

RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
Abogado

MARIA ANSELICA RODRIGUEZ R.
Abogada

CARLOS ENRIQUE TAMAYO S.
Ingeniero Industrial

SANDRA CARDENAS
Química Farmacéutica



Rodriguez Madrid & Asociados
NIT. 830.038.010-1

PATENTES

MARCAS

DERECHOS DE AUTOR

LICENCIAS DE USO

SOFTWARE

REGISTROS SANITARIOS

NOMBRES DE DOMINIO

SR.

PATENTS

TRADEMARKS

COPYRIGHTS

LICENSING

SOFTWARE PROTECTION

SANITARY PERMITS

DOMAIN NAME

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 88879740 88888881
Fecha (AÑO): 2000-12-22 15:36:27
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 329 COMPLETEN
Dependencia: 2829 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 69

REF : EXPEDIENTE No000-79740 de Octubre 19 de 2000

PATENTE : "METODO PARA TRATAR EL MAL DE PARKINSON A TRAVES
DE LA ADMINISTRACIÓN DE (-)-5-CETO-2-N,N-DI-N-PROPILAMINO-
TETRAHIDROTETRALINA

Estimados señores :

Damos alcance al expediente citado en la referencia, para reivindicar Prioridad de la Patente solicitada, con fundamento jurídico en lo establecido en el Artículo 12 de la Decisión 344 de la comisión del Acuerdo de Cartagena y el Artículo 4 Lit. F del Decreto 117/94 referente a la fuente normativa de reciprocidad, esta se basa en :

- a.- El artículo 4 del convenio de París, aprobado mediante Ley 178/94, declarado exequible por la Corte Constitucional en Sentencia del 18 de Enero/96.
- b.- Ley 170/94 en la cual Colombia aprobó el Acuerdo por el que se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC) suscrito en Marrakech (Marruecos) el 15 de Abril de 1994, y sus Acuerdos multilaterales, los cuales incluyen los aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio; mejor conocido como el Trip'. Dicha Ley 170 de 1997 fue declarada exequible por la Corte Constitucional el 28 de Marzo de 1995.

El Artículo 2, Ord.1, del Trip's establece que la propiedad en el Mundo será reconocida, que los países miembros cumplirán los artículos 1 a 12 y el Artículo 19 del convenio de París. A su vez, el artículo 4 del Convenio de París (es decir, uno de los artículos de cumplimiento obligatorio bajo Trip's) establece que la prioridad sobre la primera solicitud en el mundo será reconocida.

Por lo tanto anexamos:

*Transversal 6a. No. 27-10 "Edificio Antares - Port House" * Teléfono: 283 09 42 * Tel. 334 72 84 - 341 7003
e-mail: rodrucos@andinet.com * Santa Fe de Bogotá, D. C.*

RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
Abogado

MARIA ANSELICA RODRIGUEZ B.
Abogada

CARLOS ENRIQUE TAMAYO S.
Ingeniero Industrial

SANDRA CARDENAS
Química Farmacéutica



Rodriguez Madrid & Asociados
NIT. 830.038.010-1

PATENTES

MARCAS

DERECHOS DE AUTOR

LICENCIAS DE USO

SOFTWARE

REGISTROS SANITARIOS

NOMBRES DE DOMINIO

PATENTS

TRADEMARKS

COPYRIGHTS

LICENSING

SOFTWARE PROTECTION

SANITARY PERMITS

DOMAIN NAME

1.- Copia de la Prioridad No.60/160.716 de Octubre 20 de 1999 Debidamente Legalizada por el Ministerio de Relaciones Exteriores

2.- Traducción de las reivindicaciones de la primera solicitud de Patente efectuadas por Traductor Oficial avalada por el Ministerio de Relaciones Exteriores

En consecuencia, ruego a ustedes una vez finiquitada esta diligencia, ordenar lo pertinente para que el expediente siga su curso normal.

Atentamente,


RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
C.C. No. 3'792.584-Cartagena
T.P. No. 59.363 del C.S.J

Anexo.- Lo anunciado.

Transversal 6a. No. 27-10 *Edificio Antares - Port House * Teléfax: 283 09 42 * Tel. 334 72 84 - 341 7003
e-mail: rodruscs@andinet.com * Santiago de Bogotá, D. C.



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Miami, 20 Noviembre 2000

AUTENTICACION No. 7345

El Cónsul General CERTIFICA que el(la) señor(a) KATHERINE HARRIS ***
que autoriza el documento adjunto, ejercía legalmente en la fecha allí expresada
las funciones de SECRETARIO ESTADO y que la firma y sello que aparecen
en el documento como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.
El Consulado no asume responsabilidad alguna por el contenido del
documento.

Por el Cónsul General,

DERECHOS: Timbre US\$ 7.00
Fondo Rot. US\$ 15.00



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

493960

CUYA FIRMA APARECE EN SU
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

201 DEC 15 A 10:08

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

STATE OF FLORIDA DEPARTMENT OF STATE

Notary Commissions and Certification Section

I, Katherine Harris, Secretary of State, do hereby certify that:

Araceli Matus-Silva

was commissioned as a Notary Public in and for the State of Florida:

Commission number: CC973596

Term beginning: October 27, 2000

Term expiring: October 26, 2004

as shown by the records of this office.

Legal Qualifications and Authority of a Florida Notary Public

A Florida Notary Public is not licensed to practice law in the State of Florida, and may not give legal advice or accept fees for legal advice.

Legal Qualifications of a Florida Notary Public: A Florida Notary Public shall be at least 18 years of age and a legal resident of Florida. A Florida Notary Public must be able to read, write, and understand the English language.

Legal Authority of a Florida Notary Public: A Notary Public may administer an oath and make a certificate thereof when it is necessary for the execution of any writing or document to be published under the seal of a Notary Public. A Notary Public is authorized to take the acknowledgments of deeds and other instruments of writing for record. A Notary Public is authorized to solemnize the rites of matrimony. A Notary Public may supervise the making of a photocopy of an original document and attest to the trueness of the copy.

Given under my hand and the Great Seal of the State of Florida, at Tallahassee, the Capital, this the Sixteenth day of November, A.D., 2000.



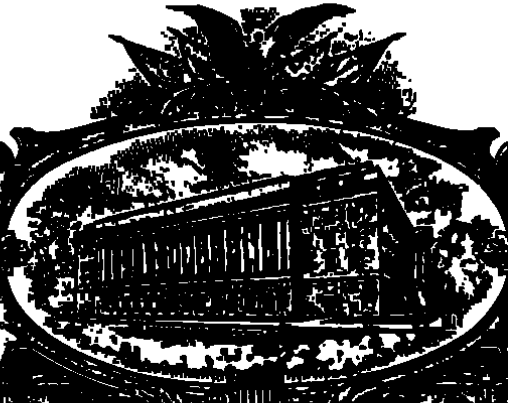
Katherine Harris

Secretary of State

DSDE 99 (1-99)

This document contains an artificial watermark on REVERSE. Hold at 45°. DO NOT ACCEPT UNLESS VIEWED.

73 # 77
127
Columbus



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

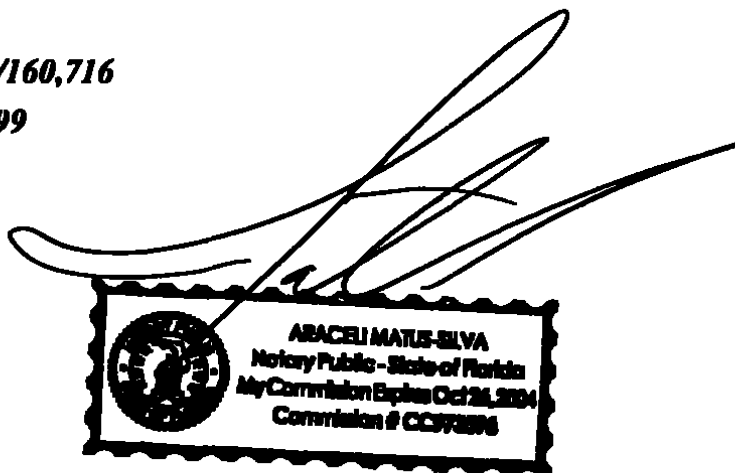
United States Patent and Trademark Office

November 03, 2000

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/160,716

FILING DATE: October 20, 1999



By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS

N. Williams
N. WILLIAMS
Certifying Officer

Please type a plus sign (+) inside this box → ☐

Docket Number: 5974L1-01-CA

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 CFR 1.53 (c).

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)					
Given Name (first and middle (if any))	Family Name or Surname	Residence (City and either State or Foreign Country)			
Dijk Leonard Theodore Basilean John	Dijkstra Meltzer Vesthuis	De Meidoorn 28, NL-8781 VP, Bedum, The Netherlands 2906 Randweg, Ann Arbor, Michigan 48106 USA K. de Vriesstraat 33, NL-8741 AG, Groningen, The Netherlands			
☒ Additional inventors are being named on page 2 attached hereto					
TITLE OF THE INVENTION (250 characters max)					
METHOD FOR TREATING PARKINSON'S DISEASE BY ADMINISTERING (-)-6-KETO-2-N,N-DI-PROPYLAMINO-TETRAHYDROTETRALIN					
CORRESPONDENCE ADDRESS					
Direct all correspondence to:					
☐ Customer Number				Place Customer Number Bar Code Label here	
OR					
☒ Firm or Individual Name		Charles W. Ashbrook			
Address		Warner-Lambert Company			
Address		2800 Plymouth Road			
City		Ann Arbor	State	Michigan	ZIP 48106
Country		United States	Telephone	(734) 622-6215	Fax (734) 622-1553
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)					
☒ Specification	Number of Pages	12			
☐ Drawing(s)	Number of Sheets	☒ Other (specify)		12 Claims on 2 Pages; Abstract on 1 Pg.	
METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT (check one)					
☐ A check or money order is enclosed to cover the filing fees					FILING FEE AMOUNT
☒ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees or credit any overpayment to Deposit Account Number:					23-0455
					\$150.00
The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.					
☒ No.					
☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:					

Respectfully submitted

SIGNATURE

Charles W. Ashbrook

DATE

October 20, 1999

TYPED or PRINTED NAME

Charles W. Ashbrook

REGISTRATION NO.
(if appropriate)

27,810

TELEPHONE

(734) 622-6215

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)		
Given Name (first and middle if any)	Family Name or Surname	Residence (city and either State or Foreign Country)
Hakan Vilhelm	Wikstrom	Elschootlaan 32, NL-9721 WN, Groningen, The Netherlands
Lawrence David	Wise	1241 Sarrister, Ann Arbor, Michigan 48106 USA
David Juergen	Whustrow	8101 John Holmes Road, Ann Arbor, MI 48103 USA

Certificate of Mailing by Express Mail

I certify that this provisional patent application cover sheet, provisional patent application and fee is being deposited on 10-20-99 with the U.S. Postal Service as "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 C.F.R. 1.10 and is addressed to the Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

Cindy Malocha
Signature of Person Mailing Correspondence

Cindy Malocha
Typed or Printed Name of Person Mailing Correspondence

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT.

SEND TO: Box: Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20251

76 x
H
8

5974L1-01CA

Docket Number: 5974L1-01-CA
Express Mail No: EJ 707 281 145 US

660201-91/091043

**METHOD FOR TREATING PARKINSON'S DISEASE BY ADMINISTERING
(-)-5-KETO-2-N,N-DI-N-PROPYLAMINO-TETRAHYDROTETRALIN**

DM_FILE/PD 5974L1

-1-

METHOD FOR TREATING PARKINSON'S DISEASE BY ADMINISTERING
(-)-5-KETO-2-N,N-DI-N-PROPYLAMINO-TETRAHYDROTETRALIN

FIELD OF THE INVENTION

5 The present invention is directed to a method for treating Parkinson's disease by administering (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin.

