 10<sup>-7</sup>, 2 x 10<sup>-7</sup>, 5 x 10<sup>-7</sup> M
- 50 5. El control positivo es cualquiera de los anteriores analizados a las concentraciones finales de:  
 1 x 10<sup>-9</sup>, 5 x 10<sup>-9</sup>, 2 x 10<sup>-8</sup> M.
6. La K<sub>d</sub> para el receptor es 3 nM.

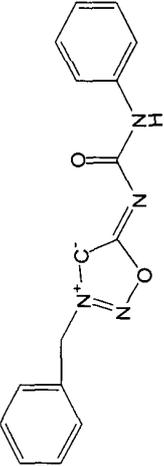
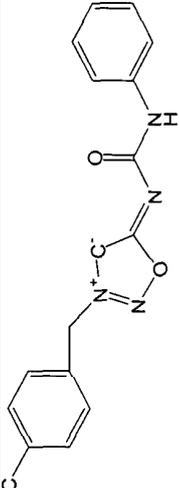
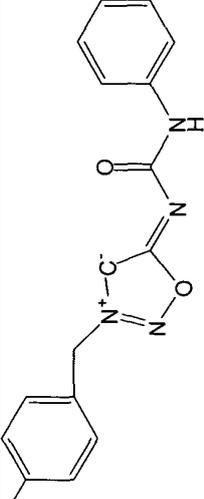
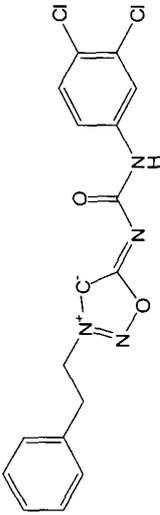
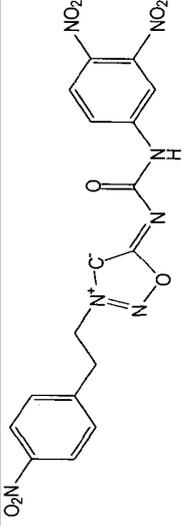
#### TAMPONES

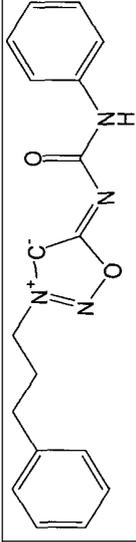
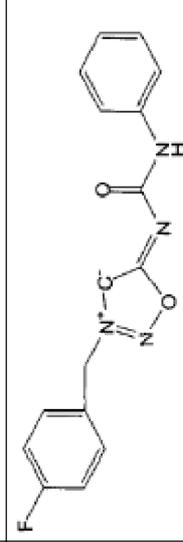
<b>Tampón de incubación:</b>	<u>PM</u> <u>(g/mol)</u>	<u>g/1 l</u>
Tris 50 mM, pH 7,4	121	6,06
KCl 5 mM	74,6	0,38
NaCl 120 mM	58,4	7,02

## ES 2 582 660 T3

**Tampón de lavado:** NaCl 50 mM                      58,4      3,0

Los resultados de los ensayos de unión de DAT y NET son como se muestra en la siguiente tabla:

Ej. N.º	Nombre	Estructura	INH a 10 µM de DAT	INH a 10 µM de NET	INH a 10 µM de DAT
1	3-(bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo		90 %	0	36 nM
2	3-(p-carboxibencil)-sidnonimina N-fenilcarbamoilo		92 %	11 %	2,7 nM
3	3-(p-metil-bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo		94 %	14 %	0,19 nM
4	3-fenetil-sidnonimina-N-(3',4'-diclorofenil) carbamoilo		99 %	2 %	40 nM
5	3-(p-nitrofenetil) sidnonimina-N-(3',4'-dinitrofenil) carbamoilo		85 %	4 %	100 nM

6	3-(fenilpropil)-sindonimina-N-fenilcarbamoilo		96 %	1,44 %	25 nM
7	3-(p-fluorobencil)-sindonimina-N-fenilcarbamoilo		99 %	15 %	0,46 nM

Los compuestos preferidos de la invención tienen una inhibición de unión a DAT (a 10  $\mu$ m) de más de o igual al 90 % y una inhibición de unión a NET (a 10 mM) de menos de o igual al 15 %; o una relación de inhibición de la unión DAT:NET (a 10 mM) de al menos 9:1.

5 **Ejemplo 9**

Los siguientes materiales y métodos se proporcionan para facilitar la práctica del Ejemplo 9, en el que se evaluó la concentración de fármaco en determinadas muestras biológicas usando diferentes rutas de administración.

10 **Parámetros utilizados en la dosificación y administración del fármaco del compuesto del Ejemplo 3:**

Ruta de la dosis	Intervalo de la dosis	Volumen de dosis
(Uso de una jeringuilla de 1 ml con una aguja de alimentación oral adecuada.)		
por vía i.v.	10 mg/kg	5 -10 x peso corporal (5-10 ml/ kg, es decir un ratón de 2,5 g recibe 125 - 250 ul)
por vía i.p.	10 mg/kg	10 x peso corporal
Oral	10,30 mg/kg	10 x peso corporal

**Raza de ratón**

15 Ratones C57BL/6 adultos (prefiriéndose de 16 semanas de edad).

**Punto temporal**

20 Dosis previa, 5, 15, 30, 60, 120, 240 y 480 min. para la IV.  
Dosis previa, 15, 30, 60, 120, 240, 480 y 1.440 min. para la IP y la oral.

Tres ratones por punto temporal. Si se llevan a cabo las tres rutas en un mismo día, es eficaz un grupo de dosis previa.

25 **Fórmula de la dosificación**

30 EtOH al 10 %  
HCl al 0,05-0,08 % 7,5 N  
Captisol al 30 % en solución salina  
pH final a 2,5-3

**Ejemplo 10**

**Actividad locomotora espontánea (Estudio de marco abierto)**

35 Se llevó a cabo un estudio de dosis respuesta de la depresión locomotora inducido por el compuesto del Ejemplo 3, de acuerdo con el protocolo normalizado de los estudios de actividad locomotora de la NIDA's Medication Development Division (MDD). El estudio se llevó a cabo usando 40 cámaras de ensayo de actividad locomotora Digiscan (40,5 X 40,5 X 30,5 cm) alojados en conjuntos de dos, en el interior de cámaras anecoicas. Un panel de haces infrarrojos (16 haces) y los correspondientes fotodetectores se localizaron en la dirección horizontal a lo largo de los lados de cada cámara de actividad. Una luz incandescente de 7,5 W por encima de cada cámara proporcionó iluminación dim. Los ventiladores proporcionaron un nivel de ruido ambiente de 80 db en el interior de la cámara. Grupos independientes de 8 ratones Swiss Webster machos no habituados (Hsd:ND4, de 2-3 meses de edad) recibieron una inyección mediante ruta intraperitoneal (IP) tanto con vehículo (metilcelulosa al 2 %) como con el compuesto del Ejemplo 3, anterior, (3, 10, 30 o 100 mg/kg) veinte minutos antes del ensayo de la actividad locomotora. Exactamente antes de la colocación del equipo, todos los ratones recibieron una inyección de solución salina IP. En todos los estudios, se midió la actividad horizontal (interrupción de los haces de fotocélulas) durante 1 hora en periodos de 10 minutos. Se llevó a cabo el ensayo con una cámara de actividad por ratón.

50 Se siguió el mismo protocolo en un estudio de depresión locomotora inducida por el compuesto del Ejemplo 6.

**Ejemplo 11**

**Curso de tiempo (8 h.) Ensayo de actividad locomotora en ratón**

55 Se llevó a cabo un estudio de dosis respuesta de curso temporal del efecto inductor de la depresión locomotora del compuesto del Ejemplo 3, según el mismo protocolo de curso temporal de los estudios de actividad locomotora MDD descrito en el punto anterior, excepto en los grupos de 8 ratones recibieron una inyección bien de vehículo (metilcelulosa al 2 %) o bien del compuesto del Ejemplo 3 (3, 10, 30 o 100 mg/kg), inmediatamente antes del ensayo

de actividad locomotora. Se registraron observaciones conductuales en cada ratón a los 30, 120 y 480 minutos tras recibir 100 mg/kg del compuesto de ensayo. El vehículo usado en este estudio fue metilcelulosa al 2 %.

Se llevó a cabo también un estudio independiente de dosis respuesta de curso temporal del efecto inductor de la depresión locomotora del compuesto del Ejemplo 6, en las mismas condiciones descritas anteriormente para el ensayo del compuesto del Ejemplo 3. Grupos adicionales de 8 ratones recibieron una inyección bien de vehículo (metilcelulosa al 2 %) o bien del compuesto de ensayo (3, 10, 30 o 100 mg/kg), inmediatamente antes del ensayo de actividad locomotora. Se registraron observaciones conductuales en cada ratón a los 30, 120 y 480 minutos tras recibir 100 mg/kg del compuesto de ensayo. El vehículo usado en este estudio fue metilcelulosa al 2 %.

