



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 318 771**

51 Int. Cl.:
A61K 31/473 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06765238 .8**
96 Fecha de presentación : **04.08.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1855677**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.11.2007**

54 Título: **3,11b-cis-dihidotetrabenazinas para el tratamiento de la esquizofrenia y otras psicosis.**

30 Prioridad: **06.08.2005 GB 0516167**
16.08.2005 GB 0516790

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2009

73 Titular/es:
Cambridge Laboratories (Ireland) Limited
Alexander House, The Sweepstakes, Ballsbridge
Dublin 4, IE

72 Inventor/es: **Duffield, Andrew, John y**
Yarrow, Jean Elisabeth

74 Agente: **Gil Vega, Víctor**

ES 2 318 771 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

3,11b-*cis*-dihidotetabenazinas para el tratamiento de la esquizofrenia y otras psicosis.

5 Esta invención se refiere a la utilización de una dihidrotetabenazina para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de una psicosis.

Antecedentes de la invención

10 El término “psicosis” es un término psiquiátrico genérico para definir estados mentales en los que los componentes del pensamiento racional y la percepción están severamente deteriorados. Las personas que experimentan una psicosis pueden sufrir alucinaciones, tener comportamientos paranoicos o delirantes, mostrar cambios en su personalidad y un pensamiento desorganizado. Normalmente esto viene acompañado de una falta de percepción para comprender la naturaleza inusual o rara de su comportamiento, dificultades en la interacción social y deficiencias para llevar a cabo las actividades del día a día. Esencialmente, un episodio psicótico implica la pérdida de contacto con la realidad.

15 A menudo, la psicosis se considera como un síntoma de enfermedad mental grave. Aunque no esté vinculada exclusivamente a ningún estado psicológico o físico particular, se asocia particularmente a la esquizofrenia, al trastorno bipolar (depresión maníaca) y a la depresión clínica grave. Existen también diversas circunstancias físicas que pueden provocar un estado psicótico, incluyendo un trastorno electrolítico, infecciones del tracto urinario en personas mayores, síndromes dolorosos, toxicidad por drogas y síndrome de abstinencia (especialmente de alcohol, barbitúricos y a veces benzodiazepinas), así como infecciones o lesiones cerebrales (ahora estas psicosis se denominan comúnmente como trastornos mentales orgánicos).

20 La psicosis puede ser provocada o ser consecuencia de una lesión del cerebro y puede producirse después de la utilización de drogas, particularmente después de una sobredosis de droga, durante su uso crónico y durante la abstinencia.

25 Es sabido que el estrés psicológico crónico provoca también estados psicóticos, aunque el mecanismo exacto por el cual ocurre es incierto. La psicosis transitoria desencadenada por estrés se conoce como psicosis reactiva breve.

30 El estado de ánimo puede influir de forma significativa en los episodios psicóticos. Por ejemplo, las personas que experimentan un episodio psicótico en el contexto de una depresión pueden experimentar delirios o alucinaciones persecutorias o sentimientos de culpa, mientras que las personas que experimentan un episodio psicótico en el contexto de una manía pueden construir delirios de grandeza o tener una experiencia de profundo significado religioso.

35 Las alucinaciones se definen como una percepción sensorial en ausencia de estímulo externo. Las alucinaciones psicóticas pueden tener lugar en cualquiera de los cinco sentidos y toman casi cualquier forma, lo que puede incluir sensaciones sencillas (tales como luces, colores, sabores, olores) hasta experiencias más significativas, tales como ver e interactuar con animales y personas totalmente inventadas, oír voces y sensaciones táctiles complejas.

40 Las alucinaciones auditivas, en particular la experiencia de oír voces, son una característica común y a menudo destacada de las psicosis. Voces alucinadas pueden hablar sobre o a la persona y pueden involucrar a varios interlocutores con distintas personas. Las alucinaciones auditivas tienden a ser particularmente angustiosas cuando son despectivas, autoritarias o preocupantes.

45 La psicosis puede implicar un comportamiento delirante o paranoico. Los delirios psicóticos se pueden clasificar en los tipos primario y secundario. Los delirios primarios se definen como aquellos que surgen repentinamente y no son comprensibles en términos de procesos mentales normales, mientras que los delirios secundarios se pueden entender como siendo influenciados por los antecedentes de la persona o su situación actual.

50 Los trastornos del pensamiento implican un trastorno subyacente del pensamiento consciente y se clasifican en gran parte según sus efectos sobre el habla y la escritura. Las personas afectadas pueden mostrar presión del habla (hablar continua y rápidamente), divagación o fuga de ideas (cambio de tema en medio de la frase o inadecuadamente), bloqueo del pensamiento, versificación o juegos de palabras.

55 Una característica importante y mal entendida de la psicosis es que normalmente conlleva una falta de elementos para comprender la naturaleza inusual, extraña o rara de la experiencia o comportamiento de la persona. Aun en el caso de una psicosis aguda, los enfermos pueden parecer completamente inconscientes de que sus fuertes alucinaciones y de que sus imposibles delirios son en todo caso poco realistas. Sin embargo, esta percepción puede variar entre individuos y durante todo el episodio psicótico. En algunos casos, en particular con las alucinaciones auditivas y visuales, el paciente tiene una buena percepción y eso hace que la experiencia psicótica sea aun más espantosa, ya que el paciente se da cuenta de que no tendría que oír voces, pero las oye.

65 Existen diversas posibles causas de psicosis. La psicosis puede ser resultado de una enfermedad mental subyacente, tal como un trastorno bipolar (también conocido como depresión maníaca) y la esquizofrenia. La psicosis puede ser desencadenada o exacerbada por el estrés mental grave y por la toma de altas dosis o crónico de drogas tales como anfetaminas, LSD, PCP, cocaína o escopolamina. El abandono brusco de drogas depresoras del SNC, tales como

alcohol y benzodiazepinas, puede desencadenar también episodios psicóticos. Como se puede observar a partir de la gran variedad de enfermedades y estados en los que se ha señalado la aparición de la psicosis (incluidos por ejemplo, SIDA, lepra, malaria e incluso paperas) no existe ninguna causa singular del episodio psicótico.

5 La esquizofrenia es el nombre dado a un grupo de trastornos psicóticos normalmente caracterizados por un abandono de la realidad, modelos de pensamiento ilógicos, delirios y alucinaciones y acompañados en distintos grados de otros trastornos emocionales, del comportamiento o intelectuales. La esquizofrenia se asocia a un desequilibrio de la dopamina en el cerebro y a defectos del lóbulo frontal y es causada por factores genéticos y otros factores biológicos, así como por factores psicosociales.

10 Los medicamentos tradicionalmente utilizados para tratar psicosis tales como aquellas asociadas a la esquizofrenia (los denominados antipsicóticos “típicos”) controlan eficazmente las alucinaciones, los delirios y la confusión asociados a estos estados. Estos medicamentos están disponibles desde mediados de los años 50, como ejemplos se incluyen haloperidol, clorpromazina y flufenazina. Estos medicamentos actúan básicamente bloqueando los receptores de la dopamina y son eficaces en el tratamiento de los síntomas “positivos” de la psicosis.

20 En las rutas primarias para la dopamina se ven implicadas cuatro zonas principales del cerebro. Éstas Incluyen los sistemas nigrostriatal, mesocortical, mesolímbico y tuberoinfundibular. La actividad reducida de la dopamina en el tracto mesocortical (tal como se observa en el paciente esquizofrénico) resulta en una incapacidad de las zonas prefrontales del cerebro para activarse. Los síntomas positivos, tales como alucinaciones y delirios, pueden ocurrir cuando tiene lugar una hiperactividad de la dopamina en el tracto mesolímbico. Existen cinco subcategorías de receptores de la dopamina en el cerebro. Los antipsicóticos convencionales tienen un mayor impacto sobre el receptor D2. Los denominados agentes antipsicóticos “atípicos” (véase a continuación) normalmente tienen un efecto más débil sobre los receptores D2, con un bloqueo más eficaz sobre el receptor D4, que se encuentra principalmente en la corteza frontal y el hipocampo.

25 Los antipsicóticos convencionales (“típicos”) bloquean los receptores D2 de forma no selectiva en las cuatro zonas del cerebro. El efecto resultante en el tracto mesolímbico reduce las alucinaciones y delirios. Sin embargo, una reducción concurrente de la dopamina en la ruta nigrostriatal puede producir síntomas extrapiramidales. El bloqueo de la dopamina puede empeorar también los síntomas negativos y el funcionamiento cognitivo, disminuyendo además la cantidad de dopamina en la corteza frontal. El tracto tuberoinfundibular se ve afectado por todos los antipsicóticos convencionales, lo que puede provocar una disfunción neuroendocrina e hipotalámica. El bloqueo de la dopamina en el tracto tuberoinfundibular es responsable del aumento de los niveles de prolactina.

35 Así, el uso de antipsicóticos “típicos” se asocia a un diversos efectos secundarios no deseables.

40 Los antipsicóticos atípicos apuntan a la zona límbica de forma más específica cuando bloquean los receptores D2 de la dopamina. Por consiguiente, tienen menos impacto sobre las rutas nigrostriatal y mesocortical, lo que resulta en un menor potencial de efectos adversos. Tal como se ha observado anteriormente, tienden también a tener una mayor afinidad por los receptores D4 de la dopamina.

Los perfiles de unión al receptor de los medicamentos antipsicóticos atípicos se revisan en el artículo de A.E. Hensiek & M.R. Trimble, *J. Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, (2002), 72:281-285.

45 Los antipsicóticos “atípicos” más modernos, denominados a menudo antagonistas de la serotonina-dopamina (SDAs), bloquean los receptores tanto de la serotonina como de la dopamina, tratando así los síntomas tanto “positivos” como “negativos” de la esquizofrenia (véase H.Y. Meltzer, *J. Clin. Psychopharmacol.* (1995), Feb; 15(1 Suppl. 1):2S-3S y M. Huttunen, *J. Clin. Psychopharmacol.* (1995), Feb; 15(1 Suppl.1):4S-10S). Estos medicamentos más modernos son eficaces en el tratamiento de una gama más amplia de síntomas de la psicosis y la esquizofrenia y tienen menos efectos secundarios que los antipsicóticos tradicionales. Por ejemplo, son menos propensos que los antipsicóticos típicos a provocar efectos secundarios extrapiramidales y una elevación de la prolactina.

55 Ejemplos de estos antipsicóticos atípicos más modernos (“antagonistas de la serotonina-dopamina”) incluyen clozapina, risperidona, asenapina, olanzapina e iloperidona.

60 La tetrabenazina (nombre químico: 1,3,4,6,7,11b-hexahidro-9,10-dimetoxi-3-(2-metilpropil)-2H-benzo(a)quinolizina-2-ona) ha venido utilizándose como medicamento farmacéutico desde fines de los años 50. Inicialmente desarrollada como antipsicótico, la tetrabenazina se utiliza actualmente en el tratamiento sintomático de trastornos del movimiento hiperkinéticos, tales como la enfermedad de Huntington, hemibalismo, corea senil, tics, disquinesia tardía y síndrome de Tourette, véase por ejemplo Jankovic y col., *Am. J. Psychiatry*. (1999) Agosto; 156(8):1279-81 y Jankovic y col., *Neurology* (1997) Feb.; 48(2):358-62.

65

La estructura química de la tetrabenazina es la mostrada en la Figura 1 siguiente.

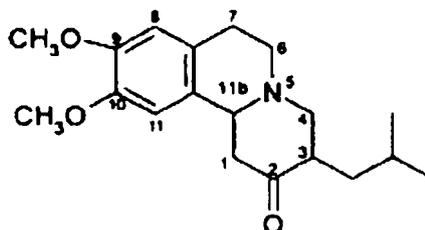


Figura 1 - Estructura de la tetrabenazina

El compuesto posee centros quirales en los átomos de carbono 3 y 11b y por tanto, teóricamente, puede existir en un total de cuatro formas isoméricas, tal como se muestra en la Figura 2.

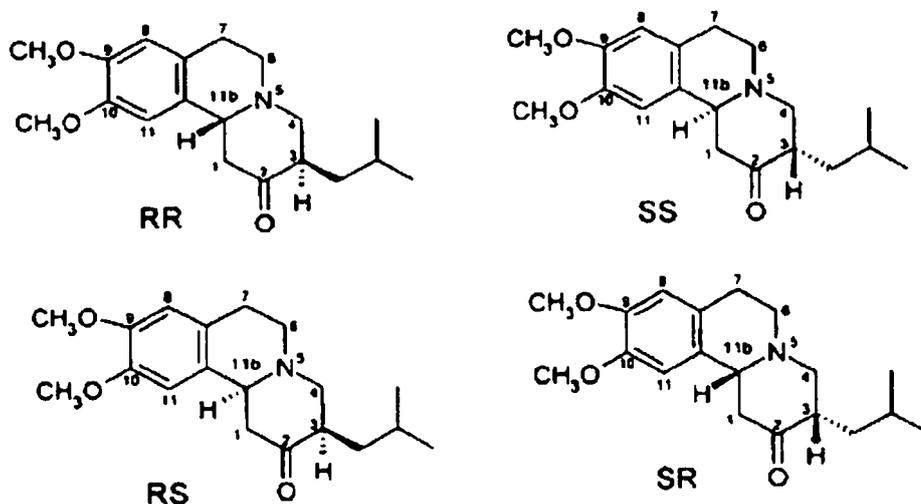


Figura 2 - Posibles isómeros de la tetrabenazina

En la Figura 2, la estereoquímica de cada isómero se define utilizando la nomenclatura “R y S” desarrollada por Cahn, Ingold y Prelog, véase *Advanced Organic Chemistry* por Jerry Marcha, 4th Edition, John Wiley & Sons, New York, 1992, hojas 109-114. En la Figura 2 y otros lugares en esta solicitud de patente, las designaciones “R” o “S” se dan en el orden de los números de posición de los átomos de carbono. Por tanto, por ejemplo RS es una notación abreviada de *3R,11bS*. De forma similar, cuando existen tres centros quirales, como en las dihidrotetrabenazinas descritas a continuación, las designaciones “R” o “S” se relacionan en el orden de los átomos de carbono 2, 3 y 11b. Así, el isómero *2S,3R,11bR* se menciona en su forma abreviada *SRR* y así sucesivamente.

La tetrabenazina comercial es una mezcla racémica de los isómeros *RR* y *SS* y parece que los isómeros *RR* y *SS* (en adelante denominados individual o colectivamente como *trans*-tetrabenazina debido a que los átomos de hidrógeno en las posiciones 3 y 11b tienen una orientación relativa *trans*) son los isómeros termodinámicamente más estables.

La tetrabenazina tiene una biodisponibilidad algo escasa y variable. Se metaboliza ampliamente mediante un metabolismo de primer paso y se detecta típicamente en la orina tetrabenazina en una pequeña o invariable cantidad. El principal metabolito es la dihidrotetrabenazina (nombre químico: 2-hidroxi-3-(2-metilpropil)-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-9,10-dimetoxibenzo(a)quinolizina), que se forma mediante la reducción del grupo 2-ceto de la tetrabenazina y de la que se piensa es la principal responsable de la actividad del medicamento (véase Mehvar y *col.*, *Drug Metab. Disp.*, 15, 250-255 (1987) y *J. Pharm. Sci.*, 76, No. 6, 461-465 (1987)).

Se han identificado y caracterizado previamente cuatro isómeros de la dihidrotetrabenazina, los cuales se derivan de los isómeros *RR* y *SS* más estables de la tetrabenazina original y tienen una orientación relativa *trans* entre los átomos de hidrógeno en las posiciones 3 y 11b (véase Kilbourn y *col.*, *Chirality*, 9:59-62 (1997) y Brossi y *col.*, *Helv. Chim. Acta.*, vol. XLI, No. 193, pp 1793-1806 (1958)). Los cuatro isómeros son (+)- α -dihidrotetrabenazina, (-)- α -

dihidrotetrabenazina, (+)- β -dihidrotetrabenazina y (-)- β -dihidrotetrabenazina. Se considera que las estructuras de los cuatro isómeros *trans*-dihidrotetrabenazina conocidos son los mostrados en la Figura 3.

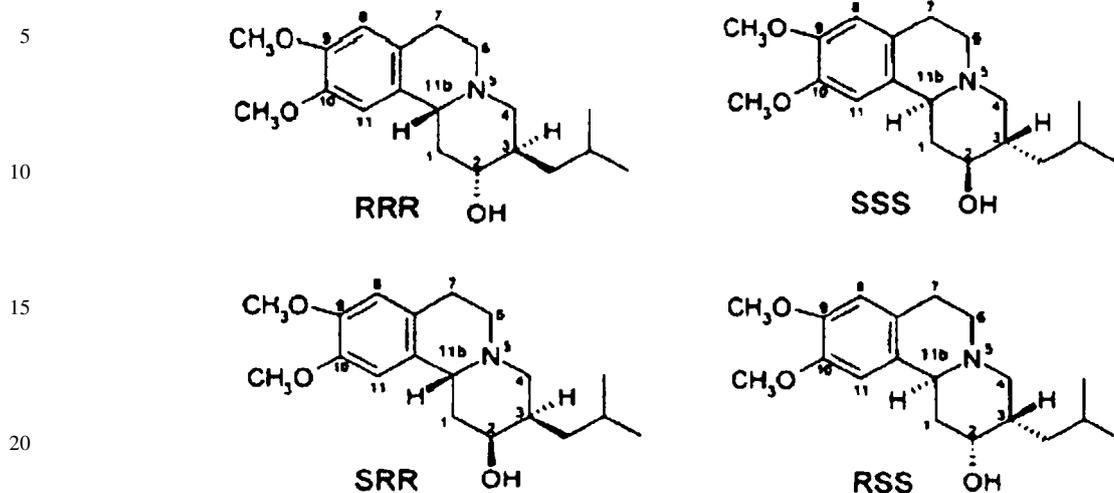


Figura 3 - Estructuras de los isómeros conocidos de la dihidrotetrabenazina

25

30

35

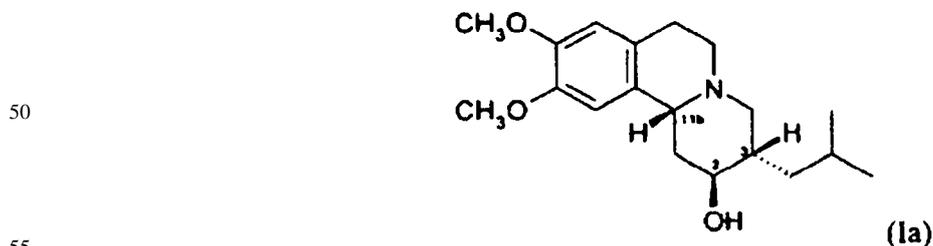
Kilbourn y *col.*, (véase *Eur. J. Pharmacol.*, 278:249-252 (1995) y *Med. Chem. Res.*, 5:113-126 (1994)) investigaron la unión específica de los isómeros de dihidrotetrabenazina radiomarcados individuales en el cerebro consciente de la rata. Descubrieron que el isómero (+)- α -[^{11}C]dihidrotetrabenazina (2*R*,3*R*,11*bR*) se acumulaba en las regiones del cerebro asociadas a concentraciones más altas del transportador de la dopamina en la membrana neuronal (DAT) y del transportador vesicular de monoaminas (VMAT2). Sin embargo, el isómero de (-)- α -[^{11}C]dihidrotetrabenazina esencialmente inactivo se distribuía casi uniformemente en el cerebro, lo que sugiere que no tenía lugar la unión específica a DAT y VMAT2. Los estudios *in vivo* en correlación con los estudios *in vitro* demostraron que el isómero (+)- α -[^{11}C]dihidrotetrabenazina tiene una K_i para [^3H]metoxitetrabenazina > 2.000 veces más alto que la K_i para el isómero (-)- α -[^{11}C]dihidrotetrabenazina.

