

AS 83 458



REPUBLICA DE COLOMBIA

SIC SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA
Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE



REGISTRO DE MARCAS
Fecha de la solicitud 17/03/83
Depositaría A.D. DUQUE DE CUEVAS P. 1674

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

BRISTOL - MYERS SQUIBB COMPANY ✓

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Estados Unidos de América ✓

Departamento o Estado

New Jersey

Ciudad

Princeton

Dirección

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

RAMIRO CASTRO DUQUE ✓

Dirección

Cra 7 No. 16-56 Piso 9

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

Robert F. Mayo ✓

Dirección y Domicilio

Durham, Connecticut, Estados Unidos de América ✓

Identificación

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCIÓN

(54) Título de la Invención METODO PARA ALIVIA LA ANSIEDAD ✓PRIORIDAD REIVINDICADA
BAJO EL CONVENIO DE PARISSI ☒NO ☐(33) País US
US(32) Fecha 00-01 18
00-06-06(31) No. Solicitud 09/484,161
09/588,221

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A 61 k 31/438, 31/496, 31/505

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Suministrar un proceso mejorado para el alivio de la ansiedad mediante el tratamiento con una cantidad ansiolíticamente efectiva de 6-hidroxi-8-(4-(4-(2-pirimidinil)-piperazinil)-butil)-8-azaspiro(4.5)-7.9-diona.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica

☐

Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la S.I.C. Protocolo No.19358

☒

Recibo de la tasa respectiva \$608.000 (Recibo No.65,596)

☒

Si se reivindica prioridad, el certificado respectivo (copia legalizada)

☐

Traducción oficial

☐

Capítulo descriptivo

☒

Dibujos, planos necesarios

☐

Capítulo reivindicatorio

☒

Tarjeta archivo propietarios según formato

☒

Tarjeta archivo temático según formato

☐

Extracto para resumen o para publicación según formato

☐

Arte final 12 x 12 cms

☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD



FIRMA DEL APODERADO

Enero 17, 2001
CPB/hsr.

CC.170.322 de Btá TP.No. 1003 del C.S.J.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 65,596
FECHA : OCTUBRE 20 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOSOTA	050-00110-6	2694119	3,648,000.00

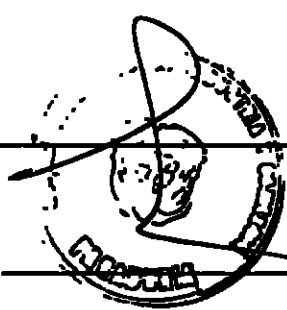
***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	\$ 608,000.00

SOM: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
e-mail: Info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

METODO PARA ALIVIAR LA ANSIEDAD

Folio 4 tarjeta
proprietarios
G2

5 6

MÉTODO PARA ALIVIAR LA ANSIEDAD

CAMPO DE LA INVENCION

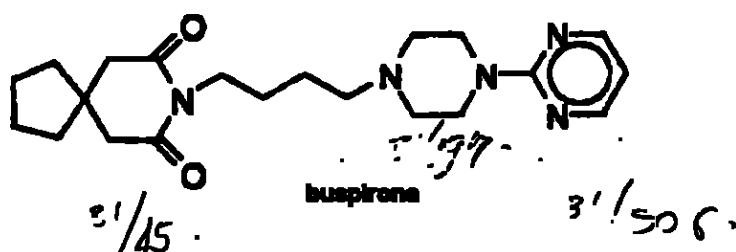
5 La presente invención involucra un proceso
mejorado para el alivio de la ansiedad mediante el
tratamiento con una cantidad ansiolíticamente efectiva
de 6-hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-
butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona. Este compuesto fue
10 por vez primera descrito por Jajoo, et al., Drug Metab.
and Disposition, 17/6 pp. 634-640, 1989, como uno de
varios metabolitos del fármaco ansiolítico,
clínicamente útil, la buspirona. La confirmación de la
estructura de este metabolito se consiguió mediante la
15 comparación con una muestra auténtica del compuesto
preparado sintéticamente. Este compuesto metabolito ha
sido designado BMY 28674, y también es conocido como
BMY 28674.

20

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El fármaco original, la buspirona, tiene
la siguiente estructura química.

25



La buspirona, químicamente: 8-[4-[4-(2-pirimidinil)1-piperazinil]butil-8-azaspiro(4,5)-decan-7,9-diona, es un compuesto farmacéuticamente activo, el

5 cual, según se ha encontrado, es efectivo para el tratamiento de trastornos de ansiedad y de la depresión. Es aceptado que la buspirona ejerce sus efectos a través del receptor de la serotonina 1A(5-HT1A). Sin embargo, la buspirona muestra un metabolismo

10 de primer paso muy elevado, y en general, únicamente aproximadamente el 4% de una dosis terapéutica de buspirona llega a la circulación sistémica, en forma no metabolizada, después de la administración oral (Mayol, et al., Clin. Pharmacol. Ther., 37, p. 210, 1985).

15 También se han observado grandes diferencias en la absorción de la buspirona, entre individuos. Esto ha sido demostrado por las variaciones de la concentración plasmática máxima del fármaco, en individuos, por diferencias de hasta 10 veces (Gammans, et al.,

20 American J. Med., 80, Suppl. 3B, pp. 41-51, 1986).

7 8

La síntesis de la buspirona y análogos relacionados, y la descripción de sus propiedades psicotrópicas son descritas por Wu, et al., en la patente norteamericana 3,717,634. El uso del
5 clorhidrato de buspirona, como un agente novedoso contra la ansiedad, para el tratamiento de pacientes neuróticos, es descrito por Casten, et al., en la patente norteamericana 4,182,763.

Previamente se analizaron las propiedades
10 contra la ansiedad del BMY 28674, usando métodos de laboratorio desarrollados específicamente para la medición de las propiedades contra la ansiedad, en compuestos de azapirona, tales como la buspirona, gepirona y análogos estructurales. En este análisis
15 nunca se detectó actividad significativa alguna contra la ansiedad, para el BMY 28674. Para este compuesto nunca se ha descrito actividad biológica alguna significativa de cualquier tipo. En efecto, con la excepción de la 1-pirimidinilpiperazina (1-PP), no se
20 ha descrito actividad significativa alguna contra la ansiedad, para alguno de los metabolismos de buspirona conocidos. Ver: Gammans, et al., JAMA, (Marzo de 1986), Vol.. 80, Supp. 3B, pp. 43-44. Como una consecuencia, se ha creído que la dosificación oral de buspirona para
25 el tratamiento de la ansiedad, se optimiza cuando se

9
8

realiza en una manera tal que maximice la concentración del fármaco sin cambios, a expensas de los metabolitos.

En la patente norteamericana No. 5,431,922 se describió una formulación de liberación prolongada, de buspirona para proporcionar una mejora en la administración oral del fármaco, en base a que los niveles sanguíneos de la buspirona sin cambios se incrementaron, mientras que los niveles del metabolito se redujeron, cuando se midió la relación de los niveles plasmáticos de buspirona respecto al metabolito 1-PP. Sin embargo nunca se describieron datos de eficacia para estas formulaciones y tampoco se comercializaron.

La patente norteamericana No. 5,633,009 describió y reivindicó un parche transdérmico para suministrar buspirona. El suministro transdérmico, como se esperó, dio confiablemente mayores niveles sanguíneos de buspirona (área bajo la curva (abc)) con niveles del metabolito mucho más reducidos, al medirlos por el 1-PP. Se diseñó un parche típico para suministrar 60 mg de buspirona por un período de 24 horas. De manera sorprendente, estudios clínicos realizados con este parche demostraron un efecto ansiolítico que no pudo distinguirse del placebo.

Más recientemente, un método mejorado para

~~40~~
9

la administración oral de buspirona fue reivindicado en la patente norteamericana No. 6,008,222 en donde se incrementa la biodisponibilidad de la buspirona sin cambios, y se reduce la formación del metabolito. El método descrito involucraba la administración conjunta de buspirona, con el fármaco nefazodona, un inhibidor del citocromo P4503A4 (CYP3A4). En base a la evaluación de datos clínicos preliminares, no se ha planeado un desarrollo ulterior de esta formulación farmacéutica de combinación de fármacos.

En resumen, aunque se ha descubierto que el BMY 28674 es uno de varios metabolitos humanos que resultan de la administración oral del fármaco ansiolítico, la buspirona, no se ha asociado previamente actividad biológica útil, con el compuesto mismo, antes de la presente invención. En particular, en análisis previos no se detectó actividad ansiolítica. Se han realizado recomendaciones de dosificación para la buspirona, de acuerdo con la expectativa de que la inhibición del metabolismo de la buspirona generaría una respuesta en contra de la ansiedad, más robusta. La observación clínica de que cierto porcentaje de pacientes con ansiedad no obtienen alivio con la administración de buspirona, ha sido atribuida a los niveles insuficientes del fármaco

M
18

original, que se consiguen en estos no respondedores. Una segunda observación clínica respecto a un período de demora de siete a diez días, antes de la observación de un efecto ansiolítico, ha sido atribuido a la
5 necesidad de un cambio en la dinámica del sitio del receptor, como un resultado de la administración crónica de buspirona. El descubrimiento inesperado de los efectos ansiolíticos del BMY 28674, sugiere otras explicaciones para estas observaciones.

10

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Efecto del BMY 28674 en la vocalización ultrasónica inducida por aislamiento y en
15 la actividad locomotora, en la cría de rata.

Figura 2. Efecto de la buspirona en la vocalización ultrasónica inducida por aislamiento y en la actividad locomotora, en la cría de rata.

Figura 3. Concentraciones de buspirona a
20 nivel sanguíneo humano, seguido de la dosificación oral de buspirona en sujetos humanos.

Figura 4. Concentraciones de 1-PP a nivel sanguíneo humano, seguido de la dosificación oral de buspirona en sujetos humanos.

25 Figura 5. Concentraciones de BMY 28674 a

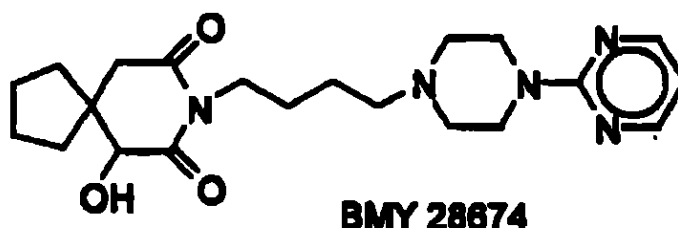
12
11

nivel sanguíneo humano, seguido de la dosificación oral de buspirona en sujetos humanos.

Figura 6. Estudio del metabolismo In Vitro: Metabolismo Microsómico en Hígado Humano (HLM) de la buspirona, para producir BMY 28674.

BREVE DESCRIPCIÓN Y DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Se ha descubierto en la presente, que la 6-hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona (I) es útil como un agente para tratar la ansiedad y en la presente se hace referencia al mismo como BMY 28674. El compuesto tiene la siguiente fórmula estructural:

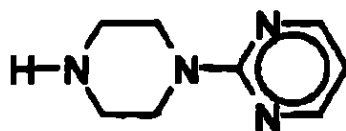


I

y se cree que es el metabolito activo de la buspirona.

