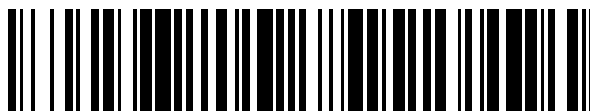


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 591 110**

51 Int. Cl.:

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2008** **E 11193237 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016** **EP 2431039**

54 Título: **Usos terapéuticos de compuestos que tienen actividad SERT, 5-HT3 y 5-HT1A combinada**

30 Prioridad:

13.11.2007 DK 200701607

13.11.2007 US 987710 P

14.12.2007 DK 200701788

14.12.2007 US 13722 P

17.09.2008 DK 200801300

17.09.2008 US 97840 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.11.2016

73 Titular/es:

H. LUNDBECK A/S (50.0%)

Ottiliavej 9

2500 Valby, DK y

TAKEDA PHARMACEUTICALS U.S.A., INC.

(50.0%)

72 Inventor/es:

MOORE, NICHOLAS;

DRAGHEIM, MARIANNE;

BATRA, ANEIL y

CHON, JIN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 591 110 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

Usos terapéuticos de compuestos que tienen actividad SERT, 5-HT₃ y 5-HT_{1A} combinada

Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso terapéutico de compuestos que tienen una actividad SERT, 5-HT₃ y 5-HT_{1A} combinada.

Antecedentes de la invención

Los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) han recibido durante años el apoyo de los médicos para el tratamiento de muchas enfermedades del SNC, tales como la depresión y la ansiedad debido a que son eficaces y tienen un perfil de seguridad que es favorable en comparación con la generación anterior de fármacos para el SNC, esto es los denominados tricíclicos. Sin embargo, los SSRI también han sido obstaculizados por una fracción significativa de no respondedores, esto es, pacientes que no responden o no responden completamente al tratamiento. Por otra parte, típicamente un SSRI no empieza a mostrar efecto hasta después de semanas de tratamiento. Finalmente, aunque los SSRI típicamente dan lugar a menos efectos adversos que los tricíclicos, la administración de SSRI ocasiona a menudo efectos adversos, tales como efectos secundarios sexuales y problemas de sueño. Para muchos pacientes resulta difícil vivir con estos efectos adversos que ocasionan abandonos del tratamiento para una fracción significativa de los pacientes que reciben los SSRI.

Se sabe que una combinación de la inhibición del transportador de serotonina (SERT) con una actividad sobre uno o más receptores de serotonina puede resultar beneficiosa. Se ha informado de que la combinación de pindolol, que es un agonista parcial de 5-HT_{1A}, con un inhibidor de la recaptación de serotonina da lugar a un rápido comienzo del efecto [Psych. Res., 125,81-86, 2004]. Esto implicaría un comienzo más corto del efecto del aumento de los niveles de serotonina en medicina clínica y un aumento o potenciación del efecto terapéutico del inhibidor de la recaptación de serotonina.

Las enfermedades relacionadas con el SNC, tales como p. ej. depresión, ansiedad y esquizofrenia son a menudo co-mórbidas con otros trastornos o disfuncionalidades, tales como déficits o deterioros cognitivos [Scand. J. Psych., 43, 239-251, 2002; Am. J. Psych., 158, 1722-1725, 2001].

Se presume que varios neurotransmisores están implicados en los eventos neuronales que regulan la cognición. En particular, el sistema colinérgico juega un papel prominente en la cognición, y los compuestos que afectan al sistema colinérgico son de ese modo potencialmente útiles para el tratamiento del deterioro cognitivo. Los compuestos que afectan al receptor 5-HT_{1A} y/o al receptor 5-HT₃ son conocidos por afectar al sistema colinérgico, y como tales pueden ser útiles en el tratamiento del deterioro cognitivo.

Por lo tanto, se esperaría que un compuesto que ejerciera actividad de receptor 5-HT_{1A} y/o 5-HT₃ fuera útil en el tratamiento del deterioro cognitivo. Un compuesto que por otra parte también ejerciera actividad SERT sería particularmente útil para el tratamiento del deterioro cognitivo en pacientes que también padecieran estas enfermedades que se beneficiarían de un incremento (más rápido) de los niveles de serotonina.

La solicitud internacional publicada como WO 03/029232 describe una gama de compuestos incluyendo la 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina (ejemplo 1e) que tiene actividad inhibidora de la recaptación de serotonina.

La solicitud internacional WO 2007/144005 que se ha publicado después de la fecha de prioridad de la presente solicitud describe que la 1-[2-(2,4-dimetilfenil-sulfanil)fenil]piperazina también es un antagonista de 5-HT₃ y un agonista parcial de 5-HT_{1A}.

Am J Psych, 164, 900-909 describe que la duloxetina SNRI proporciona efectos precognitivos en pacientes deprimidos.

La solicitud de patente de EE.UU publicada como US2006/019938 describe que la fluoxetina SSRI se puede usar para tratar la discapacidad cognitiva en pacientes deprimidos con pseudo-demencia.

Br Med J, 331, 321-327, 2005 describe que el inhibidor de acetilcolinaesterasa donepezilo se usa ampliamente como fármaco anti demencia.

Compendio de la invención

Los autores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que la 1-[2-(2,4-dimetilfenil-sulfanil)fenil]piperazina ejerce una combinación de inhibición del SERT, antagonismo de 5-HT₃ y agonismo de 5-HT_{1A}. Por lo tanto, la invención proporciona un método para el tratamiento de enfermedades, comprendiendo el método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]-piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un paciente que lo necesite.

En una realización, la invención se refiere al uso de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades.

5 En una realización, la invención proporciona 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso en el tratamiento de enfermedades.

Figuras

Figura 1: XRPD de la base cristalina

Figura 2: XRPD de la forma alfa de la sal hidrobromuro

Figura 3: XRPD de la forma beta de la sal hidrobromuro

10 Figura 4: XRPD de la forma gamma de la sal hidrobromuro

Figura 5: XRPD del hemihidrato de la sal hidrobromuro

Figura 6: Cambio en el apartado 4 de clasificación HAM-D (Insomnio Temprano) para placebo, 5 mg y 10 mg de compuesto I (sal HBr) a lo largo de 6 semanas. Había aproximadamente 100 pacientes en cada grupo

15 Figura 7: Cambio en el apartado 5 de clasificación HAM-D (Insomnio Medio) para placebo, 5 mg y 10 mg de compuesto I (sal HBr) a lo largo de 6 semanas. Había aproximadamente 100 pacientes en cada grupo

Figura 8: Cambio en el apartado 6 de clasificación HAM-D (Insomnio Tardío) para placebo, 5 mg y 10 mg de compuesto I (sal HBr) a lo largo de 6 semanas. Había aproximadamente 100 pacientes en cada grupo

20 Figura 9: Efecto del compuesto I en el ensayo de formalina intradérmica. El eje X muestra la cantidad de compuesto administrada; el eje Y muestra la cantidad de tiempo (seg.) empleado en lamer la pata. Figura 9a: Respuesta en el período de 0-5 minutos; Figura 9b: Respuesta en el período de 20-30 minutos.

Figura 10a: Niveles de acetilcolina extracelular en el córtex prefrontal en ratas que se mueven libremente tras la administración de sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

25 Figura 10b: Niveles de acetilcolina extracelular en el hipocampo ventral en ratas que se mueven libremente tras la administración de sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

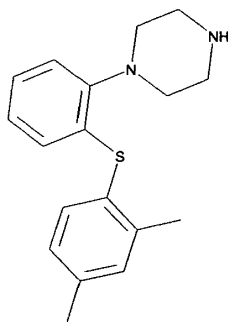
Figura 11: Efecto de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en el condicionamiento por miedo contextual en ratas Sprague-Dawley cuando se administra 60 minutos antes de la adquisición. El comportamiento de paralización se puntuó durante un período de habituación de 58 seg antes de la descarga en la pata ENC (adquisición pre-descarga) (*barras blancas*). El comportamiento de paralización se midió 24 h después del adiestramiento (ensayo de retención) (*barras negras*).

Figura 12: Efecto de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina sobre el condicionamiento de miedo contextual en ratas Sprague-Dawley cuando se administra 1 h antes del ensayo de retención. El comportamiento de paralización se puntuó durante 58 seg, antes de la descarga en la pata ENC (adquisición) (*barras blancas*). El comportamiento de paralización se midió 24 h después del adiestramiento (ensayo de retención) (*barras negras*).

Figura 13: Efecto de la sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina sobre el condicionamiento de miedo contextual en ratas Sprague-Dawley cuando se administra inmediatamente después de la adquisición. El comportamiento de paralización se puntuó durante 58 seg, antes de la descarga en la pata ENC (adquisición pre-descarga) (*barras blancas*). El comportamiento de paralización se midió 24 h después del adiestramiento (ensayo de retención) (*barras negras*).

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere al uso del compuesto I, esto es 1-[2-(2,4-dimetilfenil-sulfanil)fenil]piperazina, cuya estructura es



y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una realización, dichas sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido de ácidos que no son tóxicos. Dichas sales incluyen sales elaboradas a partir de ácidos orgánicos, tales como maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, oxálico, bis-metilensalicílico, metanosulfónico, etanodisulfónico, acético, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, málico, mandélico, cinámico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, itacónico, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, ácidos teofilinacéticos, así como 8-haloteofilinas, por ejemplo 8-bromoteofilina. Dichas sales también se pueden elaborar a partir de sales inorgánicas, tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico y nítrico. Se hace una mención particular de las sales elaboradas a partir de ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido meso-tartárico, ácido (+)-tartárico, ácido (-)-tartárico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosforoso y ácido nítrico. Se hace una mención clara de la sal hidrobromuro.

En una realización, la invención se refiere al uso del compuesto I como se ha descrito previamente siempre que dicho compuesto no sea la base libre de 1-[2-(2,4-dimetilfenil-sulfanil)fenil]piperazina en una forma no cristalina.

Las formas de dosificación oral, y en particular los comprimidos, son a menudo preferidos por los pacientes y el médico debido a la facilidad de administración y a la consiguiente mejor conformidad. Para los comprimidos, es preferible que los ingredientes activos sean cristalinos. En una realización, la invención se refiere al uso de compuestos que son cristalinos. La cristalinidad de los compuestos utilizados en la presente invención es evidenciada por las XRPD mostradas en las figuras 1-5. En el documento WO 2007/144005 se describen reflexiones por XRPD de otras sales utilizadas en la presente invención. La siguiente tabla resume las principales reflexiones de XRPD de algunos compuestos utilizados en la presente invención.

Posiciones pico de rayos X seleccionadas (2θ), Todos los valores $\pm 0,1^\circ$

Base cristalina	11,10	16,88	17,42	22,23
-hidrobromuro (α)	5,85	9,30	17,49	18,58
-hidrobromuro (β)	6,89	9,73	13,78	14,62
-hidrobromuro (γ)	11,82	16,01	17,22	18,84
-hidrobromuro (hidrato)	10,69	11,66	15,40	17,86

En una realización los cristales utilizados en la presente invención son solvatos, esto es cristales en los que las moléculas de disolvente forman parte de la estructura del cristal. El solvato se puede formar a partir de agua, en cuyo caso los solvatos son referidos a menudo como hidratos. Alternativamente, los solvatos se pueden formar a partir de otros disolventes, tales como p. ej. etanol, acetona, o acetato de etilo. La cantidad exacta de solvato depende a menudo de las condiciones. Por ejemplo, los hidratos típicamente perderán agua a medida que aumente la temperatura o a medida que disminuya la humedad relativa.

En una realización, los compuestos de la presente invención son cristales no solvatados.

Algunos compuestos son higroscópicos, esto es, absorben agua cuando se exponen a humedad. La higroscopicidad se considera generalmente una propiedad no deseada para los compuestos que van a ser presentados en una formulación farmacéutica, en particular en una formulación seca, tal como comprimidos. En una realización, la invención proporciona cristales con una baja higroscopicidad. Para las formas de dosificación orales que utilizan ingredientes activos cristalinos también resulta beneficioso que dichos cristales estén bien definidos. En el presente

contexto, el término "bien definido" en concreto significa que la estequiometría está bien definida, esto es, que la razón entre los iones que forman la sal es la razón entre números enteros pequeños, tal como 1:1, 1:2, 2:1, 1:1:1, etc. En una realización, los compuestos de la presente invención son cristales bien definidos.

Los compuestos cristalinos utilizados en la presente invención pueden existir en más de una forma, esto es pueden existir en formas polimórficas. Las formas polimórficas existen si un compuesto puede cristalizar en más de una forma. Se pretende que la presente invención incluya todas estas formas polimórficas, ya sea como compuestos puros o como mezclas de los mismos.

En una realización, la presente invención utiliza compuestos en una forma purificada. Se pretende que el término "forma purificada" indique que el compuesto está esencialmente libre de otros compuestos o de otras formas del mismo compuesto, según sea el caso.