**RESULTADOS**

Los inventores han identificado los inhibidores selectivos de DAT para su uso en el tratamiento y prevención de la drogodependencia de cocaína y otros trastornos asociados con la recaptación anómala de la dopamina. Dos de estos inhibidores, a saber, los compuestos de los Ejemplos 3 y 6, más arriba, se tolerarán bien hasta al menos 200 mg/kg. Se produjeron cambios observables en el comportamiento en minutos y posteriormente durante aproximadamente 2-3 horas. De forma notable, los sujetos tratados con el compuesto del Ejemplo 3 se volvieron letárgicos por encima de 125 mg/kg, mientras que este efecto se redujo a concentraciones mayores del compuesto del Ejemplo 6.

En los estudios que utilizan ratones C57BL/6 adultos (preferentemente de aproximadamente 16 semanas de edad), se exploraron los parámetros de dosificación y administración del fármaco para el compuesto del Ejemplo 3. La Tabla 2 resume los resultados de estos estudios. Claramente, el compuesto es adecuado para su administración oral y permanece en el plasma hasta 2-3 horas. Además, el compuesto del Ejemplo 3 alcanza el cerebro tanto administrado por vía oral como mediante administración intravenosa. Véase la Tabla 3.

**TABLA 2**

<b>Concentración en plasma (ng/ml) por diferentes rutas de administración del fármaco</b>				
<b>Tiempo</b>	<b>10 mg/kg (IV)</b>	<b>10 mg/kg (IP)</b>	<b>10 mg/kg (PO)</b>	<b>30 mg/kg (PO)</b>
0	18,33	21,00	10,60	8,93
5	2091,03	973,00	218,50	837,87
15	2110,87	315,97	115,45	669,80
30	915,00	544,25	59,90	374,53
60	416,63	115,40	21,30	113,87
120	139,27	82,47	17,57	41,87
240	47,43	34,03	15,80	48,53
480	94,63	31,20	14,30	13,40

**TABLA 3**

<b>Concentración de fármaco en el cerebro (ng/ml) por diferentes rutas de administración del fármaco</b>				
<b>Tiempo</b>	<b>10 mg/kg (IV)</b>	<b>10 mg/kg (IP)</b>	<b>10 mg/kg (PO)</b>	<b>30 mg/kg (PO)</b>
0	95,10	0,00	107,55	123,97
5	2313,10	1456,65	417,80	868,87
15	1723,27	374,43	297,60	844,87
30	1139,30	242,00	149,93	626,63
60	464,40	189,93	158,00	217,60
120	78,70	70,20	165,13	203,07
240	177,87	143,13	97,47	183,03
480	48,95	122,95	163,00	168,35

Se llevaron a cabo estudios farmacocinéticos adicionales, tal como se muestra en las Figuras 2A-2D. Parece que el compuesto del Ejemplo 6 presenta una biodisponibilidad ligeramente mejor en el plasma y el cerebro cuando se comparó con el compuesto del ejemplo 3 a la misma dosificación. El compuesto del Ejemplo 6 presenta también una biodisponibilidad oral relativamente mayor cuando se administra a diferentes dosificaciones. Véase la Figura 3.

Se llevaron a cabo las evaluaciones de la actividad locomotora espontánea tras la administración de los inhibidores de DAT de la presente invención de acuerdo con el procedimiento descrito en Tella et al. (1996) Pharmacol Biochem. Behav. 54:343-54; Elmer et al. (1996) Pharmacol Biochem Behav 53:911-918. Los resultados de estas evaluaciones aparecen en las Figuras 4 y 5. Las Figuras 4A y 4B son gráficos que muestran que el compuesto del Ejemplo 3 demuestra una supresión dependiente de la dosis de la actividad locomotora espontánea. El compuesto del Ejemplo 6 mostró una respuesta dependiente de la dosis similar, como se puede observar en las Figuras 5A y 5B.

Los resultados del experimento de actividad locomotora en ratones de curso temporal descrito anteriormente

utilizando el compuesto del Ejemplo 3 se indican en la Figura 6A, que muestra las cuentas de actividad horizontal promedio/10 min en función del tiempo (0-8 h) y la dosis del compuesto (paneles superiores a inferiores). El tratamiento con este compuesto dio como resultado una depresión de la actividad locomotora dependiente del tiempo y la dosis tras recibir 30 y 100 mg/kg. Se produjeron efectos depresores de 30 y 100 mg/kg en 10 minutos tras la inyección y duraron 140 a 160 minutos. Se seleccionó el periodo de 20-50 min para el análisis de los datos de dosis-respuesta ya que este fue el periodo de tiempo en el que apareció por primera vez la supresión máxima en función de la dosis. Las cuentas de la actividad horizontal promedio/10 min para este periodo de 30 min se ajustaron a una función lineal de una dosis  $\log_{10}$  de la parte descendente de la curva dosis-efecto (3 a 100 mg/kg de intervalo de dosis). La  $DI_{50}$  (dosis que produce la actividad depresora máxima, donde la depresión máxima = 0 cuentas/30 min) se estimó que era de 24,0 mg/kg.

Un análisis bilateral de la varianza llevado a cabo sobre las cuentas de la actividad horizontal/10 min indicó un significativo efecto para el tratamiento  $F(4,35)=5,35$ ,  $p=0,002$ , Periodos de 10 minutos  $F(47,1645)=42,63$ ,  $p<0,001$ , y para la interacción de Periodos y Tratamiento  $F(188,1645)=2,26$ ,  $p<0,001$ . Un análisis monolateral de las cuentas  $\log_{10}$  de la actividad horizontal para un periodo de tiempo de 20-50 min (efecto depresor máximo) indicó un efecto significativo del tratamiento  $F(4,35)=27,59$ ,  $p<0,001$ , y las comparaciones planificadas (contraste a priori) frente al grupo del vehículo mostraron un efecto depresor significativo para 30 y 100 mg/kg ( $p_s < 0,05$  denotado en la Figura 6A con un asterisco).

Los resultados del experimento de actividad locomotora en ratones de curso temporal utilizando el compuesto del Ejemplo 6, se proporcionan en la Figura 6B, que muestra las cuentas de actividad horizontal promedio/10 min en función del tiempo (0-8 h) y la dosis del compuesto de ensayo (paneles superiores a inferiores). El tratamiento con este compuesto dio como resultado una depresión de la actividad locomotora dependiente del tiempo tras recibir 100 mg/kg. Se produjeron efectos depresores de 100 mg/kg en 10 minutos tras la inyección y duraron 160 minutos. Se seleccionó el periodo de 50-80 min para el análisis de los datos de dosis-respuesta ya que este fue el periodo de tiempo en el que apareció por primera vez la supresión máxima en función de la dosis. Las cuentas de la actividad horizontal promedio/10 min para este periodo de 30 min se ajustaron a una función lineal de una dosis  $\log_{10}$  de la parte descendente de la curva dosis-efecto (10 a 100 mg/kg de intervalo de dosis). La  $DI_{50}$  (dosis que produce la actividad depresora máxima, donde la depresión máxima = 0 cuentas/30 min) se estimó que era de 30,2 mg/kg.

Un análisis bilateral de la varianza llevado a cabo sobre las cuentas de la actividad horizontal/10 min indicó un significativo efecto para el tratamiento  $F(4,35)=6,84$ ,  $p<0,001$ , Periodos de 10 minutos  $F(47,1645)=48,92$ ,  $p<0,001$ , y la interacción de Periodos y Tratamiento  $F(188,1645)=1,64$ ,  $p<0,001$ . Un análisis monolateral de las cuentas  $\log_{10}$  de la actividad horizontal para un periodo de tiempo de 50-80 min (efecto depresor máximo) indicó un efecto significativo del tratamiento  $F(4,35)=6,01$ ,  $p=0,001$ , y las comparaciones planificadas (contraste a priori) frente al grupo del vehículo mostraron un efecto depresor significativo para 100 mg/kg ( $p_s < 0,05$  denotado en la Figura 6B con un asterisco).

Para caracterizar adicionalmente los efectos farmacológicos de estos compuestos, se llevó a cabo el ensayo de la batería conductual de Irwin.

El ensayo se produjo hacia el final del ciclo de luz entre las 8-11 a.m. (luces apagadas a la 11:00 a.m.). Los ratones se aclimataron a la sala de ensayo durante al menos 30 minutos. El equipo del ensayo de Irwin (temporizador, recipiente de visualización y soporte, terreno abierto, rejilla, regla, caja de resonancia, pilas de madera, una caja de kimwipes) se introdujeron en una cabina de flujo laminar. El ratón se colocó en primer lugar en el recipiente de visualización durante cinco (5) minutos y se puntuaron los siguientes parámetros:

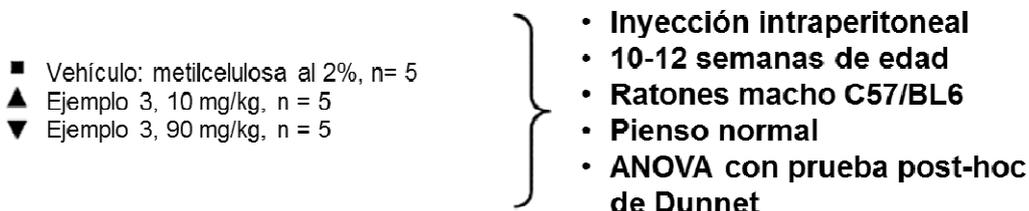
1. Aspecto general - calidad del pelaje, bigotes
2. Posición del cuerpo
3. Actividad espontánea
4. Velocidad de respiración
5. Temblores
6. Espasmos
7. Comportamiento extraño - comentarios
8. Convulsiones
9. Defecación, número de heces al final de la sesión