BACKGROUND OF THE INVENTION

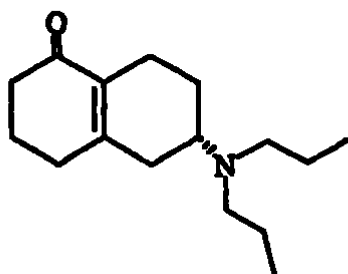
60160716-102 9
10 Neurodegenerative diseases are becoming more prevalent with the aging population. One particular neurodegenerative disease which typically has its onset between the ages of 50 and 80 years of age is Parkinson's disease. Parkinson's disease is a disorder of the brain which is characterized by tremor and difficulty with walking, movement, and coordination.

15 Parkinson's disease appears to be caused by a progressive deterioration of dopamine-containing neurons in the substantia nigra zona compacta of the brain. Dopamine is a chemical neurotransmitter which is utilized by brain cells to transmit impulses to control or modulate peripheral muscle movement. The loss of the dopamine-containing neurons results in reduced amounts of dopamine available to the body. Insufficient dopamine is thought to disturb the balance between dopamine and other neurotransmitters such as acetylcholine. When such dopamine levels are reduced, nerve cells cannot properly transmit impulses, resulting in a loss of muscle control and function.

20 Currently, there is no known cure for Parkinson's disease. Treatments are typically aimed at controlling the symptoms of Parkinson's disease, primarily by replacing the dopamine, with either L-DOPA which is metabolized to dopamine, or by administering chemical agents that stimulate dopamine receptors. Current
25 treatments to slow the progression of the disease include compounds such as deprenyl (selegiline), a selective monoamine oxidase inhibitor, and amantadine, a compound that appears to decrease dopamine reuptake into presynaptic neurons.

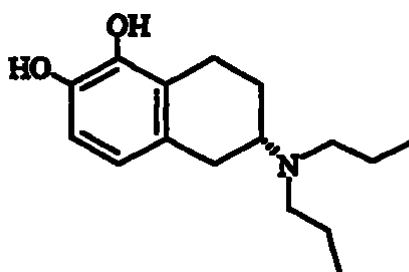
Certain hydroxy substituted dipropylamino tetralines (OH-DPATs) are known to have useful dopaminergic activity. However, their clinical use is limited because they have little or no bioavailability. An object of this invention is to provide a prodrug that is uniquely metabolized *in vivo* to a OH-DPAT that is a potent dopamine receptor agonist.

Applicants have now discovered that Parkinson's disease can be treated with (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin ((-)-5-keto-DPATT) (Formula I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



I

The compound of Formula I is unexpectedly converted to (-)-5,6-diOH-aminotetralin (5,6-diOH-DPAT), (Formula II), *in vivo* in the central nervous system. The (-)-5,6-diOH-DPAT is a potent dopamine D1/D2 receptor agonist, whereas the (-)-5-keto-DPATT does not itself bind to dopamine receptors in *in vitro* experiments



II

The (-)-5,6-diOH-DPAT of Formula II appears in the brain cells of animals following oral administration of the (-)-5-keto-DPATT of Formula I. Surprisingly, no 5,6-diOH-DPAT is observed in brain cells following oral administration of the (+)enantiomer, namely (+)-5-keto-DPATT. Therefore, in accord with the present invention, applicants have found that (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin is an effective dopamine D1/D2 agonistic prodrug for treatment of Parkinson's disease, as it is converted or metabolized, *in vivo*, into (-)-5,6-diOH-DPAT, which lodges in brain cells and is an effective dopamine D1/D2 agonist.

601 0716-102099

78-02
H

7910-83
H3

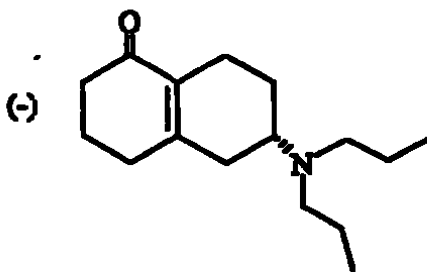
-3-

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides a compound which is (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and method for treating Parkinson's disease comprising administering to a patient in need of treatment an effective amount of the compound. This compound is selectively converted into (-)-5,6-dihydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin *in vivo*, and therapeutic amounts thereof are deposited in brain tissue, resulting in the effective treatment of Parkinson's disease. The invention additionally provides a process for preparing the 5-keto compound.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention provides compounds having the Formula I



known as (-)-5-keto-2-N,N-di-N-propylamino-tetrahydrotetralin, ((-)-5-keto-DPATT), and the pharmaceutically acceptable salts thereof.

The term "patient" as used herein means all animals including humans. Examples of patients include humans, rodents, and monkeys.

Those skilled in the art are easily able to identify patients having Parkinson's disease. For example, patients who exhibit symptoms which include, but are not limited to, tremor and/or shaking and difficulty with walking, other movement, and coordination.

A "therapeutically effective amount" is an amount of a compound of Formula I, that when administered to a patient, ameliorates a symptom of Parkinson's disease.

The compounds of the present invention can be administered to a patient either alone or as part of a pharmaceutical composition of the compounds admixed

with a pharmaceutically acceptable carrier, diluent, or excipient. The compositions can be administered to patients either orally, rectally, parenterally (intravenously, intramuscularly, or subcutaneously), intracisternally, intravaginally, intraperitoneally, intravesically, locally (powders, ointments, or drops), or as a buccal or nasal spray.

A preferred route of administration is oral, although parenteral and transdermal administration are also contemplated. Controlled release formulations, particularly in the form of skin patches and the like, are particularly well-suited for treating elderly patients.

Compositions suitable for parenteral injection may comprise physiologically acceptable sterile aqueous or nonaqueous solutions, dispersions, suspensions or emulsions, and sterile powders for reconstitution into sterile injectable solutions or dispersions. Examples of suitable aqueous and nonaqueous carriers, diluents, solvents or vehicles include water, ethanol, polyols (propyleneglycol, polyethyleneglycol, glycerol, and the like), suitable mixtures thereof, vegetable oils (such as olive oil) and injectable organic esters such as ethyl oleate. Proper fluidity can be maintained, for example, by the use of a coating such as lecithin, by the maintenance of the required particle size in the case of dispersions and by the use of surfactants.

These compositions may also contain adjuvants such as preserving, wetting, emulsifying, and dispensing agents. Prevention of the action of microorganisms can be controlled by addition of any of various antibacterial and antifungal agents, for example, parabens, chlorobutanol, phenol, sorbic acid, and the like. It may also be desirable to include isotonic agents, for example sugars, sodium chloride, and the like. Prolonged absorption of the injectable pharmaceutical form can be brought about by the use of agents delaying absorption, for example, aluminum monostearate and gelatin.

Oral delivery of the invention compounds is preferred, given the typical age of the patient population and the condition being treated. Solid dosage forms for oral administration include capsules, tablets, pills, powders, and granules. In such solid dosage forms, the active compound is admixed with at least one inert customary excipient (or carrier) such as sodium citrate or dicalcium phosphate or (a) fillers or extenders, as for example, starches, lactose, sucrose, glucose, mannitol, and silicic

60160716.102099

81+2
H5
05

acid, (b) binders, as for example, carboxymethylcellulose, alginates, gelatin, polyvinylpyrrolidone, sucrose, and acacia, (c) humectants, as for example, glycerol, (d) disintegrating agents, as for example, agar-agar, calcium carbonate, potato or tapioca starch, alginic acid, certain complex silicates, and sodium carbonate, (e) solution retarders, as for example paraffin, (f) absorption accelerators, as for example, quaternary ammonium compounds, (g) wetting agents, as for example, cetyl alcohol, and glycerol monostearate, (h) adsorbents, as for example, kaolin and bentonite, and (i) lubricants, as for example, talc, calcium stearate, magnesium stearate, solid polyethylene glycols, sodium lauryl sulfate, or mixtures thereof. In the case of capsules, tablets, and pills, the dosage forms may also comprise buffering agents.

Solid compositions of a similar type may also be employed as fillers in soft and hard-filled gelatin capsules using such excipients as lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethyleneglycols, and the like.

Solid dosage forms such as tablets, dragées, capsules, pills, and granules can be prepared with coatings and shells, such as enteric coatings and others well known in the art. They may contain opacifying agents, and can also be of such composition that they release the active compound or compounds in a certain part of the intestinal tract in a delayed manner. Examples of embedding compositions which can be used are polymeric substances and waxes. The active compounds can also be used in micro-encapsulated form, if appropriate, with one or more of the above-mentioned excipients. Controlled slow release formulations are also preferred, including osmotic pumps and layered delivery systems.

Liquid dosage forms for oral administration include pharmaceutically acceptable emulsions, solutions, suspensions, syrups, and elixirs. In addition to the active compounds, the liquid dosage forms may contain inert diluents commonly used in the art, such as water or other solvents, solubilizing agents and emulsifiers, as for example, ethyl alcohol, isopropyl alcohol, ethyl carbonate, ethyl acetate, benzyl alcohol, benzyl benzoate, propyleneglycol, 1,3-butyleneglycol, dimethylformamide, oils, in particular, cottonseed oil, groundnut oil, corn germ oil, olive oil, castor oil and sesame oil, glycerol, tetrahydrofurfuryl alcohol, polyethyleneglycols and fatty acid esters of sorbitan or mixtures of these substances; and the like.

E 160716.1 2099

82-13-86
H6

Besides such inert diluents, the composition can also include adjuvants, such as wetting agents, emulsifying and suspending agents, sweetening, flavoring, and perfuming agents.

5 Suspensions, in addition to the active compounds, may contain suspending agents, as for example, ethoxylated isostearyl alcohols, polyoxyethylene sorbitol and sorbitan esters, microcrystalline cellulose, aluminum metahydroxide, bentonite, agar-agar and tragacanth, or mixtures of these substances, and the like.

10 Compositions for rectal administrations are preferably suppositories which can be prepared by mixing the compounds of the present invention with suitable nonirritating excipients or carriers such as cocoa butter, polyethyleneglycol or a suppository wax, which are solid at ordinary temperatures but liquid at body temperature and therefore, melt in the rectum or vaginal cavity and release the active component.

15 Dosage forms for topical administration of a compound of this invention include ointments, powders, sprays, and inhalants. The active component is admixed under sterile conditions with a physiologically acceptable carrier and any preservatives, buffers, or propellants as may be required. Ophthalmic formulations, eye ointments, powders, and solutions are also contemplated as being within the scope of this invention.

20 The term "pharmaceutically acceptable salts" as used herein refers to those amino acid addition salts of the compound of the present invention which are, within the scope of sound medical judgment, suitable for use in contact with the tissues of patients without undue toxicity, irritation, allergic response, and the like, commensurate with a reasonable benefit/risk ratio, and effective for their intended use, as well as the zwitterionic forms, where possible, of the compounds of the invention. The term "salts" refers to the relatively non-toxic, inorganic and organic acid addition salts of the compounds of Formulas I and II. These salts can be prepared *in situ* during the final isolation and purification of the compounds or by separately reacting the purified compound in its free base form with a suitable
25 organic or inorganic acid and isolating the salt thus formed. Representative salts include the hydrobromide, hydrochloride, sulfate, bisulfate, nitrate, acetate, oxalate, valerate, oleate, palmitate, stearate, laurate, borate, benzoate, lactate, phosphate, tosylate, citrate, malate, fumarate, succinate, tartrate, naphthylate mesylate,
30

60160716.102 99

83 14-89
H7

glucoheptonate, lactobionate and laurylsulphonate salts, and the like. These may include cations based on the alkali and alkaline earth metals, such as sodium, lithium, potassium, calcium, magnesium, and the like, as well as nontoxic ammonium, quaternary ammonium and amine cations including, but not limited to ammonium, tetramethylammonium, tetraethylammonium, methylamine, dimethylamine, trimethylamine, triethylamine, ethylamine, and the like. (See, for example, S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, 1977; 66:1-19 which is incorporated herein by reference.)