Como un resultado del análisis previo con

instalaciones y recursos propios, del agente ansiolítico clínicamente útil, la buspirona y varios de sus metabolitos reales y putativos, la visión prevalectante ha sido que la acción ansiolítica era proporcionada principalmente por la buspirona misma con una pequeña, si la hay, contribución hecha por los metabolitos de la buspirona. Por ejemplo, la administración sistémica (intravenosa e intragástrica) de ciertos metabolitos putativos, a ratas, dio por resultado una poca o ninguna inhibición del disparo de impulsos neuronales en el rafé dorsal. En contraste, la buspirona misma inhibe potencialmente el disparo de impulsos en las neuronas del rafé dorsal. Ver: VanderMaelen, et al., Eur. J. Pharmacol., 129, pp. 123-130, 1986. Aunque un metabolito, el fragmento estructural 1-(2-pirimidinil)piperazina, también conocido como 1-PP,



1-PP

exhibió una inhibición débil del disparo de impulsos en el rafé dorsal, a la vez que produjo cierta actividad

en contra de la ansiedad en ciertos otros análisis preclínicos (Ver: Patente Norteamericana 4,409,223), también exhibió propiedades ansiogénicas en otros paradigmas de análisis de comportamiento. Ver: Cervo,
5 et al., Life Sciences, 43, pp. 2095-2102, 1988; Martín, Psychopharmacology, 104, pp. 275-278, 1991. Es probable que el efecto biológico del 1-PP sea mediado a través de un mecanismo alfa 2 adrenérgico ya que el 1-PP no demuestra enlazamiento al receptor 5-HT1A. Actualmente,
10 el efecto clínico del 1-PP no esta claro.

Con la aceptación general de que el agente ansiolítico activo es la buspirona misma, comúnmente se proporcionan instrucciones de dosificación de acuerdo con la obtención máxima de niveles sanguíneos de
15 buspirona sin cambios, en pacientes con ansiedad. En pacientes en donde se inhibe el metabolismo de la buspirona, ya sea debido a los niveles de actividad enzimática, hepática, en el paciente, o debido a la ingestión de sustancias que tengan efectos
20 inhibitorios en el metabolismo hepático, particularmente el CYP3A4; se recomienda a los pacientes reducir la cantidad de buspirona tomada. Es interesante que no se ha establecido una correlación específica de los efectos adversos relacionada con
25 mayores niveles sanguíneos de buspirona. Con el

19

descubrimiento del metabolito activo de la presente, la dirección de esas instrucciones de dosificación deberían cambiarse a condiciones que favorezcan la producción enzimática de BMY 28674. En efecto, la dosis
5 de bupirone debería incrementarse, no reducirse, en pacientes caracterizados por un metabolismo inhibido de la bupirone.

Otra hipótesis ampliamente aceptada se refiere a que la bupirone no proporciona alivio de la
10 ansiedad en cierto porcentaje de pacientes. Esta falta de efecto ha sido atribuida al hecho de que en los no respondedores se consiguen niveles sanguíneos insuficientes de bupirone sin cambios, aunque los niveles sanguíneos de bupirone sean muy bajos en todos
15 los pacientes. Se carece de la confirmación científica de esta explicación de la falla del tratamiento. Una explicación alternativa surge a la luz del descubrimiento del metabolito activo BMY 28674 y su efecto ansiolítico. Una explicación más probable para
20 la falla del tratamiento en ciertos pacientes, concierne a la relación de la eficacia ansiolítica respecto a los niveles sanguíneos de BMY 28674. Los no respondedores son vistos como aquellos pacientes cuya conversión metabólica de bupirone a BMY 28674 es
25 insuficiente para conseguir niveles eficaces de BMY

28674. Con relación a esta explicación se encuentra la observación de una amplia variabilidad de los niveles sanguíneos de la buspirona, observados en el mismo paciente y entre pacientes, después de la
5 administración oral. Esta variabilidad puede ser un resultado de variaciones conocidas que ocurren en los niveles de actividad del metabolismo hepático humano durante el transcurso de la vida diaria. Sin embargo, dado que los niveles sanguíneos de buspirona misma son
10 muy bajos, las diferencias en los niveles sanguíneos de buspirona son generalmente pequeñas en comparación con las diferencias en los niveles sanguíneos observados para los metabolitos más abundantes.

De manera similar, la demora de tiempo
15 observada para el inicio de la acción ansiolítica después del inicio del tratamiento con buspirona, puede involucrar el tiempo requerido para la acumulación del metabolito así como para la re-regulación de la dinámica del sitio del receptor. En general, la
20 dependencia de la acción ansiolítica en la aparición del metabolito BMY 28674 se correlaciona bien con las observaciones clínicas realizadas con respecto a la administración oral de buspirona a pacientes con ansiedad.

25 En base a los razonamientos aceptados de

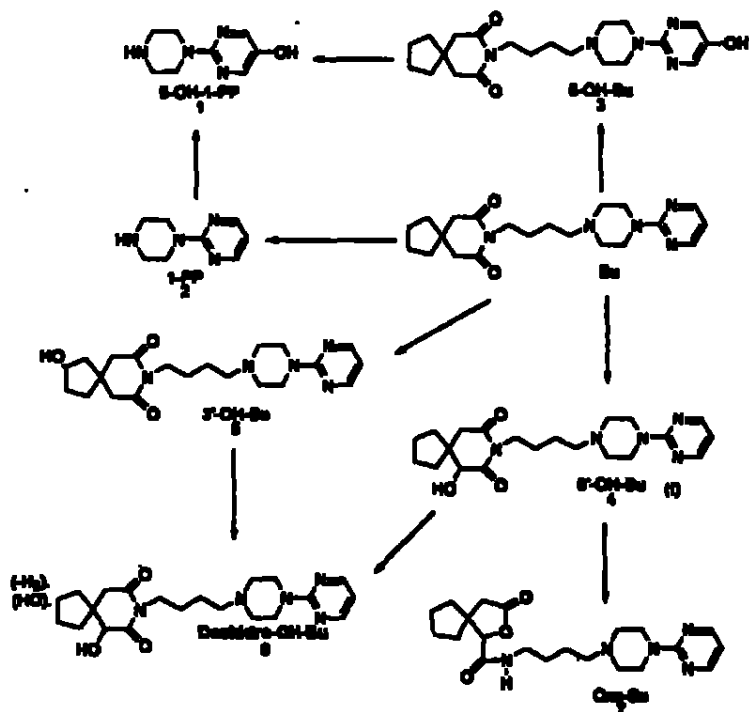
18
16

que la buspirona intacta proporcionaba la actividad útil contra la ansiedad, observada clínicamente, se desarrolló un sistema de suministro a base de parche transdérmico, para la buspirona (ver la patente 5 norteamericana 5,633,009). Se predijo que un parche transdérmico de buspirona era un tratamiento superior para la ansiedad dado que el suministro transdérmico del fármaco dio por resultado un metabolismo minimizado de la buspirona, proporcionando por lo tanto cantidades 10 significativamente mayores del fármaco original, con niveles de metabolitos mucho más reducidos. De manera sorprendente, clínicamente se observó poca o ninguna actividad ansiolítica con el uso del parche transdérmico de buspirona. Este resultado inesperado ha 15 conducido a la reevaluación de los metabolitos de la buspirona y al descubrimiento de la potente acción en contra de la ansiedad del BMY 28674.

El siguiente esquema metabólico (Esquema 1) para la buspirona se tomó de Jajoo, et al., 20 Xenobiotica, 1990, Vol.20, No. 8, pp. 779-786, "Metabolismo In vitro del fármaco contra la ansiedad, buspirona, como un predictor de su metabolismo in vivo".

18
17Esquema 1

Esquema para el metabolismo de la bupiriona por los microsomas y hepatocitos del hígado de rata



5 El nuevo trabajo inició con la evaluación del enlazamiento relevante al receptor, de los metabolitos de bupiriona. Por consiguiente, la actividad *in vitro* de la bupiriona (Bu; MJ 9022) y sus metabolitos 1-PP (BMJ 13653), 3'-OH-bupiriona (BMJ 14295), 5-OH-bupiriona (BMJ 14131) y 6'-OH-bupiriona (BMJ 28674), se evaluaron respecto a la actividad en el receptor 5-HT_{1A} humano. Los resultados de esos

10

18

experimentos se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	IC ₅₀ [nM]	STDEV	valor K _i	N
8-OH-DPAT (referencia)	2.5	0.9	1	8
Buspirona (MJ 9022)	30	18	15	8
6-OH-buspirona (BMY 28674)	114	85	57	7
5-OH-buspirona (BMY 14131)	928	176	464	7
3-OH-buspirona (BMY 14295)	652	402	326	7
1-PP (BMY 13653)	>1000	-	-	3

5

Como puede observarse, la Tabla 1 resume la nueva acción *in vitro* del MJ 9022 (buspirona) y sus metabolitos BMY 13653 (1-PP), BMY 14131 (5-OH-buspirona), BMY 14295 (3-OH-buspirona) y BMY 28674 (6-OH-buspirona) en el receptor de la serotonina 1A humana (5-HT_{1A}). La buspirona presenta una gran afinidad por el receptor de la 5-HT_{1A} humano (K_i=15nM). El BMY 28674 tiene una afinidad de enlazamiento que se aproxima a la de la buspirona (K_i=57 nM). Los otros metabolitos analizados tienen una afinidad relativamente débil por el receptor 5-HT_{1A} humano comparado con la buspirona.

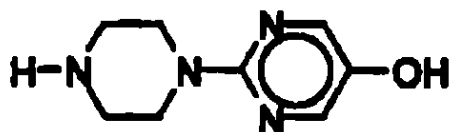
10

15

El BMY 28674 parece ser el metabolito

activo de la bupiriona. No únicamente es el segundo metabolito más abundante obtenido en estudios del metabolismo a partir de orina humana (en donde el 5-hidroxi-1PP es el más abundante); sino que, de manera

5



5-hidroxi-1PP

importante, los niveles sanguíneos humanos del BMY 28674 son aproximadamente 40 veces mayores que los de la bupiriona y varias veces mayores que los del 1-PP. También es significativo el hecho de que la estructura esquelética de la bupiriona permanece intacta en el BMY 28674. Además, los datos de enlazamiento en el receptor 5-HT_{1A} indican que el BMY 28674 tiene una afinidad de enlazamiento más cercana a la de la bupiriona, en contraste con los otros metabolitos, lo cual demuestra únicamente una interacción más débil en el sitio del 5-HT_{1A}. El receptor 5-HT_{1A} es aceptado comúnmente como el receptor serotoninérgico involucrado íntimamente en la regulación de la ansiedad. El enfoque de la presente investigación ha sido en los metabolitos de bupiriona que mantienen la estructura del esqueleto de bupiriona

10

15

20

21
20

y que no tienen más de un grupo hidroxil hidrofílico incorporado en la molécula. Es probable que la presencia de más de un grupo hidroxil hidrofílico reduzca la distribución y transporte de esos productos metabólicos polihidroxilados en las regiones del Sistema Nervioso Central del cuerpo, por lo tanto haciendo que las interacciones necesarias de los receptores probablemente no ocurran en las regiones objetivo.