40

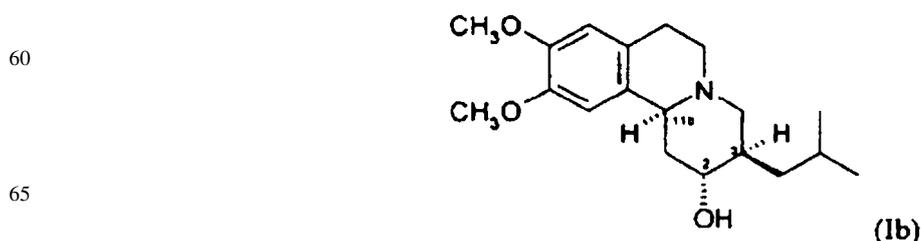
Nuestra solicitud de patente internacional anterior N° PCT/GB2005/000464 revela la preparación y la utilización de isómeros farmacéuticos de la dihidrotetrabenazina derivados de los isómeros *RS* y *SR* inestables (en adelante denominados individual o colectivamente *cis*-tetrabenazina debido a que los átomos de hidrógeno en las posiciones 3 y 11b tienen una orientación relativa *cis*) de tetrabenazina.

Existen cuatro posibles isómeros de dihidrotetrabenazina con la configuración 3,11*b-cis* y se trata del isómero 2*S*,3*S*,11*bR*, del isómero 2*R*,3*R*,11*bS*, el isómero 2*R*,3*S*,11*bR* y el isómero 2*S*,3*R*,11*bS*, que son como los siguientes:

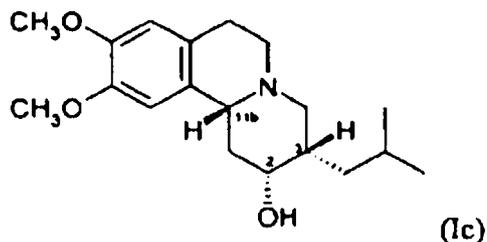
45 (a) el isómero 2*S*,3*S*,11*bR* de 3,11*b-cis*-dihidrotetrabenazina de fórmula (Ia):



(b) el isómero 2*R*,3*R*,11*bS* de 3,11*b-cis*-dihidrotetrabenazina de fórmula (Ib):

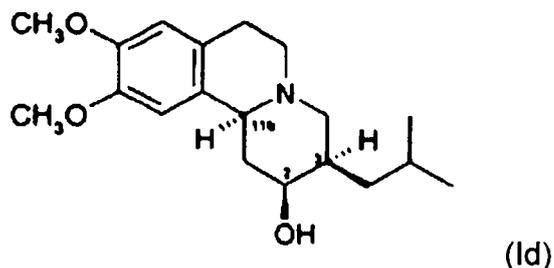


(c) el isómero *2R,3S,11bR* de 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Ic):



y

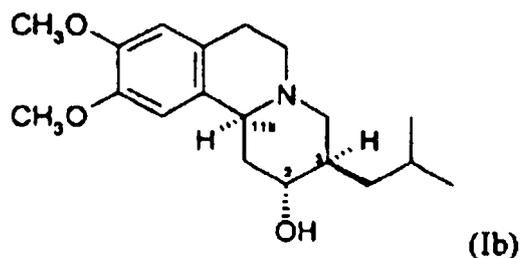
(d) el isómero *2S,3R,11bS* de 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Id):



Sumario de la invención

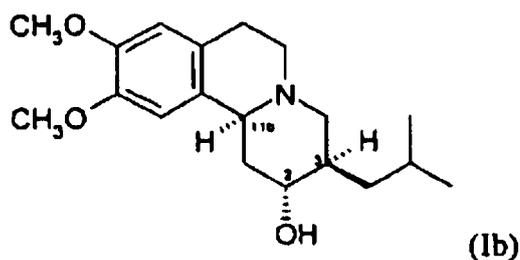
30 Se ha descubierto ahora que el isómero *2R,3R,11bS* de 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Ib) descrito en nuestra solicitud anterior N° PCT/GB2005/000464 muestra unos perfiles de unión al receptor en general similares a los perfiles de unión al receptor de los agentes antipsicóticos atípicos. En particular, el isómero *2R,3R,11bS* presenta una actividad inhibidora tanto dopaminérgica como serotoninérgica. El perfil de unión al receptor indica que el isómero *2R,3R,11bS* será de aplicación en la profilaxis o en el tratamiento de la psicosis, por ejemplo la psicosis que resulta o viene asociada a la esquizofrenia.

40 En consecuencia, en un primer aspecto, la invención proporciona una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Ib):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su utilización en la profilaxis o el tratamiento de la psicosis.

55 En otro aspecto, la invención proporciona una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Ib):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su utilización en la profilaxis o en el tratamiento de la esquizofrenia.

ES 2 318 771 T3

El compuesto de fórmula (Ib), el isómero *2R,3R,11bS* de 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina, se denomina también aquí Isómero A.

La invención igualmente proporciona:

5

- La utilización del Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina, para la fabricación de un medicamento para (i) la profilaxis o el tratamiento de la psicosis; o (ii) la profilaxis o el tratamiento de la esquizofrenia.

10

- La utilización del Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina para la fabricación de un medicamento para prevenir o aliviar un episodio psicótico.

15

- Una utilización o un compuesto para su uso tal como se define anteriormente caracterizado porque la psicosis o el episodio psicótico se origina o se asocia a la esquizofrenia.

- La utilización del Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina, para la fabricación de un medicamento para prevenir, aliviar o reducir uno o más síntomas de la esquizofrenia.

20

Los episodios psicóticos, la psicosis o síntomas prevenidos, aliviados o reducidos de acuerdo con la invención pueden ser cualquiera de uno o más síntomas seleccionados de entre:

25

- delirios;

- alucinaciones;

- alucinaciones visuales;

- alucinaciones auditivas;

30

- alucinaciones que implican sensaciones táctiles, sabores u olores;

- confusión;

35

- trastornos emocionales, de comportamiento o intelectuales;

- abandono de la realidad;

- modelos ilógicos y/o desorganizados del pensamiento;

40

- comportamientos paranoicos o delirantes;

- paranoia

45

- delirios de grandeza;

- delirios de persecución o sentimientos de culpa; y

- cambios de la personalidad.

50

Los episodios psicóticos, las psicosis o síntomas prevenidos, aliviados o reducidos de acuerdo con la invención pueden ser cualquiera de uno o más de los seleccionados de entre aquellos originados o asociados a:

55

- psicosis provocada por o asociada a la esquizofrenia;

- psicosis provocada por o asociada al trastorno bipolar (depresión maníaca);

- psicosis provocada por o asociada a depresión clínica grave,

60

- psicosis provocada por trastornos y condiciones tales como:

- trastorno electrolítico;

- infecciones del tracto urinario en las personas mayores;

65

- síndromes de dolor;

ES 2 318 771 T3

- toxicidad por drogas;
- abstinencia de drogas; e
- infecciones o lesiones del cerebro;

- psicosis provocada por estrés psicológico crónico (psicosis reactiva breve);
- psicosis desencadenada o exacerbada por estrés mental grave; y
- psicosis desencadenada u originada o que sigue enfermedades y estados tales como SIDA, lepra, malaria y paperas.

En una realización, los síntomas o psicosis se originan o están asociadas a la esquizofrenia y pueden ser cualquiera de uno o más síntomas seleccionados de entre:

- delirios;
- alucinaciones;
- confusión;
- trastornos emocionales, del comportamiento o intelectuales;
- abandono de la realidad; y
- modelos ilógicos del pensamiento.

El Isómero A, *cis*-dihidotetabenazina, utilizado en la invención puede encontrarse en una forma sustancialmente pura, por ejemplo con una pureza isomérica superior al 90%, típicamente superior al 95% y en especial superior al 98%.

El término “pureza isomérica” en el presente contexto se refiere a la cantidad de Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidotetabenazina, presente con respecto a la cantidad total o a la concentración de dihidrotetabenazina de todas las formas isoméricas. Por ejemplo, si el 90% de la dihidrotetabenazina total presente en la composición es el Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidotetabenazina, entonces la pureza isomérica es del 90%.

El Isómero A, 11b-*cis*-dihidotetabenazina, utilizado en la invención puede encontrarse en forma de una composición que está sustancialmente exenta de 3,11b-*trans*-dihidotetabenazina, que contiene preferentemente menos del 5% de 3,11b-*trans*-dihidotetabenazina, en especial menos del 3% de 3,11b-*trans*-dihidotetabenazina y de forma especialmente preferente menos del 1% de 3,11b-*trans*-dihidotetabenazina.

El Isómero A puede caracterizarse por sus propiedades espectroscópicas, ópticas y cromatográficas, tal como se describe en los Ejemplos a continuación, y también por sus configuraciones estereoquímicas absolutas tal como se determinan por cristalografía de rayos X.

El Isómero A se puede presentar de manera sustancial en una forma enantioméricamente pura o como mezcla con otros enantiómeros de 3,11b-*cis*-dihidotetabenazina tal como se describe aquí.

Los términos “pureza enantiomérica” y “enantioméricamente puro” en el presente contexto se refiere a la cantidad de Isómero A, 3,11b-*cis*-dihidotetabenazina, presente con respecto a la cantidad total o concentración de dihidrotetabenazina de todas las formas enantioméricas e isoméricas. Por ejemplo, si el 90% de la dihidrotetabenazina total presente en la composición se encuentra en forma de un enantiómero único, entonces la pureza enantiomérica es del 90%.

A modo de ejemplo, en cada aspecto y realización de la invención, el Isómero A puede estar presente en una pureza enantiomérica de al menos un 55% (por ejemplo, al menos un 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 100%).

El Isómero A también se puede presentar en forma de mezcla con uno o más de los Isómeros B, C y D. Estas mezclas pueden ser mezclas racémicas o mezclas no racémicas. Ejemplos de mezclas racémicas incluyen la mezcla racémica del Isómero A y el Isómero B.

ES 2 318 771 T3

Sales Farmacéuticamente Aceptables

Salvo que el contexto lo exija de otro modo, una referencia en esta solicitud al Isómero A incluye dentro de su alcance no sólo la base libre de la dihidrotetrabenazina sino también sus sales y en particular sales de adición ácido.

Los ácidos particulares a partir de los cuales se obtienen las sales de adición de ácido incluyen aquellos ácidos con un valor pKa inferior a 3,5 y normalmente inferior a 3. Por ejemplo, las sales de adición de ácido pueden formarse a partir de un ácido con un pKa en el rango de +3,5 a -3,5.

Las sales de adición de ácido preferentes incluyen aquellas formadas con ácidos sulfónicos, tales como ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluensulfónico, ácido canforsulfónico y ácido naftalenosulfónico.

Una ácido particular a partir del cual se pueden formar sales de adición de ácido es el ácido metanosulfónico.

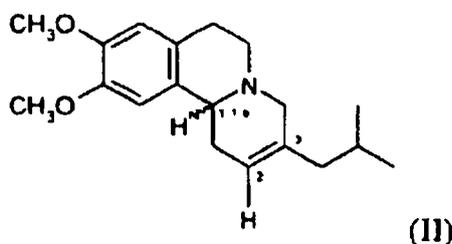
Las sales de adición de ácido se pueden preparar mediante los métodos descritos aquí o por métodos químicos convencionales, tales como los métodos descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 páginas, Agosto 2002. En general, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de la forma de base libre del compuesto con la base o ácido adecuado, en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos; en general, se utilizan medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

Las sales son típicamente sales farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, las sales que no son farmacéuticamente aceptables se pueden preparar también como formas intermedias que luego se pueden convertir en sales farmacéuticamente aceptables. Estas formas de sales no farmacéuticamente aceptables forman parte también de la invención.

Métodos para la Preparación de Isómeros de Dihidrotetrabenazina

En esta sección, se describen los métodos para preparar los cuatros isómeros de 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina aunque la invención se refiera solamente a los usos terapéuticos del compuesto de Fórmula (Ib) (Isómero A).

Las dihidrotetrabenazinas se pueden preparar mediante un proceso que comprende la reacción de un compuesto de Fórmula (II):



con un reactivo o reactivos adecuados para hidratar el 2,3-doble enlace en el compuesto de Fórmula (II) y a continuación, donde sea necesario, la separación y aislamiento de una forma deseada del isómero de dihidrotetrabenazina.

La hidratación del 2,3-doble enlace se puede llevar a cabo por hidroboreación utilizando un reactivo de borano tal como diborano o un borano-éter (por ejemplo, borano-tetrahidrofurano (THF)) para producir un aducto intermedio de alquilborano, seguido de la oxidación del aducto de alquilborano e hidrólisis en presencia de una base. La hidroboreación se lleva a cabo típicamente en un disolvente aprótico polar seco tal como un éter (por ejemplo, THF), habitualmente a una temperatura no elevada, por ejemplo a temperatura ambiente. El aducto de borano-alqueno se oxida típicamente con un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno en presencia de una base que proporciona una fuente de iones hidróxido, tales como hidróxido de amonio o un hidróxido de metal alcalino, por ejemplo hidróxido de potasio o hidróxido de sodio. La secuencia de reacciones de hidroboreación-oxidación-hidrólisis del Proceso A proporciona típicamente isómeros de dihidrotetrabenazina en los cuales los átomos de hidrógeno en las posiciones 2 y 3 tienen una orientación relativa *trans*.

Los compuestos de Fórmula (II) se pueden preparar mediante la reducción de tetrabenazina para producir una dihidrotetrabenazina seguida de la deshidratación de la dihidrotetrabenazina. La reducción de la tetrabenazina se puede llevar a cabo utilizando un reactivo de hidruro de aluminio, tal como hidruro de litio-aluminio, o un reactivo de borohidruro tal como borohidruro de sodio, borohidruro de potasio o un derivado de borohidruro, por ejemplo un borohidruro de alquilo, tal como el borohidruro de litio-*tri-sec*-butilo. Alternativamente, el paso de reducción se puede llevar a cabo mediante hidrogenación catalítica, por ejemplo con un catalizador de óxido de platino o de níquel Raney.

ES 2 318 771 T3

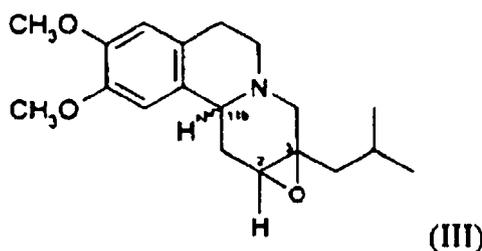
Las condiciones adecuadas para realizar el paso de reducción se describen más detalladamente a continuación o se pueden encontrar en la US 2.843.591 (Hoffmann-La Roche) y Brossi y *col.*, *Helv. Chim. Acta.*, vol. XLI, No. 193, pp 1793-1806 (1958).

5 Debido a que la tetrabenazina utilizada como material de partida para la reacción de reducción es típicamente una mezcla de los isómeros *RR* y *SS* (es decir, *trans*-tetrabenazina), la dihidrotetrabenazina formada por el paso de reducción tendrá la misma configuración *trans* aproximadamente en las posiciones 3 y 11b y adoptará la forma de uno o más de los isómeros de dihidrotetrabenazina conocidos mostrados en la Figura 3 anterior. Así, el Proceso A puede implicar tomar los isómeros conocidos de dihidrotetrabenazina, deshidatarlos para formar el alqueno (II) y luego "rehidratar" el alqueno (II) utilizando condiciones que producen los nuevos isómeros de *cis*-dihidrotetrabenazina 10 requeridos de la invención.

La deshidratación de la dihidrotetrabenazina en el alqueno (II) se puede llevar a cabo utilizando diversas condiciones estándar de deshidratación de alcoholes para formar alquenos, véase por ejemplo J. March (*idem*) páginas 389-15 390 y las referencias aquí. Ejemplos de estas condiciones incluyen el uso de agentes deshidratantes basados en fósforo tales como haluros de fósforo u oxihaluros de fósforo, por ejemplo POCl_3 y PCl_5 . Como alternativa para realizar la deshidratación, el grupo hidroxilo de la dihidrotetrabenazina se puede convertir en un grupo saliente L tal como un halógeno (por ejemplo cloro o bromo) y someterse luego a condiciones (por ejemplo en presencia de una base) para eliminar H-L. La conversión del grupo hidroxilo en un haluro puede conseguirse por métodos bien conocidos de los 20 químicos especializados, por ejemplo mediante la reacción con tetracloruro de carbono o tetrabromuro de carbono en presencia de una trialquil o triaril-fosfina, tal como trifenilfosfina o tributilfosfina.

La tetrabenazina utilizada como material de partida en la reducción para producir la dihidrotetrabenazina puede obtenerse comercialmente o puede sintetizarse por el método descrito en la US 2.830.993 (Hoffmann-La Roche).

25 Otro proceso (Proceso B) para preparar la 3,11b-*cis*-dihidrotetrabenazina comprende someter un compuesto de Fórmula (III):



40 a condiciones de apertura de anillo del grupo 2,3-epóxido del compuesto de Fórmula (III), y a continuación, cuando sea necesario, separar y aislar una forma deseada del isómero de dihidrotetrabenazina.

La apertura de anillo se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos conocidos de apertura de anillo epóxido. Sin embargo, un método actualmente preferente de apertura de anillo epóxido consiste en la apertura reductora del anillo, lo cual se puede conseguir utilizando un agente reductor tal como borano-THF. La reacción con borano-THF se puede llevar a cabo en un disolvente aprótico polar tal como éter (por ejemplo tetrahidrofurano) normalmente a temperatura ambiente, el complejo de borano así formado hidrolizándose posteriormente mediante su calentamiento en presencia de agua y una base hasta la temperatura de reflujo del disolvente. El Proceso B da lugar típicamente a isómeros de dihidrotetrabenazina en los cuales los átomos de hidrógeno en las posiciones 2 y 3 tienen una orientación relativa *cis*.

Los compuestos epoxídicos de Fórmula (III) se pueden preparar por epoxidación de un alqueno de Fórmula (II) anterior. La reacción de epoxidación se puede llevar a cabo utilizando condiciones y reactivos bien conocidos del químico especializado, véase por ejemplo J. March (*idem*), páginas 826-829 y sus referencias aquí. Típicamente, un perácido tal como ácido *meta*-cloroperbenzoico (MCPBA), o una mezcla de un perácido y otro agente oxidante tal como ácido perclórico, se pueden utilizar para efectuar la epoxidación.

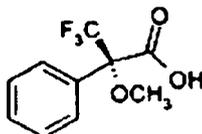
60 Cuando los materiales de partida para los procesos A y B anteriores son mezclas de enantiómeros, entonces los productos de los procesos serán típicamente pares de enantiómeros, por ejemplo mezclas racémicas, posiblemente junto con impurezas diastereoisoméricas. Los diastereoisómeros no deseados se pueden eliminar mediante técnicas tales como la cromatografía (por ejemplo, HPLC) y los enantiómeros individuales se pueden separar mediante varios métodos conocidos del químico especializado. Por ejemplo, se pueden separar por:

- 65 i) cromatografía quiral (cromatografía en soporte quiral); o
- ii) formación de una sal con un ácido quiral ópticamente puro, separación de las sales de los dos diastereoisómeros por cristalización fraccional y luego liberación de la dihidrotetrabenazina de la sal; o

iii) formación de un derivado (tal como un éster) con un agente derivatizante quiral ópticamente puro (por ejemplo agente esterificante), separación de los epímeros resultantes (por ejemplo por cromatografía) y luego conversión del derivado en la dihidrotetrabenazina.

5 Un método para separar pares de enantiómeros obtenidos a partir de cada uno de los Procesos A y B, y que se ha encontrado particularmente eficaz, consiste en esterificar el grupo hidroxilo de la dihidrotetrabenazina con una forma ópticamente activa del ácido de Mosher, tal como el isómero *R* (+) mostrado a continuación, o una forma activa del mismo:

10



15

20 Los ésteres resultantes de los dos enantiómeros de la dihidrobenazina se pueden separar entonces mediante cromatografía (por ejemplo HPLC) y los ésteres separados se hidrolizan para producir los isómeros individuales de dihidrobenazina utilizando una base, tal como un hidróxido de metal alcalino (por ejemplo NaOH), en un disolvente polar tal como metanol.

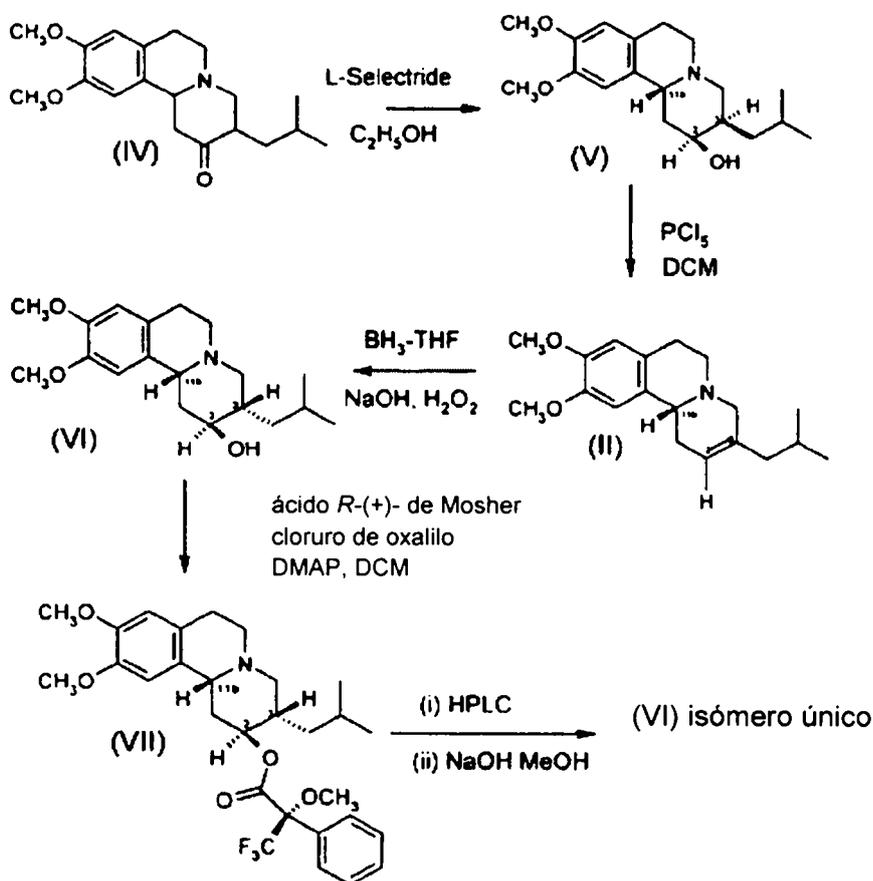
25 Como alternativa a la utilización de mezclas de enantiómeros como materiales de partida en los procesos A y B y separación posterior de los enantiómeros, los procesos A y B se pueden llevar a cabo ambos con materiales enantioméricos individuales de partida, los cuales conducen a productos en los que predomina un único enantiómero. Los enantiómeros únicos del alqueno (II) se pueden preparar sometiendo la tetrabenazina RR/SS a una reducción estereoselectiva con borohidruro de litio-tri-*sec*-butilo para producir una mezcla de enantiómeros SRR y RSS de dihidrotetrabenazina, separando los enantiómeros (por ejemplo por cristalización fraccionada) y deshidratando después un enantiómero único separado de la dihidrotetrabenazina para producir predominante o exclusivamente un enantiómero único del compuesto de Fórmula (II).

30

Los procesos A y B se ilustran de forma más detallada a continuación en los Esquemas 1 y 2 respectivamente.

Esquema 1

35



65

ES 2 318 771 T3

El Esquema 1 ilustra la preparación de isómeros individuales de dihidrotetrabenazina que tienen las configuraciones *2S,3S,11bR* y *2R,3R,11bS* en las cuales los átomos de hidrógeno fijados a las posiciones 2 y 3 están dispuestos en una orientación relativa *trans*. Este esquema de reacción incluye el Proceso A definido anteriormente.

5 El punto de partida para la secuencia de las reacciones del Esquema 1 es una tetrabenazina (IV) comercial que es una mezcla racémica de los isómeros ópticos RR y SS de tetrabenazina. En cada uno de los isómeros RR y SS, los átomos de hidrógeno en las posiciones 3 y 11b están dispuestos en una orientación relativa *trans*. Como alternativa a la utilización del compuesto comercial, la tetrabenazina se puede sintetizar de acuerdo con el procedimiento descrito en la patente de Estados Unidos nº 2.830.993 (véase el Ejemplo 11 en particular).

10 La mezcla racémica de tetrabenazina RR y SS se reduce por medio del agente reductor borohidruro, borohidruro de litio-tri-*sec*-butilo ("L-Selectride") para producir una mezcla de los isómeros (V) *2S,3R,11bR* y *2R,3S,11bS* de dihidrotetrabenazina, de los cuales sólo se muestra el isómero *2S,3R,11bR* para más sencillez. Al utilizar el L-Selectride, más estéricamente exigente, como agente reductor de borohidruro en lugar de borohidruro de sodio, se minimiza o suprime la formación de los isómeros RRR y SSS de dihidrotetrabenazina.

20 Los isómeros (V) de dihidrotetrabenazina se someten a reacción con un agente deshidratante tal como pentacloruro de fósforo, en un disolvente aprótico tal como un hidrocarburo clorado (por ejemplo cloroformo o diclorometano, preferentemente diclorometano), para formar el compuesto insaturado (II) en forma de un par de enantiómeros, del que sólo se muestra en el Esquema el enantiómero R. La reacción de deshidratación se lleva a cabo típicamente a una temperatura inferior a la temperatura ambiente, por ejemplo alrededor de 0-5°C.

25 El compuesto insaturado (II) se somete después a una rehidratación estereoselectiva para generar la dihidrotetrabenazina (VI) y su imagen especular o antípoda (no mostrada), en la que los átomos de hidrógeno en las posiciones 3 y 11b están dispuestos en una orientación relativa *cis* y los átomos de hidrógeno en las posiciones 2 y 3 están dispuestos en una orientación relativa *trans*. La rehidratación estereoselectiva se lleva a cabo mediante un procedimiento de hidrobioración utilizando borano-THF en tetrahidrofurano (THF) para formar un complejo intermedio de borano (no mostrado), que se oxida luego con peróxido de hidrógeno en presencia de una base tal como hidróxido de sodio.

30 Entonces se puede llevar a cabo un paso inicial de purificación (por ejemplo mediante HPLC) para dar el producto (V) de la secuencia de reacción de rehidratación como una mezcla de los isómeros *2S,3S,11bR* y *2R,3R,11bS*, de los cuales sólo se muestra en el Esquema el isómero *2S,3S,11bR*. Con el fin de separar los isómeros, se trata la mezcla con el ácido de Mosher (+), en presencia de cloruro de oxalilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en diclorometano para producir un par de ésteres diastereoisoméricos (VII) (de los cuales sólo se muestra un diastereoisómero), que se puede separar entonces mediante HPLC. Los ésteres individuales luego se pueden hidrolizar utilizando un hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido de sodio para producir un único isómero (VI).

40 En una variación de la secuencia de pasos mostrada en el Esquema 1, después de la reducción de RR/SS tetrabenazina, la mezcla resultante de enantiómeros de dihidrotetrabenazina (V) se puede separar para producir enantiómeros individuales. La separación se puede llevar a cabo por formación de una sal con un ácido quirral, tal como ácido (+) o (-) canforsulfónico, por separación de los diastereoisómeros resultantes mediante cristalización fraccionada para producir una sal de un único enantiómero y luego la liberación de la base libre de la sal.

45 El enantiómero separado de dihidrotetrabenazina se puede deshidratar para producir un único enantiómero del alqueno (II). La rehidratación posterior del alqueno (II) producirá entonces predominante o exclusivamente un único enantiómero de *cis*-dihidrotetrabenazina (VI). Una ventaja de esta variación es que no implica la formación de ésteres de ácido de Mosher y, por tanto, evita la separación cromatográfica típicamente utilizada para separar ésteres de ácido de Mosher.

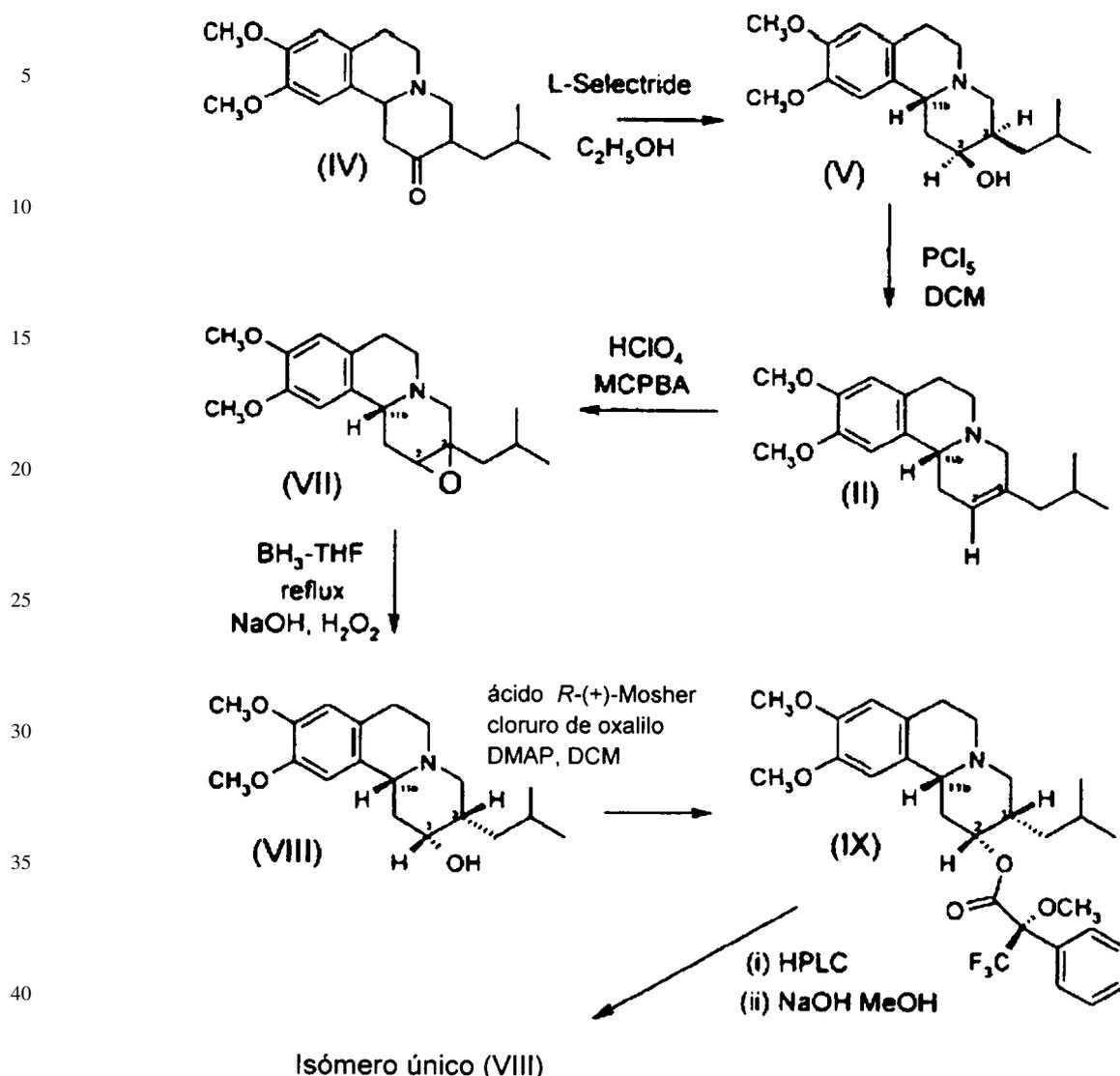
50 El Esquema 2 ilustra la preparación de isómeros individuales de dihidrotetrabenazina con las configuraciones *2R,3S,11bR* y *2S,3R,11bS*, en las cuales los átomos de hidrógeno fijados a las posiciones 2 y 3 están dispuestos en una orientación relativa *cis*. Este esquema de reacción incluye el Proceso B definido anteriormente.

55

60

65

Esquema 2



45 En el Esquema 2, el compuesto insaturado (II) se obtiene por reducción de la tetrabenazina para producir los isómeros (V) 2*S*,3*R*,11*bR* y 2*R*,3*S*,11*bS* de dihidrotetrabenazina y deshidratación con PCl_5 de la forma descrita anteriormente en el Esquema 1. Sin embargo, en lugar de someter el compuesto (II) a hidrobioración, el 2,3-doble enlace se convierte en un epóxido mediante la reacción con ácido *meta*-cloroperbenzoico (MCPBA) y ácido perclórico. La reacción de epoxidación se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente alcohólico, tal como metanol, típicamente a

50 aproximadamente temperatura ambiente.

Entonces se somete el epóxido (VII) a una apertura de anillo reductora utilizando borano-THF como agente reductor electrofílico, para producir un complejo intermedio de borano (no mostrado) que después se oxida y se segmenta con peróxido de hidrógeno en presencia de una base, tal como hidróxido de sodio, para producir una dihidrotetrabenazina (VIII) como mezcla de los isómeros 2*R*,3*S*,11*bR* y 2*S*,3*R*,11*bS*, de los cuales se muestra solamente para más sencillez el 2*R*,3*S*,11*bR*. El tratamiento de la mezcla de isómeros (VIII) con el ácido *R*(+) de Mosher en presencia de cloruro de oxalilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en diclorometano produce un par de ésteres epiméricos (IX) (del cual sólo se muestra un epímero), los cuales después se pueden separar mediante cromatografía e hidrolizar con hidróxido de sodio en metanol de la manera descrita anteriormente con relación al Esquema 1.

60 Formulaciones Farmacéuticas

El compuesto de *cis*-dihidrotetrabenazina de la invención se administra típicamente en forma de una composición farmacéutica.

65 Las composiciones farmacéuticas pueden encontrarse en cualquier forma adecuada para la administración oral, parenteral, tópica, intranasal, intrabronquial, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Cuando las composiciones se destinan a la administración parenteral, se pueden formular para administración intravenosa, intramuscular,

ES 2 318 771 T3

intraperitoneal, subcutánea o para el suministro directo en un órgano o tejido diana mediante inyección, infusión u otros medios de suministro.

5 Las formas de dosificación farmacéutica adecuadas a la administración oral incluyen tabletas, cápsulas, comprimidos oblongos, píldoras, pastillas, jarabes, soluciones, pulverizaciones, polvos, gránulos, elíxires y suspensiones, tabletas sublinguales, sprays, obleas o parches y parches bucales.

10 Las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de dihidrotetrabenazina de la invención se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas, véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA.

15 Así, las composiciones en tabletas pueden contener una dosificación unitaria del compuesto activo junto con un soporte o diluyente inerte tal como un azúcar o alcohol de azúcar, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol o manitol; y/o un diluyente no derivado de azúcar tal como carbonato de sodio, fosfato de calcio, talco, carbonato de calcio, o una celulosa o derivado de la misma, tal como metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, y almidones tal como almidón de maíz. Las tabletas pueden contener también ingredientes estándar como agentes ligantes y granulantes, tal como polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo polímeros reticulados hinchables tal como carboximetilcelulosa reticulada), agentes lubricantes (por ejemplo estearatos), conservantes (por ejemplo, parabenos), antioxidantes (por ejemplo BHT), agentes tampón (por ejemplo tampones fosfato o citrato) y agentes efervescentes, tales como mezclas citrato/bicarbonato. Estos excipientes son bien conocidos y no hace falta hablar detalladamente de ellos aquí.

20 Las formulaciones para cápsulas pueden ser de la variedad de gelatina dura o gelatina blanda y pueden contener el componente activo en forma sólida, semisólida o líquida. Las cápsulas de gelatina se pueden formar a partir de gelatina animal o sintética o equivalentes de la misma derivados de plantas.

25 Las formas sólidas de dosificación (por ejemplo, tabletas, cápsulas, etc.) se pueden recubrir o no recubrir, pero tienen típicamente un recubrimiento, por ejemplo un recubrimiento de película protectora (por ejemplo una cera o barniz) o un recubrimiento de liberación controlada. El recubrimiento (por ejemplo un polímero de tipo Eudragit™) puede diseñarse para liberar el componente activo en un lugar deseado dentro del tracto gastrointestinal. Así, el recubrimiento se puede seleccionar para degradarse en ciertas condiciones de pH dentro del tracto gastrointestinal, liberar selectivamente así el compuesto en el estómago o en el íleon o duodeno.

30 En lugar o además de un recubrimiento, el medicamento se puede presentar en una matriz sólida que comprende un agente de liberación controlada, por ejemplo un agente retardante de la liberación que se puede adaptar para liberar selectivamente el compuesto en condiciones de acidez o alcalinidad variable en el tracto gastrointestinal. Alternativamente, el material de la matriz o el recubrimiento retardante de la liberación puede tomar la forma de un polímero erosionable (por ejemplo un polímero de anhídrido maleico) que sustancialmente se erosiona continuamente a medida que la forma de dosificación pasa por el tracto gastrointestinal.

40 Las composiciones para uso tópico incluyen ungüentos, cremas, pulverizaciones, parches, geles, gotas líquidas e insertos (por ejemplo insertos intraoculares). Dichas composiciones se pueden formular de acuerdo con métodos conocidos.

45 Las composiciones para la administración parenteral se presentan típicamente como soluciones oleosas o acuosas estériles o finas suspensiones, o pueden ser proporcionadas en forma de polvo estéril finamente dividido para su elaboración extemporánea con agua estéril para inyección.

50 Ejemplos de formulaciones para administración rectal o intravaginal incluyen pesarios y supositorios, los cuales pueden formarse, por ejemplo, a partir de un material ceroso o moldeable perfilado que contiene el compuesto activo.

55 Las composiciones para la administración vía inhalación pueden adoptar la forma de composiciones inhalables de polvo o pulverizaciones líquidas o en polvo, y se pueden administrar de manera estándar utilizando dispositivos inhaladores de polvo o dispositivos dispensadores de aerosoles. Estos dispositivos son bien conocidos. Para la administración por inhalación, las formulaciones en polvo comprenden típicamente el compuesto activo junto con un diluyente en polvo sólido inerte, por ejemplo lactosa.

60 En general, el compuesto de la invención se presentará en forma de dosificación unitaria y, como tal, contendrá típicamente suficiente compuesto para proporcionar el nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación destinada a la administración oral puede contener de 2 miligramos a 200 miligramos de ingrediente activo, de forma más habitual de 10 miligramos a 100 miligramos, por ejemplo, 12,5 miligramos, 25 miligramos y 50 miligramos.

Métodos de Tratamiento

65 El compuesto activo se administrará a un paciente que lo necesite (por ejemplo un paciente humano o animal) en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.

El paciente que necesita esta administración es un paciente que sufre o muestra o corre el riesgo de padecer o mostrar una o más psicosis, por ejemplo una psicosis característica de la esquizofrenia.

El efecto deseado puede ser la prevención, el alivio o la reducción de la gravedad de la psicosis o de uno o más síntomas de la misma. Estos síntomas son bien conocidos del especialista (por ejemplo un médico especializado) que será capaz de valorar mediante una evaluación clínica y probar de una manera convencional si la administración de un compuesto de la invención ha resultado o no en un cambio en los síntomas mostrados por el paciente.

El compuesto se administrará típicamente en cantidades que sean terapéutica o profilácticamente útiles y que, en general, no sean tóxicas. Sin embargo, en ciertas situaciones, los beneficios de administrar el compuesto de dihidrotetrabenazina de la invención pueden pesar más que los inconvenientes de todo efecto tóxico o secundario, en cuyo caso se puede considerar deseable administrar los compuestos en cantidades que están asociadas a un grado de toxicidad.

Una dosis diaria típica del compuesto puede alcanzar los 1.000 mg al día, por ejemplo en el rango de 0,01 miligramos a 10 miligramos por kilogramo de peso corporal, de forma más habitual de 0,025 miligramos a 5 miligramos por kilogramo de peso corporal, por ejemplo hasta 3 miligramos por kilogramo de peso corporal y de forma más típica de 0,15 miligramos a 5 miligramos por kilogramo de peso corporal, aunque se puedan administrar, cuando sea necesario, dosis mayores o menores.

Finalmente, sin embargo, la cantidad de compuesto administrado será proporcional a la naturaleza de la enfermedad o al estado psicológico que se está tratando y los beneficios terapéuticos, así como la presencia o ausencia de efectos secundarios producidos por un régimen determinado de dosificación, y será a juicio del médico.

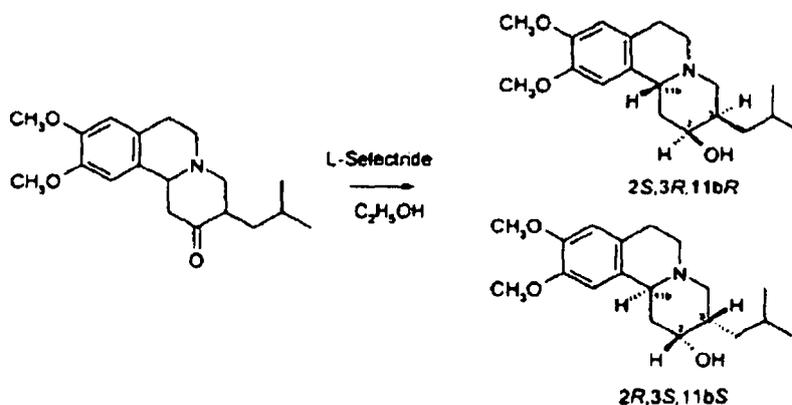
Ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran la síntesis y las propiedades de los isómeros 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina. Los ejemplos describen los cuatro isómeros de 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina aunque la invención se limite a los usos terapéuticos del Isómero A (compuesto de Fórmula (Ib)). Los ejemplos relacionados con los demás isómeros se conservan como ejemplos comparativos.

Ejemplo 1

Preparación de los Isómeros 2S,3S,11bR y 2R,3R,11bS de la dihidrotetrabenazina

1A. Reducción de la RR/SS tetrabenazina

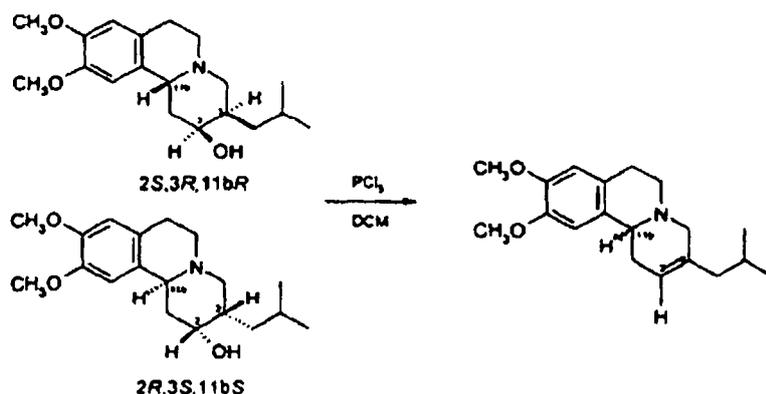


Se añadió L-Selectride® 1M en tetrahydrofurano (135 ml, 135 mmol, 2,87 eq) lentamente durante 30 minutos a una solución agitada del racemato *RR/SS* de tetrabenazina (15 g, 47 mmol) en etanol (75 ml) y tetrahydrofurano (75 ml) a 0°C. Al finalizar la adición, se agitó la mezcla a 0°C durante 30 minutos y luego se dejó calentar a temperatura ambiente.

Se vertió la mezcla sobre hielo triturado (300 g) y se añadió agua (100 ml). Se extrajo la solución con dietil éter (2 x 200 ml) y los extractos etéreos combinados se lavaron con agua (100 ml) y se secaron parcialmente sobre carbonato de potasio anhidro. Se terminó el secado con sulfato de magnesio anhidro y, después de filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida (protegido contra la luz, temperatura del baño < 20°C) para proporcionar un sólido de color amarillo pálido.

El sólido se transformó en una pasta con éter de petróleo (30-40°C) y se filtró para proporcionar un sólido en forma de polvo blanco (12 g, 80%).

1B. Deshidratación de la tetrabenazina reducida

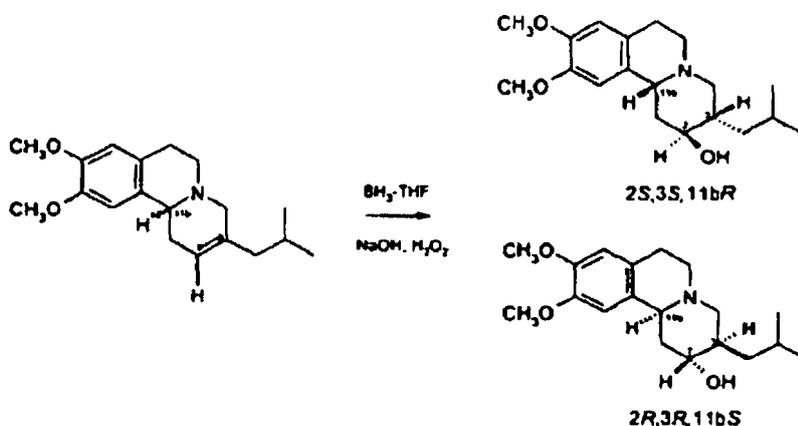


20 Se añadió pentacloruro de fósforo (32,8 g, 157,5 mmol, 2,5 eq) por partes durante 30 minutos a una solución agitada del producto de tetrabenazina reducida procedente del Ejemplo 1A (20 g, 62,7 mmol) en diclorometano (200 ml) a 0°C. Al finalizar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos más y se vertió lentamente la solución en una solución de carbonato de sodio acuoso 2M que contenía hielo triturado (0°C). Una vez terminada la evolución inicial del gas ácido, se basificó la mezcla (aprox. pH 12) utilizando carbonato de sodio sólido.

25 La solución alcalina se extrajo con acetato de etilo (800 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida para proporcionar un aceite marrón, que se purificó mediante cromatografía en columna (sílice, acetato de etilo) para obtener el alqueno semipuro en forma de un sólido amarillo (10,87 g, 58%).

30

1C. Hidratación del alqueno crudo del Ejemplo 1B



55

Se trató una solución del alqueno crudo (10,87 g, 36,11 mmol) del Ejemplo 1B en THF seco (52 ml) a temperatura ambiente con borano-THF 1M (155,6 ml, 155,6 mmol, 4,30 eq) añadido gota a gota. La reacción se agitó durante 2 horas, se añadió agua (20 ml) y la solución se basificó a un pH de 12 con una solución al 30% de hidróxido de sodio acuoso.

60 Se añadió una solución acuosa al 30% de peróxido de hidrógeno (30 ml) a la mezcla de reacción alcalina agitada y se calentó a reflujo la solución durante 1 hora antes de dejar que se enfriara. Se añadió agua (100 ml) y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (3 x 250 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener un aceite amarillo (9 g).

65 Se purificó el aceite utilizando HPLC preparativo (Columna: Lichrospher Si60, 5 μm, 250 x 21,20 mm, fase móvil: hexano:etanol:diclorometano (85:15:5); UV 254 nm, caudal: 10 ml min⁻¹) a 350 mg por inyección, seguido de la concentración de las fracciones de interés a vacío. Luego, el aceite del producto se disolvió en éter y se concentró una vez más a vacío para producir el racemato de dihidrotetrabenazina mostrado anteriormente en forma de una espuma amarilla (5,76 g, 50%).

ES 2 318 771 T3

El Isómero A, que se piensa tiene la configuración *2R,3R,11bS* (no se determinó la estereoquímica absoluta), se caracterizó por ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, espectrometría de masa, HPLC quiral y ORD. Los datos de IR, NMR y MS para el Isómero A se muestran en la Tabla 1 y los datos de HPLC quiral y ORD se muestran en la Tabla 3.

5

1F. Hidrólisis del Pico 2 para producir el Isómero B

Se añadió una solución acuosa al 20% de hidróxido de sodio (62,5 ml) a una solución del pico 2 del éster de Mosher (2,78 g, 5,19 mmol) en metanol (185 ml) y la mezcla se agitó y calentó a reflujo durante 150 minutos. Después de su enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió agua (142 ml) y la solución se extrajo con éter (440 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se concentró a presión reducida.

El residuo se disolvió utilizando acetato de etilo (200 ml), se lavó la solución con agua (2 x 50 ml), se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se concentró a presión reducida. Se añadió éter de petróleo (30-40°C) al residuo y la solución se concentró a vacío una vez más para producir el Isómero B en forma de una espuma blanca (1,34 g, 81%).

El Isómero B, que se piensa tiene la configuración *2S,3S,11bR* se caracterizó por ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, espectrometría de masa, HPLC quiral, ORD y cristalografía de rayos X. Los datos de IR, NMR y MS para el Isómero B se muestran en la Tabla 1 y los datos de HPLC quiral y ORD se muestran en la Tabla 3. Los datos de la cristalografía de rayos X se muestran en el Ejemplo 4.

Ejemplo 2

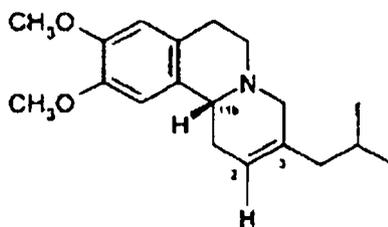
25

Preparación de los Isómeros *2R,3S,11bR* y *2S,3R,11bS* de la dihidrotetrabenazina

2A. Preparación de 2,3-dihidrotetrabenazina

Una solución que contenía una mezcla racémica (15 g, 47 mmol) de los enantiómeros *RR* y *SS* de la tetrabenazina en tetrahidrofurano se sometió a reducción con L-Selectride® según el método del Ejemplo 1A para producir una mezcla de los enantiómeros *2S,3R,11bR* y *2R,3S,11bS* de dihidrotetrabenazina en forma de un polvo sólido blanco (12 g, 80%). La dihidrotetrabenazina parcialmente purificada se deshidrató entonces utilizando PCl₅ de acuerdo con el método del Ejemplo 1B, para producir una mezcla semipura de los isómeros *11bR* y *11bS* de 2,3-dihidrotetrabenazina (cuyo enantiómero *11bR* se muestra más abajo) en forma de un sólido amarillo (12,92 g, 68%).

35

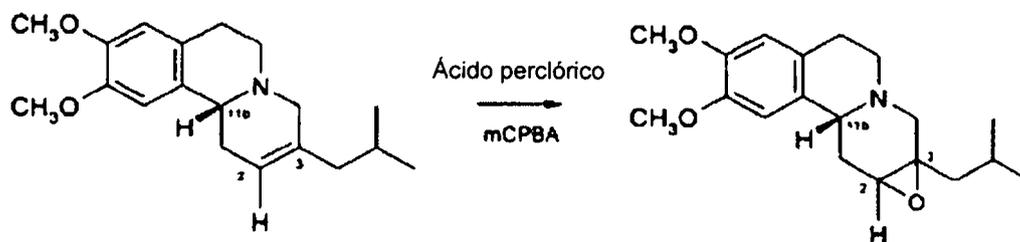


40

45

2B. Epoxidación del alqueno crudo del Ejemplo 2A

50



55

A una solución agitada del alqueno crudo del Ejemplo 2A (12,92 g, 42,9 mmol) en metanol (215 ml) se añadió una solución de ácido perclórico al 70% (3,70 ml, 43 mmol) en metanol (215 ml). Se añadió ácido 3-cloroperoxibenzoico al 77% (15,50 g, 65 mmol) a la reacción y la mezcla resultante se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente protegida contra la luz.

La mezcla de reacción se vertió en una solución acuosa de sulfito de sodio saturado (200 ml) y se añadió agua. Se añadió cloroformo (300 ml) a la emulsión resultante y la mezcla se basificó con bicarbonato sódico acuoso saturado (400 ml).

65

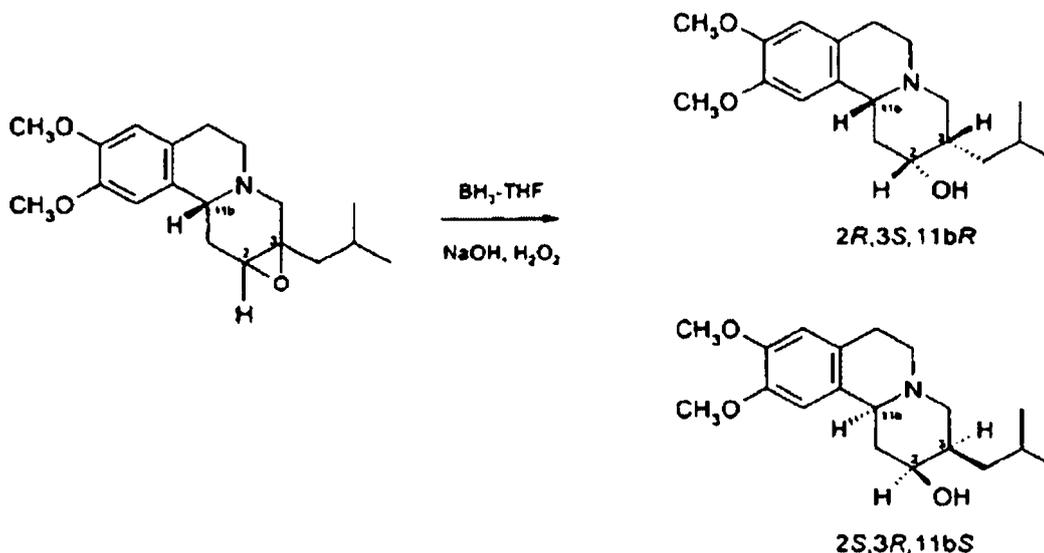
ES 2 318 771 T3

Se recogió la capa orgánica y la fase acuosa se lavó con más cloroformo (2 x 150 ml). Las capas de cloroformo combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida, para producir un aceite marrón (14,35 g, rendimiento > 100% - probable disolvente en el producto). Este material se utilizó sin más purificación.

5

2C. Apertura reductora del anillo epóxido de 2B

10



Una solución agitada del epóxido crudo del Ejemplo 2B (14,35 g, 42,9 mmol, suponiendo un 100% de rendimiento) en THF seco (80 ml) se trató lentamente con borano/THF 1M (184,6 ml, 184,6 mmol) durante 15 minutos. La reacción se agitó durante dos horas, se añadió agua (65 ml) y la solución se calentó con agitación a reflujo durante 30 minutos.

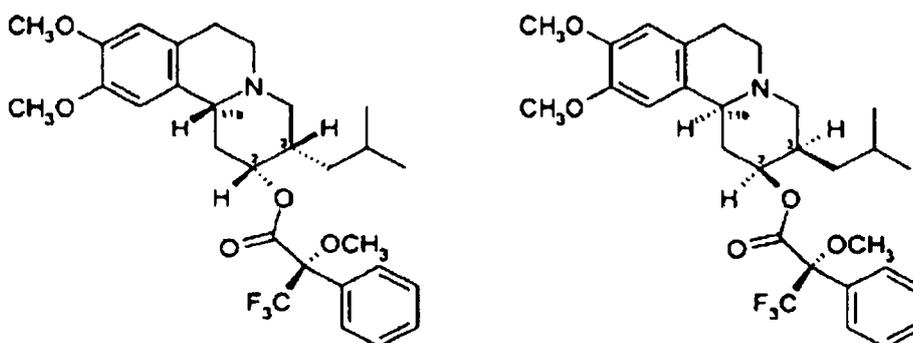
Después de enfriamiento, se añadió una disolución de hidróxido de sodio al 30% (97 ml) a la mezcla de reacción, seguido de una disolución de peróxido de hidrógeno al 30% (48,6 ml) y la reacción se agitó y calentó a reflujo durante 1 hora más.

La mezcla de reacción enfriada se extrajo con acetato de etilo (500 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida para producir un aceite. Se añadió hexano (230 ml) al aceite y la solución se volvió a concentrar a presión reducida.

El residuo oleoso se purificó por cromatografía en columna (sílice, acetato de etilo). Las fracciones de interés se combinaron y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se purificó una vez más utilizando una cromatografía en columna (sílice, gradiente, hexano con respecto a éter). Las fracciones de interés se combinaron y los disolventes se evaporaron a presión reducida para producir un sólido de color amarillo pálido (5,18 g, 38%).

2D. Preparación de derivados éster de Mosher de los isómeros 2R,3S,11bR y 2S,3R,11bS de la dihidrotetrabenzina

55



ES 2 318 771 T3

Se añadió ácido R-(+)- α -metoxi- α -trifluorometilfenilacético (4,68 g, 19,98 mmol), cloruro de oxalilo (1,90 ml) y DMF (0,13 ml) a diclorometano anhidro (46 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La solución se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en diclorometano anhidro (40 ml) una vez más. La solución resultante se enfrió utilizando un baño de agua helada y se añadió dimetilaminopiridina (3,65 g, 29,87 mmol), seguido de una solución secada previamente (sobre tamices de 4Å) en diclorometano anhidro (20 ml) del producto sólido del Ejemplo 2C (4,68 g, 14,6 mmol). Después de su agitación a temperatura ambiente durante 45 minutos, se añadió agua (234 ml) y se extrajo la mezcla con éter (2 x 200 ml). El extracto de éter se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se pasó a través de una almohadilla de sílice y se eluyó el producto utilizando éter.

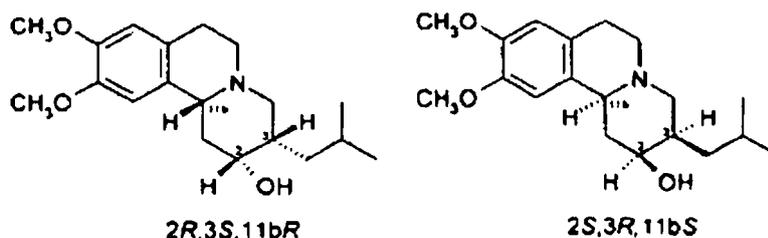
El eluato de éter recogido se concentró a presión reducida para proporcionar un aceite, que se purificó mediante cromatografía en columna (sílice, hexano:éter (1:1)). La evaporación de las fracciones de columna de interés recogidas y la eliminación del disolvente a presión reducida produjeron un sólido de color rosa (6,53 g).

La HPLC preparativa del sólido (Columna: 2 x Lichrospher Si60, 5 μ m, 250 x 21,20 mm, fase móvil: hexano:isopropanol (97:3), UV 254 nm; caudal: 10 ml min⁻¹) a 100 mg de carga, seguido de la concentración de las fracciones de interés a vacío, produjeron un sólido que se transformó en una pasta con éter de petróleo (30-40°C) y se recogió por filtración para producir los derivados éster de Mosher puros.

Pico 1 (2,37 g, 30%)

Pico 2 (2,42 g, 30%)

Las fracciones correspondientes a los dos picos se sometieron a hidrólisis para liberar los isómeros individuales de dihidrotetrabenazina, identificados y caracterizados como Isómeros C y D. Se piensa que cada uno de los Isómeros C y D tiene una de las siguientes estructuras.



2F. Hidrólisis del Pico 1 para producir el Isómero C

Se añadió una disolución acuosa al 20% de hidróxido de sodio (53 ml) a una solución agitada del pico 1 del éster de Mosher (2,37 g, 4,43 mmol) en metanol (158 ml) y la mezcla se agitó a reflujo durante 150 minutos. Después de su enfriamiento, se añadió agua (88 ml) a la mezcla de reacción y la solución resultante se extrajo con éter (576 ml). El extracto orgánico se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida. Se añadió acetato de etilo (200 ml) al residuo y la solución se lavó con agua (2 x 50 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida.

Este residuo se trató con éter de petróleo (30-40°C) y el sólido suspendido resultante se recogió por filtración. El filtrado se concentró a presión reducida y el segundo lote de sólido suspendido se recogió por filtración. Ambos sólidos recogidos se combinaron y secaron a presión reducida para producir el Isómero C (1,0 g, 70%).

El Isómero C, que se piensa tiene la configuración 2R,3S,11bR ó 2S,3R,11bS (no se determinó la estereoquímica absoluta), se caracterizó por ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, espectrometría de masa, HPLC quiral y ORD. Los datos de IR, NMR y MS para el Isómero C se muestran en la Tabla 2 y los datos de HPLC quiral y ORD se muestran en la Tabla 4.

2G. Hidrólisis del Pico 2 para producir el Isómero D

Se añadió una disolución acuosa al 20% de hidróxido de sodio (53 ml) a una solución agitada del pico 2 del éster de Mosher (2,42 g, 4,52 mmol) en metanol (158 ml) y la mezcla se agitó a reflujo durante 150 minutos. Después de su enfriamiento, se añadió agua (88 ml) a la mezcla de reacción y la solución resultante se extrajo con éter (576 ml). El extracto orgánico se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida. Se añadió acetato de etilo (200 ml) al residuo y se lavó la solución con agua (2 x 50 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y, después de su filtración, se eliminó el disolvente a presión reducida.

ES 2 318 771 T3

Este residuo se trató con éter de petróleo (30-40°C) y el sólido resultante suspendido de color naranja se recogió por filtración. El sólido se disolvió en acetato de etilo:hexano (15:85) y se purificó por cromatografía en columna (sílice, gradiente acetato de etilo:hexano (15:85) a acetato de etilo). Las fracciones de interés se combinaron y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se transformó en una pasta con éter de petróleo (30-40°C) y la suspensión resultante se recogió por filtración. El sólido recogido se secó a presión reducida para producir el Isómero D en forma de un sólido blanco (0,93 g, 64%).

El Isómero D, que se piensa tiene la configuración 2*R*,3*S*,11*bR* ó 2*S*,3*R*,11*bS* (no se determinó la estereoquímica absoluta), se caracterizó por ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, espectrometría de masa, HPLC quiral y ORD. Los datos de IR, NMR y MS para el Isómero D se muestran en la Tabla 2 y los datos de HPLC quiral y ORD se muestran en la Tabla 4.

En las Tablas 1 y 2, los espectros infrarrojo se determinaron por medio del método de disco de KBr. Los espectros de ¹H-NMR se llevaron a cabo en solución en cloroformo deuterado utilizando un espectrómetro NMR Varian Gemini (200 MHz). Los espectros ¹³C-NMR se llevaron a cabo en solución en cloroformo deuterado utilizando un espectrómetro NMR Varian Gemini (50 MHz). Los espectros de masas se obtuvieron utilizando un espectrómetro Micromass Platform II (condiciones ES⁺). En las Tablas 3 y 4, las figuras de Dispersión Rotatoria Óptica se obtuvieron utilizando un instrumento de Actividad Óptica PolAAR 2001 en una solución de metanol a 24°C. Las medidas del tiempo de retención por HPLC se llevaron a cabo utilizando un cromatógrafo de HPLC HP1050 con detección de UV.

TABLAS 1 y 2

Datos Espectroscópicos

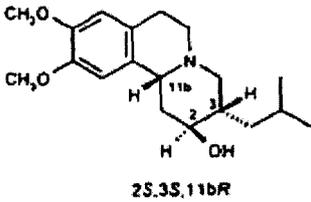
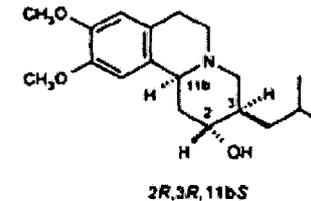
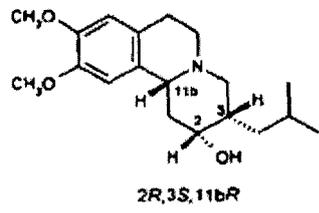
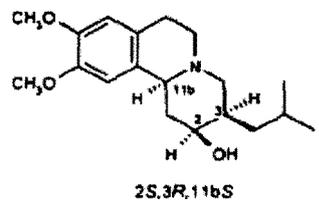
Tabla 1				
Isómero de Dihidotetrabenzina	Espectro ¹ H-NMR (CDCl ₃)	Espectro ¹³ C-NMR (CDCl ₃)	Espectro IR (KBr sólido)	Espectro de masas (ES ⁺)
<p>Isómeros A y B</p>  <p>2<i>S</i>,3<i>S</i>,11<i>bR</i></p> <p>ó</p>  <p>2<i>R</i>,3<i>R</i>,11<i>bS</i></p>	<p>6,67δ 1H (s); 6,57δ 1H (s); 3,84δ 6H (s); 3,55δ 1H (br.d); 3,08δ 1H (m); 2,79δ 2H (m); 2,55δ 3H (m); 2,17δ 1H (m); 1,72δ 6H (m); 1,02δ 1H (m); 0,88δ 6H (t);</p>	<p>147,7 δ; 147,6 δ; 130,5 δ; 127,6 δ; 112,1 δ; 108,4 δ; 70,5 δ; 57,5 δ; 56,5 δ; 56,3 δ; 54,8 δ; 53,2 δ; 40,4 δ; 40,1 δ; 36,0 δ; 28,8 δ; 26,2 δ; 23,7 δ; 22,9 δ;</p>	<p>2950 cm⁻¹; 2928 cm⁻¹; 2868 cm⁻¹; 2834 cm⁻¹; 1610 cm⁻¹; 1511 cm⁻¹; 1464 cm⁻¹; 1364 cm⁻¹; 1324 cm⁻¹; 1258 cm⁻¹; 1223 cm⁻¹; 1208 cm⁻¹; 1144 cm⁻¹; 1045 cm⁻¹; 1006 cm⁻¹; 870 cm⁻¹; 785 cm⁻¹; 764 cm⁻¹;</p>	<p>MH⁺ 320</p>

Tabla 2

Isómero de dihidrotetrabenazina	Espectro ¹ H-NMR (CDCl ₃)	Espectro ¹³ C-NMR (CDCl ₃)	Espectro IR (KBr sólido)	Espectro de masas (ES ⁺)
<p data-bbox="199 481 422 515">Isómeros C y D</p> <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;">  <p data-bbox="327 940 438 974">2R,3S,11bR</p> <p data-bbox="343 1086 375 1120">ó</p>  <p data-bbox="327 1411 438 1444">2S,3R,11bS</p> </div>	<p data-bbox="550 481 742 515">6,68δ 1H (s);</p> <p data-bbox="550 526 742 560">6,58δ 1H (s);</p> <p data-bbox="550 571 742 604">3,92δ 1H (m);</p> <p data-bbox="550 616 742 649">3,84δ 6H (s);</p> <p data-bbox="550 660 742 694">3,15δ 1H (m);</p> <p data-bbox="550 705 742 739">2,87δ 3H (m);</p> <p data-bbox="550 750 742 784">2,43δ 4H (m);</p> <p data-bbox="550 795 742 828">1,81δ 1H (m);</p> <p data-bbox="550 840 742 873">1,64δ 4H (m);</p> <p data-bbox="550 884 742 918">1,21δ 1H (m);</p> <p data-bbox="550 929 742 963">0,94δ 3H (d);</p> <p data-bbox="550 974 742 1008">0,89δ 3H (d);</p>	<p data-bbox="805 481 933 515">147,8 δ;</p> <p data-bbox="805 526 933 560">147,7 δ;</p> <p data-bbox="805 571 933 604">130,4 δ;</p> <p data-bbox="805 616 933 649">127,2 δ;</p> <p data-bbox="805 660 933 694">112,0 δ;</p> <p data-bbox="805 705 933 739">108,3 δ;</p> <p data-bbox="805 750 933 784">72,4 δ;</p> <p data-bbox="805 795 933 828">61,2 δ;</p> <p data-bbox="805 840 933 873">58,3 δ;</p> <p data-bbox="805 884 933 918">56,5 δ;</p> <p data-bbox="805 929 933 963">56,3 δ;</p> <p data-bbox="805 974 933 1008">52,7 δ;</p> <p data-bbox="805 1019 933 1052">38,6 δ;</p> <p data-bbox="805 1064 933 1097">36,7 δ;</p> <p data-bbox="805 1108 933 1142">34,4 δ;</p> <p data-bbox="805 1153 933 1187">29,6 δ;</p> <p data-bbox="805 1198 933 1232">26,5 δ;</p> <p data-bbox="805 1243 933 1276">24,4 δ;</p> <p data-bbox="805 1288 933 1321">22,5 δ;</p>	<p data-bbox="997 481 1157 515">3370 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 526 1157 560">2950 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 571 1157 604">2929 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 616 1157 649">1611 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 660 1157 694">1512 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 705 1157 739">1463 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 750 1157 784">1362 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 795 1157 828">1334 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 840 1157 873">1259 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 884 1157 918">1227 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 929 1157 963">1148 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 974 1157 1008">1063 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 1019 1157 1052">1024 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 1064 1157 1097">855 cm⁻¹;</p> <p data-bbox="997 1108 1157 1142">766 cm⁻¹;</p>	<p data-bbox="1204 481 1332 515">MH⁺ 320</p>

ES 2 318 771 T3

TABLAS 3 y 4

Datos de la Cromatografía y ORD

5

10

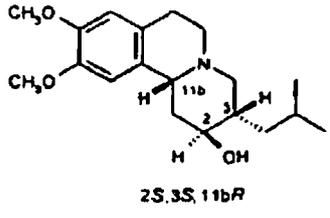
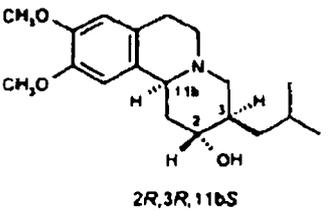
15

20

25

30

35

Tabla 3		
Isómero de dihidrotetrabenazina	Método de HPLC Quiral y Tiempos de Retención	ORD (MeOH, 21°C)
<p>Isómeros A y B</p>  <p style="text-align: center;">2S,3S,11bR</p> <p style="text-align: center;">Ó</p>  <p style="text-align: center;">2R,3R,11bS</p>	<p>Columna: Chirex (S)-VAL, (R)-NEA, 250 x 4,6 mm</p> <p>Fase móvil: Hexano:1,2-dicloroetano:etanol (36:62:2)</p> <p>Caudal: 1,0 ml min⁻¹</p> <p>UV: 254 nm</p> <p>Tiempos de retención: Isómero A: 16,6 min Isómero B: 15,3 min</p>	<p>Isómero A [α_D] -114,6°</p> <p>Isómero B [α_D] +123°</p>

40

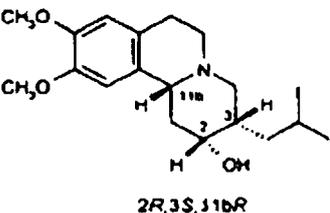
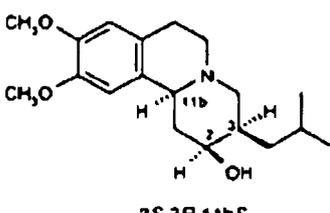
45

50

55

60

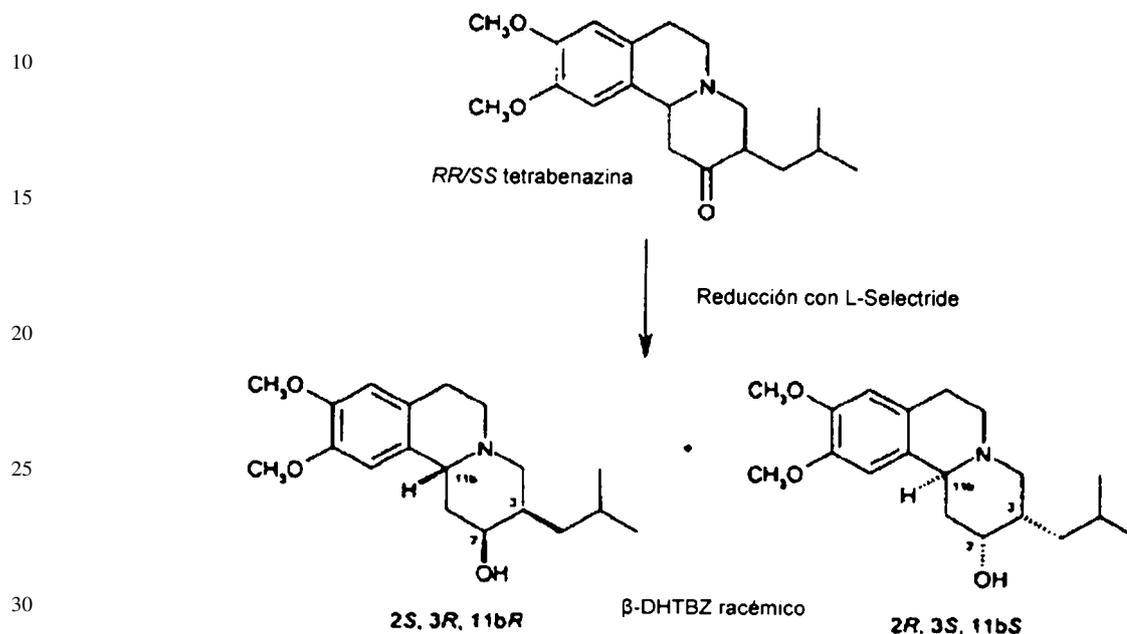
65

Tabla 4		
<p>Isómeros C y D</p>  <p style="text-align: center;">2R,3S,11bR</p> <p style="text-align: center;">Ó</p>  <p style="text-align: center;">2S,3R,11bS</p>	<p>Columna: Chirex (S)-VAL, (R)-NEA, 250 x 4,6 mm</p> <p>Fase móvil: Hexano:etanol (92:8)</p> <p>Caudal: 1,0 ml min⁻¹</p> <p>UV: 254 nm</p> <p>Tiempos de retención: Isómero C: 20,3 min Isómero D: 19,4 min</p>	<p>Isómero C [α_D] +150,9°</p> <p>Isómero D [α_D] -145,7°</p>

Ejemplo 3

Método alternativo de preparación del Isómero B y preparación de la sal mesilato

5 3A. Reducción de la RR/SS tetrabenazina



35 Se añadió L-Selectride® 1M en tetrahydrofurano (52 ml, 52 mmol, 1,1 eq) lentamente durante 30 minutos a una solución enfriada (baño helado) agitada de racemato de tetrabenazina (15 g, 47 mmol) en tetrahydrofurano (56 ml). Al finalizar la adición, se dejó calentar la mezcla a temperatura ambiente y se agitó durante seis horas más. El análisis TLC (sílice, acetato de etilo) mostró sólo muy poca cantidad de material de partida residual.

40 Se vertió la mezcla sobre una mezcla agitada de hielo triturado (112 g), agua (56 ml) y ácido acético glacial (12,2 g). La solución amarilla resultante se lavó con éter (2 x 50 ml) y se basificó por la lenta adición de carbonato de sodio sólido (aprox. 13 g). Se añadió éter de petróleo (30-40°C) (56 ml) a la mezcla agitando y se recogió el β -DHTBZ en forma de un sólido blanco mediante filtración.

45 El sólido crudo se disolvió en diclorometano (aprox.. 150 ml) y la solución resultante se lavó con agua (40 ml), se secó utilizando sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida a aprox. 40 ml. Se formó una suspensión espesa de un sólido blanco. Se añadió éter de petróleo (30-40°C) (56 ml) y la suspensión se agitó durante quince minutos a temperatura de laboratorio. Se recogió el producto por filtración y se lavó en el filtro hasta que era blanco como la nieve con éter de petróleo (30-40°C) (40 a 60 ml) antes del secado al aire a temperatura ambiente para producir β -DHTBZ (10,1 g, 67%) en forma de un sólido blanco. El análisis TLC (sílice, acetato de etilo) mostró solamente un componente.

50

3B. Preparación y cristalización fraccionada de la sal de ácido canforsulfónico de β -DHTBZ racémico

55 El producto del Ejemplo 3A y 1 equivalente de ácido (S)-(+)-Canfor-10-sulfónico se disolvieron con calentamiento en una cantidad mínima de metanol. La solución resultante se dejó enfriar y luego se diluyó lentamente con éter hasta que finalizara la formación del precipitado sólido resultante. El sólido cristalino blanco resultante se recogió por filtración y se lavó con éter antes de su secado.

60 La sal de ácido canforsulfónico (10 g) se disolvió en una mezcla de etanol absoluto caliente (170 ml) y metanol (30 ml). La solución resultante se agitó y se dejó enfriar. Después de dos horas, el precipitado formado se recogió por filtración en forma de un sólido cristalino blanco (2,9 g). Se agitó una muestra del material cristalino en un embudo de separación con carbonato sódico acuoso saturado en exceso y diclorometano. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se trituró utilizando éter de petróleo (30-40°C) y la solución orgánica se concentró una vez más. El análisis HPLC quiral de la sal utilizando una columna Chirex (S)-VAL y (R)-NEA de 250 x 4,6 mm y un eluyente de hexano:etanol (98:2) a un caudal de 1 ml/minuto mostró que el β -DHTBZ aislado estaba enriquecido con un enantiómero (e.e. aprox. 80%).

65

ES 2 318 771 T3

La sal de ácido canforsulfónico enriquecido (14 g) se disolvió en etanol absoluto caliente (140 ml) y se añadió 2-propanol (420 ml). La solución resultante se agitó y en un minuto empezó a formarse un precipitado. Se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente y se agitó durante una hora. El precipitado formado se recogió por filtración, se lavó con éter y se secó para producir un sólido cristalino blanco (12 g).

5 Se agitó el material cristalino en un embudo de separación con carbonato sódico acuoso saturado en exceso y diclorometano. Se separó la fase orgánica, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se trituró utilizando éter de petróleo (30-40°C) y la solución orgánica se concentró una vez más para producir (después de su secado a vacío) (+)- β -DHTBZ (6,6 g, ORD + 107,8°). El enantiómero aislado tiene un
10 e.e. > 97%.

3C. Preparación del Isómero B

15 Se añadió una solución de pentacloruro de fósforo (4,5 g, 21,6 mmol, 1,05 eq) en diclorometano (55 ml), a velocidad constante, durante diez minutos, a una solución agitada, enfriada (baño de agua helada), del producto del Ejemplo 3B (6,6 g, 20,6 mmol) en diclorometano (90 ml). Cuando finalizó la adición, la solución amarilla resultante se agitó durante otros diez minutos antes de verterla sobre una mezcla rápidamente agitada de carbonato sódico (15 g) en agua (90 ml) y hielo triturado (90 g). La mezcla se agitó durante otros 10 minutos y se trasladó a un embudo de separación.

20 Una vez separadas las fases, se eliminó la capa de diclorometano marrón, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para producir el intermedio de alqueno crudo en forma de un aceite marrón (aprox. 6,7 g). El análisis TLC (sílice, acetato de etilo) mostró que no quedaba (+)- β -DHTBZ en el producto crudo.

25 El alqueno crudo se recogió (atmósfera de nitrógeno seco) en tetrahydrofurano anhidro (40 ml) y se añadió una solución de borano en THF (solución 1M, 2,5 eq, 52 ml) agitando durante quince minutos. La mezcla de reacción se agitó entonces a temperatura ambiente durante dos horas. El análisis TLC (sílice, acetato de etilo) mostró que no quedaba intermedio de alqueno en la mezcla de reacción.

30 Se añadió una disolución de hidróxido de sodio (3,7 g) en agua (10 ml) a la mezcla de reacción agitada, seguido de una disolución acuosa de peróxido de hidrógeno (50%, prox. 7 ml) y la mezcla en dos fases formada se agitó a reflujo durante una hora. El análisis TLC de la fase orgánica en este momento (sílice, acetato de etilo) mostró la aparición de un producto con la Rf esperada para el Isómero B. Se observó también un componente no polar característico.

35 Se dejó enfriar a temperatura ambiente la mezcla de reacción y se vertió en un embudo de separación. La capa orgánica superior se eliminó y se concentró a presión reducida para eliminar la mayoría del THF. El residuo se recogió en éter (estabilizado (BHT), 75 ml), se lavó con agua (40 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para producir un aceite de color amarillo pálido (8,1 g).

40 El aceite amarillo se purificó por cromatografía en columna (sílice, acetato de etilo:hexano (80:20), aumentando hasta el 100% el acetato de etilo) y las fracciones de columna deseadas se recogieron, combinaron y concentraron a presión reducida para producir un aceite pálido, que se trató con éter (estabilizado, 18 ml) y se concentró a presión reducida, para producir el Isómero B en forma de una espuma sólida de color amarillo pálido (2,2 g).

45 La HPLC quiral utilizando las condiciones establecidas en el Ejemplo 3B confirmó que el Isómero B se había producido en un exceso enantiomérico (e.e.) superior al 97%.

50 La rotación óptica se midió utilizando un polarímetro Bellingham Stanley ADP220 y dió un $[\alpha]_D$ de +123,5°.

3D. Preparación de la sal mesilato del Isómero B

55 La sal metanosulfonato del Isómero B se preparó mediante la disolución de una mezcla de 1 equivalente del Isómero B del Ejemplo 3C y 1 equivalente de ácido metanosulfónico en la cantidad mínima de etanol y posterior adición de dietil éter. El precipitado blanco resultante que se formó se recogió por filtración y se secó a vacío para producir la sal mesilato con un rendimiento de aprox. 85% y una pureza (por HPLC) de aprox. 96%.

60 Ejemplo 4

Estudios de cristalografía de Rayos X del Isómero B

65 Se preparó la sal de ácido (S)-(+)-canfor-10-sulfónico del Isómero B y un único cristal se sometió a estudios cristalográficos de rayos X en las siguientes condiciones:

Difractómetro: Detector de área Nonius KappaCCD (detectores *t/i* y detectores OJ para cargar la unidad asimétrica).

ES 2 318 771 T3

Determinación celular: DirAx (Duisenberg, A.J.M. (1992). *J. Appl. Cryst.* 25, 92-96).

Recogida de datos: Collect (Collect: Software de recogida de datos, R. Hooft, Nonius B.V., 1998).

5 Reducción de datos y refinación celular: Demo (Z. Otwinowski & W. Minor, *Methods in Enzymology* (1997) Vol. 276: *Macromolecular Crystallography*, parte A, pp. 307-326; C.W. Carter, Jr & R.M. Sweet, Eds., Academic Press).

Corrección de absorción: Sheldrick, G.M. SADABS - Escala del detector y corrección de absorción del detector de área Bruker Nonius - V2.10.

10

Resolución de estructuras: SHELXS97 (G.M. Sheldrick, *Acta Cryst.* (1990) A46 467-473). Refinación de estructuras: SHELXL97 (G.M. Sheldrick (1997), Universidad de Göttingen, Alemania).

15

Gráficos: Cameron - Un Paquete Gráfico Molecular (D.M. Watkin, L. Pearce and C.K. Prout, Chemical Crystallography Laboratory, Universidad de Oxford, 1993).

Detalles especiales: Todos los átomos de hidrógeno se colocaron en posiciones idealizadas y se refinaron utilizando un modelo de posición, excepto aquellos de NH y OH que se localizaron en el mapa de diferencias y restricciones de utilización refinada. Quiralidad: N1=R, C12=S, C13=S, C15=R, C21=S, C24=R.

20

Los resultados de los estudios se muestran a continuación en las Tablas A, B, C, D y E.

En las Tablas, la denominación RUS0350 se refiere al Isómero B.

25

(Tabla pasa a página siguiente)

30

35

40

45

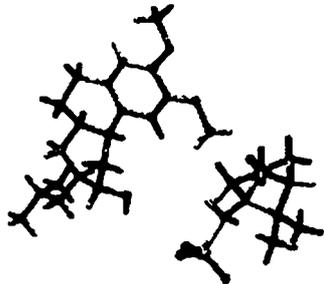
50

55

60

65

TABLA A

	Código de identificación	2005bdy0585 (RUS0350)	
5	Fórmula empírica	$C_{29}H_{45}NO_7S$	
	Peso fórmula	551,72	
	Temperatura	120(2) K	
10	Longitud de onda	0,71073 Å	
	Sistema cristalino	Ortorrómbico	
	Grupo espacial	$P2_12_12_1$	
15	Dimensiones célula unitaria	$a = 7,1732(9)$ Å $b = 12,941(2)$ Å $c = 31,025(4)$ Å	
20	Volumen	$2.880,1(7)$ Å ³	
	Z	4	
25	Densidad (calculada)	$1,272$ Mg/m ³	
	Coefficiente de absorción	$0,158$ mm ⁻¹	
	$F(000)$	1192	
30	Cristal	Placa incolora	
	Tamaño de cristal	$0,2 \times 0,2 \times 0,04$ mm ³	
	Rango θ para recogida datos	$3,06 - 27,37^\circ$	
35	Rangos de índices	$-8 \leq h \leq 9, -16 \leq k \leq 16, -36 \leq l \leq 39$	
	Reflexiones recogidas	36.802	
	Reflexiones independientes	6.326 [$R_{int} = 0,0863$]	
40	Completud a $\theta = 27,37^\circ$	97,1%	
	Corrección absorción	Semi-empírica a partir de equivalentes	
45	Transmisión máx. y mín.	0,9937 y 0,9690	
	Método de refinación	Mínimos cuadráticos plena-matriz en F^2	
	Datos / restricciones / parámetros	6.326 / 1 / 357	
50	Calidad del ajuste en F^2	1,042	
	Índices finales R [$F^2 > 2\sigma(F^2)$]	$R_I = 0,0498, wR_2 = 0,0967$	
	Índices R (todos los datos)	$R_I = 0,0901, wR_2 = 0,1108$	
55	Parámetro estructura absoluta	0,04(8)	
	Coefficiente de extinción	0,0059(7)	
60	Mayor diff. pico nodo	0,236 y -0,336 e Å ⁻³	

ES 2 318 771 T3

TABLA B

Coordenadas atómicas [$x 10^4$], parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente [$A^2 x 10^3$] y factores de ocupación. U_{eq} se define como un tercio de la traza del tensor U^j ortogonalizado

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Átomo	x	y	z	Ueq	S.o.f.
NI	4839(3)	11119(2)	2180(1)	24(1)	1
O1	2515(3)	13171(1)	349(1)	31(1)	1
O2	5581(3)	14030(1)	598(1)	32(1)	1
O3	9220(3)	12834(2)	2385(1)	36(1)	1
Cl	870(4)	12674(2)	190(1)	36(1)	1
C2	3176(3)	12838(2)	739(1)	25(1)	1
C3	2346(4)	12109(2)	997(1)	25(1)	1
C4	3124(3)	11821(2)	1395(1)	24(1)	1
C5	4773(3)	12276(2)	1527(1)	23(1)	1
C6	5629(4)	13024(2)	1262(1)	24(1)	1
C7	4861(4)	13308(2)	875(1)	25(1)	1
C8	7189(4)	14582(2)	747(1)	38(1)	1
C9	2182(3)	11023(2)	1673(1)	28(1)	1
ClO	2759(3)	11118(2)	2137(1)	26(1)	1
ClI	5366(3)	11096(2)	2656(1)	25(1)	1
C12	7292(4)	11536(2)	2747(1)	25(1)	1
C13	7468(4)	12663(2)	2590(1)	25(1)	1
C14	5988(4)	12911(2)	2252(1)	25(1)	1
C15	5773(4)	12010(2)	1943(1)	24(1)	1
C16	7734(4)	11477(2)	3232(1)	28(1)	1
C17	7752(4)	10418(2)	3449(1)	34(1)	1
C18	9198(6)	9696(3)	3249(1)	65(1)	1
C19	8114(4)	10562(2)	3930(1)	41(1)	1
C20	7509(4)	8131(2)	1250(1)	31(1)	1
S1	7409(1)	8792(1)	1754(1)	27(1)	1
O4	7758(2)	7965(1)	2064(1)	30(1)	1
O5	8831(3)	9582(2)	1760(1)	49(1)	1
O6	5524(2)	9221(1)	1798(1)	32(1)	1
O7	7406(3)	6932(1)	498(1)	48(1)	1
C21	6858(3)	8622(2)	830(1)	25(1)	1
C22	7154(4)	7851(2)	459(1)	30(1)	1
C23	7073(4)	8450(2)	40(1)	32(1)	1
C24	6648(3)	9544(2)	203(1)	28(1)	1
C25	4742(3)	8877(2)	787(1)	29(1)	1
C26	4742(3)	8877(2)	787(1)	29(1)	1
C27	7773(4)	9610(2)	630(1)	25(1)	1
C28	7431(4)	10628(2)	868(1)	29(1)	1
C29	9895(4)	9489(2)	569(1)	36(1)	1

ES 2 318 771 T3

TABLA C

Longitudes [Å] y ángulos [°] de enlace

5	NI-C10	1.498(3)	C14-C15	1.518(3)
	NI-C15	1.522(3)	C16-C17	1.526(3)
	NI-C11	1.524(3)	C17-C18	1.527(4)
	O1-C2	1.368(3)	C17-C19	1.527(4)
10	O1-C1	1.432(3)	C20-C21	1.525(3)
	O2-C7	1.369(3)	C20-S1	1.784(2)
	O2-C8	1.433(3)	SI-05	1.4442(19)
15	O3-C13	1.425(3)	SI-04	1.4607(17)
	C2-C3	1.372(3)	SI-06	1.4676(18)
	C2-C7	1.417(3)	O7-C22	1.208(3)
	C3-C4	1.407(3)	C21-C22	1.537(4)
20	C4-C5	1.384(3)	C21-C26	1.559(3)
	C4-C9	1.506(3)	C21-C27	1.565(3)
	C5-C6	1.411(3)	C22-C23	1.517(4)
25	C5-C15	1.516(3)	C23-C24	1.535(4)
	C6-C7	1.372(3)	C24-C25	1.548(4)
	C9-C10	1.504(3)	C24-C27	1.554(4)
	C11-C12	1.521(3)	C25-C26	1.557(4)
30	C12-C16	1.540(3)	C27-C28	1.529(3)
	C12-C13	1.544(3)	C27-C29	1.542(4)
	C13-C14	1.524(3)		
35	C10-NI-C15	113.33(19)	C12-C11-NI	113.43(19)
	C10-NI-C11	109.46(18)	C11-C12-C16	110.5(2)
	C15-NI-C11	111.96(19)	C11-C12-C13	111.7(2)
40	C2-O1-C1	116.6(2)	C16-C12-C13	109.84(19)
	C7-O2-C8	116.27(19)	O3-C13-C14	106.0(2)
	O1-C2-C3	125.5(2)	O3-C13-C12	111.1(2)
	O1-C2-C7	115.0(2)	C14-C13-C12	111.0(2)
45	C3-C2-C7	119.5(2)	C15-C14-C13	110.1(2)
	C2-C3-C4	121.5(2)	C5-C15-C14	114.3(2)
	C5-C4-C3	119.2(2)	C5-C15-NI	112.0(2)
50	C5-C4-C9	120.3(2)	C14-C15-NI	108.7(2)
	C3-C4-C9	120.5(2)	C17-C16-C12	118.4(2)
	C4-C5-C6	119.4(2)	C16-C17-C18	112.2(2)
	C4-C5-C15	124.1(2)	C16-C17-C19	108.7(2)
55	C6-C5-C15	116.6(2)	C18-C17-C19	110.8(3)
	C7-C6-C5	121.3(2)	C21-C20-S1	122.51(18)
	O2-C7-C6	125.4(2)	O5-SI-04	112.93(11)
	O2-C7-C2	115.4(2)	O5-SI-06	112.47(12)
60	C6-C7-C2	119.2(2)	O4-SI-06	111.93(11)
	C10-C9-C4	111.7(2)	O5-SI-C20	108.81(13)
	NI-C10-C9	111.0(2)	O4-SI-C20	102.60(11)

65

	06-SI-C20	107.44(12)	C23-C24-C25	106.4(2)
	C20-C21-C22	109.0(2)	C23-C24-C27	103.3(2)
5	C20-C21-C26	117.3(2)	C25-C24-C27	102.3(2)
	C22-C21-C26	102.1(2)	C24-C25-C26	102.9(2)
	C20-C21-C27	123.4(2)	C25-C26-C21	104.2(2)
	C22-C21-C27	100.21(19)	C28-C27-C29	107.8(2)
10	C26-C21-C27	101.7(2)	C28-C27-C24	112.0(2)
	07-C22-C23	126.4(2)	C29-C27-C24	113.7(2)
	07-C22-C21	125.9(2)	C28-C27-C21	116.5(2)
	C23-C22-C21	107.7(2)	C29-C27-C21	112.3(2)
15	C22-C23-C24	101.3(2)	C24-C27-C21	94.27(19)

TABLA D

*Parámetros de desplazamiento anisótropo [Å² x 10³].
El exponente del factor de desplazamiento anisótropo toma la forma: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$*

	Átomo	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
	NI	26(1)	24(1)	23(1)	2(1)	-1(1)	-3(1)
30	O1	37(1)	30(1)	24(1)	3(1)	-7(1)	-4(1)
	O2	41(1)	31(1)	25(1)	5(1)	-2(1)	-10(1)
	O3	26(1)	49(1)	32(1)	7(1)	-3(1)	-9(1)
35	Cl	41(2)	36(2)	32(2)	3(1)	-9(1)	-8(2)
	C2	30(2)	24(2)	22(1)	1(1)	-1(1)	2(1)
	C3	25(1)	26(1)	24(1)	-3(1)	-2(1)	2(1)
	C4	26(2)	22(1)	23(1)	-1(1)	2(1)	-1(1)
40	C5	24(1)	22(1)	23(1)	-2(1)	1(1)	0(1)
	C6	26(1)	22(1)	24(1)	-3(1)	2(1)	-5(1)
	C7	30(2)	22(1)	22(1)	2(1)	4(1)	-4(1)
	C8	45(2)	34(2)	36(2)	5(1)	-2(1)	-20(2)
45	C9	23(1)	32(1)	29(2)	3(1)	-1(1)	-4(1)
	ClO	26(1)	29(1)	25(1)	2(1)	0(1)	-5(1)
	C11	31(1)	25(1)	20(1)	2(1)	0(1)	-2(1)
	C12	26(1)	26(1)	23(1)	-1(1)	1(1)	-1(1)
	Cl3	26(1)	28(1)	23(1)	-1(1)	-1(1)	-2(1)
50	Cl4	30(2)	22(2)	24(1)	-1(1)	1(1)	-1(1)
	Cl5	22(1)	22(1)	28(1)	2(1)	0(1)	-4(1)
	C16	31(1)	28(1)	24(1)	-1(1)	-3(1)	3(1)
	Cl7	46(2)	31(2)	25(1)	1(1)	-7(1)	0(2)
55	Cl8	106(3)	46(2)	41(2)	6(2)	-1(2)	31(2)
	C19	51(2)	41(2)	31(2)	9(2)	-7(1)	-4(2)
	C20	30(2)	34(2)	29(1)	2(1)	3(1)	9(2)
	S1	27(1)	30(1)	24(1)	4(1)	-2(1)	-5(1)
60	O4	31(1)	36(1)	23(1)	9(1)	-1(1)	0(1)
	O5	53(1)	58(1)	37(1)	13(1)	-11(1)	-35(1)
	O6	34(1)	35(1)	28(1)	-3(1)	-2(1)	10(1)
	O7	81(2)	25(1)	40(1)	-1(1)	12(1)	6(1)

ES 2 318 771 T3

	C21	26(1)	25(2)	24(1)	-1(1)	3(1)	2(1)
	C22	35(2)	25(2)	31(2)	0(1)	1(1)	-1(1)
	C23	40(2)	30(2)	25(1)	-2(1)	1(1)	-2(1)
5	C24	28(1)	29(2)	26(2)	2(1)	2(1)	2(1)
	C25	30(2)	34(2)	29(2)	-1(1)	-2(1)	0(1)
	C26	26(1)	34(2)	28(2)	0(1)	1(1)	-5(1)
10	C27	23(1)	26(1)	26(1)	0(1)	2(1)	0(1)
	C28	31(1)	26(1)	30(1)	0(1)	-2(1)	-6(1)
	C29	29(2)	41(2)	40(2)	0(2)	2(1)	-3(1)

TABLA E

Coordenadas del hidrógeno [$x 10^4$] y parámetros de desplazamiento isotrópico [$\text{Å}^2 \times 10^3$]

Átomo	x	y	z	U_{eq}	S.o.f	
25	H98	5190(40)	10528(15)	2062(10)	70(8)	1
	H99	10030(50)	12950(30)	2575(12)	70(8)	1
	H1A	1107	11933	156	54	1
	H1B	529	12973	-89	54	1
30	H1C	-154	12777	395	54	1
	H3	1220	11793	904	30	1
	H6	6760	13337	1353	29	1
	H8A	6872	14966	1009	58	1
35	H8B	7600	15065	523	58	1
	H8C	8193	14091	810	58	1
	H9A	814	11106	1651	33	1
	H9B	2505	10324	1567	33	1
40	H10A	2250	11767	2259	32	1
	H10B	2235	10534	2304	32	1
	H11A	4431	11494	2822	30	1
	H11B	5322	10372	2759	30	1
45	H12	8230	11108	2589	30	1
	H13	7334	13145	2840	30	1
	H14A	4783	13050	2397	30	1
	H14B	6354	13538	2090	30	1
	H15	7056	11776	1864	29	1
50	H16A	8973	11796	3278	33	1
	H16B	6813	11911	3386	33	1
	I H17	6493	10098	3412	41	1
	H18A	8906	9588	2944	97	1
55	H18B	9176	9031	3400	97	1
	H18C	10440	10005	3276	97	1
	H19A	9329	10894	3971	62	1
	H19B	8110	9887	4073	62	1
60	H19C	7135	10999	4054	62	1
	H20A	8824	7924	1207	37	1
	H20B	6787	7484	1286	37	1

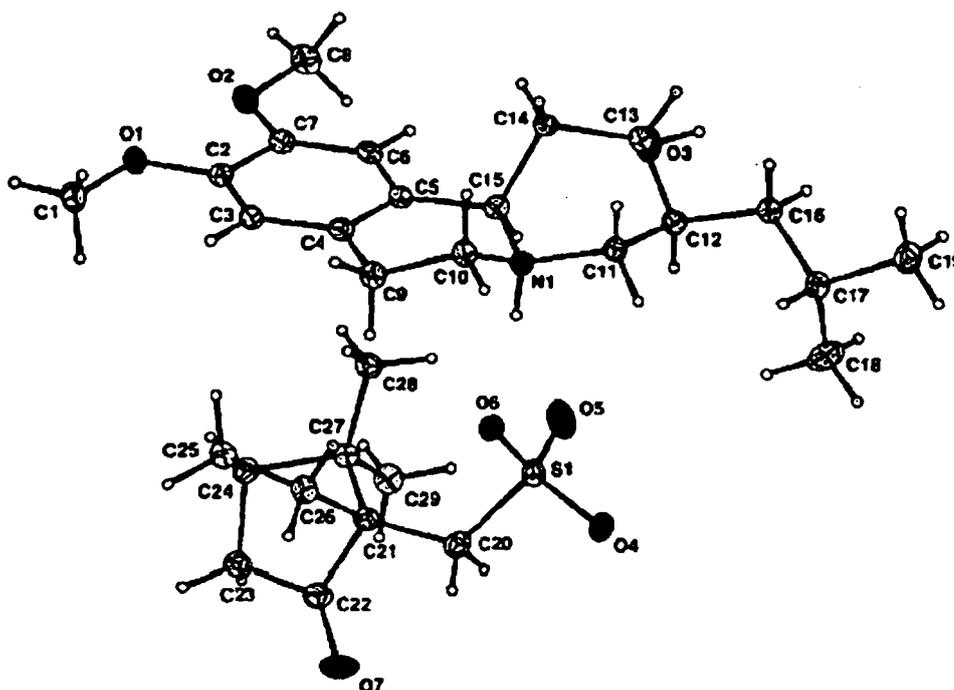
5	H23A	6070	8190	-151	38	1
	H23B	8277	8423	-116	38	1
	H24	6928	10107	-8	33	1
	H25A	3773	9195	153	37	1
	H25B	4152	10235	426	37	1
	H26A	3994	8237	764	35	1
	H26B	4300	9279	1039	35	1
10	H28A	8160	10638	1135	44	1
	I H28B	6103	10692	936	44	1
	H28C	7811	11207	684	44	1
	H29A	10358	10042	381	54	1
15	H29B	10159	8817	436	54	1
	H29C	10517	9531	849	54	1

TABLA 6

Enlaces de hidrógeno [Å y °]

<i>D-H...A</i>	<i>d(D-H)</i>	<i>d(H...A)</i>	<i>d(D...A)</i>	$\angle(DHA)$	
25	N1-H98...O6	0.885(10)	1.895(12)	2.773(3)	171(3)
	N1-H98...S1	0.885(10)	2.914(14)	3.771(2)	163(3)
30	O3-H99...O4 ⁱ	0.84(4)	1.94(4)	2.766(3)	165(3)
	O3-H99...S1 ⁱ	0.84(4)	2.98(4)	3.811(2)	169(3)

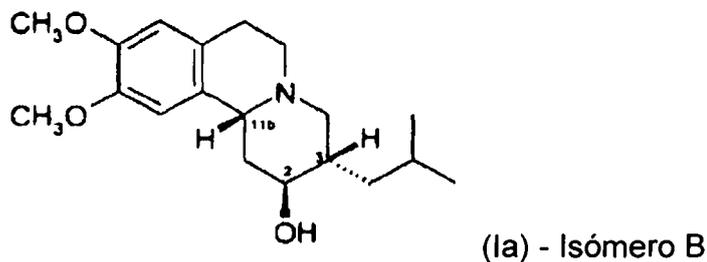
Transformaciones de simetría utilizadas para generar átomos equivalentes: (i) $-x+2, y+1/2, -z+1/2$



Elipsoides térmicos dibujados a un nivel de probabilidad del 30%

ES 2 318 771 T3

En base a los datos establecidos más arriba, se piensa que el Isómero B tiene la configuración 2S,3S,11bR, que corresponde a la Fórmula (Ia):



Ejemplo 5

Estudios de unión a proteínas receptoras y transportadoras

20 Los cuatro isómeros A, B, C y D de la dihidrotetrabenazina se sometieron a ensayos de unión específica para probar su capacidad de unión a las proteínas receptoras y transportadoras descritas a continuación. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

25 (a) Receptor α_{2A} adrenérgico

Referencia:	S. Uhlen y col., <i>J. Pharmacol. Exp. Ther.</i> , 271:1558-1565 (1994)
Fuente:	Células de insecto Sf9 recombinantes humanas
30 Ligando:	1 nM [3 H] MK-912
Vehículo:	1% DMSO
35 Tiempo/Temp. de incubación:	60 minutos a 25°C
Tampón de incubación:	75 mM Tris-HCl, pH 7,4, 12,5 mM MgCl ₂ , 2 mM EDTA
Ligando no específico:	10 μ M WB-4101
40 K _d :	0,6 nM
B _{máx.} :	4,6 pmol/mg de proteína
45 Unión específica:	95%
Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
Criterios de significación:	\geq 50% de estimulación o inhibición máxima

50 (b) Receptor α_{2B} adrenérgico

Referencia:	S. Uhlen y col., <i>Eur. Pharmacol.</i> 33 (1):93-1-1 (1998)
55 Fuente:	Células CHO-K1 recombinantes humanas
Ligando:	2,5 nM [3H] Rauwolscine
60 Vehículo:	1% DMSO
Tiempo/Temp. de incubación:	60 minutos a 25°C
Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 12,5 mM MgCl ₂ , pH 7,4, 0,2% BSA a 25°C
65 Ligando no específico:	10 μ M Prazosina

ES 2 318 771 T3

	K_d :	2,1 nM
	$B_{m\acute{a}x.}$:	2,1 pmol/mg de proteína
5	Unión específica:	90%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
10	Criterios de significación:	$\geq 50\%$ de estimulación o inhibición máxima
	(c) <i>Receptor D₁ de Dopamina</i>	
15	Referencia:	Dearry y col., <i>Nature</i> , 347:72-76 (1990)
	Fuente:	Células CHO recombinantes humanas
	Ligando:	1,4 nM [3H] SCH-23390
20	Vehículo:	1% DMSO
	Tiempo/Temp. de incubación:	2 horas a 37°C
25	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 150 nM NaCl, 1,4 nM de ácido ascórbico, 0,001% BSA
	Ligando no específico:	10 μ M (+)-butaclamol
30	K_d :	1,4 nM
	$B_{m\acute{a}x.}$:	0,63 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	90%
35	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
	Criterios de significación:	$\geq 50\%$ de estimulación o inhibición máxima
40	(d) <i>Receptor D_{2L} de Dopamina</i>	
	Referencia:	Bunzo y col., <i>Nature</i> , 336:783-787 (1988)
45	Fuente:	Células CHO recombinantes humanas
	Ligando:	0,16 nM [3H] Espiperona
	Vehículo:	1% DMSO
50	Tiempo/Temp. de incubación:	2 horas a 25°C
	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 150 nM NaCl, 1,4 nM de ácido ascórbico, 0,001% BSA
55	Ligando no específico:	10 μ M Haloperidol
	K_d :	0,08 nM
60	$B_{m\acute{a}x.}$:	0,48 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	85%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
65	Criterios de significación:	$\geq 50\%$ de estimulación o inhibición máxima

ES 2 318 771 T3

(e) *Receptor D₃ de Dopamina*

	Referencia:	Sokoloff y <i>col.</i> , <i>Nature</i> , 347:146-151 (1990)
5	Fuente:	Células CHO recombinantes humanas
	Ligando:	0,7 nM [3H] Espiperona
	Vehículo:	1% DMSO
10	Tiempo/Temp. de incubación:	2 horas a 37°C
	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 150 nM NaCl, 1,4 nM de ácido ascórbico, 0,001% BSA
15	Ligando no específico:	25 μ M S(-)-Sulpirida
	K _d :	0,36 nM
20	B _{máx.} :	1,1 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	85%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
25	Criterios de significación:	\geq 50% de estimulación o inhibición máxima

(f) *Receptor (Central) I₂ de Imidazolina*

30	Referencia:	Brown y <i>col.</i> , <i>Brit. J. Pharmacol.</i> , 99:803-809 (1990)
	Fuente:	Corteza cerebral de rata Wistar
35	Ligando:	2 nM [3H] Idazoxan
	Vehículo:	1% DMSO
	Tiempo/Temp. de incubación:	30 minutos a 25°C
40	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, 0,5 mM EDTA, pH 7,4 a 25°C
	Ligando no específico:	1 μ M Idazoxan
45	K _d :	4 nM
	B _{máx.} :	0,14 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	85%
50	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
	Criterios de significación:	\geq 50% de estimulación o inhibición máxima

(g) *Receptor Sigma σ_1*

	Referencia:	Ganapathy y <i>col.</i> , <i>Pharmacol. Exp. Ther.</i> , 289:251-260 (1999)
60	Fuente:	Células humanas jurkat
	Ligando:	8 nM [3H] Haloperidol
	Vehículo:	1% DMSO
65	Tiempo/Temp. de incubación:	4 horas @ 25°C

ES 2 318 771 T3

	Tampón de incubación:	50 mM tampón K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ , pH 7.5
	Ligando no específico:	10 μM Haloperidol
5	K _d :	5,8 nM
	B _{máx.} :	0,71 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	80%
10	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
	Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima
15	(h) <i>Receptor Sigma σ₂</i>	
	Referencia:	Hashimoto y col., <i>Eur. J. Pharmacol.</i> , 236:159-163 (1993)
20	Fuente:	Cerebro de rata Wistar
	Ligando:	3 nM [3H] Ifenprodil
	Vehículo:	1% DMSO
25	Tiempo/Temp. de incubación:	60 minutos a 37°C
	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4
30	Ligando no específico:	10 μM Ifenprodil
	K _d :	4,8 nM
	B _{máx.} :	1,3 pmol/mg de proteína
35	Unión específica:	85%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
40	Criterios de significación:	≥ 50% de estimulación o inhibición máxima
	(i) <i>Transportador de Serotonina (SERT)</i>	
45	Referencia:	Gu y col., <i>J. Biol. Chem.</i> , 269(10):7124-7130, (1994)
	Fuente:	Células HEK-293 recombinantes humanas
	Ligando:	0,15 nM [125I] RTI-55
50	Vehículo:	1% DMSO
	Tiempo/Temp. de incubación:	3 horas a 4°C
55	Tampón de incubación:	100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1 μM Leupeptina, 10 μM PMSF, pH 7,4
	Ligando no específico:	10 μM Imipramina
	K _d :	0,17 nM
60	B _{máx.} :	0,41 pmol/mg de proteína
	Unión específica:	95%
65	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
	Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima

ES 2 318 771 T3

(j) *Transportador de Dopamina (DAT)*

Referencia:	Giros y col., <i>Trends Pharmacol., Sci.</i> , 14, 43-49 (1993)	
5	Gu y col., <i>J. Biol. Chem.</i> , 269(10):7124-7130 (1994)	
Fuente:	Células CHO recombinantes humanas	
Ligando:	0,15 nM [¹²⁵ I] RTI-55	
10	Vehículo:	1% DMSO
Tiempo/Temp. de incubación:	3 horas a 4°C	
15	Tampón de incubación:	100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1 μM Leupeptina, 10 μM PMSF, pH 7,4
Ligando no específico:	10 μM Nomifensina	
K _d :	0,58 nM	
20	B _{máx.} :	0,047 pmol/mg de proteína
Unión específica:	90%	
25	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima	

30 (k) *Receptor α_{2C} adrenérgico*

La actividad de unión al receptor α_{2C} adrenérgico se determinó por medio del método de Uhlen y col., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1994), 271:1558-1565, y las siguientes condiciones:

35	Fuente:	Células de insecto Sf9 recombinantes humanas
Ligando:	1 nM [³ H] MK-912	
40	Vehículo:	1% DMSO
Tiempo/Temp. de incubación:	60 minutos a 25°C	
Tampón de incubación:	75 mM Tris-HCl, pH 7,4, 12,5 mM MgCl ₂ , 2 mM EDTA	
45	Ligando no específico:	10 μM WB-4101
K _d :	0,17 nM	
50	B _{máx.} :	6,8 pmol/mg de proteína
Unión específica:	95%	
Método de cuantificación:	Unión de radioligandos	
55	Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima

(l) *Receptor 5-HT_{2b} de la serotonina (5-hidroxitriptamina)*

60 La actividad de unión al receptor 5-HT_{2b} se determinó por medio del método de Bonhaus y col., *Br. J. Pharmacol.* (1995), 115:622-628, y las siguientes condiciones:

Fuente:	Células CHO-K1 recombinantes humanas	
65	Ligando:	1,2 nM [³ H] Dietilamida de ácido lisérgico (LSD)
Vehículo:	1% DMSO	

ES 2 318 771 T3

	Tiempo/Temp. de incubación:	60 minutos a 37°C
	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 4 mM CaCl ₂ , 0,1% ácido ascórbico
5	Ligando no específico:	10 μM serotonina
	K _d :	2,1 nM
	B _{máx.} :	1,1 pmol/mg de proteína
10	Unión específica:	80%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
15	Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima

(m) Receptor 5-HT₆ de la serotonina (5-hidroxitriptamina)

20 La actividad de unión al receptor 5-HT₆ se determinó por medio del método de Monsma y col., *Mol. Pharmacol.* (1993), 43:320-327, y las siguientes condiciones:

	Fuente:	Células HeLa recombinantes humanas
25	Ligando:	1,5 nM [³ H] dietilamida del ácido lisérgico (LSD)
	Vehículo:	1% DMSO
	Tiempo/Temp. de incubación:	2 horas a 37°C
30	Tampón de incubación:	50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 150 mM NaCl, 2 mM ácido ascórbico, 0,001% BSA
	Ligando no específico:	5 μM serotonina
35	K _d :	1,3 nM
	B _{máx.} :	1,7 pmol/mg de proteína
40	Unión específica:	90%
	Método de cuantificación:	Unión de radioligandos
45	Criterios de significación:	≥50% de estimulación o inhibición máxima

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

TABLA 5

Porcentaje de Inhibición por 10 μM Soluciones de isómeros de Dihidrotetrabenazina de Unión Específica a las Proteínas Receptoras y Transportadoras (el valor IC₅₀, cuando se mide, está entre paréntesis)				
Receptor / Proteína	Isómero A	Isómero B	Isómero C	Isómero D
(a) Receptor α_{2A}	86	12	13	87
(b) Receptor α_{2B}	44	14	-7	50
(c) Receptor D ₁	78	1	6	38
(d) Receptor D _{2L}	87	16	-14	58
(e) Receptor D ₃	69	7	9	63
(f) Receptor I ₂	74	8	0	55
(g) Receptor σ_1	48	82	59	82
(h) Receptor σ_2	64	64	61	69
(i) SERT	19	86 (0,35)	77 (2,75)	8
(j) DAT	3	4	-2	2
(k) Receptor α_{2C}	56	-6	3	74
(l) Receptor 5-HT _{2b}	74	10	14	43
(m) Receptor 5-HT ₆	51	10	10	41

En base a los datos de unión para los Isómeros A y D en cuanto a los receptores de dopamina y serotonina, y por analogía con los perfiles de unión a dopamina-serotonina de los agentes antipsicóticos conocidos, se cree que los Isómeros A y D serán útiles en el tratamiento de la psicosis, por ejemplo la psicosis provocada por o asociada a la esquizofrenia.

Ejemplo 6

Función cognitiva y antipsicóticos: Investigación sobre la eficacia del Isómero A para mejorar un déficit cognitivo causado por PCP subcrónico en una nueva tarea de reconocimiento de un objeto

La cognición en la esquizofrenia

La mayor necesidad clínica no satisfecha de la esquizofrenia es el tratamiento de síntomas negativos y cognitivos, ya que incluso la última generación de medicamentos antipsicóticos atípicos ofrece poca mejora. En particular, un déficit cognitivo en pacientes con esquizofrenia se reconoce ahora como parte esencial del trastorno, y se piensa que tiene una importancia significativa sobre la recuperación del paciente y su reinserción en la sociedad.

Ha habido pocos intentos para crear un modelo de trastorno cognitivo en la esquizofrenia, aunque algunos de los más recientes, y discutiblemente de los modelos animales más válidos, muestran deficiencias cognitivas. Las aproximaciones clásicas utilizadas para proporcionar modelos animales para las pruebas de antipsicóticos potenciales han contado con el uso de medicamentos dopaminérgicos, cuyas limitaciones son cada vez más reconocidas. Se ha considerado la administración de glutamato/fenciclidina (PCP) (antagonista NMDA) para proporcionar un modelo mejorado de la esquizofrenia en lo que puede inducir tanto los síntomas negativos como los síntomas positivos asociados a la psicosis por anfetaminas (J.D. Jentsch y R.H. Roth, *Neuropsychopharmacology* (1999) 20(3):201-225). Esta aproximación puede tener alguna validez patológica en lo que se evidencian anomalías de los sistemas glutamatérgicos en el cerebro esquizofrénico; estos cambios incluyen deficiencias en la inervación córtico-estriatal que pueden contribuir, si no servir de base, a la disfunción cognitiva en la enfermedad (Aparicio-Legarza y col., *Neurosci. Lett.* (1997) 232, 13-16). Además, algunos comportamientos inducidos por PCP son invertidos por ciertos antipsicóticos atípicos pero no típicos (Geyer y col., *Brain Res. Bull.* (1990) 25:485-498). Esto sugiere una correlación potencial con efectos sobre los síntomas negativos u otros que no responden tan bien a los medicamentos típicos.

El nuevo paradigma de reconocimiento de un objeto

Algunas pruebas preclínicas permiten la observación de deficiencias cognitivas relativamente sutiles en la rata que se parecen a los síntomas cognitivos en sujetos con esquizofrenia. Las deficiencias cognitivas observadas se ven en comportamientos tales como deficiencias en la memoria de trabajo que se pueden medir mediante tareas de reconocimiento, tal como el nuevo paradigma de reconocimiento de objeto (NOR). Una tarea de memoria de reconocimiento permite la comparación entre los estímulos presentados y la información previamente almacenada. Ennaceur & Delacour, *Behav. Brain Res.* 31:47-59 (1988) describieron una prueba NOR en ratas que se basaba en la exploración diferencial de objetos familiares y nuevos. La prueba NOR es un paradigma no recompensado, etológicamente relevante basado en el comportamiento exploratorio espontáneo de la rata que mide la memoria de trabajo. Cada sesión se compone de dos ensayos. En el primer ensayo, las ratas están expuestas a dos objetos idénticos en un campo abierto. Durante el segundo ensayo, las ratas están expuestas a dos objetos diferentes, un objeto familiar procedente del primer ensayo y un objeto nuevo. El reconocimiento de objetos en ratas se puede medir como la diferencia de tiempo transcurrido entre la exploración del objeto familiar y la del nuevo. Se demostró que las ratas pasaban más tiempo explorando el objeto nuevo. Se descubrió que las ratas son capaces de discriminar entre el objeto familiar y el nuevo cuando el intervalo entre ensayos oscila entre 1 minuto y 1-5 horas, pero no cuando es superior a 24 horas, aunque este efecto pueda depender del sexo de la rata (Sutcliffe y col., *A preliminary investigation into the effects of gender on cognition in male and female rats using the novel object recognition paradigm.*, presentada en la reunión no. 96 de la Sociedad de Endocrinología, 7-9 de noviembre de 2005). La duración de cada ensayo también es importante, ya que la preferencia por el nuevo objeto permanece solamente durante los primeros 1 ó 2 minutos, después de lo cual la preferencia disminuye con el tiempo, volviéndose ambos objetos familiares y explorándose por igual.

Grayson y Neill, *J. Psychopharmacology* 18:A55, 2004; y las Actas de BPS en <http://www.PA2online.org/vol12issue4-abst077P.html>. 2005 han demostrado una deficiencia selectiva en esta tarea inducida por el tratamiento agudo y subcrónico con PCP. La deficiencia se observa solamente en la fase de retención de la tarea, sugiriendo un deterioro cognitivo específico y relativamente sutil. Por tanto, el comportamiento en la fase de adquisición de la prueba (así como la actividad locomotora) no se ve afectado por el tratamiento con PCP. Los efectos del PCP en este paradigma pueden representar una deficiencia selectiva en la memoria de trabajo, que se sabe está deteriorada en la esquizofrenia. El grupo de J.C. Neill, Universidad de Bradford, Reino Unido, ha descubierto que el medicamento antipsicótico atípico, la clozapina, pero no el antipsicótico clásico, el haloperidol, puede mejorar (y prevenir, Idris y col., *Soc. Neurosci.* abstr. 67.15.2005) la deficiencia cognitiva inducida por PCP subcrónico (2 mg/kg i.p. dos veces al día durante 7 días seguido de un período sin medicamento de 7 días) en este paradigma. Se sabe que el haloperidol es ineficaz en el tratamiento de los síntomas de deficiencia cognitiva en la esquizofrenia, y efectivamente puede empeorarlos, mientras que los antipsicóticos atípicos pueden mejorar ciertos aspectos de la cognición en la esquizofrenia. Además, Grayson y col. han demostrado recientemente la eficacia de la risperidona para atenuar la deficiencia subcrónica inducida por PCP en este paradigma. Así, esta prueba tiene alguna validez predictiva para el tratamiento de síntomas cognitivos de la esquizofrenia. Se ha mostrado que la deficiencia subcrónica inducida por PCP es resistente y de larga duración en las ratas hembras, es decir hasta 5 meses después del tratamiento.