In addition, the compounds of the present invention can exist in unsolvated as well as solvated forms with pharmaceutically acceptable solvents such as water, ethanol, and the like. In general, the solvated forms are considered equivalent to the unsolvated forms for the purposes of the present invention.

The compounds of the present invention can be administered to a patient at dosage levels in the range of about 0.1 to about 1,000 mg per day. For a normal human adult having a body weight of about 70 kilograms, a dosage in the range of about 0.01 to about 100 mg per kilogram of body weight per day is preferable. The specific dosage used, however, can vary. For example, the dosage can depend on a number of factors including the requirements of the patient, the severity of the condition being treated, and the pharmacological activity of the compound being used. The determination of optimum dosages for a particular patient is well-known to those skilled in the art.

In addition, it is intended that the present invention cover compounds made either using standard organic synthetic techniques, including combinatorial chemistry or by biological methods, such as through metabolism.

The examples presented below are intended to illustrate particular embodiments of the invention and are not intended to limit the scope of the specification, including the claims, in any way.

The (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin utilized in the method of the present invention is ideally suited for several reasons. First, the compound is stable, making it an excellent candidate for oral administration. Second, the compound is long acting, thereby enabling effective treatment with fewer dosings which is of significant importance for elderly patients. Third, the compound serves as a prodrug which is converted or metabolized into the biologically active (-)-5,6-

60160716.10209

84. 88
+5
H8

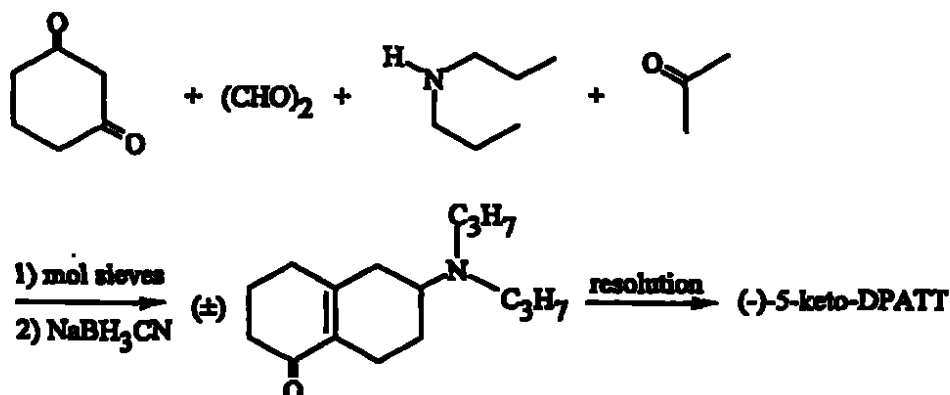
-8-

dihydroxy-N,N-dipropyl-2-aminotetralin, thereby reducing the peripheral side effects associated with administering the active compound itself to the patient. Fourth, the compound of the present invention has excellent oral bioavailability. Additionally, the compound of the present invention is unexpectedly selectively converted to
5 (-)-5,6-diOH-DPAT *in vivo* in the central nervous system.

The following detailed examples illustrate the general synthetic techniques utilized for preparing the compound, along with some of the biological assays employed to establish the efficacy of the compound of the present invention.

EXAMPLE 1

10 The following scheme illustrates a preferred method for making (-)-5-keto-DPATT (also referred to as (-)-PD 148903).



15 A mixture of 23.1 g (0.2 mol) 1,3-cyclohexanedione, 6.0 g (0.2 mol) paraformaldehyde and 28.8 mL of dipropylamine (0.2 mol) in 200 mL of toluene was stirred for 1 hour with 60 g powdered molecular sieves (4 Å) at a reaction temperature of 85°C.

After 1 hour 15 mL of acetone was added, and the mixture was stirred at 85°C for a further 2 hours. The color was changing from yellow to red. After cooling, the reaction mixture was filtered through celite and concentrated under
20 reduced pressure giving a dark-red oil.

To the oil, dissolved in a mixture of 250 mL of THF and 12 mL of acetic acid and cooled in an ice-bath, was added in small portions, 5 g of sodium cyanoborohydride. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. Ninety percent of the solvent was evaporated. Ether (200 mL) was added, and the

50160716.102099

85 87
76
HA

-9-

reaction mixture was made alkaline with saturated sodium bicarbonate solution. The aqueous layer was extracted 3 times with 50 mL of ether. The combined organic layer was washed with brine and dried over sodium sulfate. Concentrated under reduced pressure gave 40 g of a red oil.

5 The oil was dissolved in 150 mL of boiling isopropyl acetate and, dropwise, a solution of 15.4 g (0.04 mol) (-)-ditoluytartaric acid was added. The precipitate was collected by suction filtration and dried in vacuum desiccator. The mixture of diastereomeric salts (21 g, 16.5%) was recrystallized 3 times from 300 mL of ethanol (90%) yielding 5 g salt with $[\alpha] = -146^\circ$ (c=0.05 methanol) and was then salt basified with NaHCO_3 solution and the free base converted into the hydrochloride salt. Yield 10 2.0 g (3.5%) of (-)-(5)-keto-DPATT. $[\alpha] = -152.4^\circ$ (c = 0.1, MeOH), cc >99%, mp 148-150°C.

EXAMPLE 2

15 **Determination of Prodrug Enantiomers, (-)-5-keto-DPATT and (+)-5-keto-DPATT, and Active Metabolite 5,6-di-OH-DPAT in the CNS by Brain Microdialysis**

Methods

Brain Guide Cannula Procedure:

20 Each of four study rats was anesthetized with ketamine (30 mg/kg), xylazine (6 mg/kg), and sodium pentobarbital (50 mg/kg) administered intramuscularly. The anesthetized rat was placed in the stereotaxic frame, securing the head, while its body rested on a heating pad to maintain body temperature at 37°C. A 2-3 cm midline incision was made on the top of the head exposing the skull. With the skin retracted laterally, the skull was abraded with cotton swabs and any bleeding was controlled using a small vessel cauterizer (Fine Science Tools, Inc. #18000-00). A 25 dental drill, secured to the stereotaxic frame, was aligned with Bregma once the surface of the skull was cleaned. A hole was drilled 0.8-1.0 mm deep +0.7 mm rostral and -3.1 mm lateral from Bregma in order to insert the guide cannula into the skull. One additional hole was drilled 0.4 mm in depth in the opposite quadrant of

60160716-102099

86-40
77
120

-10-

the skull for insertion of a stainless steel anchoring screw. With the help of an electrode manipulator, the guide cannula was lowered into the predrilled hole leading to the brain. To secure the guide in position, the surface of the skull was scored and dental cement applied. The skin was closed around the cannula using 4-0 silk suture. A stylet was placed inside the guide cannula hole securing access until the study day. Each rat was given 10 mL of Lactated Ringer's solution subcutaneously, then placed on a heating pad for post-surgical recovery. Once ambulatory, the rat was transferred to a suspended wire cage with food and water given *ad libitum*.

10 Vascular Cannulation Procedures:

The morning before the study, under isoflurane anesthesia, each microdialysis rat was implanted with a jugular cannula for blood sampling. The jugular vein was ligated and the cannula inserted through a small incision into the vessel. The cannula was routed subcutaneously to a position in the midscapular region where it was exteriorized. Cannula patency was maintained with 17 units/mL of heparin in a 0.9% saline solution, then held in place over the back by a Velcro jacket until accessed for the study. Following surgical recovery, the rats were returned to their suspended wire cage with food and water given *ad libitum*.

Probe Insertion and Calibration:

The evening before the study, the rats were anesthetized for probe insertion with Diprivan (10 mg/mL) at a dose of 10 to 15 mg/kg IV. The stylet was removed from the intercerebral guide and the dura punctured with a 27-gauge needle. A Harvard flexible loop microdialysis probe with 3 mm-membrane tip (Cat. #59-7006) was inserted through the guide into the caudate putamen and locked in position. Each rat was again supplemented with 10 mL of Lactated Ringer's solution given subcutaneously. Following probe insertion, the rats were placed in a BAS Ratum System (Bioanalytical Systems, Inc.) consisting of a turntable, housing bowl, and balance arm. This system allows for free movement of the rat while preventing probe line and cannula entanglement. Probe lines were secured to the rat probe and perfused with artificial cerebrospinal fluid (ACSF) at 1 μ L/min using a syringe pump (CMA/102 Microdialysis Pump). The rats remained in the Ratum systems

60160716.102099

87-11
16
174

from this point throughout the duration of the study with water given *ad libitum*. One hour prior to dosing, the calibrator (PD 0166871 200 ng/mL) was added to the ACSF and three dialysate samples collected for analysis.

Dosing and Sampling:

5 Following a pre-dose blood sample, four prepared rats were dosed with (-)-5-keto-DPATT at 10 mg/kg via oral gavage, and 3 fasted rats were dosed 2 mg/kg via IV bolus. The same number of prepared rats were dosed with the same amounts of (+)-5-keto-DPATT. Dosing vehicle for both studies were: 5% dextrose for IV bolus and HPLC grade H₂O for oral dose.

10 Oral dosed blood samples were collected through the jugular cannula at 45, 75, 105, 135, 165, 225, 285, 345, 405, and 480 minutes, and ACSF was collected with continuous flow (1 µL/min) at 30-minute intervals using a CMA/142 Microfraction collector for automated collection. The first ACSF collection at 30 minutes post-dose represents 0 through 30 minutes for an average at 15 minutes thus matching the
15 time point of blood sampling. IV dosed blood samples were collected through the jugular cannula at 0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, and 8 hours. Each blood sample was placed directly into a serum separator collection tube for centrifugation and decanting of serum. Upon final sample, brain probes were removed from oral dosed rats euthanized by intravenous overdose of sodium pentobarbital. Brain samples
20 were collected and parenchyma separated from capillaries by a depletion technique using 6 mL of Hepes buffer and 8 mL of 26% dextran/Hepes buffer to homogenize the brain sample immediately, then centrifuge the homogenate to separate supernatant (parenchyma) and pellet (capillaries).

Analysis:

25 Individual samples of (-)-5-keto-DPATT and (+)-5-keto-DPATT in serum and brain tissue samples were prepared by liquid/liquid extraction with a 2 mL methyl t-butyl ether, 100 µL 0.1% HAC and analyzed by LC/MS/MS. Chromatographic conditions were isocratic (acetonitrile:0.1% formic 60:40) reverse-phase, 2.1 × 100 mm × 3µ YMC-basic column; 0.2 mL/min flow rate; Samples were analyzed
30 by multiple-reaction monitoring (MRM) using a Micromass Quattro II triple

60160716-102099

88-92
19
122

quadrupole mass spectrometer with Z-spray ionization source operating with positive ion electrospray. Brain microdialysis samples were analyzed by direct injection using similar LC/MS/MS conditions as described above.

5 Standard curves were prepared in rat serum, brain homogenate, and artificial cerebrospinal fluid (ACSF) separately. Injection volumes were 5 μ L and a post-column divert valve was used.

10 All sample concentrations were rounded to 3 significant figures using the validated computer program PKBASE Version 1.1 (CPL #49). Pharmacokinetic parameters were determined by noncompartmental analysis of individual rat-serum and ACSF Concentration-time data using WinNonlin Version 1.5 (CPL #54). Mean, standard deviation (SD), and percent relative standard deviation (%RSD) were calculated using Microsoft Excel, Version 7 (Microsoft Corporation).

15 CONCLUSION: The active metabolite of racemic 5-keto-DPATT, (-)-5,6-di-OH-DPAT, was observed in brain following administration of the active (-) enantiomer, (-)-5-keto-DPATT, but not the inactive (+) enantiomer, (+)-5-keto-DPATT.

20 RESULTS/CONCLUSIONS: As shown in Table I and illustrated in Chart I, serum and brain ECF (microdialysis probe in striatum) concentrations of (-)-5-keto-DPATT were significantly lower than the concentrations for the inactive enantiomer (+)-5-keto-DPATT following a 10 mg/kg PO dose to rats. However, only the active metabolite was present in brain ECF following administration of (-)-5-keto-DPATT. This demonstrates involvement of CNS tissue in the conversion of (+)-5-keto-DPATT to 5,6-di-OH-DPAT. Enantio-selective delivery of the active
25 metabolite to the CNS renders the present compound high efficacious for the treatment of Parkinson's disease.

60160716.102099

89-23
20
123

Table 1. Mean Serum and Brain Concentrations of (-)-5,6-diOH-DPAT and (+)-5,6-diOH-DPAT Following a 10 mg/kg PO Dose to Rats of (-)-5-keto-DPAT and (+)-5-keto-DPAT, Respectively

Compound	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	AUClast (ng·hr/mL)	t½ (hr)
(-)-5-keto-DPAT	0.8	10.6	11.7	1.1
Serum				
(-)-5,6-diOH-DPAT	1.6	4.9	28.2	42.5
(-)-5-keto-DPAT	2.0	16.2	50.2	3.0
Brain BCF				
(-)-5,6-diOH-DPAT	2.5	4.76	7.73	NDT
(+)-5-keto-DPAT	0.8	480.8	418	1.2
Serum				
(+)-5,6-diOH-DPAT	2	10.93	55	70.1
(+)-5-keto-DPAT	1.5	345	448	8
Brain ECF				
(+)-5,6-diOH-DPAT	ND	ND	ND	ND

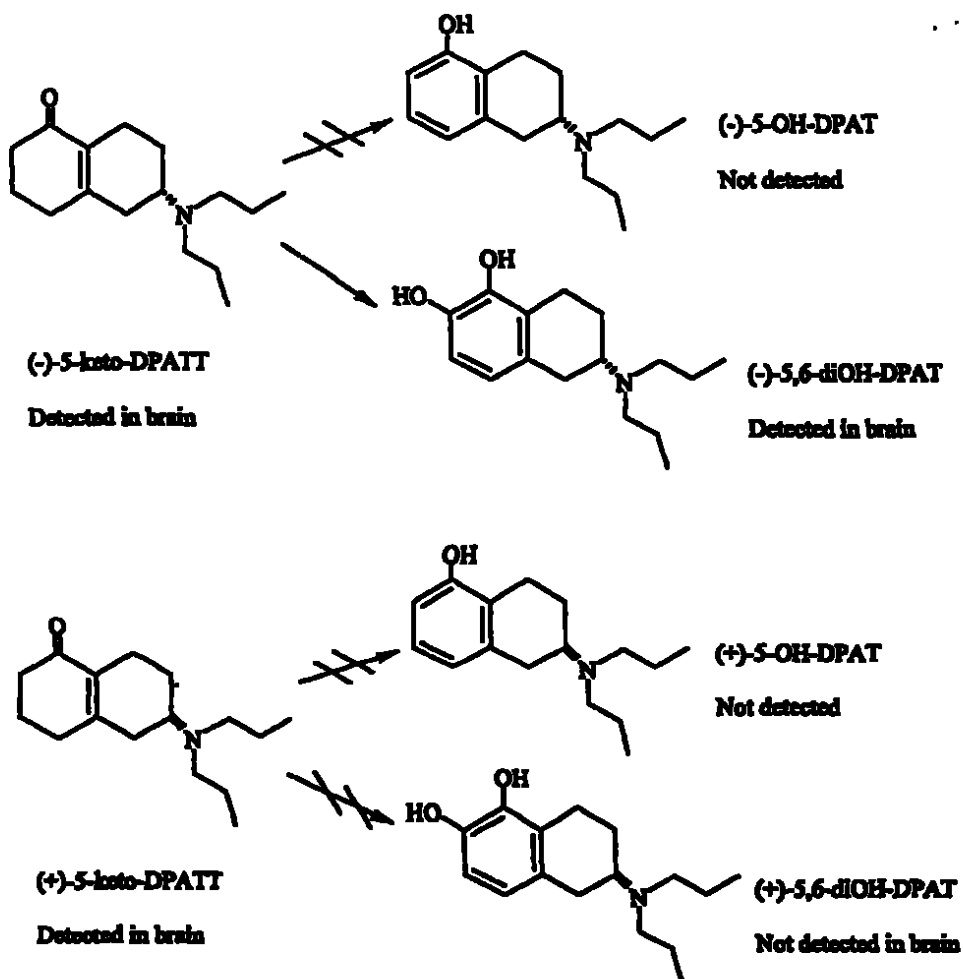
Brain ECF (extracellular fluid) concentrations (n = 3) were determined using a microdialysis probe placed in the striatum. ND = not detected, NDT = not determined. Cmax is maximum concentration level. AUC last means area under the dose response curve.

50160716-102099

9094
21
124

Chart I

Metabolic Transformations



DPAT means N,N-di-n-propylaminotetralin.

5 DPATT means N-N-di-n-propylaminotetrahydrotetralin.

EXAMPLE 3

The effects of *per os* (PO) delivery of (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin and (+)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin in a standard anti-Parkinson's animal assay was carried out as follows:

10 Adult male Sprague-Dawley rats (250-300 g) were pretreated as follows: The animals were first anesthetized with chloral hydrate. Unilateral lesions of the nigrostriatal dopamine system were produced by infusing 8 µg of

60160716.102099

9/95
22
125

6-hydroxydopamine HBr (6-OHDA) into the right medial forebrain system. Rats were pretreated 30 minutes before surgery with desipramine HCl, 25 mg/kg IP, to protect noradrenergic neurons, and with pargyline, 25 mg/kg IP, to potentiate the effects of 6-OHDA. A minimum of 3 weeks after surgery, the rotational behavior induced by apomorphine HCl (a known dopamine D1/D2 agonist), 50 µg/kg SC, was assessed. Rotational behavior was measured using an automated rotometer system (Rotorat Rotational system, MED Associates, Georgia, VT). Only rats demonstrating more than 100 contraversive turns per hour in response to apomorphine were used for assaying test compounds, as this demonstrates a rodent condition resembling human Parkinson's disease. Anti-Parkinson activity was assessed by the ability of test compounds to produce contraversive turning in these unilateral 6-OHDA lesioned rats. This is an accepted method of testing anti-Parkinson drugs (see Hudson et al., *Brain Research*, 1993;626:167-174).

Table 2. Comparison of (-)-5-keto-DPATT and (+)-5-keto-DPATT, on Total Contraversive Rotations for 12 Hours in Unilateral 6-OHDA Lesioned Rats

Dose (mg/kg PO)	Compound	
	(-)-5-keto-DPATT	(+)-5-keto-DPATT
0.03	2230 ± 877 (8)	not tested
0.1	7151 ± 1634 (7)	958 ± 397 (8) ^a

Data are the mean ± S.E.M. of contraversive rotations. Group size is (8-16).
^a P <0.05 vs same dose of (-)-5-keto-DPATT, Student's t-test.

The foregoing results establish that (-)-5-keto-DPATT is useful for producing an anti-Parkinson effect, whereas (+)-5-keto-DPATT caused only minimal effect.

60160716-102099

92-78
23
170

EXAMPLE 4

Tablet Formulation

(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin	100 mg
Magnesium stearate	10 mg
Hydroxypropylmethylcellulose	20 mg
Talc	50 mg
Total	180 mg

The above ingredients are blended to uniformity and pressed into a tablet. Such tablets are administered from 1 to 4 times each day for effective treatment of Parkinson's disease.

EXAMPLE 5

Capsule Formulation

(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin	80 mg
Titanium dioxide	5 mg
Sodium starch glycolateulose	15 mg
Total	10 mg

The above ingredients are blended to uniformity and filled into a soft gelatin capsule. Such capsules are administered orally to a patient at the rate of from 1 to 6 per day.

EXAMPLE 6

Suppository Formulation

(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin hydrochloride	600 mg
Theobroma oil	50 mg
Glycerinated gelatin	1000 mg
Glycerin	150 mg
Total	1800 mg

50160716-1020 9

93 97
24
127

-17-

The ingredients are blended to uniformity at 60°C and poured into tapered molds to produce a rectal suppository weighing 1.8 grams. Such suppository is administered once every 4 to 8 days.

EXAMPLE 7

5

Preparation for Parenteral Solution

10

Twenty grams of (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin maleate is dissolved in a mixture of 700 mL of propylene glycol and 200 mL of water for injection. The pH is adjusted to 6.0 by addition of dilute hydrochloric acid, and the volume is made up to 1000 mL by addition of water. The formulation is sterilized and filled into 5.0 mL ampoules, each containing 2.0 mL (representing 40 mg of drug) and sealed under nitrogen.

501 0716.102099

94-98
25
128

CLAIMS

What is claimed is:

1. A compound that is (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin.
2. A method for treating Parkinson's disease in a patient in need thereof, said
5 method comprising administering to the patient a therapeutically effective
amount of (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin or a
pharmaceutically acceptable salt thereof.
3. A method according to Claim 2, wherein the compound administered is
(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin hydrochloride.
- 10 4. A method according to Claim 2, wherein the compound is administered
orally.
5. A method for producing (-)-5,6-dihydroxy-2-N,N-di-n-propylaminotetralin
in a mammal comprising administering to the mammal an effective amount
(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin or a pharmaceutically
15 acceptable salt thereof.
6. A method according to Claim 5, wherein the compound administered is
(-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin hydrochloride.
7. A method according to Claim 6, wherein the compound is administered
orally.
- 20 8. A method for treating Parkinson's disease in a patient in need thereof
comprising delivering (-)-5,6-dihydroxy-2-N,N-di-n-propyl-aminotetralin to
the brain of the patient by administering to the patient a therapeutically
effective amount of (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin or
a pharmaceutically acceptable salt thereof.

50160716.102099

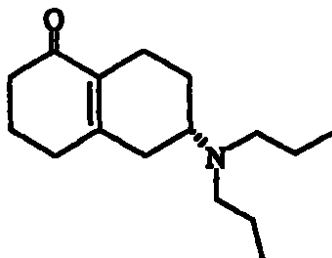
95-99
26
H2A

-19-

9. A method according to Claim 8, wherein the compound administered is (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin hydrochloride.

10. A method according to Claim 9, wherein the compound is administered orally.

5 11. A process for preparing a (-)-isomer of a compound of the formula



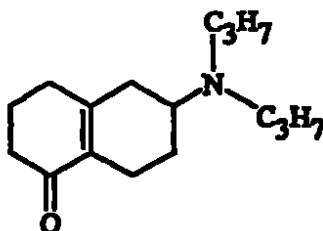
I

said process comprising the steps of:

reacting 1,3-cyclohexadione, paraformaldehyde, and dipropylamine at approximately 85°C;

adding acetone to the reaction mixture;

treating the reaction mixture with sodium cyanoborohydride to produce the compound of the Formula A



A

treating the compound of Formula A with boiling isopropyl acetate and

(-)-ditoluytartaric acid to form diastereomeric salts; and

crystallizing the salts of the compound having Formula A to yield the

(-)-isomer of the compound of Formula I

12. A method according to Claim 11, wherein said reacting step further comprises stirring said mixture in the presence of 4Å molecular sieves.

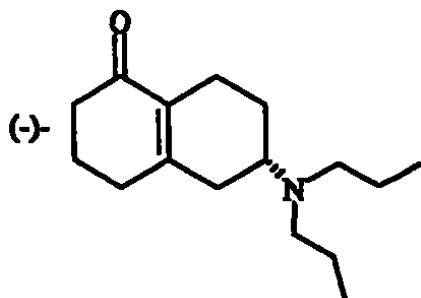
6016071-1020 6

96 100
27
130

-20-

ABSTRACT

Parkinson's disease is treated with a compound of the formula



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

60160716-102099

97-102
-29
132

TRADUCCION.-----

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.-----

A TODOS AQUELLOS A QUIENES CORRESPONDA:-----

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.-

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA.-----

03 de noviembre de 2000.-----

EL PRESENTE ES PARA CERTIFICAR QUE EL ADJUNTO ES COPIA FIEL
OBTENIDA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE MARCAS Y
PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA DE LOS DOCUMENTOS
DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA MÁS ADELANTE QUE
CUMPLE CON LOS REQUISITOS A FIN DE QUE SE OTORQUE UNA FECHA
DE PRESENTACIÓN EN VIRTUD DEL TITULO 35 DEL USC 111.-----

SOLICITUD NÚMERO: 60/160,716.-----

FECHA DE PRESENTACIÓN: 20 de octubre de 1999.-----

[Sigue una oblea que reza: OFICINA DE MARCAS Y PATENTES.
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.] Por Autorización del COMISARIO
DE MARCAS Y PATENTES.-----

[Sigue firma ilegible y debajo reza:]N. WILLIAMS .-----
Funcionario Certificador.-----

[En el margen superior izquierdo aparece un código de
barras y debajo reza: 12/20/99].-----

Escribir a máquina un signo más (+) dentro del casillero
[+].Caso Número: 5974L1-01-CA.-----

**CARATULA DE SOLICITUD PROVISIONAL DE PATENTE (GRAN
EMPRESA).**-----

Este es un requisito para presentar la SOLICITUD
PROVISIONAL DE PATENTE en virtud del Título 37 del CFR
Artículo 1.53(c).-----

INVENTOR(es)/SOLICITANTE(s).-----

[Siguen tres columnas que de izquierda a derecha rezan:]

NOMBRE (primero y segundo [si lo hubiera]). APELLIDO.

DOMICILIO (CIUDAD Y ESTADO O PAIS EXTRANJERO).-----

Durk. Dijkstra. De Meidoorn 26, NL-9781 VP, Bedum, The
Netherlands.-----

Leonard. Meltzer. 2906 Renfrew, Ann Arbor, Michigan 48105
USA.-----

Bastiaan John. Venhuis. K. de Vriesstraat 33, NL-9741 AG,
Groningen, The Netherlands.-----

[X] *Los inventores adicionales se nombran en la página 2
adjunta al presente.*-----

TITULO DE LA INVENCION (máximo 280 caracteres).-----

**MÉTODO PARA TRATAR EL MAL DE PARKINSON A TRAVÉS DE LA
ADMINISTRACIÓN DE (-)-5-CETO-2-N,N-DI-N-PROPILAMINO-**

TETRAHIDROTETRALINA.-----

DOMICILIO PARA CORRESPONDENCIA.-----

Dirigir toda la correspondencia a:-----

[] Número de Cliente [en blanco] [Sigue un espacio que
reza:] Colocar la Etiqueta del Código de Barra del Número
de Cliente en este lugar.-----

O-----

[x] Compañía o nombre individual: CHARLES W. ASHBROOK.-----

Domicilio: WARNER-LAMBERT COMPANY, 2800 Plymouth Road.-----

Ciudad: ANN ARBOR. Estado: MICHIGAN. ZIP: 48105. País:

ESTADOS UNIDOS. Teléfono: (734) 622-5215. Fax: (734) 622-
1553.-----

ADJUNTOS DE LA SOLICITUD (marcar todo lo que corresponda).~

[x] Memoria descriptiva: Número de Páginas: 18.-----

[] Dibujo(s): Número de Páginas: [].-----

[x] Otro (especificar): 12 reivindicaciones en 2 páginas.

Resumen: 1 página.-----

FORMA DE PAGO DE LOS ARANCELES DE PRESENTACIÓN PARA ESTA
SOLICITUD PROVISIONAL DE PATENTE (marcar uno).-----

[] Se adjunta orden de cheque o dinero para cubrir los
aranceles de presentación.-----

[x] Por el presente el Comisario está autorizado a cargar
los aranceles de presentación o acreditar cualquier pago

100105
32
125

excesivo a la Cuenta de Depósito Número: 23-0455. MONTO DE
LOS ARANCELES DE PRESENTACION : \$ 150,00.-----

La invención fue realizada por una entidad del Gobierno de
los Estados Unidos o en virtud de un contrato con una
entidad del Gobierno de los Estados Unidos. [x] No. [] Si,
el nombre de la entidad del Gobierno de los Estados Unidos
y el número de contrato del Gobierno son: [en blanco].-----

Presentado con todo respeto.-----

FIRMA [ilegible]. Fecha: 20 de octubre de 1999.-----

NOMBRE IMPRESO O ESCRITO A MAQUINA: Charles W. Ashbrook.---

REGISTRO N° (si fuera apropiado): 27.610.-----

TELEFONO: (734) 622-5215.-----

USAR SOLAMENTE PARA LA PRESENTACION DE LA SOLICITUD
PROVISIONAL DE PATENTE .-----

ENVIAR A: Casilla de Solicitud Provisional de Patente;
Subcomisario de Patentes, Washington, D.C. 20231.-----

CARATULA DE SOLICITUD PROVISIONAL DE PATENTE (GRAN
EMPRESA).-----

INVENTOR(es)/SOLICITANTE(s).-----

[Siguen tres columnas que de izquierda a derecha rezan:]

NOMBRE (primero y segundo [si lo hubiera]). APELLIDO.

DOMICILIO (CIUDAD Y ESTADO O PAIS EXTRANJERO):-----

Hakan Vilhelm. Wikstrom. Elsschotlaan 32, NL-9721 WN,

101 126
73
136
5
Groningan, The Netherlands.-----

Lawrence. Wise. 1241 Barrister, Ann Arbor, Michigan 48105
USA.-----

David Juergan. Wustrow. 5101 John Holmes Road, Ann Arbor,
MI 48103 USA.-----

Certificado de Envío por Correo Expreso.-----

Por el presente certifico que esta carátula de solicitud
provisional de patente, la solicitud provisional de patente
y el arancel será depositado el 20-10-99 en el Servicio
Postal de los Estados Unidos como servicio de "Correo
Expreso para el Destinatario" en virtud del C.F.R. 37 1.10
y será dirigido al Subcomisario de Patentes, Washington,
D.C. 20231.-----

[Sigue firma ilegible y debajo reza:] Firma de la persona
que envía la correspondencia.-----

Nombre impreso de la persona que envía la correspondencia:
Cindy Malocha.-----

**USAR SOLAMENTE PARA LA PRESENTACION DE LA SOLICITUD
PROVISIONAL DE PATENTE .**-----

**ENVIAR A: Casilla de Solicitud Provisional de Patente;
Subcomisario de Patentes, Washington, D.C. 20231.**-----

102 TOT
3X
137

MÉTODO PARA TRATAR EL MAL DE PARKINSON A TRAVÉS DE LA
ADMINISTRACIÓN DE (-)-5-CETO-2-N,N-DI-N-PROPILAMINO-
TETRAHIDROTETRALINA

Campo de la Invención.-

La presente invención apunta a describir un método para tratar el mal de Parkinson a través de la administración de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina.

Antecedentes de la Invención.

Las enfermedades neurodegenerativas se vuelven más frecuentes en la población en proceso de envejecimiento. Una enfermedad neurodegenerativa que típicamente aparece entre los 50 y los 80 años es el mal de Parkinson. El mal de Parkinson es un desorden que se produce en el cerebro caracterizado por temblores y por una dificultad para caminar, moverse, y coordinar.

Parece ser que la enfermedad del Parkinson es provocada por un deterioro progresivo de las neuronas que contienen dopamina en la zona compacta de la sustancia nigra del cerebro. La dopamina es un neurotransmisor químico utilizado por las células del cerebro

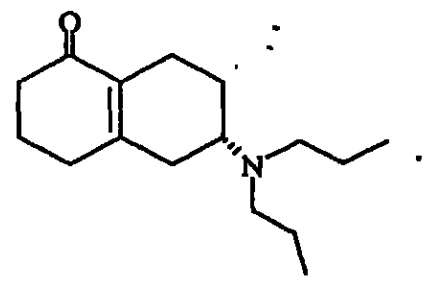
para transmitir impulsos que controlen o modulen el movimiento de los músculos periféricos. La pérdida de las neuronas que contienen dopamina causa una reducción en la cantidad de dopamina disponible para el organismo. Se cree que la insuficiencia de dopamina perturba el balance entre la dopamina y otros neurotransmisores como puede ser la acetilcolina. Cuando los niveles de dopamina se ven reducidos, las células nerviosas no pueden transmitir los impulsos en forma adecuada, lo que genera una pérdida del control y función de los músculos.

Actualmente, no existe una cura conocida para el mal de Parkinson. Los tratamientos apuntan típicamente a controlar los síntomas que provoca el mal de Parkinson, principalmente a través del reemplazo de la dopamina, ya sea con L-DOPA que se metaboliza como dopamina, o la administración de agentes químicos que estimulan los receptores de dopamina. Los tratamientos actuales para disminuir la progresión de la enfermedad incluyen compuestos como el deprenil (selegilina), un inhibidor de la monoamina oxidasa selectivo, y la amantadina, un compuesto que parece disminuir la recaptación de dopamina en las neuronas presinápticas.

104 109
36
134

Se conoce que cierto tipo de tetralinas dipropilamino sustituidas poseen una actividad dopaminérgica útil. Sin embargo, su uso clínico es limitado ya que no tienen biodisponibilidad, o bien tienen poca biodisponibilidad. Un objetivo de la presente invención apunta a proporcionar una pro-droga que sólo se metabolice *in vivo* en un OH-DPAT que es un potente agonista receptor de dopamina.

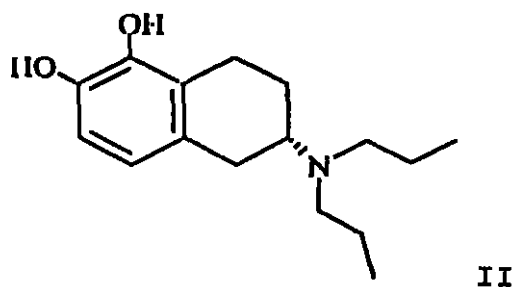
Ahora los solicitantes han descubierto que el mal de Parkinson puede tratarse con (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina((-)-5-ceto-DPATT) (Fórmula I) o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo:



I

El compuesto de la Fórmula I se convierte repentinamente en (-)5,6-diOH-aminotetralina (5,6-diOH-DPAT), (Fórmula II), *in vivo* en el sistema nervioso central. El (-)5,6-diOH-DPAT es un potente agonista receptor de dopamina D1/D2, mientras que el (-)-5-ceto-DPATT no se une a los receptores de dopamina en los experimentos *in vitro*.

105 40
37
140



El (-)5,6-diOH-DPAT de la fórmula II aparece en las células del cerebro de los animales luego de la administración oral del (-)-5-ceto-DPATT de la fórmula I. Sorprendentemente, no se observa 5,6-diOH-DPAT en las células del cerebro luego de la administración oral del (+)enantiómero, a saber (+)-5-ceto-DPATT. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, los solicitantes han descubierto que la (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina es una pro-droga agonista de dopamina D1/D2 efectiva para el tratamiento del mal de Parkinson, dado que se convierte o metaboliza, *in vivo*, en (-)5,6-diOH-DPAT, el cual se aloja en las células del cerebro y es un agonista de dopamina D1/D2 efectivo.

Resumen de la Invención.

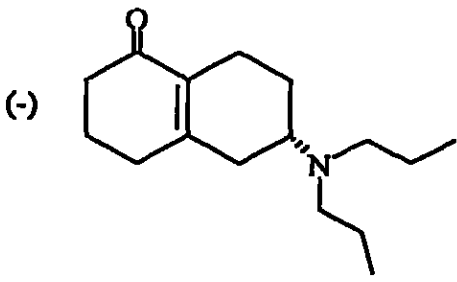
La presente invención proporciona un compuesto que es (-)5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un método para tratar el

106 #
38
H41

mal de Parkinson que comprende la administración de una cantidad efectiva del compuesto a un paciente que necesita del tratamiento. Dicho compuesto se convierte en forma selectiva en (-)5,6-dihidroxi-N,N-di-n-propil-2-aminotetralina *in vivo*, y se depositan cantidades terapéuticas del mismo en el tejido cerebral, lo que lleva al tratamiento efectivo para mal de Parkinson. La invención además proporciona un proceso para la preparación del compuesto 5-ceto.

Descripción Detallada de la Invención.

La presente invención proporciona compuestos que poseen la Fórmula I



conocido como (-)-5-ceto-2-N,N-di-N-propilamino-tetrahidrotetralina, ((-)-5-ceto-DPAT), y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El término "paciente" de la forma que se lo utiliza en la presente se refiere a todos los animales incluyendo los humanos. Son ejemplos de pacientes los humanos, los roedores, y los monos.

Aquellos versados en la materia con facilidad podrán identificar a los pacientes que padecen el mal de Parkinson. Por ejemplo, los pacientes que muestran síntomas entre los que se incluyen, sin limitarnos a éstos, temblor y/o inestabilidad y dificultad para caminar, para realizar otros movimientos, y para coordinar.

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" es una cantidad del compuesto de la fórmula I, que al ser administrada a un paciente, mejora un síntoma del mal de Parkinson.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados a un paciente sólo o como parte de una composición farmacéutica de los compuestos mezclada con un portador, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden administrarse en forma oral, rectal, parenteral (intravenosa, intramuscular, o subcutánea), dentro de las cisternas o en forma intravaginal, intraperitoneal, intravesicular, local (polvos, ungüentos, o pastillas), o como un asperjador bucal o nasal.

Una ruta de administración que se prefiere es la oral, aunque también se tienen en cuenta la administración parenteral y transdérmica. Las formulaciones de liberación controlada, particularmente en la forma de parches en la piel y similares, son particularmente adecuadas para el tratamiento en pacientes mayores.

Las composiciones que son adecuadas para inyecciones parenterales pueden comprender soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles fisiológicamente aceptables, y polvos estériles para su reconstrucción en soluciones o dispersiones inyectables estériles. Entre los ejemplos de portadores, diluyentes, solventes o vehículos acuosos o no acuosos adecuados se incluyen el agua, el etanol, los polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerina, y similares), las mezclas adecuadas de los mismos, los aceites vegetales (como por ejemplo el aceite de oliva) y los ésteres orgánicos inyectables como el oleato de etilo. Puede mantenerse una fluidez apropiada por ejemplo a través del uso de un recubrimiento como la lecitina, el mantenimiento del tamaño de partícula que se requiera en el caso de las dispersiones, y a través del uso de agentes tensoactivos.

Las composiciones también pueden contener adyuvantes como por ejemplo los agentes dispensantes, emulsificantes, humedificantes, conservantes. La prevención de la acción de microorganismos puede controlarse al agregar cualquiera de los varios agentes antibacteriales y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser conveniente incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede lograr a través del uso de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Se prefiere la distribución oral de los compuestos de la invención, dada la edad típica de la población que forman los pacientes y de la enfermedad que se trata. Las formas de dosaje sólidas para su administración oral incluyen, cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y gránulos. En estas formas de dosaje sólidas, el compuesto activo se mezcla al menos con un excipiente (o portador) inerte tradicional como el citrato de sodio o el fosfato dicálcico o (a) rellenos o cargas, como por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes, como por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y acacia (c)

45
110
14

humectantes, como por ejemplo, glicerina, (d) agentes desintegrantes, como por ejemplo agar-agar, carbonato de calcio almidón de papa o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos complejos, y carbonato sódico, (e) retardadores de disolución, como por ejemplo parafina, (f) aceleradores de la absorción, como por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes de humedad, como por ejemplo, alcohol cetílico, y monoestearato de glicerina, (h) adsorbentes, como por ejemplo, caolín y bentonita, y (i) lubricantes, como por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, o mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosaje también pueden comprender agentes reguladores del pH.

Las composiciones sólidas de tipo similar también pueden utilizarse como rellenos en cápsulas rellenas de gelatina dura o blanda utilizando excipientes tales como la lactosa o el azúcar de leche como también los polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

Las formas de dosificación sólidas como por ejemplo las tabletas, "drageés", cápsulas, píldoras, y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y capas como por ejemplo los recubrimientos

entéricos y otros que son muy conocidos en la materia. Pueden contener agentes opacificantes, y también pueden ser de una composición tal que libere el compuesto activo en cierta parte del tubo intestinal de forma retardada. Las ceras y las sustancias poliméricas son ejemplos de composiciones incrustadas que pueden utilizarse. Los compuestos activos también pueden utilizarse en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los excipientes que arriba se mencionan. También se prefieren las formulaciones de liberación lenta controlada, incluyendo las bombas osmóticas y los sistemas de distribución estratificados.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen las emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluentes inertes usados comúnmente en la materia, como por ejemplo el agua u otros solventes, agentes solubilizadores y emulsificantes, como por ejemplo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, en particular, aceite de semilla de algodón, aceite de germen de maíz, aceite de oliva,

aceite de castor y aceite de sésamo, glicerina, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres del ácido graso de sorbitán o mezclas de estas sustancias, y similares.

Además de tales diluentes inertes, la composición puede también incluir adyuvantes, como los agentes de humedad, endulzantes, saborizantes, y agentes de perfume.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión, como por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de sorbitán y polietilensorbitol, celulosa microcristalina, metahidróxido aluminico, bentonita, agar-agar y tragacanto, o mezclas de estas sustancias, y similares.

Las composiciones de administración rectal son preferentemente los supositorios que se pueden preparar al mezclar los compuestos de la presente invención con excipientes no irritantes o portadores tales como la manteca de cacao, polietilenglicol o un supositorio de cera, que son sólidos a temperatura normal pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto, se derriten en la cavidad del recto o de la vagina y liberan el componente activo.

13 118
75
148

Las formas de dosificación para la administración de tópicos de un compuesto de la presente invención incluyen los ungüentos, polvos, asperjadores, e inhaladores. El componente activo se mezcla en condiciones esterilizadas con un portador fisiológicamente aceptable y cualquier conservante, regulador del pH, o propulsores según se requiera. También se consideran las formulaciones oftalmológicas, ungüentos oculares, polvos, y soluciones como parte del alcance de la presente invención.

La forma en que en la presente se utiliza el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a aquellas sales de adición de aminoácidos del compuesto de la presente invención que, dentro del sano juicio médico, son adecuadas para su utilización en contacto con los tejidos de los pacientes sin que esto provoque toxicidad, irritación o una respuesta alérgica indebida, y similares, que proporcionan un índice riesgo/beneficio razonable, y son efectivas para el uso que se le quiere dar, como también las formas zwitteriónicas, en lo posible, de los compuestos de la invención. El término "sales" se refiere a las sales de adición de ácidos relativamente no tóxicos, inorgánicos y orgánicos de los compuestos de la Fórmula I y II. Estas sales pueden prepararse *in situ*, durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o a través

114 749
92
744

de la reacción en forma separada del compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y la separación de la sal que así se formó. Entre las sales representativas se incluyen las sales de hidrobromuro, hidrocloruro, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. Dichas sales pueden contener cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, como por ejemplo el sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, como "así también" cationes de amina, amonio cuaternario y amina no tóxicos entre los que se incluyen, sin limitarnos a éstos, el amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares (véase por ejemplo, S.M. Berge, et al "Sales farmacéuticas," [del inglés, "Pharmaceutical Salts,"] *J. Pharm. Sci.*, 1977; 66:1-19 incorporado a la presente a modo de referencia.)

Además, los compuestos de la presente invención pueden presentarse en forma insoluble o soluble con disolventes farmacéuticamente aceptables como el agua, etanol y similares. En

115 700
X
132

general, las formas solubles se consideran equivalentes a las insolubles a los fines de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse a los pacientes en niveles de dosificación entre 0.1 y 1.000 mg por día. Para un adulto normal que posee un peso de 70 kilos, se prefiere un dosaje diario de entre 0.01 y 100 mg por kilo corporal. Sin embargo, el dosaje específico puede variar. Por ejemplo, el dosaje está sujeto a una cantidad de factores entre los que se incluyen los requerimientos del paciente, la severidad de la enfermedad que se trata, y la actividad farmacológica del compuesto que se utiliza. La decisión respecto de los dosajes óptimos para cada paciente en particular es bien conocida para aquellas personas versadas en la materia.

Además, se intenta que la presente invención abarque los compuestos hechos ya sea con técnicas sintéticas orgánicas estándares, las que comprenden la química combinatoria o a través de métodos biológicos, como por ejemplo, a través del metabolismo.

Los ejemplos que se presentan a continuación intentan ilustrar realizaciones particulares de la invención y no limitar, en

116
*
15

ningún sentido, el alcance de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones.

El compuesto (-)-5-ceto-2-N, N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina que se utiliza en el método de la presente invención es ideal por varias razones. En primer lugar, el compuesto es estable, lo que lo vuelve un candidato excelente para su administración oral. En segundo lugar, el compuesto es de larga duración, lo que permite un tratamiento efectivo con menores dosajes, esto es de gran importancia para los pacientes mayores. En tercer lugar, el compuesto sirve como una pro-droga la cual se convierte o metaboliza al componente activo (-)-5,6-dihidroxi-N,N-dipropil-2-aminotetralina, por lo que reduce los efectos secundarios periféricos asociados con la administración del compuesto en sí al paciente. En cuarto lugar, el compuesto de la presente invención posee una biodisponibilidad oral excelente. Además, el compuesto de la presente invención se convierte repentinamente en (-)-5,6-diOH- DPAT, *in vivo* en el sistema nervioso central.

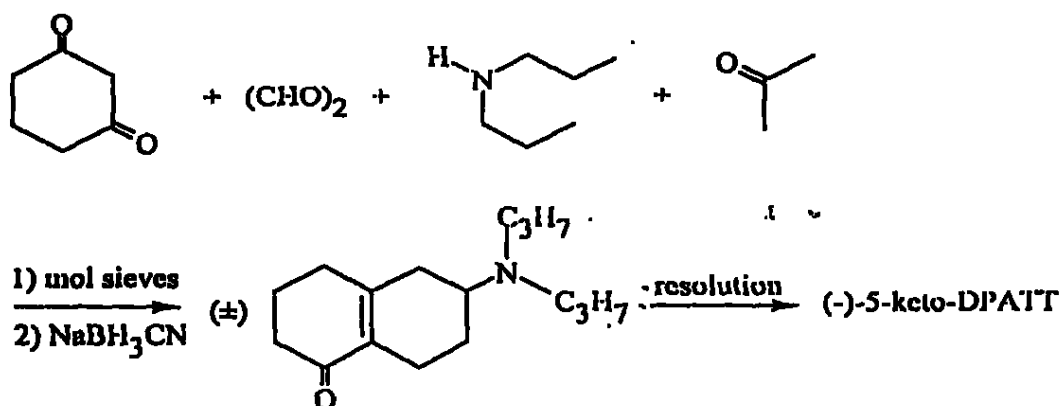
Los ejemplos que se detallan a continuación ilustran las técnicas sintéticas generales utilizadas para preparar el compuesto, junto

117-72
19
H₂

con alguno de los ensayos biológicos empleados para establecer la eficacia del compuesto de la presente invención.

EJEMPLO 1

El siguiente esquema ilustra un método preferido para obtener (-)-5-ceto-DPATF (el cual también se hace referencia como (-)-PD 148903).



Una mezcla de 23,1g (0,2 mol) de 1,3-ciclohexadiona, 6,0 g (0,2 mol) de paraformaldehído y 28,8 mL de tolueno se agitó por 1 hora con tamices moleculares espolvoreados de 60g (4") a una temperatura de reacción de 85°C.

Luego de 1 hora se agregó 15 mL de acetona, y la mezcla se agitó a 85°C por otras 2 horas. El color cambiaba de amarillo a rojo. Una vez frío, la mezcla de reacción se filtró a través de celita

y se concentró bajo presión reducida lo que proporcionó un aceite rojo oscuro.

Al aceite, disuelto en una mezcla de 250 mL de THF y 12 mL de ácido acético y enfriado en el baño frío, se le agregó en pequeñas porciones, 5g de cianaborohidrida de sodio. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El noventa por ciento del disolvente se evaporó. Se agregó éter (200 mL) y la mezcla de reacción se hizo alcalina con una solución de bicarbonato de sodio saturado. La capa acuosa se extrajo 3 veces con 50 mL de éter. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato sódico. El concentrado bajo presión reducida proporcionó 40g de un aceite rojo.

Se disolvió el aceite en 150 mL de acetato de isopropilo hirviendo y, en forma de gotas, se agregó una solución de 15,4g (0,04 mol) de ácido (-)-ditoluiltartárico. Se recogió la precipitación por filtro de succión y se secó mediante un aparato para desecar al vacío. La mezcla de sales diastereoméricas (21 g, 16,5%) se recristalizó 3 veces de 300 mL de etanol (90%) lo que produjo 5 g de sal con $[\alpha] = -146^\circ$ (c=0,05 metanol) y luego se realizó una base de sal con solución NaHCO_3 y la base libre se convirtió a la sal de hidrocioruro. Producción: 2,0g (3,5%) de (-

- (5)-ceto-DPAT. $[\alpha] = -152,4^\circ$ ($c=0,1$, MeOH), $cc>99\%$, mp. 148-150°C.

EJEMPLO 2

Determinación de Enantiómeros por-droga, (-)-5-ceto-DPAT, y Metabolito Activo 5,6-di-OH-DPAT en el CNS (sistema nervioso central) por Microdiálisis Cerebral.

Métodos.

Procedimiento de Cánula Guía en el Cerebro

Se anestesió a cada una de las cuatro ratas de estudio con cetamina (30mg/kg), xilazina (6mg/kg), y pentobarbital sódico (50mg/kg) en forma intramuscular. Se colocaron las ratas anestesiadas en la estructura esterotáctica, se les aseguró la cabeza, mientras el cuerpo reposaba sobre una almohadilla térmica para mantenerlo a una temperatura de 37°C. Se realizó una incisión en la línea media de la parte superior de la cabeza, lo que dejó ver el cráneo. Con la piel levantada lateralmente, se raspó el cráneo con hisopos de algodón y la sangre que pudiera aparecer fue controlada por un cauterizador para vasos pequeños.

(Fine Science Tools, Inc. # 18000-00). Una vez limpio el cráneo, se alineó un taladro dental, asegurado a la estructura estereotáxica, con Bregma. Se hizo un agujero con el taladro de 0,8-1,0 mm de profundidad + 0,7 mm rostral y -3,1 mm lateral al Bregma para insertar la cánula guía en el cráneo. Se realizó un agujero adicional de 0,4 mm de profundidad en el cuadrante opuesto del cráneo para insertar un tornillo tipo ancla de acero inoxidable. Con la ayuda de un manipulador de electrodos, se bajó la cánula guía en el agujero previamente taladrado que llevaba al cerebro. Para asegurar la guía en su posición, se marcó la superficie del cráneo y se aplicó cemento dental. Se cerró la piel alrededor de la cánula con sutura de seda 4-0. Se colocó un estilete en el agujero de la cánula guía asegurando el acceso hasta el día en que se realizara el estudio. Se aplicó una solución de Ringer Lactato a cada rata en forma subcutánea, y luego se las puso en una almohadilla térmica para su recuperación post-quirúrgica. Cuando no necesitaban más reposo se transfirieron a una jaula de hilo suspendido con agua y comida a voluntad.

Procedimientos de Canulación Vascular:

12/12/12
12/12/12
12/12/12

La mañana anterior al estudio, bajo anestesia de isoflurano, se implantó a cada rata sometida a microdiálisis una cánula yugular para un muestreo de sangre. Se ligó la vena yugular y se insertó la cánula por medio de una pequeña incisión en el vaso sanguíneo. La cánula se llevó en forma subcutánea a una posición en la región media del omóplato donde se exteriorizó. La abertura de la cánula se mantuvo con 17 unidades/mL de heparina en una solución salina de 0,9%, luego se sujetó en su lugar sobre la espalda por una chaqueta de Velcro hasta que se proporcionara el acceso para el estudio. Luego de la recuperación quirúrgica, las ratas se llevaron nuevamente a su jaula de hilo suspendido con agua y comida a voluntad.

Calibración e Inserción de la Sonda:

La noche anterior al estudio, se anestesiaron las ratas para insertarles una sonda con Diprivan (10mg/mL) con una dosis de 10 a 15 mg/kg IV. Se quitó el estilete de la guía intercerebral y se perforó la duramadre con una aguja calibre 27. Una sonda de microdiálisis de lazo flexible Harvard con una punta de membrana de 3mm (Cat. #59-7006) se insertó mediante la guía en el putamen del caudato y se trabó en posición. Se volvió a complementar cada rata con una solución de Ringer Lactato en forma subcutánea.

122-107
157

Luego de insertar la sonda, se llevaron las ratas a un BAS Raturon System (Bioanalytical Systems, Inc.) que consiste en una plataforma giratoria, una caja protectora y un brazo de balance. Este sistema permite que la rata se mueva libremente y evita que la línea de la sonda y la cánula se enreden. Las líneas de la sonda se aseguraron a la sonda de las ratas y se fundieron con fluido cerebroespinal artificial (ACSF) a $1\mu/\text{min}$ con una bomba de jeringa (Bomba de Microdiálisis CMA/102). A partir de allí, las ratas permanecieron en el Raturon Systems durante todo el estudio con agua a voluntad. Una hora antes de la dosis se agregó el calibrador (PD 0166871 200 ng/mL) al ACSF y se recogieron tres muestras de diálisis para analizar."

Dosaje y Muestreo:

Luego de una muestra de sangre previa a la dosis, se le aplicó a cuatro ratas preparadas una dosis de (-)-5-ceto-DPAT a 10 mg/kg por vía oral, y a 3 ratas en ayuno se les aplicó 2mg/kg vía bolo IV. La misma cantidad de (+)-5-ceto-DPAT se aplicó al mismo número de ratas preparadas. El vehículo para la dosis de ambos estudios: 5% de dextrosa para el bolo IV y HPLC grado H_2O para la dosis oral.

Se recogieron las muestras de sangre de la dosis oral mediante la cánula yugular a 45, 75, 105, 135, 165, 225, 285, 345, 405, y 480 minutos, y el ACSF se recogió con una circulación continua (1 μ L/min) a intervalos de 30 minutos con un recolector de Microfracción CMA/142 para la recolección automática. La primera recolección de ACSF 30 minutos después de la dosis representa 0 a 30 minutos para un promedio a 15 minutos por lo tanto es compatible con el punto temporal del muestreo de sangre. Las muestras de sangre de la dosis IV se recogieron mediante la cánula yugular a 0, 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, y 8 horas. Cada muestra de sangre se ubicó en un tubo recolector separador de suero para centrifugar y decantar el suero. En la muestra final, se quitaron las sondas del cerebro de las ratas que recibieron la dosis oral a quienes se les aplicó eutanasia mediante una sobredosis intravenosa de pentobarbital sódico. Se recogieron las muestras del cerebro y se separó la parénquima de los capilares mediante una técnica de reducción con 6 mL de una solución reguladora de pH Hepes y 8 mL de 26% de solución reguladora de pH Hepes/dextran para homogeneizar inmediatamente la prueba del cerebro, luego centrifugar la parte homogénea para separar el sobrenadante (parénquima) y el precipitado (capilares)

Análisis:

124 179
38
179

Las pruebas individuales de (-)-5-ceto-DPAT y (+)-5-ceto-DPAT en las muestras de suero y tejido del cerebro se prepararon a través de una extracción líquido/líquido con 2mL de metil t-butil éter, 100µL 0,1% y analizadas por LC/MS/MS. Las condiciones cromatográficas eran fase reversa isocrática (acetonitrilo: 0,1% formica 60:40), 2,1x100mmx3µ YMC columna básica, 0,2 mL/min índice de circulación. Las muestras se analizaron por monitoreo de múltiple reacción (MRM) mediante un espectrómetro de masa de cuadrupolo triple Micromass Quattro II con una fuente de ionización Z-spray que funciona con electrospray de iones positivos. Las muestras de la microdiálisis cerebral fueron analizadas mediante inyección directa utilizando condiciones similares a LC/MS/MS como arriba se describe.

Las curvas estándares se prepararon en suero de rata, en la parte homogénea del cerebro, y en el fluido cerebroespinal artificial (ACSF) separadamente. Los volúmenes de inyección eran 5 µL y se utilizó una válvula de desviación post-columna.

Se redondearon todas las concentraciones de las muestras a 3 cifras significativas utilizando el programa de computación aceptado PKBASE Versión 1,1 (CPL #49). Los parámetros

farmacogénicos se determinaron por un análisis no compartido del suero de rata individual e información sobre la concentración en el tiempo del ACSF a través de WinNonlin Versión 1.5 (CPL #54). La desviación estándar media (SD), y la desviación estándar relativa porcentual (%RSD) se calcularon con Microsoft Excel, Versión 7 (Microsoft Corporation).

CONCLUSIÓN: En el cerebro se observó el metabolito activo del racimo 5-ceto-DPATT, (-)-5,6-di-OH-DPAT luego de haberse administrado el (-) enantiómetro, (-)-5-ceto-DPATT activo, pero no así con el (+) enantiómero, (+)-5-ceto-DPATT inactivo.

RESULTADOS/CONCLUSIONES: Como se muestra en la Tabla I y se ilustra en el gráfico I, las concentraciones de ECF (sonda para realizar microdiálisis en el estriado) en el suero y el cerebro de (-)-5-ceto-DPATT eran menores en un grado significativo comparado con las concentraciones del enantiómetro (+)-5-ceto-DPATT luego de una dosis PO de 10mg/kg aplicada a las ratas. Sin embargo, sólo el metabolito activo se encontraba presente en el ECF cerebral luego de la administración de (-)-5-ceto-DPATT. Esto demuestra la participación del tejido del CNS en la conversión de (+)-5-ceto-DPATT a 5,6-di-OH-DPAT. La distribución enantioselectiva del metabolito activo al CNS vuelve el compuesto

126 158 16

presente altamente eficaz para el tratamiento del mal de Parkinson.

Tabla 1. Concentraciones cerebrales y de suero medias de (-)-5,6-dioH-DPAT y (+)-5,6-dioH-DPAT luego de una dosis PO de 10mg/kg aplicada a las ratas de (-)-5-ceto-DPATT y (+)-5-ceto-DPATT, respectivamente

Compuesto	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	AUClast (ng.hr/mL)	t1/2 (hr)
(-)-5-ceto-DPATT	0,8	10,6	11,7	1,1
Suero				
(-)-5,6-dioH-DPAT	1,6	4,9	28,2	42,5
(-)-5-ceto-DPAT	2,0	16,2	50,2	3,0
ECF cerebral				
(-)-5,6-dioH-DPAT	2,5	4,76	7,73	NDT
(+)-5-ceto-DPATT	0,8	480,8	418	1,2
Suero				
(+)-5,6-dioH-DPAT	2	10,93	55	70,1

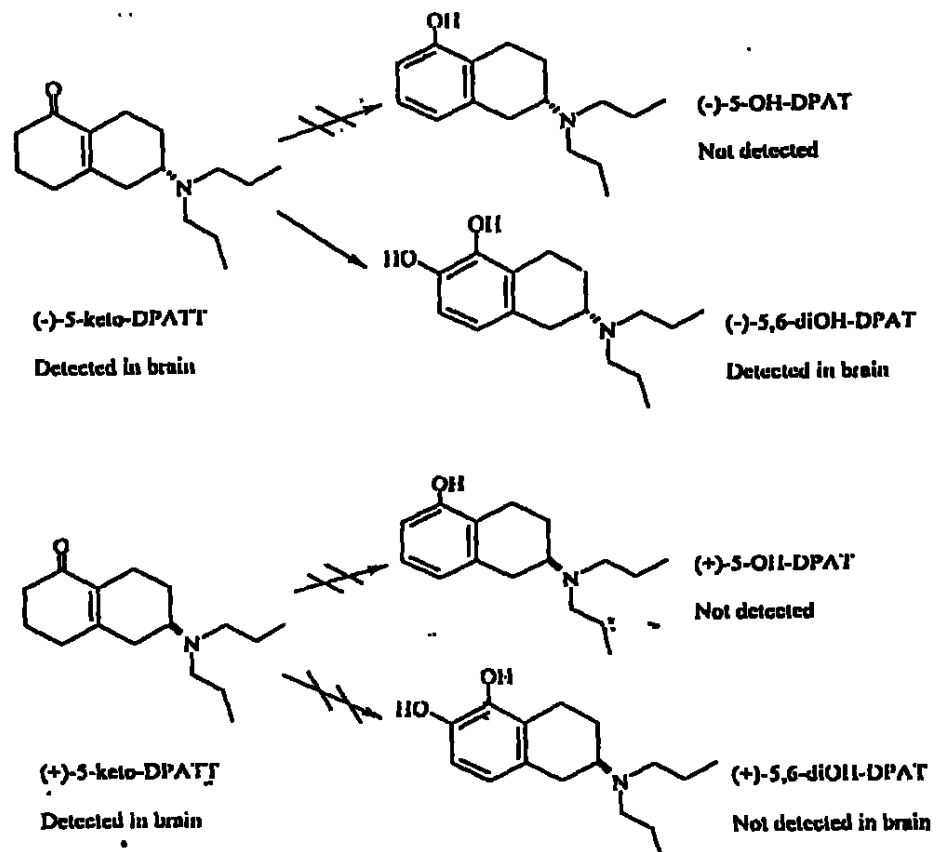
(+)-5-ceto-DPAT	1,5	345	448	8
ECF cerebral				
(+)-5,6-dioH-DPAT	ND	ND	ND	ND

Las concentraciones del ECF (fluido extracelular) (n=3) se determinaron a través de la sonda de microdiálisis ubicada en el estriado. ND= No se detectó, ND? = No se determinó. Cmax es el nivel de concentración máxima. AUC last se refiere al área bajo la curva de respuesta a la dosis.

128¹³³
123

Gráfico I

Transformación Metabólica



DPAT significa N,N-di-n-propilaminotetralina

DPATT significa N,N-di-n-propilaminotetrahidrotetralina

EJEMPLO 3

Los efectos de la distribución *per os* (PO) de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina y (+)-5-ceto-2-N,N-di-n-

179
184

propilamino-tetrahidrotetralina en un ensayo animal contra el Parkinson estándar se realizaron de la siguiente forma:

Las ratas Sprague-Dawley (250-300g) recibieron el siguiente tratamiento previo: En primer lugar, los animales fueron anestesiados con hidrato de cloral. Las lesiones unilaterales del sistema dopamina nigrostriatal se produjeron por infusión de 8µg de 6-hidroxidopamina HBr (6-OHDA) en la parte media derecha del sistema del cerebro. Las ratas fueron tratadas 30 minutos antes de la cirugía con desipramina HCl, 25mg/kg IP, para proteger las neuronas noradrenérgicas, y con pargilina, 25mg/kg IP, para potenciar los efectos de 6-OHDA. Con un tiempo mínimo de 3 semanas después de la cirugía, se examinó el comportamiento en la rotación inducido por apomorfina HCl (un conocido agonista de dopamina D1/D2), 50µg/kg SC. El comportamiento de rotación se midió por un sistema de rotómetro automático (sistema Rotorat Rotational, MED Associates, Georgia, VT). Para ensayar los compuestos de la prueba, sólo se utilizaron las ratas que mostraron más de 100 giros contrarios por hora como respuesta a la apomorfina, dado que esto es lo que demuestra que la condición del roedor se parece a la de un humano que padece el mal de Parkinson. Se examinó la actividad contra el Parkinson a través de la capacidad de los compuestos de la prueba para producir

130
6X
165

giros contrarios en estas ratas lesionadas en forma unilateral con 6-OHDA. Este es un método aceptado de prueba de drogas contra el Parkinson (véase Hudson et al., *Brain Research*, 1993; 626:167-174).

Tabla 2. Comparación de (-)-5-ceto-DPAT^T y (+)-ceto-DPAT^T en las rotaciones contrarias Totales durante 12 horas en las Ratas lesionadas en forma unilateral con 6-OHDA

Dosis (mg/kg PO)	Compuesto	
	(-)-5-ceto-DPAT ^T	(+)-5-cetoDPAT ^T
0,03	2230±877 (8)	no se probó
0,1	7151±1634 (7)	958±397 (8) ^a

La información es $\pm$ S.E.M de las rotaciones contrarias. El tamaño grupal es (8-16). ^a $P < 0,05$ vs la misma dosis de (-)-5-ceto-DPAT^T, la prueba t del estudiante.

Los resultados anteriores establecen que (-)-5-ceto-DPAT^T sirve para producir un efecto contra el Parkinson, mientras que (+)-5-ceto-DPAT^T sólo provocó un efecto mínimo.

131 ~~75~~
~~62~~
~~102~~

EJEMPLO 4

Formulación de Tabletas

(-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina	100mg
Estearato de magnesio	10mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	20mg
Talco	50mg

Total	180mg
-------	-------

Los ingredientes que aparecen arriba se combinan hasta ser homogéneos y se presionan en una tableta. Estas tabletas se administran entre 1 y 4 veces por día para lograr un tratamiento efectivo contra el mal de Parkinson.

EJEMPLO 5

Formulación de Cápsulas

132 ~~157~~
~~63~~
 167

(-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina	80mg
Dióxido de titanio	5mg
Glicolatulosa de almidón sódica	15mg

Total	100mg
-------	-------

Los ingredientes que aparecen arriba se combinan hasta ser homogéneos y se rellenan en una cápsula de gelatina blanda. Estas cápsulas se administran en forma oral entre 1 y 6 por día.

EJEMPLO 6

Formulación de Supositorios

Hidrocloruro de

(-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina	600mg
Aceite de teobroma	50mg
Gelatina glicerinada	1000mg
Glicerina	150mg

Total	1800mg
-------	--------

133 134
64
168

Los ingredientes se combinan hasta ser homogéneos a 60°C y se vierten en moldes que terminan en punta para producir un supositorio rectal que pesa 1,8 gramos. Se administra 1 supositorio entre cada 4 y 8 días.

EJEMPLO 7

Preparación de la Solución Parenteral

Se disuelven 20 gramos de maleato de(-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina en una mezcla de 700 mL de propilenglicol y 200 mL de agua para inyección. Se ajusta el pH a 6,0 mediante el agregado de agua. Se esteriliza la formulación y se llenan ampollas de 5,0 mL, cada una contiene 2,0 mL (lo que representa 40 mG de droga) y se sellan bajo nitrógeno.

134 T39
65
189

REIVINDICACIONES

Se reivindica:

1. Un compuesto que es (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina.
2. Un método para tratar el mal de Parkinson en pacientes que necesitan dicho tratamiento, este método comprende el hecho de administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 2 caracterizado porque el compuesto que se administra es hidrocloruro de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina.
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 2 caracterizado porque el compuesto se administra en forma oral.
5. Un método para producir (-)-5,6-dihidroxi-2-N,N-di-n-propilaminotetralina en un mamífero que comprende el hecho



SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1.991

135 + 40
66
170

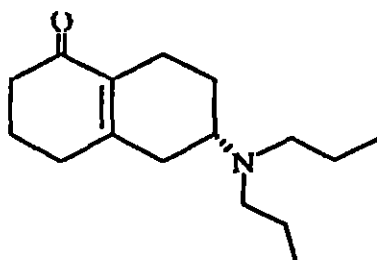
de administrarle al mamífero una cantidad efectiva de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque el compuesto que se administra es hidrocloruro de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina.
7. Un método de acuerdo con la reivindicación 6 caracterizado porque el compuesto se administra en forma oral.
8. Un método para tratar el mal de Parkinson en pacientes que necesitan de dicho tratamiento que comprende el hecho de suministrar (-)-5,6-dihidroxi-2-N,N-di-n-propilaminotetralina al cerebro del paciente a través de la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo.
9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8 caracterizado porque el compuesto que se administra es hidrocloruro de (-)-5-ceto-2-N,N-di-n-propilamino-tetrahidrotetralina.


SERGIO EUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1.991

136441
82
171

10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9 caracterizado porque el compuesto se administra en forma oral.
11. Un proceso para preparar un (-)-isómero de un compuesto de la fórmula



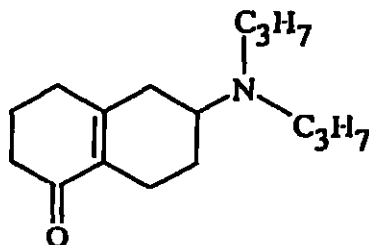
I

dicho proceso comprende los pasos de:

reaccionar 1,3-ciclohexadiona, paraformaldehído, y dipropilamina a 85°C aproximadamente;

agregar acetona a la mezcla de reacción;

tratar la mezcla de reacción con cianoborohidruro sódico para producir el compuesto de la Fórmula A



A


SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1.991

132742
68
182

tratar el compuesto de la Fórmula A con acetato de isopropilo hirviendo y ácido (-)dilobulitartárico para formar las sales diastereoméricas; y
cristalizar las sales del compuesto que posee la fórmula A para proporcionar el (-)-isómero del compuesto de la fórmula I.

12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11 caracterizado porque el paso de reacción mencionado comprende además el hecho de agitar dicha mezcla en presencia de tamices moleculares 4Å

EL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL HA REVISADO LA TRADUCCION DE LAS REIVINDICACIONES DE ESTE DOCUMENTO Y ESTA CORRECTA

ESTE DOCUMENTO FUE LEGALIZADO BAJO EL No. 493960 DE DICIEMBRE 15 DEL 2000 ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

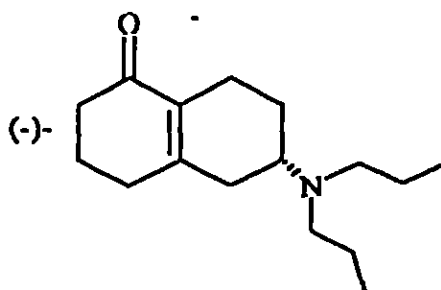

SERGIO LATORRE MENDOZA
Traductor a Intérprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1.991

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
18.11.88
CUTY FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD POR EL TEXTO
2000 OCT 17 8:59
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

RESUMEN

El mal de Parkinson se trata con un compuesto de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.