10 Los primeros análisis funcionales, con instalaciones y recursos propios, del BMY 28674, utilizaron un método de análisis *in vivo* en base a la modificación del análisis de Conflicto de Vogel, un simple procedimiento de conflicto, confiable, para
15 analizar agentes en contra de la ansiedad (ver: Vogel, et al., Psychopharmacologia, (Berl.) 21, pp. 1-7, 1971). Sin embargo, el BMY 28674 no produjo una respuesta contra la ansiedad, en el análisis de Vogel. Previamente no se ha atribuido al BMY 28674 actividad
20 útil contra la ansiedad.

Las vocalizaciones ultrasónicas emitidas por crías de ratas, después del aislamiento de su madre y de sus compañeros de camada, y sometidos a una variedad de estímulos ambientales (por ejemplo,
25 temperatura fría) ha probado ser un método sensible

para la evaluación de compuestos ansiolíticos y ansiogénicos potenciales (Winslow and Insel, 1991, Psychopharmacology, 105:513-520). Los compuestos psicoactivos que se supone que son ansiolíticos, 5 suprimen la frecuencia de las llamadas ultrasónicas, mientras que las llamadas se incrementan con fármacos que tengan propiedades ansiogénicas. De manera más importante, el paradigma de la vocalización ultrasónica inducida por el aislamiento, parece ser el más sensible 10 para detectar propiedades ansiolíticas a través de un amplio espectro de clases de fármacos, tales como las benzodiazepinas, los inhibidores de la recaptación del 5-HT, los agonistas del 5-HT_{1A} así como los antagonistas NMDA. En la presente investigación, el 15 metabolito 6-hidroxilado de la buspirona, BMY 28674, que tiene afinidad por el receptor 5-HT_{1A} humano ($K_i=57$ nM) se evaluó respecto a su actividad ansiolítica potencial usando crías de rata de 9 a 11 días de edad que habían sido separadas de su madre y compañeros y 20 puestos en una placa fría (18-20°C) para producir vocalizaciones ultrasónicas inducidas por la aflicción. Ver la figura 1. La figura 2 muestra los resultados obtenidos por la buspirona en este método de análisis.

La administración de BMY 28674 (0.03-1 25 mg/kg, subcutáneamente; figura 1) 30 minutos antes del

23
22

análisis, produjo una eliminación dependiente de la dosis, de la vocalización ultrasónica de las crías de rata sobre la placa fría [$F(4,45)=19.27, p=0.0001$]. La dosis de BMY 28674 predicha para reducir el número de
5 llamadas en un 50% (ID_{50}) fue de 0.13 mg/kg. La actividad locomotora se deterioró significativamente seguido de la administración de BMY 28674 [$F(4,45)=5.85, p=0.007$]. Sin embargo, la dosis ID_{50} (0.41 mg/kg) de BMY 28674 estimada para reducir la
10 actividad locomotora fue de aproximadamente 3 veces mayor que la dosis ID_{50} (0.13 mg/kg) observada para eliminar las llamadas ultrasónicas, sugiriendo que, al igual que la bupiriona, las propiedades ansiolíticas del BMY 28674 ocurren a menores dosis.

15 La administración de bupiriona (0.03-1 mg/kg, subcutáneamente; Figura 2) 30 minutos antes del análisis, produjo una eliminación dependiente de la dosis de la vocalización ultrasónica de las crías de rata sobre la placa fría [$F(4,42)=15.44, p=0.0001$]. La
20 dosis de bupiriona predicha para reducir el número de llamadas en un 50% (ID_{50}) fue de 0.10 mg/kg. La actividad locomotora se vio también deteriorada [$F(4,42)=4.343, p=0.005$] aproximadamente a dosis 5 veces
25 mayores que aquellas que eliminan las llamadas ultrasónicas.

24
23

Los presentes resultados demuestran que, al igual que la buspirona, el metabolito BMY- 28674 produce una actividad similar a la ansiolítica en el modelo de ansiedad con vocalización ultrasónica inducida por el aislamiento de crías de rata. La actividad ansiolítica asociada con el BMY 28674 (y la buspirona) ocurrió a dosis mucho menores que las requeridas para eliminar la actividad motora. En resumen, los análisis *in vitro* e *in vivo*, precedentes, demuestran resultados del análisis en contra de la ansiedad, positivos, tanto para la buspirona como para el BMY 28674; sin embargo, las concentraciones a nivel sanguíneo de buspirona son pequeñísimas seguidas a la administración oral a sujetos humanos. Antes del presente trabajo no existía información concerniente a las concentraciones a nivel sanguíneo, clínicas, de BMY 28674.

Se han realizado estudios farmacocinéticos en humanos y han producido resultados sorprendentes que respaldan además el papel del BMY 28674 como el metabolito ansiolítico activo.

Se administró buspirona, oralmente, durante 25 días, a sujetos humanos (n=13) con dosis diarias totales que variaban de 10 mg a 60 mg. El esquema de dosificación se dividió en intervalos de

25
29

dosificación de 5 días, incrementando la dosificación BID en cada intervalo. Se realizaron mediciones farmacocinéticas en el día 5 de cada intervalo y estos datos se usaron para evaluar la farmacocinética de la bupirone, del 1-PP, y del BMY 28674. El esquema de dosificación en humanos se presenta a continuación.

Intervalo de dosificación	Dosis BID (mg) de bupirone	Medición de PK (día de estudio)
1	5	5
2	7.5	10
3	15	15
4	20	20
5	30	25

Se encontró que estas dosis múltiples de bupirone oral a los niveles de 5 dosis eran seguras y en general bien toleradas por los adultos saludables que participaron en el estudio de 25 días.

Las figuras 3, 4 y 5 muestran concentraciones promedio del nivel sanguíneo, de bupirone, 1-PP y BMY 28674, respectivamente, a través de un período de dosificación de 12 horas en el último día de cada intervalo de dosificación. Los niveles de bupirone (figura 3) son en general muy bajos (de

aproximadamente 1-2 ng/mL a las dosis mayores) y
descienden hasta niveles de menos de 1 ng/mL dos horas
después de la dosis. En contraste, los niveles de 1-PP
(figura 4) y los niveles de BMY 28674 (figura 5) son
5 mucho mayores y son sostenidos en comparación a los de
buspirona. El BMY 28674 tiene concentraciones varias
veces mayores que el 1-PP y concentraciones de
aproximadamente 30 a 40 veces mayores que la bupironea.

Hasta ahora, los estudios indican que
10 después de la administración oral de bupironea, existen
niveles sanguíneos del metabolito, el BMY 28674, que
son significativos comparados con los niveles
sanguíneos despreciables de bupironea que se observan.
Aunque se ha demostrado que la bupironea misma tiene
15 propiedades ansiolíticas, en modelos de análisis tales
como el modelo VUS en cría de rata descrito en la
presente, las bajas concentraciones a nivel sanguíneo,
observadas en humanos, conducen a la conclusión de que
es el abundante metabolito BMY 28674 el que media el
20 efecto contra la ansiedad observado clínicamente. Antes
de esta presente evaluación de los metabolitos de la
buspirona, la relativa abundancia del BMY 28674 en
humanos después de la administración oral de bupironea,
no era conocida.

25 Aunque es evidente que el BMY 28674 puede

~~27~~
26

como tal administrarse para conseguir un efecto ansiolítico, la administración oral de su precursor, la buspirona, realizada bajo condiciones apropiadas, puede ofrecer también un método mejorado para introducir el

5 BMY 28674 al sistema de un paciente con ansiedad. Para obtener una mejor definición de estas condiciones, se realizaron experimentos del metabolismo *in vitro* para estudiar el metabolismo Microsómico del Hígado Humano (HLM), de la buspirona. Se seleccionaron preparaciones

10 de HLM de múltiples donadores, seleccionadas en base a sus actividades enzimáticas del CYP3A4. Las preparaciones HLM se compraron a Gentest Corporation (Woburn, MA: Números de catálogo H023, H056, H070, H093 y H112), quienes caracterizaron las preparaciones HLM

15 utilizando procedimientos estándares. Además de la medición de la pérdida del compuesto original en las incubaciones, también se midieron los niveles del metabolito BMY 28674.

El primer conjunto de experimentos midió

20 la correlación observada en la figura 6 entre la actividad específica del CYP3A4 en preparaciones HLM y el metabolismo de la buspirona y la producción del metabolito. Una sola concentración de buspirona- C^{14} 10 μ M) se incubó con 5 preparaciones HLM de hígados de

25 cinco donadores. Las incubaciones se realizaron por 15

28
27

minutos con 0.5 mg/ml de proteína microsómica y se utilizaron como un sistema generador NADPH. Los niveles de buspirona- C^{14} y BMY 28674, en las muestras de incubación, fueron determinados mediante HPLC de fase
5 inversa, utilizando detección de radiactividad en línea y por comparación con estándares auténticos. Se obtuvo la recuperación cuantitativa de C^{14} . La relación de la concentración de BMY 28674 respecto a buspirona, contra la actividad específica del CYP3A4 medida en
10 preparaciones HLM de hígados de cinco donadores, se presenta en la figura 6 (media de dos determinaciones separadas). Estos resultados muestran que la relación de BMY 28674 a buspirona, se incrementa a medida que se incrementa la actividad específica del CYP3A4 en HLM.
15 El cambio en la relación a medida que se incrementa la actividad del CYP3A4, se observa tanto como un incremento en los niveles de BMY 28674 como por una disminución en las concentraciones de buspirona (no se muestran los resultados).

20 Se realizó un segundo conjunto de incubaciones para determinar el potencial de un inhibidor del CYP3A4 para alterar la relación de BMY 28674 a buspirona en incubaciones de HLM. Una sola concentración de buspirona- C^{14} (10 μ M) se incubó con HLM
25 de fondo (reunida a través de la combinación de

29
28

volúmenes iguales de los hígados de cinco donadores, descrito anteriormente). A las incubaciones se adicionó, a diferentes concentraciones, Ketoconazol, un inhibidor del CYP3A4 bien caracterizado. Todas las

5 otras condiciones de incubación, así como el análisis de las muestras, fueron como se describieron anteriormente. En la ausencia de Ketoconazol, después de la incubación de buspirona por 15 minutos, con el HLM recolectado, la proporción de BMV 28674 respecto a

10 la buspirona, fue de 0.42 (Tabla 2). No se observó efecto alguno en el metabolismo de la buspirona, a concentraciones de Ketoconazol de hasta 0.125 μM . A razones de Ketoconazol de 0.25 μM , la proporción de 6' hidroxí-buspirona respecto a la buspirona, se redujo

15 hasta 0.32. A las mayores concentraciones de Ketoconazol, de 1.25 μM y 2.5 μM , la proporción de BMV 28674 respecto a la buspirona se redujo adicionalmente hasta 0.06 y 0.01, respectivamente. Estos resultados muestran que cuando el Ketoconazol se incubaba

20 conjuntamente con la buspirona, en HLM recolectado, la proporción de BMV 28674 respecto a buspirona, disminuye a medida que la concentración del inhibidor del CYP3A4, el Ketoconazol, se incrementa. El cambio en la proporción cuando se incrementa la concentración de

25 Ketoconazol, se observa tanto por una reducción en los

30
29

niveles de BMY 28674 como un incremento en las concentraciones de buspirona sin cambios.

