

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 941**

51 Int. Cl.:
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09075124 .9**
96 Fecha de presentación: **04.03.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **2085395**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.08.2009**

54 Título: **COMPUESTO DE ARILVINILAZACICLOALCANO Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN Y USOS DE ELLOS.**

30 Prioridad:
05.03.2003 US 379868

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.08.2012

73 Titular/es:
TARGACEPT, INC.
200 EAST FIRST STREET, SUITE 300
WINSTON-SALEM, NC 27101, US

72 Inventor/es:
Genevois-Borella, Arielle y
Miller, Craig Harrison

74 Agente/Representante:
Urizar Anasagasti, José Antonio

ES 2 385 941 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Campo de la invención

[0001] La presente invención describe composiciones farmacéuticas que incorporan compuestos capaces de afectar a los receptores nicotínicos acetilcolinérgicos (nAChR), por ejemplo, como moduladores de subtipos de receptores nicotínicos específicos. La presente invención también describe métodos para el tratamiento de una amplia variedad de condiciones y trastornos, aquellos particularmente asociados con la disfunción de los sistemas nerviosos autónomo y central.

Antecedentes de la invención

[0002] Se ha postulado que la nicotina tiene un número de efectos farmacológicos. Ver, por ejemplo, Pullan *et al.*, N. Engl. J. Med 330:811-815 (1994). Ciertos de estos efectos pueden estar relacionados a los efectos sobre la liberación de un neurotransmisor. La liberación de acetilcolina, dopamina, norepinefrina, serotonina y glutamato en la administración de nicotina ha sido postulado (Rowell *et al.*, J. Neurochem. 43:1593 (1984); Rapier *et al.*, J. Neurochem. 50:1123 (1988); Sandor *et al.*, Brain Res. 567:313 (1991) and Vizi, Br. J. Pharmacol. 47:765 (1973); Hall *et al.*, Biochem. Pharmacol. 21:1829 (1972); Hery *et al.*, Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 296:91 (1977); y Toth *et al.*, Neurochem Res. 17:265 (1992)). Reportes confirmatorios y estudios adicionales recientes han incluido la modulación en el Sistema Nervioso Central (SNC) del glutamato, óxido nítrico, GABA, taquiquinas, citoquinas y péptidos (revisado en Brioni *et al.*, Adv. Pharmacol. 37:153 (1997)). Además, la nicotina potencia supuestamente el comportamiento farmacológico de ciertas composiciones farmacéuticas usadas para tratar ciertos trastornos. Ver, por ejemplo, Sanberg *et al.*, Pharmacol. Biochem. & Behavior 46:303 (1993); Harsing *et al.*, J. Neurochem. 59:48 (1993) and Hughes, Proceedings from Intl. Symp. Nic. S40 (1994). Adicionalmente, efectos neuroprotectores de la nicotina han sido postulados, ver, por ejemplo, Sjak-shie *et al.*, Brain Res. 624: 295 (1993). Otros diversos efectos farmacológicos beneficiosos han sido también postulados. Ver, por ejemplo, Decina *et al.*, Biol. Psychiatry 28: 502 (1990); Wagner *et al.*, Pharmacopsychiatry 21:301 (1988); Pomerleau *et al.*, Addictive Behaviors 9:265 (1984); Onaivi *et al.*, Life Sci. 54(3):193 (1994); Tripathi *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 221:91 (1982) y Hamon, Trends in Pharmacol. Res. 15: 36 (1994).

[0003] Diversos compuestos que marcan los nAChR han sido reportados por ser útiles en una amplia variedad de condiciones y trastornos. Ver, por ejemplo, Williams *et al.*, DN&P 7(4):205 (1994); Americ *et al.*, CNS Drug Rev. 1 (1):1 (1995); Americ *et al.*, Exp. Opin. Invest. Drugs 5(1):79 (1996); Bencherif *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 279:1413 (1996); Lippiello *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 279:1422 (1996); Damaj *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 291: 390 (1999); Chiari *et al.*, Anesthesiology 91: 1447 (1999); Lavand'homme y Eisenbach, Anesthesiology 91: 1455 (1999); Holladay *et al.*, J. Med. Chem. 40 (28): 4169 (1997); Bannon *et al.*, Science 279: 77 (1998); PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, y los números de las patentes de los EE.UU. 5.583.140 para Bencherif *et al.*, 5.597.919 para Dull *et al.*, 5.604.231 para Smith *et al.* y la 5.852.041 para Cosford *et al.* Los compuestos nicotínicos son reportados por ser particularmente útiles para el tratamiento de una amplia variedad de trastornos del SNC. De hecho, una amplia variedad de compuestos nicotínicos han sido reportados por tener propiedades terapéuticas. Ver, por ejemplo, Bencherif and Schmitt, Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders 1 (4): 349-357 (2002), Levin and Rezvani, Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders 1 (4): 423-431 (2002), O'Neill, *et al.*, Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders 1 (4): 399-411 (2002), los números de patentes de los EE.UU. 5.1871.166 para Kikuchi *et al.*, 5.672.601 para Cignarella, PCT WO 99/21834 y PCT WO 97/40049, la aplicación de patente del Reino

Unido GB 2295387 y la aplicación de patente europea 297.858.

[0004] N. M. Silva *et al*, en European Journal of Medicinal Chemistry, Editions Scientifique Elsevier, páginas 163-170, describe nuevos derivados de isoxazoles designados como candidatos a ligandos de receptores nicotínicos acetilcolinérgicos.

5 **[0005]** La WO 03/008559 describe la preparación de una gama de azaciclos los cuales se pretende que son análogos de la colina en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos.

[0006] Las WO 97/46554 y US-B-6.437.138 describen ambos compuestos éter heterocíclicos de 3-piridiloximetil, los cuales se considera que son compuestos nicotínicos colinérgicos neuronales útiles para el control de la transmisión sináptica.

10 **[0007]** La WO 01/32264 describe compuestos arilolefinicos y azaciclos acetilínicos y sus aplicaciones como inhibidores de los receptores nicotínicos colinérgicos.

[0008] La US-A-5.585.398 describe un grupo de compuestos de piridina y sus aplicaciones como moduladores de los receptores de acetilcolina.

15 **[0009]** La WO 01/19817 describe una serie de compuestos de 3-pirrolidinil-oxi-3'-piridil-éter (preferiblemente 3-pirrolidinil-metoxi-3'-(5'- y/o 6 sustituidos) piridil-éter) y sus aplicaciones en el control de la liberación de neurotransmisores en mamíferos.

20 **[0010]** Los trastornos del SNC son un tipo de trastorno neurológico. Los trastornos del SNC pueden ser inducidos por drogas; pueden ser atribuidos a una predisposición genética, infección o trauma; o pueden ser de etiología desconocida. Los trastornos del SNC comprenden trastornos neuropsiquiátricos, enfermedades neurológicas y enfermedades mentales, e incluyen enfermedades neurodegenerativas, trastornos de comportamiento, trastornos cognitivos y trastornos cognitivo afectivos. Existen varios trastornos del SNC cuyas manifestaciones clínicas han sido atribuidas a una disfunción del SNC (i.e., trastornos que resultan de niveles inadecuados de liberación del neurotransmisor, propiedades inadecuadas de los receptores del neurotransmisor, y/o interacción inapropiada entre los neurotransmisores y los receptores del neurotransmisor). Varios trastornos del SNC pueden ser atribuidos a deficiencias de acetilcolina, dopamina, norepinefrina y/o serotonina.

25 **[0011]** Trastornos del SNC relativamente comunes incluyen la demencia presenil (inicio temprano de la enfermedad de Alzheimer), demencia senil (demencia del tipo Alzheimer), demencia micro-infarto, demencia relacionada al sida, demencia vascular, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, enfermedad de Pick, el parkinsonismo incluyendo la enfermedad de Parkinson, la demencia con cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, disquinesia tardía, hiperquinesia, epilepsia, manía, trastorno por déficit de la atención, ansiedad, dislexia, esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos y el síndrome de Tourette.

30 **[0012]** Existen subtipos de nAChR tanto en los sistemas nerviosos central y periférico, pero la distribución de los subtipos es heterogénea. Por ejemplo, los subtipos que son predominantes en el cerebro de vertebrados son $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, y $\alpha 3 \beta 2$, mientras que aquellos que predominan en los ganglios autonómicos son los $\alpha 3 \beta 4$ y aquellos de la unión neuromuscular son los $\alpha 1 \beta 1dg$ y $\alpha 1 \beta 1de$ (ver por ejemplo Dwoskin *et al.*, Exp. Opin. Ther. Patents 10: 1561 (2000) y Schmitt and Bencherif, Annual Reports in Med Chem. 35: 41 (2000)). Una limitación de algunos compuestos nicotínicos es que inducen varios efectos farmacológicos no deseados debido a sus interacciones con los nAChR en el tejido periférico (por ejemplo, mediante la estimulación de los subtipos de nAChR muscular y ganglionar). Sería deseable tener compuestos, composiciones y métodos para prevenir y/o tratar varias condiciones o trastornos (e.g., trastornos del SNC), incluyendo la atenuación de

los síntomas de estos trastornos, donde los compuestos manifiesten una farmacología nicotínica con un efecto beneficioso sobre los receptores nAChR del SNC (e.g., sobre el funcionamiento del SNC), pero sin efectos asociados significativos sobre los nAChRs periféricos (compuestos específicos para los nAChRs del SNC). Sería deseado grandemente además de eso el proporcionar compuestos, composiciones y métodos que
 5 afectan la función del SNC sin afectar significativamente aquellos subtipos de receptores los cuales tienen el potencial por inducir efectos secundarios no deseados (e.g., actividad apreciable en los sitios de los músculos esquelético y cardiovascular). La presente invención proporciona dichos compuestos, composiciones y métodos.

Resumen de la Invención

10 **[0013]** La presente invención se refiere a los compuestos (R) – y (S) – 3-((E) – 2-pirrolidin -3-ilvinil) 5 (tetrahidropirano -4-iloxi) piridina de vinilazaciloalcano

[0014] Se incluyen también mezclas racémicas, enantiómeros, diastereómeros y tautómeros de estos compuestos así como sales de los mismos farmacéuticamente aceptables.

15 **[0015]** Los compuestos de la presente invención y sus sales farmacológicamente aceptables pueden ser usados para preparar composiciones farmacéuticas y/o medicamentos destinados a prevenir los trastornos o para tratar las enfermedades asociadas con disfunción de los nAChR, especialmente dentro del sistema nervioso central o del sistema gastrointestinal. El término "para tratar" puede cubrir tanto los efectos beneficiosos sobre los síntomas y/o sobre el curso de la enfermedad bajo consideración.

20 **[0016]** Ejemplos de tipos de trastornos que pueden ser tratados incluyen trastornos neurodegenerativos, incluyendo trastornos del sistema nervioso central como la enfermedad de Alzheimer y otras demencias, trastornos motores como la enfermedad de Parkinson, adicción a drogas, trastornos de comportamiento y trastornos inflamatorios dentro del sistema gastrointestinal. Los compuestos también pueden servir como analgésicos, por ejemplo, en el tratamiento del dolor agudo, crónico o recurrente.

Descripción Detallada de la Invención

25 **[0017]** Los compuestos, composiciones y métodos descritos en este documento serán mejor entendidos con referencia a las siguientes realizaciones escogidas. Las definiciones siguientes serán útiles en definir el propósito de la invención.

[0018] Como se usa en este documento, "aromático" se refiere a 3 a 10, preferiblemente 5 y 6 anillos aromáticos y anillos heteroaromáticos asociados.

30 **[0019]** Como se usa en este documento, "especies que contienen grupos aromáticos" se refieren a grupos funcionales que están o incluyen un grupo aromático. Por consiguiente, los grupos funcionales bencilo y fenilo son incluidos en esta definición, ya que ambos son o incluyen un grupo aromático.

35 **[0020]** Como se usa en este documento, los radicales alquilo C₁₋₆ (radicales alquilos inferiores) contienen desde 1 hasta 6 átomos de carbono en una cadena lineal o ramificada, y también incluyen grupos funcionales cicloalquilo C₃₋₆ y radicales alquilo que contienen grupos funcionales cicloalquilo C₃₋₆.

[0021] Como se usa en este documento, los radicales alcoxi C₃₋₆ contienen de 1 hasta 6 átomos de carbono en una cadena lineal o ramificada, y también incluyen radicales cicloalquilos C₃₋₆ y radicales alcoxi que contienen grupos funcionales cicloalquilo C₃₋₆.

40 **[0022]** Como se usa en este documento, los radicales oarilo son seleccionados a partir del fenilo, naftilo y el indenilo.

[0023] Como se usa en este documento, los radicales heteroarilo contienen de 3 a 10 elementos, preferiblemente 5 o 6 elementos, incluyendo uno o más heteroátomos seleccionados del oxígeno, azufre y

nitrógeno. Ejemplos de grupos funcionales convenientes de 5 anillos heteroarilo asociados incluyen el furilo, pirrolilo, imidazolilo, oxazolilo, tienilo, tetrazolilo, y el pirazolilo. Ejemplos de grupos funcionales de 6 anillos heteroarilo asociados incluyen el piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, de los cuales el piridinilo y el pirimidinilo son los preferidos.

5 **[0024]** Como se usa en este documento, el halógeno es cloro, yodo, flúor o bromo.

[0025] Como se usa en este documento, los radicales policicloalquilo son estructuras de anillos cíclicos fusionadas. Radicales poli-cicloalquilo representativos incluyen, pero no están limitados a, adamantilo, bornanilo, norbornanilo, bornenilo y norbornenilo. Los radicales poli-cicloalquilo pueden también incluir uno o más heteroátomos, como el N, O e S.

10 **[0026]** Como se usa en este documento, los radicales heterociclicos contienen de 3 a 10 elementos incluyendo uno o más heteroátomos seleccionados del oxígeno, azufre y nitrógeno. Ejemplos de grupos funcionales heterociclicos convenientes incluyen, pero no están limitados a, el piperidinilo, morfolinilo, pirrolodinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, isotiazolidinilo, tiazolidinilo, isoxazolidinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, tetrahidropiranilo y el tetrahidrofurano.

15 **[0027]** Como se usa en este documento, los radicales cicloalquilo contienen de 3 a 8 átomos de carbono. Ejemplos de radicales cicloalquilo convenientes incluyen, pero no están limitados a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y el ciclooctilo.

[0028] Ejemplos de sales farmacéuticamente convenientes incluyen ácidos inorgánicos además de sales como el cloruro, bromuro, sulfato, fosfato, y nitrato; ácidos orgánicos además de sales como el acetato, galactarato, propianato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, malato, fumarato, metanesulfonato, p-toluenosulfonato, y el ascorbato; sales con aminoácidos ácidos como el aspartato y el glutamato; sales de metales alcalinos como la sal de sodio y la sal de potasio; sales de metales alcalinos térreos como la sal de magnesio y la sal de calcio; la sal de amonio; sales básicas orgánicas como la sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de diciclohexalamina, y la sal N,N'-dibenziletilediamina; y sales con aminoácidos básicos como la sal de lisina y la sal de asparagina. Las sales pueden estar en algunos casos hidratadas o en solvatos de etanol. Las sales representativas son proporcionadas en los números de las patentes de los EE.UU. 5.597.919 para Dulle *et al.*, 5.616.716 para Dull *et al.*, y 5.663.356 para Rucroft *et al.*

25 **[0029]** Como se usa en este documento, un "agonista" es una sustancia que estimula su unión al ligando, típicamente un receptor. La estimulación es definida en el contexto de un ensayo particular, o puede estar
30 aparente en la literatura a partir de una discusión que en este documento realiza la comparación de un factor o sustancia que es aceptada como un "agonista" o un "antagonista" de la unión específica al ligando bajo circunstancias sustancialmente similares como es apreciado por aquellos expertos en la técnica. La estimulación puede estar definida con respecto a un incremento en un efecto o función particulares que es inducido por la interacción del agonista o el agonista parcial con la unión al ligando y puede incluir efectos
35 alostéricos.

[0030] Como se usa en este documento, un "antagonista" es una sustancia que inhibe su unión al ligando, típicamente un receptor. La inhibición es definida en el contexto de un ensayo particular, o puede ser aparente en la literatura a partir de una discusión que en este documento realiza una comparación de un factor o sustancia que es aceptada por ser un "agonista" o un "antagonista" de una unión específica a un ligando bajo
40 circunstancias sustancialmente similares como es apreciado por aquellos expertos en la técnica. La inhibición puede ser definida con respecto a una disminución en un efecto o función particulares que es inducido por la interacción del antagonista con la unión al ligando, y puede incluir efectos alostéricos.

5 [0031] Como se usa en este documento, un "agonista parcial" es una sustancia que proporciona un nivel de estimulación en su unión al ligando que intermedia entre aquel antagonista total o completo y un agonista definido por cualquier estándar aceptado para la actividad del agonista. Será reconocido que la estimulación, y por lo tanto, la inhibición es definida intrínsecamente por cualquier sustancia o categoría de sustancias por ser
10 definidas como agonistas, antagonistas, o agonistas parciales. Como se usa en este documento, "actividad intrínseca", o "eficacia" describe en alguna medida la efectividad biológica del complejo de unión al ligando. Con respecto a la farmacología del receptor, el contexto en el cual la actividad intrínseca o la eficacia debieran ser definida dependerá en el contexto del complejo de unión al ligando (e.g., receptor/ligando) y la consideración de una actividad relevante hacia un resultado biológico particular. Por ejemplo, en algunas
15 circunstancias, la actividad intrínseca puede variar dependiendo en el segundo sistema mensajero utilizado. Ver Hoyer, D. y Boddeke, H., Trends Pharmacol Sci. 14(7):270-5 (1993). Dónde dichas evaluaciones contextualmente específicas son relevantes, y como ellos debieran ser relevantes en el contexto de la presente invención, será aparente para aquel experto ordinario en la técnica.

15 [0032] Como se usa en este documento, aquellos neurotransmisores liberados son mediados por compuestos descritos en este documento e incluyen, pero no están limitados a, acetilcolina, dopamina, norepinefrina, serotonina y glutamato, y los compuestos descritos funcionan en este documento como agonistas o agonistas parciales en uno o más nAChR del SNC.

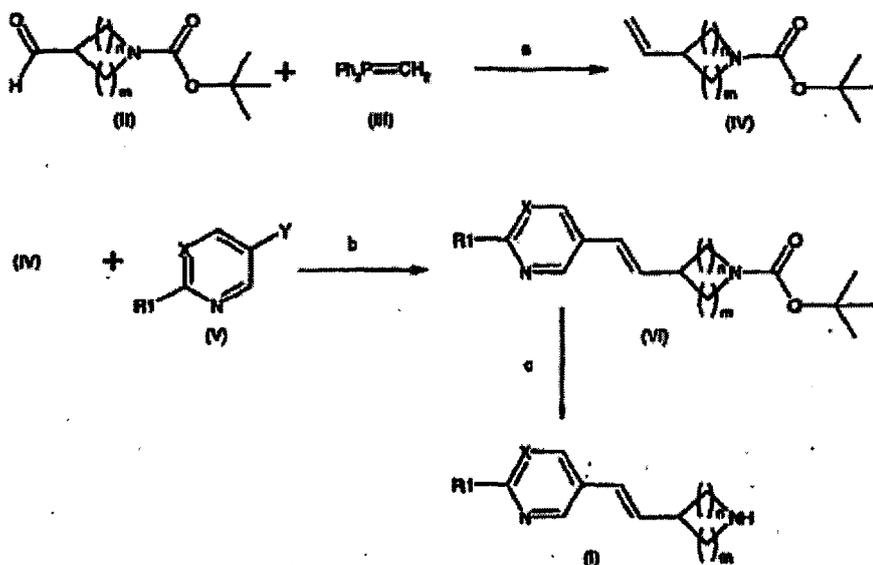
I. Compuestos

20 [0033] Los compuestos de la presente invención, (R) – y (S) – 3-((E) – 2-pirrolidin -3-ilvinil) 5 (tetrahidropirano -4-iloxi) piridina, tienen uno o más carbonos asimétricos y pueden por lo tanto en forma de isómeros, mezclas racémicas, enantiómeros y diasterómeros. Se pretende existir que estos compuestos individuales, y sus mezclas estén dentro del alcance de la presente invención.

25 [0034] Los compuestos de la presente invención, mezclas de ellos, incluyen mezclas racémicas, enantiómeros, diasterómeros y tautómeros de ellos, y las sales farmacéuticamente aceptables de ellos.

II. Preparación del Compuesto

[0035] Mientras que otras estrategias sintéticas serán aparentes por aquellos expertos en la técnica, los compuestos de la presente invención en donde R³ representa un hidrógeno pueden ser obtenidos a partir de un compuesto, de fórmula general (II) de acuerdo con el siguiente esquema de síntesis general.



[0036] El esquema general de síntesis es como sigue:

- 5
- a) un aldehído de fórmula general (II) es reaccionado con el iluro de fosforano (III);
 - b) el vinilazicicloalcano de fórmula general (IV) es reaccionado con un haluro de heteroarilo de fórmula general (V, donde Y= halógeno);
 - c) el grupo tert-butoxicarbonilo es eliminado del compuesto de fórmula general (VI);

y el producto es aislado y convertido opcionalmente en una sal farmacéuticamente aceptable.

10 **[0037]** La reacción (a) entre el aldehído de fórmula general (II) y el iluro de fosforano (III) tiene lugar ventajosamente bajo una atmósfera inerte (por ejemplo bajo nitrógeno o argón) en un disolvente inerte como el tetrahidrofurano a temperatura entre -10 °C y la temperatura de ebullición de la mezcla de reacción, preferiblemente entre aproximadamente -5 °C y 22 °C aproximadamente.

15 **[0038]** La reacción (b) entre un vinilazicicloalcano de fórmula general (IV) y un haluro de heteroarilo apropiado de fórmula general (V) tiene lugar ventajosamente bajo una atmósfera inerte en presencia de un catalizador como el acetato de paladio, una base como el diisopropiletilamina y una sal inorgánica como el cloruro de litio, en un disolvente inerte como la dimetilformamida a una temperatura entre 20 °C y la temperatura de ebullición de la mezcla de reacción. Idealmente, la temperatura de la reacción está en la región de aproximadamente 110 °C.

20 **[0039]** En otra realización, la reacción (b) entre un vinilazicicloalcano de fórmula general (IV) y un haluro de heteroarilo apropiado de fórmula general (V) puede ser realizada bajo una atmósfera inerte (por ejemplo bajo nitrógeno o bajo argón) en presencia de un catalizador como el acetato de paladio y una fosfina como la trifenilfosfina en un medio básico, por ejemplo en presencia de una base como la trietilamina, a una temperatura entre 20 °C y la temperatura de ebullición de la mezcla de la reacción, preferiblemente a una temperatura en la región de 110 °C.

25 **[0040]** La reacción (c) tiene lugar generalmente de acuerdo con lo métodos convencionales lo cuales no afectan desfavorablemente el resto de la molécula, en particular mediante las aplicaciones de los métodos descritos por T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis (2nd ed.), A. Wiley - Interscience Publication (1991). Por ejemplo, la reacción (c) de eliminación del grupo tert-butoxicarbonilo del

compuesto general de fórmula (VI) tiene lugar preferiblemente bajo atmósfera inerte (por ejemplo bajo nitrógeno o bajo argón) en presencia de un ácido como el ácido trifluoroacético en un disolvente inerte, como el diclorometano a una temperatura entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la temperatura de ebullición de la mezcla de reacción, preferiblemente a una temperatura entre $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una temperatura en la región de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5 [0041] Alternativamente la reacción (c) de eliminación del grupo tert-butoxicarbonilo del compuesto de fórmula general (VI) puede ser realizada preferiblemente bajo una atmósfera inerte (por ejemplo bajo nitrógeno o bajo argón) por la acción de yoduro de trimetilsililo en un disolvente inerte como el diclorometano a una temperatura entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la temperatura de ebullición de la mezcla de reacción en la región de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

10 [0042] Los compuestos de fórmula general (II) los cuales no están disponibles comercialmente pueden ser obtenidos mediante la aplicación o adaptación de métodos descritos por Peschke B. *et al.*, Eur. J. Med. Chem. 34:363-380 (1999), los contenidos de los cuales están incorporados por la presente en la referencia.

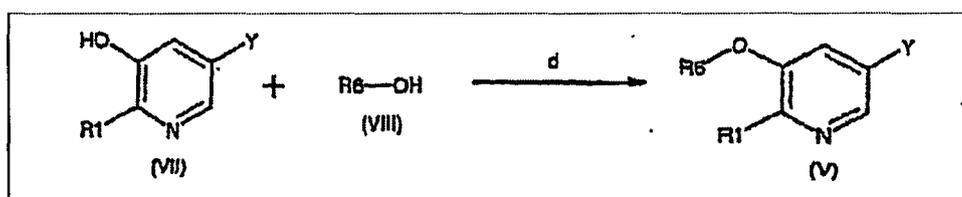
[0043] Los compuestos de fórmula general (V) los cuales no están disponibles comercialmente pueden ser obtenidos mediante la aplicación o adaptación de métodos descritos en PCT WO 00/75110, los contenidos de la cual se incorporan aquí por referencia.

15 Alternativamente los compuestos de fórmula general (V) en la que

X es $\text{C}-\text{R}^2$;

R^2 es $-\text{OR}^6$; y

20 R^6 es C_{1-6} alquilo, arilo C_{1-6} -alquilo, heteroarilo C_{1-6} -alquilo, heterocicliilo, heterociclilalquilo, cicloalquilo o policicloalquilo, estos radicales estando opcionalmente sustituidos por 1 o más sustituyentes seleccionados de halógeno, C_{1-6} alquilo, C_{1-6} alcoxi, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, COOH , $-\text{C}_{1-6}$ alquilo, $-\text{CONH}_2$, formilo, trifluorometilo, o trifluorometoxi, pueden obtenerse de un haluro heteroarilo de fórmula general (VII), en el que Y es un halógeno y R^1 es como se ha definido previamente, y de un alcohol de fórmula general (VIII), donde R^6 es como se ha definido previamente, de acuerdo con el siguiente esquema general de síntesis:



30 [0044] La reacción (d) entre alcohol heteroarilo de fórmula general (VII) y un alcohol apropiado de fórmula general (VIII), tiene lugar preferiblemente bajo atmósfera inerte en la presencia de un diazeno tal como el azodicarboxilato de dietilo y un fosfito tal como el trifenilfosfino en un disolvente inerte tal como el tolueno a una temperatura entre $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la temperatura de ebullición de la mezcla de reacción, preferiblemente a una temperatura entre una temperatura en la región de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la temperatura de ebullición del disolvente.

[0045] Los compuestos de la presente invención pueden ser aislados y purificados usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, la cristalización, la cromatografía y/o la extracción.

35 [0046] En los esquemas arriba mencionados, en donde algunos o más grupos R- son o contienen grupos reactivos que son potencialmente reactivos bajo las condiciones de reacción, por ejemplo, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{CO}_2\text{H}$, será fácilmente aparente para los expertos en la técnica que estos grupos funcionales pueden requerir el uso de "grupos protectores" convenientes durante las reacciones para "bloquear" la reactividad del grupo R-.

Estos grupos "protectores" pueden ser elegidos, introducidos y escindidos de acuerdo con T.W. Greene y P.G.M. Wuts (Protective Groups in Organic Synthesis (2nd ed.), A. Wiley – Interscience Publication (1991)).

[0047] Los compuestos de la presente invención y los compuestos de fórmula general (IV) pueden ser obtenidos en una forma ópticamente pura mediante la separación de sus racematos de acuerdo con métodos convencionales (i.e., resolución de enantiómeros), o usando materiales de partida ópticamente puros.

[0048] Los compuestos de la presente invención pueden ser opcionalmente convertidos en sales de adición con un ácido mineral u orgánico mediante la acción de dicho ácido en un disolvente apropiado, por ejemplo, un disolvente orgánico como un alcohol, una cetona, un éter o un disolvente clorado. Estas sales de igual modo forman parte de la invención.

[0049] Sales representativas farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitadas a, sales de bencenosulfonato, bromuro, cloruro, citrato, etanosulfonato, fumarato, gluconato, yodato, maleato, isetionato, metanosulfonato, metilenebis (β -oxinaftato), nitrato, oxalato, palmoato, fosfato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, teofilinacetato, p-toluenosulfonato, y hemigalactarato y galactarato.

III. Composiciones Farmacéuticas

[0050] Las composiciones farmacéuticas según la invención incluyen un compuesto de la presente invención o una sal de éste, en estado puro o en forma de una composición en la cual está combinada con cualquier otro producto farmacéuticamente compatible, que puede ser inerte o fisiológicamente activo. Dichas composiciones pueden ser administradas, por ejemplo, oralmente, parenteralmente, rectalmente o tópicamente.

[0051] Ejemplos de composiciones sólidas para la administración oral incluyen, pero no están limitados a, tabletas, píldoras, partículas finamente dispersas (cápsulas de gelatina, obleas) y gránulos. En estas composiciones, el compuesto activo está mezclado con uno o más disolventes inertes, como el almidón, celulosa, sacarosa, lactosa o sílice, idealmente bajo una corriente de un gas inerte como el argón.

[0052] Las composiciones pueden también incluir sustancias diferentes a los disolventes, por ejemplo, uno o más lubricantes como el estearato de magnesio o talco, un colorante, un revestimiento (tabletas recubiertas) o un barniz.

[0053] Ejemplos de composiciones líquidas para la administración oral incluyen, pero no están limitados a, soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, y licores que son farmacéuticamente aceptables y contienen disolventes típicamente inertes como el agua, etanol, glicerol, aceites vegetales o parafina líquida. Estas composiciones pueden comprender sustancias diferentes a los disolventes, por ejemplo, agentes humectantes, edulcorantes, espesantes, aromas y estabilizadores.

[0054] Las composiciones estériles para la administración parenteral pueden incluir, por ejemplo, soluciones acuosas y no acuosas, suspensiones y emulsiones. Ejemplos de disolventes y sustancias convenientes incluyen, pero no están limitados a soluciones acuosas, preferiblemente soluciones acuosas amortiguadas, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, especialmente el aceite de oliva, ésteres orgánicos inyectables, por ejemplo, el oleato de etilo, y otros disolventes orgánicos apropiados. Estas composiciones pueden también incluir adyuvantes, especialmente los agentes humectantes, agentes isotónicos, emulsificadores, dispersantes y estabilizadores. Dichas composiciones estériles pueden ser esterilizadas en un número de vías, por ejemplo mediante filtración aséptica, mediante la incorporación de agentes esterilizantes dentro de la composición, mediante irradiación o por calentamiento. Ellos pueden ser también preparados en forma de composiciones sólidas estériles las cuales pueden ser disueltas en el momento necesario en agua estéril o en cualquier otro medio estéril inyectable.

[0055] Ejemplos de composiciones para la administración rectal incluyen, pero no están limitados a, supositorios y cápsulas rectales que, además del producto activo, pueden incluir excipientes como el cacao, mantequilla, glicéridos semisintéticos y glicoles de polietileno.

[0056] Las composiciones para la administración tópica pueden, por ejemplo, ser cremas, lociones, colirios, colutorios, gotas nasales o aerosoles.

[0057] Las composiciones farmacéuticas pueden también incluir otros varios componentes como aditivos o complementos. Componentes o complementos ejemplificantes farmacéuticamente aceptables los cuales son empleados en circunstancias relevantes incluyen anti-oxidantes, agentes limpiadores de radicales libres, péptidos, factores de crecimiento, antibióticos, agentes bacteriostáticos, inmunosupresores, anticoagulantes, agentes amortiguadores, agentes anti-inflamatorios, anti-piréticos, uniones libres en el tiempo, anestésicos, esteroides y corticosteroides. Dichos componentes pueden proporcionar beneficios terapéuticos adicionales, actúan para afectar la acción terapéutica de la composición, o actúan hacia la prevención de cualquiera de los efectos potenciales secundarios los cuales pueden ser acarreados como resultado de la administración de la composición farmacéutica. En ciertas circunstancias, un compuesto de la presente invención puede ser empleado como parte de una composición farmacéutica con otros compuestos para prevenir o tratar un trastorno particular.

IV. Métodos de Tratamiento

[0058] Los compuestos descritos en este documento son útiles en el tratamiento de aquellas condiciones y trastornos para los cuales otros tipos de compuestos nicotínicos han sido postulados como terapéuticos. Ver, por ejemplo, Williams *et al.*, DN&P 7 (4): 205-227 (1994), Arneric *et al.*, CNS Drug Rev. 1 (1): 1-26 (1995), Arneric *et al.*, Exp. Opin. Invest. Drugs 5 (1): 79-100 (1996), Bencherif *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 279: 1413 (1996), Lippiello *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 279: 1422 (1996), Damaj *et al.*, Neuroscience (1997), Holladay *et al.*, J. Med. Chem. 40 (28): 4169-4194 (1997), Bannon *et al.*, Science 279: 77-80 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, y los números de las patentes de los EE.UU. 5.583.140 para Bencherif *et al.*, 5.597.919 para Dull *et al.*, y 5.604.231 para Smith *et al.*

[0059] Los compuestos pueden ser usados también como una terapia complementaria en combinación con terapias existentes en el manejo de los tipos de enfermedades y trastornos antes mencionados. En dichas situaciones, es de preferencia administrar los ingredientes activos en un modo que minimice los efectos sobre los subtipos de nAChR como son aquellos que están asociados con la masa muscular y ganglios. Esto puede ser llevado a cabo mediante la liberación del fármaco marcado y/o mediante el ajuste de la dosis para que así el efecto deseado sea obtenido sin llegar a la dosis mínima requerida para alcanzar efectos secundarios significativos. Las composiciones farmacéuticas pueden ser usadas para aliviar cualquiera de los síntomas asociados con aquellas condiciones, enfermedades y trastornos.

[0060] Ejemplos de condiciones y trastornos que pueden ser tratados incluyen trastornos neurológicos, trastornos neurodegenerativos, en particular, trastornos del SNC, y trastornos inflamatorios. Los trastornos del SNC pueden ser inducidos por drogas; pueden ser atribuidos a una predisposición genética, infección o trauma; o pueden ser de etiología desconocida. Los trastornos del SNC comprenden trastornos neuropsiquiátricos, enfermedades neurológicas y enfermedades mentales, e incluyen enfermedades neurodegenerativas, trastornos de comportamiento, trastornos cognitivos y trastornos cognitivo afectivos. Existen varios trastornos del SNC cuyas manifestaciones clínicas han sido atribuidas a una disfunción del SNC (i.e., trastornos que resultan de niveles inadecuados de liberación del neurotransmisor, propiedades

inadecuadas de los receptores del neurotransmisor, y/o interacción inadecuada entre los neurotransmisores y los receptores del neurotransmisor). Varios trastornos del SNC pueden ser atribuidos a deficiencias de acetilcolina, dopamina, norepinefrina y/o serotonina.

5 **[0061]** Ejemplos de trastornos del SNC que pueden ser tratados usando los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención y sus sales farmacéuticamente aceptables, y composiciones farmacéuticas que incluyen estos compuestos, incluyen la demencia presenil (inicio temprano de la enfermedad de Alzheimer), demencia senil (demencia del tipo Alzheimer), demencia con cuerpos de Lewy, demencia micro-infarto, demencia relacionada al sida, demencia-HIV, infartos cerebrales múltiples, Parkinsonismo incluyendo la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, disquinesia tardía, 10 hiperquinesia, epilepsia, manía, trastorno por déficit de atención, ansiedad, depresión, dislexia, depresión en la esquizofrenia, trastornos obsesivo-compulsivos, síndrome de Tourette, defecto cognitivo moderado (DCM), deterioro cognoscitivo asociado a la edad (DECAE), trastornos cognitivo y amnésico precoces que están relacionados con la edad o son consecuencia del alcoholismo, o síndrome de inmunodeficiencia, o están asociados con trastornos vasculares, con alteraciones genéticas (como, por ejemplo, la trisomía 21) o con 15 deficiencias en la atención o deficiencias de aprendizaje, condiciones neurodegenerativas agudas y crónicas como la esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, neuropatías periféricas, y traumas vertebral o cerebral. Además, los compuestos pueden ser usados para tratar la adicción a la nicotina y/o otros trastornos de comportamiento relacionados con sustancias que conducen a dependencia (e.g., alcohol, cocaína, heroína y opiáceos, psicoestimulantes, benzodiazepinas y barbitúricos). Los compuestos pueden ser usados también 20 para tratar patologías que exhiben un carácter inflamatorio dentro del sistema gastrointestinal como la enfermedad de Crohn, síndrome de colon irritable, colitis ulcerosa, y en diarreas.

[0062] La forma en la cual los compuestos son administrados puede variar. Los compuestos pueden ser administrados por inhalación (e.g., en forma de un aerosol ya sea nasalmente o usando productos de distribución colocados en adelante en la patente de los EE.UU No. 4.922.901 por Brooks *et al.*); tópicamente 25 (e.g., en forma de loción); oralmente (e.g., en forma líquida dentro de un disolvente como lo es un líquido acuoso o no acuoso, o dentro de un portador sólido); intravenosamente (e.g., dentro de una solución de dextrosa o de salina); como una infusión o inyección (e.g., como una suspensión o como una emulsión en un líquido o mezcla de líquidos farmacéuticamente aceptables); intratecalmente; intracerebroventricularmente; o transdérmicamente (e.g., usando un parche transdérmico). Aunque es posible administrar los compuestos en 30 forma de una masa química activa, es preferido presentar cada compuesto en la forma de una composición o formulación farmacéuticas para una administración efectiva y eficiente. Métodos ejemplificantes para la administración de dichos compuestos serán aparentes para los expertos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos pueden ser administrados en forma de una tableta, una cápsula encubierta en gelatina o una cápsula liberada en el tiempo. Cual otro ejemplo, los compuestos pueden ser liberados transdérmicamente 35 usando tipos de tecnologías de parches disponibles a partir de Novartis y la Corporación Alza. La administración de las composiciones farmacéuticas de la presente invención puede ser intermitente, o a una velocidad gradual, continua, constante o controlada en un animal de sangre caliente (e.g., mamíferos como el ratón, la rata, el conejo, el perro, el cerdo, la vaca, o el mono); pero ventajosamente es administrado preferiblemente a un ser humano. Además, el momento y el número de veces por día en que la composición 40 farmacéutica es administrada pueden variar. La administración de preferencia es aquella en que los ingredientes activos de la formulación farmacéutica interactúan con sitios del receptor dentro del cuerpo del sujeto que afecta el funcionamiento del SNC o del tracto gastrointestinal (TGI). Más específicamente, en la

administración de tratamiento de un trastorno del SNC de preferencia para así optimizar el efecto sobre aquellos subtipos de receptores relevantes los cuales tienen un efecto sobre el funcionamiento del SNC, mientras que minimiza los efectos sobre los subtipos de receptores de tipo muscular. Otros métodos convenientes para la administración de los compuestos de la presente invención son descritos en la patente de los EE.UU. No. 5.604.231 por Smith *et al.*, revelación la cual es incorporada en este documento en su totalidad en la referencia.

[0063] La dosis apropiada del compuesto es aquella cantidad efectiva para prevenir la ocurrencia de los síntomas del trastorno o para tratar algunos síntomas del trastorno del cual el paciente sufre. Por "cantidad efectiva", "cantidad terapéutica", o "dosis efectiva" es significado de la cantidad suficiente para inducir los efectos terapéuticos o farmacológicos deseados, resultando de este modo en un tratamiento o prevención efectivos del trastorno. De este modo, cuando se trata un trastorno del SNC, una cantidad efectiva del compuesto es una cantidad suficiente que atraviesa la barrera hemato-encefálica del sujeto, para unirse a sitios de receptores relevantes en el cerebro del sujeto, y para activar los subtipos de receptores nicotínicos específicos relevantes (e.g., proporcionar una secreción del neurotransmisor, resultando de este modo en una prevención o tratamiento efectivos del desorden). La prevención del trastorno es manifestada por la dilación de los síntomas del trastorno. El tratamiento del trastorno es manifestado por la disminución en los síntomas asociados con el trastorno o la recurrencia de los síntomas del trastorno.

[0064] La dosis efectiva puede variar, dependiendo en factores como la condición del paciente, la severidad de los síntomas del desorden, y la forma en que la composición farmacéutica es administrada. Para los pacientes humanos, la dosis efectiva de los compuestos típicos requiere generalmente de la administración del compuesto en una cantidad suficiente para activar los receptores relevantes para efectuar la liberación del neurotransmisor (e.g., dopamina) pero la cantidad debe ser insuficiente para inducir efectos sobre los músculos esqueléticos y ganglios en cualquier grado significativo. La dosis efectiva de los compuestos diferirá ciertamente de paciente en paciente pero en general incluye cantidades de inicio en donde los efectos del SNC y otros efectos terapéuticos deseados ocurren, sólo por debajo de la cantidad en que se observan efectos musculares.

[0065] Las dosis depende en el efecto deseado, la duración del tratamiento y en la ruta de administración utilizada; ellos están generalmente entre 0,05 mg y 100 mg de sustancia activa oralmente por día para un adulto.

[0066] En términos generales, el doctor determinará la dosis apropiada como una función de la edad, peso y todos los demás factores específicos del paciente.

[0067] Los compuestos tienen preferiblemente la capacidad para atravesar la barrera hemato-encefálica del paciente. Como tal, dichos compuestos tienen la capacidad para entrar al sistema nervioso central del paciente. Los valores del log P de los compuestos típicos, los cuales son útiles para llevar a cabo la presente invención son generalmente mayores que 0 aproximadamente, con frecuencia son aproximadamente mayores que 0,5, y frecuentemente son aproximadamente mayores que 1. Los valores de log P de dichos compuestos típicos son generalmente menores que 3,5 aproximadamente, con frecuencia son menores que aproximadamente 3, y algunas veces son menores que 2,5 aproximadamente. Los valores de log P proporcionan una medida de la capacidad de un compuesto para atravesar una barrera de difusión, como una membrana biológica. Ver, Hansch, *et al.*, J. Med. Chem. 11:1(1968).

[0068] Los compuestos tienen la capacidad para unirse a, y en la mayoría de las circunstancias, causar activación de, los nAChR R del cerebro del paciente (e.g., tal como aquellos receptores que modulan la

liberación de dopamina). Como tal, dichos compuestos tienen la capacidad para expresar una farmacología nicotínica, y en particular, para actuar como agonistas o agonistas parciales. Las constantes de unión al receptor de los compuestos típicos, útiles en llevar a cabo la presente invención exceden generalmente los 0,1 nM aproximadamente, con frecuencia exceden los 1 nM aproximadamente, y frecuentemente exceden los 10 nM aproximadamente. Las constantes de unión al receptor de dichos compuestos típicos generalmente son menores que 1 μ M aproximadamente, con frecuencia son menores que 100 nM aproximadamente, y frecuentemente son menores que 50 nM aproximadamente. Las constantes de unión al receptor proporcionan una medida de la capacidad del compuesto para unirse a la mitad de los sitios relevantes del receptor de ciertas células cerebrales del paciente. Ver, Cheng, *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 22:3099(1973).

[0069] Los compuestos útiles de acuerdo al método de la presente invención tienen la capacidad de demostrar una función nicotínica mediante la inducción efectiva de un flujo de iones a través, y/o la secreción del neurotransmisor a partir de, preparaciones de terminaciones nerviosas (e.g., sinaptosomas talámico o estriatal). Como tal, dichos compuestos tienen la capacidad de causar que neuronas relevantes se conviertan activadas, y en la liberación o secreción de acetilcolina, dopamina, y otros neurotransmisores. Generalmente, los compuestos típicos útiles en llevar a cabo la presente invención proporcionan efectivamente la activación del receptor relevante en cantidades de al menos un 30 por ciento aproximadamente, con frecuencia al menos un 50 por ciento aproximadamente, y frecuentemente al menos un 75 por ciento, de lo proporcionado al máximo por la (S)-(-)-nicotina. Generalmente, los compuestos típicos útiles en llevar a cabo la presente invención son más potentes que la (S)-(-)-nicotina en inducir una activación del receptor relevante. Generalmente, los compuestos típicos útiles en llevar a cabo la presente invención proporcionan efectivamente la secreción de dopamina en cantidades de un 50 por ciento aproximadamente, con frecuencia al menos un 75 por ciento aproximadamente, y frecuentemente al menos un 100 por ciento aproximadamente, de aquel proporcionado al máximo por la (S)-(-)-nicotina. Ciertos compuestos de la presente invención pueden proporcionar la secreción de dopamina en una cantidad la cual puede exceder aquella proporcionada al máximo por la (S)-(-)-nicotina. Generalmente, los compuestos típicos útiles en llevar a cabo la presente invención son menos potentes que la (S)-(-)-nicotina en inducir la secreción del neurotransmisor, como la secreción de dopamina.

[0070] Los compuestos de la presente invención, cuando son empleados en cantidades efectivas de acuerdo con el método de la presente invención, carecen de la capacidad para inducir la activación de los nAChR R del músculo humano en cualquier grado significativo. Con relación a esto, los compuestos de la presente invención demuestran una pobre capacidad para causar un flujo de ión rubidio isotópico a través de los nAChR en preparaciones de células que expresan los receptores nicotínicos acetilcolina de tipo muscular. De este modo, dichos compuestos exhiben unas constantes de activación del receptor o valores EC_{50} (i.e., los cuales proporcionan una medida de la concentración del compuesto necesitado para activar a la mitad de los sitios del receptor relevante del músculo esquelético de un paciente) los cuales son extremadamente elevados (i.e., mayores que 100 μ M aproximadamente). Generalmente, los compuestos típicos preferidos útiles en llevar a cabo la presente invención activan el flujo del ión rubidio isotópico en menos de un 10 por ciento, a menudo menor que un 5 por ciento, de lo proporcionado al máximo por la S(-)-nicotina.

[0071] Los compuestos de la presente invención, cuando son empleados en cantidades efectivas de acuerdo con el método de la presente invención, carecen de la capacidad para inducir la activación de los nAChR en los ganglios humanos en cualquier grado significativo. Esta selectividad de los compuestos de la presente invención contra los nAChR responsables de efectos cardiovasculares secundarios es demostrada por la carencia de la capacidad de estos compuestos para activar la función nicotínica del tejido cromafínico adrenal,

derivado de la glándula adrenal. Generalmente, los compuestos típicos preferidos útiles en llevar a cabo la presente invención activan al máximo el flujo del ión rubidio isotópico en menos de un 10 por ciento, con frecuencia en menos de un 5 por ciento, de lo proporcionado al máximo por la S(-)-nicotina

5 **[0072]** Los compuestos son efectivos con respecto a la provisión en algún grado de la prevención en la progresión de los trastornos del SNC, aliviando los síntomas del SNC, y aliviando en algún grado la recurrencia de los trastornos del SNC. Sin embargo, dichas cantidades efectivas de aquellos compuestos no son suficientes para inducir cualquiera de los apreciables efectos nicotínicos no deseados. Como es demostrado mediante los efectos disminuidos en las preparaciones consideradas por reflejar los efectos sobre el sistema cardiovascular, o los efectos sobre el músculo esquelético. Como tal, la administración de los compuestos de la presente invención proporciona una ventana terapéutica en la cual el tratamiento de ciertos trastornos del SNC es proporcionado, y los efectos efectos/colateral son evitados. Esto es, que una dosis efectiva de un compuesto de la presente invención sea lo suficiente para proporcionar los efectos deseados sobre el SNC, pero que sea insuficiente (i.e., no a un nivel suficientemente elevado) en proporcionar los efectos secundarios no deseados. Preferiblemente, la administración efectiva de un compuesto de la presente invención beneficioso en el tratamiento de trastornos del SNC ocurre sobre la administración de menos que 1/3, una frecuencia menor que 1/5, y a menudo menor que 1/10, que la cantidad suficiente para causar cualquiera de los efectos secundarios en un grado significativo.

Ejemplos Sintéticos

20 **[0072]** Los siguientes ejemplos sintéticos están proporcionados para ilustrar la presente invención, y no deben ser interpretados como limitantes de éstos. En estos ejemplos, todas las partes y porcentajes están en peso, a menos que se indique otra cosa. Los rendimientos de la reacción son reportados en porcentajes en moles.

Ejemplo Comparativo 1: 3-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil)-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina hemigalactarato racémico:

25 **[0074]** Ácido trifluoroacético (0,91 cm³, 11,7 mmol) fue adicionado en forma de gota a una solución de 3-((E)-2-[5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina-3-il] vinil} pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en 4,5 cm³ de diclorometano, el cual estaba bajo argón y fue enfriado a 0 °C. La mezcla de reacción fue agitada a esta temperatura durante 0,5 h y después a una temperatura en la región de 22 °C durante 20 h y fue concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El residuo aceitoso fue colocado en 5 cm³ de agua y la solución resultante fue puesta básica (pH=8) mediante la adición de una solución acuosa de amonio al 28 % y entonces extraída con 25 cm³ de diclorometano 3 veces. Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con 25 cm³ de agua, secadas sobre sulfato de magnesio, filtradas y concentradas hasta secarse bajo una presión reducida (2,7 kPa) para dar 0,225 g de un aceite color naranja, el cual fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: diclorometano/metanol (9/1 después 8/2 en volumen). El ácido galactárico (0,038 g, 0,18 mmol) fue adicionado a una solución de este aceite en 2 cm³ de metanol al cual se le ha sido adicionado 0,5 cm³ de agua. La mezcla fue conducida en reflujo y enfriada a una temperatura en la región de 22 °C y el material insoluble fue eliminado por filtración. El filtrado fue concentrado hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) y el residuo aceitoso fue colocado en 2 cm³ de etanol. El sólido precipitado fue filtrado totalmente, lavado con 2 cm³ de acetato de isopropilo y 2 cm³ de éter de diisopropilo y después secado a 40 °C bajo el vacío (2,7 kPa) para dar 0,066 g de 3-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil)-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina hemigalactarato racémico en la forma de un sólido beige. El espectro de masa (EI): m/z 274 (M⁺), m/z 232. El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂ SO d₆ con unas pocas gotas de CD₃COOD d₄, δ en ppm): 1,61 (m: 2H); 1,82 (m: 1H); 1,98 (m: 2H); 2,17 (m: 1H); 2,96 (dd, J= 10,5 y 8,5 Hz: 1H); 3,07 (m: 1H); desde 3,10

hasta 3,40 (m: 2H); 3,41 (dd, J = 10,5 y 7,5 Hz: 1H); 3,50 (ddd, J = 12 -9,5 y 3 Hz: 2H); 3,79 (s: 1H); 3,87 (dt, J = 12 y 4,5 Hz: 2H); 4,24 (s: 1H); 4,69 (m: 1H); 6,43 (dd, J = 16 y 7 Hz: 1H); 6,56 (d, J = 16 Hz: 1H); 7,49 (m: 1H); 8,20 (m: 2H).

- 5 El 3-((E)-2-[5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina-3-il] vinil] pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico puede ser preparado como sigue:

[0075] El acetato de paladio (0,117g, 0,52 mmol), 0,678 g (16mmol) de cloruro de litio y 7,25 cm³ (42 mmol) de etildiisopropilamina fueron adicionados en sucesión a una solución de 1,33 g (5,17 mmol) de 3-bromo-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina bajo argón y 1,2 g (5,17 mmol) de 3-vinilpirrolidona-1- éster tert-butil de ácido
10 carboxílico racémico en 7,25 cm³ de dimetilformamida. Después de 3 horas de calentamiento a 110 °C con agitación, la mezcla de reacción fue agitada por 2 horas a una temperatura en la región de 22 °C y después concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El residuo aceitoso fue colocado en 50 cm³ de acetato de etilo y la solución resultante fue lavada en sucesión con 25 cm³ de agua 2 veces, 25 cm³ de solución saturada de bicarbonato, 25 cm³ de agua 2 veces y 25 cm³ de solución de cloruro de sodio saturada y después
15 fue secada sobre sulfato de magnesio, filtrada y concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) para dar 1,4 g de aceite pardo. Este residuo fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: ciclohexano/acetato de etilo (8/2 en volumen)). La concentración de las fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 0,44 g de un aceite amarillo el cual fue usado sin una purificación ulterior en el resto de la síntesis.

- 20 El 3-bromo-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina puede ser preparado como sigue:

[0076] El azodicarboxilato de dietilo (7,1 cm³, 45 mmol) fue adicionado en forma de gota a una solución de 5,22 g (30 mmol) de 5-bromopiridina-3-ol, 4,69 g de tetrahidropirano-4-ol (45 mmol) bajo argón y 11,8 g (45 mmol) de trifenilfosfina en 150 cm³ de tolueno. Después de 20 horas de calentamiento bajo un reflujo con agitación, la mezcla de reacción fue puesta a una temperatura en la región de 22 °C y después lavada en
25 sucesión con 75 cm³ de agua 2 veces, 75 cm³ de una solución saturada de bicarbonato 2 veces, 75 cm³ de agua 2 veces, y 75 cm³ de solución saturada de cloruro de sodio y entonces la solución orgánica fue secada sobre sulfato de sodio, filtrada y concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) para dar un aceite color naranja. El residuo fue mezclado con 100 cm³ de éter de diisopropilo y el sólido formado fue filtrado totalmente y lavado con 25 cm³ de éter de diisopropilo 2 veces. El filtrado fue concentrado hasta secarse bajo
30 presión reducida (2,7 kPa) para dar 10 g de un aceite color naranja. El residuo fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: ciclohexano/acetato de etilo (8/2 en volumen)). La concentración de las fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 7,3 g de 3-bromo-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) piridina en forma de un aceite amarillo. El espectro RMN H¹ 300 MHz, (CD₃)₂SO d₆, δ en ppm) : 1,59 (m: 2H); 1,99 (m: 2H); 3,49 (ddd, J = 12,5 - 9,5 y 3 Hz: 2H); 3,87 (dt, J = 12,5 y 4,5 Hz: 2H); 4,75 (m: 1H); 7,82 (dd, J =
35 2,5 y 2 Hz: 1H); 8,28 (d, J = 2 Hz: 1H); 8,33 (d, J = 2,5 Hz: 1H).

La 3-vinilpirrolidona-1- éster tert-butil de ácido carboxílico racémico puede ser preparado como sigue:

[0077] El n-butillitio fue adicionado en hexano (44 cm³ de una solución 1,6N) en forma de gota a una suspensión de 25,5 g (71 mmol) de bromuro de trifenilmetilfosfonio en 300 cm³ de tetrahidrofurano, el cual estaba bajo argón y enfriado a 0 °C La mezcla de reacción fue agitada a 0 °C durante 0,5 h y después
40 mezclada con una solución de 7,1 g (35,6 mmol) de 3-formilpirrolidina-1- éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en 100 cm³ de tetrahidrofurano. Pasada 2,5 horas de reacción a una temperatura en la región de 22 °C, la mezcla fue vertida dentro de 600 cm³ de solución acuosa de cloruro de amonio saturada. Seguidamente

de la adición del acetato de etilo, la fase orgánica fue extraída por decantación, lavada dos veces con agua y una solución saturada de cloruro de sodio y después secada sobre sulfato de magnesio y concentrado hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El aceite resultante fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: ciclohexano/acetato de etilo (95/5 seguido de 9/1 en volumen)). La concentración de las fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 6,3 g de 3-vinilpirrolidona-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en forma de un aceite incoloro. El espectro de masa (ES): m/z 198 (MH⁺), m/z=142.

Referencia **Ejemplo 2: 5-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina hemigalactarato racémico:**

[0078] Ácido trifluoroacético (1,2 cm³, 15,6 mmol), fue adicionado en gotas a una solución de 0,43 g de 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en 6 cm³ de diclorometano, el cual estaja bajo argón y enfriado a 0 °C. La mezcla de reacción fue agitada a esta temperatura durante 0,5 h y después a una temperatura en la región de 22 °C durante 20 horas y fue concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El residuo aceitoso fue colocado en 5 cm³ de agua y la solución resultante fue hecha básica (pH=8) mediante la adición de una solución acuosa de amonio al 28% y fue entonces extraída con 25 cm³ de diclorometano 3 veces. Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con 25 cm³ de agua, secadas sobre sulfato de magnesio, filtradas y concentradas bajo presión reducida (2,7 kPa) para dar 0,126 g de un aceite color naranja el cual fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: diclorometano/ metanol (9/1 seguido de 8/2 en volumen)). La concentración de las fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 0,1 g (0,57 mmol) de un aceite color naranja. El ácido galactárico (0,06 g, 0,28 mmol) fue adicionado a una solución de este aceite en 2 cm³ de metanol al cual 0,5 cm³ de agua se la ha sido adicionada. La mezcla fue puesta en reflujo y enfriada a una temperatura en la región de 22 °C y el material insoluble fue eliminado mediante filtración. El filtrado fue concentrado hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) y el residuo aceitoso fue colocado en 2 cm³ de etanol. El sólido precipitado fue filtrado totalmente, lavado con 2 cm³ de acetato de isopropilo y 2 cm³ de éter de diisopropilo y después secado a 40 °C bajo vacío (2,7 kPa) para dar 0,1 g de 5-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina hemigalactarato racémico en forma de un sólido ocre. El espectro de masa (DCI): m/z 176 (MH⁺). El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂SO d6 con unas pocas gotas de CD₃COOD d4, 8 en ppm): 1,82 (m: 1H); 2,18 (m: 1H); 2,98 (dd, J = 11 y 8,5 Hz: 1H); 3,10 (m: 1H); 3,20 (m: 1H); 3,33 (m: 1H); 3,42 (dd, J = 11 y 7,5 Hz: 1H); 3,79 (s: 1H); 4,24 (s: 1H); 6,55 (límite AB: 2H); 8,87 (s: 2H); 9,04 (s: 1H).

La 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico puede ser preparada como sigue:

[0079] Acetato de paladio (0,117 g, 0,52 mmol), 0,678 g (16 mmol) de cloruro de litio y 7,25 cm³ (42 mmol) de etildiisopropilamina fueron adicionados en sucesión a una solución de 0,822 g (5,17 mmol) de 5-bromopiridina bajo argón y 1,2 g (5,17 mmol) de 2-vinilpirrolidona-1-éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en 15 cm³ de dimetilformamida. Después de 3 horas de calentamiento a 110 °C con agitación, la mezcla de reacción fue agitada durante 2 horas a una temperatura en la región de 22 °C y después concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El residuo aceitoso fue colocado en 50 cm³ de acetato de etilo y la solución resultante fue lavada en sucesión con 25 cm³ de agua 2 veces, 25 cm³ de una solución saturada de bicarbonato, 25 cm³ de agua 2 veces y 25 cm³ de una solución saturada de cloruro de sodio y fue entonces secada sobre sulfato de magnesio, filtrada y concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) para dar 1,1 g de un aceite pardo. Este residuo fue purificado mediante gel de sílice para cromatografía en columna (eluyente: ciclohexano/acetato de etilo (8/2 en volumen)). La concentración de las

fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 0,43 g de 3-((E)-2- pirimidina -5-ilvinil) pirrolidina-1- éster tert-butil de ácido carboxílico racémico en forma de aceite. El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm): 1,42 (s: 9H); 1,78 (m: 1H); 2,05 (m: 1H); desde 2,90 hasta 3,15 (m: 2H); desde 3,15 hasta 3,60 (m: 3H); 6,51 (d, J = 16,5 Hz: 1H); 6,64 (dd, J = 16,5 y 7 Hz: 1H); 8,89 (s: 2H); 9,04 (s: 1H).

5 Referencia **Ejemplo 3: -5-((E)-2-Pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina galactarato (+):**

[0080] Yoduro de trimetilsililo (0,2 cm³, 1,4 mmol) fue adicionado a una temperatura en la región de 22 °C a una solución de 0,26 g (0,944 mmol) de 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico (+) bajo argón en 10 cm³ de diclorometano. Pasada 2 horas de agitación a esta temperatura la mezcla de reacción fue mezclada con 15 cm³ de una solución acuosa de amonio al 5% y agitada durante 1 h a una temperatura en la región de 22 °C y dejada asentar. La fase acuosa fue separada y extraída con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas dos veces con agua y con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio y fueron entonces secadas sobre sulfato de magnesio, filtradas y concentradas hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa) para dar 0,06 g de un aceite color naranja. El ácido galactárico (0,035 g, 0,16 mmol) fue adicionado a una solución de este aceite en 6 cm³ de metanol al cual se le ha adicionado 0,6 cm³ de agua. La mezcla fue puesta en reflujo, enfriada a una temperatura en la región de 22 °C y concentrada hasta secarse bajo presión reducida (2,7 kPa). El residuo aceitoso fue triturado en presencia de 5 cm³ de éter de diisopropilo y el sólido formado fue filtrado totalmente y después secado a 45 °C bajo vacío (2,7 kPa) para dar 0,072 g de 5-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina galactarato (+) en forma de un sólido amarillo. El espectro de masa (DCI): m/z = 176 (MH⁺). El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂SO d6 con unas pocas gotas de CD₃COOD d4, δ in ppm): 1,81 (m: 1H); 2,19 (m: 1H); 2,98 (dd, J = 11 y 9 Hz: 1H); 3,10 (m: 1H); 3,21 (m: 1H); 3,33 (m: 1H); 3,43 (dd, J = 11 y 8 Hz: 1H); 3,79 (s: 2H); 4,25 (s: 2H); 6,56 (límite AB: 2H); 8,88 (s: 2H); 9,05 (s: 1H).

La 3-((F)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1- éster tert-butil de ácido carboxílico (+) puede ser preparada como sigue:

25 [0081] Una mezcla racémica de 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina- éster tert-butil de ácido carboxílico (0,5g) fue inyectada en dos partes sobre una columna de 8 cm diámetro conteniendo 1,2 kg de una fase estacionaria quiral Chiralpak ASTM de 20 μm [flujo de 130 mL/min, eluyente: heptano/metanol/etanol (98/1/1 en volumen)]. La concentración de las fracciones bajo presión reducida (2,7 kPa) dio 0,24 g de (E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina- éster tert-butil de ácido carboxílico (+) y 0,27 g de (E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina- éster tert-butil de ácido carboxílico (-). La (E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina- éster tert-butil de ácido carboxílico (+) fue eluido en primera posición con un tiempo de retención de 14,4 min sobre una columna Chiralpak ASTM de 20 μm de diámetro 4,6 mm y 250 mm de longitud [flujo: 1mL/min, eluyente: heptano/metanol/etanol (98/1/1 en volumen)]. El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm): 1,43 (s: 9H); 1,79 (m: 1H); 2,06 (m: 1H); desde 2,95 hasta 3,15 (m: 2H); desde 3,20 hasta 3,35 (m: 1H); 3,44 (ddd, J = 11- 8,5 y 3 Hz: 1H); 3,53 (ancho dd, J = 10 y 7,5 Hz: 1H); 6,52 (d, J = 16,5 Hz: 1H); 6,63 (dd, J = 16,5 y 7 Hz: 1H); 8,89 (s: 2H); 9,04 (s: 1H). La (E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina- éster tert-butil de ácido carboxílico (-) fue eluido en segunda posición con un tiempo de retención de 17 min sobre una columna Chiralpak ASTM de 20 μm de diámetro 4,6 mm y 250 mm de longitud [flujo: 1mL/min, eluyente: heptano/metanol/etanol (98/1/1 en volumen)]. El espectro RMN H¹ (300 MHz, (CD₃)₂SO d6, δ en ppm): 1,43 (s: 9H); 1,79 (m: 1H); 2,06 (m: 1H); desde 2,95 hasta 3,15 (m: 2H); desde 3,20 hasta 3,35 (m: 1H); 3,44 (ddd, J = 11- 8,5 y 3 Hz: 1H); 3,53 (ancho dd, J = 10 y 7,5 Hz: 1H); 6,52 (d, J = 16,5 Hz: 1H); 6,63 (dd, J = 16,5 y 7 Hz: 1H); 8,89 (s: 2H); 9,04 (s: 1H).

Referencia **Ejemplo 4: 5-((E)-2-Pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina galactarato (-):**

[0082] El yoduro de trimetilsililo ($0,2 \text{ cm}^3$, $1,4 \text{ mmol}$) fue adicionado a una temperatura en la región de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ a una solución de $0,29 \text{ g}$ ($1,053 \text{ g}$) de 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico (-) en 10 cm^3 de diclorometano. Pasada 2 horas de agitación a esta temperatura la mezcla de reacción fue mezclada con 15 cm^3 de una solución acuosa de amonio al 5%, agitada durante 1 h a una temperatura en la
 5 región de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ y dejada asentar. La fase acuosa fue separada totalmente y extraída con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas dos veces con agua y con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio y después fueron secadas sobre sulfato de magnesio, filtradas y concentradas hasta secarse bajo presión reducida ($2,7 \text{ kPa}$) para dar $0,1 \text{ g}$ de un aceite color naranja. El ácido galactárico ($0,06 \text{ g}$, $0,28 \text{ mmol}$) fue adicionado a una solución de este aceite en 10 cm^3 de metanol al cual se le ha adicionado 1 cm^3 de
 10 agua. La mezcla fue puesta en reflujo, enfriada a una temperatura en la región de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ y concentrada hasta secarse bajo presión reducida ($2,7 \text{ kPa}$). El residuo aceitoso fue triturado en presencia de 5 cm^3 de éter de diisopropilo y el sólido formado fue filtrado y después secado a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ bajo vacío ($2,7 \text{ kPa}$) para dar $0,094 \text{ g}$ de 5-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil) pirimidina galactarato (-) en forma de un sólido amarillo. El espectro de masa (DCI): $m/z = 176$ (MH^+). El espectro RMN ^1H (300 MHz , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d_6 con unas pocas gotas de CD_3COOD d_4 , δ in
 15 ppm): $1,82$ (m: 1H); $2,19$ (m: 1H); $2,98$ (dd, $J = 11$ y 9 Hz : 1H); $3,10$ (m: 1H); $3,21$ (m: 1H); $3,32$ (m: 1H); $3,43$ (dd, $J = 11$ y $7,5 \text{ Hz}$: 1H); $3,79$ (s: 2H); $4,24$ (s: 2H); $6,57$ (límite AB: 2H); $8,88$ (s: 2H); $9,05$ (s: 1H).

[0083] La 3-((E)-2-pirimidina-5-ilvinil) pirrolidina-1-éster tert-butil de ácido carboxílico (-) puede ser preparada como está descrito en el Ejemplo 3.

Ejemplo 5: Determinación del Valor Log P

[0084] Los valores de Log P, los cuales han sido usados para evaluar las capacidades relativas de compuestos para pasar a través de la barrera hemato-encefálica (Hansch, *et al.*, J. Med. Chem. ii:1(1968)), fueron calculados usando el paquete de software Cerius² Versión 3.5 por Molecular Simulations, Inc.

Ejemplo 6: Evaluación de las varias propiedades de los Compuestos Representativos.

[0085] Los siguientes ensayos fueron usados para determinar la afinidad de unión y otras propiedades farmacológicas de varios de los compuestos descritos aquí, y pueden ser usados, generalmente, para evaluar otros compuestos descritos más adelante.

Unión de Radioligando a los Receptores de n-Acetilcolina en el Sistema Nervioso Central (ACh, SNC)

Subtipo $\alpha 4\beta 2$

[0086] Ratas (hembras, Sprague-Dawley) pesando de $150\text{-}250 \text{ g}$, fueron mantenidas en un ciclo luz/oscuridad durante 12 h y fueron dejadas en libre acceso al agua y alimentos suministrados por PMI Nutrition internacional, Inc. Los animales fueron anestesiados con CO_2 al 70%, y después decapitados. Los cerebros fueron eliminados y colocados sobre una plataforma de hielo. La corteza cerebral fue retirada y colocada en 20 volúmenes (peso: volumen) de un tampón preparativo en frío (NaCl , 137 mM ; KCl , $10,7 \text{ mM}$; KH_2PO_4 , $5,8 \text{ mM}$;
 35 Na_2HPO_4 , 8 mM ; HEPES (ácido libre), 20 mM , yodoacetamida, 5 mM ; EDTA, $1,6 \text{ mM}$; pH 7,4); FMSF, disuelto en metanol a una concentración final de $100 \text{ } \mu\text{M}$, fue adicionado, y la suspensión fue homogenizada mediante el Polytron. El homogenizado fue centrifugado a $18.000 \times g$ durante 20 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y el pellet resultante fue re-suspendido en 20 volúmenes de agua fría. Después de 60 min de incubación en hielo, fue colectado un nuevo pellet mediante centrifugación a $18.000 \times g$ durante 20 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. El pellet final fue re-suspendido en 10
 40 volúmenes de tampón y almacenado a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. En el día del ensayo, el tejido fue descongelado, centrifugado a $18.000 \times g$ durante 20 min, después re-suspendido en PBS frío (solución tampón de fosfato de Dulbecco, NaCl , 138 mM ; KCl , $2,67 \text{ mM}$; KH_2PO_4 , $1,47 \text{ mM}$; Na_2HPO_4 , $8,1 \text{ mM}$; CaCl_2 , $0,9 \text{ mM}$; MgCl_2 , $0,5 \text{ mM}$;

Invitrogen/Gibco; pH 7,4) a una concentración final de aproximadamente 4 mg de proteína/mL. La proteína fue determinada por el método de Lowry *et al.*, J. Biol. Chem. 193:265-275 (1951), usando albúmina de suero bovino como estándar.

5 **[0087]** La unión de la [³H] nicotina fue medida usando una modificación de los métodos de Romano *et al.*, Science 210: 647-650 (1980) y Marks *et al.*, Mol. Pharmacol. 30: 427-436 (1986). La [³H] nicotina (Actividad específica = 81,5 CV mmol) fue obtenida a partir de NEN Research Products. La unión de la [³H] nicotina fue medida usando 3 h de incubación a 4 °C. Las incubaciones fueron conducidas en placas de microtitulación de 96 pocillos y contenían 400 µg de proteína por pocillo en un volumen final de incubación de 300 µL. El tampón incubado fue el PBS y la concentración final de la [³H] nicotina fue de 5 nM. La reacción de unión fue terminada
10 mediante la filtración de la proteína que contenía la unión al ligando en filtros de fibra de vidrio (GF/B, Brandel) usando un recolector de tejidos Brandel a 4 °C. Los filtros fueron empapados en agua desionizada conteniendo 0,33% de polietilenamina para reducir las uniones no específicas. Cada filtro fue lavado 3 veces con 1 mL de tampón frío. La unión no específica fue determinada mediante la inclusión de 10 µM de L-nicotina no radioactiva (Acros Orgaics) en pocillos seleccionados.

15 **[0088]** La inhibición de la unión a la [³H] nicotina por los compuestos de la prueba fue determinada mediante la inclusión de siete concentraciones diferentes del compuesto de prueba en los pocillos seleccionados. Cada concentración fue reproducida por triplicado. Los valores IC₅₀ fueron estimados como la concentración del compuesto que inhibió al 50% de la unión específica de la [³H] nicotina. Las constantes de inhibición (valores Ki), reportadas en nM, fueron calculadas a partir de los valores IC₅₀ utilizando el método de Cheng *et al.*,
20 Biochem. Pharmacol.22: 3099-3108 (1973).

Subtipo α7

[0089] Ratas (hembras, Spragye-Dawley) pesando de 150-250 g, fueron mantenidas en un ciclo luz/oscuridad durante 12 h y fueron dejadas en libre acceso al agua y alimentos suministrados por PMI Nutrition internacional, Inc. Los animales fueron anestesiados con CO₂ al 70%, y después decapitados. El hipocampo
25 fue eliminado y colocado sobre una plataforma de hielo. La corteza cerebral fue removida y colocada en 10 volúmenes (peso: volumen) de un preparativo de tampón en frío (NaCl, 137 mM; KCl, 10,7 mM; KH₂PO₄, 5,8 mM; Na₂HPO₄, 8 mM; HEPES (ácido libre), 20 mM, yodoacetamida, 5mM; EDTA, 1,6 mM; pH 7,4); FMSF, disuelto en metanol a una concentración final de 100 µM, fue adicionado, y la suspensión fue homogenizada mediante el Polytron. El homogenizado fue centrifugado a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C y el pellet
30 resultante fue re-suspendido en 10 volúmenes de agua fría. Después de 60 min de incubación en hielo, fue colectado un nuevo pellet mediante centrifugación a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C. El pellet final fue resuspendido en 10 volúmenes de tampón y almacenado a - 20 °C. En el día del ensayo, el tejido fue descongelado, centrifugado a 18.000 x g durante 20 min, después re-suspendido en PBS frío (solución tampón de fosfato de Dulbecco, NaCl, 138 mM; KCl, 2,67 mM; KH₂PO₄, 1,47 mM; Na₂HPO₄, 8,1 mM; CaCl₂, 0,9 mM;
35 MgCl₂, 0,5 mM; Invitrogen/Gibco; pH 7,4) a una concentración final de aproximadamente 2 mg de proteína/mL. La proteína fue determinada por el método de Lowry *et al.*, J. Biol. Chem. 193:265-275 (1951), usando albúmina de suero bovino como estándar.

[0090] La unión del [³H] MLA fue medido utilizando una modificación de los métodos de Davies *et al.*, Neuropharmacol. 38: 679-690, 1999). La [³H] MLA (Actividad específica = 25-35 Ci/mmol) fue obtenida a partir
40 de Tocris. La unión del [³H] MLA fue medida utilizando 2 h de incubación a 21 °C. Las incubaciones fueron conducidas en placas de microtitulación de 48 pocillos y contenían g de proteína por pocillo en un volumen final de 300 a aproximadamente 200 µL. El tampón incubado fue el PBS y la concentración final del [³H] MLA fue de

5 nM. La reacción de unión fue terminada mediante la filtración de la proteína que contenía la unión al ligando en filtros de fibra de vidrio (GF/B, Brandel) usando un recolector de tejidos Brandel a temperatura ambiente. Los filtros fueron empapados en agua desionizada conteniendo 0,33% de polietilenamina para reducir las uniones no específicas. Cada filtro fue lavado 3 veces con 1 mL de PBS a temperatura ambiente. La unión no
 5 específica fue determinada mediante la inclusión de 50 μM de MLA no radioactivo (Acros Orgaics) en pocillos seleccionados.

[0091] La inhibición de la unión a la [^3H] MLA por los compuestos de prueba fue determinada mediante la inclusión de siete concentraciones diferentes del compuesto de prueba en los pocillos seleccionados. Cada concentración fue reproducida por triplicado. Los valores IC_{50} fueron estimados como la concentración del
 10 compuesto que inhibió al 50% de la unión específica del [^3H] MLA. Las constantes de inhibición (valores Ki), reportadas en nM, fueron calculadas a partir de los valores IC_{50} utilizando el método de Cheng *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099-3108 (1973).

Determinación de la Liberación de Dopamina

[0092] La liberación de la dopamina fue medida usando sinaptosomas estriados obtenidos de cerebro de rata, de acuerdo con los procedimientos colocados más adelante por Rapier *et al.*, *J. Neurochem.* 54: 937-45 (1990).
 15 Las ratas (hembras, Sprague-Dawley), pesando de 150-250 g, fueron mantenidas en un ciclo luz/oscuridad durante 12 h y fueron dejadas en libre acceso al agua y alimentos suministrados por PMI Nutrition internacional, Inc. Los animales fueron anestesiados con CO_2 al 70%, y después decapitados. Los cerebros fueron rápidamente eliminados y el estriado diseccionado. El tejido estriado de 2 ratas fue combinado y
 20 homogenizado en 5 mL de sacarosa 0,32 M fría conteniendo 5mM de HEPES, pH 7,4, utilizando un homogenizador vidrio/vidrio. El tejido fue entonces centrifugado a 1.000 x g durante 10 min. El pellet fue descartado y el sobrenadante fue centrifugado a 12.000 g durante 20 min. El pellet resultante fue resuspendido en un tampón de perfusión conteniendo inhibidores de monoamina oxidasa (128 mM de NaCl, 1,2 mM de KH_2PO_4 , 2,4 mM de KCl, 3,2 mM de CaCl_2 , 1,2 mM de MgSO_4 , 25 mM de HEPES, 1 mM de ácido ascórbico,
 25 0,02 mM de HCl pargilina y 10 mM de glucosa, pH 7,4) y centrifugado durante 15 minutos a 25.000 g. El pellet final fue resuspendido en 1,4 mL de tampón de perfusión para uso inmediato.

[0093] La suspensión de sinaptosomas fue incubada durante 10 minutos a 37 °C para restituir la actividad metabólica. La [^3H] Dopamina ([^3H] DA, actividad específica = 28,0 Ci/mmol, NEN Research Products) fue adicionada a una concentración final de 0,1 μM y la suspensión fue incubada a 37 °C por otros 10 minutos.
 30 Alícuotas de 50 μL de tejido + 100 μL de tampón de perfusión fueron cargados en una cámara de superfusión de un Sistema de superfusión Brandel (serie 500, Gaithersburg, MD). El tampón de perfusión (temperatura ambiente) fue bombeado dentro de las cámaras a una velocidad de 3mL/min durante un período de lavado de 8 minutos. El compuesto de prueba (10 μM) o la nicotina (10 μM) fueron entonces aplicados en una corriente de perfusión durante 40 segundos. Las fracciones (cada 12 segundos) fueron continuamente colectadas desde
 35 cada cámara durante todo el experimento para capturar la liberación basal, el pico de liberación inducido por el agonista y el restablecimiento del nivel basal después de la aplicación del agonista. El perfundido fue colectado directamente en viales de escintilación, a los cuales el fluido de escintilación fue adicionado. La ([^3H] DA fue cuantificada mediante un conteo de escintilación. Para cada cámara, el área integrada del pico fue normalizada a su nivel basal.

[0094] La liberación fue expresada como un porcentaje de la liberación obtenida con una concentración igual de L-nicotina. Dentro de cada ensayo, cada compuesto de prueba fue reproducido utilizando 2-3 cámaras; los reproducidos fueron promediados. Cuando fue apropiado, las curvas respuesta-dosis del compuesto de prueba

fueron determinadas. La activación máxima para los compuestos individuales (E_{max}) fue determinada como el porcentaje de activación máxima inducido por la L-nicotina. La concentración del compuesto resultando en la mitad de la activación máxima (EC_{50}) para el flujo de ión específico fue también definida.

Selectividad vs. nAChR periféricos

5 Interacción en el Subtipo Muscular Humano

[0095] La activación del nAChR tipo muscular fue establecida en la línea clonal humana. El TE671/RD, el cual es derivado de un rhabdomyosarcoma embrional (Stratton *et al.*, Carcinogen 10: 899-905, 1989). Estas células expresan receptores que tienen perfiles farmacológicos (Lukas *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 251: 175-182, 1989), electrofisiológicos (Oswald *et al.*, Neurosci. Lett. 96: 207-212; 1989), y de biología molecular (Luther *et al.*, J. Neurosci. 9: 1082-1096, 1989) similares a los nAChR de tipo muscular.

[0096] Las células TE671/RD fueron mantenidas en una fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con los protocolos tradicionales ((Bencherif *et al.*, Mol. Cell. Neurosci. 2: 52-65 (1991) y Bencherif *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 946-953 (1991)). Las células fueron cultivadas en el medio Eagle modificado por Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4 mM de L-glutamina, 50.000 unidades de penicilina-estreptomicina (Irving Scientific). Cuando las células estuvieron 80% confluentes, fueron plaqueadas a placas de poliestireno de 6 pocillos (Costar). Los experimentos fueron conducidos cuando las células alcanzaron el 100% de confluencia.

[0097] La función del receptor nicotínico acetilcolina (nAChR) fue ensayada utilizando un eflujo de $^{86}Rb^+$ de acuerdo al método descrito por Lucas *et al.*, Anal. Biochem. 175: 212-218 (1988). En el día del experimento, el medio en crecimiento fue delicadamente eliminado del pocillo y del medio en crecimiento que contenía ^{86}Cl cloruro de rubidio (10^6 Ci/mL) y adicionado a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37 °C durante un mínimo de 3 horas. Después del período de carga, el exceso de ^{86}Rb fue eliminado y las células fueron lavadas dos veces con una solución tamponada de fosfato de Dulbecco libre de marcaje (NaCl, 138 mM; KCl, 2,67 mM; KH_2PO_4 , 1,47 mM; Na_2HPO_4 , 8,1 mM; $CaCl_2$, 0,9 mM; $MgCl_2$, 0,5 mM; Invitrogen/Gibco, pH, 7,4), tomando cuidado para no desestabilizar a las células. Seguido, las células fueron expuestas a 100 μ M del compuesto de prueba, o 100 μ M de L-nicotina (Acros Organics), o a un tampón solo durante 4 minutos. Después del período de exposición, el sobrenadante que contenía el ^{86}Rb liberado fue eliminado y transferido a viales de escintilación. El fluido de escintilación fue adicionado y la radioactividad liberada fue medida mediante un conteo de escintilación de líquido.

[0098] Dentro de cada ensayo, cada punto tuvo 2 réplicas, los cuales fueron promediados. La cantidad de ^{86}Rb libre fue comparada tanto con un control positivo (100 μ M de L-nicotina) y con un control negativo (solo el tampón) para determinar el porcentaje de liberación relativa con respecto a la L-nicotina.

[0099] Cuando fue apropiado, las curvas respuesta-dosis del compuesto de prueba fueron determinadas. La activación máxima para los compuestos individuales (E_{max}) fue determinada como un porcentaje de la activación máxima inducida por la L-nicotina. La concentración del compuesto resultando en la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo del ión específico fue también definida.

Interacción en el Subtipo Ganglionar de Rata

[0100] Las activaciones de los nAChR de ganglios de ratas fueron establecidas en la línea clonal de feocromocitoma PC12, la cual es una línea celular continua clonal de origen en la cresta neural, derivada de un tumor de la médula adrenal de la rata. Estas células expresan nAChR neuronales tipo ganglionar (ver Whiting *et al.*, Nature 327: 515-518 (1987); Lukas *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 251: 175-182 (1989); Whiting *et al.*, Mol. Brain Res. 10: 61-70 (1990)).

[0101] Las células PC12 de ratas fueron mantenidas en una fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con los protocolos tradicionales ((Bencherif *et al.*, Mol. Cell. Neurosci. 2: 52-65 (1991) y Bencherif *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 946-953 (1991)). Las células fueron cultivadas en el medio Eagle modificado por Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4 mM de L-glutamina, 50.000 unidades de penicilina-estreptomicina (Irving Scientific). Cuando las células estuvieron 80% confluentes, fueron plaqueadas a placas Nunc de 6 pocillos (Nunclon), cubiertas con 0,03% de poli-L-lisina (Sigma, disueltos en 100 mM de ácido bórico). Los experimentos fueron conducidos cuando las células alcanzaron el 80% de confluencia.

[0102] La función del receptor acetilcolina nicotínico (nAChR) fue ensayada utilizando un eflujo de $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo al método descrito por Lucas *et al.*, Anal. Biochem. 175: 212:218 (1988). En el día del experimento, el medio en crecimiento fue delicadamente eliminado del pocillo y del medio en crecimiento que contenía $^{86}\text{Cloruro}$ de rubidio (10^6 Ci/mL) y adicionado a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37 °C durante un mínimo de 3 horas. Después del período de carga, el exceso de ^{86}Rb fue eliminado y las células fueron lavadas dos veces con una solución tamponada de fosfato de Dulbecco libre de marcaje (NaCl, 138 mM; KCl, 2,67 mM; KH_2PO_4 , 1,47 mM; Na_2HPO_4 , 8,1 mM; CaCl_2 , 0,9 mM; MgCl_2 , 0,5 mM; Invitrogen/Gibco, pH, 7,4), tomando cuidado para no desestabilizar a las células. Seguido, las células fueron expuestas a 100 μM del compuesto de prueba, o 100 μM de nicotina (Acros Organics), o a un tampón solo durante 4 minutos. Después del período de exposición, el sobrenadante que contenía el ^{86}Rb liberado fue eliminado y transferido a viales de escintilación. El fluido de escintilación fue adicionado y la radioactividad liberada fue medida mediante un conteo de escintilación de líquido.

[0103] Dentro de cada ensayo, cada punto tuvo 2 réplicas, los cuales fueron promediados. La cantidad de ^{86}Rb libre fue comparada tanto con un control positivo (100 μM de L-nicotina) y con un control negativo (solo el tampón) para determinar el porcentaje de liberación relativa con respecto a la L-nicotina.

[0104] Cuando fue apropiado, las curvas respuesta-dosis del compuesto de prueba fueron determinadas. La activación máxima para los compuestos individuales (E_{max}) fue determinada como un porcentaje de la activación máxima inducida por la L-nicotina. La concentración del compuesto resultando en la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo del ión específico fue también definida.

Interacción en el Subtipo Gangliónico Humano

[0105] La línea celular, SH-SY5Y, es una línea continua derivada del subclonaje secuencial de la línea celular parenteral, SK-N-SH, la cual fue obtenida originalmente a partir de un neuroblastoma periférico. Las células SH-SY5Y expresan un nAChR tipo ganglionar (Lukas *et al.*, Mol. Cell. Neurosci. 4: 1-12, 1993).

[0106] Las células SHSY5Y fueron mantenidas en una fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con protocolos tradicionales ((Bencherif *et al.*, Mol. Cell. Neurosci. 2: 52-65 (1991) y Bencherif *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 946-953 (1991)).

[0107] Las células fueron cultivadas en medio Eagle modificado por Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4 mM de L-glutamina, 50.000 unidades de penicilina-estreptomicina (Irving Scientific). Cuando las células estuvieron 80% confluentes, fueron plaqueadas a placas de poliestireno de 6 pocillos (Costar). Los experimentos fueron conducidos cuando las células alcanzaron el 100% de confluencia.

[0108] La función del receptor acetilcolina nicotínico (nAChR) fue ensayada utilizando un eflujo de $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo al método descrito por Lucas *et al.*, Anal. Biochem. 175: 212:218 (1988). En el día del experimento, el medio en crecimiento fue delicadamente eliminado del pocillo y del medio en crecimiento que contenía $^{86}\text{Cloruro}$

de rubidio (10^6 Ci/mL) y adicionado a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37 °C durante un mínimo de 3 horas. Después del período de carga, el exceso de ^{86}Rb fue eliminado y las células fueron lavadas dos veces con una solución tamponada de fosfato de Dulbecco libre de marcaje (NaCl, 138 mM; KCl, 2,67 mM; KH_2PO_4 , 1,47 mM; Na_2HPO_4 , 8,1 mM; CaCl_2 , 0,9 mM; MgCl_2 , 0,5 mM; Invitrogen/Gibco, pH, 7,4), tomando cuidado para no desestabilizar a las células. Seguido, las células fueron expuestas a 100 μM del compuesto de prueba, o 100 μM de nicotina, o a un tampón solo durante 4 minutos. Después del período de exposición, el sobrenadante que contenía el ^{86}Rb liberado fue eliminado y transferido a viales de escintilación. El fluido de escintilación fue adicionado y la radioactividad liberada fue medida mediante un conteo de escintilación de líquido.

10 **[0109]** Dentro de cada ensayo, cada punto tuvo 2 réplicas, los cuales fueron promediados. La cantidad de ^{86}Rb libre fue comparada tanto con un control positivo (100 μM de L-nicotina) y con un control negativo (solo el tampón) para determinar el porcentaje de liberación relativa con respecto a la L-nicotina.

15 **[0110]** Cuando fue apropiado, las curvas respuesta-dosis del compuesto de prueba fueron determinadas. La activación máxima para los compuestos individuales (E_{max}) fue determinada como un porcentaje de la activación máxima inducida por la L-nicotina. La concentración del compuesto resultando en la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo del ión específico fue también definida.

20 **[0111]** Compuestos representativos fueron evaluados utilizando los ensayos descritos en este documento. Los resultados indican que los compuestos de la presente invención se unen selectivamente a los nAChR $\alpha 4\beta 2$ e inducen consecuentemente la liberación de dopamina. Típicamente, los valores K_i de unión a $\alpha 4\beta 2$ están en el rango de 1-100 nM, y los valores E_{max} para la liberación de la dopamina se aproxima al 100% de aquella producida por la nicotina. En contraste, los compuestos de la presente invención no se unen bien a aquellos subtipos de nAChR los cuales son característicos de los sistemas nervioso periférico y muscular. De este modo, los compuestos de la presente invención poseen un potencial terapéutico en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central sin producir efectos secundarios asociados con la interacción con el sistema
25 nervioso periférico.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto que se selecciona de (R) – y (S) – 3-((E) – 2-pirrolidin -3-ilvinil) 5 (tetrahidropirano -4-iloxi) piridina, mezclas racémicas, enantiómeros y tautómeros del mismo, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
2. Un compuesto según la reivindicación 1, que es hemigalactarato de piridina 3-((E)-2-pirrolidina-3-ilvinil)-5-(tetrahidropirano-4-iloxi) racémico.
3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Reivindicación 1 o 2 y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 10 4. El uso de un compuesto de la Reivindicación 1 o 2 o una composición de la Reivindicación 3 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de trastornos neurodegenerativos.
5. Un compuesto de la Reivindicación 1 o 2 o una composición de la Reivindicación 3 para uso en el tratamiento o prevención de un trastorno neurodegenerativo.
- 15 6. El uso de la reivindicación 4 o el compuesto o composición de la Reivindicación 5, en donde el trastorno es demencia presenil, inicio temprano de la enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia del tipo Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, demencia micro-infarto, demencia relacionada al sida, demencia-HIV, defecto cognitivo leve, deterioro de memoria asociado a la edad, trastorno amnésico prematuro, trastornos cognitivos relacionados con la edad, trastornos cognitivos relacionados con sustancias, trastornos cognitivos relacionados con síndrome de inmunodeficiencia, trastornos cognitivos asociados con trastornos vasculares, esquizofrenia, trastorno de déficit de atención, deficiencias en la atención o deficiencias de aprendizaje.
- 20 7. Uso de la reivindicación 4 o del compuesto o composición de la reivindicación 5, en donde el trastorno es enfermedad de Alzheimer, demencia leve a moderada del tipo Alzheimer, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, defecto cognitivo leve, deterioro de memoria asociado a la edad, esquizofrenia, o disfunción cognitiva en esquizofrenia.
- 25
- 30