Al final del periodo de 5 minutos, el recipiente de visualización con el ratón en su interior se transfirió al terreno, donde el recipiente se desmontó y el ratón se liberó en el terreno. El ratón no fue manipulado por el experimentador. Se puntuaron los siguientes parámetros en el terreno en el siguiente orden:

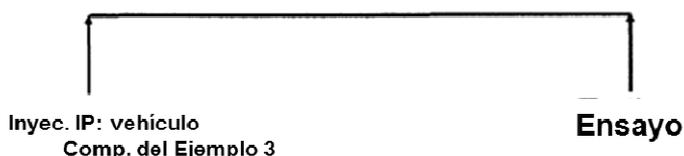
1. Transferencia de excitación - durante los 10 primeros segundos
2. Actividad locomotora - número de cuadrados pisados por los cuatro pies en 30 segundos
3. Cierre palpebral
4. Piloerección
5. Respuesta de sobresalto - 90 dB de sonido desde la caja de conexiones 30 cm por encima del terreno

6. Paso
  7. Elevación pélvica
  8. Elevación de la cola - durante el movimiento hacia delante
  9. Escape al tacto - golpe del dedo desde arriba
  - 5 10. Pellizco en la cola - con fórceps, 3 cm desde la base de la cola
  11. Temperatura corporal - hipotermia o hipertermia
  12. Pasividad posicional - respuesta de lucha a la manipulación secuencial por la cola, cuello, patas traseras, o retención en posición supina
- 10 A continuación, el ratón se cogió por la cola por encima del terreno para puntuar el siguiente conjunto de parámetros:
1. Giro del tronco
  2. Sujeción de la extremidad
  - 15 3. Colocación visual - extensión de las extremidades inferiores cuando el animal se hace descender cogido por la base de la cola desde una altura de 15 cm por encima de una rejilla de alambre
  4. Fuerza de prensión - el animal se hace descender y se le permite agarrar la rejilla; se aplica suavemente un tirón horizontal hacia atrás
  - 20 5. Tono corporal - los lados del ratón se comprimieron entre los dedos pulgar e índice
  6. reflejo en el pabellón auricular - el ratón se contuvo suavemente sobre la rejilla y la parte proximal del canto interno se tocó suavemente con la punta superior de la sonda de alambre fino; se observó cada retracción de la oreja
  7. Reflejo de la córnea - el ratón se contuvo suavemente sobre la rejilla y se tocó la córnea ligeramente con el lado de una sonda de alambre fino; Se observó una respuesta de parpadeo
  - 25 8. Pellizco del dedo de la pata - se comprimió suavemente el dedo medio de la pata trasera lateralmente con un fórceps fino. Las patas traseras se levantaron de la rejilla
  9. Maniobra del alambre - el ratón se mantuvo por encima del alambre mediante suspensión por la cola y se hizo descender para permitir para permitir que las extremidades anteriores sujetaran el alambre horizontal; el ratón se mantiene extendido y se hace girar alrededor del alambre horizontal y se libera
  - 30 A continuación se colocó el ratón en decúbito supino con restricción de movimiento para puntuar los parámetros siguientes en el siguiente orden:
1. Longitud del cuerpo - desde la punta de la nariz a la base de la cola (mm)
  - 35 2. Color de la piel - superficie plantar y dedos de las extremidades anteriores
  3. Frecuencia cardíaca- sentida por la palpación por debajo del esternón
  4. Tono de la extremidad - resistencia a la presión suave de la punta del dedo sobre la superficie plantar de la pata trasera izquierda/derecha
  6. Lagrimeo
  - 40 7. Reflejo de la pupila
  8. Salivación
  9. Mordedura provocada - varilla del pasador insertada suavemente entre el diente en el lado de la boca del animal
  10. Irritabilidad
  - 45 Los tres parámetros finales se puntuaron con el ratón por encima o sobre el terreno:
1. Reflejo de enderezamiento - se mantuvo el ratón por la cola y se curvó hacia atrás por el aire del aire de tal manera que lleva a cabo una voltereta hacia atrás cuando se libera; se observó la posición de aterrizaje
  - 50 2. Reflejo de enderezamiento por contacto - se colocó el ratón en un tubo de plástico y se volvió del revés
  3. Geotaxia negativa - el ratón se colocó sobre en una rejilla horizontal; la rejilla se levantó hasta ponerse vertical con el ratón orientado hacia el suelo; se observó el comportamiento durante 30 segundos
  - 55

## Diseño experimental de la batería conductual de Irwin



Observaciones iniciadas 5 min después de la inyección de vehículo/4Me



Los resultados del ensayo presentados en las Figuras 7A-7e demuestran que el compuesto del Ejemplo 3 indujo efectos conductuales significativos en la batería conductual de Irwin. La Figura 7A muestra los resultados sobre la actividad espontánea. La Figura 7B muestra los resultados la fuerza de prensión. La Figura 7C muestra los efectos de la administración del compuesto sobre el tono de la extremidad.

Se llevó a cabo también el ensayo de campo abierto. En la realización de esta prueba se utilizaron ratones de 8-12 semanas de edad machos y hembras alojados individualmente. Los ratones se mantuvieron en un ciclo L:D/12 p.m.: 12 a.m. en una instalación con barreras. El alimento y el agua estuvieron disponibles a voluntad. El ensayo se produjo hacia el final del ciclo de luz entre 6-12 a.m. Los ratones se aclimataron a la sala de ensayo durante al menos 30 minutos. El ensayo se llevó a cabo en un equipo de campo abierto hecho a medida. Cada cámara era un cuadrado de 50 por 50 cm. El experimento se registró y siguió mediante un sistema de seguimiento obtenido de Viewpoint.

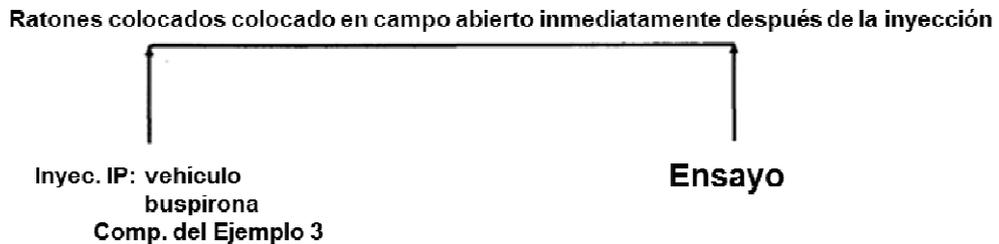
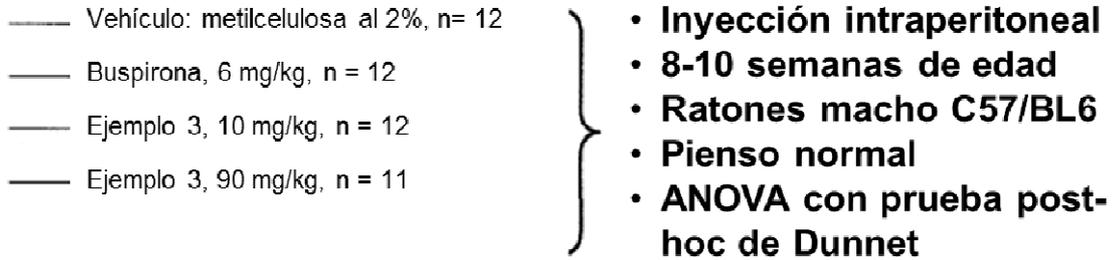
Se determinaron el tiempo y la longitud del recorrido en el centro del campo abierto. El centro del campo abierto se definió como un cuadrado de 13,5 x 13,5 cm en el centro geométrico del terreno. Se calculó el porcentaje de recorrido en el centro como

$$\frac{\text{Longitud del recorrido en el centro}}{\text{Longitud del recorrido total}} \times 100$$

Para cada ratón, se determinó la longitud total del recorrido y la longitud del recorrido durante 60 minutos a intervalos de 5 minutos como medida de la actividad locomotora. Además, se contaron las heces producidas por cada animal experimental durante el ensayo. Cada cámara se limpió entre el ensayo de ratones individuales.

Se analizó la longitud del recorrido durante 60 minutos a intervalos de 5 minutos mediante repetición de las medidas utilizando el software SPSS. El resto de parámetros se compararon usando la prueba de la t sin emparejar (GraphPad Prism).

## Diseño experimental para campo abierto



Los datos presentados en la Figura 8 demuestran que el compuesto del Ejemplo 3 es eficaz para reducir la actividad locomotora en un ensayo de campo abierto. En otro ensayo más, el mismo compuesto produjo efectos ansiolíticos demostrables. Véanse las Figuras 9A-9D.

Se llevó a cabo también el ensayo de supresión de la alimentación inducido por un entorno novedoso (NEIFS). Se usaron ratones macho de 8-12 semanas de edad alojados individualmente para este ensayo. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de l:D/12 p.m.: 12 a.m. inverso: en una instalación con barreras con alimento y agua disponibles a voluntad. El ensayo se produjo hacia el final del ciclo de luz entre 6-12 a.m. Los ratones se aclimataron a la sala de ensayo durante al menos 30 minutos.