Tabla 2

5 Inhibición del metabolismo de la
 Buspirona por el Ketoconazol

[Ketoconazol]	[buspirona]	[BMY 28674]	[BMY 28674/ buspirona]
(μ M)	(CPM relativa)		(Proporción)
0	20054	8400	0.42
0.025	18645	7884	0.42
0.125	19648	8201	0.42
0.25	21957	7052	0.32
1.25	36117	2111	0.06
2.5	43712	576	0.01

10 En resumen, estos experimentos *in vitro* muestran la dependencia tanto del metabolismo de la buspirona como de la aparición del metabolito BMY 28674 en la actividad del CYP3A4 en el hígado humano.

15 Un objeto de esta invención es proporcionar un método mejorado para producir una respuesta ansiolítica en pacientes con ansiedad. Este

objeto se consigue proporcionando niveles sanguíneos, efectivos contra la ansiedad, de BMY 28674 en pacientes con ansiedad. El medio más evidente para conseguir esto sería a través de la administración sistémica del BMY 5 28674 como tal, al paciente. Por lo tanto, un aspecto de la presente invención concierne al proceso para mejorar un estado de ansiedad en un mamífero que necesite de ese tratamiento, a través de la administración sistémica de una dosis de BMY 28674, 10 efectiva contra la ansiedad.

Una dosis efectiva deberá, en general, proporcionar concentraciones mínimas a nivel sanguíneo (CMIN) de BMY 28674, que sean al menos de 1 a 2 ng/mL. Generalmente, el punto de medición para los niveles 15 CMIN es a las 12 horas después de la dosis; es decir, justo antes de la próxima dosis BID. El BMY 28674 se puede administrar a través de una variedad de rutas que incluyen, aunque no se limitan a, la oral, sublingual, bucal, transnasal o parenteral, por ejemplo 20 intramuscular, intravenosa, subcutánea, etc.

Terapéuticamente, el BMY 28674 puede proporcionarse por una de estas rutas, como una formulación compuesta de una cantidad de BMY 28674 efectiva contra la ansiedad o una de sus sales de 25 adición de ácido o un hidrato, farmacéuticamente

aceptables, en un portador farmacéuticamente aceptable. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que proporcionan desde aproximadamente 5 a 50 mg del ingrediente activo por dosis unitaria y se pueden
5 preparar convencionalmente como soluciones acuosas y como suspensiones acuosas o aceitosas. El BMY 28674 puede darse también oralmente cuando se compone en una formulación para dosificación oral, tal como una tableta, píldora, cápsula, jarabe, elixir, solución
10 acuosa o suspensión.

Las sales de adición de ácido, farmacéuticamente aceptables, del BMY 28674, se consideran también útiles como agentes ansiolíticos. Por definición, estas son aquellas sales en las que el
15 anión no contribuye significativamente a la toxicidad o actividad farmacológica de la forma básica del BMY 28674.

Las sales de adición de ácido se obtienen, ya sea por reacción del BMY 28674 con un ácido orgánico
20 o inorgánico, preferentemente por contacto en solución, o a través de cualesquiera de los métodos estándares detallados en la literatura y disponibles para cualquier experimentado en la técnica. Ejemplos de ácidos orgánicos útiles son los ácidos carboxílicos
25 tales como el ácido maleico, ácido acético, ácido

23
32

tartárico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido isetiónico, ácido succínico, ácido pamoico y similares; los ácidos inorgánicos útiles son los ácidos hidrácidos tales como el HCl, HBr, HI; ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y similares.

Las composiciones orales preferidas se encuentran en la forma de tabletas o cápsulas y además del BMY 28674 puede contener excipientes convencionales tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, o polivinilpirrolidona), materiales de relleno (por ejemplo, lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato cálcico, sorbitol o glicina), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice), desintegrantes (por ejemplo, almidón) y agentes humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio). Las soluciones o suspensiones de BMY 28674 con los vehículos farmacéuticos convencionales, se emplean para composiciones parenterales tales como una solución acuosa para inyección intravenosa o una suspensión aceitosa para inyección intramuscular. Esas composiciones que tienen la claridad, estabilidad y adaptabilidad deseadas para el uso parenteral, se obtienen disolviendo de 0.1% a 10% en peso del ingrediente activo (BMY 28674 o una sal de adición de

ácido o hidrato, farmacéuticamente aceptable, del mismo) en agua o un vehículo que consista de un alcohol alifático polihídrico tal como la glicerina, propilenglicol y polietilenglicoles o mezclas de los
5 mismos. Los polietilenglicoles consisten de una mezcla de polietilenglicoles, normalmente líquidos, no volátiles, que son solubles tanto en agua como en líquidos orgánicos y que tienen pesos moleculares desde aproximadamente 200 hasta 1500.

10 El BMY 28674 se puede sintetizar mediante métodos fácilmente disponibles en la literatura química y conocidos por los experimentados en la química de síntesis orgánica. Un método de preparación utiliza la buspirona como un material de partida y el proceso se
15 muestra en el Esquema 2.

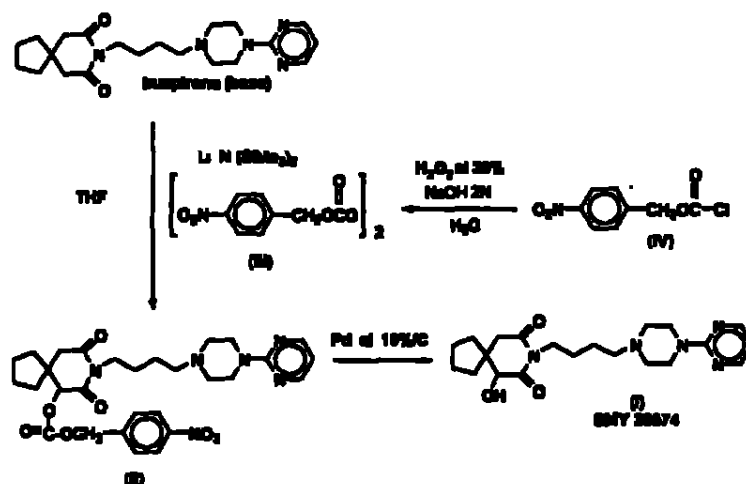
20

25

83-39

Esquema 2

Preparación del BMY 28674



5 Este método se proporciona como un ejemplo auxiliar e ilustra una síntesis conveniente del BMY 28674.

Deberá apreciarse también que el BMY 28674 se puede obtener mediante la conversión enzimática (por 10 los microsomas del hígado de humano o rata) de la buspirona, *in vitro*. (Ver: Jajoo, et al., Xenobiotica, 1990, Vol. 20, No. 8, pp. 779-786).

La administración sistémica puede también conseguirse a través de un segundo método para 15 conseguir niveles sanguíneos efectivos contra la ansiedad, de BMY 28674, el cual consiste en administrar

36
35

oralmente una forma precursora del BMY 28674. Esas formas de profármaco se administrarían en cantidades de dosificación que produzcan efectos ansiolíticos efectivos sin causar efectos secundarios dañinos o adversos. Es decir, la administración sistémica del BMY 28674 puede conseguirse mediante la administración oral de un precursor o forma de profármaco del BMY 28674, por ejemplo la buspirona, a mamíferos.

Sin embargo, este método de introducción sistémica del BMY 28674 es mejor y difiere del método estándar conocido de administración oral de la buspirona. El profármaco de buspirona se utiliza en un método mejorado para efectuar la ansiólisis en la presente invención. De esta manera, otro aspecto de esta invención esta enfocado a aliviar la ansiedad en un mamífero, a través de un método mejorado de administración oral de buspirona. La mejora involucra la administración oral de buspirona en una manera tal que la producción metabólica del BMY 28674 sea favorecida, proporcionando por lo tanto al paciente, cantidades de BMY 28674 efectivas contra la ansiedad. Esto está en contradicción con los métodos de administración comúnmente aceptados, que están enfocados a maximizar los niveles sanguíneos de buspirona sin cambios. Como un ejemplo, la guía de

B7
36

dosificación ha descrito en el pasado que si la bupirone se administra bajo condiciones que favorezcan la inhibición de su metabolismo, es decir, en donde resultarán mayores niveles de bupirone sin cambios y
5 menores niveles del metabolito, deberá reducirse la dosis de bupirone. El método mejorado está directamente en contra al método del pasado de administrar oralmente la bupirone. En lugar de reducir la dosis de bupirone cuando se inhibe su metabolismo,
10 la dosis de bupirone deberá incrementarse para conseguir niveles apropiados del BMY 28674. No existe correlación específica de efectos adversos serios con cantidades crecientes de la bupirone ingerida.

En resumen, el segundo aspecto de la
15 presente invención concierne a un proceso mejorado para aliviar un estado de ansiedad indeseable, en un mamífero, mediante la administración oral de bupirone, o de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de la misma, en una manera que favorezca la
20 producción metabólica de BMY 28674 en el mamífero. En general, la cantidad de bupirone, que se va a proporcionar, es una dosis que da por resultado una concentración sanguínea mínima (CMIN) de 1 a 2 ng/mL de BMY 28674. Las determinaciones de CMIN en pacientes son
25 realizadas usualmente dos horas después de una dosis

28
39

del fármaco y justo antes de la próxima dosis.

Un ejemplo de un factor que afecta la producción metabólica del BMY 28674, es el efecto del alimento en la dosificación oral de bupirone. De acuerdo con el instructivo de uso para el BUSPAR^{MR} (tabletas orales de Clorhidrato de bupirone), se hace la sugerencia implícita de que se tome la bupirone con alimentos, para incrementar la concentración plasmática de bupirone sin cambios.

Un segundo ejemplo de una modificación de dosificación descrita en el instructivo de uso del BUSPAR^{MR} es la recomendación de disminuir la dosificación de bupirone cuando se administre en combinación con un inhibidor del CYP3A4.

Para propósitos del método mejorado para aliviar un estado de ansiedad indeseable, mediante la administración oral de bupirone, los ejemplos precedentes hacen descripciones apartadas del método mejorado de la presente invención. En lugar de dosificar bupirone en las comidas, la dosificación deberá ocurrir aproximadamente dos horas o más, antes o después de una comida. De manera similar, en el caso de un funcionamiento reducido del citocromo P450 3A4 (CYP3A4), la dosis de bupirone deberá incrementarse y no reducirse, tal como los describe el instructivo de

SA
38

uso del BUSPAR^{MR}.