Objeto del experimento

El modelo con roedores mencionado anteriormente se utilizó para evaluar los efectos del Isómero A sobre las deficiencias subcrónicas inducidas por PCP en la memoria de trabajo utilizando el paradigma de reconocimiento de un nuevo objeto (NOR). La hipótesis de trabajo era que el tratamiento tanto agudo como subcrónico con el Isómero A atenúa la deficiencia de memoria de trabajo selectiva inducida por PCP subcrónico tal como se mide en el paradigma de la prueba NOR. En este paradigma se utilizaron ratas hembra, ya que se descubrió anteriormente que los machos son menos sensibles a la deficiencia inducida por PCP (Grayson y Neill, *idem*) y que las hembras muestran unas características de resistencia después del aumento de los intervalos entre ensayos en comparación con las ratas machos (Sutcliffe y col., *idem*).

Métodos

El Paradigma de Reconocimiento del Nuevo Objeto

Habitación

Se deja que las ratas se habitúen a la caja vacía de prueba y al ambiente de la sala de prueba del comportamiento durante 1 hora el día 1. Antes de las pruebas del comportamiento el día 2, se proporcionan a las ratas otros 3 minutos de habitación.

Pruebas de comportamiento

Después del período de habitación de 3 minutos, se realizan en las ratas dos ensayos de 3 minutos (T1 y T2) que están separados por un intervalo entre ensayos de 1 minuto en la jaula de residencia durante el cual se cambian los objetos.

ES 2 318 771 T3

T1 = Ensayo 1, ensayo de adquisición

En este ensayo, se deja que los animales exploren dos objetos idénticos (A1 y A2) durante 3 minutos.

5

T2 = Ensayo 2, ensayo de retención

En este ensayo, los animales exploran un objeto familiar (A) procedente de T1 y un nuevo objeto (B) durante 3 minutos. El objeto familiar presentado durante T2 es un duplicado del objeto presentado en T1 para evitar cualquier rastro olfativo.

10

Exploración del objeto

La exploración del objeto se define mediante el lamido, olfateo o tacto del objeto con las patas delanteras mientras se huele, pero sin apoyarse contra, girar alrededor, estar de pie o sentarse en el objeto. El(los) tiempo(s) de exploración de cada objeto (A1, A2, A y B) de cada ensayo se registra(n) utilizando dos cronómetros y se calculan los siguientes factores:

15

20

25

- Tiempo de exploración total de ambos objetos en el(los) ensayo(s) de adquisición.
- Tiempo de exploración total de ambos objetos en el(los) ensayo(s) de retención.
- Habitación de la actividad exploratoria. El LMA incluye el tiempo de exploración, tal como se mide mediante el número de líneas que se cruzan, para ambos ensayos.
- Índice de discriminación, que se calcula tal como se muestra a continuación:

30

(tiempo transcurrido en la exploración del nuevo objeto - tiempo transcurrido en la exploración del objeto familiar)/tiempo total transcurrido en la exploración de los objetos

El comportamiento en todos los ensayos se registró en vídeo para una puntuación a ciegas posterior.

Sujetos

35

40

Se utilizaron 50 ratas hembras Lister-encapuchadas (Harlan, UK) como sujetos para estos estudios. Se alojaron las ratas por grupos de 5 en condiciones de laboratorio estándar en un ciclo de 12 horas de luz:oscuridad, encendiendo las luces a las 07:00 horas. Se llevaron a cabo todas las pruebas en la fase luminosa. Se proporcionaron alimentos y agua libremente. Se realizaron todos los experimentos de acuerdo con el Acta de Procedimientos Científicos en Animales, R.U. 1986 y fueron aprobados por el Comité de Análisis Ético de la Universidad de Bradford.

Medicamentos

45

50

Las ratas fueron asignadas de forma aleatoria a dos grupos de tratamiento y fueron tratadas con el vehículo, n=10 (agua destilada, ip) o PCP, n=40 (2 mg/kg, ip) dos veces al día durante 7 días. Se disolvió clorhidrato de fenciclidina (PCP, Sigma R.U.) en agua destilada. Esto fue seguido de un período de limpieza interna de 7 días antes de someter a prueba las ratas. Se disolvió el Isómero A en agua destilada y se administró vía oral en dosis de 3, 10 y 30 mg/kg, 30 minutos antes de las pruebas. Se preparó risperidona (0,2 mg/kg) en agua destilada y se inyectó i.p. 30 minutos antes de las pruebas. Todos los medicamentos se administraron en un volumen de 1 ml/kg. Todas las dosis de medicamento se calcularon en base al peso equivalente.

Análisis Estadístico

55

Todos los datos se expresan como media \pm s.e.m. (n=7-10 por grupo) y se analizaron mediante ANOVA de dos vías (los factores son: medicamento y tiempo de exploración de los dos objetos) con otro análisis de prueba-t de Student post-hoc (tiempo transcurrido en la exploración de los objetos) o prueba-t de Dunnett (LMA y DI).

60

Tratamiento con medicamentos

65

Los grupos de ratas (n=7-10) se sometieron a prueba en el paradigma NOR tal como se ha descrito anteriormente. Se sometieron a prueba las ratas en cuanto a su rendimiento en la tarea después del tratamiento subcrónico con PCP (2 mg/kg i.p. dos veces al día durante 7 días seguido de un período sin medicamentos de 7 días) o el vehículo seguido del tratamiento agudo con el Isómero A, risperidona o vehículo. Las ratas se asignaron al azar a los grupos de tratamiento con medicamentos y recibieron el vehículo o el Isómero A (3,0; 10 y 30 mg/kg) p.o. 30 minutos antes de las pruebas de comportamiento.

Resultados

Se muestran los resultados en las Figuras 1 a 4.

5 La Figura 1 ilustra el tiempo medio de exploración de objetos idénticos en la fase de adquisición T1 después de la administración aguda del Isómero A (3,0-30 mg/kg, p.o.) y de la risperidona (Risp 0,2 mg/kg, i.p.) en PCP subcrónico (2 mg/kg, i.p. dos veces al día durante siete días) y ratas tratadas con el vehículo.

10 La Figura 2 ilustra la capacidad del Isómero A agudo (3-30 mg/kg, p.o.) y de la risperidona (Risp 0,2 mg/kg, i.p.) para atenuar el efecto del PCP subcrónico sobre el(los) tiempo(s) de exploración de un objeto familiar y un nuevo objeto en un ensayo de retención de 3 minutos en ratas hembras hL. La diferencia notable entre el tiempo transcurrido en la exploración del objeto familiar y el nuevo objeto es *P<0,05-***P<0,001.

15 La Figura 3 ilustra el efecto del Isómero A (3-30 mg/kg, p.o.) y de la risperidona (Risp. 0,2 mg/kg, i.p.) sobre el efecto del tratamiento con PCP subcrónico (2 mg/kg, i.p. dos veces al día durante siete días) sobre el índice de discriminación (DI).

20 La Figura 4 ilustra el efecto de la administración aguda (3-30 mg/kg, p.o.) del Isómero A y de la risperidona (Risp. 0,2 mg/kg, i.p.) en ratas tratadas de forma subcrónica con PCP sobre el número total de cruces de líneas en la tarea de reconocimiento del nuevo objeto (T1+T2). **p<0,01; reducción significativa en el número de cruces de líneas en comparación con el grupo control con el vehículo.

25 El PCP agudo (0,5-2,0 mg/kg i.p.) y el PCP subcrónico (2 mg/kg, i.p. dos veces al día durante 7 días seguido de un período sin medicamentos de 7 días) producen una deficiencia cognitiva selectiva en la fase de retención de la tarea NOR en ratas hembras (Grayson y Neill, 2004; 2005a). El agente antipsicótico atípico clozapina (1-5 mg/kg), pero no el haloperidol (0,05-0,075 mg/kg), mejoró notablemente (e impidió, Idris y col., 2005) la deficiencia inducida por el PCP subcrónico en este paradigma (Grayson y Neill, 2005a). Los presentes resultados se añaden a estos datos existentes y muestran que el Isómero A también es eficaz para atenuar la deficiencia inducida por PCP subcrónico de una forma similar al antipsicótico atípico, risperidona.

30 Los efectos del tratamiento agudo con el Isómero A fueron selectivos para la fase de retención de la tarea NOR (Figura 2). Sus efectos son coherentes con la mejoría de las deficiencias de la memoria de trabajo inducidas por PCP en un paradigma con alguna validez para la patología de la esquizofrenia. Este efecto fue notable a la máxima dosis de Isómero (30 mg/kg). Por contraste, el Isómero A no tuvo efecto alguno sobre la exploración de dos objetos idénticos en la fase de adquisición de la tarea, Figura 1. 30 mg/kg del Isómero A tuvieron también un efecto significativo para reducir la actividad locomotora en el campo de pruebas, Figura 4. Esto se mostró en forma de reducción en el número de líneas cruzadas en el campo del nuevo objeto en T1 y T2. La observación del comportamiento de las ratas sugirió que pasaron más tiempo en el objeto que en la exploración del entorno, lo que redujo su puntuación de actividad global en la caja. No parecían sedadas. Los datos mostrados en la Figura 3 indican que el tratamiento con PCP subcrónico indujo una reducción en el índice de discriminación, y que esto mejoró después de 30 mg/kg del Isómero A y 0,2 mg/kg de risperidona: sin embargo, ninguno de estos efectos alcanzó una significancia estadística.

45 Los resultados expuestos aquí sugieren que el Isómero A puede tener algún valor terapéutico en la mejoría de los síntomas de deficiencia cognitiva de la esquizofrenia.

Ejemplo 7

Composiciones Farmacéuticas

50 (i) *Formulación de Tabletas - I*

55 Se prepara una composición para tabletas que contiene la dihidrotetrabenzazina de la invención mediante mezcla de 50 mg de dihidrotetrabenzazina con 197 mg de lactosa (BP) como diluyente, y 3 mg de estearato de magnesio como lubricante y compresión para formar una tableta de una manera conocida.

(ii) *Formulación de Tabletas - II*

60 Se prepara una composición para tabletas que contiene la dihidrotetrabenzazina de la invención mediante mezcla del compuesto (25 mg) con óxido de hierro, lactosa, estearato de magnesio, almidón de maíz blanco y talco, y compresión para formar una tableta de una manera conocida.

65 (iii) *Formulación de Cápsulas*

Se prepara una formulación para cápsulas mediante mezcla de 100 mg de dihidrotetrabenzazina de la invención con 100 mg de lactosa y relleno de cápsulas de gelatina dura opaca estándar con la mezcla resultante.

ES 2 318 771 T3

Equivalentes

Se evidenciará fácilmente que se pueden realizar numerosas modificaciones y cambios a las realizaciones específicas de la invención descrita anteriormente sin apartarse de los principios fundamentales de la invención. Todas estas modificaciones y cambios pretenden estar incluidos en esta solicitud.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

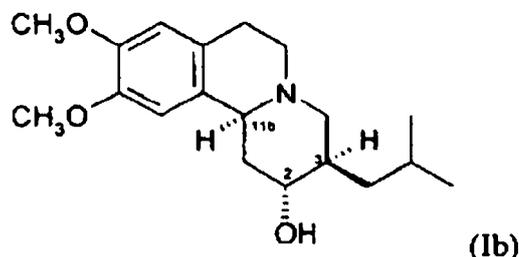
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina de fórmula (Ib):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su utilización en la profilaxis o el tratamiento de la psicosis.

2. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina para su utilización según la reivindicación 1, **caracterizada** porque su uso consiste en la prevención o el alivio de un episodio psicótico.

3. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina para su utilización según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, **caracterizada** porque la psicosis o el episodio psicótico se origina o se relaciona con la esquizofrenia.

4. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según se define en la reivindicación 1 para su utilización en la profilaxis o el tratamiento de la esquizofrenia.

5. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque los episodios psicóticos, psicosis o síntomas prevenidos o aliviados se seleccionan de entre:

- delirios;
- alucinaciones;
- alucinaciones visuales;
- alucinaciones auditivas;
- alucinaciones que implican sensaciones táctiles, sabores u olores;
- confusión;
- trastornos emocionales, de comportamiento o intelectuales;
- abandono de la realidad;
- modelos ilógicos y/o desorganizados del pensamiento;
- comportamientos paranoicos o delirantes;
- paranoia
- delirios de grandeza;
- delirios de persecución o sentimientos de culpa; y
- cambios de la personalidad.

6. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenazina para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque los episodios psicóticos, psicosis o síntomas prevenidos o aliviados se seleccionan de entre los originados en o relacionados con:

- psicosis provocada por o asociada a la esquizofrenia;
- psicosis provocada por o asociada al trastorno bipolar (depresión maníaca);
- psicosis provocada por o asociada a depresión clínica grave,

ES 2 318 771 T3

- psicosis provocada por trastornos y condiciones tales como:
 - trastorno electrolítico;
 - 5 - infecciones del tracto urinario en las personas mayores;
 - síndromes dolorosos;
 - toxicidad por drogas;
 - 10 - abstinencia de drogas; e
 - infecciones o lesiones del cerebro;
- psicosis provocada por estrés psicológico crónico (psicosis reactiva breve);
- 15 • psicosis desencadenada o exacerbada por estrés mental grave; y
- psicosis desencadenada u originada o que sigue enfermedades y estados tales como SIDA, lepra, malaria y paperas.
- 20

7. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina para su utilización según la reivindicación 4, **caracterizada** porque la utilización consiste en el alivio o reducción de uno o más síntomas de la esquizofrenia.

8. Una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina para su utilización según la reivindicación 4, **caracterizada** porque la utilización consiste en la prevención, alivio o reducción de uno o más síntomas seleccionados de entre:

- delirios;
- alucinaciones;
- 30 • confusión;
- trastornos emocionales, de comportamiento o intelectuales;
- 35 • abandono de la realidad; y
- modelos ilógicos del pensamiento;

9. La 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque la 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina se encuentra en forma de una sal de adición de ácido.

10. La 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina para su utilización según la reivindicación 9, **caracterizada** porque la sal es una sal metanosulfonato.

11. La 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina para su utilización según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la utilización consiste en la mejoría de los síntomas de deficiencia cognitiva de la esquizofrenia.

12. Utilización de una 3,11b-*cis*-dihidotetrabenzazina de fórmula (Ib) tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 9 y 10 para la fabricación de un medicamento para el uso terapéutico tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y 11.

FIGURA 1

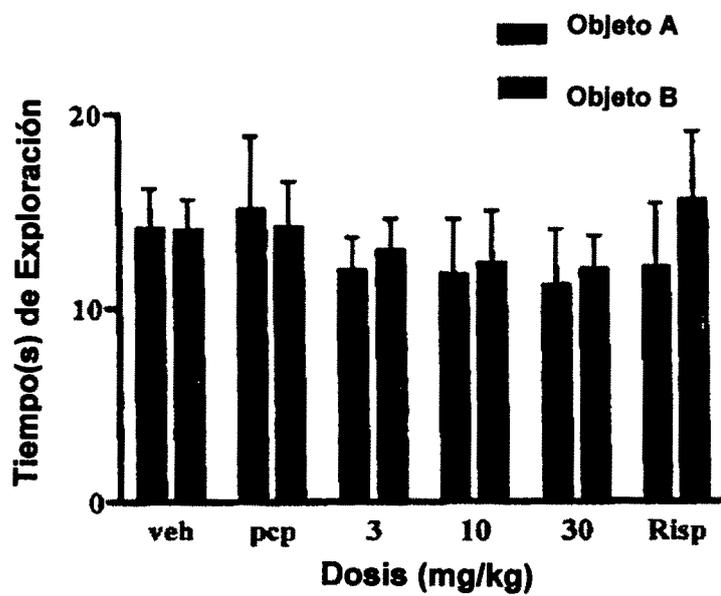


FIGURA 2

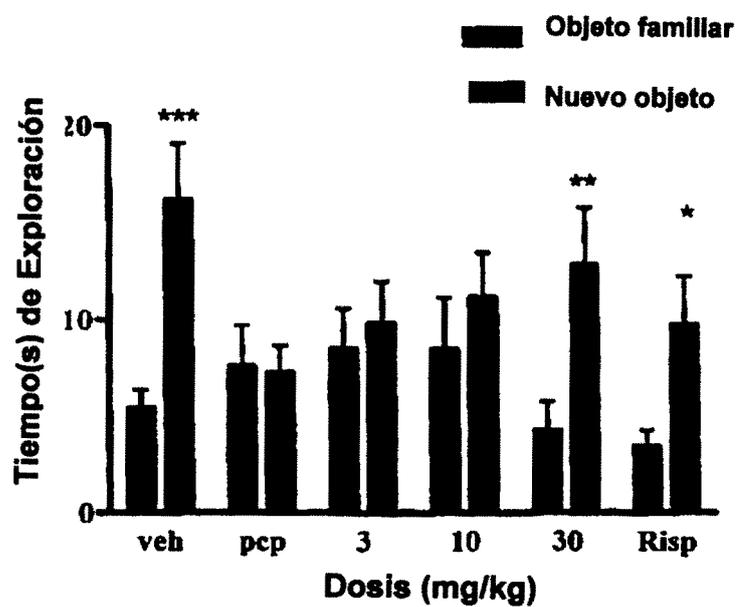


FIGURA 3

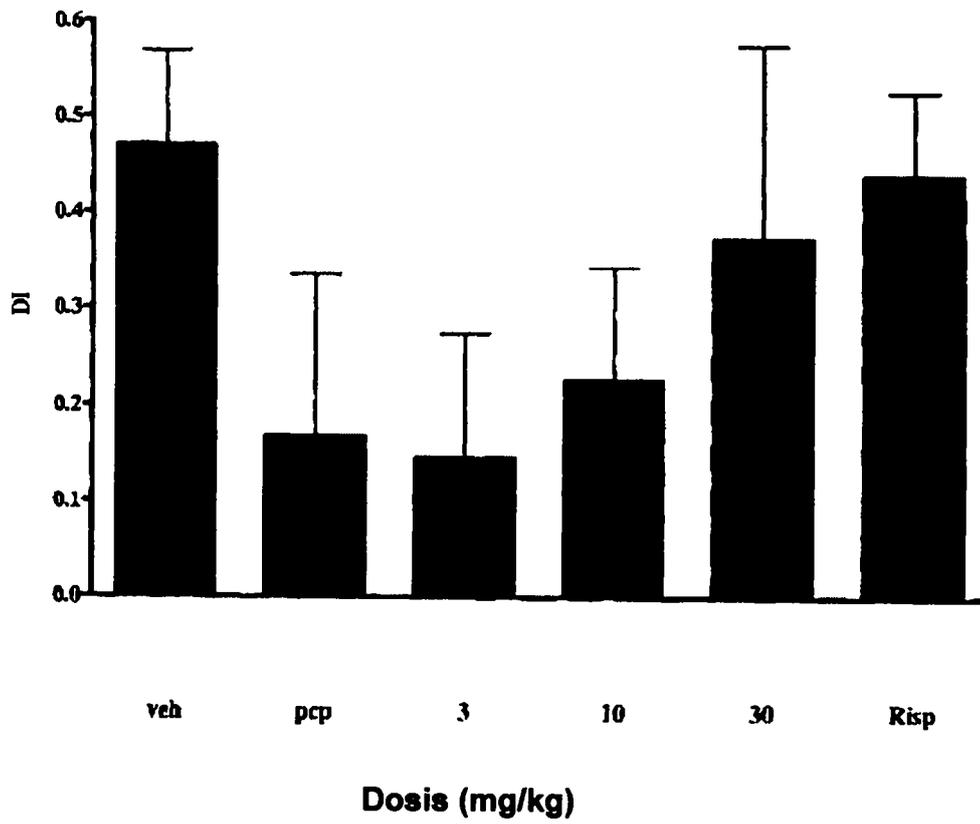


FIGURA 4