En el día 1, 2, 3 y 5 (jaula de residencia): Una placa Petri que contenía galletas Graham trituradas se colocó en la esquina más alejada de cada ratón en su propia jaula de residencia. El tiempo hasta el acercamiento (definido como la nariz del ratón dirigida a/o 1 cm de la placa) y el consumo (alimentación, sin recogida) de galletas se registró inmediatamente después de la colocación de la placa en la jaula de residencia.

Día 4 (Entorno novedoso): El procedimiento seguido fue el mismo que se ha descrito para la jaula de residencia; sin embargo, en el día 4, el ratón se colocó en una nueva jaula con lecho (entorno novedoso) durante el experimento. Los ratones se devolvieron posteriormente a sus respectivas jaulas de residencia para el ensayo del día 5. Las galletas restantes y las placas Petri se dispusieron el final del experimento para cada ratón.

En un ensayo de supresión de la alimentación inducido por un entorno novedoso, el compuesto del Ejemplo 3 indujo efectos ansiolíticos medibles. Véase la Figura 10. De forma notable, el compuesto no tuvo efecto sobre el número de bolos fecales en el ensayo de campo abierto.

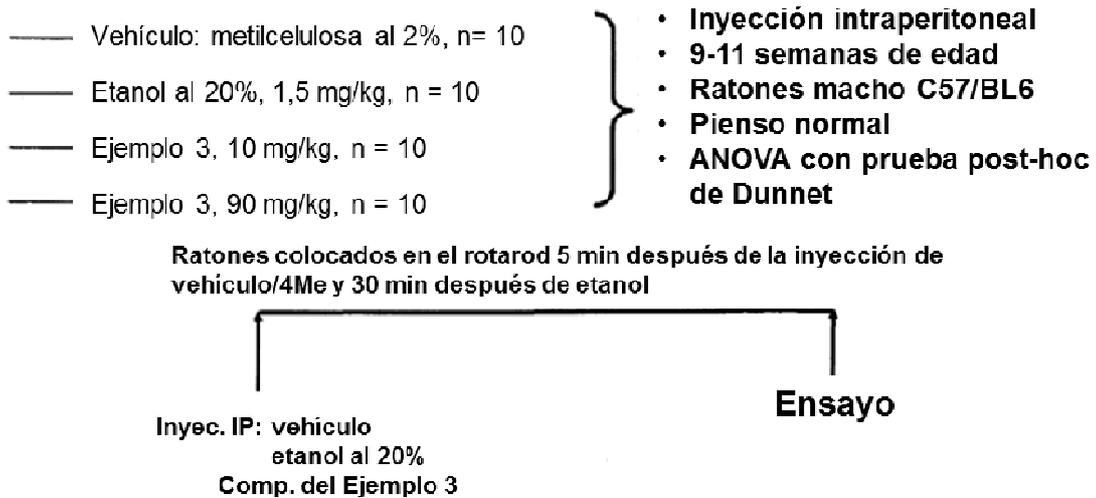
Se llevaron a cabo también ensayos Rotarod utilizando el protocolo experimental y el diseño que se muestra a continuación. Se usaron ratones macho de 8-12 semanas de edad alojados individualmente para este experimento. Los ratones se mantuvieron en un ciclo inverso de l:D/12 p.m.: 12 a.m. en una instalación con barreras con alimento y agua disponibles a voluntad. El ensayo se produjo hacia el final del ciclo de luz entre 6-12 a.m. Los ratones se aclimataron a la sala de ensayo durante al menos 30 minutos.

El ensayo se llevó a cabo usando cámaras de prueba EzRod mantenidas en una cabina laminar para el ensayo. Para el paradigma del rotarod en aceleración, los ratones se sometieron a diez pruebas, con una duración máxima de 3 minutos y un intervalo entre ensayos de 30 segundos (ITI). Cada ratón se colocó en las máquinas EzRod y se

registró la latencia hasta la caída para todos los ensayos. Si el ratón cayó o transcurrieron 3 minutos, el ratón se mantuvo en la parte inferior de la cámara de ensayo EzRod durante 30 segundos antes de comenzar el siguiente ensayo.

- 5 Se comparó la latencia hasta la caída entre los dos grupos mediante el análisis de la varianza (ANOVA) con medidas repetidas.

## Diseño experimental para rotarod



- 10 Los datos presentados en la Figura 11 revelan que el compuesto del Ejemplo 3 no afecta el comportamiento del rotarod.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en un método para tratar o retrasar la progresión de los trastornos aliviados mediante la inhibición de la recaptación de la dopamina en un paciente, en donde el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en N-fenilcarbamoil-3-(*p*-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina; y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.
2. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión de trastornos aliviados mediante la inhibición de la recaptación de la dopamina en un paciente, en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en N-fenilcarbamoil-3-(*p*-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina; y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.
3. El compuesto para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicha dolencia o patología se seleccionan entre el grupo que consiste en dolencias pulmonares; lesión de isquemia por reperfusión; dolencias cardíacas; hiperprolactinemia (BrE) o hiperprolactinemia (AmE) y microprolactinoma; dolor; trastornos del movimiento; estrés, trastorno por estrés posttraumático crónico, trastornos de la ansiedad, trastornos obsesivos-compulsivos, depresión postparto; esquizofrenia, trastorno maniaco, bipolar y afectivo; trastornos de la función ejecutiva; dependencia de cocaína, dependencia de anfetaminas, alcoholismo, comportamiento adictivo; trastornos reguladores neuroendocrinos; dolencias inflamatorias, enfermedades autoinmunes y reumatismo; trastornos neoplásicos; trastornos sensoriales visuales, deficiencia de color; y disfunción sexual eyaculadora y disfunción sexual relacionada.
4. El compuesto para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el compuesto administrado es N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina.
5. El compuesto para su uso en un método de tratamiento o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:
- (a) dicho al menos un compuesto se administra, opcionalmente junto con al menos otro agente terapéutico, para el tratamiento de la dependencia de cocaína, trastorno por déficit de atención, depresión, esquizofrenia, narcolepsia, obesidad o enfermedad de Parkinson; o
  - (b) dicho compuesto y dicho otro agente terapéutico opcional se administran para el tratamiento de la adicción de cocaína; o
  - (c) dicho compuesto y dicho otro agente terapéutico opcional se administran para el tratamiento del trastorno por déficit de atención.
6. El compuesto para su uso en un método de tratamiento o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho compuesto se administra en una forma farmacéutica unitaria, conteniendo dicha unidad de dosificación de 0,01 a 200 mg de dicho compuesto por kilogramo de peso corporal del paciente y por día.
7. El compuesto para su uso en un método de tratamiento o el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicha unidad de dosificación incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. El compuesto para su uso en un método de tratamiento o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho compuesto se administra por vía oral o parenteral.
9. El compuesto para su uso en un método de tratamiento o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicho al menos un compuesto se administra junto, bien simultánea o bien secuencialmente, con al menos un agente terapéutico adicional seleccionado entre el grupo de L-dopa para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson; un inhibidor selectivo de la recaptación de la serotonina para el tratamiento de la depresión y/o la drogodependencia y la adicción a cocaína; un antagonista de la dopamina D2 para el tratamiento de la esquizofrenia; y un modulador colinérgico para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer u otras enfermedades o dolencias en las cuales los pacientes tienen un déficit cognitivo.
10. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en N-fenilcarbamoil-3-(*p*-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina; y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.
11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el compuesto es N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina.
12. Una composición farmacéutica para tratar o retrasar la progresión de los trastornos aliviados mediante la inhibición de la recaptación de la dopamina, comprendiendo dicha composición un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 11, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Una composición de acuerdo con la reivindicación 12, en donde:

- (a) la composición está en forma sólida, comprendiendo también un excipiente farmacéuticamente aceptable; o
- (b) la composición está en forma líquida, comprendiendo también un diluyente farmacéuticamente aceptable; o
- 5 (c) la composición está en una forma farmacéutica unitaria; y/o
- (d) la composición comprende además al menos un inhibidor selectivo de la recaptación de la serotonina.

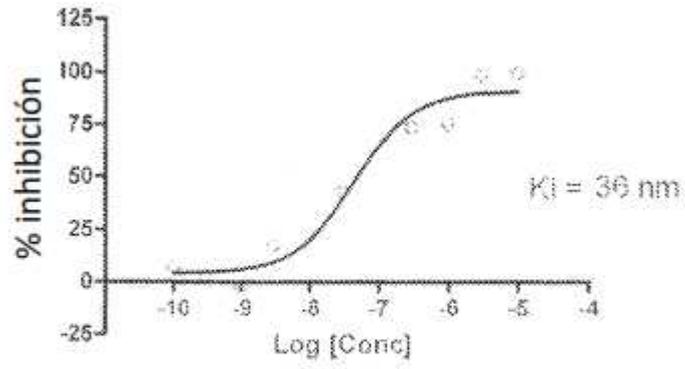
14. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13(c) en una forma farmacéutica unitaria.

10 15. Un compuesto para su uso en un método para tratar una dolencia o una patología que se alivian modulando la actividad de recaptación de la dopamina y aumentando por tanto las funciones dopaminérgicas, en donde dicho método comprende administrar a un paciente que tiene dichas dolencia o patología una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en N-fenilcarbamoil-3-(*p*-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina; y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.