Otras modificaciones de la dosificación, contempladas por el método ansiolítico mejorado, involucran la introducción sistémica del BMY 28674 a través de la administración oral de buspirona, y comprenden las siguientes.

- Administrar buspirona oral coincidiendo con periodos diurnos de la actividad máxima del CYP3A4 en el mamífero.

- Descontinuar los medicamentos o productos alimenticios, concomitantes, que inhiban la actividad del CYP3A4.

- Incrementar la dosis de buspirona para ajustar la actividad reducida del CYP3A4, cuando la suspensión del medicamento concomitante que inhiba la actividad del citocromo sea médicamente impráctica.

En resumen, la administración oral de buspirona a un paciente con ansiedad, se modifica en cierta manera y hasta cierto punto, de conformidad con la buena práctica médica, de manera tal que se favorezca la producción metabólica del BMY 28674. Manteniendo la buena práctica clínica, es preferente administrar el BMY 28674, o una forma precursora, a

40
39

niveles de concentraciones que produzcan efectos ansiolíticos efectivos sin causar efectos secundarios dañinos o adversos.

5

DESCRIPCIÓN DE MODALIDADES ESPECÍFICAS

El compuesto cuyo uso constituye esta invención, y su método de preparación, serán evidentes de manera más completa a la luz de los siguientes
10 ejemplos que se presentan con el propósito de ilustración únicamente y no deben considerarse como limitantes de la invención en su esfera de aplicación o alcance.

15 Ejemplo 1: Preparación del BMY 28674 (I)

A. Peroxidicarbonato de di-4-nitrobencilo (III)

Se preparó peroxidicarbonato de di-4-
20 nitrobencilo, usando una modificación del procedimiento de la literatura¹. De esta manera, a una solución enfriada con hielo de cloroformiato de 4-nitrobencilo (10.11 gramos, 4.7 milimoles) en acetona (20

25 ¹ F. Strain, et al., J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 1254

44
46

mililitros) se adicionó, gota a gota, en 30 minutos, una mezcla enfriada con hielo de H_2O_2 al 30% (2.7 mililitros, 24 milimoles) y NaOH 2.35 N (20 mililitros, 47 milimoles). La mezcla se agitó vigorosamente durante 5 15 minutos y luego se filtró y la torta del filtro se lavó con agua y luego con hexano. El sólido mojado resultante se recogió en diclorometano, la solución se secó (Na_2SO_4) y luego se diluyó con un volumen igual de hexano. La concentración de esta solución, a 20 °C, en 10 un evaporador giratorio, dio un precipitado cristalino que se filtró, se lavó con hexano y se secó *in vacuo* para dar el compuesto III (6.82 gramos, 74%) como microcristales de color amarillo pálido, punto de fusión de 104 °C (con descomposición).

15 Se encontró que el peroxidicarbonato de di-4-nitrobencilo era un material relativamente estable que se descomponía al alcanzar su punto de fusión, con lenta emanación de gas. En comparación, el peroxidicarbonato de dibencilo² se descompuso con una 20 vigorosa expulsión repentina de material, del capilar para punto de fusión.

25 ² Cf. M.P. Gore, J.C. Vederas, J. Org. Chem., 1986, 51, 3700

42
41

B. 6-(4-Nitrobencil peroxidicarbonatil)-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona (II)

5

A una solución de 8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona (buspirona: 10 gramos, 26 milimoles) en THF seco (250 mililitros) se adicionó $\text{LiN}(\text{Me}_3\text{Si})_2$ (28.5 mililitros de una solución 1 M de THF) a -78°C y se agitó durante 3 horas y luego se adicionó un solución de peroxidícarbonato de di-4-nitrobencilo (11.2 gramos) en THF seco (150 mililitros), gota a gota, durante 1 hora. Se continuó la agitación a -78°C por una hora.

15

El baño de enfriamiento se retiró y la solución de reacción se vertió en una mezcla de H_2O Y EtOAc. La fase orgánica se separó y se lavó con H_2O y luego con salmuera. La base orgánica se secó y luego se evaporó hasta producir un aceite viscoso. La cromatografía instantánea de este aceite, eluyendo la columna de sílice con MeCN-EtOAc (1:2) dio el producto crudo el cual se lavó con acetona, para eliminar la buspirona que no había reaccionado, dejando 6.23 gramos de un sólido blanco (46%) del producto (II).

25

C. 6-Hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-butilo]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona (I; BMY 28674)

Se hidrogenó una mezcla de II (4.0 gramos;
5 6.9 milimoles) y Pd al 10%/C (aproximadamente 1 gramo)
en MeOH (100 mililitros) en un agitador Parr a 2.81-
3.16 kg/cm² (40-45 psi) durante 1 hora. La mezcla de
hidrogenación se filtró a través de una almohadilla de
celita la cual se lavó luego con EtOAc. El filtrado se
10 evaporó hasta producir una goma que se purificó
mediante cromatografía instantánea a través de una
columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc para dar
0.41 gramos de un sólido blanquecino (I).

15 Análisis calculado para C₂₁H₃₁N₅O₃: C, 62.82;
H, 7.78; N, 17.44.

Encontrado: C, 62.84; H, 7.81; N, 17.33

Ejemplo 2: Ensayo de Enlazamiento al Receptor 5-HT_{1A}

20

Se preparan membranas para el
enlazamiento, usando el receptor 5-HT_{1A} humano
expresado en células HEK293. Las células se
recolectaron y rompieron usando un homogeneizador
25 Dounce. Las células se centrifugan a 18000xg durante 10

minutos y la masa pelotiforme se vuelve a suspender en una solución reguladora para ensayo, se congela en nitrógeno líquido y se mantiene a -80°C hasta el día del ensayo.

5 Se usa un total de 30 μgramos de proteína por pozo. El análisis se lleva a cabo en placas de 96 pozos profundos. La solución reguladora para análisis es HEPES 50 mM que contiene MgCl_2 2.5 mM y EGTA 2 mM. La preparación de membrana se incuba a 25°C durante 60
10 minutos con una cantidad de 0.1 nM a 1000 nM, del compuesto de análisis y 1 nM de 3H-8-OH-DPAT. La serotonina 10 mM sirve como agente bloqueador para determinar el enlazamiento no específico. La reacción se finaliza mediante la adición de 1 mililitro de
15 solución reguladora de HEPES 50 mM enfriada con hielo y la filtración rápida a través de un Recolector de Células Brandel usando filtros Whatman GF/B. Las almohadillas del filtro se cuentan en un contador de escintilación de líquidos LKB Trilux. Los valores IC_{50}
20 se determinan usando regresión no lineal mediante el ajuste con Excel.

Ejemplo 3: Análisis de la Vocalización Ultrasónica Inducida por el Aislamiento, de Crías de Rata

Crías de rata Harlan Sprague-Dawley (hembras y machos) se alojaron en jaulas de policarbonato con la madre, hasta una edad de 9 a 11 días. Treinta minutos antes del análisis se retiraron las crías de la madre, se colocaron en una nueva jaula con una pequeña cantidad de trapos caseros y se llevaron al laboratorio y se pusieron bajo una luz para mantener la temperatura corporal a 37 °C. Luego se pesaron las crías, se les determinó el sexo, se marcaron y se regresaron al grupo de la camada hasta la evaluación del comportamiento. El análisis se llevó a cabo en una cámara de registro Plexiglas que contenía una placa metálica mantenida a una temperatura de 18 a 20 °C, con una cuadrícula de 5x5 centímetros dibujada sobre la placa. Se suspendió un micrófono 10 centímetros por encima de la placa para registrar las vocalizaciones ultrasónicas. Las llamadas ultrasónicas se registraron usando el sistema UltraVox de Noldus proporcionando análisis en línea de la frecuencia y duración de las llamadas. El número de celdas de la cuadrícula por las que cruzaron las crías, se recavó también mediante puntuación visual. Las crías que fallaron en emitir al menos 60 llamadas durante una sesión de 5 minutos, previa al análisis, se excluyeron de la evaluación farmacológica. Inmediatamente después

de la reunión de las mediciones de línea base se
inyectaron las crías con el vehículo o fármaco,
subcutáneamente, en el cogote del cuello y se regresaron
a sus compañeros de camada. Treinta minutos después se
5 volvieron a analizar las crías respecto a cada una de
las mediciones dependientes (vocalización y cruces por
celdas de la cuadrícula) para evaluar los efectos del
fármaco. Al menos que se especifique de otra manera,
cada cría se usó únicamente una vez. Las diferencias de
10 línea base y el cambio porcentual respecto a la línea
base, para la frecuencia de vocalizaciones ultrasónicas
y los cruces por las celdas de la cuadrícula, se
analizaron usando un análisis de varianza (ANOVA) de una
vía. Se realizaron comparaciones pos hoc de
15 Bonferroni/Dunn para evaluar los efectos agudos del fármaco
con el control del vehículo. Se usó el análisis Logaritmo
próbit para estimar la dosis (miligramos por kilogramo) de
cada agonista, predicha para inhibir las vocalizaciones
ultrasónicas inducidas por el aislamiento, en un 50%
20 (ID_{50}). Todas las comparaciones se realizaron con una tasa
de error tipo I experimental (α) ajustado a 0.05.

Las dosis para cada fármaco se
administraron en un orden irregular a través de varias
camadas. El BMY 28674 y la buspirona se disolvieron en
25 solución salina fisiológica (NaCl al 0.9%; vehículo).

#7
42

Todas las inyecciones se administraron subcutáneamente en un volumen de 10 ml/kg. Las dosis de los fármacos se refieren al peso de la sal.

5 Ejemplo 4: Estudios del Metabolismo In Vitro: Conversión de la Bupiriona en BMY 28674

• las preparaciones de HLM de 5 donadores se seleccionaron en base a sus actividades de la enzima P450
10 en el citocromo CYP3A4.

• La bupiriona- C^{14} (10 μ M) se incubó con preparaciones de HLM de hígados de cinco donadores (15 minutos con 0.5 mg/ml de proteína microsómica).

