

Industria y

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-003305- -00000-0000

Fecha: 2013-01-09 15:20:12
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 96

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: FORMA CRISTALINA DE UN COMPUESTO
3-FENOXIMETILPIRROLIDINA

51. CLASIFICACION INTRNACIONAL C07D 207/08

71. SOLICITANTE: THERAVANCE, INC.

DOMICILIO: California, Estados Unidos de América

74. APODERADO DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C.,

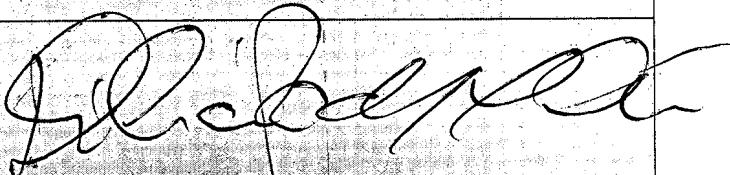


No. 13-003305- -00000-0000

Fecha: 2013-01-09 15:20:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 96

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/ US2011/042518	Fecha 30 de Junio de 2011
Publicación Internacional No.		WO 2012/006205 A1	Fecha 12 de Enero de 2012
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
FORMA CRISTALINA DE UN COMPUESTO 3-FENOXIMETILPIRROLIDINA			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP) C07D 207/08		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
THERAVANCE, INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN: 901 Gateway Boulevard South San Francisco, CORREO ELECTRONICO:			
CIUDAD: California 94080, LUGAR DE CONSTITUCIÓN: Estados Unidos de			
PAÍS DE RESIDENCIA: Estados Unidos de América América			
7	INVENTOR (ES)		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. SAITO,		Daisuke Roland	Estadounidense
2. RAPTA,		Miroslav	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
DIRECCIÓN		CIUDAD	ESTADO
1. 1600 E. 3rd Avenue #2803,		San Mateo,	California 94401,
2. 411 E. Duane Avenue,		Sunnyvale,	California 94085,
			PAÍS RESIDENCIA
			Estados Unidos de América
			Estados Unidos de América
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
RODRIGUEZ D'ALEMAN		DILIA MARIA	C.C.41.654.882 T.P.20824 CSJ
DIRECCIÓN	Cra. 11 No. 86 – 53, Piso 6	No. TELÉFONO	6181088
CIUDAD	Bogotá, D.C.	CORREO ELECTRÓNICO	notificaciones@clarkemodet.com.co.
PAÍS	Colombia		
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA AAA/MM/DD
Estados Unidos de América	US	61/362.773	2010/07/09

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	Nº 13-001192 13-000330	Fecha 08/01/2013 03/01/2013
16	FIRMA DEL APODERADO :		
 DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN C.C. 41.654.882 T.P. 20824 CSJ			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción Nº de folios: 75		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones Nº Reivindicaciones: 19		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras Nº folios: 5		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

FORMA CRISTALINA DE UN COMPUESTO 3-FENOXIMETILPIRROLIDINA

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una forma cristalina novedosa de un compuesto 3-fenoximetilpirrolidina, que tiene actividad como inhibidor de la recaptación de la serotonina (5-HT) y la norepinefrina (NE). Esta invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto cristalino o preparadas a partir de dicho compuesto, a procesos e intermediarios para preparar el compuesto cristalino, y a métodos para usar dicho compuesto para tratar un trastorno de dolor, tal como dolor neuropático, y otras dolencias.

ESTADO DEL ARTE

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con un daño real o potencial a los tejidos, o descrito en términos de dicho daño (de acuerdo con la terminología del dolor de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor [IASP, del inglés *International Association for the Study of Pain*]). El dolor crónico persiste más allá del dolor agudo o más allá del tiempo esperado para que una herida se cure (American Pain Society. "Pain Control in the Primary Care Setting." 2006:15). El dolor neuropático es un dolor iniciado o causado por una lesión o disfunción primaria en el sistema nervioso. El dolor neuropático periférico ocurre cuando la lesión o disfunción afecta el sistema nervioso periférico; el dolor neuropático central, cuando la lesión o disfunción afecta el sistema

000002

nervioso central (IASP).

Varios tipos de agentes terapéuticos se usan en la actualidad para tratar el dolor neuropático con inclusión de, por ejemplo: antidepresivos tricíclicos (TCA, del inglés *Tricyclic Antidepressants*), inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina, ligandos de los canales de calcio (por ej., gabapentina y pregabalina), lidocaína tópica, y agonistas opioides (por ej., morfina, oxicodona, metadona, levorfanol y tramadol).

La (S)-3-[(S)-1-(4-Clorofenoxy)-2-metilpropilpirrolidina, descrita en la Solicitud de Patente Estadounidense No. 12/834.128 cedida al mismo solicitante, presentada el 12 de julio de 2010 a nombre de Stangeland y colaboradores, inhibe la recaptación tanto de la serotonina como de la norepinefrina al unirse a los transportadores de serotonina y norepinefrina. Cuando se preparan compuestos para almacenamiento a largo plazo, y cuando se preparan composiciones y formulaciones farmacéuticas, con frecuencia es deseable tener una forma cristalina del agente terapéutico que no sea higroscópica ni delicuescente. También es ventajoso tener una forma cristalina que tenga un punto de fusión relativamente alto (es decir, aproximadamente 128 °C), lo que permite que el material sea procesado -por ejemplo, micronizado- sin descomposición significativa. Por consiguiente, existe la necesidad de obtener una forma estable, no delicuescente de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxy)-2-metilpropilpirrolidina que tenga un nivel aceptable de higroscopicidad y un punto de fusión relativamente alto.

000003

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. En una forma de realización, la invención se refiere a una sal cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina y ácido clorhídrico en una relación molar 1:1.

Un aspecto de la invención se refiere a procesos para preparar una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. En una forma de realización, un proceso para preparar una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina comprende los siguientes pasos: (a) tratar una sal clorhidrato de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina con un solvente polar para formar una primera composición o desproteger t-butil éster del ácido (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico con ácido clorhídrico en un diluyente inerte para formar una primera composición; y (b) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición a partir de la cual se forma la sal clorhidrato cristalina de la invención. En una forma de realización particular, el paso (b) comprende: (i) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición; (ii) enfriar opcionalmente para efectuar la cristalización; y (iii) aislar los sólidos resultantes para obtener la sal clorhidrato cristalina de la invención.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para purificar (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-

000004

metilpropilpirrolidina. En una forma de realización, este proceso comprende formar una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. La invención también se refiere a productos preparados mediante los procesos descritos en la presente.

Un aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. Dichas

composiciones pueden contener, opcionalmente, otros agentes activos tales como agentes anti-Alzheimer, anticonvulsivos, antidepresivos, agentes anti-Parkinson, inhibidores de la recaptación de serotonina-norepinefrina duales, agentes antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la recaptación de la norepinefrina, agonistas opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de los mismos. Por consiguiente, en otro aspecto más de la invención, una composición farmacéutica comprende la sal cristalina de la invención, un segundo agente activo, y un portador farmacéuticamente aceptable. Otro aspecto de la invención se refiere a una combinación de agentes activos, que comprende la sal cristalina de la invención y un segundo agente activo. La sal cristalina de la invención se puede formular junto con el(los) agente(s) adicional(es), o por separado. Cuando se formula por separado, se puede incluir un portador farmacéuticamente aceptable con el(los) agente(s)

000005

adicional(es). Por ende, otro aspecto más de la invención se refiere a una combinación de composiciones farmacéuticas, en donde la combinación comprende: una primera composición farmacéutica que comprende la sal cristalina de la invención y un primer portador farmacéuticamente aceptable; y una segunda composición farmacéutica que comprende un segundo agente activo y un segundo portador farmacéuticamente aceptable. La invención también se refiere a un kit que contiene dichas composiciones farmacéuticas; por ejemplo, donde la primera y la segunda composiciones farmacéuticas son composiciones farmacéuticas separadas.

La (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina posee actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina y actividad inhibitoria de la recaptación de la norepinefrina. Se espera que la sal clorhidrato cristalina de este compuesto tenga la misma actividad y, por ende, la misma utilidad como agente terapéutico para tratar pacientes que padecen una enfermedad o un trastorno que se trata mediante la inhibición del transportador de serotonina y/o norepinefrina. Por lo tanto, un aspecto de la invención se refiere a un método para tratar: un trastorno de dolor tal como dolor neuropático o fibromialgia; un trastorno depresivo tal como depresión mayor; un trastorno afectivo tal como un trastorno de ansiedad; trastorno de déficit de atención con hiperactividad; un trastorno cognitivo tal como demencia; incontinencia urinaria por estrés; síndrome de fatiga crónica; obesidad; o síntomas vasomotores asociados con la menopausia, que comprende administrar a un paciente una

000006 0

cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención.

Otro aspecto más de la invención se refiere al uso del compuesto cristalino de la invención para la fabricación de medicamentos; en especial, para la fabricación de medicamentos útiles para tratar trastornos de dolor, trastornos depresivos, trastornos afectivos, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, trastornos cognitivos, incontinencia urinaria por estrés, para inhibir la recaptación de la serotonina en un mamífero, o para inhibir la recaptación de la norepinefrina en un mamífero. Otros aspectos y formas de realización de la invención se revelan en la presente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Varios aspectos de la presente invención se ilustran por referencia a los dibujos adjuntos.

La Figura 1 ilustra un patrón de difracción de rayos X en polvos (PXRD, del inglés *Powder X-Ray Diffraction*) de la sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. La Figura 2 ilustra un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC, del inglés *Differential Scanning Calorimetry*). La Figura 3 ilustra el trazo del análisis termogravimétrico (TGA, del inglés *Thermal Gravimetric Analysis*). La Figura 4 ilustra el perfil de sorción de humedad dinámica (DMS, del inglés *Dynamic Moisture Sorption*). La Figura 5 es una imagen micrográfica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Esta invención provee una sal clorhidrato cristalina de

000007

(S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. En forma sorprendente, se ha encontrado que este compuesto cristalino no es delicuescente, aún cuando se expone a humedad atmosférica. Asimismo, este compuesto cristalino tiene un nivel aceptable de higroscopicidad y un punto de fusión alto.

DEFINICIONES

Cuando se describen los compuestos, las composiciones, los métodos y los procesos de la invención, los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario. Asimismo, tal como se usan en la presente, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen las correspondientes formas en plural, a menos que el contexto de uso claramente dicte lo contrario. Los términos "comprender", "incluir" y "tener" están destinados a ser inclusivos y hacen referencia a que pueden existir elementos adicionales distintos a los elementos listados. Ha de entenderse que todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de reacción y otros, usados en la presente, están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente", a menos que se indique lo contrario. Por consiguiente, los números establecidos en la presente son aproximaciones que pueden variar según las propiedades deseadas que se buscan obtener mediante la presente invención. Al menos -y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de los equivalentes al alcance de las reivindicaciones- cada número debería al menos ser

000008

considerado a la luz de los dígitos significativos informados y aplicando técnicas comunes de redondeo.

Tal como se usa en la presente, la frase "de la fórmula", "que tiene la fórmula", o "que tiene la estructura", no está destinada a ser limitativa y se usa de la manera en que el término "comprender" es comúnmente usado.

El término "punto de fusión", tal como se usa en la presente, hace referencia a la temperatura a la cual se observa el flujo de calor endotérmico máximo mediante calorimetría diferencial de barrido, para la transición térmica que corresponde al cambio de fase sólida a líquida.

El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material que no es inaceptable a nivel biológico o de alguna otra manera inaceptable cuando se usa en la invención. Por ejemplo, el término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material que puede ser incorporado en una composición y administrado a un paciente sin causar efectos biológicos inaceptables o interactuar de manera inaceptable con otros componentes de la composición. Dichos materiales farmacéuticamente aceptables típicamente han cumplido con las normas de evaluación de toxicología y fabricación requeridas, e incluyen aquellos materiales identificados como ingredientes inactivos adecuados por la U.S. Food and Drug Administration.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" hace referencia a una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un paciente que lo necesita; es decir, la cantidad de droga necesaria para

000009

obtener el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar dolor neuropático es una cantidad de compuesto necesaria para, por ejemplo, reducir, suprimir, eliminar o prevenir los síntomas del dolor neuropático o para tratar la causa subyacente del dolor neuropático. Por otro lado, el término "cantidad efectiva" hace referencia a una cantidad suficiente para obtener un resultado deseado, que puede no necesariamente ser un resultado terapéutico. Por ejemplo, cuando se estudia un sistema que comprende un transportador de la norepinefrina, una "cantidad efectiva" puede ser la cantidad necesaria para inhibir la recaptación de la norepinefrina.

El término "tratar" o "tratamiento", tal como se usa en la presente, hace referencia a tratar o brindar tratamiento para una enfermedad o condición médica (tal como dolor neuropático) en un paciente, tal como un mamífero (particularmente un humano), que incluye una o más de las siguientes acciones: a) evitar que ocurra la enfermedad o condición médica; es decir, tratamiento profiláctico de un paciente; (b) mejorar la enfermedad o condición médica; es decir, eliminar o causar la regresión de la enfermedad o condición médica en un paciente; (c) suprimir la enfermedad o condición médica; es decir, ralentizar o contrarrestar el desarrollo de la enfermedad o condición médica en un paciente; o (d) aliviar los síntomas de la enfermedad o condición médica en un paciente. Por ejemplo, el término "tratar dolor neuropático" incluiría evitar que el dolor neuropático ocurra, mejorar el dolor neuropático, suprimir el

000010

dolor neuropático, y aliviar los síntomas de dolor neuropático. El término "paciente" está destinado a incluir aquellos mamíferos, tales como humanos, que necesitan de tratamiento o prevención de la enfermedad, que en el presente están siendo tratados para la prevención de la enfermedad o tratamiento de una enfermedad o condición médica específicas, así como también examinar a los sujetos en los cuales los compuestos de la invención están siendo evaluados o están siendo usados en un ensayo, por ejemplo un modelo animal.

Todos los otros términos usados en la presente están destinados a tener su significado común como lo entienden las personas con experiencia en el arte al cual pertenecen.

El compuesto cristalino de la invención se puede sintetizar a partir de materiales de inicio fácilmente disponibles según se describen a continuación y en los Ejemplos. Ha de advertirse que, cuando se brindan condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, solventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones de proceso, a menos que se establezca lo contrario. Ha de advertirse que, si bien se brindan condiciones de proceso específicas (es decir temperaturas de cristalización, tiempos, relaciones molares de los reactivos, solventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones de proceso, a menos que se indique lo contrario. En algunos casos, las reacciones o cristalizaciones se realizaron a temperatura ambiente y no se tomó ninguna medición de la temperatura real. Ha de entenderse que la

000011

temperatura ambiente puede representar una temperatura dentro del rango comúnmente asociado con la temperatura ambiente en un contexto de laboratorio, y típicamente se encontrará en el rango de aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 50 °C. En otros casos, las reacciones o cristalizaciones se realizan a temperatura ambiente, y la temperatura efectivamente se midió y registró.

Por lo general, la cristalización se realiza en un solvente adecuado. Al completar la cristalización, el compuesto cristalino se puede aislar de la mezcla de reacción a través de medios convencionales, tales como precipitación, concentración, centrifugación, y similares. Las relaciones molares descritas en los métodos de la invención se pueden determinar fácilmente mediante varios métodos disponibles para las personas versadas en el arte. Por ejemplo, dichas relaciones molares se pueden determinar fácilmente mediante ^1H RMN. En forma alternativa, el análisis elemental y los métodos de HPLC se pueden usar para determinar la relación molar.

El material de inicio se puede preparar fácilmente a partir de materiales de inicio y reactivos disponibles a nivel comercial usando procedimientos que son ampliamente conocidos en el arte, cuyos ejemplos se proveen en los Ejemplos en la presente. En una forma de realización, el material de inicio es una sal clorhidrato de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina, que se prepara mediante una reacción de sustitución nucleófila aromática ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$), seguido de desprotección con ácido clorhídrico. Por

ejemplo, la sal clorhidrato se puede preparar al disolver *t*-butil éster del ácido (*S*)-3-((*S*)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (1,0 eq.) y 1-cloro-4-fluorobenceno (3,0 eq.) en un solvente adecuado, seguido de la adición de hidruro de sodio (NaH, 1,5 eq.). Esto forma un intermediario protegido con BOC que luego puede ser desprotegido con HCl 1,20 M en EtOH, para formar la sal clorhidrato deseada. En otra forma de realización, el material de inicio es *t*-butil éster del ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico, que se prepara mediante una reacción de copulación de Mitsunobu. Por ejemplo, el éster se puede preparar al disolver *t*-butil éster del ácido (*S*)-3-((*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (1,0 eq.), *p*-clorofenol (2,0 eq.), y un catalizador de fosfina tal como trifenilfosfina (1,1 eq.) en un solvente adecuado, seguido de la adición de un azodicarboxilato tal como diisopropil azodicarboxilato o dietil azodicarboxilato.

En una forma de realización, la sal clorhidrato cristalina de la invención se puede preparar al a) tratar una sal clorhidrato de (*S*)-3-[(*S*)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina con un solvente polar para completar la disolución y formar una primera composición, y b) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición a partir de la cual se forma la sal clorhidrato cristalina. El solvente polar es típicamente un solvente prótico tal como metanol, etanol, propanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, etilenglicol, agua, ácido acético, ácido fórmico, y

000013

similares. En una forma de realización particular, el solvente polar es isopropanol. Por lo general, la disolución se realiza a una temperatura elevada que oscila entre 30 °C y 70 °C; por ejemplo, a una temperatura que oscila entre aproximadamente 50 °C y 60 °C. En una forma de realización, la solución se calienta a una temperatura de aproximadamente 55 °C.

En otra forma de realización, la sal clorhidrato cristalina de la invención se puede preparar al a) desproteger *t*-butil éster del ácido (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico con ácido clorhídrico en un diluyente inerte para completar la disolución y formar una primera composición, y b) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición a partir de la cual se forma la sal clorhidrato cristalina. En una forma de realización, la desprotección se realiza con HCl 3 M y el diluyente inerte es ciclopentil metil éter. Por lo general, la disolución se realiza a temperatura ambiente.

Los solventes no polares adecuados para uso en el paso (b) del proceso de la invención incluyen, a modo de ilustración mas no de limitación: pentano, ciclopentano, hexano, ciclohexano, benceno, tolueno, 1,4-dioxano, cloroformo, tetracloruro de carbono, dietil éter, diisopropil éter y dibutil éter, y similares. En una forma de realización, el solvente no polar es diisopropil éter. La solución se enfría entonces opcionalmente para formar el compuesto cristalino de la invención. En una forma de realización particular, la solución se enfría hasta

000014

aproximadamente 15-30 °C y, en otra forma de realización, a una temperatura aproximada a la temperatura ambiente. Después de un lapso adecuado de tiempo, se observarán los cristales. En una forma de realización, los cristales se observan después de un período de varias horas y, en una forma de realización, después de un período de aproximadamente 1-3 horas. Una vez que se observan los cristales, es posible reducir el volumen del licor madre, así como aislar y secar los cristales, por ejemplo, aislarlos mediante filtración y secarlos bajo vacío. En una forma de realización, una vez que se observan los cristales, los cristales se dejan desarrollar durante un período de aproximadamente 0,5-3 horas antes del aislamiento.

En otra forma de realización, durante el paso de enfriamiento, la solución se siembra con cristales de sal clorhidrato previamente formados. Dichos cristales semilla se pueden producir al calentar la sal clorhidrato en un solvente polar, luego enfriar la solución en presencia de un solvente no polar, tal como se describió con anterioridad.

PROPIEDADES CRISTALINAS

Entre otras ventajas, se ha descubierto que la formación de una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina es útil para purificar el compuesto en sí mismo. Por ejemplo, la sal clorhidrato cristalina de la invención tiene una pureza de aproximadamente 99%.

Tal como es ampliamente conocido en el campo de la difracción de rayos X en polvos, las alturas de los picos

000015

relativas de los espectros de la PXRD dependen de un número de factores que se relacionan con la preparación de las muestras y la geometría de los instrumentos, mientras que las posiciones de los picos son relativamente insensibles a los detalles experimentales. Un patrón de PXRD se obtuvo tal como se establece en el Ejemplo 2. Por lo tanto, en una forma de realización, el compuesto cristalino de la invención se caracteriza por un patrón de PXRD que tiene ciertas posiciones de los picos.

El compuesto cristalino se caracteriza por un patrón de PXRD en el cual las posiciones de los picos concuerdan sustancialmente con las ilustradas en la Figura 1. Esos picos se listan a continuación, en el orden de intensidad relativa descendiente. Todas las intensidades de los picos de PXRD se corrigieron al sustraer la correspondiente intensidad de fondo para cada pico.

I%	2- Theta	I%	2- Theta
100	20,36	9	19,08
43	25,46	8	24,77
29	21,50	5	14,42
15	26,42	5	16,74
14	30,65	2	5,20
13	15,26	2	8,78
9	28,91		

Por ende, en una forma de realización, el compuesto cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de

000016

rayos X en polvos (PXRD) que comprende picos de difracción a valores 2θ de $8,78 \pm 0,20$; $15,26 \pm 0,20$; $19,08 \pm 0,20$; $20,36 \pm 0,20$; $21,50 \pm 0,20$ y $25,46 \pm 0,20$; y además se caracteriza por tener uno o más picos de difracción adicionales a valores 2θ seleccionados entre $26,42 \pm 0,20$; $30,65 \pm 0,20$; $28,91 \pm 0,20$; $24,77 \pm 0,20$; $14,42 \pm 0,20$; $16,74 \pm 0,20$ y $5,20 \pm 0,20$.

Una traza de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se obtuvo tal como se establece en el Ejemplo 3. Por ende, en una forma de realización, el compuesto cristalino se caracteriza por su termograma de DSC. En una forma de realización, el compuesto cristalino se caracteriza por un termograma de DSC que muestra un punto de fusión de aproximadamente $128\text{ }^{\circ}\text{C}$, sin una descomposición térmica significativa debajo de aproximadamente $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal como se observa en la Figura 2.

El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó sobre el compuesto cristalino según se describe en el Ejemplo 3. De esta manera, en una forma de realización, el compuesto cristalino se caracteriza por su traza de TGA. En una forma de realización, el compuesto cristalino se caracteriza por una traza de TGA que no muestra ninguna cantidad significativa de pérdida de peso (que es consistente con la pérdida de humedad residual o solvente) a temperaturas inferiores a aproximadamente $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal como se observa en la Figura 3.

Se ha demostrado que el compuesto cristalino de la invención tiene un perfil de sorción/desorción reversible con niveles aceptables de higroscopicidad. Por ejemplo, el ...

000017

compuesto cristalino tiene higroscopicidad insignificante, y ha exhibido menos de aproximadamente 1,0% de ganancia de peso cuando se expuso a un valor de hasta 85% de humedad relativa, tal como se observa en la Figura 4.

Estas propiedades del compuesto cristalino de la invención se ilustran en mayor detalle en los Ejemplos que siguen.

UTILIDAD

La (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina posee actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina y la norepinefrina. Por esta razón, se espera que este compuesto, así como también el compuesto cristalino de la invención, tenga utilidad terapéutica como inhibidor de la recaptación de la serotonina y la norepinefrina (SNRI, del inglés *Serotonin And Norepinephrine Reuptake Inhibitor*) en forma combinada.

La constante de inhibición (K_i) de un compuesto es la concentración de ligando en un ensayo de inhibición de unión de radioligandos que ocuparía el 50% de los transportadores, si ningún radioligando estuviera presente. Los valores K_i se pueden determinar a partir de estudios de unión de radioligandos con ^3H -nisoxetina (para el transportador de la norepinefrina, NET) y ^3H -citalopram (para el transportador de la serotonina, SERT), según se describe en el Ensayo 1. Estos valores K_i derivan de valores IC_{50} en el ensayo de unión usando la ecuación de Cheng-Prusoff y K_d del radioligando (Cheng & Prusoff (1973) *Biochem. Pharmacol.* 22(23):3099-3108). Los valores IC_{50} funcionales se pueden determinar en

000018

los ensayos de inhibición de la recaptación funcionales descritos en el Ensayo 2. Estos valores IC_{50} se pueden convertir en valores K_i usando la ecuación de Cheng-Prusoff y K_m del transmisor para el transportador. Se advierte, no obstante, que las condiciones de los ensayos de recaptación descritos en el Ensayo 2 son tales que los valores IC_{50} están muy próximos a los valores K_i -si se deseara una conversación matemática- ya que la concentración de neurotransmisor (5-HT, NE, o DA) usada en el ensayo está bien por debajo de su K_m para el respectivo transportador.

Los ensayos de ejemplo para determinar la actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina y/o la norepinefrina de los compuestos de la invención incluyen, a modo de ilustración mas no de limitación, ensayos que miden la unión de SERT y NET, por ejemplo, según se describe en el Ensayo 1 y en Tsuruda y colaboradores (2010) *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 61(2):192-204. Asimismo, es útil entender el nivel de unión y recaptación de DAT en un ensayo tal como el descrito en el Ensayo 1. Los ensayos secundarios útiles incluyen ensayos de recaptación de neurotransmisores para medir la inhibición de la recaptación de la serotonina y la norepinefrina en células que expresan el respectivo transportador recombinante de humano o rata (hSERT, hNET, o hDAT) según se describe en el Ensayo 2, y los ensayos de recaptación de neurotransmisores y unión de radioligandos ex vivo que se usan para determinar la ocupación in vivo de SERT, NET y DAT en el tejido, tal como se describe en el Ensayo 3. Otros ensayos que son útiles para

000019

evaluar las propiedades farmacológicas de los compuestos de evaluación incluyen los listados en el Ensayo 4. Los ensayos *in vivo* de ejemplo incluyen la prueba de inyección intraplantar de formol descrita en el Ensayo 5, que es un indicador confiable de la eficacia clínica para el tratamiento de dolor neuropático, y el modelo de ligadura de los nervios espinales descrito en el Ensayo 6. Los ensayos mencionados con anterioridad sirven para determinar la utilidad terapéutica -por ejemplo, la actividad de alivio del dolor neuropático- de los compuestos de la invención. Otras propiedades y utilidades de los compuestos de la invención se pueden demostrar usando varios ensayos *in vitro* e *in vivo* ampliamente conocidos para las personas versadas en el arte.

Se espera que el compuesto cristalino de la invención sea útil para el tratamiento y/o la prevención de condiciones médicas en las cuales participa la regulación de la función de los transportadores de monoaminas; en particular, aquellas condiciones mediadas por, o que responden a, la inhibición de la recaptación de la serotonina y la norepinefrina. Por ende, se espera que los pacientes que padecen una enfermedad o un trastorno que se trata mediante la inhibición del transportador de la serotonina y/o la norepinefrina se puedan tratar por medio de la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Dichas condiciones médicas incluyen, a modo de ejemplo, trastornos de dolor tales como dolor neuropático, fibromialgia y dolor crónico, trastornos depresivos tales como depresión mayor, trastornos afectivos tales como un

000020

trastorno de ansiedad, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, trastornos cognitivos tales como demencia, e incontinencia urinaria por estrés.

La cantidad de agente activo administrada por dosis, o la cantidad total administrada por día puede ser predeterminada o puede ser determinada basándose en un paciente individual teniendo en consideración numerosos factores, con inclusión de la naturaleza y severidad de la condición del paciente, la condición que se trata, la edad, el peso, y la salud general del paciente, la tolerancia del paciente al agente activo, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas tales como la actividad, la eficacia, la farmacocinética y los perfiles toxicológicos del agente activo y cualesquiera agentes secundarios que se están administrando, y similares. El tratamiento de un paciente que padece una enfermedad o condición médica (tal como dolor neuropático) puede comenzar con un régimen de dosificación predeterminado o un régimen de dosificación determinado por el médico a cargo, y continuará durante un período de tiempo necesario para prevenir, mejorar, suprimir o aliviar los síntomas de la enfermedad o condición médica. Los pacientes que se someten a dicho tratamiento típicamente serán monitoreados de manera rutinaria para determinar la efectividad de la terapia. Por ejemplo, al tratar el dolor neuropático, una medida de la efectividad del tratamiento puede implicar la evaluación de la calidad de vida del paciente; por ej., mejoras en los patrones del sueño del paciente, asistencia al trabajo, habilidad para hacer

000021

ejercicio y desplazarse en forma ambulatoria, etc. Las escalas del dolor, que operan sobre una base puntual, también se pueden usar para ayudar a evaluar el nivel de dolor de un paciente. Los indicadores de otras enfermedades y condiciones descritas en la presente son ampliamente conocidos por las personas versadas en el arte, y se encuentran fácilmente disponibles para el médico a cargo. El monitoreo continuo por parte del médico asegurará que se administre la cantidad de agente activo óptima en cualquier momento determinado, como así también facilitará la determinación de la duración del tratamiento. Esto tiene particular valor cuando también se están administrando agentes secundarios, ya que su selección, dosificación y duración de terapia también pueden necesitar un ajuste. De esta manera, el régimen de tratamiento y el plan de dosificación se pueden ajustar en el transcurso de la terapia de tal manera que se administre la menor cantidad de agente activo que exhiba la efectividad deseada y, además, que la administración continúe solamente el tiempo necesario para tratar con éxito la enfermedad o condición médica.

Trastornos de dolor

Se ha demostrado que los SNRIs tienen un efecto beneficioso sobre el dolor tal como neuropatía diabética dolorosa (duloxetina, Goldstein y colaboradores (2005) *Pain* 116:109-118; venlafaxina, Rowbotham y colaboradores (2004) *Pain* 110:697-706), fibromialgia (duloxetina, Russell y colaboradores (2008) *Pain* 136(3):432-444; milnaciprán, Vitton y colaboradores (2004) *Human Psychopharmacology* 19:S27-S35), y migraña (venlafaxina, Ozyalcin y colaboradores (2005)

000022

Headache 45(2):144-152). Por ende, una forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar un trastorno de dolor, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Típicamente, la cantidad terapéuticamente efectiva es la cantidad que es suficiente para aliviar el dolor. Los trastornos de dolor de ejemplo incluyen, a modo de ilustración: dolor agudo, dolor persistente, dolor crónico, dolor inflamatorio y dolor neuropático. Más específicamente, estos incluyen dolor asociado con, o causado por: artritis; dolor de espalda, con inclusión de lumbalgia crónica; cáncer, con inclusión de dolor relacionado con tumores (por ej., dolor de huesos, dolor de cabeza, dolor facial o dolor visceral) y dolor asociado con la terapia contra el cáncer (por ej., síndrome post-quimioterapia, síndrome de dolor post-quirúrgico crónico y síndrome post-radiación); síndrome del túnel carpiano; fibromialgia; dolores de cabeza, con inclusión de dolor de cabeza por tensión crónica; inflamación asociada con polimialgia, artritis reumatoidea y osteoartritis; migraña; dolor neuropático, con inclusión de síndrome de dolor regional complejo; dolor generalizado; dolor post-operatorio; dolor de hombros; síndromes de dolores centrales, con inclusión de dolor post-infarto, y dolor asociado con lesiones del cordón espinal y esclerosis múltiple; dolor de miembro fantasma; dolor asociado con enfermedad de Parkinson; y dolor visceral (por ej., síndrome del colon irritable). Es de particular interés el tratamiento del dolor neuropático,

que incluye neuropatía diabética periférica (DPN, del inglés *Diabetic Peripheral Neuropathy*), neuropatía relacionada con VIH, neuralgia post-herpética (PHN, del inglés *Post-Herpetic Neuralgia*), y neuropatía periférica inducida por quimioterapia. Cuando se usan para tratar trastornos de dolor -tales como dolor neuropático- los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, con inclusión de anticonvulsivos, antidepresivos, relajantes musculares, agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAID, del inglés *non-Steroidal Anti-Inflammatory Agents*), agonistas opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, y simpaticolíticos. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases están descritos en la presente.

Trastornos depresivos

Otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar un trastorno depresivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Típicamente, la cantidad terapéuticamente efectiva será la cantidad que es suficiente para aliviar la depresión y proveer una sensación de bienestar general. Los trastornos depresivos de ejemplo incluyen, a modo de ilustración mas no de limitación: depresión asociada con enfermedad de Alzheimer, trastorno bipolar, cáncer, abuso infantil, infertilidad, enfermedad de Parkinson, depresión post-infarto del miocardio, y psicosis; distimia; síndrome del hombre

000024

anciano irritable o quejoso; depresión inducida; depresión mayor; depresión pediátrica; depresión post-menopáusica; depresión post-parto; depresión recurrente; depresión con episodio único; y depresión sintomática subsindromal. Es de particular interés el tratamiento de la depresión mayor. Cuando se usan para tratar trastornos depresivos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, con inclusión de antidepresivos e inhibidores de la recaptación de serotonina-norepinefrina duales. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases están descritos en la presente.

Trastornos afectivos

Otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar un trastorno afectivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Los trastornos afectivos de ejemplo incluyen, a modo de ilustración mas no de limitación: trastornos de la ansiedad tal como trastorno de la ansiedad general; trastorno de la personalidad evasiva; trastornos de la alimentación tales como anorexia nerviosa, bulimia nerviosa y obesidad; trastorno obsesivo compulsivo; trastorno de pánico; trastornos de la personalidad tales como trastorno de la personalidad evasiva y trastorno por déficit de atención con hiperactividad (ADHD, del inglés *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*); síndrome de estrés post-traumático; fobias tales como agorafobia, así como también fobias simples y otras fobias específicas, y fobia social; síndrome

000025

premenstrual; trastornos sicóticos, tales como esquizofrenia y manía; trastorno afectivo estacional; disfunción sexual, con inclusión de eyaculación precoz, impotencia masculina, y disfunción sexual femenina tal como trastorno de excitación sexual femenina; trastorno de la ansiedad social; y trastornos por abuso de sustancias, con inclusión de dependencias químicas tales como adicciones al alcohol, benzodiazepinas, cocaína, heroína, nicotina y fenobarbitúricos, así como también los síndromes por abstinencia que pueden desprenderse de estas dependencias. Cuando se usan para tratar trastornos afectivos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, inclusive antidepresivos. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases están descritos en la presente.

La atomoxetina -que es selectiva de NET con una superioridad de diez veces- está aprobada para la terapia para el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (ADHD), y los estudios clínicos han demostrado que el SNRI, venlafaxina, también tiene un efecto beneficioso para tratar ADHD (Mukaddes y colaboradores (2002) *Eur. Neuropsychopharm.* 12 (Sup 3):421). Por ende, también se espera que el compuesto cristalino de la invención sea útil en los métodos para tratar el trastorno por déficit de atención con hiperactividad al administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Cuando se usa para tratar depresión, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar en

000026

combinación con otros agentes terapéuticos, inclusive antidepresivos. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases se describen en la presente.

Trastornos cognitivos

Otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar un trastorno cognitivo, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Los trastornos cognitivos de ejemplo incluyen, a modo de ilustración mas no de limitación: demencia, que incluye demencia degenerativa (por ej., enfermedad de Alzheimer, enfermedad Creutzfeldt-Jakob, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, y demencia senil), demencia vascular (por ej., demencia multi-infarto), y demencia asociada con lesiones que ocupan los espacios intracraneales, trauma, infecciones y condiciones relacionadas (con inclusión de infección por VIH), deficiencia metabólica, por toxinas, anoxia y deficiencia de vitaminas; e insuficiencia cognitiva leve asociada con la vejez, pérdida de la memoria asociada con la edad, trastorno amnésico y reducción cognitiva asociada con la edad. Cuando se usa para tratar trastornos cognitivos, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, con inclusión de agentes anti-Alzheimer y agentes anti-Parkinson. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases se describen en la presente.

Otros Trastornos

También se ha demostrado que los SNRI son efectivos para ..

000027

el tratamiento de incontinencia urinaria por estrés (Dmochowski (2003) *Journal of Urology* 170(4): 1259-1263). Por ende, otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar incontinencia urinaria por estrés, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Cuando se usan para tratar incontinencia urinaria por estrés, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos, inclusive anticonvulsivos. Los compuestos de ejemplo dentro de estas clases se describen en la presente.

La duloxetine, un SNRI, está siendo sometida a ensayos clínicos para evaluar su eficacia para tratar síndrome de fatiga crónica, y recientemente se ha demostrado que es efectiva para tratar fibromialgia (Russell y colaboradores (2008) *Pain* 136(3):432-444). También se espera que el compuesto cristalino de la invención tenga esta utilidad, debido a su habilidad esperada de inhibir SERT y NET, y otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar síndrome de fatiga crónica, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención.

Se ha demostrado que la sibutramina, un inhibidor de la recaptación de la norepinefrina y la dopamina, es útil para tratar obesidad (Wirth y colaboradores (2001) *JAMA* 286(11):1331-1339). También se espera que el compuesto cristalino de la invención tenga esta utilidad, debido a su habilidad esperada de inhibir NET, y otra forma de

000028

realización de la invención se refiere a un método para tratar obesidad, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención.

Se ha demostrado que la desvenlafaxina, un SNRI, mejora los síntomas vasomotores asociados con menopausia (Deecher y colaboradores (2007) *Endocrinology* 148(3):1376-1383). También se espera que el compuesto cristalino de la invención tenga esta utilidad, debido a su habilidad esperada de inhibir SERT y NET, y otra forma de realización de la invención se refiere a un método para tratar síntomas vasomotores asociados con la menopausia, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención.

Herramientas de investigación

Ya que se espera que el compuesto cristalino de la invención posea tanto actividad de inhibición de la recaptación de la serotonina como actividad de inhibición de la recaptación de la norepinefrina, también se espera que este compuesto encuentre utilidad como una herramienta de investigación para estudiar o investigar muestras o sistemas biológicos que tienen transportadores de serotonina o norepinefrina. Cualquier muestra o sistema biológico adecuado que tiene transportadores de serotonina y/o norepinefrina puede ser empleado en dichos estudios, lo cuales pueden llevarse a cabo ya sea *in vitro* o bien *in vivo*. Las muestras o sistemas biológicos representativos adecuados para dichos estudios incluyen, mas no se limitan a: células, extractos

000029

celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejidos, órganos aislados, mamíferos (tales como ratones, ratas, cobayos, conejos, perros, cerdos, humanos y demás), y similares, en donde los mamíferos son de particular interés. En una forma de realización particular de la invención, la recaptación de la serotonina en un mamífero es inhibida al administrar una cantidad que inhibe la recaptación de la serotonina del compuesto cristalino de la invención. En otra forma de realización particular, la recaptación de la norepinefrina en un mamífero es inhibida al administrar una cantidad que inhibe la recaptación de la norepinefrina del compuesto cristalino de la invención. El compuesto cristalino de la invención también se puede usar como herramienta de investigación al realizar ensayos biológicos usando dicho compuesto.

Cuando se usa como herramienta de investigación, típicamente se pone en contacto una muestra o sistema biológico que comprende un transportador de serotonina y/o un transportador de norepinefrina con una cantidad que inhibe la recaptación de la serotonina o una cantidad que inhibe la recaptación de la norepinefrina del compuesto cristalino de la invención. Una vez que la muestra o sistema biológico se expone al compuesto, los efectos de inhibir la recaptación de la serotonina y/o la recaptación de la norepinefrina se determinan usando procedimientos y equipos convencionales. La exposición conlleva poner en contacto las células o el tejido con el compuesto, administrar el compuesto a un mamífero, por ejemplo mediante administración i.p. o i.v., y

000030

así sucesivamente. Este paso de determinación puede comprender medir una respuesta, es decir, un análisis cuantitativo, o puede comprender una observación, es decir, un análisis cualitativo. La medición de una respuesta implica, por ejemplo, determinar los efectos del compuesto sobre la muestra o sistema biológico usando procedimientos y equipos convencionales, tales como ensayos de la recaptación de serotonina y norepinefrina. Los resultados de los ensayos se pueden usar para determinar el nivel de actividad así como también la cantidad de compuesto necesaria para alcanzar el resultado deseado, es decir, una cantidad que inhibe la recaptación de la serotonina y una cantidad que inhibe la recaptación de la norepinefrina.

Además, el compuesto cristalino de la invención se puede usar como herramienta de investigación para evaluar otros compuestos químicos, y por ende también es útil en ensayos de detección para descubrir, por ejemplo, nuevos compuestos que tienen tanto actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina como actividad inhibitoria de la recaptación de la norepinefrina. De esta manera, el compuesto cristalino de la invención se usa como estándar en un ensayo para permitir la comparación de los resultados obtenidos con un compuesto de evaluación y con el compuesto cristalino de la invención para identificar aquellos compuestos de evaluación que tienen actividad inhibitoria de la recaptación aproximadamente igual o superior, si es que la tienen. Por ejemplo, los datos de la recaptación para un compuesto de evaluación o un grupo de compuestos de evaluación se comparan con los datos de

000031

recaptación para el compuesto cristalino de la invención a fin de identificar aquellos compuestos de evaluación que tienen las propiedades deseadas, por ej., los compuestos de evaluación que tienen actividad inhibitoria de la recaptación aproximadamente igual o superior al compuesto cristalino de la invención, si es que la tienen. Este aspecto de la invención incluye, como formas de realización separadas, tanto la generación de los datos de comparación (usando los ensayos apropiados) como el análisis de los datos de evaluación para identificar compuestos de evaluación de interés. Por ende, un compuesto de evaluación puede ser evaluado en un ensayo biológico, mediante un método que comprende los pasos de: (a) llevar a cabo un ensayo biológico con un compuesto de evaluación a fin de proveer un primer valor de ensayo; (b) efectuar el ensayo biológico con el compuesto cristalino de la invención a fin de brindar un segundo valor de ensayo; en donde el paso (a) se realiza ya sea antes, después o junto con el paso (b); y (c) comparar el primer valor de ensayo del paso (a) con el segundo valor de ensayo del paso (b). Los ensayos biológicos de ejemplo incluyen ensayos de recaptación de la serotonina y la norepinefrina.

COMPOSICIONES Y FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

El compuesto cristalino de la invención se administra típicamente a un paciente en forma de composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al paciente mediante cualquier vía de administración aceptable que incluye, mas no se limita a:

000032

modo de administración oral, rectal, vaginal, nasal, inhalada, tópica (con inclusión de transdérmica) y parenteral. No obstante, las personas versadas en el arte han de entender que, una vez que el compuesto cristalino de la invención haya sido formulado, puede ya no estar en forma cristalina; es decir, puede disolverse en un portador adecuado. Asimismo, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar, por ejemplo oralmente, en múltiples dosis al día (por ej., dos veces, tres veces o cuatro veces al día), en una única dosis diaria, en una dosis dos veces por día, en una única dosis semanal, y así sucesivamente.

Por consiguiente, en una forma de realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto cristalino de la invención. Las composiciones pueden contener otros agentes terapéuticos y/o agentes de formulación, si se desea. Cuando se mencionan las composiciones, el "compuesto cristalino de la invención" también puede aludirse en la presente como el "agente activo", para distinguirlo de los otros componentes de la formulación, tal como el portador.

Las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente contienen una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto cristalino de la invención. Las personas versadas en el arte reconocerán, no obstante, que una composición farmacéutica puede contener más que una cantidad terapéuticamente efectiva, es decir, composiciones volumétricas, o menos que una cantidad terapéuticamente

000033

efectiva, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para administración múltiple a fin de alcanzar una cantidad terapéuticamente efectiva. Típicamente, la composición contiene desde aproximadamente 0,01 hasta 95% en peso del agente activo; inclusive, desde aproximadamente 0,01 hasta 30% en peso, tal como desde aproximadamente 0,01 hasta 10% en peso, en donde la cantidad real depende de la formulación propiamente dicha, la vía de administración, la frecuencia de dosificación, etc. En una forma de realización, una composición adecuada para una forma de dosis oral, por ejemplo, puede contener entre aproximadamente 5 y 70% en peso, o entre aproximadamente 10 y 60% en peso de agente activo. En una forma de realización de ejemplo, una composición farmacéutica contiene desde aproximadamente 1 hasta 20 mg de agente activo, inclusive desde aproximadamente 1 hasta 15 mg de agente activo, y desde aproximadamente 1 hasta 10 mg de agente activo. En otra forma de realización de ejemplo, una composición farmacéutica contiene desde aproximadamente 5 hasta 20 mg de agente activo, inclusive desde aproximadamente 7,5 hasta 15 mg de agente activo. Por ejemplo, el agente activo puede ser formulado en dosis unitarias de 1 mg y 10 mg.

Es posible utilizar cualquier portador o excipiente convencional en las composiciones farmacéuticas de la invención. La elección de un portador o excipiente particular, o las combinaciones de portadores o excipientes, dependerá del modo de administración que se está usando para tratar un paciente particular o tipo de condición médica o

000034

estado de enfermedad. Al respecto, la preparación de una composición adecuada para un modo de administración particular se encuentra en gran medida dentro del alcance de las personas versadas en las artes farmacéuticas. Asimismo, los portadores o excipientes usados en dichas composiciones se encuentran disponibles a nivel comercial. A modo de ilustración adicional, las técnicas de formulación convencionales se describen en *Remington: The Science and Practice de Pharmacy*, 20^{ma} Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H. C. Ansel y colaboradores, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7^{ma} Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Los ejemplos representativos de los materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, mas no se limitan a, los siguientes: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; celulosa, tal como celulosa microcristalina, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón o

000035

buffer, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógeno; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón de fosfato; gases propelentes comprimidos, tales como clorofluorocarbonos e hidrofluorocarbonos; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas se preparan típicamente al mezclar o combinar completa e íntimamente el agente activo con un portador farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. La mezcla combinada en forma uniforme resultante puede luego ser modelada o cargada en comprimidos, cápsulas, píldoras, cartuchos, tubos, dispensadores y similares, usando procedimientos y equipos convencionales.

En una forma de realización, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para administración oral. Un régimen de dosificación de ejemplo sería una forma de dosis oral administrada una o dos veces por día. Las composiciones para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, obleas, grageas, polvos, gránulos; soluciones o suspensiones en un líquido acuoso o no acuoso; emulsiones líquidas agua en aceite o aceite en agua; elixires o jarabes; y similares; cada uno con una cantidad predeterminada del agente activo.

Cuando se destina a administración oral en forma de dosis sólidas (es decir, como cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares), la composición típicamente comprende

000036

el agente activo y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico. Las formas de dosis sólidas también pueden comprender también pueden comprender: rellenos o agentes de extensión, tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; agentes aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, sacarosa y/o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y/o carbonato de sodio; agentes retardadores de solución, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes de humedecimiento, tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol; agentes absorbentes, tales como caolín y/o arcilla bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y/o mezclas de los mismos; agentes colorantes; y agentes tampón.

Los agentes de liberación, agentes de humedecimiento, agentes de revestimiento, edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones farmacéuticas. Los agentes de revestimiento de ejemplo para comprimidos, cápsulas, píldoras y similares, incluyen los usados para revestimientos entéricos, tales como acetato ftalato de celulosa, acetato ftalato de polivinilo, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico

000037

y éster del ácido metacrílico, acetato trimelitato de celulosa, carboximetil etil celulosa, acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa, y similares. Los ejemplos de los antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, sulfito de sodio, y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metal, tales como ácido cítrico, ácido etilenediaminotetraacético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las composiciones también pueden formularse para proveer la liberación lenta o controlada del agente activo usando, a modo de ejemplo, hidroxipropil metil celulosa en diversas proporciones u otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener agentes opacificantes y pueden estar formuladas de tal manera que liberan solamente el agente activo, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de incorporación que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El agente activo también puede estar en forma microencapsulada, de ser apropiado, con uno o más de los excipientes descritos con anterioridad.

Las formas de dosis líquidas adecuadas para

000038

administración oral incluyen, a modo de ilustración, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las formas de dosis líquidas típicamente comprenden el agente activo y un diluyente inerte, tal como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (por ej., aceite de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y mezclas de los mismos. Las suspensiones pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilén sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Cuando se destinan a administración oral, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden envasar en una forma de dosis unitaria. El término "forma de dosis unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para la dosificación a un paciente; es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado ya sea en forma individual o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas de dosis unitarias pueden ser cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares.

000039

En otra forma de realización, las composiciones de la invención son adecuadas para administración por inhalación, y típicamente se encuentran en forma de aerosol o polvo. Dichas composiciones por lo general se administran usando dispositivos de suministro ampliamente conocidos, tales como un nebulizador, inhalador de polvo seco o inhalador de dosis medidas. Los dispositivos nebulizadores producen una corriente de aire de alta velocidad que causa que la composición se pulverice como una bruma que es llevada a las vías respiratorias de un paciente. Una formulación para nebulizar de ejemplo comprende el agente activo disuelto en un portador para formar una solución, o micronizado y combinado con un portador para formar una suspensión de partículas micronizadas de tamaño respirable. Los inhaladores de polvo seco administran el agente activo como polvo de flujo libre que se dispersa en el torrente de aire del paciente durante la inspiración. Una formulación en polvo seco de ejemplo comprende el agente activo combinado en seco con un excipiente tal como lactosa, almidón, manitol, dextrosa, ácido poliláctico, poliláctido-co-glicólido, y combinaciones de los mismos. Los inhaladores de dosis medidas descargan una cantidad medida del agente activo usando gas propelente comprimido. Una formulación de dosis medidas de ejemplo comprende una solución o suspensión del agente activo en un propelente licuado, tal como un clorofluorocarbono o hidrofluoroalcano. Los componentes opcionales de dichas formulaciones incluyen co-solventes, tales como etanol o pentano, y agentes tensoactivos, tales como trioleato de

000040

sorbitán, ácido oleico, lecitina y glicerina. Dichas composiciones son preparadas típicamente al agregar hidrofluoroalcano helado o presurizado a un recipiente adecuado que contiene el agente activo, etanol (de estar presente) y el agente tensoactivo (de estar presente). Para preparar una suspensión, el agente activo es micronizado y luego combinado con el propelente. En forma alternativa, una formulación en suspensión se puede preparar al secar por aspersión un revestimiento de agente tensoactivo sobre las partículas micronizadas del agente activo. La formulación luego se carga en un cartucho de aerosol, que forma una porción del inhalador.

El compuesto cristalino de la invención también se puede administrar en forma parenteral (por ej., mediante inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraperitoneal). Para dicha administración, el agente activo se provee en una solución, suspensión o emulsión estéril. Los solventes de ejemplo para preparar dichas formulaciones incluyen agua, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol, polietilenglicol, aceites, gelatina, ésteres de ácidos grasos tales como oleato de etilo, y similares. Una típica formulación parenteral es una solución acuosa estéril con un pH de 4 a 7 del agente activo. Las formulaciones parenterales también pueden contener uno o más agentes solubilizantes, estabilizadores, conservantes, agentes de humedecimiento, emulsionantes y agentes dispersantes. Estas formulaciones se pueden tornar estériles mediante el uso de un medio inyectable estéril, un agente de esterilización,

000041

filtración, irradiación, o calor.

El compuesto cristalino de la invención también se puede administrar por vía transdérmica usando excipientes y sistemas de suministro transdérmico conocidos. Por ejemplo, el compuesto se puede mezclar con agentes potenciadores de la permeación, tales como propilenglicol, polietilenglicol monolaurato, azacicloalcan-2-onas, y similares, e incorporarse en un parche o sistema de suministro similar. Los excipientes adicionales que incluyen agentes gelificantes, emulsionantes y tampones, se pueden usar en dichas composiciones transdérmicas, si se desea.

De ser deseado, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ende, en una forma de realización, las composiciones de la invención pueden contener, opcionalmente, otras drogas que son co-administradas con el compuesto cristalino de la invención. Por ejemplo, la composición puede comprender, además, una o más drogas (también conocidas como "agente/s secundario/s") seleccionadas del grupo de agentes anti-Alzheimer, anticonvulsivos (antiepilépticos), antidepresivos, agentes anti-Parkinson, inhibidores de la recaptación de la serotonina-norepinefrina (SNRI) duales, agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), inhibidores de la recaptación de la norepinefrina, agonistas opioides (analgésicos opioides), antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de

000042

los mismos. En el arte se conocen numerosos ejemplos de dichos agentes terapéuticos; ejemplos que son descritos en la presente. Al combinar el compuesto cristalino de la invención con un agente secundario, se puede alcanzar la terapia triple; es decir, la actividad inhibitoria de la recaptación de la serotonina, la actividad inhibitoria de la recaptación de la norepinefrina, y la actividad asociada con el agente secundario (por ej., actividad antidepresiva), usando solamente dos componentes activos. Como las composiciones farmacéuticas que contienen dos componentes activos son típicamente más fáciles de formular que las composiciones que contienen tres componentes activos, dichas composiciones con dos componentes proveen una ventaja significativa por sobre las composiciones que contienen tres componentes activos. Por consiguiente, en otro aspecto más de la invención, una composición farmacéutica comprende el compuesto cristalino de la invención, un segundo agente activo, y un portador farmacéuticamente aceptable. También se puede incluir en la composición un tercer, un cuarto, etc., agente activo. En la terapia de combinación, la cantidad del compuesto de la invención que es administrada, así como también la cantidad de agentes secundarios, puede ser menor que la cantidad típicamente administrada en monoterapia.

El compuesto cristalino de la invención se puede mezclar ya sea físicamente con el segundo agente activo para formar una composición que contiene ambos agentes; o bien cada agente puede estar presente en composiciones distintas y separadas que son administradas al paciente en forma

000043

simultánea o secuencial. Por ejemplo, el compuesto cristalino de la invención se puede combinar con un segundo agente activo usando equipos y procedimientos convencionales para formar una combinación de agentes activos que comprenden el compuesto cristalino de la invención y un segundo agente activo. Asimismo, los agentes activos se pueden combinar con un portador farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica que comprende el compuesto cristalino de la invención, un segundo agente activo y un portador farmacéuticamente aceptable. En esta forma de realización, los componentes de la composición se mezclan o combinan típicamente para crear una mezcla física. La mezcla física luego se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva usando cualesquiera de las vías descritas en la presente.

En forma alternativa, los agentes activos pueden permanecer separados y distintos antes de la administración al paciente. En esta forma de realización, los agentes no se mezclan juntos físicamente antes de la administración sino que se administran en forma simultánea o en momentos separados como composiciones separadas. Dichas composiciones se pueden envasar por separado o se pueden envasar juntas en un kit. Cuando se administran en momentos separados, el agente secundario típicamente se administra menos de 24 horas después de la administración del compuesto de la invención, en un momento cualquiera dentro de un período que oscila entre la administración concurrente con la administración del compuesto de la invención y aproximadamente 24 horas después

000044

de la dosis. Esto también se denomina "administración secuencial". Por ende, el compuesto cristalino de la invención se puede administrar por vía oral en forma simultánea o secuencial con otro agente activo usando dos comprimidos -un comprimido por cada agente activo- donde "secuencial" puede significar que es administrado inmediatamente después de la administración del compuesto de la invención o en algún momento posterior predeterminado (por ej., una hora después o tres horas después). En forma alternativa, la combinación se puede administrar mediante diferentes vías de administración; es decir, por vía oral y por inhalación.

En una forma de realización, el kit comprende una primera forma de dosis que comprende el compuesto cristalino de la invención y al menos una forma de dosis adicional que comprende uno o más de los agentes secundarios establecidos en la presente, en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos de la invención. La primera forma de dosis y la segunda (o tercera, etc.) forma de dosis juntas comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de agentes activos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición médica en un paciente.

El o los agentes secundarios, cuando se incluyen, están presentes en una cantidad terapéuticamente efectiva; es decir, se administran típicamente en una cantidad que produce un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se co-administra con el compuesto cristalino de la invención. El agente secundario puede estar en forma de sal, solvato

000025

estereoisómero ópticamente puro, farmacéuticamente aceptables, etc. Por ende, los agentes secundarios que se listan a continuación están destinados a incluir todas estas formas, y se encuentran disponibles a nivel comercial o se pueden preparar usando reactivos y procedimientos convencionales.

Los agentes anti-Alzheimer representativos incluyen, mas no se limitan a: donepezilo, galantamina, memantina, rivastigmina, selegilina, tacrina, y combinaciones de los mismos.

Los anticonvulsivos (antiepilépticos) representativos incluyen, mas no se limitan a: acetazolamida, albutoína, ácido 4-amino-3-hidroxibutírico, beclamida, carbamazepina, cinromida, clometiazol, clonazepam, diazepam, dimetadiona, eterobarb, etadiona, etosuximida, etotoína, felbamato, fosfenitoína, gabapentina, lacosamida, lamotrigina, lorazepam, bromuro de magnesio, sulfato de magnesio, mefenitoína, mefobarbital, metsuximida, midazolam, nitrazepam, oxazepam, oxcarbazepina, parametadiona, fenacemida, feneturida, fenobarbital, fensuximida, fenitoína, bromuro de potasio, pregabalina, primidona, progabida, bromuro de sodio, valproato de sodio, sultiamo, tiagabina, topiramato, trimetadiona, ácido valproico, valpromida, vigabatrina, zonisamida, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización particular, el anticonvulsivo se selecciona entre carbamazepina, gabapentina, pregabalina, y sus combinaciones.

Los antidepresivos representativos incluyen, mas no se

000046

limitan a: adinazolam, amitriptilina, clomipramina, desipramina, dotiepina (por ej., clorhidrato de dotiepina), doxepina, imipramina, lofepramina, mirtazapina, nortriptilina, protriptilina, trimipramina, venlafaxina, zimelidina, y combinaciones de los mismos.

Los agentes anti-Parkinson representativos incluyen, mas no se limitan a: amantadina, apomorfina, benztropina, bromocriptina, carbidopa, difenhidramina, entacapona, levodopa, pergólido, pramipexol, ropinirol, selegilina, tolcapona, trihexifenidilo, y combinaciones de los mismos.

Los inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI) duales representativos incluyen, mas no se limitan a: bicifadina, desvenlafaxina, duloxetine, milnaciprán, nefazodona, venlafaxina, y combinaciones de los mismos.

Los agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) representativos incluyen, mas no se limitan a: acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, alclofenac, alminoprofeno, amfenac, amiprilosa, amoxiprina, aniolac, apazona, azapropazona, benorilato, benoxaprofeno, bezpiperilona, broperamol, ácido buclórico, carprofeno, clidanac, diclofenac, diflunisal, diftalona, enolicam, etodolac, etoricoxib, fenbufeno, fenclofenac, ácido fenclórico, fenoprofeno, fentiazac, feprazona, ácido flufenámico, flufenisal, fluprofeno, flurbiprofeno, furofenac, ibufenac, ibuprofeno, indometacina, indoprofeno, isoxepac, isoxicam, quetoprofeno, quetorolac, lofemizol, lornoxicam, meclofenamato, ácido meclofenámico, ácido

000047

mefenámico, meloxicam, mesalamina, miroprofeno, mófebutazona, nabumetona, naproxeno, ácido niflúmico, nimesulide, nitroflurbiprofeno, olsalazina, oxaprozina, oxpinac, oxifenbutazona, fenilbutazona, piroxicam, pirprofeno, pranoprofeno, salsalato, sudoxicam, sulfasalazina, sulindac, suprofeno, tenoxicam, tiopinac, ácido tiaprofénico, tioxaprofeno, ácido tolfenámico, tolmetina, triflumidato, zidometacina, zomepirac, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización particular, el NSAID se selecciona entre etodolac, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, quetoprofeno, quetorolac, meloxicam, naproxeno, oxaprozina, piroxicam, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización particular, el NSAID se selecciona entre ibuprofeno, indometacina, nabumetona, naproxeno (por ejemplo, naproxeno sódico), y combinaciones de los mismos.

Los relajantes musculares representativos incluyen, mas no se limitan a: carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, diflunisal, metaxalona, metocarbamol, y combinaciones de los mismos.

Los inhibidores de la recaptación de la norepinefrina representativos incluyen, mas no se limitan a: atomoxetina, buproprióna y el metabolito de buproprióna hidroxibuproprióna, maprotilina, reboxetina (por ejemplo, (S,S)-reboxetina), viloxazina, y combinaciones de los mismos. En una forma de realización particular, el inhibidor de la recaptación de la norepinefrina se selecciona entre atomoxetina, reboxetina, y combinaciones de los mismos.

Los agonistas opioides (analgésicos opioides) y

000048

antagonistas opioides representativos incluyen, mas no se limitan a: buprenorfina, butorfanol, codeína, dihidrocodeína, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, levalorfan, levorfanol, meperidina, metadona, morfina, nalbufina, nalmefeno, nalorfina, naloxona, naltrexona, nalorfina, oxicodona, oximorfona, pentazocina, propoxifeno, tramadol, y combinaciones de los mismos. En ciertas formas de realización, el agonista opioide se selecciona entre codeína, dihidrocodeína, hidrocodona, hidromorfona, morfina, oxicodona, oximorfona, tramadol, y combinaciones de los mismos.

Los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (SSRI, del inglés *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*) representativos incluyen, mas no se limitan a: citalopram y el metabolito de citalopram e desmetilcitalopram, dapoxetina, escitalopram (por ej., oxalato de escitalopram), fluoxetina y el metabolito de desmetil fluoxetina norfluoxetina, fluvoxamina (por ej., maleato de fluvoxamina), paroxetina, sertralina y el metabolito de sertralina demetilsertralina, y combinaciones de los mismos. En ciertas formas de realización, el SSRI se selecciona entre citalopram, paroxetina, sertralina, y combinaciones de los mismos.

Los bloqueadores de los canales de sodio representativos incluyen, mas no se limitan a: carbamazepina, fosfenitoína, lamotrignina, lidocaína, mexiletina, oxcarbazepina, fenitoína, y combinaciones de los mismos.

Los simpaticolíticos representativos incluyen, mas no se

000049

limitan a: atenolol, clonidina, doxazosina, guanetidina, guanfacina, modafinilo, fentolamina, prazosina, reserpina, tolazolina (por ej., clorhidrato de tolazolina), tamsulosina, y combinaciones de los mismos.

Las siguientes formulaciones ilustran las composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención:

Cápsulas de gelatina dura de ejemplo para administración oral

Se combinan completamente el compuesto cristalino de la invención (50 g), lactosa secada por aspersion (440 g) y estearato de magnesio (10 g). La composición resultante se carga luego en cápsulas de gelatina dura (500 mg de composición por cápsula).

A modo alternativo, el compuesto cristalino (20 mg) es completamente combinado con almidón (89 mg), celulosa microcristalina (89 mg) y estearato de magnesio (2 mg). La mezcla es luego filtrada a través de un tamiz U.S. malla No. 45 y cargada en una cápsula de gelatina dura (200 mg de composición por cápsula).

Formulación en cápsula de gelatina de ejemplo para administración oral

El compuesto cristalino de la invención (100 mg) es completamente mezclado con monooleato de polioxietilén sorbitán (50 mg) y almidón en polvo (250 mg). La mezcla se carga luego en una cápsula de gelatina (400 mg de composición por cápsula).

En forma alternativa, el compuesto cristalino (40 mg) es completamente mezclado con celulosa microcristalina (Avicel PH 103; 259,2 mg) y estearato de magnesio (0,8 mg). La mezcla

000050

luego se carga en una cápsula de gelatina (tamaño #1, blanca, opaca) (300 mg de composición por cápsula).

Formulación en comprimido de ejemplo para administración oral

Se filtran el compuesto cristalino de la invención (10 mg), almidón (45 mg) y celulosa microcristalina (35 mg) en un tamiz U.S. malla No. 20 y se mezclan completamente. Los gránulos producidos de esta manera se secan a una temperatura que oscila entre 50 y 60 °C y se filtran en un tamiz U.S. malla No. 16. Se mezcla una solución de polivinilpirrolidona (4 mg como una solución al 10 % en agua estéril) con carboximetil almidón sódico (4,5 mg), estearato de magnesio (0,5 mg), y talco (1 mg), y esta mezcla luego se filtra en un tamiz U.S. malla No. 16. Luego el carboximetil almidón sódico, el estearato de magnesio y el talco se agregan a los gránulos. Después de mezclar, la mezcla es comprimida en una máquina para formar comprimidos para obtener un comprimido que pesa 100 mg.

En forma alternativa, el compuesto cristalino (250 mg) es completamente mezclado con celulosa microcristalina (400 mg), dióxido de silicio pirogénico (10 mg), y ácido esteárico (5 mg). La mezcla luego se comprime para formar comprimidos (665 mg de composición por comprimido)

En forma alternativa, el compuesto cristalino (400 mg) es completamente mezclado con almidón de maíz (50 mg), croscarmelosa sódica (25 mg), lactosa (120 mg), y estearato de magnesio (5 mg). La mezcla luego se comprime para formar un comprimido de ranura única (600 mg de composición por comprimido).

000051

Formulación en suspensión de ejemplo para administración oral

Se mezclan los siguientes ingredientes para formar una suspensión que contiene 100 mg de agente activo por 10 mL de suspensión:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto cristalino de la invención	1,0 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloruro de sodio	2,0 g
Metil parabeno	0,15 g
Propil parabeno	0,05 g
Azúcar granulada	25,5 g
Sorbitol (solución al 70%)	12,85 g
Veegum® K (silicato de magnesio y aluminio)	1,0 g
Saborizante	0,035 mL
Colorantes	0,5 mg
Agua destilada	c.s. hasta 100 mL

Formulación inyectable de ejemplo para administración por inyección

El compuesto cristalino de la invención (0,2 g) se mezcla con solución tampón (buffer) de acetato de sodio 0,4 M (2,0 mL). El pH de la solución resultante es ajustado a pH 4 usando ácido clorhídrico acuoso 0,5 N o hidróxido de sodio acuoso 0,5 N, según sea necesario, y luego se agrega suficiente agua para inyección a fin de brindar un volumen total de 20 mL. La mezcla luego se filtra a través de un

000052

filtro estéril (0,22 micrones) para proveer una solución estéril adecuada para administración por inyección.

Composiciones de ejemplo para administración por inhalación

El compuesto cristalino de la invención (0,2 mg) es micronizado y luego combinado con lactosa (25 mg). Esta mezcla combinada se carga luego en un cartucho de inhalación de gelatina. Los contenidos del cartucho son administrados usando un inhalador de polvo seco, por ejemplo.

En forma alternativa, se dispersa un compuesto micronizado de la invención (10 g) en una solución preparada al disolver lecitina (0,2 g) en agua desmineralizada (200 mL). La suspensión resultante se seca por aspersión y luego se microniza para formar una composición micronizada que comprende partículas que tienen un diámetro medio inferior a aproximadamente 1,5 μm . La composición micronizada luego se carga en cartuchos para inhaladores de dosis medidas que contienen 1,1,1,2-tetrafluoroetano presurizado en una cantidad suficiente para proveer desde aproximadamente 10 μg hasta aproximadamente 500 μg del compuesto de la invención por dosis cuando se administra mediante el inhalador.

En forma alternativa, el compuesto cristalino (25 mg) se disuelve en solución salina isotónica (125 mL) tamponada en citrato (pH 5). La mezcla se agita y se somete a sonicación hasta que el compuesto se disuelve. El pH de la solución se chequea y ajusta, de ser necesario, a pH 5 al agregar lentamente hidróxido de sodio 1N acuoso. La solución se administra usando un dispositivo nebulizador que provee desde aproximadamente 10 μg hasta aproximadamente 500 μg del

000053

compuesto cristalino por dosis.

EJEMPLOS

Las siguientes Preparaciones y Ejemplos se proveen para ilustrar formas de realización específicas de la invención. Estas formas de realización específicas, no obstante, no pretenden limitar el alcance de la invención de manera alguna, a menos que se lo indique específicamente.

Las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario, y cualesquiera otras abreviaturas usadas en la presente y no definidas tienen su significado estándar:

BOC	t-butoxicarbonilo
BSA	albúmina de suero bovino
DMEM	medio de Eagle modificado por Dulbecco
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDTA	ácido etilenediaminotetraacético
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
FBS	suero bovino fetal
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico
PBS	solución salina tamponada en fosfato
THF	tetrahidrofurano

Cualesquiera otras abreviaturas usadas en la presente pero no definidas tienen su significado estándar generalmente aceptado. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales, tales como reactivos, materiales de inicio y

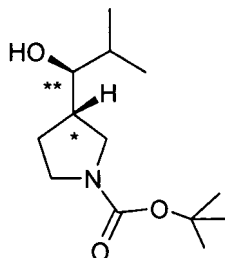
000052

solventes, se adquieren de proveedores comerciales (tales como Sigma-Aldrich, Fluka Riedel-de Haën, y similares) y se usaron sin purificación adicional.

En los compuestos descritos a continuación, los dos centros quirales están identificados por los símbolos * y **. Nótese que el centro quiral * es conocido; sin embargo, el centro quiral ** no se conoce de manera precisa, sin ambigüedades, y se basa en el primer pico de elución mediante HPLC de fase reversa a partir de la mezcla de intermediarios diastereoméricos (los alcoholes protegidos).

Preparación 1

t-Butil éster del ácido (S)-3-((S)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico



Se combinaron t-butil éster del ácido (S)-3-formilpirrolidina-1-carboxílico (10,0 g, 50,2 mmol) y THF (100 mL, 1000 mmol) bajo nitrógeno, y la mezcla resultante se enfrió a -78 °C. Luego se agregó a gotas cloruro de isopropilmagnesio 2,0 M en THF (30,1 mL, 60,2 mmol) en un lapso de 10 minutos. La mezcla se dejó entibiar a temperatura ambiente lentamente toda la noche. Luego se agregó a gotas NH₄Cl acuoso saturado (100 mL) para neutralizar la reacción. El THF se retiró bajo vacío y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaCl acuoso saturado (1 x 100 mL), luego se

000055

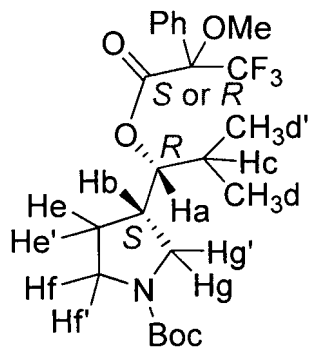
secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron in vacuo. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de fase normal (300 g SiO_2 , 12 g en bruto, 50-60% dietil éter en hexanos) para obtener los siguientes compuestos como aceites transparentes:

t-butil éster del ácido (S)-3-((S)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (3,8 g; primer pico de elución). ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 4,60 - 4,38 (brs, 1H); 3,40 - 3,22 (m, 2H); 3,28 - 3,02 (m, 2H); 2,94 - 2,82 (m, 1H); 2,28 - 2,12 (m, 1H); 1,92 - 1,82 (m, 1H); 1,70 - 1,56 (m, 1H); 1,52 - 1,44 (m, 1H); 1,38 (s, 9H); 0,87 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 0,83 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

t-butil éster del ácido (S)-3-((R)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (2,8 g; segundo pico de elución). ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 4,50 - 4,40, (brs, 1H) 3,42 - 3,28 (m, 2H); 3,18 - 3,06 (m, 2H); 3,04 - 2,92 (m, 1H); 2,26 - 2,12 (m, 1H); 1,78 - 1,68 (m, 1H); 1,62 - 1,46 (m, 2H); 1,38 (s, 9H); 0,88 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 0,82 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H).

La asignación de la estereoquímica del compuesto del título fue realizada mediante el análisis de los ésteres de Mosher (Dale y Mosher (1969) *J. Org. Chem.* 34(9):2543-2549) sobre el material eluido en segundo lugar. Usando este análisis, se determinó que el material con el segundo pico de elución era (S,R):

000056



Protón	δ (S,R,S)	δ (S,R,R)	δ (S,R,S) - δ (S, R,R)
Ha	5,040	5,029	0,011
Hb	2,486	2,511	-0,025
Hc, He	H's no equiv en superposición	H's no equiv en superposición	ND
Hd, Hd'	0,912	0,876	0,036
He'	Superposición con Boc	Superposición con Boc	ND
Hf	3,209	3,212	-0,003
Hf'	2,988	3,050	-0,062
Hg	Superposición con OMe	Superposición con OMe	ND
Hg'	3,364	3,389	-0,025

ND: no determinable

Nótese que la primeras dos letras corresponden al material con el segundo pico de elución y la tercera letra del diastereómero se refiere al centro quiral de los ésteres

000057

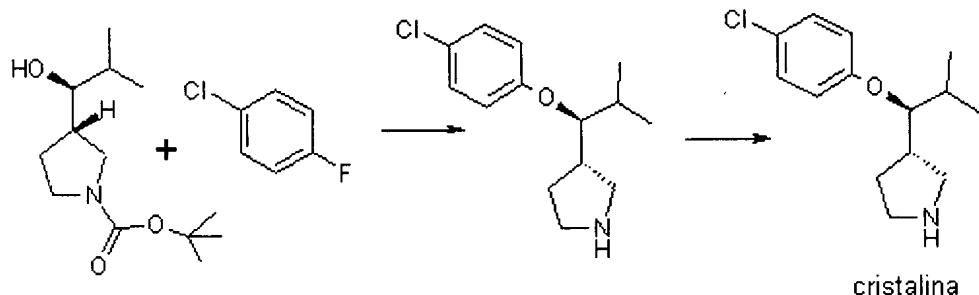
de Mosher.

Diastereómero SRS: ^1H , CDCl_3 , δ ppm 7,60-7,51 (m, 2H); 7,43 - 7,37 (m, 3H); 5,04 (dd, $J = 8,0, 4,0$, 1H); 3,52 (s, 3H); 3,51 - 3,45 (m, 1H); 3,36 (t, $J = 8,4$, 1H); 3,28 - 3,12 (m, 1H); 3,07 - 2,90 (m, 1H); 2,59 - 2,39 (m, 1H); 1,97 - 1,80 (m, 2H); 1,59 - 1,45 (m, 1H); 1,43 (s, 9H); 0,93 (d, $J = 6,8$, 3H); 0,90 (d, $J = 6,8$, 3H).

Diastereómero SRR: ^1H , CDCl_3 , δ ppm 7,62 - 7,52 (m, 2H); 7,44 - 7,36 (m, 3H); 5,06-4,98 (m, 1H); 3,52 (s, 3H); 3,52-3,45 (m, 1H); 3,39 (t, $J = 8,8$, 1H); 3,30-3,14 (m, 1H); 3,10 - 2,96 (m, 1H); 2,60 - 2,40 (m, 1H); 1,96 - 1,80 (m, 2H); 1,58 - 1,45 (m, 1H); 1,43 (s, 9H); 0,96 (m, 6H).

EJEMPLO 1

Sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-Clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina



Se disolvieron *t*-butil éster del ácido (S)-3-((S)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (2,6 g, 10,7 mmol, 1,0 eq.) y 1-cloro-4-fluorobenceno (3,4 mL, 32,0 mmol, 3,0 eq.) en DMF (12 mL, 150 mmol). Se agregó NaH (385 mg, 16,0 mmol, 1,5 eq.) lentamente en tres porciones, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos bajo nitrógeno. La mezcla se calentó a 90 °C durante 3 horas, luego se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo

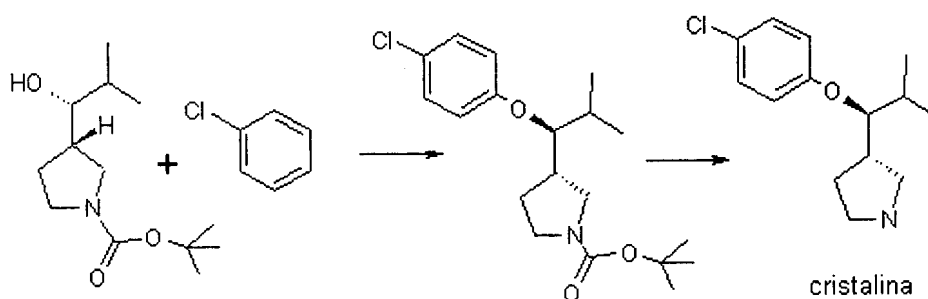
000058

con hexanos (50 mL) y se lavó con agua (50 mL). La capa acuosa se reextrajo con hexanos (50 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron, y se concentraron. El intermediario en bruto protegido con BOC se purificó luego mediante en cromatografía en columna (elución con hexanos y éter, 0-100%, cromatografía flash). La desprotección se llevó a cabo usando HCl 1,2 M en EtOH (150 mL, 180 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La solución se concentró hasta secarse para formar el producto en bruto como una sal mono- HCl . La sal mono- HCl en bruto se disolvió en isopropanol (5 mL) para producir un aceite, que se calentó a 55 °C. Se agregó lentamente diisopropil éter (25 mL) bajo agitación constante para formar una solución homogénea, que se enfrió a temperatura ambiente. El recipiente de reacción se raspó y se agregaron los cristales semilla (a partir del calentamiento y lento enfriamiento de 100 mg de sal HCl en bruto usando condiciones similares) durante el proceso de enfriamiento. Los sólidos formados y la solución se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. Los sólidos se filtraron y se lavaron con diisopropil éter (10 mL) para formar un sólido blanco (1,4 g). El filtrado se concentró y la cristalización se repitió dos veces para formar un total de 2,4 g (a partir de 3 precipitaciones). El precipitado se disolvió en agua y se liofilizó para formar el compuesto del título como un sólido cristalino blancuzco (2,4 g, 99% de pureza).

Preparación alternativa de la sal clorhidrato cristalina del

000059

título



Se combinaron *t*-butil éster del ácido (*S*)-3-((*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidina-1-carboxílico (35,0 g, 144 mmol, 1,0 eq.), trifenilfosfina (41,5 g, 158 mmol, 1,1 eq.), *p*-clorofenol (37,0 g, 288 mmol, 2,0 eq.) y 2-metil-tetrahidrofurano (300 mL) y el recipiente se purgó con nitrógeno. Se agregó lentamente diisopropil azodicarboxilato (31,2 mL, 1,1 eq.) a temperatura ambiente en el lapso de 2 horas. La mezcla luego se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Se agregaron los hexanos (600 mL) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con NaOH 1,0 M en agua (600 mL), se lavó con NaCl acuoso saturado diluido (20 mL), y luego se secó con Na₂SO₄ para formar el intermediario en bruto protegido con BOC. Se agregaron hexanos adicionales (50 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. Los sólidos se filtraron para formar el intermediario en bruto protegido con BOC como aceite espeso, que luego se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (0-10-20% EtOAc en hexanos) para formar *t*-butil éster ácido del (*S*)-3-[(*S*)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico (5,5 g).

Se combinó *t*-butil éster del ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-(4-

000060

clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico (24,7 g, 69,8 mmol, 1,0 eq.) con HCl 3 M en ciclopentil metil éter (200 mL, 8,0 eq.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente toda la noche. La mayor parte del solvente se extrajo mediante evaporación rotatoria para formar un aceite espeso. Se agregó diisopropil éter (300 mL) y el volumen luego se redujo lentamente a ~200 mL mediante evaporación rotatoria para formar una suspensión. La suspensión luego se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se filtró, y la torta filtrada se lavó con diisopropil éter (50 mL) y se secó para formar el compuesto del título (18,1 g, 98,5% de pureza). El producto se resuspendió en 5 volúmenes de EtOAc (temperatura ambiente, calentamiento a 50 °C, luego enfriamiento a temperatura ambiente) para formar el compuesto del título como sólido cristalino (18,0 g, >99% de pureza).

EJEMPLO 2

Difracción de rayos X en polvos

Se obtuvo un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) con un difractómetro PXRD Rigaku Miniflex usando radiación Cu K α (30,0 kV, 15,0 mA). El análisis se realizó con el goniómetro funcionando en modo de barrido continuo de 2° (2 θ) por minuto con un tamaño de paso de 0,03° en un rango de 2 a 40° en ángulo dos theta. Las muestras se prepararon sobre porta-muestras de cuarzo como una capa fina de material en polvo. El instrumento se calibró con un estándar de metal de silicio, dentro de $\pm 0,20^\circ$ ángulo dos theta. En la Figura 1 se ilustra un patrón de PXRD representativo para la sal clorhidrato cristalina de la invención. Las muestras se

000061

trituran a mano antes de su evaluación, a fin de reducir las interferencias del tamaño de partícula con las intensidades relativas.

Los numerosos picos de difracción intensos en los polvos y la línea de base relativamente plana ilustrados en la Figura 1 indican de gran manera que la sal clorhidrato cristalina poseía buena cristalinidad.

EJEMPLO 3

Análisis térmico

Se realizó calorimetría diferencial de barrido (DSC) usando un módulo Modelo Q-100 de TA Instruments con un controlador para análisis térmico. Se recabaron los datos y se analizaron usando el programa informático Thermal Solutions de TA Instruments. Se pesó exactamente alrededor de 1,22 mg de una muestra de la sal clorhidrato cristalina de la invención en una cápsula de aluminio cubierta. Después de un período de 5 minutos de equilibrio isotérmico a 22 °C, la muestra se calentó usando una rampa de calentamiento lineal de 10°C/min desde 22 °C hasta 250 °C. En la Figura 2 se ilustra un termograma de DSC representativo.

El termograma de DSC demuestra que la sal clorhidrato cristalina tiene una excelente estabilidad térmica con un punto de fusión a aproximadamente 128 °C y no se observa descomposición térmica significativa por debajo de aproximadamente 200 °C.

En la Figura 3 se ilustra una traza de TGA representativa, que indica que una muestra de la sal clorhidrato cristalina no perdió una cantidad significativa

000062

en el rango que abarca desde la temperatura ambiente hasta 200 °C, lo que es consistente con la pérdida de humedad residual o solvente.

EJEMPLO 4

Evaluación de sorción de humedad dinámica

Se realizó una evaluación de sorción de humedad dinámica (DMS, del inglés *Dynamic Moisture Sorption*, también conocida como "perfil de sorción-desorción de humedad") para la sal clorhidrato cristalina de la invención usando una microbalanza atmosférica VTI, sistema SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Se usó un tamaño de muestra de aproximadamente 2,73 mg y la humedad se fijó al valor ambiente al inicio del análisis. El análisis de DMS comprendió una velocidad de escaneo de 5% de humedad relativa/el paso en todo el rango de humedad total de 2% de humedad relativa a 90% de humedad relativa. La operación de DMS se realizó a nivel isotérmico a 25 °C. En la Figura 4 se ilustra un perfil de DMS representativo.

El perfil de DMS demuestra que la sal clorhidrato cristalina tiene un perfil de sorción/desorción reversible con higroscopicidad insignificante. La sal clorhidrato cristalina tiene una pequeña ganancia de peso cuando se expone a un rango de humedad amplio que abarca desde 2% de humedad relativa hasta 90% de humedad relativa, y una ganancia de peso de menos de aproximadamente 1,0% cuando se expone a una humedad relativa de hasta 85%, lo que indica que la sal clorhidrato cristalina posee solamente un riesgo mínimo de higroscopicidad por debajo de una humedad relativa

000063

del 85%.

EJEMPLO 5

Solubilidad y estabilidad

La sal clorhidrato cristalina de la invención tiene muy buena solubilidad acuosa en un amplio rango de pH:

SOLUBILIDAD	CONCENTRACIÓN (mg/mL)
HCl pH 2,0	>10
50 mM tamponada en fosfato pH 7,4	>10
Agua no tamponada	>10

La sal clorhidrato cristalina de la invención (concentración de 10 µg/mL) también tiene buena estabilidad sin pérdida de pureza después de un almacenamiento de 3 días a 40 °C:

Solución	Cambio en el Área del Pico de HPLC (%)
50 mM de ácido cítrico pH 2,2	100,5
50 mM tamponada en fosfato pH 7,4	100,0

La sal clorhidrato cristalina de la invención también tiene buena estabilidad a temperatura ambiente sin degradación a los 30 días a concentraciones de 1 mg/mL y 10 mg/mL.

000064

ENSAYO 1*Ensayos de unión de hSERT, hNET y hDAT*

Los ensayos de unión de radioligandos a membranas se usaron para medir la inhibición de la unión del ligando marcado (^3H -citalopram o ^3H -nisoxetina o ^3H -WIN35428) a las membranas que se prepararon a partir de células que expresan el respectivo transportador recombinante humano (hSERT o hNET o hDAT) a fin de determinar los valores pK_i de los compuestos de ensayo en los transportadores.

*Preparación de membranas a partir de células que expresan**hSERT, hNET o hDAT*

Se cultivaron líneas celulares derivadas de riñón embrionario humano (HEK-293) recombinante establemente transfectadas con hSERT o hNET, respectivamente, en medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM, *Eagle's Modified Eagle's Medium*) suplementado con FBS dializado al 10% (para hSERT) o FBS (para hNET), 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de penicilina, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de estreptomicina, 2 mM de L-glutamina y 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ del antibiótico aminoglicósido G418, en una incubadora húmeda de CO_2 al 5% a 37 °C. Cuando los cultivos alcanzaron el 80% de confluencia, las células se lavaron completamente en PBS (sin Ca^{2+} y Mg^{2+}) y se levantaron con 5 mM de EDTA en PBS. Las células se sedimentaron mediante centrifugación, se resuspendieron en tampón de lisis (10 mM de Tris-HCl, pH 7,5 que contenía 1 mM de EDTA), se homogeneizaron, se sedimentaron mediante centrifugación, luego se resuspendieron en 50 mM de Tris-HCl, pH 7,5, y sacarosa al 10% a 4 °C. La concentración de proteínas de la suspensión

000065

de membrana se determinó usando un kit de ensayo de proteínas Bio-Rad Bradford. Las membranas se congelaron rápidamente y se almacenaron a -80°C . Se compraron membranas de ovario de hámster chino que expresaban hDAT (CHO-DAT) al proveedor PerkinElmer y se almacenaron a -80°C .

Ensayos de unión

Se realizaron ensayos de unión en una placa de ensayo de 96 cavidades en un volumen total de 200 μl de tampón de ensayo (50 mM de Tris-HCl, 120 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH 7,4) con 0,5, 1 y 3 μg de proteína de membrana, para SERT, NET y DAT, respectivamente. Se realizaron estudios de unión por saturación, para determinar los valores K_d del radioligando para ^3H -citalopram, ^3H -nisoxetina, o ^3H -WIN35428, respectivamente, usando 12 diferentes concentraciones de radioligando que oscilaban entre 0,005-10 nM (^3H -citalopram); 0,01-20 nM (^3H -nisoxetina) y 0,2-50 nM (^3H -WIN35428). Los ensayos de inhibición para la determinación de los valores pK_i de los compuestos de ensayo se realizaron con 1,0 nM ^3H -citalopram, 1,0 nM ^3H -nisoxetina o 3,0 nM ^3H -WIN35428, a 11 concentraciones diferentes del compuesto de ensayo que oscilaban entre 10 pM y 100 μM .

Se prepararon soluciones madre (10 mM en DMSO) del compuesto de ensayo y se realizaron diluciones seriales usando tampón de dilución (50 mM de Tris-HCl, 120 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH 7,4, 0,1% BSA, 400 μM de ácido ascórbico). La unión no específica del radioligando se determinó en presencia de 1 μM de duloxetina, 1 μM de desipramina o 10 μM de GBR12909 (cada uno en tampón de

000066

dilución) para los ensayos de hSERT, hNET o hDAT, respectivamente.

Después de un período de incubación de 60 minutos a 22 °C (o un período suficiente para alcanzar el equilibrio), las membranas se cosecharon mediante filtración rápida sobre una placa de 96 cavidades UniFilter GF/B, pretratada con 0,3% de polietilenimina, y se lavaron 6 veces con 300 µl de tampón de lavado (50 mM de Tris-HCl, 0,9% NaCl, pH 7,5 a 4 °C). La placa se secó toda la noche a temperatura ambiente, se agregaron aproximadamente 45 µl de MicroScintTM-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad unida mediante espectroscopía de centelleo líquido. Las curvas de inhibición e isothermas de saturación se analizaron usando un programa informático GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los valores IC₅₀ se generaron a partir de las curvas de concentración-respuesta usando el algoritmo de dosis-respuesta sigmoidea (pendiente variable) en Prism GraphPad. Los valores K_d y B_{max} para el radioligando se generaron a partir de los isothermas de saturación usando el algoritmo de optimización global de unión por saturación en Prism GraphPad. Los valores pK_i (logaritmo decádico negativo de K_i) para los compuestos de ensayo se calcularon a partir de los valores IC₅₀ optimizados (*best-fit*), y el valor K_d del radioligando, usando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng & Prusoff (1973) *Biochem. Pharmacol.* 22(23):3099-3108): $K_i = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$, donde [L] = concentración de radioligando.

En este ensayo se evaluó el compuesto del Ejemplo 1

000067

(sal TFA) y se encontró que exhibía un valor pK_i para SERT $\geq 8,0$ y un valor pK_i para NET $\geq 8,0$.

Ensayo 2

Ensayos de captación de neurotransmisores hSERT, hNET y hDAT

Los ensayos de captación de neurotransmisores se usaron para medir la inhibición de la captación de ^3H -serotonina (^3H -5-HT), ^3H -norepinefrina (^3H -NE), y ^3H -dopamina (^3H -DA) en células que expresan el respectivo transportador (hSERT, hNET o hDAT) a fin de determinar los valores pIC_{50} de los compuestos de ensayo en los transportadores.

Ensayos de captación de ^3H -5-HT, ^3H -NE y ^3H -DA

Se cultivaron líneas celulares derivadas de HEK-293 transfectadas en forma estable con hSERT, hNET o hDAT, respectivamente, en medio DMEM suplementado con FBS dializado al 10% (para hSERT) o FBS (para hNET y hDAT), 100 $\mu\text{g/ml}$ de penicilina, 100 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina, 2 mM de L-glutamina y 250 $\mu\text{g/ml}$ del antibiótico aminoglicósido G418 (para hSERT y hNET) o 800 $\mu\text{g/ml}$ (para hDAT), en una incubadora húmeda de CO_2 al 5% a 37 °C. Cuando los cultivos alcanzaron el 80% de confluencia, las células se lavaron completamente en PBS (sin Ca^{2+} y Mg^{2+}) y se levantaron con 5 mM de EDTA en PBS. Las células se cosecharon mediante centrifugación a 1100 rpm durante 5 minutos, se lavaron una vez mediante resuspensión en PBS, y luego se centrifugaron. El sobrenadante se descartó y se resuspendió el sedimento celular, mediante suave trituration, en tampón de bicarbonato Krebs-Ringer a temperatura ambiente que contenía HEPES (10 mM), CaCl_2 (2,2 mM), ácido ascórbico (200 μM) y pargilina (200 μM), pH 7,4.

000068

La concentración final de las células en la suspensión celular fue de $7,5 \times 10^4$ células/ml, $1,25 \times 10^5$ células/ml, y $5,0 \times 10^4$ células/ml para las líneas celulares de SERT, NET y DAT, respectivamente.

Los ensayos de captación de neurotransmisores se realizaron en una placa de ensayo de 96 cavidades en un tampón de ensayo con un volumen total de 400 μ L (tampón de bicarbonato Krebs-Ringer que contenía HEPES (10 mM), CaCl_2 (2,2 mM), ácido ascórbico (200 μ M) y pargilina (200 μ M), pH 7,4) con $1,5 \times 10^4$ y $2,5 \times 10^4$ células, para SERT, NET y DAT, respectivamente. Los ensayos de inhibición para la determinación de los valores pIC_{50} de los compuestos de ensayo se realizaron con 11 concentraciones diferentes, que abarcaban desde 10 pM hasta 100 μ M. Se prepararon soluciones madre (10 mM en DMSO) del compuesto de ensayo y diluciones seriales usando 50 mM de Tris-HCl, 120 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH 7,4, 0,1% BSA, 400 μ M de ácido ascórbico. Los compuestos de ensayo se incubaron durante 30 minutos a 37 °C con las células respectivas, antes de la adición del neurotransmisor radiomarcado, ^3H -5-HT (concentración final de 20 nM), ^3H -NE (concentración final de 50 nM) o ^3H -DA (concentración final de 100 nM). La captación no específica del neurotransmisor se determinó en presencia de 2,5 μ M de duloxetina, 2,5 μ M de desipramina o 10 μ M de GBR-12909 (cada uno en tampón de dilución) para los ensayos de hSERT, hNET o hDAT, respectivamente.

Después de un período de 10 minutos de incubación, a 37 °C, con radioligando, las células se cosecharon mediante

000069

filtración rápida sobre una placa de 96 cavidades UniFilter GF/B, pretratada con BSA al 1%, y se lavaron 6 veces con 650 μ l de tampón de lavado (PBS helado). La placa se secó toda la noche a 37 °C, se agregaron ~ 45 μ l de MicroScintTM-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad incorporada mediante espectroscopía de centelleo líquido. Las curvas de inhibición se analizaron usando el paquete de programas informáticos GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los valores IC₅₀ se generaron a partir de las curvas concentración-respuesta usando el algoritmo dosis-respuesta sigmoidea (pendiente variable) en Prism GraphPad.

En este ensayo se evaluó el compuesto del Ejemplo 1 (sal TFA) y se encontró que exhibía un valor pIC₅₀ de inhibición de la recaptación de la serotonina de $\geq 8,0$ y un valor pIC₅₀ de inhibición de la recaptación de la norepinefrina de $\geq 8,0$.

ENSAYO 3

Estudios de ocupación de los transportadores de SERT y NET ex vivo

Se usaron ensayos de captación de neurotransmisores y unión de radioligandos ex vivo para determinar la ocupación in vivo de SERT y NET, en regiones seleccionadas del cerebro, después de la administración in vivo (aguda o crónica) de los compuestos de ensayo. Después de la administración del compuesto de ensayo (mediante vía intravenosa, intraperitoneal, oral, subcutánea u otra) en la dosis apropiada (0,0001 a 100 mg/kg), se sacrificaron las ratas ($\geq$ n=4 por grupo) en momentos específicos (10 minutos a 48

000070

horas) mediante decapitación, y el cerebro se disecó en hielo. Las regiones cerebrales relevantes fueron disecadas, congeladas y almacenadas a -80°C hasta su uso.

Ensayos de unión de radioligandos para SERT y NET ex vivo

Para los ensayos de unión de radioligandos ex vivo, se monitorizaron las tasas iniciales de asociación de los radioligandos selectivos para SERT (^3H -citalopram), y NET (^3H -nisoxetina) con productos homogeneizados en bruto de cerebro de rata, preparados a partir de animales tratados con el compuesto de ensayo y vehículo. Véase Hess y colaboradores (2004) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 310(2):488-497. Los productos homogeneizados de tejido cerebral en bruto se prepararon al homogeneizar pedazos de tejido congelados en tampón a 0,15 ml (por mg de peso húmedo) de 50 mM de Tris-HCl, 120 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH 7,4. Los ensayos de asociación de radioligandos se realizaron en una placa de ensayo de 96 cavidades en un tampón de ensayo con un volumen total de 200 μl (50 mM de Tris-HCl, 120 mM de NaCl, 5 mM de KCl, 0,025% BSA, pH 7,4) con tejido de peso en húmedo de 650 μg (equivalente a proteína de 25 μg). Los productos homogeneizados se incubaron durante un período de hasta 5 minutos con ^3H -citalopram (3 nM) y ^3H -nisoxetina (5 nM), respectivamente, antes de terminar el ensayo mediante filtración rápida sobre una placa de 96 cavidades UniFilter GF/B, pretratada con polietilenimina al 0,3%. Los filtros luego se lavaron 6 veces con 300 μl de tampón de lavado (50 mM de Tris-HCl, 0,9% NaCl, pH 7,4 a 4°C). La unión no específica del radioligando se determinó en presencia de 1 μM

000071

de duloxetina, ó 1 μM de despiramina, para ^3H -citalopram o ^3H -nisoxetina, respectivamente. La placa se secó toda la noche a temperatura ambiente, se agregaron ~ 45 μl de MicroScintTM-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radioactividad unida mediante espectroscopía de centelleo líquido. Las tasas iniciales de asociación de ^3H -citalopram y ^3H -nisoxetina se determinaron mediante regresión lineal usando un paquete de programas informáticos GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se determinó la tasa promedio de asociación de radioligandos a los productos homogeneizados de tejido cerebral obtenidos de animales tratados con vehículo. El % de ocupación de los compuestos de ensayo se determinó luego usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de ocupación} = 100 \times (1 - (\text{asociación de tasa inicial para el tejido tratado con el compuesto de ensayo} / \text{asociación de tasa media para el tejido tratado con el vehículo}))$$

Los valores ED_{50} se determinaron al trazar el log 10 de la dosis del compuesto de evaluación frente al % de ocupación. Los valores ED_{50} se generaron a partir de las curvas de concentración-respuesta usando el algoritmo dosis-respuesta sigmoidea (pendiente variable) en GraphPad Prism.

Ensayos de captación de SERT y NET ex vivo

Los ensayos de captación de neurotransmisores ex vivo, en los cuales se evalúa la captación de ^3H -5-HT o ^3H -NE en productos homogeneizados en bruto de cerebro de rata, preparados a partir de animales tratados con el compuesto de evaluación y vehículo, se usaron para medir la ocupación de

000072

los transportadores de SERT y NET *in vivo*. Véase Wong y colaboradores (1993) *Neuropsychopharmacology* 8(1):23-33. Los productos homogeneizados de tejido cerebral en bruto se prepararon al homogeneizar pedazos de tejido congelados en 0,5 ml (por mg en peso húmedo) de 10 mM de tampón HEPES, pH 7,4, que contenía sacarosa 0,32 M, 200 μ M de ácido ascórbico y 200 μ M de pargilina, a 22 °C. Los ensayos de captación de neurotransmisores se realizaron en una placa Axygen de 96 cavidades en un volumen total de 350 μ l de tampón de ensayo (tampón de bicarbonato Krebs-Ringer con 10 mM de HEPES, 2,2 mM de CaCl_2 , 200 μ M de ácido ascórbico y 200 μ M de pargilina, pH 7,4) con 50 μ g de proteína. Los productos homogeneizados se incubaron durante 5 minutos a 37 °C con ^3H -5-HT (20 nM) y ^3H -NE (50 nM), respectivamente, antes de terminar el ensayo mediante filtración rápida sobre una placa UniFilter GF/B de 96 cavidades, pretratada con BSA al 1%. La placa se lavó 6 veces con 650 μ l de tampón de lavado (PBS helado) y se secó toda la noche a 37 °C, antes de la adición de ~ 45 μ l de MicroScintTM-20 (Perkin Elmer). Se cuantificó la radioactividad incorporada mediante espectroscopía de centelleo líquido. Se determinó la captación no específica de neurotransmisores en ensayos paralelos en los cuales los productos homogeneizados de tejidos se incubaron con ^3H -5-HT (20 nM) o ^3H -NE (50 nM) durante 5 minutos a 4 °C.

ENSAYO 4

Otros Ensayos

Otros ensayos que se usan para evaluar las propiedades farmacológicas de los compuestos de ensayo incluyen, mas no

000073

se limitan a: ensayos de cinética de unión de ligandos en frío (Motulsky y Mahan (1984) *Molecular Pharmacol.* 25(1):1-9) con membranas preparadas a partir de células que expresan hSERT o hNET; ensayos de unión de radioligandos a membranas convencionales usando compuesto de ensayo radiomarcado, por ejemplo, titulado; ensayos de unión de radioligandos usando tejido nativo de, por ejemplo, cerebro de roedor o de humano; ensayos de captación de neurotransmisores usando plaquetas de roedor o de humano; ensayos de captación de neurotransmisores usando preparaciones de sinaptosomas en bruto o puras del cerebro de ratón.

ENSAYO 5

Prueba de inyección intraplantar de formol

Se evalúan los compuestos en cuanto a su habilidad para inhibir la respuesta conductual evocada por una inyección de 50 µl de formol (5%). Se fija una banda metálica a la extremidad inferior izquierda de ratas macho Sprague-Dawley (200-250 g) y cada rata se acostumbra a la banda durante 60 minutos dentro de un cilindro plástico (15 cm de diámetro). Los compuestos se preparan en vehículos farmacéuticamente aceptables y se administran a nivel sistémico (*i.p.*, *p.o.*) en momentos predesignados antes de la prueba con formol. Los comportamientos nociceptivos espontáneos que consisten en el estremecimiento de la pata trasera inyectada (con la banda) se cuentan de manera continua durante 60 minutos usando un analizador de nocicepción automatizado (UCSD Anesthesiology Research, San Diego, CA). Las propiedades antinociceptivas de los artículos de ensayo se determinan al comparar el número

000074

de estremecimientos en las ratas tratadas con vehículo y compuesto (Yaksh y colaboradores, "An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay" (2001) *J. Appl. Physiol.* 90(6):2386-2402).

ENSAYO 6

Modelo de ligadura de los nervios espinales

Se evalúan los compuestos en cuanto a su habilidad de revertir alodinia táctil (sensibilidad incrementada a estímulos mecánicos inocuos) inducida por lesión del nervio. Las ratas macho Sprague-Dawley se preparan quirúrgicamente tal como se describe en Kim y Chung *An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat* (1992) *Pain* 50(3):355-363. La sensibilidad mecánica se determina como una ausencia de respuesta del 50% a los estímulos mecánicos inocuos (Chaplan y colaboradores, *Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw* (1994) *J. Neurosci. Methods* 53(1):55-63) antes y después de la lesión del nervio. Entre una y cuatro semanas posteriores a la cirugía, los compuestos se preparan en vehículos farmacéuticamente aceptables y se administran a nivel sistémico (*i.p.*, *p.o.*). El grado de sensibilidad mecánica inducida por lesión del nervio antes y después del tratamiento sirve como un índice de las propiedades antinociceptivas de los compuestos.

Si bien la presente invención ha sido descrita con referencia a los aspectos o formas de realización específicos de la misma, las personas versados en el arte entenderán que es posible realizar varios cambios o sustituir los

000075

equivalentes sustituidos sin alejarse del verdadero espíritu y alcance de la invención. Asimismo, siempre que sea permitido por las normas y reglamentaciones aplicables en materia de patentes, todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes citadas en la presente se incorporan por referencia en su totalidad al mismo grado como si cada documento hubiera sido individualmente incorporado por referencia en la presente.

000076

REIVINDICACIONES

1. Una sal cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina y ácido clorhídrico en una relación molar 1:1, CARACTERIZADA porque tiene un patrón de difracción de rayos X en polvos que comprende picos de difracción a valores 2θ de $8,78 \pm 0,20$; $15,26 \pm 0,20$; $19,08 \pm 0,20$; $20,36 \pm 0,20$; $21,50 \pm 0,20$ y $25,46 \pm 0,20$.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque tiene uno o más picos de difracción adicionales a valores 2θ seleccionados entre $26,42 \pm 0,20$; $30,65 \pm 0,20$; $28,91 \pm 0,20$; $24,77 \pm 0,20$; $14,42 \pm 0,20$; $16,74 \pm 0,20$ y $5,20 \pm 0,20$.

3. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, CARACTERIZADO porque tiene un patrón de difracción de rayos X en polvos en el cual las posiciones del pico concuerdan sustancialmente con las posiciones del pico del patrón ilustrado en la Figura 1.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, CARACTERIZADO porque tiene una traza de calorimetría diferencial de barrido que tiene un punto de fusión de aproximadamente 128°C .

5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADO porque tiene una traza

000077

de calorimetría diferencial de barrido que concuerda sustancialmente con la ilustrada en la Figura 2.

6. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA porque comprende un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, CARACTERIZADA porque además comprende un agente terapéutico secundario seleccionado entre: agentes anti-Alzheimer, anticonvulsivos, antidepresivos, agentes anti-Parkinson, inhibidores de la recaptación de la serotonina-norepinefrina duales, agentes antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la recaptación de la norepinefrina, agonistas opioides, antagonistas opioides, inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, bloqueadores de los canales de sodio, simpaticolíticos, y combinaciones de los mismos.

8. Un proceso para preparar el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO porque comprende el paso de:

(a) tratar una sal clorhidrato de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina con un solvente polar para formar una primera composición o desproteger t-butil éster del ácido (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina-1-carboxílico con ácido clorhídrico en

000078

un diluyente inerte para formar una primera composición; y

(b) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición a partir de la cual se forma el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, CARACTERIZADO porque el paso (b) comprende:

(i) agregar un solvente no polar para formar una segunda composición;

(ii) enfriar opcionalmente para efectuar la cristalización; y

(iii) aislar los sólidos resultantes para obtener el compuesto.

10. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, CARACTERIZADO porque el solvente polar es isopropanol.

11. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, CARACTERIZADO porque la desprotección se realiza con HCl 3 M y el diluyente inerte es ciclopentil metil éter.

12. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, CARACTERIZADO porque el solvente no polar es diisopropil éter.

13. Un proceso para purificar (S)-3-[(S)-1-(4-

000079

clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina, CARACTERIZADO porque comprende preparar el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO porque es para uso en terapia.

15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, CARACTERIZADO porque es para tratar un trastorno de dolor, un trastorno depresivo, un trastorno afectivo, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, un trastorno cognitivo, incontinencia urinaria por estrés, síndrome de fatiga crónica, obesidad, o síntomas vasomotores asociados con la menopausia.

16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 15, CARACTERIZADO porque el trastorno de dolor se selecciona entre dolor neuropático, fibromialgia, lumbalgia crónica, y osteoartritis.

17. Medicamento CARACTERIZADO porque contiene un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

18. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO porque es para la fabricación de un medicamento.

000080

19. El uso de acuerdo con la reivindicación 18, CARACTERIZADO porque el medicamento es para el tratamiento de un trastorno de dolor, un trastorno depresivo, un trastorno afectivo, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, un trastorno cognitivo, incontinencia urinaria por estrés, síndrome de fatiga crónica, obesidad, o síntomas vasomotores asociados con la menopausia.

000001

RESUMEN

La invención provee una sal clorhidrato cristalina de (S)-3-[(S)-1-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilpirrolidina. Esta invención también provee composiciones farmacéuticas que comprenden la sal cristalina, los procesos e intermediarios para preparar la sal cristalina, y los métodos de uso de la sal cristalina para tratar enfermedades.

000082

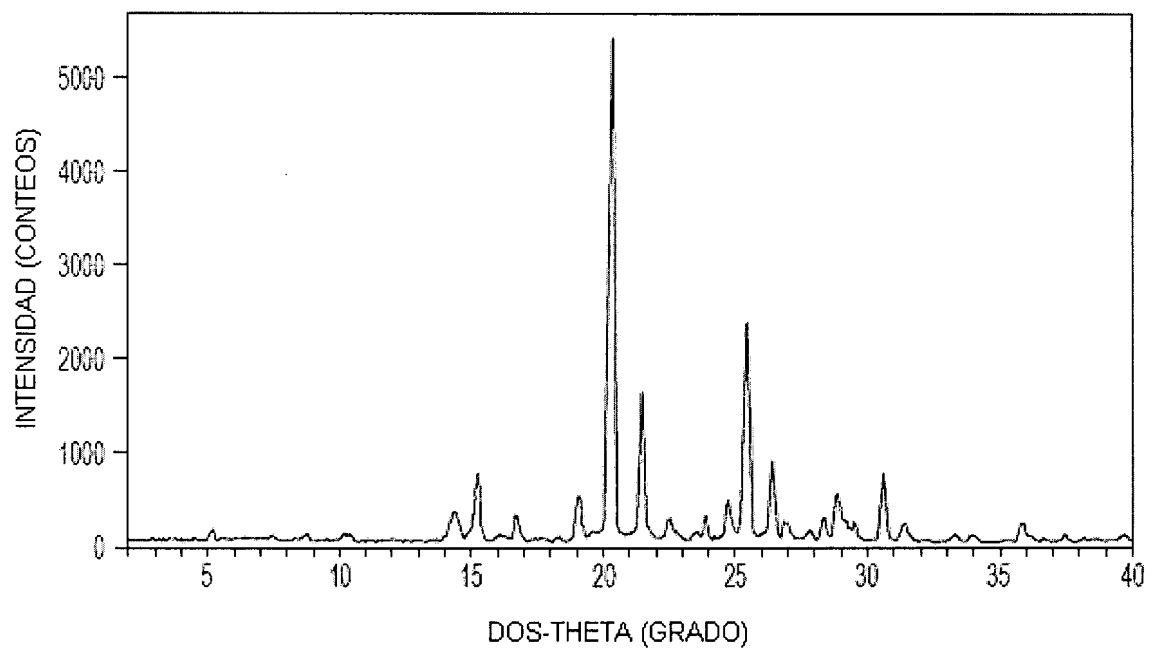


FIG. 1

000083

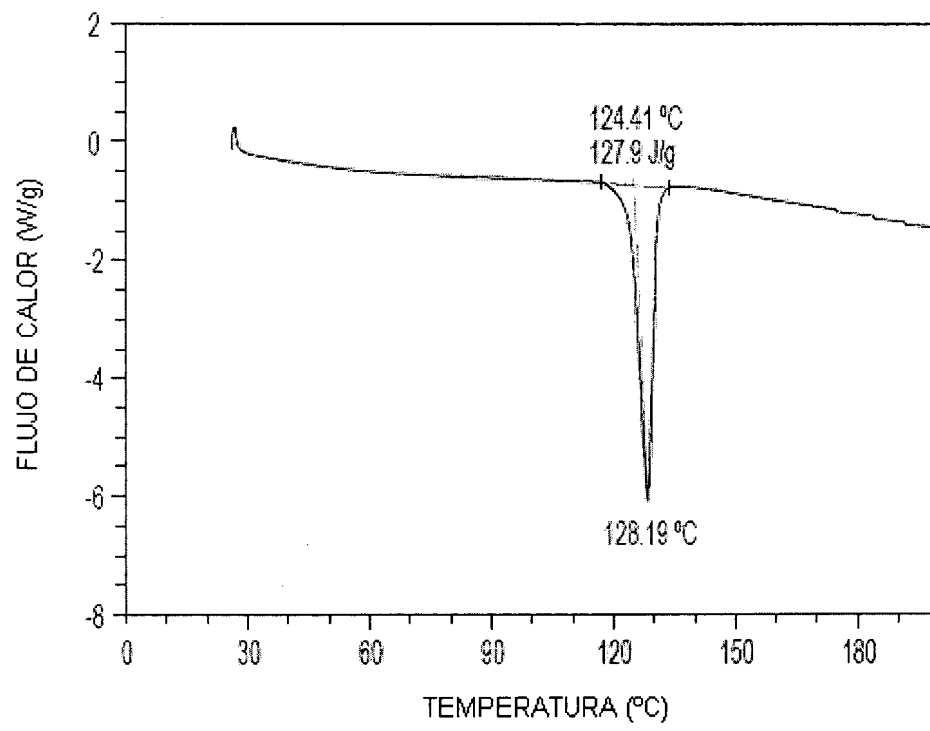


FIG. 2

000084

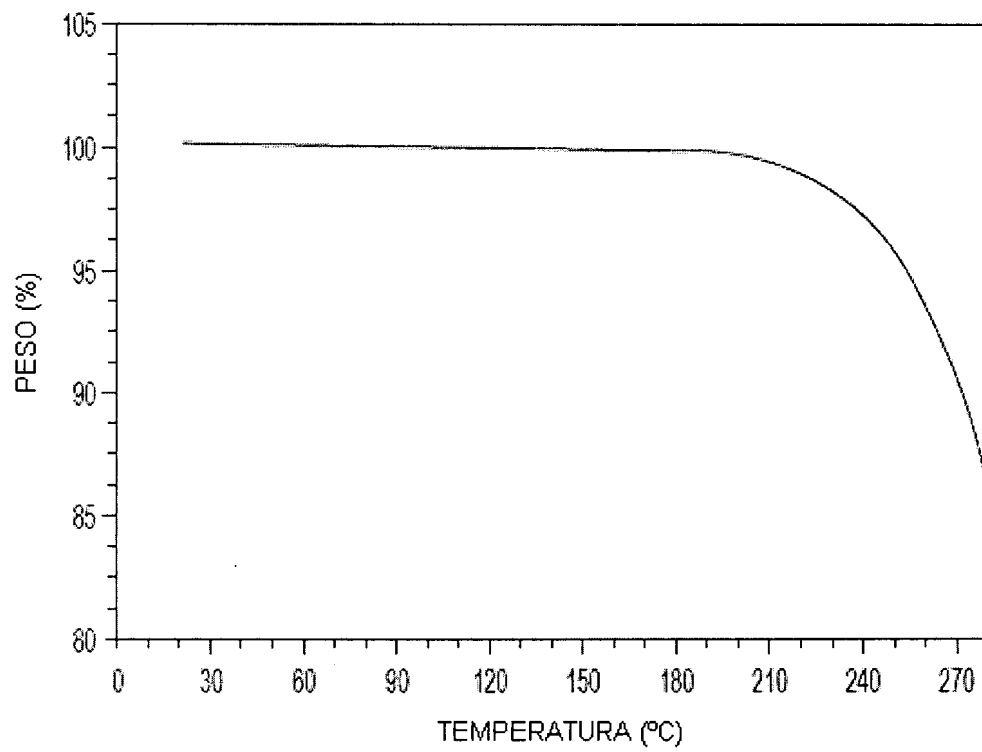


FIG. 3

000085

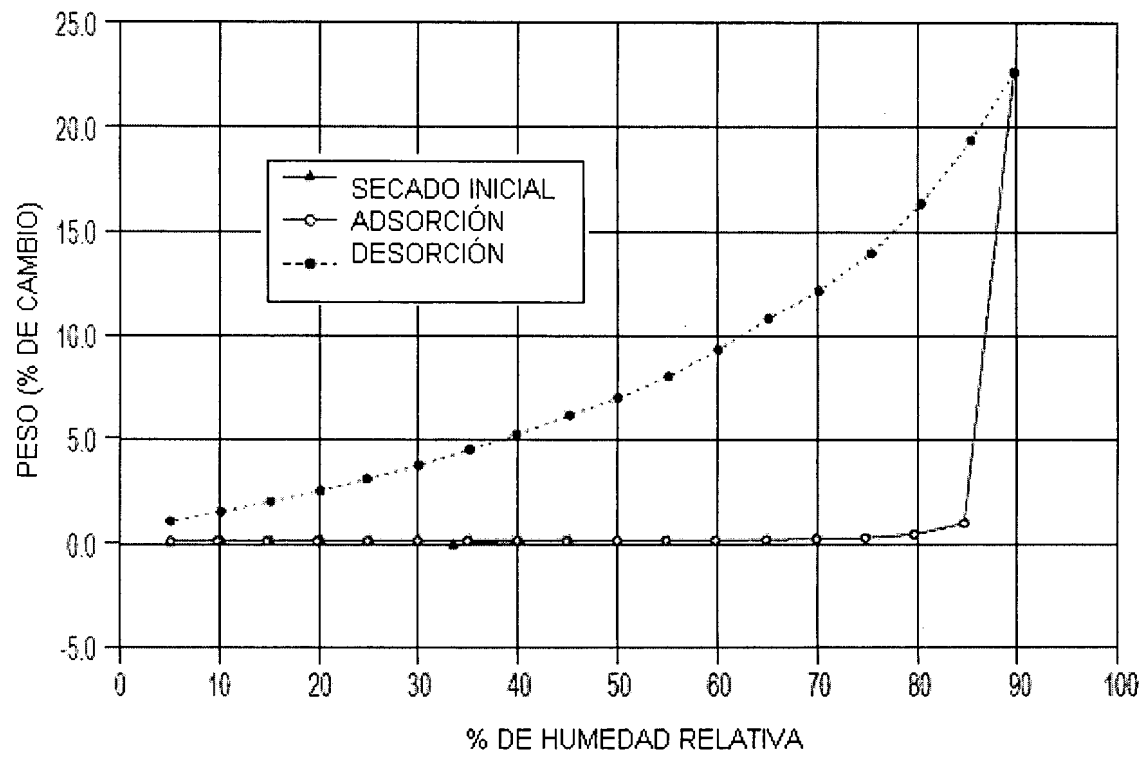


FIG. 4

000096

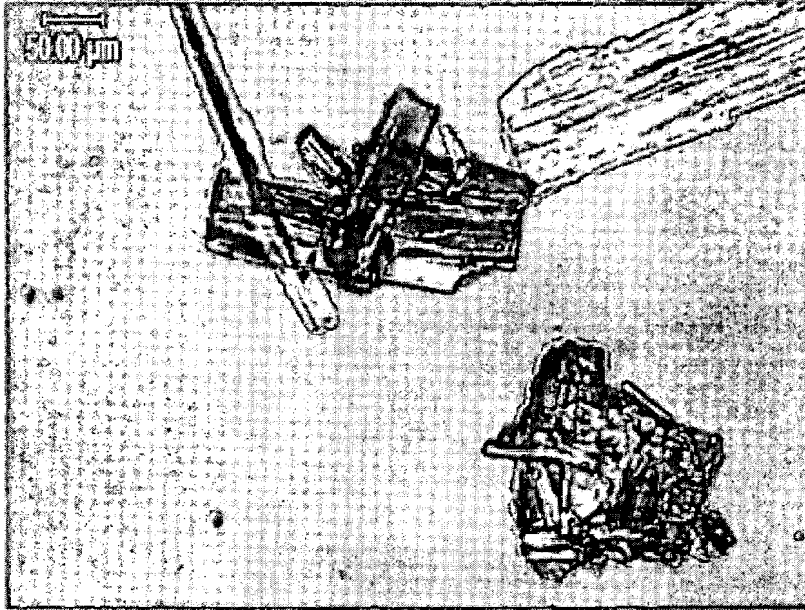


FIG. 5

000087

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
12 January 2012 (12.01.2012)

(10) International Publication Number
WO 2012/006205 A1

PCT

(51) International Patent Classification:
C07D 207/08 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2011/042518

(22) International Filing Date:
30 June 2011 (30.06.2011)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/362,773 9 July 2010 (09.07.2010) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **THER-AVANCE, INC.** [US/US]; 901 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **SAITO, Daisuke** Roland [US/US]; 1600 E. 3rd Avenue #2803, San Mateo, California 94401 (US). **RAPTA, Miroslav** [SK/US]; 411 E. Duane Avenue, Sunnyvale, California 94085 (US).

(74) Agents: **HAGENAH, Jeffrey A.** et al.; Theravance, Inc., 901 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080 (US).

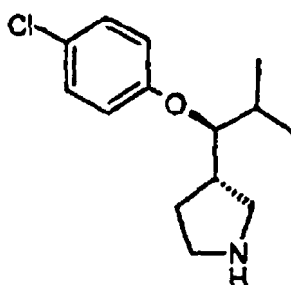
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: CRYSTALLINE FORM OF A 3-PHENOXYMETHYLPYRROLIDINE COMPOUND



(I)

000088

(57) Abstract: The invention provides a crystalline hydrochloride salt of (S)-3-[(S)-1-(4-chlorophenoxy)-2-methylpropyl]pyrrolidine. This invention also provides pharmaceutical compositions comprising the crystalline salt, processes and intermediates for preparing the crystalline salt, and methods of using the crystalline salt to treat diseases, (formula).

WO 2012/006205 A1

P-1465

P-220-00

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

Jeffrey A. Hagenah

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de
THERAVANCE, INC.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de
Estado de Delaware, Estados Unidos de América.

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en
901 Gateway Blvd, South San Francisco, CA 94080, Estados Unidos

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned
Jeffrey A. Hagenah

legal representative(s) of
THERAVANCE, INC.

an organization existing under the laws of
State of Delaware, U.S.A.

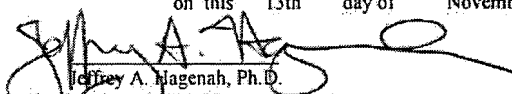
and in present execution of its business activity, domiciled at
901 Gateway Blvd, South San Francisco, CA 94080, U.S.A.

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs; plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

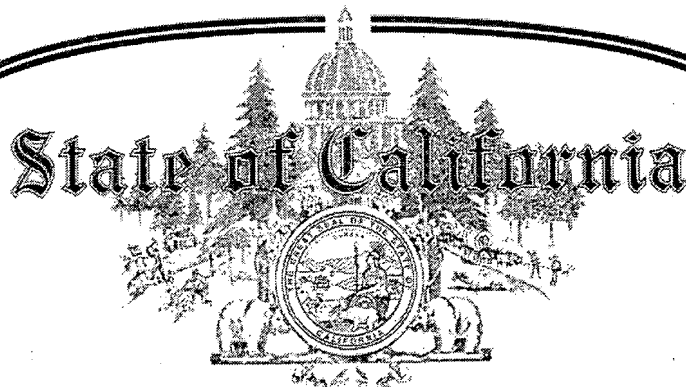
Granted and signed at South San Francisco, California, U.S.A.

on this 13th day of November of 2008


Jeffrey A. Hagenah, Ph.D.
Vice President & Chief Patent Counsel
Firma / signature

000089

(See attached Acknowledgment.)



SECRETARY OF STATE

Requested for use in Colombia.

Not for use within the United States of America.

The purpose of the Apostille is to certify the authenticity of the signature of the official signing the document, the capacity in which the official signing the document has acted, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp.

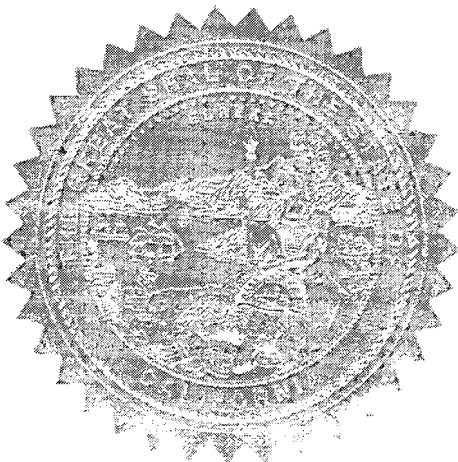
APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*
This public document
2. *has been signed by Maria Chuakay*
3. *acting in the capacity of Notary Public, State of California*
4. *bears the seal/stamp of Maria Chuakay, Notary Public,*
State of California

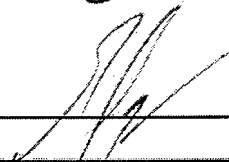
CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 20th day of November 2008*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 612157*
9. *Seal/Stamp:*



10. Signature

Jana Bowen
Secretary of State

BY 



000000

P-220-CO Power of Attorney

ACKNOWLEDGMENT

State of California
County of San Mateo

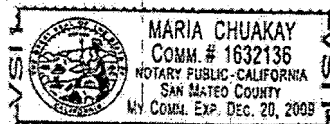
On 13 November 2008 before me, Maria Chuakay, Notary Public
(insert name and title of the officer)

personally appeared Jeffrey Hagenah
who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are
subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in
his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the
person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing
paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

Signature Maria Chuakay (Seal)



000091

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la APOSTILLA No. 612157 de 20 DE NOVIEMBRE DE 2008 expedida en Estados Unidos de América correspondiente a un documento de poder en inglés y español (razón por la cual no se hace traducción adicional), otorgado por la sociedad THERAVANCE, INC, domiciliada en San Francisco, California, Estados Unidos de América, el 13 de noviembre de 2008, firmado por Jeffrey A. Hagenah, Ph.D., Vicepresidente & Consejero Principal de Patentes.

RECONOCIMIENTO

Estado De California
Condado de San Mateo

El 13 de noviembre de 2008 ante mí, MARIA CHUAKAY, Notario Público,

Nombre y Título del Oficial

personalmente compareció Jeffrey A. Hagenah

Quien probó ante mí con base en evidencia satisfactoria ser la persona(s) cuyo(s) nombre(s) está(n) inscritos en el instrumento anexo y me reconoció que él/ella/ellos ejecutaron el mismo en su capacidad autorizada y que por su(s) firma(s) en el instrumento la(s) persona(s) o la entidad a nombre de la cual dicha(s) persona(s) actuó(aron), ejecutó el instrumento.

Certifico bajo LA PENA DE PERJURIO bajo las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

EN TESTIMONIO, pongo mi firma y sello oficial,

Firma y sello: Sello: María Chuakay
Comisión # 1632136
Notario Público-California
Condado de San Mateo

Mi comisión termina el 20 de diciembre de 2009


JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

000092

Estado de California
Secretario de Estado

Requerido para uso en Colombia.
No para uso en los Estados Unidos de América.
El propósito de la Apostilla es certificar la autenticidad de la firma del oficial que firma el documento, la capacidad en la cual el oficial que firma el documento ha actuado y, cuando sea apropiado, la identidad del sello o estampilla.

APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. Ha sido firmado por Maria Chuakay

3. Actuando en su calidad de Notario Público, Estado de California

4. Lleva el sello/estampilla de Maria Chuakay, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. En Sacramento, California

6. El día 20 de noviembre de 2007

7. Por Secretario de Estado Diputado, Estado de California

8. NO. 612157

9. Sello/Estampilla

(fdo) firma ilegible
Secretario de Estado

Por (firma ilegible)

Sello: Gran Sello del Estado de California y Sello de la Oficina del Secretario de Estado

10. Firma

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2008 DIC -4
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ
A 9:52

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
8499319
DOCUMENTO QUE SE PONE
A DISPOSICION DE LAS
ASISTENTES DE ENFERMERIA

JIMENA ESCOBAR DRIE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

000093

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 001192
		Bogotá D.C., Enero 08 de 2013 - 09:03:48

RECIBIDO DE : CLARKE MODET	NI 830.008.643
----------------------------	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	545471485	04/01/2013	38.747.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00 500.000.00
			\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-003305- -00000-0000
Fecha: 2013-01-09 15:20:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 96

000094

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
-/-

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 000330
		Bogotá D.C., Enero 03 de 2013 - 09:06:41

RECIBIDO DE : CLARKE MODET	NI 830.008.643	RE
----------------------------	----------------	----

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	95162	14/03/2012		210.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111269	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111270	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111271	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111272	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111275	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	111276	24/10/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	119298	16/11/2012		465.000.00
RECIBO DE CA	999999999	119310	16/11/2012		310.000.00
RECIBO DE CA	999999999	119312	16/11/2012		310.000.00
RECIBO DE CA	999999999	119313	16/11/2012		310.000.00
RECIBO DE CA	999999999	119318	16/11/2012		170.000.00
RECIBO DE CA	999999999	135079	05/12/2012		490.000.00
RECIBO DE CA	999999999	139220	17/12/2012		590.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	5 TRAMITES DE SOL. DE MODELO DE UTILIDAD	270.000.00	270.000.00
			\$270.000.00

SON: **DOSCIENTOS SETF***

Web: www.sic.gov.co

Enero 3 de 2013 - 09:06:44

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-003305-00000-0000

Fecha: 2013-01-09 15:20:12

Tra. 11 PATENTE IYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 96

Tax: (571) 5870284 Linea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

000095

23619

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

000096

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 3 de 2013 - 09:06:44



No. 13-003305- -00000-0000

Fecha: 2013-01-09 15:20:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 96

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE

- ☐ Indicación que se solicita 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 (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita 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 ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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