15 16. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para tratar una dolencia o una patología que se alivian modulando la actividad de recaptación de la dopamina y aumentando por tanto las funciones dopaminérgicas, en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en N-fenilcarbamoil-3-(*p*-metil-bencil)-sidnonimina y N-fenilcarbamoil-3-(fenilpropil)-sidnonimina; y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.

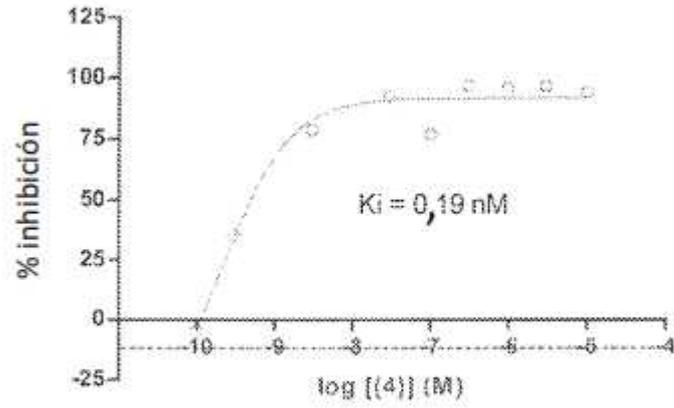
20

3-(bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoílo



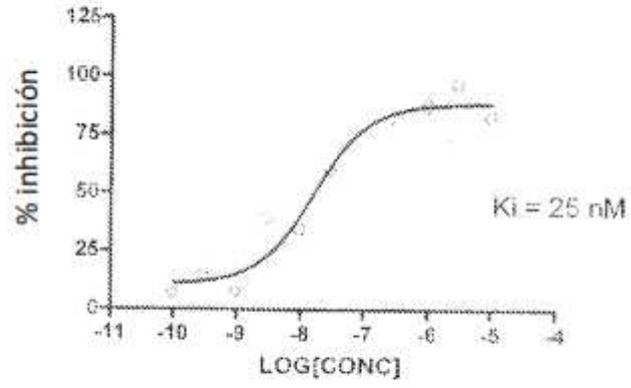
**FIGURA 1(a)**

3-(p-metil-bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo (4)  
Inhibición  
de [<sup>3</sup>H]-WIN35.428  
Unión a DATHr



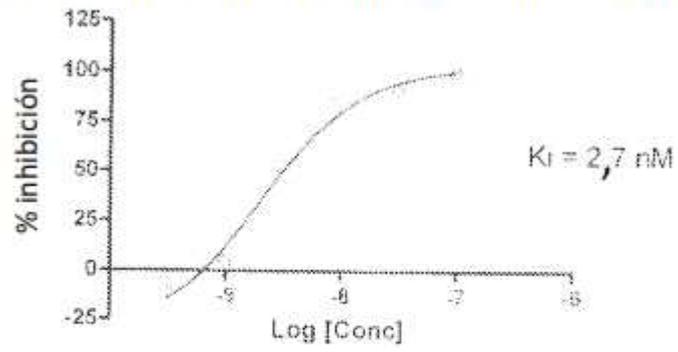
**FIGURA 1(b)**

3-(fenilpropil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo



**FIGURA 1(c)**

3-(p-carboxibencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo



**FIGURA 1(d)**

3-(p-fluoro-bencil)-sidnonimina-N-fenilcarbamoilo (7)  
Inhibición  
de [<sup>3</sup>H]-WIN35.428  
Unión a DATHr

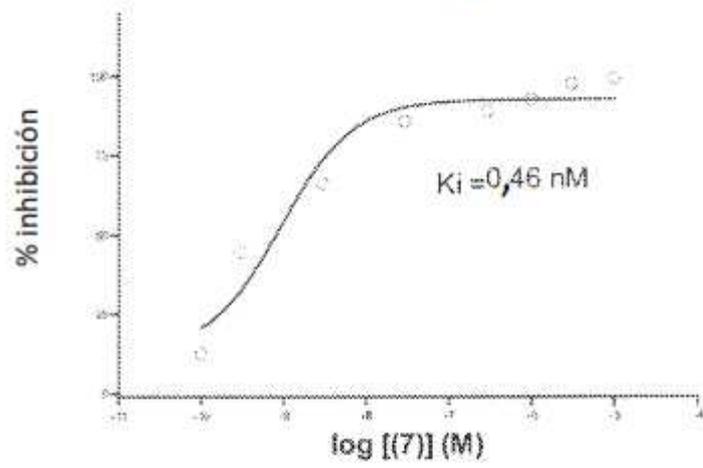
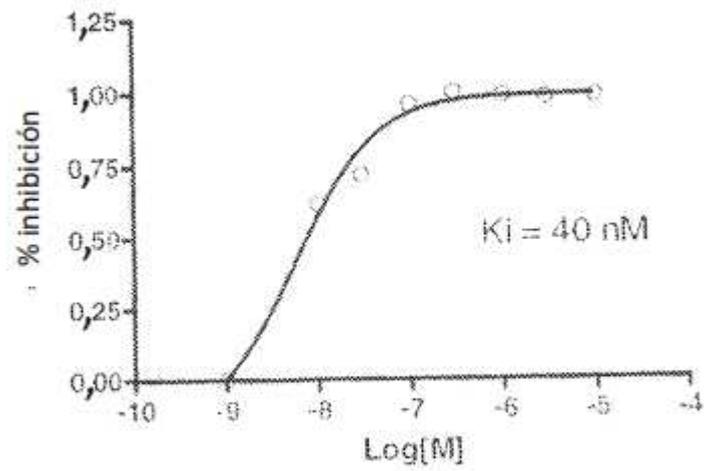


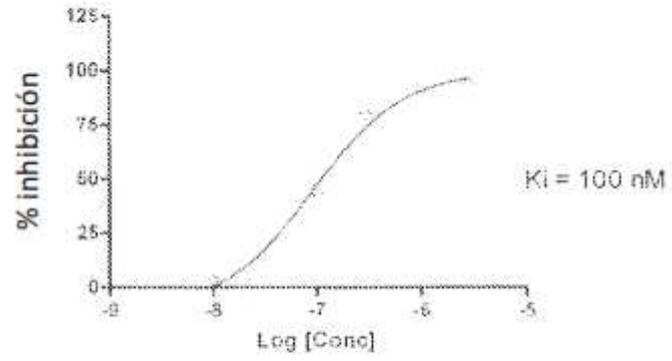
FIGURA 1(e)

N-(3',4'-dicloro-fenilcarbamil) 3-fenetil-sidnonimina  
Inhibición de [<sup>3</sup>H]-WIN35.428  
Unión a DATHr<sub>10</sub>

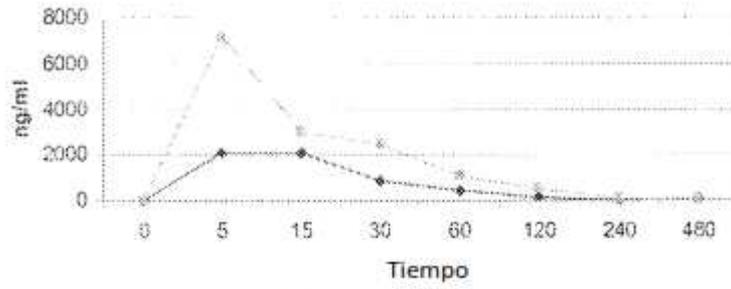


**FIGURA 1(f)**

3-(p-nitrofenetil)-sidnonimina-N-(3',4'-dinitro-fenilo)

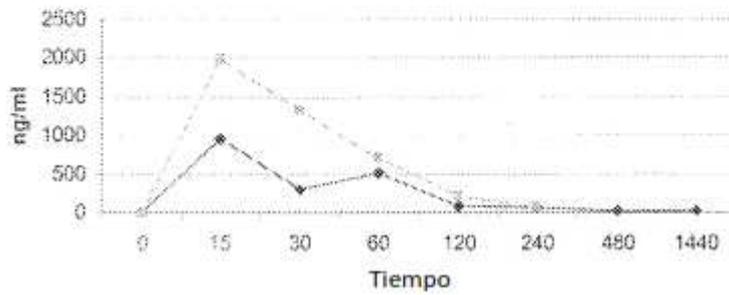


**FIGURA 1(g)**



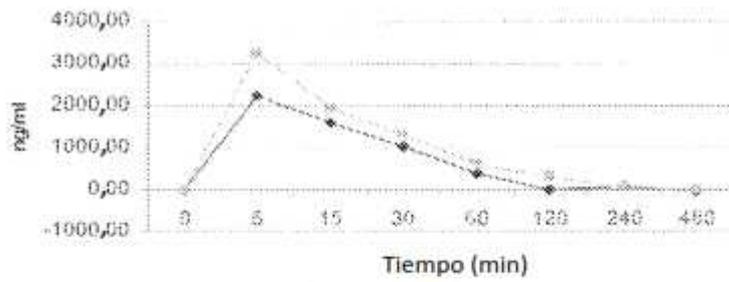
**Figura 2A**

10mg/kg IP plasma



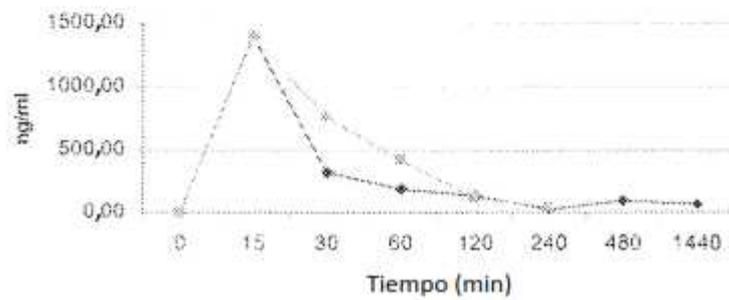
**Figura 2B**

10mg/kg IV cerebro

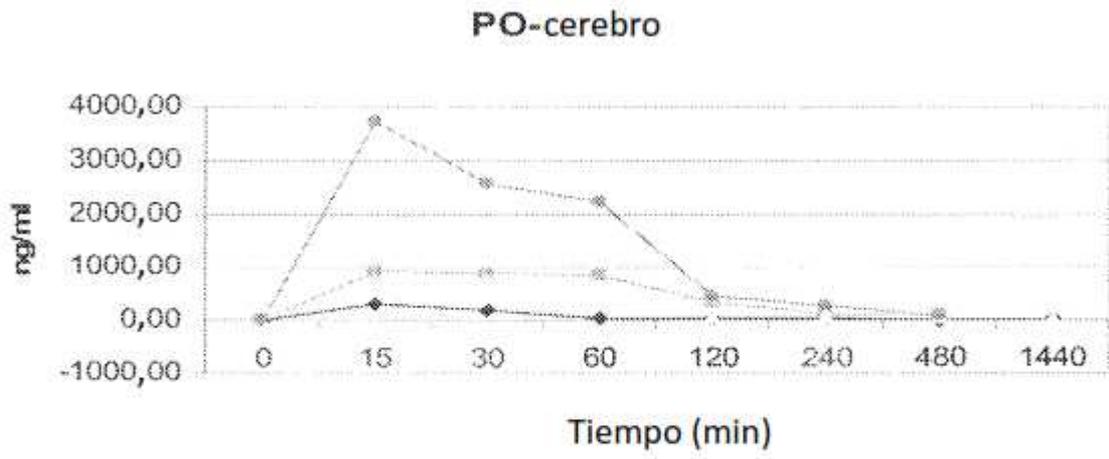


**Figura 2C**

10mg/kg IP cerebro



**Figura 2D**



**Figura 3**

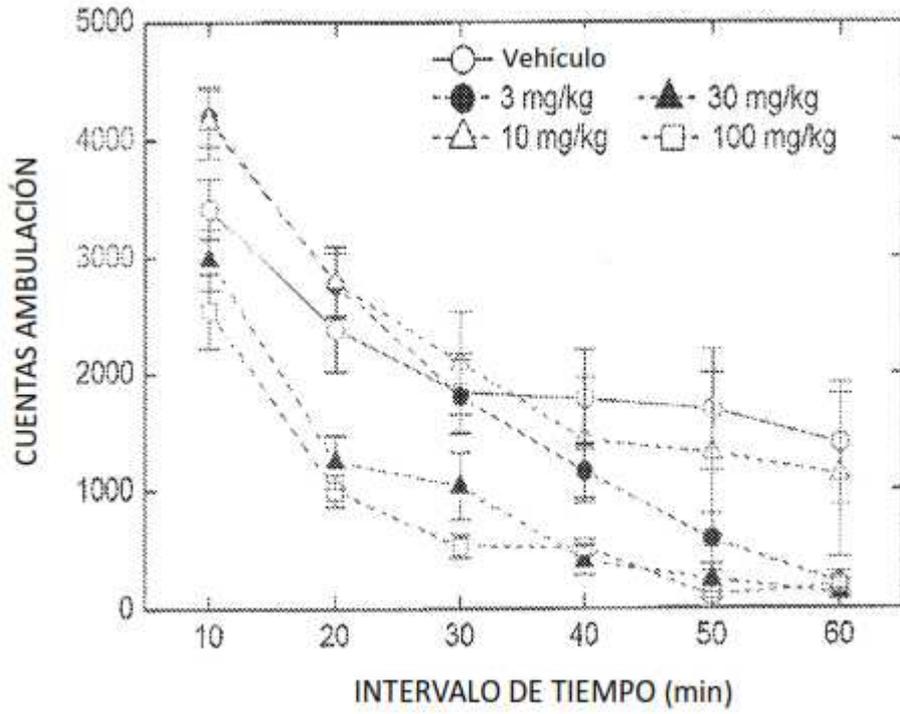