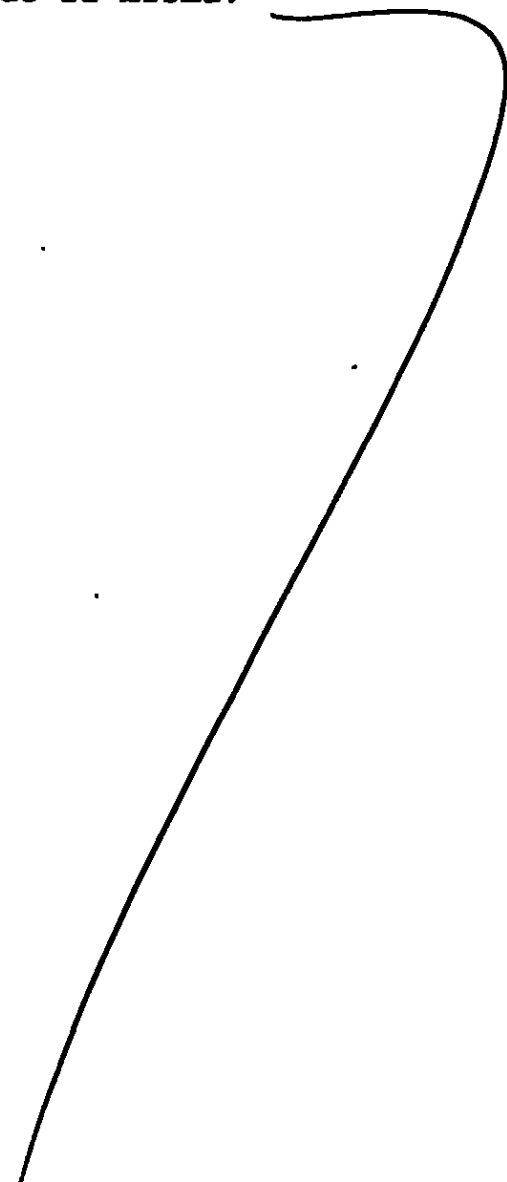
• Los niveles de bupiriona- C^{14} y BMY 28674
15 en las muestras de incubación se determinaron mediante HPLC de fase inversa, utilizando detección de radiactividad en línea y por la comparación con estándares auténticos.

• Se realizó un segundo conjunto de
20 incubaciones para determinar el potencial del ketoconazol (un inhibidor del CYP3A4) para alterar la proporción de BMY 28674 respecto al BUSPAR^{MR} en incubaciones con HLM.

• La bupiriona- C^{14} (10 μ moles) se incubó con
HLM reunido de varios donadores (15 minutos con 0.5 mg/ml
25 de proteína microsómica).

~~48~~
47REIVINDICACIONES

1. Un proceso para aliviar un estado de
ansiedad, indeseable, en un mamífero, caracterizado
5 porque comprende la administración sistémica al
mamífero, de una dosis ansiolítica, efectiva pero no
tóxica, de 6-hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-
piperazinil]-butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona o una sal
de adición de ácido o hidrato, farmacéuticamente
10 aceptable, de la misma.



15

20

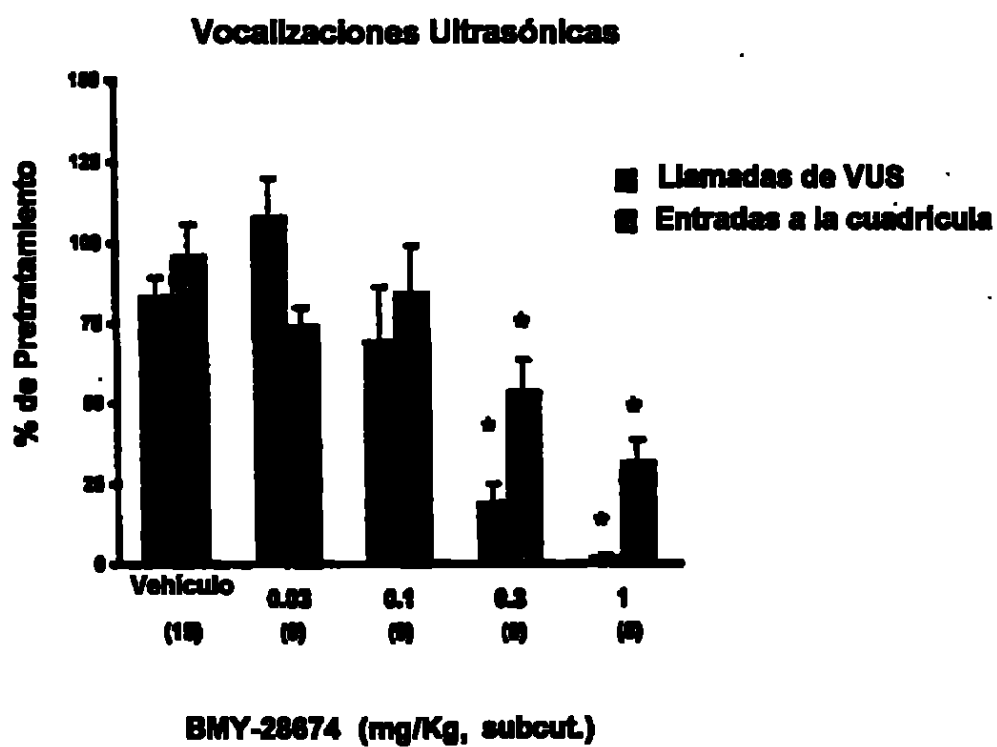
25

49
48RESUMEN DE LA INVENCION

La 6-hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-
piperazinil]-butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona y sus
5 sales e hidratos farmacéuticamente aceptables, son
útiles en el alivio de la ansiedad.

50
49

Figura 1
Efecto del BMY-28674 en la vocalización ultrasónica inducida
por el aislamiento y en la actividad locomotora, en la cría de rata.

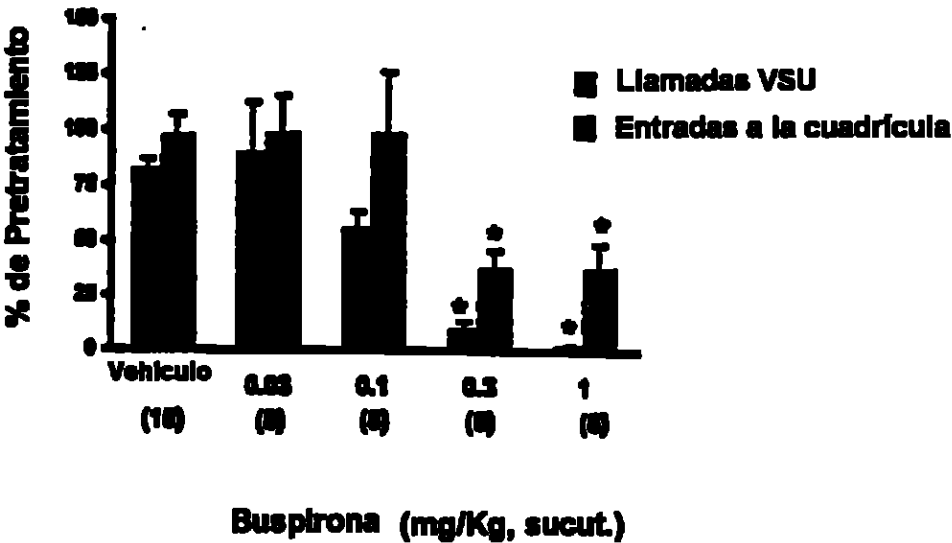


* $p < 0.05$ versus Vehículo
(No. de animales por grupo)

51
50

Figura 2
Efecto de la Buspirona en la vocalización ultrasónica inducida por el aislamiento y en la actividad locomotora, en cría de rata

Vocalizaciones Ultrasónicas



* $p < 0.05$ versus Vehículo
(No. de animales por grupo)

FIGURA 3
CONCENTRACIONES DE BUSPIRONA A NIVEL SANGUÍNEO HUMANO, AL FINALIZAR LOS INTERVALOS DE
DOSIFICACIÓN DE BUSPIRONA DE 8 DÍAS EN UN RÉGIMEN DE PROPUJAS

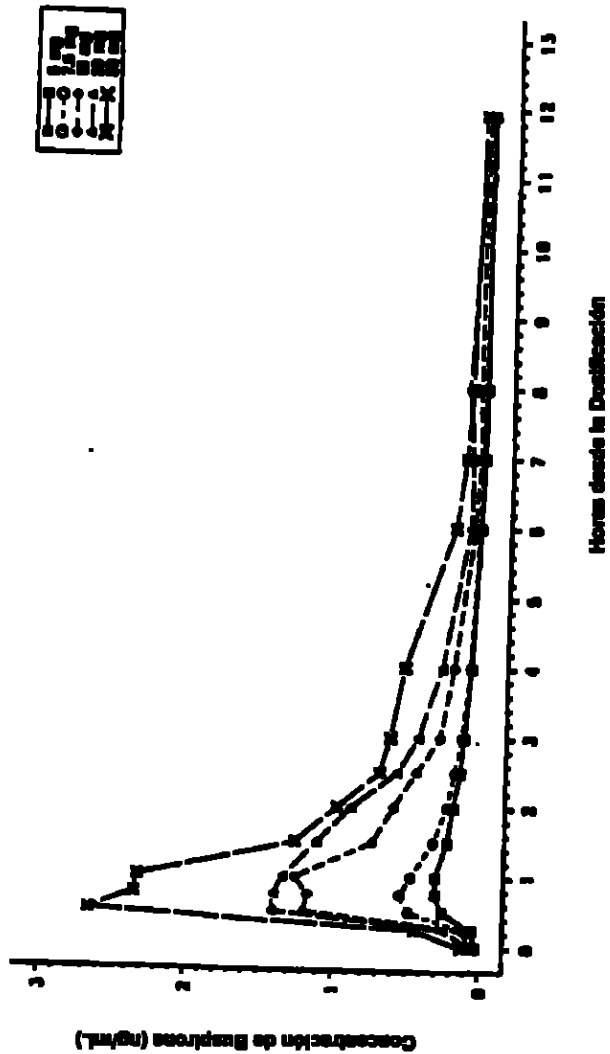
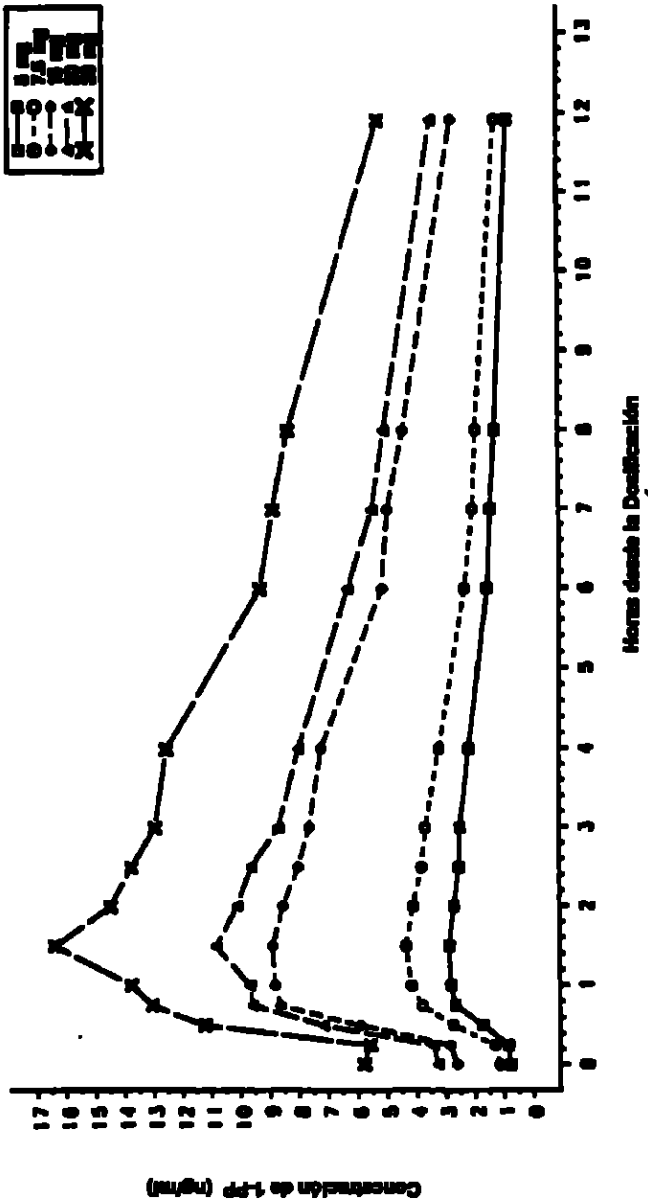