Como se evidencia p. ej. en las figuras 2-5, los compuestos utilizados en la presente invención, en su caso la sal hidrobromuro, puede existir en varias formas, esto es ser polimórficos. Las formas polimórficas tienen diferentes propiedades, y se muestran en el ejemplo 2. La forma beta de la sal hidrobromuro es la más estable como se demuestra por el punto de fusión DSC superior y la solubilidad inferior. Por otra parte, la forma beta tiene una combinación atractiva de baja higroscopicidad y solubilidad, que hace este compuesto particularmente adecuado para elaborar comprimidos. Por consiguiente, en una realización, la invención proporciona el uso de la sal hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina con reflexiones de XRPD a aproximadamente 6,89, 9,73, 13,78 y 14,62 ($^{\circ}2\theta$), y en particular con una XRPD mostrada en la figura 3.

La solubilidad de un ingrediente activo también tiene trascendencia para la elección de la forma de dosificación ya que puede tener un impacto directo sobre la bio-disponibilidad. Para las formas de dosificación orales, se cree generalmente que una solubilidad superior del ingrediente activo es beneficiosa ya que incrementa la bio-disponibilidad.

Como se muestra en el ejemplo 1, los compuestos utilizados en la presente invención son potentes inhibidores del transportador de serotonina humano, esto es, inhiben la recaptación de serotonina. Por otra parte, los compuestos son potentes antagonistas en el receptor 5-HT₃ de ratón, rata, cobaya y canino. En el receptor 5-HT₃ humano, clonado en oocitos, se encontró que los compuestos eran antagonistas a bajas concentraciones (CI₅₀ aprox. 20 nM), mientras a concentraciones superiores los compuestos presentan propiedades agonísticas (DE₅₀ = 2,1 μ M). Una aplicación posterior de los compuestos de la presente invención a una concentración elevada no mostró ninguna respuesta agonística, lo que podría estar debido a la rápida desensibilización o al antagonismo directo *in vitro*. De este modo, a bajas concentraciones los compuestos de la presente invención presentan un antagonismo marcado en el receptor 5-HT₃ humano como se observa sobre el receptor 5-HT₃ de otras especies. Los datos también demuestran que los compuestos utilizados en la presente invención son agonistas en el receptor 5-HT_{1A} con un valor K_i de 15 nM y una actividad intrínseca (o eficacia) del 96%. En el documento WO 2007/144005 se describen valores ligeramente diferentes. Se cree, sin embargo, que esta diferencia es una cuestión de grado y que no requiere un cambio fundamental en la percepción del compuesto.

Como se ha mencionado antes, existen razones teóricas por las cuales se espera que los compuestos que son agonistas de 5-HT_{1A} y/o antagonistas de 5-HT₃ sean útiles en el tratamiento de los déficits cognitivos, y esto está apoyado por la evidencia clínica. T. Sumiyoshi en Am. J. Psych., 158, 1722-1725, 2001 refiere un estudio en el que los pacientes recibieron anti-psicóticos típicos, tales como haloperidol, sulprida y pimozida, que carecen de actividad 5-HT_{1A} combinados con placebo o tandospirona, que es un agonista de 5-HT_{1A}. Los pacientes que recibieron tandospirona además del anti-psicótico mostraron una mejora en su función cognitiva mientras que los pacientes que recibieron placebo no. De un modo similar, los anti-psicóticos atípicos, tales como clozapina, que también son agonistas de 5-HT_{1A} aumentan la cognición en pacientes esquizofrénicos, mientras los anti-psicóticos típicos, tales como el haloperidol que no tiene actividad 5-HT_{1A}, no [Y. Chung, Brain Res., 1023, 54-63, 2004]. En un estudio cruzado doble ciego aleatorizado en sujetos masculinos sanos, las evaluaciones de la memoria verbal y espacial y la atención mantenida demostraron que el antagonista de 5-HT₃, el alosetron atenuaba los déficits inducidos por escopolamina en la memoria verbal y espacial [Preston, Recent Advances in the treatment of Neurodegenerative disorders and cognitive function, 1994, (eds.) Racagni y Langer, Basel Karger, págs. 89-93].

Como se muestra en el ejemplo 5 los compuestos de la presente invención dan lugar a un incremento en el nivel extracelular de acetilcolina en el córtex prefrontal y el hipocampo ventral en ratas. Se espera que estos descubrimientos pre-clínicos se traduzcan en un efecto clínico en el tratamiento de los deterioros cognitivos, véase el uso de inhibidores de acetilcolinesterasa en el tratamiento de los deterioros cognitivos, p. ej. en la enfermedad de Alzheimer. Se puede encontrar un respaldo adicional a esta posición en el ejemplo 6, donde los datos demuestran que los compuestos de la presente invención potencian la memoria contextual en ratas. En conjunto, el perfil farmacológico de los compuestos de la presente invención combinado con los efectos sobre los niveles de acetilcolina y la memoria en ratas sugieren fuertemente que los compuestos utilizados en la presente invención son útiles en el tratamiento del deterioro cognitivo o el tratamiento de enfermedades en las que el paciente también padece deterioro cognitivo.

El deterioro cognitivo está entre los rasgos clásicos de la depresión, tal como p. ej. el trastorno depresivo mayor. Los trastornos cognitivos pueden ser, hasta cierto punto, secundarios a la depresión en el sentido de que una mejora en el estado depresivo también conducirá a una mejora del deterioro cognitivo. Sin embargo, también existe una clara evidencia de que los trastornos cognitivos son, en efecto, independientes de la depresión. Por ejemplo, los estudios han mostrado un deterioro cognitivo persistente después de la recuperación de una depresión [J. *Nervous Mental Disease*, 185, 748-754, 1997]. Por otra parte, el efecto diferencial de los antidepresivos sobre la depresión y los deterioros cognitivos confiere un respaldo adicional a la noción de que la depresión y el deterioro cognitivo son independientes, si bien a menudo son estados co-mórbidos. Mientras los medicamentos de serotonina y noradrenalina proporcionan mejoras comparables en los síntomas depresivos, varios estudios han demostrado que la modulación del sistema noradrenérgico no mejora las funciones cognitivas tanto como la modulación de la serotonina [*Brain Res. Bull.*, 58, 345-350, 2002; *Hum Psychopharmacol.*, 8, 41-47, 1993].

Las funciones cognitivas están deterioradas a menudo en pacientes esquizofrénicos, y pueden formar parte de los denominados síntomas negativos de la esquizofrenia. Las funciones cognitivas también están deterioradas en pacientes con ADHD.

Los déficits cognitivos o el deterioro cognitivo incluyen una disminución en las funciones cognitivas o los dominios cognitivos, p. ej. memoria, atención y vigilancia en el trabajo, aprendizaje y memoria verbal, aprendizaje y memoria visual, razonamiento y resolución de problemas p. ej. función ejecutiva, velocidad de procesamiento y/o cognición social. En particular, los déficits cognitivos o el deterioro cognitivo pueden indicar déficits de atención, pensamiento desorganizado, pensamiento lento, dificultad de comprensión, escasa concentración, deterioro de la resolución de problemas, memoria escasa, dificultades en la expresión de pensamientos y/o dificultades en la integración de pensamientos, sensaciones y comportamiento, o dificultades en la extinción de pensamientos irrelevantes. Se pretende que los términos "déficits cognitivos" y "deterioro cognitivo" indiquen lo mismo y se utilizan indistintamente.

Los datos presentados en el ejemplo 4 demuestran que el compuesto I es útil para el tratamiento del dolor, y que puede tener incluso un efecto analgésico; estudios adicionales en un modelo animal de dolor neuropático confirman esta observación. Por consiguiente, el compuesto I puede ser útil en el tratamiento del dolor y de los trastornos afectivos o del estado de ánimo, tales como la depresión y la ansiedad asociadas con el dolor, y en particular el dolor crónico. El dolor crónico incluye indicaciones tales como el dolor del miembro fantasma, el dolor neuropático, la neuropatía diabética, la neuralgia post-herpética (PHN), el síndrome del túnel carpiano (CTS), el síndrome del túnel tarsiano, la compresión del nervio ulnar, la compresión medular, la neuropatía por VIH, el síndrome de dolor regional complejo (CPRS), la neuralgia trigeminal / neuralgia del trigémino / tic doloroso, la intervención quirúrgica (p. ej. analgésicos post-operatorios), la vasculopatía diabética, la resistencia capilar o los síntomas diabéticos asociados con insulinitis, dolor asociado con angina, dolor asociado con menstruación, dolor asociado con cáncer, dolor dental, dolor de cabeza, migraña, dolor de cabeza de tipo tensión, neuralgia trigeminal, síndrome de articulación temporomandibular, lesión muscular con dolor miofascial, síndrome de fibromialgia, dolor óseo y articular (osteoartritis), artritis reumatoide, artritis reumatoide y edema resultante de trauma asociado con quemaduras, esguinces o fracturas de huesos, dolor debido a osteoartritis, osteoporosis, metástasis en huesos o razones desconocidas, gota, fibrositis, dolor miofascial, síndromes del opérculo torácico, dolor en la parte superior de la espalda o dolor en la parte inferior de la espalda (donde el dolor de espalda resulta de una enfermedad de la médula primaria, regional o sistemática (radiculopatía), dolor pélvico, dolor de pecho cardíaco, dolor de pecho no cardíaco, dolor asociado con lesión de la médula espinal (SCI), dolor post-ictus central, neuropatía por cáncer, dolor por SIDA, dolor por células falcadas, dolor por latigazo cervical y geriátrico.

El compuesto I ha sido sometido a ensayo en pruebas clínicas utilizando HAM-D (la Escala de Clasificación de Hamilton para la Depresión) como criterio de valoración clínico. La escala HAM-D se puede utilizar para evaluar la gravedad de la depresión en los pacientes por medio de un cuestionario de 24 puntos. Los puntos 4, 5 y 6 de la escala hacen referencia a cómo duermen los pacientes, esto es si el paciente tiene facilidad para dormir (Insomnio Temprano), el paciente se despierta durante la noche (Insomnio Medio), y si el paciente se despierta por la mañana temprano (Insomnio Tardío). El compuesto se sometió a ensayo a 5 y 10 mg diariamente frente a placebo con aproximadamente 100 pacientes por sección. Los datos de las Figuras 6-8 demuestran claramente que el compuesto I da lugar a una mejora grande y dependiente de la dosis del patrón del sueño que es superior a la proporcionada por el placebo. Es bien sabido que los trastornos del sueño son un efecto adverso general de la mayor parte de los antidepresivos. En particular se ha informado de que los SSRI y los compuestos que inhiben el transportador de noradrenalina dan lugar a problemas en el inicio y el mantenimiento del sueño y con frecuencia se refieren también problemas con el insomnio [Int. Clin. Psychopharm., 21 (supl 1), S25-S29, 2006]. Otros han informado de que estos compuestos dan lugar a una supresión del sueño REM, un incremento en la latencia del sueño, un sueño menos eficaz, un incremento en los despertares nocturnos, y una fragmentación del sueño [*Hum. Psychopharm. Clin. Exp.*, 20, 533-559, 2005]. Por lo tanto es un resultado sorprendente que la administración del compuesto I no esté asociada con efectos adversos sobre el sueño, sino que de hecho proporcione una mejora del patrón del sueño. Por consiguiente, el compuesto utilizado en la presente invención puede ser útil en el tratamiento de los trastornos del sueño, tales como las dificultades para quedarse dormido, los frecuentes despertares nocturnos y los despertares por la mañana temprano.

La prueba clínica anteriormente mencionada también captó los efectos adversos sexuales referidos por los pacientes. La siguiente tabla muestra el número de pacientes que informaron de tipos especificados de efectos adversos relacionados con la sexualidad.

Efecto adverso referido	Placebo	5 mg	10 mg
Anorgasmia	0	0	0
Retraso en la Eyaculación	0	0	0
Disfunción eréctil	0	0	0
Disminución de la libido	0	1	1
Orgasmo anormal	2	0	0
Pérdida de la libido	0	1	0
Disminución de la sensación orgásmica	0	0	0

5

Es bien sabido que el tratamiento con anti-depresivos en general y con SSRI en particular puede estar asociado con disfunción sexual y que frecuentemente conduce a una interrupción del tratamiento. Tanto como 30-70 % de los pacientes con SSRI refieren déficits en la función sexual [J. Clin. Psych., 66, 844-848, 2005], cuyos déficits incluyen disminución de la libido, orgasmos retrasados, reducidos o ausentes, disminución de la excitación, y disfunción

10

Los efectos adversos que interrumpen el sueño y la actividad sexual pueden ser muy difíciles de aceptar para los pacientes y en particular para los pacientes a largo plazo, por no mencionar el tratamiento crónico, y pueden ocasionar abandonos del tratamiento. La ausencia de estos efectos adversos en los tratamientos que comprenden la administración del compuesto I hacen que el compuesto I sea particularmente útil en las intervenciones terapéuticas a lo largo de un período de tiempo prolongado, tal como p. ej. la prevención de la recaída en una depresión.

15

Los efectos beneficiosos sobre el patrón del sueño ocasionados por el compuesto I hacen particularmente atractivo el uso del compuesto I como se describe en la presente memoria en el tratamiento de pacientes que ya han tenido problemas con el sueño o que padecen un trastorno del sueño o en pacientes con trastornos relacionados con la sexualidad.

20

Los compuestos utilizados en la presente invención también pueden ser útiles como tratamiento de segunda línea para pacientes que no pueden utilizar otros fármacos, tales como otros anti-depresivos, tales como inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI), inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina (NRI), inhibidores de la recaptación de noradrenalina/serotonina (SNRI) o tri-cíclicos (TCA) debido a eventos adversos relacionados con el sueño o la sexualidad. En esta realización, el paciente que se va a tratar ha recibido otra medicación (o todavía la está recibiendo), cuya medicación ha cesado o se ha reducido (o tiene que ser cesada o reducida) debido a eventos adversos relacionados con el sueño o la sexualidad. Típicamente, el paciente está padeciendo trastornos del estado de ánimo, tales como depresión y ansiedad, abuso de drogas (alcohol, narcóticos etc) o trastornos con dolor crónico.

25

30

El perfil farmacológico único del compuesto I combinado con un perfil de seguridad favorable inesperado hace que el compuesto I sea útil en el tratamiento de por ejemplo trastorno del ritmo circadiano, trastornos del sueño, trastornos respiratorios durante el sueño, síndrome de hipopnea, dolor abdominal, depresión, en particular depresión severa, trastorno distímico, ciclotimia, depresión exhaustiva, depresión atípica, trastorno del carácter asociado con un trastorno médico generalizado, trastorno del carácter inducido por sustancias, depresión recurrente, depresión en un solo episodio, depresión pediátrica, depresión posterior a un accidente cerebrovascular, trastorno disfórico peri-, pre-

35

o post-menopáusico; trastorno afectivo estacional (SAD); agresión y agitación en demencia, tal como Alzheimer; trastornos compulsivos y del espectro de la atención en ADHD, autismo y síndrome de Asperger; leucariosis, enfermedad de los vasos sanguíneos pequeños, depresión asociada con abuso de drogas, irritabilidad, hostilidad, trastornos del sueño, fatiga, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, ansiedad (depresión ansiosa) y dolor, en particular dolor en el tracto gastrointestinal, tal como, p. ej. síndrome del intestino irritable (IBS), trastorno de ansiedad general asociada al dolor, enfermedad de control de impulsos, trastorno explosivo intermitente, cleptomanía, piromanía, juego patológico, tricotilomanía, síntomas negativos de esquizofrenia, deterioro cognitivo leve, demencia vascular, deterioro cognitivo asociado con el síndrome de Down, mutaciones génicas tph, ADHD, epilepsia, daño cerebral traumático o síndrome de Asperger, trastorno compulsivo y del espectro de atención en ADHD, síndrome de Asperger y autismo, agresión y agitación en demencia y enfermedad de Alzheimer, síndrome de fatiga crónica, trastorno relacionado con estrés, estrés agudo, estrés, burn-out; resistencia a la insulina asociada con hiperactividad del eje HPA; trastorno alimenticio, tal como obesidad, trastorno por atracón, anorexia y bulimia nerviosa, trastorno de la conducta, trastornos del comportamiento, trastornos del comportamiento asociados con demencia, miedo a volar, miedo a los ascensores, claustrofobia y ambliopía. El tratamiento de estas enfermedades por la administración del compuesto I es particularmente útil y beneficioso ya que se espera que sea sin efectos adversos relacionados con el sueño y el sexo, y porque se espera también un efecto en el deterioro cognitivo, que está asociado con muchas de las enfermedades mencionadas anteriormente.

En este contexto "depresión severa" es depresión en la que el paciente tiene en la escala MADRS una puntuación superior a 30, tal como por encima de 32 o por encima de 35.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto como se usa en la presente memoria significa una cantidad suficiente para curar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y sus complicaciones en una intervención terapéutica que comprende la administración de dicho compuesto. Una cantidad adecuada para llevar esto a cabo se define como "una cantidad terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para cada propósito dependerán de la severidad de la enfermedad o el daño, así como del peso y del estado general del sujeto. Se entenderá que la determinación de una dosis apropiada se puede conseguir usando experimentación rutinaria, construyendo una matriz de valores y ensayando diferentes puntos en la matriz, lo cual cae todo dentro de las competencias ordinarias de un médico entrenado.

El término "tratamiento" y "tratar" como se utiliza en la presente memoria representa el manejo y el cuidado de un paciente con el fin de combatir una afección, tal como una enfermedad o un trastorno. Se pretende que el término incluya todo el espectro de tratamientos para una afección dada que padece el paciente, tal como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones, para retrasar el progreso de la enfermedad, el trastorno o la afección, para aliviar o mitigar los síntomas y complicaciones, y/o para curar o eliminar la enfermedad, el trastorno o afección así como para prevenir la afección, donde se debe entender la prevención como el manejo y el cuidado de un paciente con el propósito de combatir la enfermedad, la afección, o el trastorno e incluye la administración de los compuestos activos para evitar el comienzo de los síntomas o complicaciones. Sin embargo, el tratamiento profiláctico (preventivo) y terapéutico (curativo) son dos aspectos separados de la invención. El paciente que se va a tratar es preferiblemente un mamífero, en particular un ser humano.

Por lo general, el tratamiento descrito en la presente invención implicará la administración diaria de los compuestos de la presente invención. Esto puede implicar la administración una vez al día, o la administración dos veces al día o incluso más frecuentemente.

En una realización, la invención se refiere al compuesto I para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre deterioro cognitivo leve, demencia vascular o deterioro cognitivo asociado con el síndrome de Down, mutaciones génicas tph, epilepsia, daño cerebral traumático o síndrome de Asperger. En una realización, el compuesto I es para usar en un paciente que ha recibido previamente (o todavía está recibiendo) otra medicación, tal como otro anti-depresivo, tal como p. ej. inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI), inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina (NRI), inhibidores de la recaptación de noradrenalina/serotonina (SNRI) o tri-cíclicos (TCA) para el tratamiento de dicha enfermedad, cuya medicación fue interrumpida o reducida (o tiene que ser interrumpida o reducida) debido a eventos adversos relacionados con el sueño o la sexualidad.

El compuesto I se presenta convenientemente en una composición farmacéutica que se puede preparar mediante métodos convencionales en la técnica. Se hace una mención especial de los comprimidos, que se pueden preparar mezclando el ingrediente activo con coadyuvantes y/o diluyentes corrientes y comprimiendo con posterioridad la mezcla en una máquina para formar comprimidos convencional. Los ejemplos de los coadyuvantes o diluyentes comprenden: hidrogenofosfato de calcio anhidro, PVP, copolímeros de PVP-VA, celulosa microcristalina, sal de sodio de glicolato de almidón, almidón de maíz, manitol, almidón de patata, talco, estearato de magnesio, gelatina, lactosa, gomas, y similares. Se puede utilizar cualquier otro coadyuvante o aditivo normalmente empleado para tales fines tales como colorantes, aromatizantes, conservantes etc. siempre que sean compatibles con los ingredientes activos.

Se pueden preparar soluciones para inyectables disolviendo el ingrediente activo y posibles aditivos en una parte del disolvente para inyectables, preferiblemente agua estéril, ajustando la solución al volumen deseado, esterilizando

la solución y cargándola en ampollas o viales adecuados. Se pueden añadir aditivos cualesquiera convencionalmente utilizados en la técnica, tales como agentes de tonicidad, conservantes, antioxidantes, etc.

Las composiciones farmacéuticas fabricadas para usar de acuerdo con esta invención se pueden administrar mediante cualquier ruta adecuada, por ejemplo oralmente en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, jarabes, etc., o parenteralmente en forma de soluciones para inyectables. Para preparar tales composiciones, se pueden utilizar métodos bien conocidos en la técnica, y se pueden emplear portadores, diluyentes, excipientes u otros aditivos farmacéuticamente aceptables normalmente utilizados en la técnica.

Convenientemente, el compuesto I se administra en una forma de dosificación unitaria que contiene dicho compuesto en una cantidad de alrededor de 1 a 50 mg. Se cree que un límite superior está fijado por la dependencia que tiene la actividad de 5-HT₃ de la concentración. La dosis diaria total se encuentra normalmente en el intervalo de alrededor de 1 - 20 mg, tal como alrededor de 1 a 10 mg, alrededor de 5-10 mg, alrededor de 10-20 mg, o alrededor de 10-15 mg del compuesto de la invención. Se hace una mención particular de dosis diarias de 2,5, 5, 10, 15 o 20 mg.

Los comprimidos que comprenden un compuesto I se pueden preparar convenientemente mediante granulación en mojado. Utilizando este método, los sólidos secos (ingredientes activos, cargas, aglutinantes etc.) se combinan y se humedecen con agua u otro agente humectante (p. ej. un alcohol) y se forman aglomerados o gránulos de los sólidos humedecidos. El amasado en húmedo continúa hasta que se ha alcanzado un tamaño de partícula homogéneo deseado después de lo cual el producto granulado se seca. El compuesto I se mezcla típicamente con monohidrato de lactosa, almidón de maíz y copovidona en una mezcladora de alta cizalla junto con agua. Después de la formación de productos granulados, estos productos granulados se pueden tamizar en un tamiz con un tamaño de tamiz adecuado, y secar. Los productos granulados secos resultantes se mezclan después con celulosa microcristalina, sal de sodio de croscarmelosa y estearato de magnesio, después de lo cual se prensan los comprimidos. De manera alternativa, se puede lograr la granulación en húmedo de los compuestos de la presente invención utilizando manitol, almidón de maíz y copovidona, cuyos productos granulados se mezclan con celulosa microcristalina, sal de sodio de glicolato de almidón y estearato de magnesio antes de prensar los comprimidos. Alternativamente, se puede lograr la granulación en húmedo del compuesto I utilizando hidrogenofosfato de calcio anhidro, almidón de maíz y copovidona, cuyos productos granulados se mezclan con celulosa microcristalina, sal de sodio de glicolato de almidón (tipo A), talco y estearato de magnesio antes de prensar los comprimidos. La copovidona es un copolímero de PVP-VA.

En una realización, el compuesto I es la sal del ácido bromhídrico, p. ej. en la forma beta, y los comprimidos adecuados se pueden componer como sigue – los porcentajes indicados son % p/p

Sal HBr	3-8%
Hidrogenofosfato de calcio anhidro	35-45%
Almidón de maíz	15-25%
Copovidona	2-6%
Celulosa microcristalina	20-30%
Sal de sodio de glicolato de almidón	1-3%
Talco	2-6%
Estearato de magnesio	0,5-2%

40

En particular, los comprimidos se pueden componer como sigue

Sal HBr	aproximadamente 5%
Hidrogenofosfato de calcio anhidro	aproximadamente 39%
Almidón de maíz	aproximadamente 20%
Copovidona	aproximadamente 3%
Celulosa microcristalina	aproximadamente 25%
Sal de sodio de glicolato de almidón	aproximadamente 3%
Talco	aproximadamente 4%

45

Estearato de magnesio

aproximadamente 1%

Los comprimidos con diferentes cantidades de compuesto activo, tales como los correspondientes p. ej. a 2,5, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60 u 80 mg de la base libre se pueden obtener eligiendo la cantidad adecuada del compuesto I combinada con un comprimido de un tamaño apropiado.

El compuesto I se puede administrar solo o combinado con otro compuesto terapéuticamente activo, donde los dos compuestos se pueden administrar simultáneamente o sucesivamente. Los ejemplos de los compuestos terapéuticamente activos que se pueden combinar ventajosamente con el compuesto I incluyen sedantes o hipnóticos, tales como benzodiazepinas; anticonvulsivos, tales como lamotrigina, ácido valproico, topiramato, gabapentina, carbamazepina; estabilizadores del estado de ánimo tales como litio; fármacos dopaminérgicos, tales como agonistas de dopamina y L-Dopa; fármacos para tratar el ADHD, tales como atomoxetina; psicoestimulantes, tales como modafinilo, cetamina, metilfenidato y anfetamina; otros antidepresivos, tales como mirtazapina, mianserina y bupropion; hormonas, tales como T3, estrógeno, DHEA y testosterona; antipsicóticos atípicos, tales como olanzapina y aripiprazol; antipsicóticos típicos, tales como haloperidol; fármacos para tratar la enfermedad de Alzheimer, tales como los inhibidores de colinesterasa y memantina, folato; S-Adenosil-Metionina; inmunomoduladores, tales como interferones; opiáceos, tales como buprenorfinas; antagonistas del receptor 1 de angiotensina II (antagonistas AT1); inhibidores de ACE; estatinas; y antagonistas adrenérgicos alfa 1, tales como prazosina.

La base libre del compuesto I se puede preparar como se describe en los documentos WO 2003/029232 o WO 2007/144005. Las sales utilizadas en la presente invención se pueden preparar disolviendo la base libre en un disolvente apropiado, añadiendo el ácido relevante, seguido de precipitación. La precipitación se puede lograr mediante la adición de un segundo disolvente, y/o evaporación, y/o refrigeración. Alternativamente, la base libre utilizada en la presente invención se puede sintetizar en una reacción catalizada con paladio como se describe en los ejemplos.

Se considera que el uso de los términos "un", "una", "el" y "la" y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención abarca tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo en la presente memoria o esté claramente contraindicado por el contexto. Por ejemplo, se debe entender que la expresión "compuesto" hace referencia a los diferentes compuestos de la invención o del aspecto concreto descrito, a menos que se indique de otro modo.

A menos que se indique de otro modo, todos los valores exactos proporcionados en la presente memoria son representativos de los correspondientes valores aproximados (p. ej., se puede considerar que todos los valores ilustrativos exactos proporcionados con respecto a un factor o medida concretos también proporcionan una medida aproximada correspondiente, modificada por "alrededor", cuando sea apropiado).

Se pretende que la descripción en la presente memoria de cualquier aspecto o aspecto de la invención que utiliza los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" o "que contiene" con referencia a un elemento o elementos proporcione apoyo para un aspecto similar o aspecto de la invención que "consiste en", "consiste esencialmente en", o "comprende sustancialmente" que un elemento o elementos particulares, a menos que se establezca de otro modo o se contraindique claramente por el contexto (p. ej., se debe entender que una composición descrita en la presente memoria que comprende un elemento concreto también describe una composición que consiste en ese elemento, a menos que se establezca de otro modo o se contraindique por el contexto).

Ejemplos

Métodos analíticos

Los espectros de RMN- H^1 se registran a 500,13 MHz en un aparato Bruker Avance DRX500. Se utiliza dimetilsulfóxido (99,8%D) como disolvente, y se utiliza tetrametilsilano (TMS) como patrón interno de referencia.

Los puntos de fusión se miden utilizando la Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC). El equipo es un TA-Instruments DSC-Q1000 calibrado a 5°/min para dar el punto de fusión como valor de comienzo. Se calientan alrededor de 2 mg de muestra 5°/min en una cubeta cerrada sin apretar con un flujo de nitrógeno.

El análisis termogravimétrico (TGA) utilizado para la estimación del contenido de disolvente/agua de los materiales secos se realiza utilizando un aparato TA TGA-Q500. Se calientan 1-10 mg de muestra 10°/min en una cubeta abierta con flujo de nitrógeno.

Los difractogramas de polvo de rayos X se midieron en un Difractómetro de Rayos X PANalytical X'Pert PRO utilizando radiación $CuK_{\alpha 1}$. Las muestras se midieron en modo de reflexión en el intervalo 2θ -5-40° utilizando un detector X'celerator. Los valores de reflexión proporcionados son $\pm 0,1$ (°2 θ).

Ejemplo 1 Farmacología de receptor in vitro

Transportador de serotonina: CI_{50} 5,3 nM (bloqueo de la captación de 5-HT)

Transportador de serotonina humano: CI_{50} 5,4 nM (bloqueo de la captación de 5-HT)

Receptor 5-HT_{1A} humano: K_i 15 nM que suscita agonismo (eficacia o actividad intrínseca 96%)

Receptor 5-HT₃ de rata: CI_{50} 0,2 nM (suscita antagonismo en análisis funcional)

- 5 Receptor 5-HT_{3A} humano: CI_{50} de alrededor de 20 nM (suscita antagonismo en análisis funcional). A una concentración mayor, el compuesto muestra actividad agonística con una DE_{50} de 2,1 μ M. El compuesto de la invención también mostró una elevada afinidad hacia el receptor 5HT₃ humano en un análisis de unión in vitro (K_i 4,5 nM).

Ejemplo 2a Preparación de la base libre del compuesto I

- 10 Se trataron 10 gramos de hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina con una mezcla agitada de 100 ml de NaOH 3 M y 100 ml de acetato de etilo durante 10 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con 100 ml de NaCl (ac.) al 15% en peso, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío produciendo 7,7 gramos (98 %) de la base del compuesto I en forma de un aceite incoloro claro.

El RMN obedece a la estructura.

- 15 **Ejemplo 2b Preparación de base cristalina del compuesto I**

- Se trataron 3,0 gramos de aceite incoloro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina con 70 ml de acetonitrilo y se calentaron a reflujo. La solución casi clara se filtró y el producto filtrado claro se enfrió espontáneamente después de lo cual la precipitación comenzó inmediatamente después de la filtración. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente (22 °C) durante 2 horas y el producto se aisló mediante filtración y se secó a vacío (40 °C) durante la noche. La base cristalina se aisló en forma de un sólido de color blanco en 2,7 gramos (90 %). El RMN obedece a la estructura. Análisis elemental: 72,40%C, 9,28%N, 7,58%H (teórico: 72,26%C, 9,36%N, 7,42%H)
- 20

Ejemplo 2c Caracterización de la base cristalina del compuesto I

La base, preparada en el ejemplo 2b, es cristalina (XRPD) – véase la Figura 1. Tiene un punto de fusión de ~117°C. No es higroscópica y tiene una solubilidad de 0,1 mg/ml en agua.

- 25 **Ejemplo 2d Preparación de la forma alfa de la sal hidrobromuro del compuesto I**

- Se disolvieron 2,0 gramos de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina en 30 ml de acetato de etilo caliente y se añadieron 0,73 ml de HBr (ac.) al 48 % en peso. Esta adición causó la formación de una suspensión espesa y se añadieron 10 ml más de acetato de etilo con el fin de lograr una agitación apropiada. La suspensión se agitó a la temperatura ambiente durante una hora. La filtración y el secado a vacío (20 °C) a lo largo de la noche produjeron 2,0 gramos del producto en forma de un sólido de color blanco (80 %). El RMN obedece a la estructura. Análisis elemental: 57,05%C, 7,18%N, 6,16%H (Teórico para sal 1:1: 56,99%C, 7,39%N, 6,11%H)
- 30

Ejemplo 2e Caracterización de la forma alfa del hidrobromuro del compuesto I

- La forma alfa del hidrobromuro, preparada en el ejemplo 2d, es cristalina (XRPD) – véase la Figura 2. Tiene un punto de fusión de ~226°C. Absorbe alrededor de 0,3% de agua cuando se expone a una humedad relativa elevada y tiene una solubilidad de 2 mg/ml en agua.
- 35

Ejemplo 2f Preparación de la forma beta de la sal hidrobromuro del compuesto I

- Se disolvieron 49,5 gramos de aceite incoloro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina en 500 ml de acetato de etilo y se añadieron 18,5 ml de HBr (ac.) al 48 % en peso. Esta adición ocasionó la formación de una suspensión espesa que se agitó durante la noche a la temperatura ambiente. La filtración y el secado a vacío (50 °C) a lo largo de la noche proporcionaron 29,6 gramos del producto en forma de un sólido de color blanco (47 %).
- 40

El RMN obedece a la estructura. Análisis elemental: 56,86%C, 7,35%N, 6,24%H

(Teórico para la sal 1:1: 56,99%C, 7,39%N, 6,11%H)

Ejemplo 2g Caracterización de la forma beta del hidrobromuro, sal del compuesto I

- La forma beta del hidrobromuro, preparado en el ejemplo 2f, es cristalina (XRPD) véase la Figura 3. Tiene un punto de fusión de ~231°C. Absorbe alrededor de 0,6% de agua cuando se expone a una humedad relativa elevada y tiene una solubilidad de 1,2 mg/ml en agua.
- 45

Ejemplo 2h Preparación de la forma gamma de la sal hidrobromuro del compuesto I

Se añadió 1 g de hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina preparado en el ejemplo 2d a 20 ml de agua y se calentaron a 85°C. La solución fue casi clara. La adición de 1 gota de HBr la volvió clara. Se añadió HBr hasta que se observó un punto de enturbiamiento. La solución se enfrió a la temperatura ambiente y se secó. El RMN obedece a la estructura. Análisis elemental: 56,63%C, 7,18%N, 6,21%H (Teórico para la sal 1:1: 56,99%C, 7,39%N, 6,11%H)

Ejemplo 2i Caracterización de la forma gamma del hidrobromuro del compuesto I

El hidrobromuro, preparado en el ejemplo 2h es cristalino (XRPD) – véase la Figura 4. La curva DSC muestra algunos eventos térmicos a alrededor de 100°C; probablemente cambios en la forma cristalina. Después se funde a alrededor de 220°C. Absorbe alrededor de 4,5% de agua cuando se expone a una humedad relativa elevada y a una HR del 30% a la temperatura ambiente alrededor del 2% del agua es absorbida.

Ejemplo 2j Preparación del hidrato del hidrobromuro del compuesto I

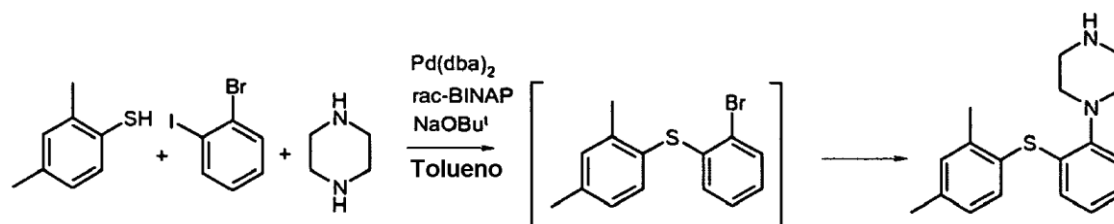
Se añadieron 1,4 gramos de aceite de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)-fenil]piperazina a 20 ml de agua, y se calentaron a 60°C. El pH se ajustó a 1 utilizando HBr al 48%. La solución se enfrió a la temperatura ambiente y se secó. El RMN obedece a la estructura. Análisis elemental: 55,21%C, 7,16%N, 6,34%H (Teórico para la sal hemihidrato 1:1: 55,68%C, 7,21%N, 6,23%H)

Ejemplo 2k Caracterización del hemihidrato del hidrobromuro del compuesto I

El hidrato preparado en el Ejemplo 2j es cristalino (XRPD) – véase la figura 5.

El contenido de agua depende fuertemente de la humedad relativa. A la temperatura ambiente y con una HR del 95% el contenido de agua es de alrededor del 3,7%. La deshidratación se produce calentando a alrededor de 100°C.

Ejemplo 3 Preparación del compuesto I



Se agitaron 815 g de NaOBu^t (8,48 moles), 844 g de Piperazina (9,8 moles), 6,6 g de Pd(dba)₂ (11,48 mmoles) y 13,6 g de rac-BINAP (21,84 mmoles) con 4 L de tolueno durante 50 minutos. Después se añadieron 840 g de 2-bromo-yodobenzeno (2,97 moles) junto con 1,5 L de Tolueno y se continuó agitando durante 30 min. Finalmente se añadieron 390,8 g de 2,4-dimetiltiofenol (2,83 moles) con 1,5 L de tolueno. La suspensión se calentó a reflujo y el reflujo continuó durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió durante la noche. Se añaden 2 L de agua y se agita durante 1 hora antes de filtrar la mezcla por medio de un coadyuvante de filtración. El producto filtrado se lavó después con 3x 1L de salmuera. Las fases acuosas combinadas se extrajeron después con 600 ml de tolueno. Las fases de tolueno combinadas se calentaron después a 70°C seguido de la adición de 329,2 ml de HBr (ac.) al 48% en peso y 164,6 ml de agua. La mezcla se enfrió a la temperatura ambiente durante la noche. El producto final (hidrobromuro de 1-[2-(2,4-dimetil-fenilsulfanil)-fenil]-piperazina) se recogió por filtración y se secó a vacío (60 °C) produciendo 895 g (rendimiento 84 %).

Ejemplo de referencia 4 Efectos sobre el Dolor en el ensayo de formalina intradérmica en ratón

En este modelo, los ratones recibieron una inyección de formalina (4,5%, 20 µl) en la almohadilla trasera izquierda. La irritación causada por la inyección de formalina logra una respuesta de comportamiento bifásico característica, cuantificada por la cantidad de tiempo empleado en lamer la almohadilla lesionada. La primera fase (~0-10 minutos) representa irritación química directa y nocicepción, mientras se piensa que la segunda fase (~20-30 minutos) representa dolor de origen neuropático. Las dos fases están separadas por un período quiescente en el cual el comportamiento vuelve a la normalidad. La eficacia de los compuestos de ensayo para reducir los estímulos dolorosos se evalúa contando la cantidad de tiempo empleado en lamer la almohadilla lesionada en las dos fases.

El compuesto I mostró una reducción significativa en las puntuaciones de dolor de la segunda fase (Figura 9a), indicando la eficacia contra el dolor de origen neuropático. Además, los compuestos de la presente invención mostraron una reducción significativa en las puntuaciones de la primera fase (Figura 9b), indicando una acción más analgésica a la dosis más elevada. En resumen, estos resultados indican que es probable que los compuestos de la presente invención sean eficaces en el tratamiento de los trastornos con dolor.

Ejemplo 5 Efectos sobre los niveles extracelulares de acetilcolina en el cerebro de ratas que se mueven libremente

Se administró a los animales sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.

Animales

- 5 Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho, que pesaban inicialmente 275-300 g. Los animales se alojaron en un ciclo de luz/oscuridad de 12-hr en condiciones controladas para regular la temperatura interior ($21\pm 2^\circ\text{C}$) y la humedad ($55\pm 5\%$) con disponibilidad de alimento y agua corriente ad libitum.

Cirugía y experimentos de microdiálisis

- 10 Se anestesiaron las ratas con Hypnorm/Dormicum (2 ml/kg) y se implantaron estereotóxicamente cánulas guía intracerebrales (CMA/12) en el cerebro, pretendiendo el posicionamiento de la punta de la sonda de diálisis en el hipocampo ventral (coordenadas: 5,6 mm posterior al bregma, lateral-5,0 mm, 7,0 mm ventral a la dura) o en el córtex prefrontal (coordenadas: 3,2 mm anterior al bregma; lateral, 0,8 mm; 4,0 mm ventral a la dura). Se utilizaron tornillos de anclaje y cemento acrílico para la fijación de las cánulas guía. La temperatura corporal de los animales se controló mediante una sonda rectal y se mantuvo a 37°C . Se permitió que las ratas se recuperaran de la
15 operación durante 2 días, alojadas en jaulas individuales. El día del experimento se insertó una sonda de microdiálisis (CMA/12, 0,5 mm de diámetro, 3 mm de longitud) a través de la cánula guía.

- 20 Las sondas se conectaron a través de una unidad de libre movimiento de dos canales a una bomba de microinyección. La perfusión de la sonda de microdiálisis con solución de Ringer filtrada (145 mM NaCl, KCl 3 mM, MgCl_2 1 mM, CaCl_2 1,2 mM que contenía neostigmina 0,5 μM) comenzó poco antes de la inserción de la sonda en el cerebro y continuó mientras duró el experimento a una velocidad de flujo constante de 1 $\mu\text{l/min}$. Después de 180 min de estabilización, se iniciaron los experimentos. Los productos dializados se recogieron cada 20 min. Después de los experimentos los animales se sacrificaron, se recogieron los cerebros, se congelaron y se hicieron rebanadas para la verificación del emplazamiento de la sonda.

- 25 El compuesto se disolvió en HPbetaCD al 10 % y se inyectó subcutáneamente (2,5 - 10 mg/kg). Las dosis se expresan como mg de sal/kg de peso corporal. El compuesto se administró a un volumen de 2,5 ml/kg.

Análisis de acetilcolina del producto dializado

- 30 Se analizó la concentración de acetilcolina (ACh) en los productos dializados por medio de HPLC con detección electroquímica utilizando una fase móvil que consistía en hidrogenofosfato de disodio 100 mM, ácido octanosulfónico 2,0 mM, cloruro de tetrametilamonio 0,5 mM y MB 0,005% (ESA), pH 8,0. Un reactor con enzima pre-columna (ESA) que contenía colina oxidasa inmovilizada eliminó la colina de la muestra inyectada (10 μl) antes de la separación de la ACh en la columna analítica (ESA ACH-250); velocidad de flujo 0,35 ml/min, temperatura: 35°C . Después de la columna analítica la muestra se hizo pasar a través de un reactor en fase sólida post-columna (ESA) que contenía acetilcolinesterasa y colina oxidasa inmovilizadas. El último reactor convirtió la ACh en colina y con posterioridad la colina en betaína y H_2O_2 . Lo último se detectó electroquímicamente utilizando un electrodo de platino (Célula analítica: ESA, modelo 5040).
35

Presentación de datos

En los experimentos de una sola inyección el valor medio de 3 muestras de ACh consecutivas inmediatamente precedentes a la administración del compuesto sirvieron como nivel basal para cada experimento y los datos se convirtieron en el porcentaje del basal (valores pre-inyección basal medios normalizados al 100%).

Resultados

El compuesto aumentó significativamente los niveles extracelulares de ACh en el córtex prefrontal y el hipocampo ventral de rata – véanse las figuras 10a y 10b.

Ejemplo 6 Condicionamiento de miedo contextual en ratas

El compuesto administrado en el presente experimento fue sal HBr de 1-[2-(2,4-dimetilfenil-sulfanil)fenil]-piperazina.

- 45 Los autores de la presente invención han estudiado el efecto del compuesto sobre la adquisición, consolidación y memoria del condicionamiento de miedo contextual en ratas. En el paradigma de condicionamiento de miedo los animales aprenden a asociar un entorno neutro (contexto, la cámara de adiestramiento, CS) con una experiencia aversiva (una descarga eléctrica en la pata, ENC). Durante la re-exposición a la cámara de adiestramiento, los animales expresan un comportamiento de paralización, que se toma como una medida directa de la memoria relacionada con el miedo [Pavlov J. Biol Sci., 15, 177-182, 1980]. La neuroanatomía del condicionamiento de miedo
50 contextual se ha investigado concienzudamente y varios estudios han demostrado que el hipocampo y la amígdala

son necesarios para la formación de esta memoria [*Hippocampus*, 11, 8-17, 2001; *J. Neurosci.*, 19, 1106-1114, 1999; *Behav. Neurosci.*, 106, 274-285, 1992].

Animales y fármacos

5 Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho adultas (que pesaban 250-300 g en el momento del adiestramiento) de Charles River Laboratories, alojadas dos por jaula en un ciclo de luz/oscuridad de 12h. El alimento y el agua se encontraban disponibles *ad libitum*. Se utilizaron las ratas 1 semana después de su llegada. El compuesto se disolvió en HPbetaCD al 10% y se inyectó subcutáneamente. El fármaco se administró a un volumen de 2,5 ml/kg.

Aparato

10 El adiestramiento y el ensayo se llevaron a cabo en una cámara a prueba de sonidos (30 x 20 x 40 cm) alojada en una habitación aislada y conectada a un sistema de ventilación. Se proporcionó iluminación por medio de una luz blanca (60 Watios). El suelo de la cámara consistía en una rejilla metálica anclada a un generador de descargas eléctricas. Antes del adiestramiento y el ensayo, se limpió la cámara con una solución de etanol del 70%. Una cámara de vídeo permitió las observaciones del comportamiento y el registro de la sesión de adiestramiento para su posterior análisis.

Ensayo de adquisición y retención

15 Durante la adquisición se permitió que los animales exploraran libremente el nuevo entorno durante un período de habituación de 1 min, que terminó simultáneamente con una descarga en la pata ineludible (estímulo no condicionado, ENC) a través del suelo de rejilla electrificable. La descarga en la pata tuvo una duración de 2 s y una intensidad de 0,75 mA. Los animales permanecieron en la cámara de aclimatación durante otros 60 s después del ENC. Se puntuó el comportamiento de paralización durante los primeros 58 s (adquisición pre-descarga; experimentador ciego para los grupos) para determinar las respuestas de paralización en el inicio al contexto. Al final del período de adquisición los animales se retiraron suavemente y se colocaron en sus jaulas de alojamiento. Después de 24 horas se volvieron a introducir los mismos animales en el contexto de adiestramiento (cámara de condicionamiento de miedo) y se llevó a cabo un ensayo de retención de 2 min. Durante este período no se aplicaron descargas en la pata. Se puntuó el comportamiento de paralización durante todo el período de ensayo con el experimentador ciego para los grupos y se presentó como porcentaje del período de ensayo total.

Resultados y Discusión

30 Se estudió el efecto del compuesto sobre el condicionamiento de miedo contextual en ratas (i) en la adquisición (fármaco aplicado antes de la adquisición, Figura 11), (ii) en la recuperación de la memoria (fármaco aplicado antes del ensayo, Figura 12) y (iii) en la consolidación (fármaco aplicado inmediatamente después de la adquisición, Figura 13). En el primer grupo de experimentos, el compuesto (1, 5 y 10 mg/kg) se administró 1 h antes de la sesión de adquisición. La Figura 11 representa la adquisición del comportamiento de paralización durante el adiestramiento (58 s antes de la descarga en la pata) y el ensayo de retención 24 después. Se observaron los siguientes descubrimientos:

- 35 • El compuesto no afecta al comportamiento de paralización en el inicio antes de la presentación de la descarga en la pata a cualquier dosis sometida a ensayo.
- El compuesto a 5 mg/kg tiene una tendencia a incrementar el tiempo empleado en la paralización durante el ensayo de retención, 24 h después de la adquisición ($39,24 \pm 13,76$ %, $n=6$, versus $24,30 \pm 4,40$ %, $n=16$, en los animales tratados con vehículo).
- 40 • el compuesto a 10 mg/kg aumenta significativamente el tiempo empleado en la paralización durante el ensayo de retención, 24 h después de la adquisición ($52,15 \pm 5,68$ %, $n=10$, versus $24,30 \pm 4,40$ %, $n=16$, en los animales tratados con vehículo, $p < 0,01$).

45 El modelo de condicionamiento del miedo, como se describe en la Figura 11, es un procedimiento convencional descrito en la literatura para la investigación del aprendizaje y la memoria. Con el fin de esclarecer los efectos agudos de este fármaco en la recuperación de la memoria, el compuesto (5, 10 y 20 mg/kg) se aplicó 1 h antes del ensayo de retención. Se observó que el compuesto inhibe la expresión del comportamiento paralizante a 5 mg/kg durante el ensayo de memoria ($12,86 \pm 3,57$ %, $n=9$, versus $33,61 \pm 4,29$ %, $n=13$, en los animales tratados con vehículo, $p < 0,05$) (Figura 13).

50 Como se ha descrito anteriormente, el propio compuesto no afecta al comportamiento de paralización en el inicio antes del comienzo del ENC (Figura 11), de este modo la hipótesis más plausible es que el efecto observado en la Figura 12 sea debido a un efecto ansiolítico. La memoria condicionada se evalúa por medio del comportamiento de paralización, una respuesta que es reducida por los compuestos con efectos ansiolíticos potenciales. Este experimento demuestra que el compuesto administrado adecuadamente antes de la recuperación de la memoria

tiene eficacia ansiolítica, por lo tanto es poco probable que el aumento de paralización mostrado en la Figura 11 se deba a un efecto ansiogénico del compuesto.

5 Con el fin de consolidar que el compuesto no es ansiogénico pero tiene potencial pro-cognitivo, se administró el compuesto a 5, 10 y 20 mg/kg después de la sesión de adquisición. Por consiguiente, en esta serie de experimentos, el compuesto no se incorporó ni durante la adquisición ni en todo el ensayo de retención. Aquí, se observó que el compuesto a 5 mg/kg aumenta significativamente el tiempo empleado en la paralización durante el ensayo de retención, 24 h después de la sesión de adquisición ($45,58 \pm 4,50 \%$, $n= 8$, versus $25,26 \pm 3,57 \%$, $n= 19$, en los animales tratados con vehículo, $p< 0,05$). El porcentaje de tiempo empleado en la paralización durante el contexto de re-exposición se ha descrito como una medida de la memoria relacionada con el miedo [Pavlov J. *Biol.* 10 *Sci*, 15, 177-182, 1980], que es intensificada en las ratas tratadas con el compuesto cuando se compara con los animales tratados con vehículo (Figura 11 y 12). Tomados juntos, los datos demuestran que el compuesto aumenta la memoria contextual.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto I que es 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre deterioro cognitivo leve; demencia vascular; y trastorno cognitivo asociado con el síndrome de Down, mutaciones génicas tph, epilepsia, daño cerebral traumático o síndrome de Asperger.
2. El compuesto para usar según la reivindicación 1, que es la sal del ácido bromhídrico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.
3. El compuesto para usar según la reivindicación 2, en el que dicha sal es cristalina.
4. El compuesto para usar según la reivindicación 3, en el que dicha sal se caracteriza por tener picos principales XRDP en 6,89, 9,73, 13,78 y 14,62 (°2θ), todos ± 0,1 (°2 θ).
5. El compuesto para usar según la reivindicación 4, en el que dicha sal está caracterizada por un XRDP como se describe en la figura 3.
6. El compuesto para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-5 en una dosis unitaria para la administración oral de aproximadamente 1-50 mg de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
7. El compuesto para usar según la reivindicación 6, en la que dicha dosis unitaria comprende entre aproximadamente 1 y 20 mg de la sal del ácido bromhídrico de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina.
8. El compuesto para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 con la condición de que no es la base libre de 1-[2-(2,4-dimetilfenilsulfanil)fenil]piperazina en una forma no cristalina.
9. El compuesto para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para usar en el tratamiento de un paciente que ha recibido previamente medicación para el tratamiento de dicha enfermedad cuya medicación se había interrumpido o reducido debido a eventos adversos relacionados con el sueño o la sexualidad.

Difractograma de polvo de rayos X de la base cristalina libre:

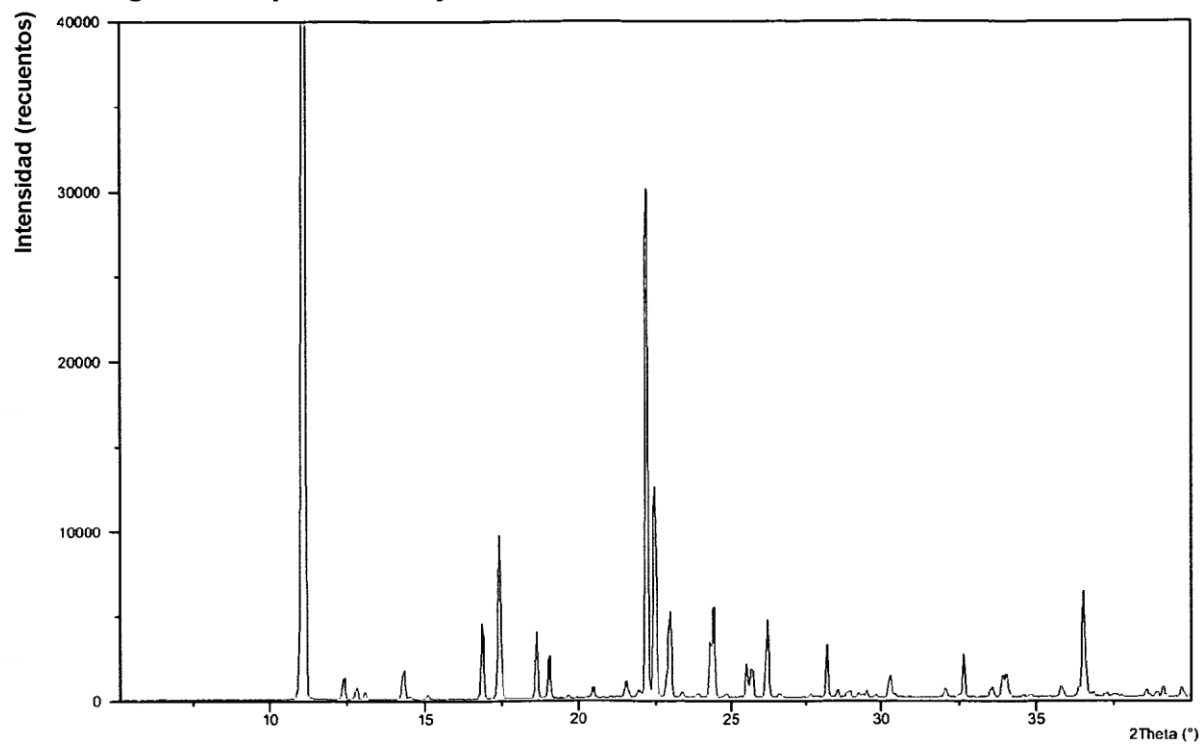


Fig. 1

Difractograma de polvo de rayos X de la forma alfa del hidrobromuro

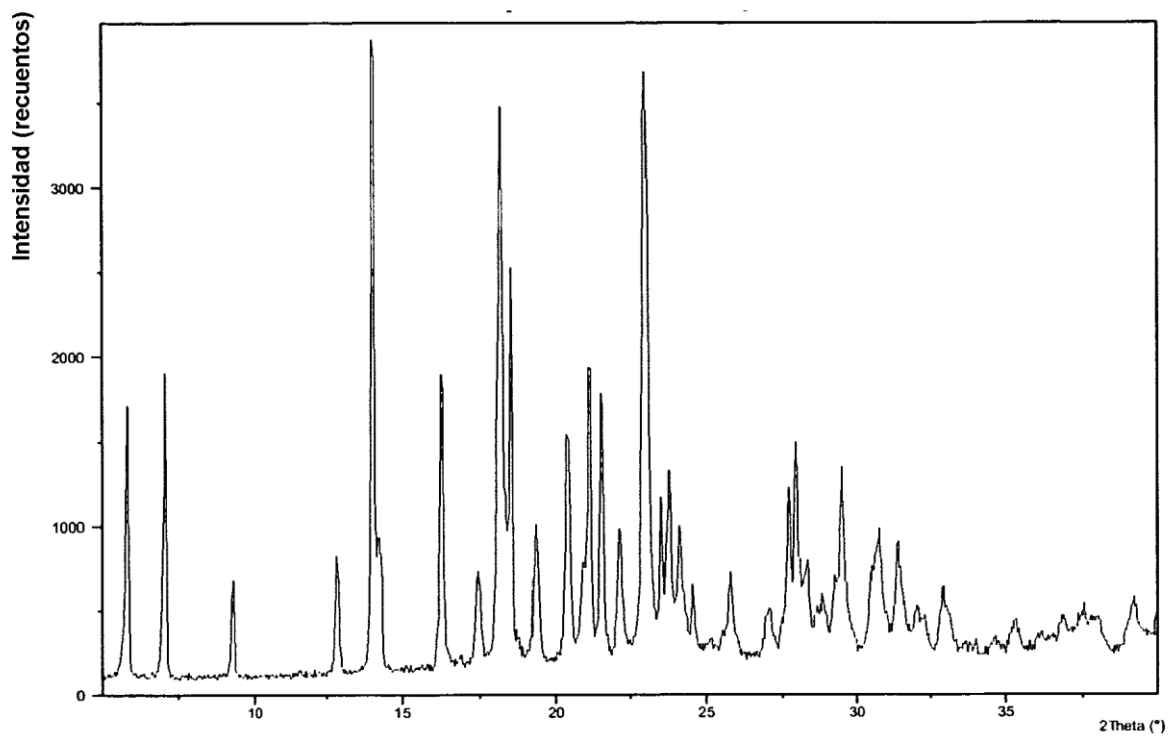


Fig. 2

Difractograma de rayos X de polvo de la forma beta del hidrobromuro

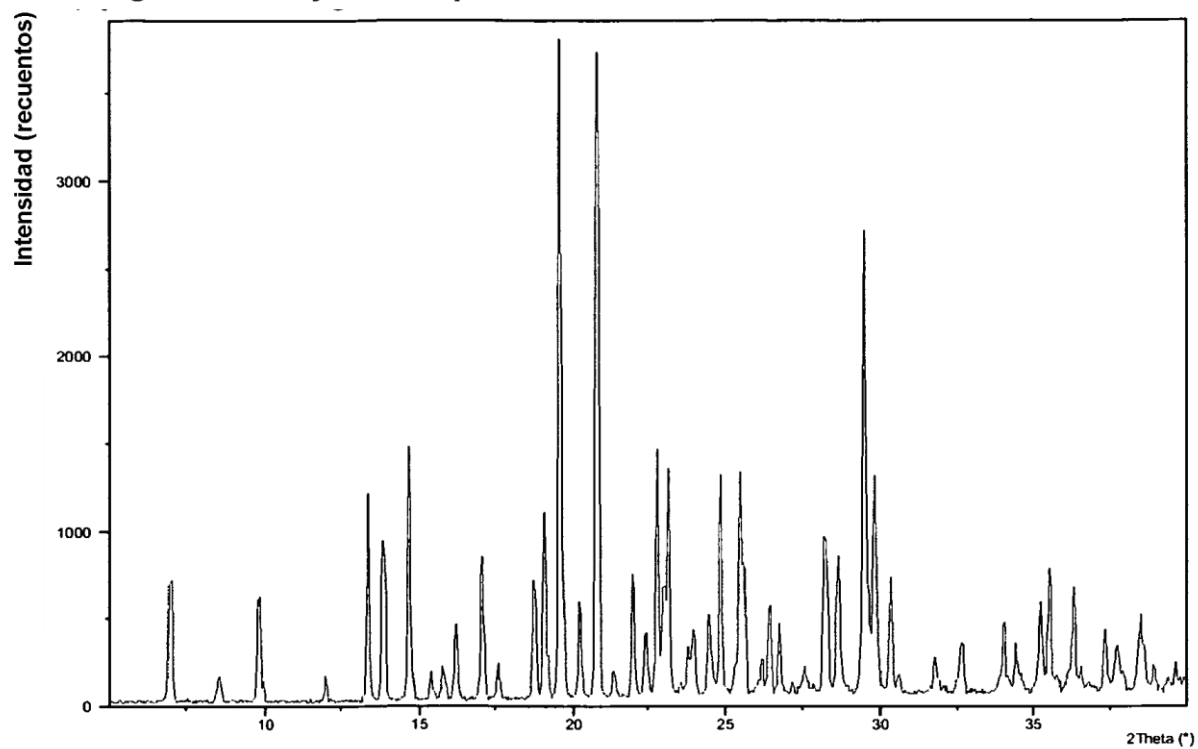


Fig. 3

Difractograma de polvo de rayos X de la forma gamma del hidrobromuro

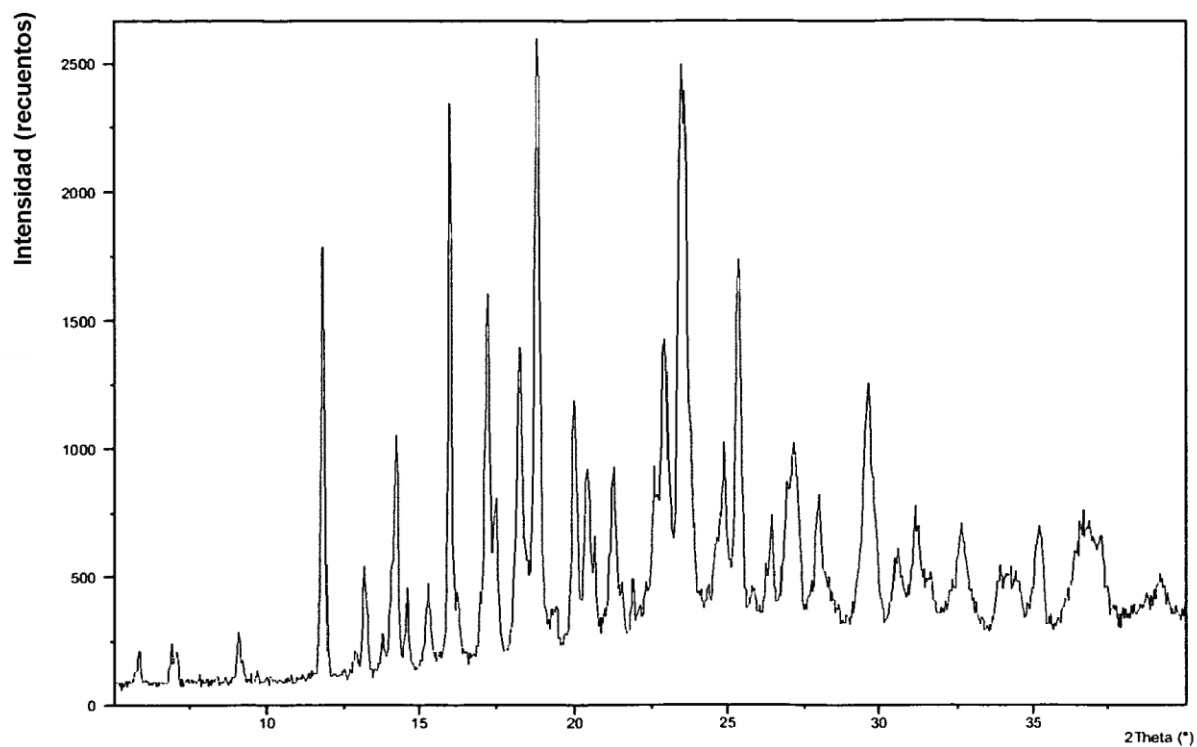


Fig. 4

Difractograma de polvo de rayos X del hemihidrato de hidrobromuro

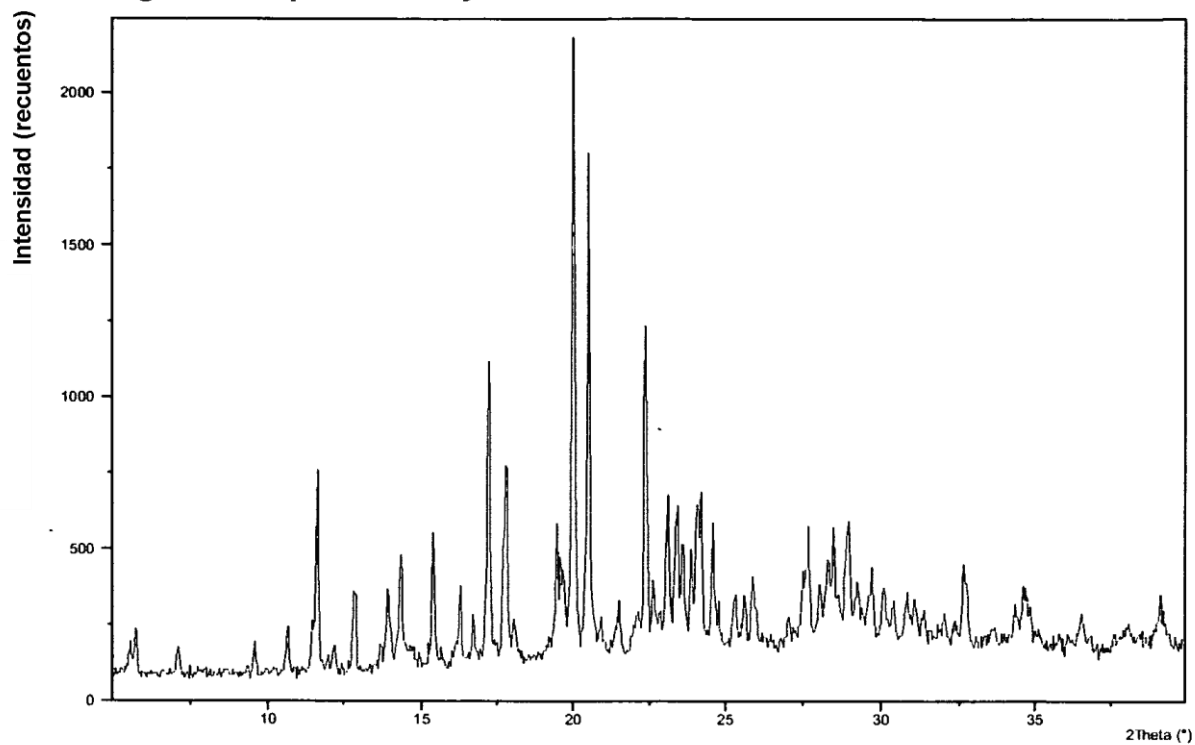


Fig. 5

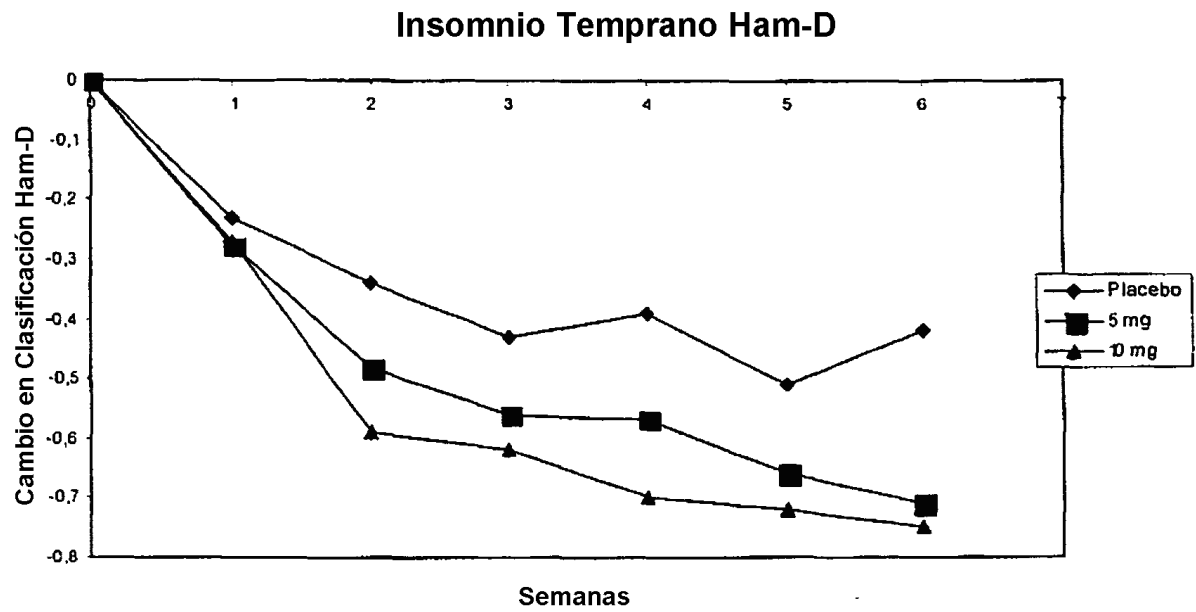


Fig. 6

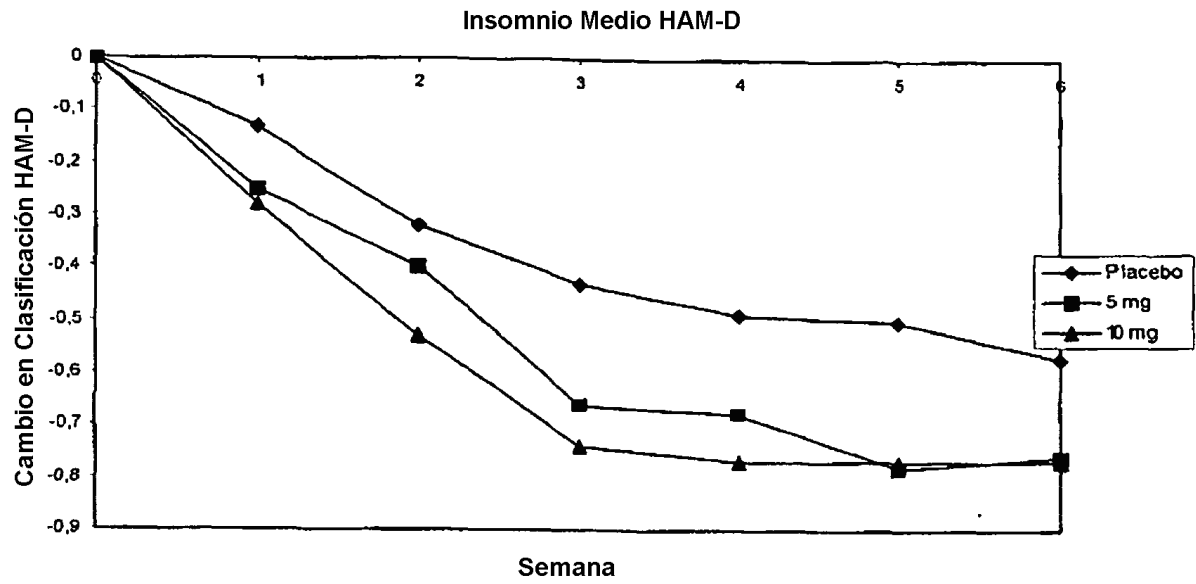


Fig 7

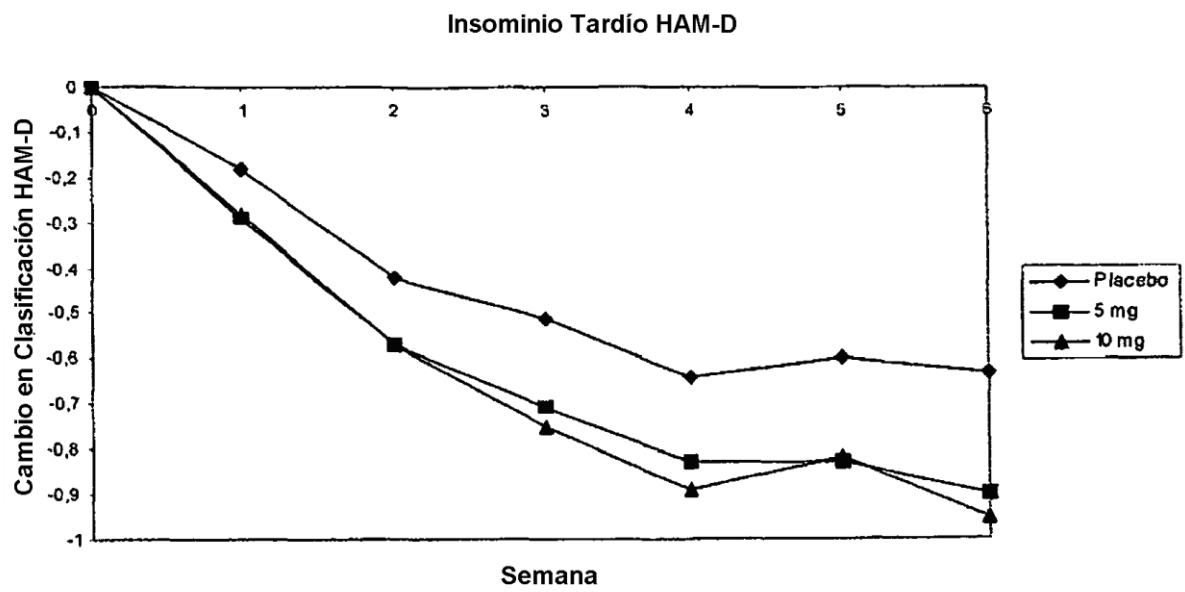


Fig 8

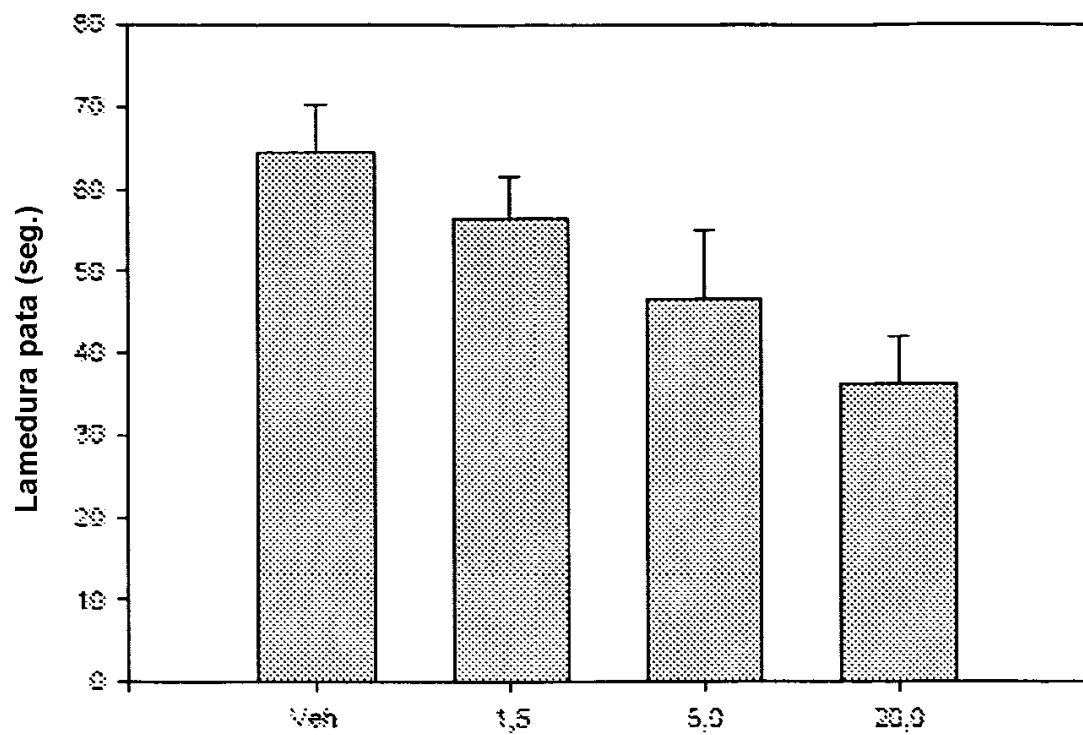


Fig.9a

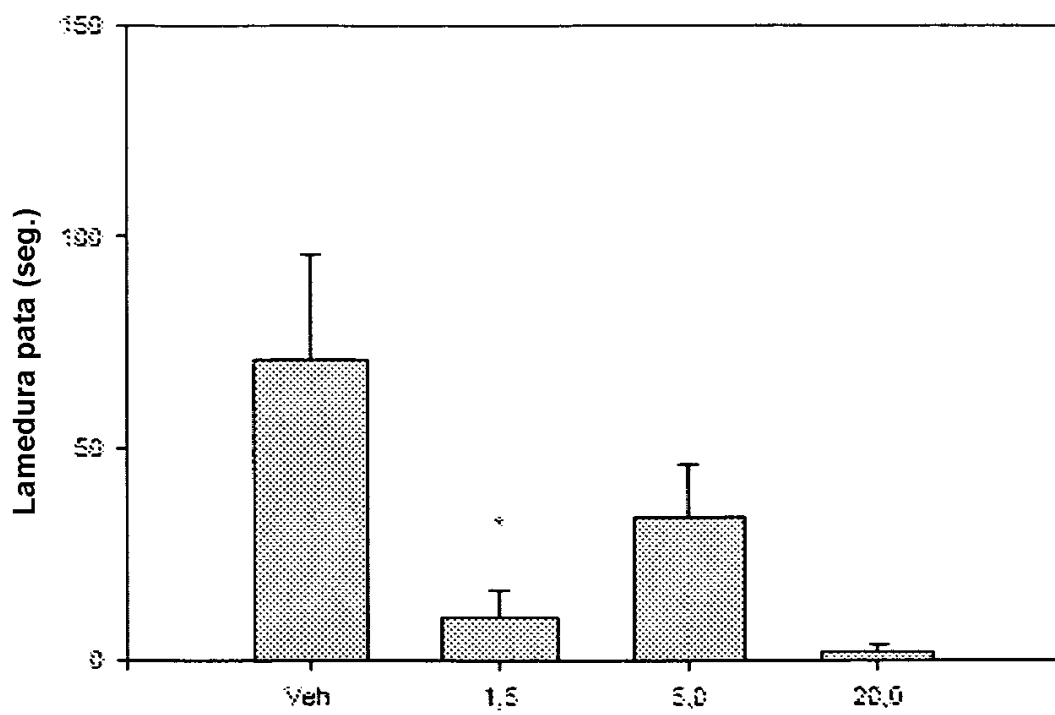


Fig. 9b

Ach en córtex prefrontal en ratas que se mueven libremente

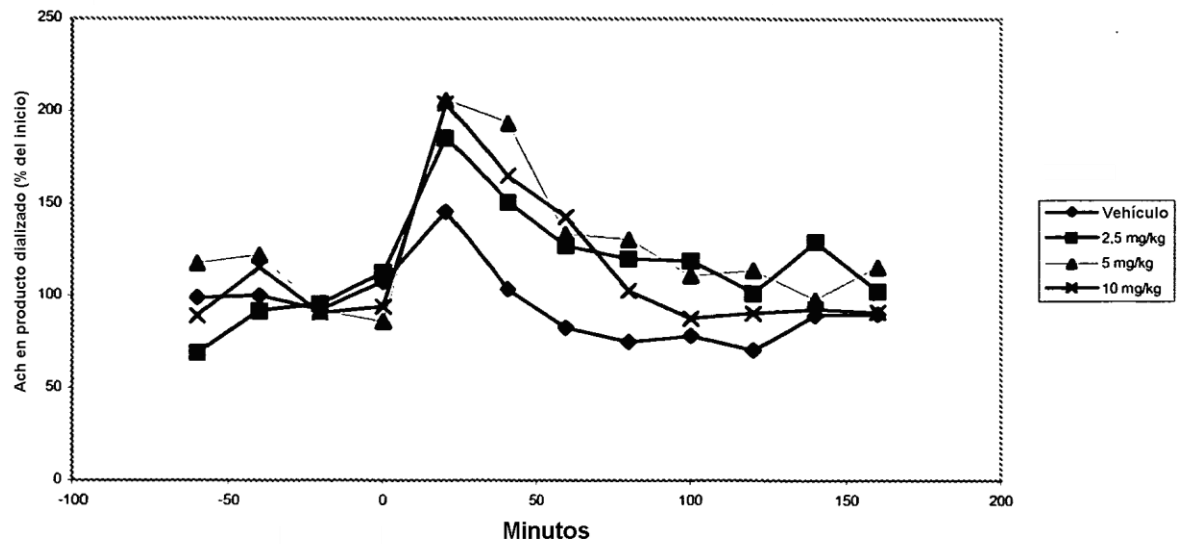


Fig. 10a

Ach en hipocampo ventral en ratas que se mueven libremente

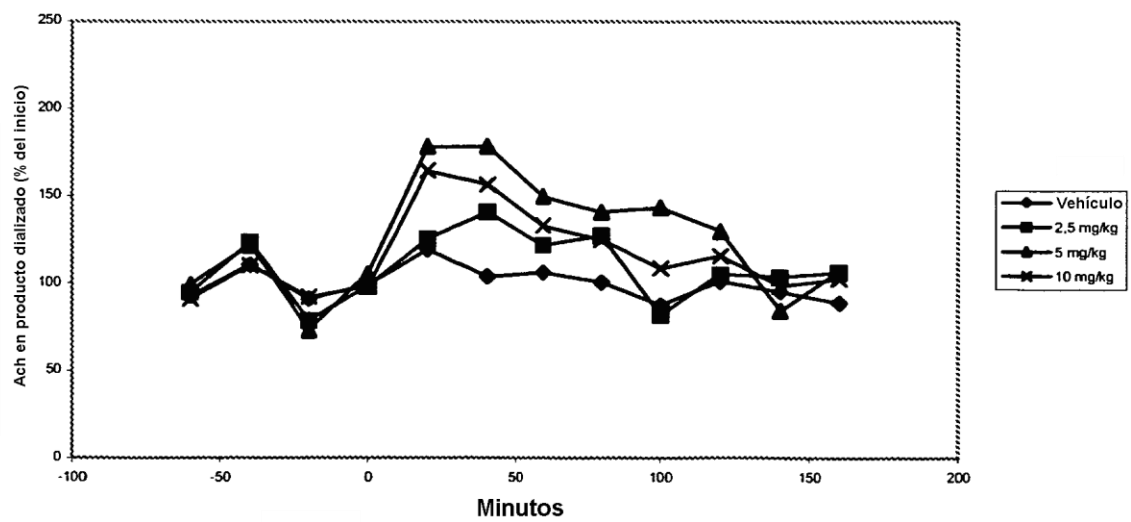


Fig. 10b

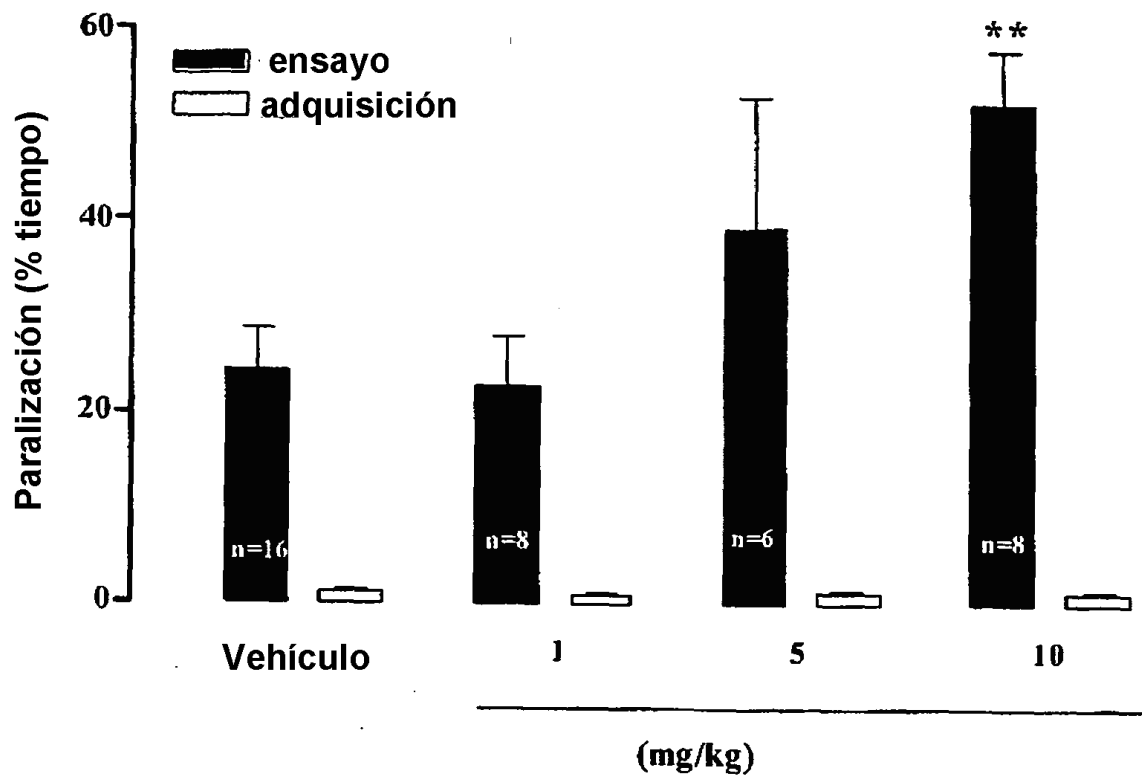


Fig. 11

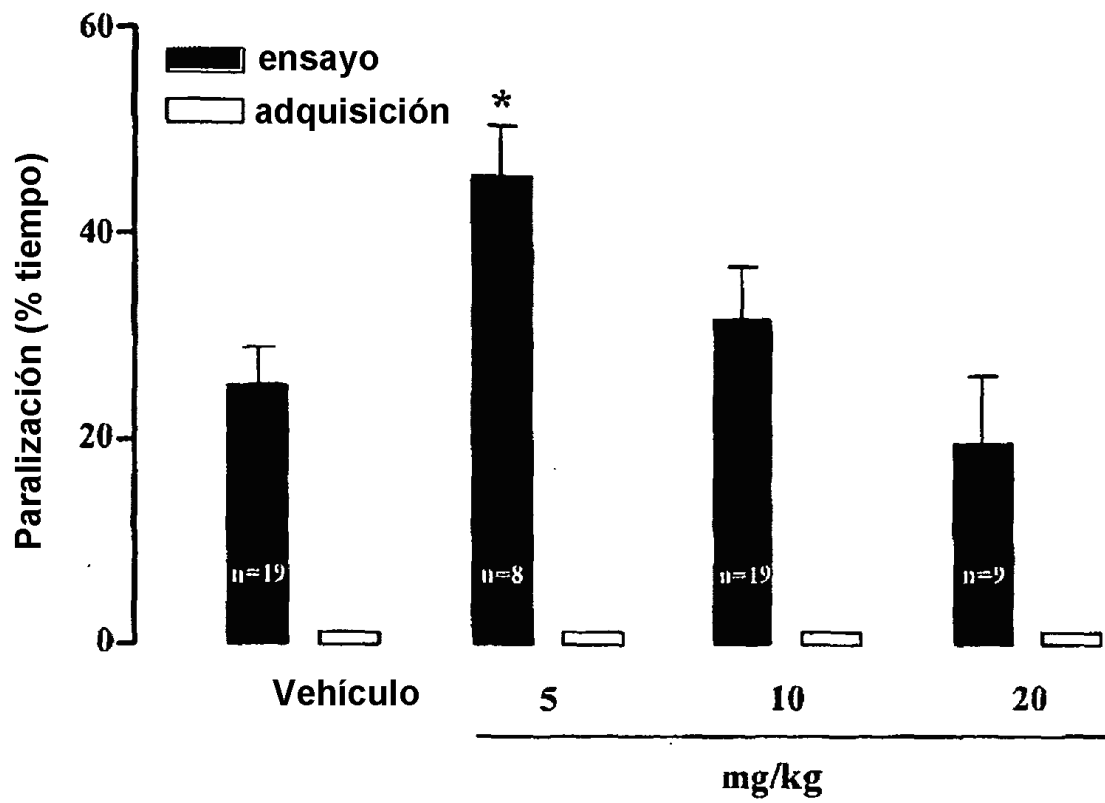


Fig. 12

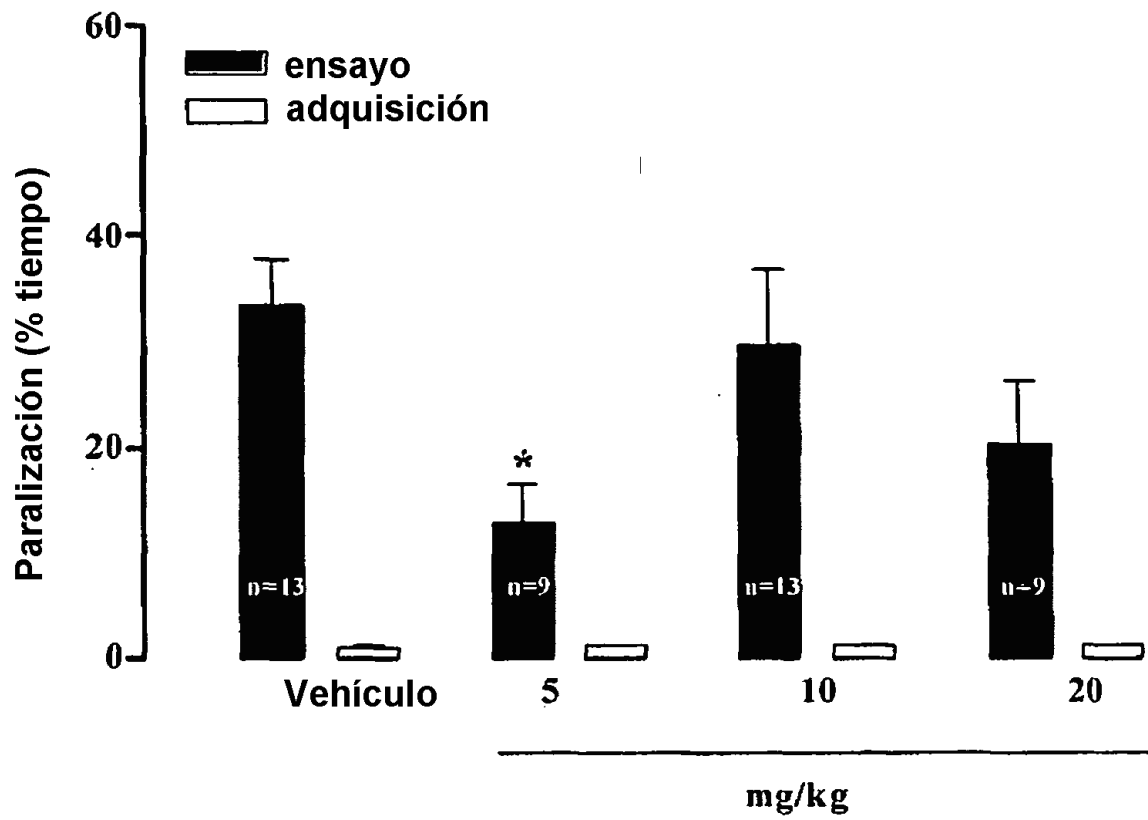


Fig. 13