Figura 4A

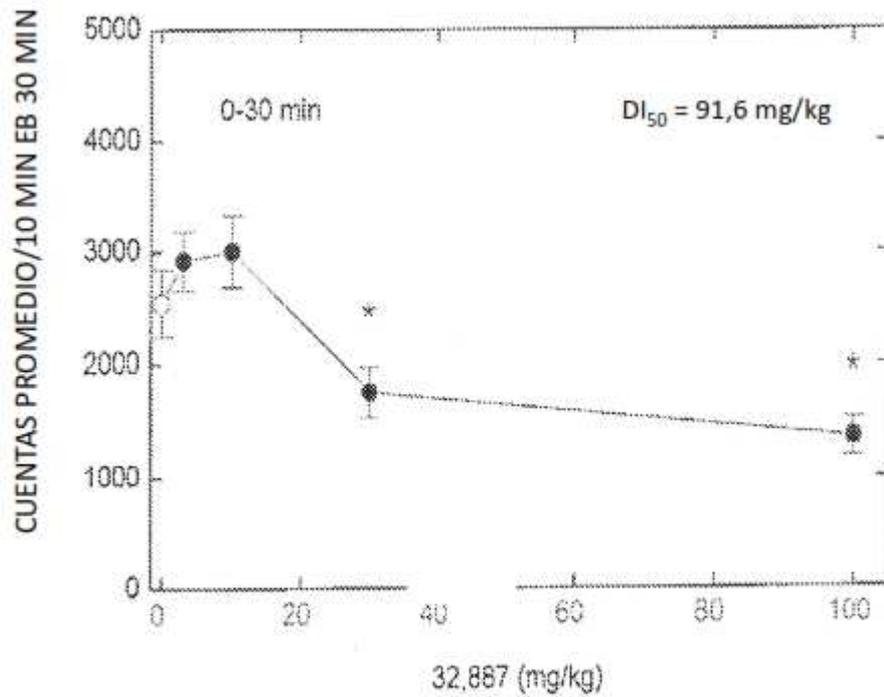


Figura 4B

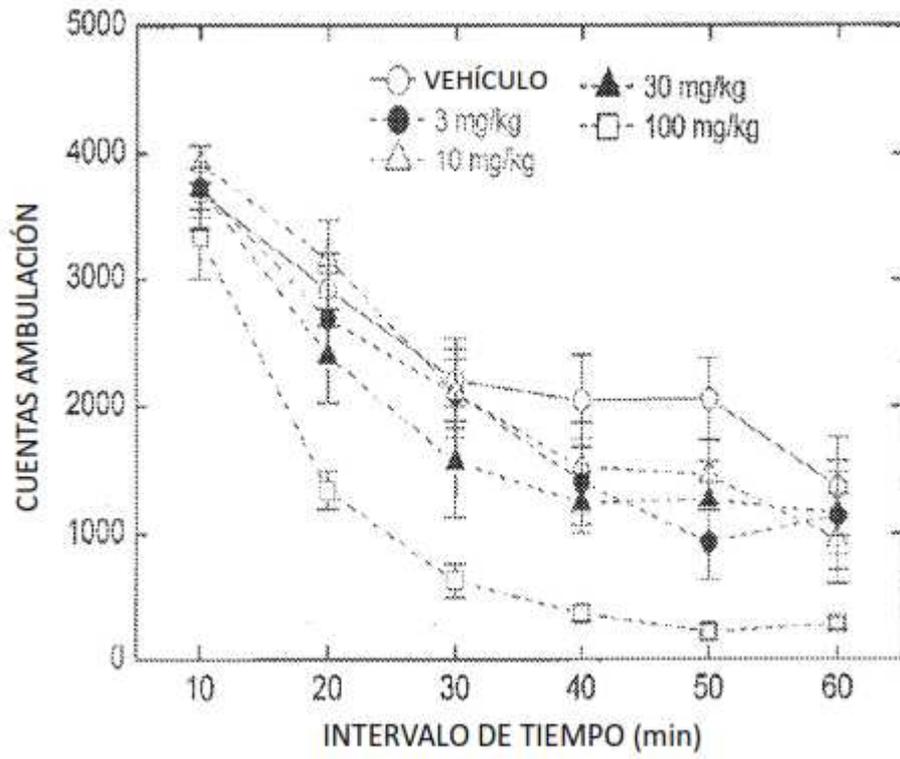


Figura 5A

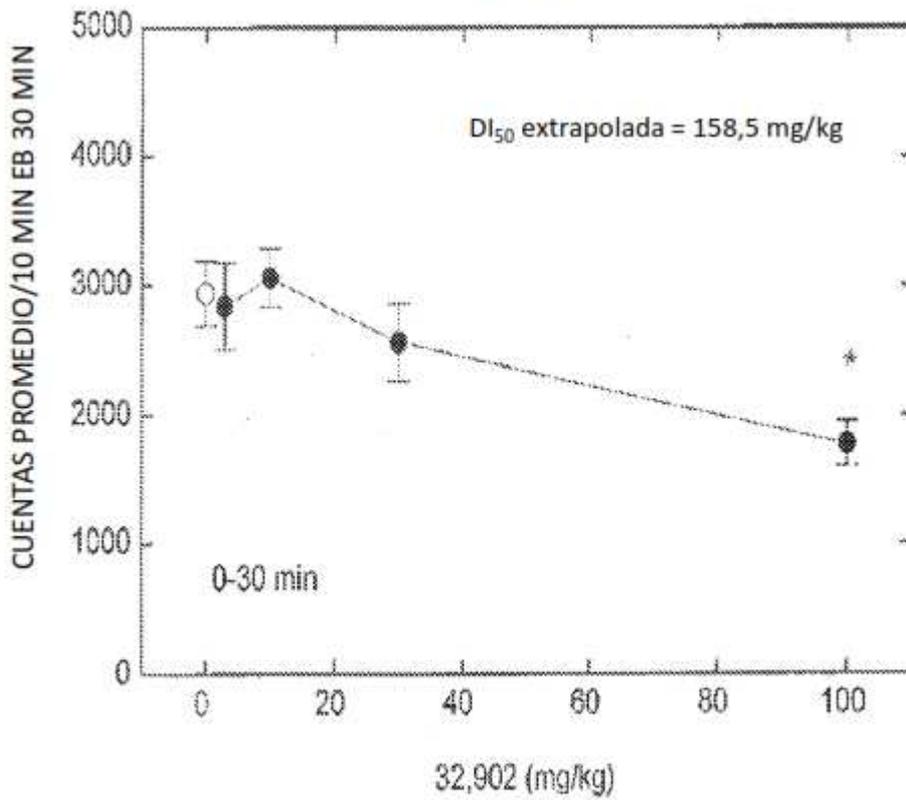


Figura 5B

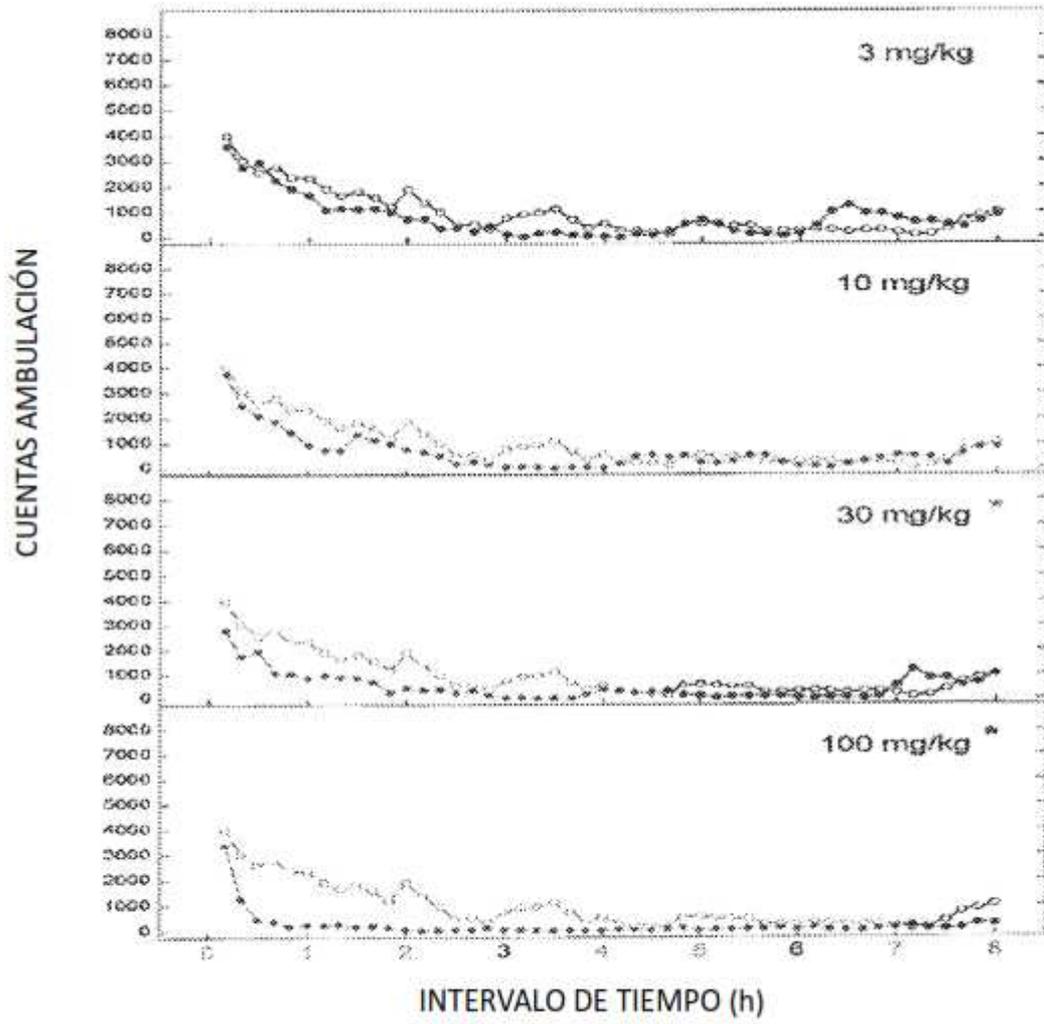


Figura 6A

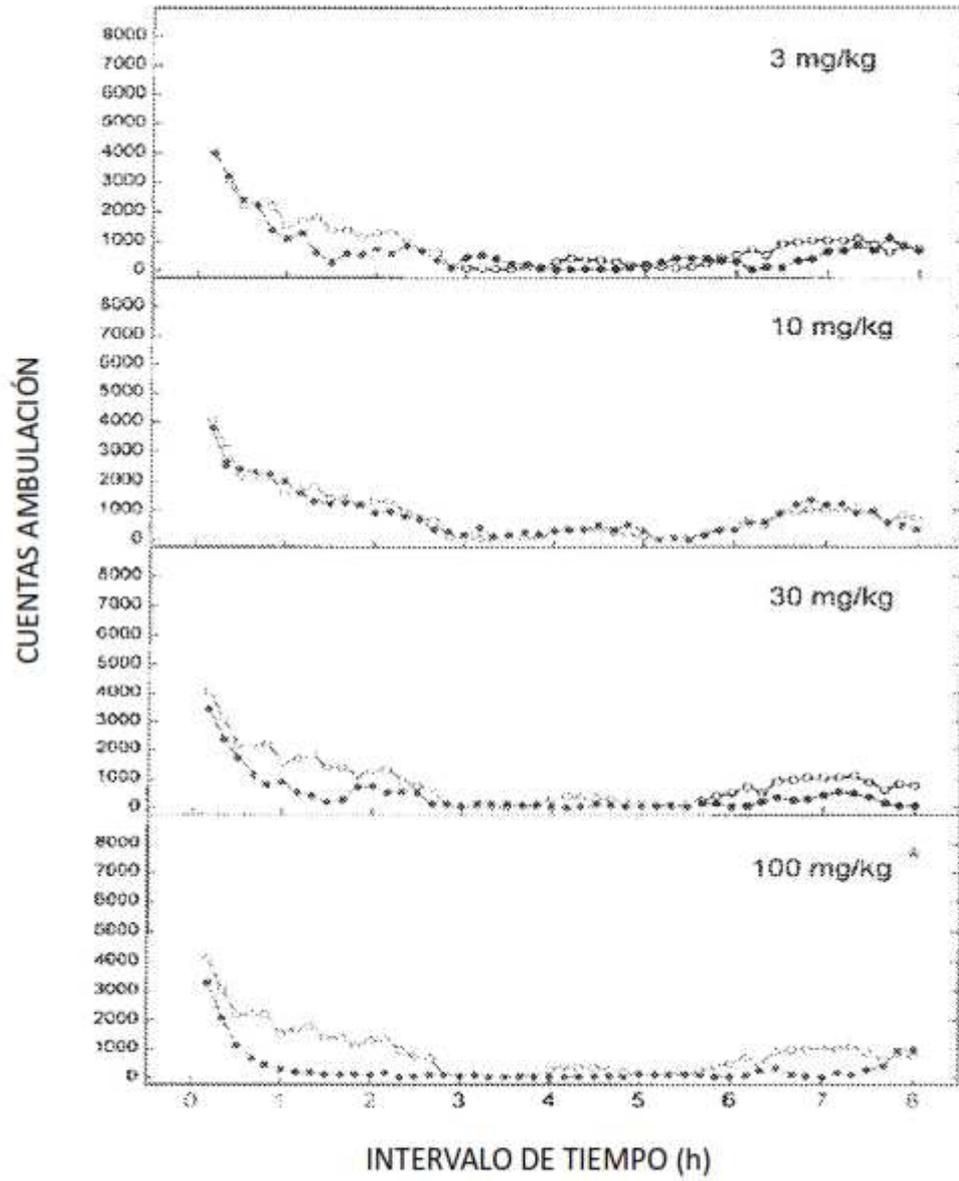
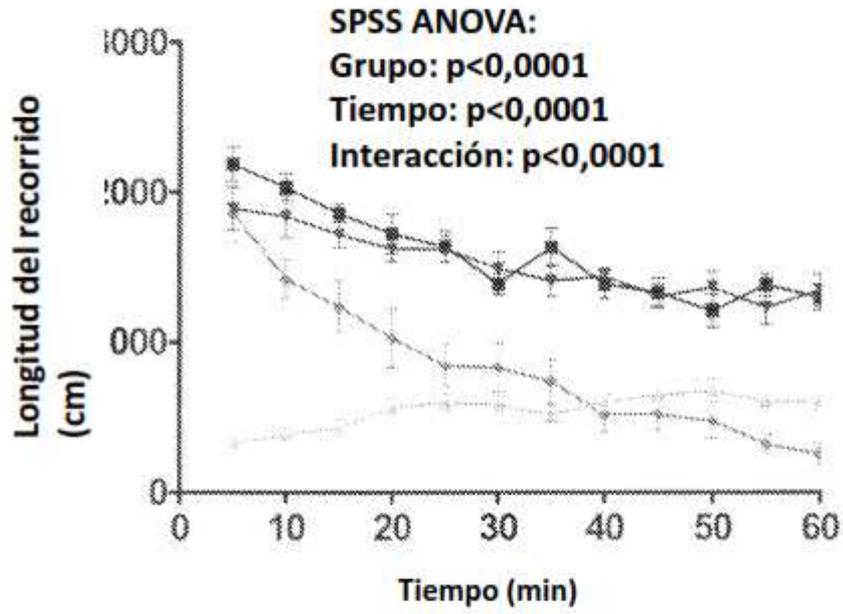


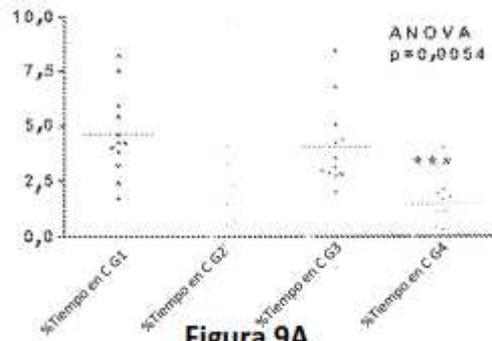
Figura 6B



**Longitud de recorrido en contenedores durante 5 min**

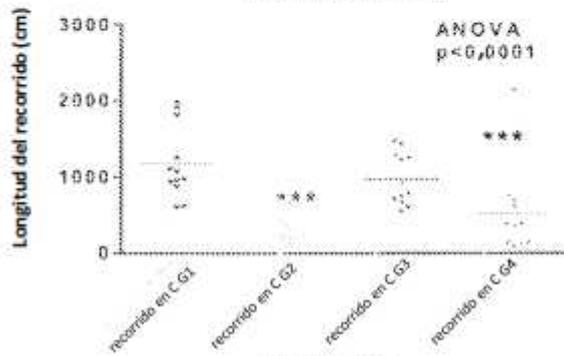


**Figura 8**



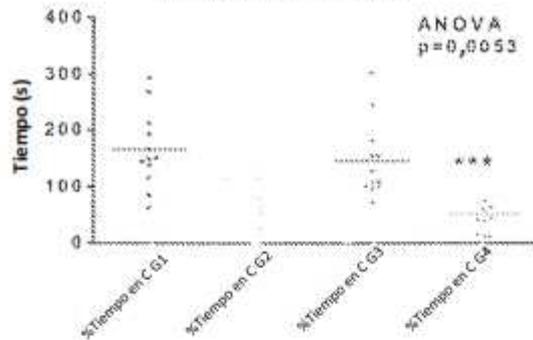
**Figura 9A**

recorrido en el centro



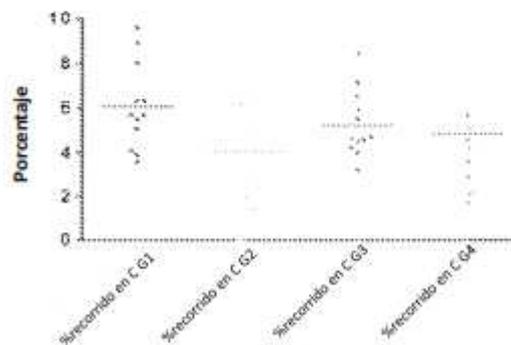
**Figura 9B**

Tiempo pasado en el centro



**Figura 9C**

Porcentaje de recorrido en el centro



**Figura 9D**

### Comparación de la latencia hasta el consumo

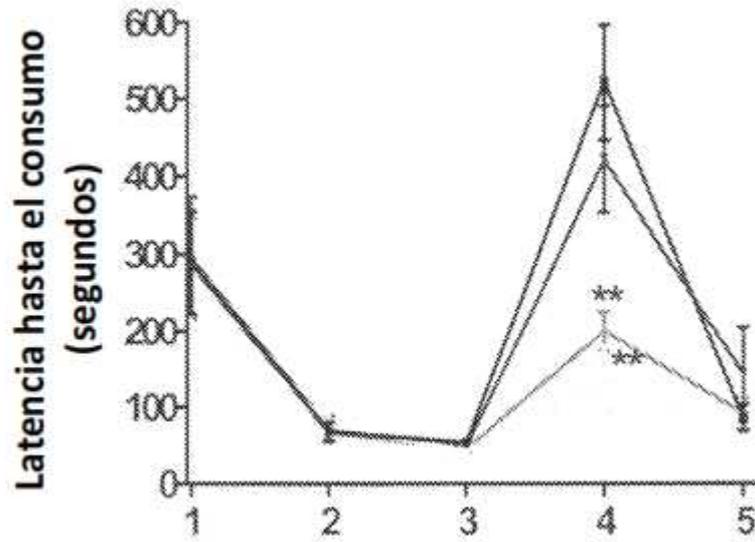
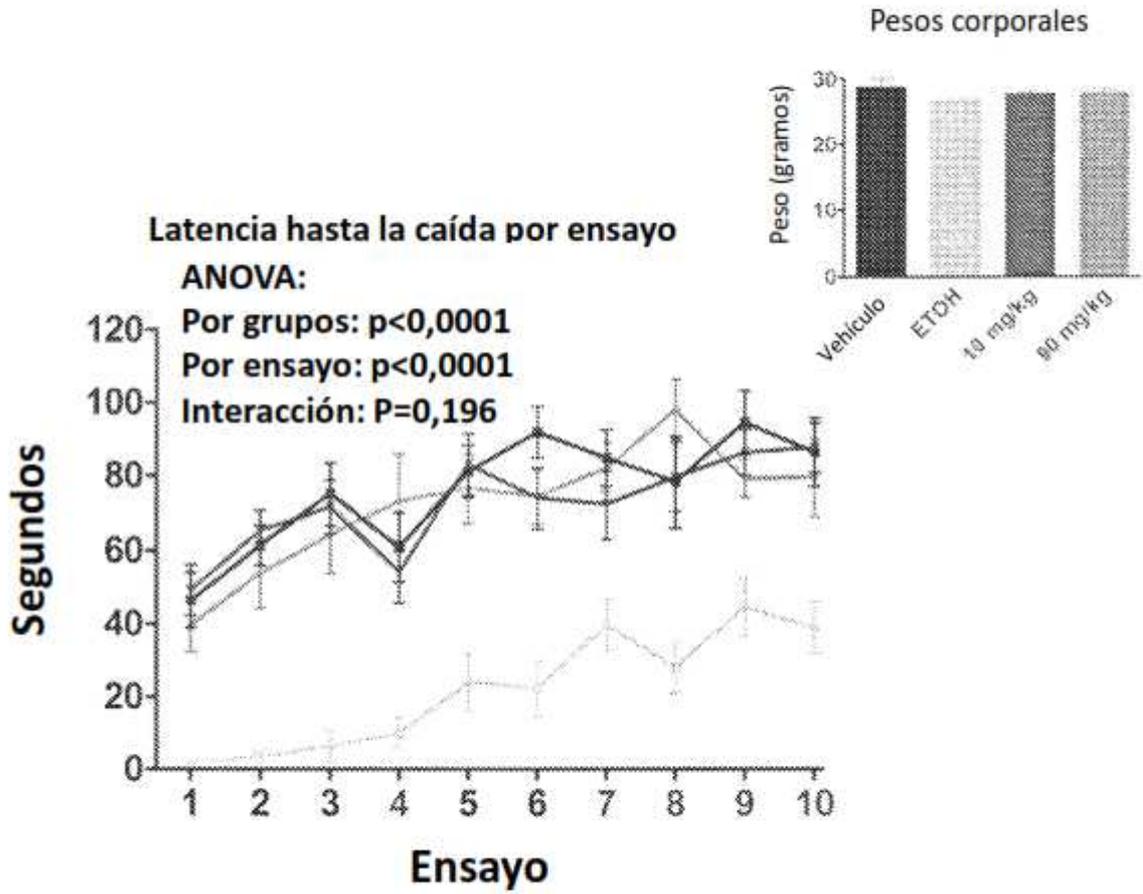


Figura 10



**Figura 11**