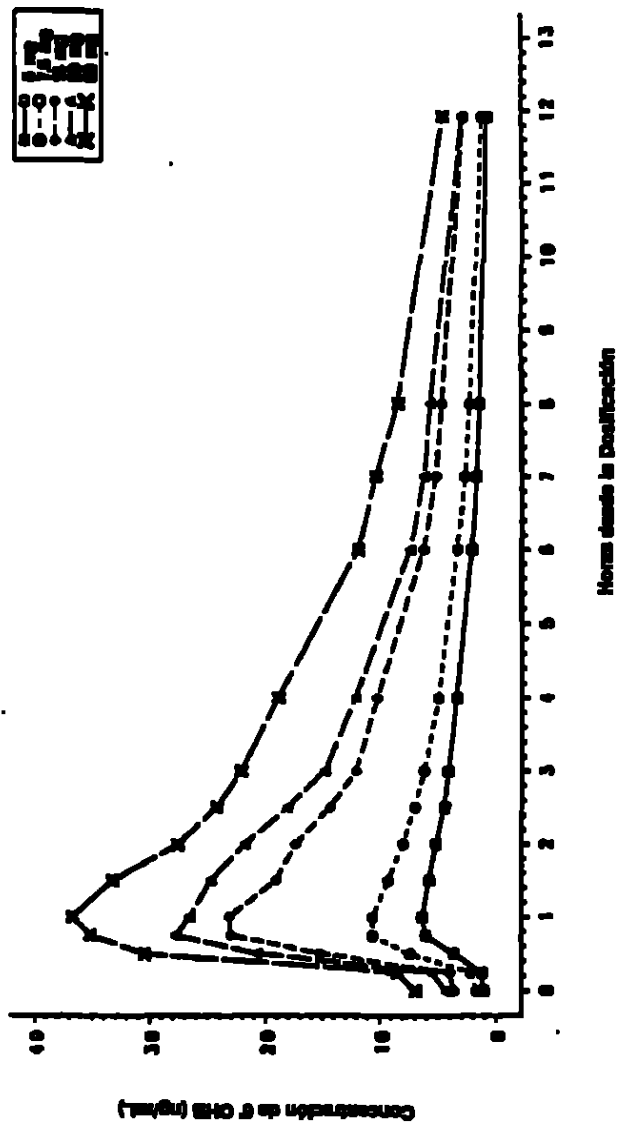
Figura 4 CONCENTRACIONES DE 1-PP A NIVEL SANGUÍNEO HUMANO AL FINALIZAR LOS INTERVALOS DE DOSIFICACIÓN DE BUSPIRONA DE 6 DÍAS, EN UN RÉGIMEN DE PROPUESTAS



53

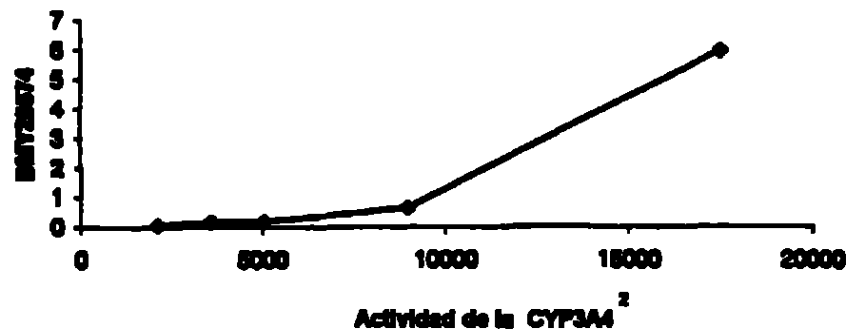
54

FIGURA 6 CONCENTRACIONES DE BMY 28074 A NIVEL SANGUÍNEO HUMANO AL FINALIZAR LOS INTERVALOS DE DOSIFICACIÓN DE BUSIFRONA DE 6 DÍAS, EN UN RÉGIMEN DE DOSIFICACIÓN DE PROPUESTAS



55
59

FIGURA 6
Estudio del Metabolismo in Vitro:
Metabolismo por HLM, de Buspirona en BMY28574¹



¹ media de dos determinaciones

² pmoles de 6-beta-OH-testosterona/minutal/mg de proteína microsomal

61
53

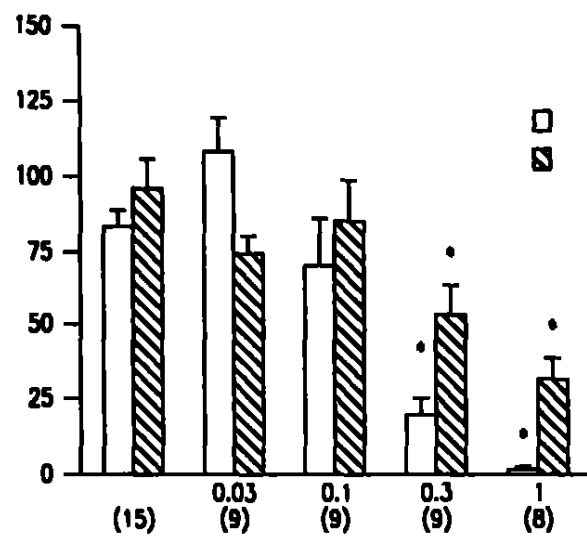


FIG. 1

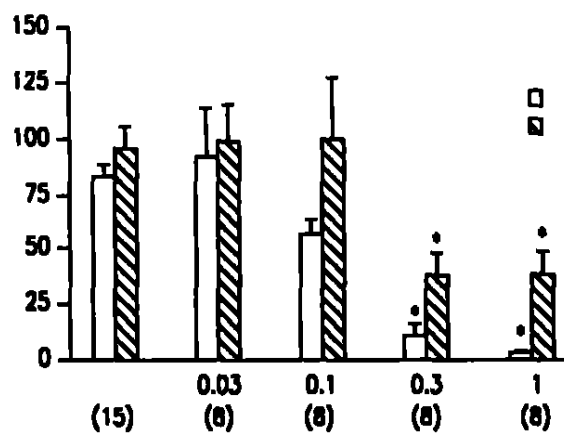


FIG. 2

162

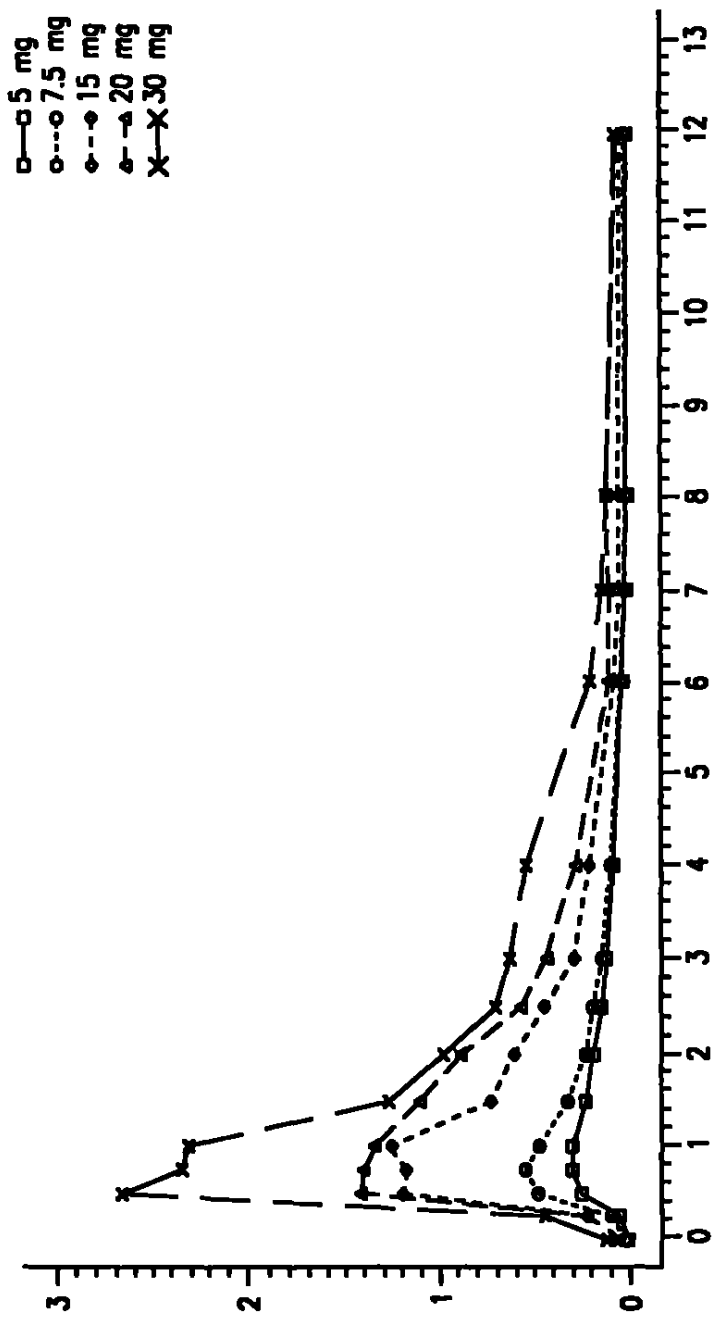


FIG. 3

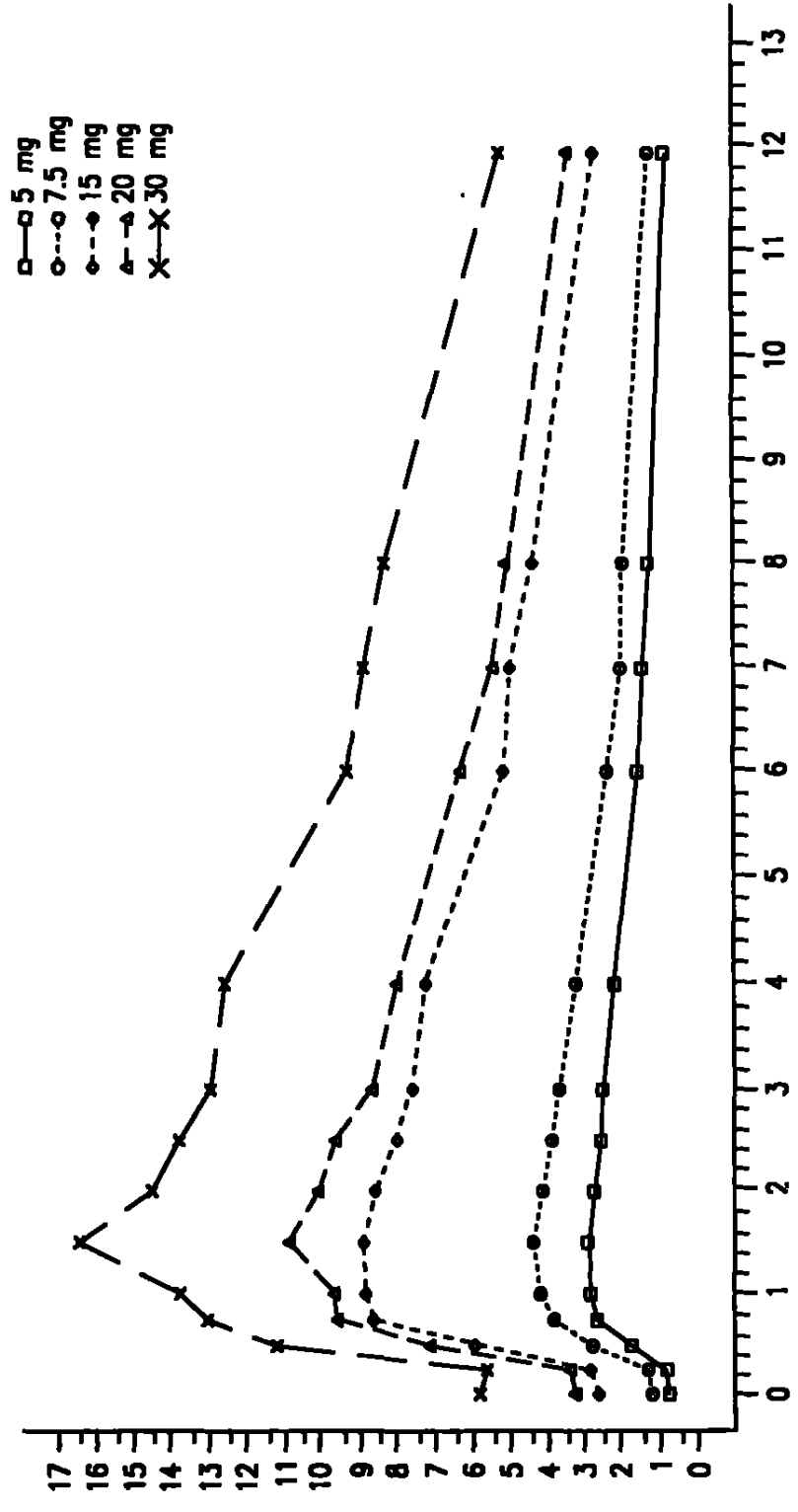


FIG. 4

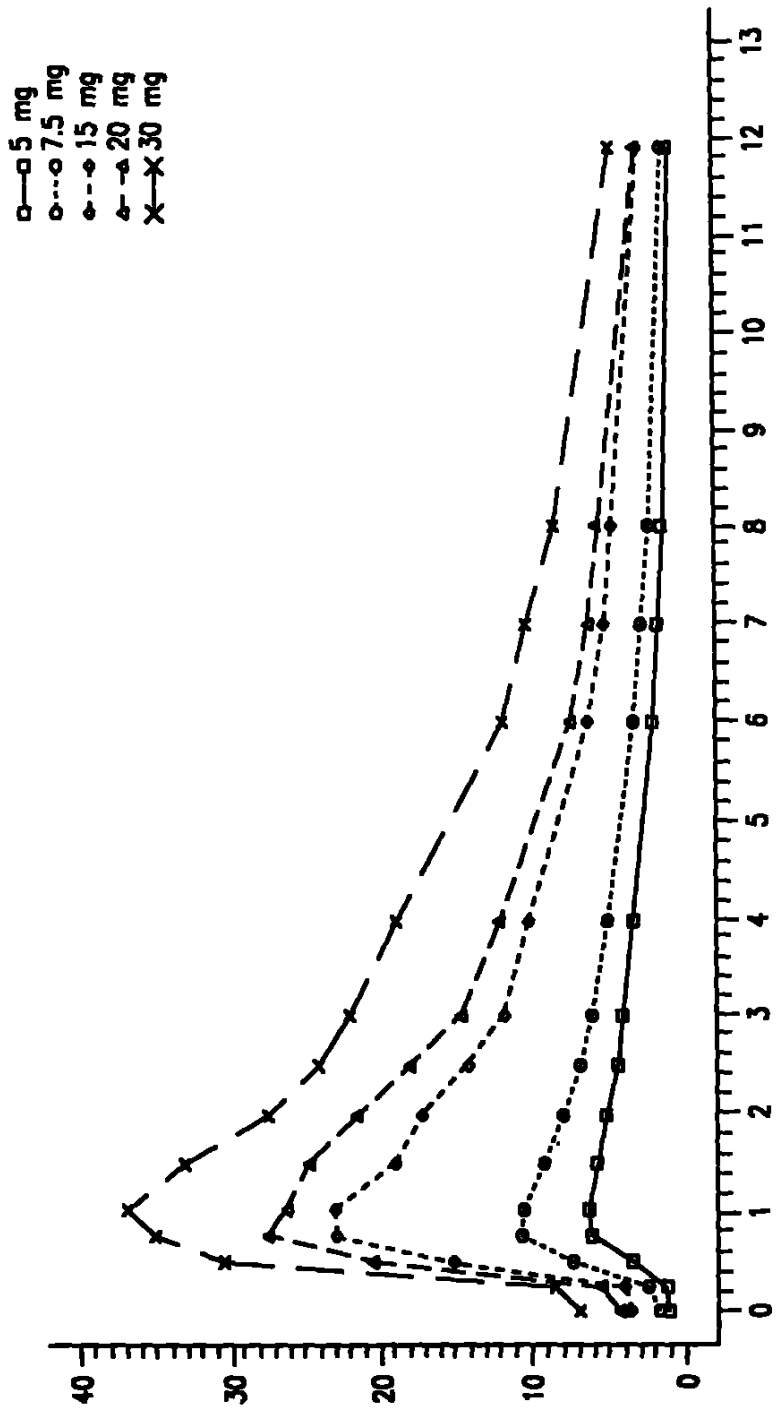


FIG. 5

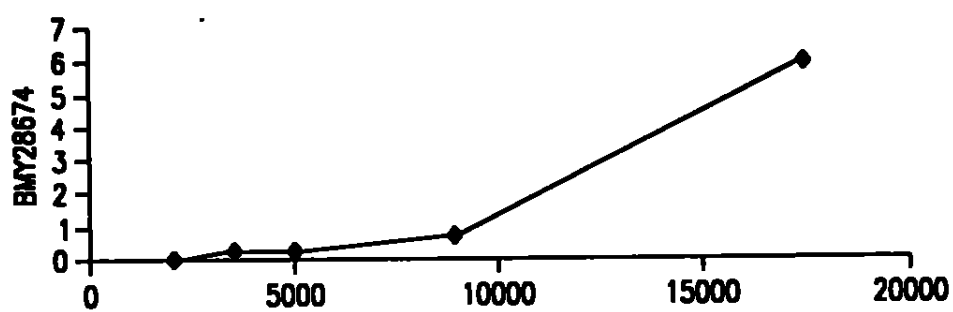


FIG. 6

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- Descripción de la invención ☒
- Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

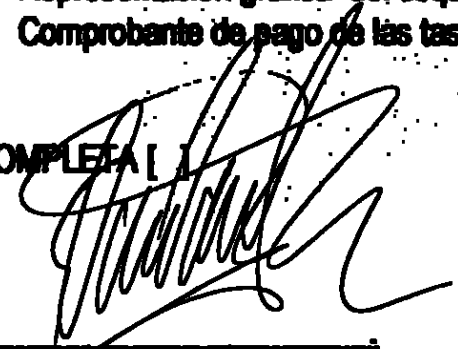
INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica del esquema de trazado ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha

EXTRACTO

61 67

AS: 83.458



REPUBLICA DE COLOMBIA

SIC SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA
Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**SOLICITUD DE
PATENTE DE
INVENCION**

8001-3177 17-01-2001

← DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

BRISTOL - MYERS SQUIBB COMPANY

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Estados Unidos de América

Departamento o Estado

New Jersey

Ciudad

Princeton

Dirección

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

RAMIRO CASTRO DUQUE

Dirección

Cra 7 No. 16-56 Piso 9**DATOS DEL INVENTOR**

(72) Nombre del Inventor (es)

Robert F. Mayo

Dirección y Domicilio

Durham, Connecticut, Estados Unidos de América

Identificación

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención

METODO PARA ALIVIAAR LA ANSIEDADPRIORIDAD REIVINDICADA
BAJO EL CONVENIO DE PARISSI ☒NO ☐

(33) País

US

(32) Fecha

00-01-18

(31) No. Solicitud

09/484,161US00-06-0609/588,221

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/438, 31/496, 31/50

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para aliviar un estado de ansiedad, indeseable, en un mamífero, caracterizado porque comprende la administración sistémica al mamífero, de una dosis ansiolítica, efectiva pero no tóxica, de 6-hidroxi-8-[4-[4-(2-pirimidinil)-piperazinil]-butil]-8-azaspiro[4.5]-7,9-diona o una sal de adición de ácido o hidrato, farmacéuticamente aceptable, de la misma.

15

20

25



63 64

Industria y Comercio

INFORME DE PROTOCOLO SUPERINTENDENCIA

Expediente 01-3177.

Fecha: 27 de Marzo del 2001.

Se certifica que:

Desde fecha 7 de mayo de 1999,
del folio 106.177 al folio 106.186 del libro
de Protocolo N° 370, obra el poder N° 19358
conferido por BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

domiciliado(a) en Princeton, New Jersey,
E.U.A.

al doctor Ramiro Castro Duque y/o Hector
Gómez Mejía

Facultad para desistir y sustituir si.

Revisado _____.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10

Conmutador: 382 0840

Fax: 382 2695

E-mail: Info@slc.gov.co

Bogotá, D.C., Colombia

64 70

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2020
Bogotá, D.C.

Doctor
RAMIRO CASTRO DUQUE
Apoderado

REFERENCIA:	Radicación No.	01-3177
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0953
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 26-k, Dec 486/2000).

- El interesado debe informar la dirección del solicitante, debido a que en la solicitud no aparece la misma. (Art. 27-b, D 486/00).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 29 MAR. 2001.

Se recuerda al interesado que debe presentar, dentro de los dieciséis meses siguientes contados a partir de la fecha de presentación de las solicitudes cuya prioridad se invoca, copia de las mismas certificadas por la autoridad que las expidió, un certificado de la fecha de presentación y, en los casos en que haya lugar, la traducción simple del capítulo reivindicatorio. El incumplimiento de este plazo, acarreará la pérdida de la prioridad invocada.

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: Info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia