

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 212**

51 Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2007 E 07863786 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **02.09.2009 EP 2094703**

54 Título: **Amidas de diazabicycloalcanos selectivas de subtipo del receptor de acetilcolina nicotínica.**

30 Prioridad:

02.11.2006 US 856079 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.02.2013

73 Titular/es:

**TARGACEPT, INC. (100.0%)
200 EAST FIRST STREET, SUITE 300
WINSTON-SALEM, NC 27101-4165, US**

72 Inventor/es:

**MAZUROV, ANATOLY;
MIAO, LAN y
XIAO, YUN-DE**

74 Agente/Representante:

URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio

ES 2 395 212 T3

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

DESCRIPCIÓN

Campo de la Invención

[0001] La presente invención se refiere a compuestos que se unen a y modulan la actividad de receptores de acetilcolina nicotínica neuronal, a procesos para preparar estos compuestos, a composiciones farmacéuticas conteniendo estos compuestos y a métodos de usar estos compuestos para tratar una amplia variedad de afecciones y trastornos, incluyendo los asociados con disfunción del sistema nervioso central (CNS).

Antecedentes de la Invención

[0002] El potencial terapéutico de los compuestos que se dirigen a receptores nicotínicos neuronales (NNRs), también conocidos como receptores de acetilcolina nicotínica (nAChRs) ha sido el sujeto de diversas revisiones recientes (ver Breining et al., *Ann. Rep. Med. Chem.* 40: 3 (2005), Hogg and Bertrand, *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 3: 123 (2004), Suto and Zacharias, *Expert Opin. Ther. Targets* 8: 61 (2004), Dani et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14: 1837 (2004), Bencherif and Schmitt, *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 1: 349 (2002)). Entre las clases de indicaciones para las que se han propuesto ligandos de NNR como terapias están trastornos cognitivos, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, trastorno de falta de atención y esquizofrenia (Newhouse et al., *Curr. Opin. Pharmacol.* 4: 36 (2004), Levin y Rezvani, *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 1: 423 (2002), Graham et al., *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 1: 387 (2002), Ripoll et al., *Curr. Med. Res. Opin.* 20(7): 1057 (2004), y McEvoy y Allen, *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 1: 433 (2002)); dolores e inflamación (Decker et al., *Curr. Top. Med. Chem.* 4(3): 369 (2004), Vincler, *Expert Opin. Invest. Drugs* 14(10): 1191 (2005), Jain, *Curr. Opin. Inv. Drugs* 5: 76 (2004), Miao et al., *Neuroscience* 123: 777 (2004)); depresión y ansiedad (Shytle et al., *Mol. Psychiatry* 7: 525 (2002), Damaj et al., *Mol. Pharmacol.* 66: 675 (2004), Shytle et al., *Depress. Anxiety* 16: 89 (2002)); neurodegeneración (O'Neill et al., *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* 1: 399 (2002), Takata et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 306: 772 (2003), Marrero et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 309: 16 (2004)); enfermedad de Parkinson (Jonhala and Buccafusco, *J. Neurosci. Res.* 66: 565 (2001)); adicción (Dwoskin and Crooks, *Biochem. Pharmacol.* 63: 89 (2002), Coe et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(22): 4889 (2005)); obesidad (Li et al., *Curr. Top. Med. Chem.* 3: 899 (2003)); y síndrome de Tourette (Sacco et al., *J. Psychopharmacol.* 18(4): 457 (2004), Young et al., *Clin. Ther.* 23(4): 532 (2001)).

[0003] WO 2004/016616 revela diazabicycloalcanos aril-sustituídos como agonistas de nAChR para el tratamiento de p. ej. trastornos de déficit cognitivo o enfermedad de Alzheimer. Una limitación de algunos compuestos nicotínicos es que están asociados con varios efectos secundarios no deseables, por ejemplo, estimulando receptores musculares y gangliónicos. Sería deseable tener compuestos, composiciones y métodos para evitar y/o tratar varias afecciones o trastornos (por ejemplo, trastornos CNS), incluyendo aliviar los síntomas de estos trastornos, donde los compuestos presentan farmacología nicotínica con un efecto beneficioso (por ejemplo, sobre el funcionamiento de CNS), pero sin efectos secundarios asociados significativos. Sería además altamente deseado proporcionar compuestos, composiciones y métodos que afecten a la función de CNS sin afectar significativamente aquellos subtipos de receptores que tienen el potencial para inducir efectos secundarios indeseables (por ejemplo, actividad apreciable en sitios del músculo cardiovascular y esquelético). La presente invención proporciona tales compuestos, composiciones y métodos.

Resumen de la Invención

[0004] La presente invención proporciona ciertos compuestos de amida que pueden estar formados a partir de ciertos ácidos heteroaril carboxílicos y ciertos diazabicycloalcanos, particularmente 3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano y 3,7-diazabicyclo [3.3.1] nonano. Estos compuestos de amida se unen con alta afinidad a los NNRs del subtipo $\alpha 4\beta 2$, encontrado en el CNS, y presentan selectividad para el subtipo $\alpha 4\beta 2$ sobre el subtipo $\alpha 7$ NNR, también hallados en el CNS. La presente invención también se refiere a sales farmacéuticamente aceptables preparadas a partir de estos compuestos y las composiciones farmacéuticas de los mismos, que pueden usarse para tratar y/o impedir una amplia variedad de afecciones o trastornos, y particularmente esos trastornos caracterizados por la disfunción de neurotransmisión colinérgica nicotínica o la degeneración de las neuronas coligérgicas nicotínicas. También se proporciona el uso de un compuesto o una composición en la fabricación de un medicamento para tratar y/o impedir trastornos, como trastornos CNS, y también para tratar ciertas afecciones (por ejemplo, aliviar el dolor y la inflamación), en mamíferos con necesidad de tal tratamiento. Los métodos implican administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos (incluyendo sales) o composiciones farmacéuticas que incluyen tales compuestos. Se proporciona además el uso de un compuesto o composición farmacéutica en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos seleccionados del grupo formado por deficiencia de memoria asociada con la edad, deficiencia cognitiva leve, demencia presenil (aparición temprana de la enfermedad de Alzheimer), demencia senil (demencia tipo Alzheimer), demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, enfermedad de Alzheimer, derrame cerebral, demencia compleja de VIH, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, y trastorno esquizoafectivo. Además se proporciona un uso de un compuesto o composición farmacéutica en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos seleccionados del grupo consistiendo en el tratamiento de demencia leve a moderada tipo Alzheimer, trastorno de déficit de atención, deficiencia cognitiva leve y deficiencia de memoria asociada con la edad.

[0005] Las composiciones farmacéuticas incorporan un compuesto de la presente invención que, cuando se emplea en cantidades eficaces, interactúa con sitios relevantes del receptor nicotínico de un sujeto, y por tanto actúa como un agente terapéutico para tratar e impedir una amplia variedad de afecciones y trastornos. Las composiciones farmacéuticas proporcionan un beneficio terapéutico a los individuos que sufren tales trastornos y presentan manifestaciones clínicas de tales trastornos, porque los compuestos dentro de esas composiciones, cuando se emplean en cantidades eficaces, pueden (i) presentar farmacología nicotínica y afectar a sitios relevantes con receptores nicotínicos (por ejemplo, actúan como un agonista farmacológico para activar receptores nicotínicos) y/o (ii) provocan secreción de neurotransmisores, y por tanto impiden y suprimen los síntomas asociados con esas enfermedades. Además, los compuestos tienen el potencial para (i) incrementar el número de receptores colinérgicos nicotínicos del cerebro del paciente, (ii) presentar efectos neuroprotectores, y/o (iii) cuando se emplean con cantidades eficaces, no causar efectos secundarios adversos apreciables (por ejemplo, incrementos significativos en la presión sanguínea y frecuencia cardíaca, efectos negativos significativos sobre el tracto gastro intestinal, y efectos significativos sobre el músculo esquelético). Se cree que las composiciones farmacéuticas formadas por los compuestos de la invención, se creen son seguras y eficaces respecto a la prevención y el tratamiento de una amplia variedad de afecciones y trastornos.

[0006] Lo anterior y otros aspectos de la presente invención son explicados en detalle en la descripción detallada y los ejemplos expuestos abajo.

Breve Descripción de las Figuras

[0007]

La Figura 1 es un gráfico mostrando los resultados de un estudio sobre reconocimiento de objeto en ratas tratadas oralmente con N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano. Los resultados se muestran como una función del índice de reconocimiento (%) contra la dosis (mg/kg).

La Figura 2 es un gráfico mostrando los resultados de un estudio sobre reconocimiento de objeto en ratas tratadas oralmente con N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano. Los resultados se muestran como una función del índice de reconocimiento (%) contra la dosis (mg/kg).

Descripción Detallada

[0008] Los compuestos selectivos de subtipo, las composiciones farmacéuticas incluyendo estos compuestos, los métodos de preparar los compuestos, y los usos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención usando los compuestos son descritos en detalle abajo.

[0009] Los compuestos y los métodos descritos aquí serán mejor entendidos con referencia a las siguientes realizaciones preferidas. Las siguientes definiciones serán útiles para definir el campo de la invención:

[0010] En esta especificación, a menos que se indique lo contrario, el término "alquilo" incluye grupos alquilo tanto de cadena de cadena recta como ramificada. Estos pueden ser, pero no están limitados a, metil, etil, n-propil, i-propil, n-butil, i-butil, s-butil, t-butil, n-pentil, i-pentil, neo-pentil, n-hexil o i-hexil. El término "C₁₋₄ alquilo" así incluye grupos de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono, incluyendo, pero no están limitados a, metil, etil, n-propil, i-propil or *tert*-butil.

[0011] En esta especificación, a menos que se indique lo contrario, el término "cicloalquilo" se refiere a un sistema de anillo de hidrocarburo, monocíclico, bicíclico o con puente opcionalmete sustituido, parcialmente o completamente saturado. El término "C₃₋₈ cicloalquilo" puede ser, pero no está limitado a ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil, y ciclooctil.

[0012] Como aquí se usa, los radicales heterociclicil contienen de 3 a 10 elementos incluyendo uno o más heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno. Ejemplos de fracciones adecuadas de heterociclicil incluyen, pero no están limitadas a, piperidinil, morfolinil, pirrolidinil, imidazolidinil, pirazolidinil, isatiazolidinil, tiazolidinil, isoxazolidinil, oxazolidinil, piperazinil, oxanil (tetrahidropiranil), y oxolanil (tetrahidrofuranyl).

[0013] Como aquí se usa, los radicales C₁₋₆ alcoxi contienen de 1 a 6 átomos de carbono en una cadena recta o ramificada, y también incluyen radicales C₃₋₆ cicloalcoxi y radicales alcoxi que contienen fracciones C₃₋₆ cicloalquilo. Ejemplos incluyen, pero no están limitados a metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, t-butoxi, isobutoxi, ciclopropilmetoxi, alliloxi o propargiloxi.

[0014] Como aquí se usa, "aromático" se refiere a anillos heteroaromáticos y aromáticos de anillo de 3 a 10 elementos, preferiblemente anillo de 5 y 6 elementos.

[0015] Como aquí se usa, "especies conteniendo grupos aromáticos" se refiere a fracciones que son o incluyen un grupo aromático. En consecuencia, las fracciones fenil y bencil se incluyen en esta definición, ya que ambas son o incluyen un grupo aromático, y piridinil y pirimidinil se incluyen en la definición, ya que ambos son heteroaromáticos, un subconjunto de aromáticos.

[0016] Como aquí se usa, los radicales aril se seleccionan de fenil, naftil e indenil.

[0017] Como aquí se usa, los radicales heteroaril contienen de 3 a 10 elementos, preferiblemente 5 o 6 elementos, incluyendo uno o más heteroátomos seleccionados entre oxígeno, azufre y nitrógeno. Ejemplos de fracciones adecuadas de heteroaril de anillo de 5 elementos incluyen furanil, tienil, pirrolil, imidazolil, oxazolil, tiazolil, isoxazolil, isotiazolil, oxadiazolil, tetrazolil, triazolil, y pirazolil. Ejemplos de fracciones adecuadas de heteroaril de anillo de 6 elementos incluyen piridinil, pirimidinil, pirazinil, y piridazinil. Ejemplos de grupos heteroaril de 9 elementos incluyen benzimidazolil, indolizinil, purinil e indolinil. Ejemplos de grupos heteroaril de 10 elementos incluyen quinolinil e isoquinolinil.

[0018] Se apreciará que en toda la especificación, el número y naturaleza de los sustituyentes en anillos en los compuestos de la invención serán seleccionados de forma que se eviten combinaciones estéricamente indeseadas.

[0019] Ciertos nombres de compuestos de la presente invención fueron generados con la ayuda de un programa de ordenador (ACDLabs 8.0/Name(IUPAC)).

[0020] Ejemplos de sales adecuadas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido inorgánico tal como cloruro, bromuro, sulfato, fosfato, y nitrato; sales de adición de ácido orgánico tales como acetato, galactarato, propinato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, maleato, fumarato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, y ascorbato; sales con ácido amino ácido tal como aspartato y glutamato; sales de metales alcalinos tales como sal sódica y sal potásica; sales de metal alcalinotérreo tales como sal de magnesio y sal cálcica; sal amónica; sales básicas orgánicas tales como sal de trimetilamina, sal de trietilamin, sal piridina, sal picolina, sal de dicitlohexilamina, y sal N,N'-dibenciletilendiamina; y sales con ácido amino básico tal como sal de lisina y sal de arginina. Las sales pueden ser en algunos casos hidratos o solvatos de etanol. Sales representativas se proporcionan como se describe en las Patentes U.S. Nº 5,597,919 a Dull et al., 5,616,716 a Dull et al. y 5,663,356 a Rucroft et al.

[0021] Los compuestos de la Formula I y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden existir en formas solvatada, por ejemplo hidratada, así como no solvatadas, y la presente invención engloba todas esas formas.

[0022] Como aquí se usa, un "agonista" es una sustancia que estimula a su compañero de unión, normalmente un receptor. La estimulación se define en el contexto del particular ensayo, o puede ser aparente en la literatura a partir de una discusión sobre ello que haga una comparación con un factor o sustancia que es aceptada como un "agonista" o un "antagonista" del particular ligando bajo sustancialmente circunstancias similares como se aprecie por los expertos en la técnica. La estimulación puede definirse con respecto a un incremento en un particular efecto o función que es inducida por la interacción del agonista o agonista parcial con un ligando y puede incluir efectos alóstericos.

[0023] Como aquí se usa, un "antagonista" es un sustancia que inhibe a su compañero de unión, normalmente un receptor. La inhibición se define en el contexto del particular ensayo, o puede ser aparente en la literatura a partir de una discusión sobre ello que haga comparación con un factor o sustancia que es aceptada como "agonista" o un "antagonista" del particular ligando bajo sustancialmente circunstancias similares como se aprecie por los expertos en la técnica. La inhibición puede definirse con respecto a una disminución en un particular efecto o función que es inducido por la interacción del agonista o agonista parcial con un compañero de unión y puede incluir efectos alóstericos.

[0024] Como aquí se usa, un "agonista parcial" o un "antagonista parcial" es una sustancia que proporciona un nivel de estimulación o inhibición, respectivamente, a su ligando que no es totalmente o completamente agonístico o antagonístico, respectivamente. Se reconocerá que la estimulación, y por lo tanto, la inhibición se define intrínsecamente para cualquier sustancia o categoría de sustancias a definir como agonistas, antagonistas, o agonistas parciales.

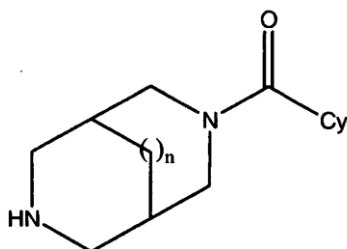
[0025] Como aquí se usa, "actividad intrínseca" o "eficacia" se refiere a alguna medida de la eficacia biológica del complejo ligando. Con respecto a la farmacología del receptor, el contexto en que la actividad intrínseca o eficacia debería ser definida dependerá del contexto del complejo ligando (*p. ej.*, receptor/ligando) y la consideración de una actividad relevante para un particular resultado biológico. Por ejemplo, en algunas circunstancias, la actividad intrínseca puede variar dependiendo del particular segundo sistema mensajero involucrado. Ver Hoyer, D. and Boddeke, H., Trends Pharmacol. Sci. 14(7): 270-5 (1993). Dónde son relevantes tales evaluaciones contextualmente específicas, y cómo podrían ser relevantes en el contexto de la presente invención, será aparente a uno con conocimiento normal en la materia.

[0026] Como aquí se usa, modulación de un receptor incluye agonismo, agonismo parcial, antagonismo, antagonismo parcial, o agonismo inverso de un receptor.

[0027] Como aquí se usa, los neurotransmisores cuya liberación es mediada por los compuestos aquí descritos incluyen, pero no están limitados a, acetilcolina, dopamina, norepinefrina, serotonina y glutamato, y los compuestos aquí descritos funcionan como moduladores en el subtipo $\alpha 4\beta 2$ del CNS NNRs.

Compuestos

[0028] Los compuestos aquí descritos son compuestos de amida formados a partir de ciertos ácidos heteroaril carboxílicos y ciertos diazabicycloalcanos. Estos compuestos pueden ser representados como Formula I:



Formula I

5

donde n tiene el valor de 0 o 1, y Cy es un grupo heteroaril elegido del grupo de 2-furanil, 3-furanil, 2-oxazolil, 4-oxazolil, 5-oxazolil, 3-isoxazolil, 4-isoxazolil, 5-isoxazolil, 1,3,4-oxadiazol-2-il, 1,2,4-oxadiazol-3-il, 1,2,4-oxadiazol-5-il, 2-tiazolil, 4-tiazolil, 5-tiazolil, 3-isotiazolil, 4-isotiazolil, 5-isotiazolil, 1,3,4-tiadiazol-2-il, 1,2,4-tiadiazol-3-il, 1,2,4-tiadiazol-5-il y 4-piridinil, cuyos grupos heteroaril son opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes no-hidrógeno seleccionados independientemente de C₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo sustituido, C₂₋₆ alkenil, C₂₋₆ alkenil sustituido, C₂₋₆ alkinil, C₂₋₆ alkinil sustituido, C₃₋₈ heterociclicil, C₃₋₈ heterociclicil sustituido, C₃₋₈ cicloalquilo, C₃₋₈ cicloalquilo sustituido, C₅₋₁₀ aril, C₅₋₁₀ heteroaril, C₅₋₁₀ aril sustituido, C₅₋₁₀ heteroaril sustituido, C₁₋₆ alquilo- C₅₋₁₀ aril, C₁₋₆ alquilo- C₅₋₁₀ heteroaril, C₁₋₆ alquilo sustituido - C₅₋₁₀ aril, C₁₋₆ alquilo sustituido - C₅₋₁₀ heteroaril, C₅₋₁₀ aril- C₁₋₆ alquilo, C₅₋₁₀ heteroaril- C₁₋₆ alquilo, sustituido C₅₋₁₀ aril- C₁₋₆ alquilo, sustituido C₅₋₁₀ heteroaril- C₁₋₆ alquilo, halo, -OR', -NR'R'', -CF₃, -CN, -NO₂, -C₂R', -SR', -N₃, -C(=O)NR'R'', - NR'C(=O)R'', -C(=O)R'', -C(=O)OR'', -OC(=O)R'', -OC(=O)NR'R'', -NR'C(=O)OR'', -SO₂R'', -SO₂NR'R'', y -NR'SO₂R'', donde R' y R'' son independientemente seleccionados de hidrógeno, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₈ cicloalquilo, C₃₋₈ heterociclicil, C₅₋₁₀ aril, C₅₋₁₀ heteroaril o C₅₋₁₀ alil- C₁₋₆ alquilo, o R' y R'' y los átomos a los que están unidos pueden juntos formar un anillo C₃₋₈ heterocíclico, en donde el término "sustituido", cuando se aplica a alquilo, alkenil, alkinil, heterociclicil, cicloalquilo, aril, heteroaril, alquiloaril, alquiloheteroaril, arilalquilo y heteroarilalquilo, se refiere a la sustitución por uno o más alquilo, aril, heteroaril, halo, -OR' y -NR'R'' grupos, o sales de las mismas farmacéuticamente aceptables.

[0029] Una realización de la invención se refiere a compuestos de la Formula I en donde n tiene el valor de 0 o 1, y Cy es un grupo C₅₋₁₀ heteroaril elegido del grupo de 2-furanil or 3-furanil, 2-oxazolil, 4-oxazolil, 5-oxazolil, 3-isoxazolil, 4-isoxazolil, 5-isoxazolil, 1,3,4-oxadiazol-2-il, 1,2,4-oxadiazol-3-il, 1,2,4-oxadiazol-5-il, 2-tiazolil, 4-tiazolil, 5-tiazolil, 3-isotiazolil, 4-isotiazolil, 5-isotiazolil, 1,3,4-tiadiazol-2-il, 1,2,4-tiadiazol-3-il, 1,2,4-tiadiazol-5-il y 4-piridinil, cuyos grupos heteroaril son opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes no-hidrógeno seleccionados independientemente de C₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo sustituido, halo, y C₂₋₆ alkinil sustituido con fenil.

[0030] En una realización n es 0. En otra realización n es 1. En una realización adicional Cy es 2-furanil. En otra realización más Cy es 2-furanil sustituido con halo. En una realización Cy es 2-furanil sustituido con cloro. En otra realización más n es 0 y Cy es 2-furanil opcionalmente sustituido con halo. En una realización n es 1 y Cy es 2-furanil opcionalmente sustituido con halo. En otra realización más 2-furanil es sustituido en la posición 5. En otra realización más R' y R'' son independientemente seleccionados de metil, etil, n-propil, isopropil, n-butil, i-butil, s-butil o t-butil. En una realización adicional R' y R'' son independientemente seleccionados de fenil o bencil.

[0031] En algunos casos, los compuestos de la presente invención son quirales. La presente invención incluye todas las formas enantioméricas o diastereoméricas de tales compuestos.

[0032] Compuestos representativos de la presente invención incluyen los siguientes:

N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

N-(3-metilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

40 N-(5-metilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

N-(3-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

N-(3-bromofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,

- N-(5-bromofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(4-fenilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(5-(2-piridinil)furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(5-(feniletinil)furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 5 N-(furan-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(oxazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(oxazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(oxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(isoxazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 10 N-(isoxazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(isoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(3-bromoisoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(3-metoxiisoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(1,2,4-oxadiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 15 N-(1,2,4-oxadiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(1,3,4-oxadiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(tiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(tiazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(tiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 20 N-(isotiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(isotiazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(isotiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(1,2,4-tiadiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(1,2,4-tiadiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 25 N-(1,3,4-tiadiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 N-(piridin-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano,
 y sales de los mismos farmacéuticamente aceptables.

[0033] Compuestos representativos de la presente invención también incluyen los siguientes:

- N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 30 N-(3-metilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(5-metilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(3-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(3-bromofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 35 N-(5-bromofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(4-fenilfuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(5-(2-piridinil)furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,

- N-(5-(feniletinil)furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(furan-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(oxazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(oxazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 5 N-(oxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(isoxazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.1] nonano,
 N-(isoxazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(isoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(3-bromoisoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 10 N-(3-metoxisoxazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(1,2,4-oxadiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(1,2,4-oxadiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(1,3,4-oxadiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(tiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 15 N-(tiazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(tiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(isotiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(isotiazol-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(isotiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 20 N-(1,2,4-tiadiazol-3-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(1,2,4-tiadiazol-5-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(1,3,4-tiadiazol-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 N-(piridin-4-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano,
 y sales de los mismos farmacéuticamente aceptables.
- 25 **[0034]** Una realización se refiere al compuesto N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano, o sales del mismo farmacéuticamente aceptables. Otra realización se refiere al compuesto N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano, o sales del mismo farmacéuticamente aceptables.

Preparación del Compuesto

- 30 **[0035]** Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados por acoplamiento de diazabicyclo monoprotectado (es decir, uno en que uno de los dos grupos funcionales amino se hace no reactivo por derivación adecuada) con un cloruro de ácido heteroaril adecuadamente funcionalizado u otro derivado de ácido carboxílico reactivo.
- 35 **[0036]** Hay numerosos métodos para preparar los diazabicyclos monoprotectados usados para preparar los compuestos de la presente invención. Los métodos para la síntesis de un 3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano adecuadamente protegido son descritos en PCT WO 02/070523 a Colon-Cruz et al. y en la solicitud U.S. 2006/0019985 a Zhenkun et al., en la que N- se condensa bencilmaleimida con o bien paraformaldehído y N-bencilglicina o N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil) bencilamina para producir 3,7-dibencil-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano-2,4-diona (también conocido como 2,5-dibenciltetrahidropirrol[3,4-c]pirrole-1,3-diona). La transformación posterior de este intermedio puede seguir diversos caminos. En un ejemplo, tratamiento con α -chloroetilchloroformate produce 3-bencil-3,7-diazabicyclo[3.3.0]de octano-2,4-diona (también conocido como 2-benciltetrahidropirrol[3,4-c]pirrol-1,3-diona), que es entonces secuencialmente reducido (usando complejo borano-dimetilsulfuro), convertido a su derivado N-(tert-butoxicarbonil), e hidrogenado (para quitar el segundo grupo bencil). Esto produce N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano, que puede usarse para acoplarse con ácidos carboxílicos, y sus derivados, para producir compuestos de la presente invención. Alternativamente, 3,7-dibencil-3,7-

diazabicyclo[3.3.0]de octano-2,4-diona puede ser reducido (con hidruro de aluminio litio), parcialmente hidrogenado (para eliminar un grupo bencil), convertido a su derivado N-(tert-butoxicarbonil), e hidrogenado (para extraer el segundo grupo bencil), para producir N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano. Otros métodos para instalación y eliminación del bencil, tert-butoxicarbonil, y otros grupos amino protectores son bien conocidos por los expertos en la técnica y son descritos adicionalmente en T. W. Greene y P.G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York (1999).

[0037] Una preparación alternativa de N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano ha sido descrita en las solicitudes U.S. 2004/0186107 a Schimpf et al. y 2005/0101602 a Basha et al., e implica la condensación de maleimida y N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil)bencilamina para dar 7-bencil-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano-2,4-diona (también conocido como 5-benciltetrahidropirrol[3,4-c]pirrol-1,3-diona). El tratamiento posterior con un agente reductor (por ejemplo, hidruro de aluminio litio) produce el 3-bencil-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano, la amina libre de la cual puede ser protegido por un grupo tert-butoxicarbonil, seguido por la eliminación del grupo protector bencil por hidrogenolisis.

[0038] Pueden usarse ésteres de maleato como alternativas a maleimidas en estas reacciones de condensación. Así, conforme con la PCT WO 96/007656 a Schaus et al., la condensación de N-bencilglicina con paraformaldehído y dimetilmaleato dará éster dimetílico de ácido N-bencil-cis-3,4-pirrolidindicarboxílico. Este compuesto puede ser entonces reducido, por ejemplo, con hidruro de aluminio litio, para dar el diol, que puede ser adicionalmente reaccionado con cloruro de metanosulfonilo en presencia de trietilamina para producir el correspondiente dimesilato. El tratamiento adicional con amonio y calor proporciona el 3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano N-bencil protegido. Como antes descrito, éste puede ser convertido en N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano.

[0039] Derivados adecuados de 3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano (bispidina) puede usarse para hacer compuestos de la presente invención. Un derivado tal es N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano, que puede hacerse en una variedad de modos. Una síntesis procede a través de N-bencil-N'-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano, descrito por Stead et al. en *Org. Lett.* 7: 4459 (2005). Así la reacción Mannich entre N-(tert-butoxicarbonil)piperidin-4-ona, bencilamina y paraformaldehído permite N-bencil-N'-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-ona, que puede ser tratado secuencialmente con p-toluenesulfonhidracida y borohidruro de sodio (para eliminar el oxígeno del carbonil), dando N-bencil-N'-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano. El grupo bencil puede ser eliminado como se describe arriba para proporcionar N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano. La síntesis alternativa de diazabicyclo [3.3.1] nonanos, adecuada para la conversión a bien N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano u otro derivado monoprotegido, ha sido descrita por Jeyaraman y Avila en *Chem. Rev.* 81(2): 149-174 (1981) y en la Patente U.S. 5,468,858 a Berlin et al.

[0040] Un medio de hacer amidas de la presente invención es acoplar el N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano o el N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.1] nonano con un ácido carboxílico funcionalizado y entonces eliminar el grupo protector tert-butoxicarbonil. Muchos ácidos carboxílicos tales están disponibles comercialmente, y otros pueden ser fácilmente preparados por procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. La condensación de una amina y un ácido carboxílico, para producir una amida, normalmente requiere el uso de un agente activador adecuado, tal como N, N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato (BOP), (benzotriazol-1-iloxi) tripirrolidinofosfonio hexafluorofosfato (PyBOP), O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N', N'-bis(tetrametileno)uronio hexafluorofosfato (HBPYU), O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU), O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU), o (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) (EDCI) con 1-hidroxibenzotriazol (HOBt). Otros agentes activadores son bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, ver Kiso y Yajima, *Peptides*, pp 39-91, Academic Press, San Diego, CA (1995)).

[0041] Alternativamente, el enlace amida puede formarse acoplando un diazabicyclo monoprotegido con un cloruro de ácido adecuadamente funcionalizado, que puede estar disponible comercialmente o puede ser preparado por conversión del ácido carboxílico adecuadamente funcionalizado. El cloruro de ácido puede prepararse por tratamiento del ácido carboxílico apropiado con, entre otros reactivos, cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo.

[0042] Tras la formación de amida, la eliminación del grupo protector (por ejemplo, el grupo tert-butoxicarbonil) con ácido, bien acuoso o anhidro, proporcionará los compuestos de la presente invención.

[0043] Los expertos en la técnica de síntesis orgánica apreciarán que existen múltiples medios de producir compuestos de la presente invención que son etiquetados con un radioisótopo apropiado para varios usos diagnósticos. Así, la condensación de un ácido carboxílico heteroaromático etiquetado ^{11}C o ^{18}F con bien N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano o N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano, usando los métodos antes descritos, y la posterior eliminación del grupo tert-butoxicarbonil producirá un compuesto adecuado para usarse en tomografía de emisión de positrones

Usos en la fabricación de medicamentos.

[0044] Los compuestos de la presente invención son moduladores del subtipo $\alpha 4\beta 2$ NNR, característico del CNS, y pueden usarse para evitar y/o tratar varias afecciones o trastornos, incluyendo los del CNS, en sujetos que tienen o

son susceptibles a tales afecciones o trastornos, por modulación de $\alpha 4\beta 2$ NNRs. Los compuestos tienen la capacidad de unirse selectivamente a los $\alpha 4\beta 2$ NNRs y expresar farmacología nicotínica (por ejemplo, para actuar como agonistas, agonistas parciales, antagonistas y similares). Por ejemplo, compuestos de la presente invención, cuando se administran en cantidades eficaces a pacientes en necesidad de los mismos, proporcionan algún grado de prevención de la progresión del trastorno CNS (es decir, proporcionando efectos protectores), mejora de los síntomas del trastorno CNS, y/o mejora de la recurrencia del trastorno CNS.

[0045] Los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar y/o evitar aquellos tipos de afecciones y trastornos para los que otros tipos de compuestos nicotínicos han sido propuestos como terapéuticos. Ver, por ejemplo, las referencias previamente listadas en la sección de "Antecedentes de la Invención", así como Williams et al., *Drug News Perspec.* 7(4): 205 (1994), Americ 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., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291: 390 (1999); Chiari et al., *Anesthesiology* 91: 1447 (1999), Lavand'homme and Eisenbach, *Anesthesiology* 91: 1455 (1999), Holladay et al., *J. Med. Chem.* 40(28): 4169-94 (1997), Bannon et al., *Science* 279: 77 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, y las Patentes U.S. N^o. 5,583,140 a Bencherif et al., 5,597,919 a Dull et al., 5,604,231 to Smith et al. y 5,852,041 a Cosford et al.

[0046] Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas son útiles en el tratamiento y/o prevención de una variedad de trastornos CNS, incluyendo trastornos neurodegenerativos, trastornos neurosiquiátricos, trastornos neurológicos, y adicciones. Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas pueden usarse para tratar y/o impedir déficits cognitivos (relacionados con la edad y de otro tipo), trastornos de atención y demencias (incluyendo las debidas a agentes infecciosos o desarreglos metabólicos); para proporcionar neuroprotección; para tratar convulsiones e infartos cerebrales múltiples; para tratar trastornos **mood** de humos, compulsiones y comportamientos adictivos; para proporcionar analgesia; para controlar la inflamación (como la mediada por citoquinas y factor nuclear kappa B) y tratar trastornos inflamatorios; para proporcionar alivio del dolor; y para tratar infecciones (como agentes antiinfecciosos para tratar infecciones bacterianas, fúngicas y víricas). Entre los trastornos, enfermedades y afecciones para tratar y/o impedir los cuales pueden usarse los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención están: deficiencia de memoria asociada con la edad, deficiencia cognitiva leve, demencia presenil (aparición temprana de la enfermedad de Alzheimer), demencia senil (demencia del tipo Alzheimer), demencia de cuerpos de Lewy, demencia HIV, demencia vascular, enfermedad de Alzheimer, derrame cerebral, complejo de demencia de VIH, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofrenimorme, trastorno esquizoafectivo, parkinsonismo incluyendo enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, corea de Huntington, disquinesia tardía, hiperquinesia, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, manía, ansiedad, depresión, trastornos de pánico, trastornos bipolares, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno obsesivo compulsivo, arrebatos de ira, síndrome de Tourette, autismo, drogadicción y alcoholemia, adicción al tabaco, obesidad, caquexia, soriasis, lupus, colangitis aguda, estomatitis aftosa, asma, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria del intestino, **pouchitis**, neumonitis vírica y artritis (por ejemplo, artritis reumatoide y osteoartritis), endotoxemia, sepsis, aterosclerosis, fibrosis pulmonar indiopática y neoplasias.

[0047] Es ventajoso que el tratamiento o prevención de enfermedades, trastornos y afecciones suceda sin efectos secundarios adversos apreciables (por ejemplo, incrementos importantes en la presión sanguínea y frecuencia cardíaca, efectos negativos significativos sobre el tracto gastrointestinal, y efectos significativos sobre el músculo esquelético) Los compuestos de la presente invención, cuando se emplean en cantidades eficaces, pueden modular la actividad, de los $\alpha 4\beta 2$ NNRs sin interacción apreciable con los subtipos nicotínicos que caracterizan los ganglios humanos (como demostrado por su falta de la capacidad de provocar la función en el tejido cromafínico adrenal) o el músculo esquelético (como demostrado por su falta de capacidad para provocar la función nicotínica en las preparaciones celulares expresando receptores nicotínicos tipo músculo). Así, estos compuestos son capaces de tratar y/o impedir enfermedades, trastornos y afecciones sin provocar actividad asociada con efectos secundarios significativos en sitios ganglionares y neuromusculares. Así, la administración de los compuestos proporciona una ventana terapéutica en la que se proporciona tratamiento de ciertas enfermedades, trastornos y afecciones, y se evitan ciertos efectos secundarios. Es decir, una dosis efectiva del compuesto es suficiente para proporcionar los efectos deseados sobre la enfermedad, el trastorno o la afección, pero es insuficiente (es decir, no es de un nivel suficientemente alto) para proporcionar efectos secundarios indeseados.

[0048] Así, la presente invención proporciona el uso de un compuesto o la Formula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en terapia (tal como una terapia antes descrita).

[0049] En otro aspecto más la presente invención proporciona el uso de un compuesto o Formula I, o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para usarse en el tratamiento de un trastorno CNS (tal como un trastorno, enfermedad o afección antes descrito).

[0050] En un aspecto adicional la invención proporciona el uso de un compuesto de la Formula I, o un sal del mismo farmacéuticamente permitida, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de demencia leve a

moderada del tipo Alzheimer, trastorno de déficit de atención, deficiencia cognitiva leve y deficiencia de memoria asociada con la edad.

Usos Diagnósticos

5 [0051] Los compuestos pueden usarse en composiciones diagnósticas, tales como sondas, particularmente cuando están modificadas para incluir etiquetas apropiadas. Las sondas pueden usarse, por ejemplo, para determinar el número y/o función relativa de receptores específicos, particularmente el subtipo del receptor $\alpha\beta 2$. Para este propósito los compuestos de la presente invención son etiquetados más preferiblemente con una fracción radioactiva isotópica tal como ^{11}C , ^{18}F , ^{76}Br , ^{123}I or ^{125}I .

10 [0052] Los compuestos administrados pueden ser detectados usando métodos conocidos apropiados para la etiqueta usada. Ejemplos de métodos de detección incluyen la tomografía de emisión de positrón (PET) y tomografía informatizada sencilla de emisión simple de fotones (SPECT). Las radioetiquetas descritas arriba son útiles en representación óptica de PET (*por ejemplo*, ^{11}C , ^{18}F o ^{76}Br) y SPECT (*por ejemplo*, ^{123}I), con vidas medias de casi 20.4 minutos para ^{11}C , casi 109 minutos para ^{18}F , casi 13 horas para ^{123}I , y casi 16 horas para ^{76}Br . Se desea una actividad específica alta para visualizar los subtipos de receptor seleccionados en concentraciones no saturantes. 15 Las dosis administradas normalmente están por debajo del intervalo tóxico y proporcionan imágenes de alto contraste. Se espera que los compuestos sean capaces de administrarse a niveles no tóxicos. La determinación de la dosis se lleva a cabo de una manera conocida para los expertos en la técnica de tomografía de radioetiquetas **radiolabel imaging**. Ver, por ejemplo, la Patente U.S. N°. 5,969,144 a London et al.

20 [0053] Los compuestos pueden ser administrados usando técnicas conocidas. Ver, por ejemplo, la Patente U.S. N°.5,969,144 a London et al. Los compuestos pueden ser administrados en composiciones de formulación que incorporan otros ingredientes, tales como aquellos tipos de ingredientes que son útiles para formular una composición diagnóstica. Los compuestos útiles para llevar a cabo la presente invención se emplean más preferiblemente en formas de alta pureza. Ver, la Patente U.S. N°.5,853,696 a Elmalch et al.

25 [0054] Después de que los compuestos son administrados a un sujeto (*por ejemplo*, un sujeto humano), la presencia de ese compuesto dentro del sujeto puede ser representada ópticamente y cuantificada por técnicas apropiadas con el fin de indicar la presencia, cantidad, y funcionalidad de los subtipos del NNR seleccionados. Además de los humanos, los compuestos pueden ser también administrados a animales, tales como ratones, ratas, perros, y monos. Las representaciones ópticas de SPECT y PET pueden ser llevadas a cabo por cualquier técnica y aparato apropiado. Ver Villemagne et al., In: Arneric et al. (Eds.) Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities, 235-250 (1998) y la Patente U.S. N°.5,853,696 a Elmalch et al. para una revelación de 30 técnicas representativas de representación óptica.

[0055] Los compuestos radioetiquetados se unen con alta afinidad a los subtipos selectivos del NNR (*por ejemplo*, $\alpha\beta 2$) y presentan preferiblemente unión no específica insignificante a otros subtipos de receptor colinérgico nicotínico (*por ejemplo*, aquellos subtipos de receptor asociados con músculos y ganglios). En sí, los compuestos 35 pueden usarse como agentes para representación óptica no invasiva de subtipos de receptor colinérgico nicotínico dentro del cuerpo de un sujeto, particularmente dentro del cerebro para diagnosis asociada con una diversidad de enfermedades y trastornos CNS.

[0056] En un aspecto, las composiciones diagnósticas pueden usarse en un método para diagnosticar la enfermedad en un sujeto, tal como un paciente humano. El método implica administrar a ese paciente un compuesto detectablemente etiquetado como aquí se ha descrito, y detectar la unión del compuesto a subtipos NNR 40 seleccionados (*por ejemplo*, subtipo receptor $\alpha\beta 2$). Los expertos en la técnica de usar herramientas diagnósticas, tales como PET y SPECT, pueden usar los compuestos radioetiquetados aquí descritos para diagnosticar una amplia variedad de afecciones y trastornos, incluyendo afecciones y trastornos asociados con la disfunción del sistema nervioso central y autónomo. Tales trastornos incluyen una amplia variedad de enfermedades y trastornos CNS, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad del Parkinson, y la esquizofrenia. Estos y otros 45 trastornos y enfermedades representativos que pueden ser evaluados incluyen los que se establecen en la Patente U.S. N°.5,952,339 a Bencherif et al.

[0057] En otro aspecto, las composiciones diagnósticas pueden usarse en un método para supervisar subtipos 50 receptores nicotínicos selectivos de un sujeto, tal como un paciente humano. El método implica administrar un compuesto detectablemente etiquetado como aquí descrito a ese paciente y detectar la unión de ese compuesto a subtipos receptores nicotínicos seleccionados (*por ejemplo*, el subtipo del receptor $\alpha\beta 2$).

Composiciones farmacéuticas

[0058] De acuerdo a una realización de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica comprendiendo como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente 55 invención, en asociación con uno o más diluyentes, excipientes y/o portadores inertes farmacéuticamente aceptables.

- 5 **[0059]** La manera en la que los compuestos se administran puede variar. Las composiciones son preferiblemente administradas por vía oral (por ejemplo, en forma líquida en un disolvente como un líquido acuoso o no acuoso, o dentro de un portador sólido. Las composiciones para administración oral incluyen pastillas, comprimidos, cápsulas, jarabes, y soluciones, incluyendo cápsulas de gelatina dura y cápsulas de liberación retardada. Las composiciones pueden ser formuladas en forma de dosis unitaria, o en dosis múltiples o de subunidad. Las composiciones preferidas son en forma líquida o semisólida. Pueden usarse composiciones que incluyen un vehículo líquido farmacéuticamente inerte tal como agua u otros líquidos o semisólidos compatibles farmacéuticamente. El uso de tales líquidos y semisólidos es bien conocido para los expertos en la técnica.
- 10 **[0060]** Las composiciones pueden también administrarse por medio de inyección, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, e intracerebroventricular. La administración intravenosa es un método preferido de inyección. Los soportes adecuados para inyección son bien conocidos para aquellos bien conocidos en la materia, e incluyen de soluciones de dextrosa al 5%, solución salina, y solución salina tamponada con fosfato. Los compuestos pueden también administrarse como infusión o inyección (por ejemplo, como suspensión o emulsión en un líquido o mezcla de líquidos farmacéuticamente aceptables).
- 15 **[0061]** Las formulaciones pueden también administrarse usando otros medios, por ejemplo, la administración rectal. Las formulaciones útiles para administración rectal, tales como los supositorios, son bien conocidas por los expertos en la técnica. Los compuestos pueden ser también administrados por inhalación (por ejemplo en forma de un aerosol bien nasalmente o usando artículos de administración del tipo establecido en la Patente U.S. N°.4,922,901 a Brooks et al., ; tópicamente (por ejemplo, en forma de loción); transdérmicamente (por ejemplo, usando un parche transdérmico, usando tecnología que está comercialmente disponible de Novartis y Alza Corporation, o por inyección de polvo); o por absorción bucal, sublingual o intranasal. Aunque es posible administrar los compuestos en forma de un producto químico activo a granel, se prefiere presentar cada compuesto en forma de una composición farmacéutica o formulación para la administración eficiente y eficaz.
- 20 **[0062]** Ejemplos de métodos para administrar tales compuestos serán aparentes para el profesional cualificado. La inutilidad de estas formulaciones puede depender de la composición particular usada y el particular sujeto que recibe el tratamiento. Por ejemplo, las composiciones pueden ser administradas en forma de un comprimido, una cápsula de gelatina dura o una cápsula de liberación retardada. Estas formulaciones pueden contener un vehículo líquido que puede ser aceitoso, acuoso, emulsionado o contener ciertos disolventes adecuados al modo de administración.
- 25 **[0063]** La administración de las composiciones farmacéuticas aquí descrita puede ser intermitente, o a un ritmo gradual, continuo, constante o controlado a un animal de sangre caliente, (por ejemplo, un mamífero tal como un ratón, rata, gato, conejo, perro, cerdo, vaca, o mono); pero ventajosamente se administra preferiblemente a un ser humano. Además, el momento del día y el número de veces por día que la composición farmacéutica se administra puede variar.
- 30 **[0064]** La dosis apropiada del compuesto es aquella cantidad eficaz para impedir ocurrencia de los síntomas del trastorno o para tratar algunos síntomas del trastorno que sufre el paciente. Por "cantidad eficaz", "cantidad terapéutica" o "dosis eficaz" se quiere decir aquella cantidad suficiente para provocar los efectos farmacológicos o terapéuticos deseados, que por ello dan lugar a la prevención o tratamiento eficaz del trastorno. Así, al tratar un trastorno CNS, una cantidad eficaz del compuesto es una cantidad suficiente para atravesar la barrera cerebro-sangre del sujeto, para unirse a los sitios receptores relevantes en el cerebro del sujeto, y para modular la actividad de subtipos receptores nicotínicos relevantes (por ejemplo, modular la secreción neurotransmisora, así resultando en prevención o tratamiento eficaz del trastorno). La prevención del trastorno se manifiesta por retraso de la aparición de los síntomas del trastorno. El tratamiento del trastorno se manifiesta por una disminución de los síntomas asociados con el trastorno o una mejora de la reaparición de los síntomas del trastorno.
- 35 **[0065]** La dosis eficaz puede variar, dependiendo de factores tales como la afección del paciente, la gravedad de los síntomas del trastorno, y la manera en la que la composición farmacéutica se administra. Para pacientes humanos, la dosis eficaz de compuestos típicos requiere generalmente administrar el compuesto en una cantidad suficiente para modular los receptores relevantes en la enfermedad para afectar a la liberación del neurotransmisor (por ejemplo, dopamina) pero la cantidad debería ser insuficiente para inducir efectos sobre músculos esqueléticos y ganglios a un nivel significativo. La dosis eficaz de los compuestos diferirá por supuesto de paciente a paciente pero en general incluye cantidades comenzando donde ocurran efectos de CNS u otros efectos terapéuticos deseados, pero por debajo de la cantidad donde se observan efectos musculares y ganglioares.
- 40 **[0066]** Normalmente, para administrarse en una dosis eficaz, los compuestos requieren administrarse en una cantidad de menos de 5 mg/kg de peso del paciente. A menudo, los compuestos pueden administrarse en una cantidad de menos de alrededor de 1 mg/kg de peso del paciente a menos de casi 100 mg/kg del peso del paciente, y ocasionalmente alrededor de 10 mg/kg a menos de 100 mg/kg de peso del paciente. Las dosis anteriores normalmente representan esa cantidad administrada como una dosis única, o como una o más dosis administradas durante un periodo de 24 horas. Para pacientes humanos, la dosis eficaz de los compuestos puede requerir administrar el compuesto en una cantidad de al menos casi 1, pero no más de alrededor de 1000, y a menudo no más de alrededor de 500 mg/ 24 hr/ paciente.
- 55

[0067] Pueden emplearse composiciones útiles como diagnósticos, como se establecen en las patentes U.S. Nº. 5,853,696 a Elmalch et al. y 5,969,144 a London et al. Los compuestos también pueden ser administrados en composiciones de formulación que incorporan otros ingredientes, tales como los tipos de ingredientes que son útiles para formular una composición diagnóstica.

- 5 [0068] Los siguientes ejemplos se facilitan para ilustrar la presente invención, y no deberían ser interpretados como limitadores de la misma. En estos ejemplos, todas las partes y porcentajes son en peso, a menos que se indique de otro modo.

Ensayos Biológicos

Ejemplo 1: Unión de Radioligando en nAChRs de CNS

10 Subtipo $\alpha 4\beta 2$ nAChR

[0069] Preparación de membranas procedentes de cortex de rata: Ratas (hembras, Sprague-Dawley), pesando 150-250 g, fueron mantenidas en un ciclo de 12 h luz/oscuridad y se les permitió acceso libre a agua y comida suministrada por PMI Nutrition International, Inc. Los animales fueron anestesiados con CO₂ al 70%, y luego decapitados. Los sesos se extrajeron y se colocaron sobre una plataforma a temperatura de congelación. La corteza cerebral fue extraída y colocada en 20 volúmenes (peso:volumen) de buffer de preparación a temperatura de congelación (137 mM NaCl, 10.7 mM KCl, 5.8 mM KH₂PO₄, 8 mM Na₂HPO₄, 20 mM de HEPES (ácido libre), 5 mM de iodoacetamida, 1.6 mM de EDTA, 7.4pH); se añadió PMSF, disuelto en metanol a una concentración final de 100 μ M, y la suspensión se homogeneizó por Polytron. El homogeneizado fue centrifugado a 18,000 x g durante 20 min a 4°C y el granulado resultante fue resuspendido en 20 volúmenes de agua a temperatura de congelación. Tras 60 min de incubación en hielo, se recogió un nuevo granulado por centrifugación a 18,000 x g durante 20 min a 4°C. El granulado final fue resuspendido en 10 volúmenes de buffer y almacenado a -20°C.

[0070] Preparación de membranas de SH-EP1/ células clonales $\alpha 4\beta 2$ humanas: Granulados celulares de 40 platos de cultivo de 150 mm se acumularon y homogeneizaron por Polytron (Kinematica GmbH, Switzerland) en 20 mililitros de tampón de preparación a temperatura de congelación. El homogeneizado fue centrifugado a 48,000 g durante 20 minutos a 4°C. El granulado resultante fue resuspendido en 20 mL de tampón de preparación a temperatura de congelación y almacenado a -20°C.

[0071] En el día del ensayo, las membranas congeladas se descongelaron y centrifugaron a 48,000 x g durante 20 min. El sobrenadante fue decantado y descartado. El granulado fue resuspendido en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (PBS, Life Technologies) pH 7.4 y homogeneizado con el Polytron durante 6 segundos. Las concentraciones de proteínas se determinaron usando un Kit de Ensayo Pierce de Proteína BCA, con albúmina de suero bovino como el estándar (Pierce Chemical Company, Rockford, IL).

[0072] Las preparaciones de membrana (aproximadamente 50 μ g para humanos y 200-300 μ g de proteína para ratas $\alpha 4\beta 2$) se incubaron en PBS (50 μ L y 100 μ L respectivamente) en presencia del compuesto competidor (0.01 nM a 100 μ M) y 5 nM [³H] de nicotina durante 2-3 horas en hielo. La incubación fue finalizada por filtración rápida en un cosechadora de tejido multi-colector (Brandel, Gaithersburg, MD) usando filtros GF/B preempapados en 0.33% de polietilimina (p/v) para reducir unión no-específica. El tejido se aclaró 3 veces en PBS, pH 7.4. Se añadió líquido de centelleo a los filtros conteniendo el tejido lavado y se dejó equilibrar. Los filtros se contaron luego para determinar la unión de radioactividad a las membranas por recuento de centelleo líquido (2200CA Tri-Carb LSC, Packard Instruments, eficiencia 50% or Wallac Trilux 1450 MicroBeta, eficiencia 40%, Perkin Elmer).

[0073] Los datos se expresaron como desintegraciones por minuto (DPMs). En cada ensayo, cada punto tenía 2-3 replicados. Los replicados para cada punto se promediaron y se llevaron a un gráfico respecto al registro de concentración del medicamento. Se determinó IC₅₀, que es la concentración del compuesto que produce 50% de inhibición de la unión, por regresión no lineal de mínimos cuadrados. Los valores Ki se calcularon usando la ecuación de Cheng-Prusoff (1973):

$$45 \quad K_i = IC_{50} / (1 + N/K_d)$$

en la que N es la concentración de [³H] nicotina y K_d es la afinidad de la nicotina (3 nM, determinada en un experimento separado).

Subtipo $\alpha 7$ nAChR

[0074] Ratas (hembras, Sprague-Dawley), pesando 150-250 g, fueron mantenidas en un ciclo de 12 h luz/oscuridad y se les permitió acceso libre a agua y comida suministrada por PMI Nutrition International, Inc. Los animales fueron anestesiados con 70% de CO₂, luego decapitados. Los cerebros se extrajeron y colocaron en una plataforma a temperatura de congelación. El hipocampo fue extraído y colocado en 10 volúmenes (peso:volumen) de tampón de preparación a temperatura de congelación (137 mM NaCl, 10.7 mM KCl, 5.8 mM KH₂PO₄, 8 mM Na₂HPO₄, 20 mM HEPES (ácido libre), 5 mM iodoacetamida, 1.6 mM EDTA, pH 7.4); se añadió PMSF, disuelto en metanol a una concentración final de 100 μ M, y la suspensión del tejido fue homogeneizada

por Polytron. El homogeneizado fue centrifugado a 18,000 x g durante 20 min a 4°C y el granulado resultante fue resuspendido en 10 volúmenes de agua a temperatura de congelación. Tras 60 min de incubación en hielo, un nuevo granulado fue recogido por centrifugación a 18,000 x g durante 20 min a 4°C. El granulado final era 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, y luego re-suspendido en PBS a temperatura de congelación (Solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco, 138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH₂PO₄, 8.1 mM Na₂HPO₄, 0.9 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂, Invitrogen/Gibco, pH 7.4) a una concentración final de aproximadamente 2 mg de proteína/mL. La proteína se determinó por el método de Lowry et al., J. Biol. Chem. 193: 265 (1951), usando albúmina de suero bovino como el estándar.

[0075] Se midió la unión de [³H]MLA usando una modificación de los métodos de Davies et al., Neuropharmacol. 38: 679 (1999). Se obtuvo [³H]MLA (Actividad Específica = 25-35 Ci/mmol) de Tocris. La unión de [³H]MLA se determinó usando una incubación de 2 h a 21°C. Las incubaciones se realizaron en placas de micro-titulación con 48 pocillos y contenían alrededor de 200 µg de proteína por pocillo en un volumen final de incubación de 300 µL. El buffer de incubación fue PBS y la concentración final de [³H]MLA fue 5 nM. La reacción de unión se finalizó por filtración de la proteína conteniendo el ligando unido por filtros de fibra de vidrio (GF/B, Brandel) usando un Brandel Tissue Harvester a temperatura ambiental. Los filtros se empaparon en agua desionizada conteniendo 0.33% de polietilenoimina para reducir la unión no-específica. Cada filtro se lavó con PBS (3 x 1 mL) a temperatura ambiente. La unión no-específica se determinó por inclusión de 50 µM de MLA no radioactivo en pocillos seleccionados.

[0076] La inhibición de la unión de [³H]MLA por compuestos de ensayo se determinó incluyendo siete concentraciones diferentes del compuesto de ensayo en pocillos seleccionados. Cada concentración se replicó por triplicado. Los valores IC₅₀ se estimaron como la concentración del compuesto que inhibía 50 por ciento de la unión [³H]MLA específica. Las constantes de inhibición (valores Ki), valoradas en nM, se calcularon a partir de los valores IC₅₀ usando el método de Cheng et al., Biochem. Pharmacol. 22: 3099-3108 (1973).

Ejemplo 2: Determinación de Liberación de Dopamina

[0077] La liberación de dopamina fue medida usando sinaptosomas estriados obtenidos de cerebro de rata, de acuerdo a los procedimientos establecido por Rapier et al., J. Neurochem. 54: 937 (1990). Ratas (hembras, Sprague-Dawley), pesando 150-250 g, fueron mantenidas en un ciclo de 12 h luz/oscuridad y se les permitió acceso libre a agua y comida suministrada por PMI Nutrition International, Inc. Los animales fueron anestesiados con CO₂ al 70%, luego decapitados. Los cerebros fueron rápidamente extraídos y el estriado diseccionado. El tejido estriado procedente de cada una de las 2 ratas fue puesto junto y homogeneizado en 0.32 M de sacarosa a temperatura de congelación (5 mL) conteniendo 5 mM de HEPES, pH 7.4, usando un homogeneizador vidrio/vidrio. El tejido fue luego centrifugado a 1000 x g durante 10 min. El granulado fue descartado y el sobrenadante centrifugado a 12,000 x g durante 20 min. El granulado resultante fue re-suspendido en tampón de perfusión conteniendo inhibidores de monoaminooxidasa (128 mM NaCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 2.4 mM KCl, 3.2 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 25 mM HEPES, 1 mM de ácido ascórbico, 0.02 mM de HCl pargilina y 10 mM de glucosa, pH 7.4) y centrifugado durante 15 min a 25,000 x g. El granulado final fue re-suspendido en buffer de perfusión (1.4 mL) para uso inmediato.

[0078] La suspensión sinaptosomal se incubó durante 10 min a 37°C para restaurar la actividad metabólica. Se añadió [³H]Dopamina ([³H]DA, actividad específica = 28.0 Ci/mmol, NEN Research Products) a una concentración final de 0.1 µM y la suspensión se incubó a 37°C durante otros 10 min. Se cargaron alícuotas del tejido (50 µL) y tampón de perfusión (100 µL) en las cámaras de suprafusión de un Brandel Suprafusion System (serie 2500, Gaithersburg, MD). Se bombeó buffer de perfusión (temperatura ambiente) adentro de las cámaras a un ritmo de 1.5 mL/min durante un periodo de lavado de 16 min. Luego se aplicó compuesto de ensayo (10 µM) o la nicotina (10 µ) en la corriente de perfusión durante 48 s. Fueron continuamente recogidas (24 s cada una) de cada cámara durante todo el experimento para capturar la liberación basal y el pico de liberación inducida por agonista y para reestablecer la línea base después de la aplicación del agonista. El perfundido fue recogido directamente en frascos de centelleo, a los que se añadió fluido de centelleo. Se cuantificó el [³H]DA liberado por recuento del centelleo. Para cada cámara, el área integrada del pico se normalizó a su línea base.

[0079] La liberación se expresó en porcentaje de liberación obtenida con una concentración igual de nicotina L. En cada ensayo, cada compuesto de ensayo se replicó usando 2-3 cámaras; los replicados se promediaron. Cuando fue apropiado, se determinaron las curvas dosis-respuesta del compuesto de ensayo. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por nicotina L. Se definió también la concentración del compuesto que daba lugar a la mitad de la activación máxima (EC₅₀) del flujo específico de iones.

Ejemplo 3: Selectividad vs. nAChRs Periféricas

55 Interacción en el Subtipo nAChR de Músculo Humano

[0080] La activación de nAChRs tipo músculo se estableció en la línea clonal humana TE671/RD, que se deriva de un rhabdomyosarcoma embrional (Stratton et al., Carcinogen 10: 899 (1989)). Estas células expresan receptores que tienen perfiles biológicos farmacológicos (Lukas, J. Pharmacol. Exp. Ther. 251: 175 (1989)), electrofisiológicos

(Oswald et al., *Neurosci. Lett.* 96: 207 (1989)) y moleculares (Luther et al., *J. Neurosci.* 9: 1082 (1989)) similares al nAChR tipo músculo.

[0081] Las células TE671/RD fueron mantenidas en fase de crecimiento proliferativo de acuerdo a protocolos rutinarios (Bencherif et al., *Mol. Cell. Neurosci.* 2: 52 (1991) y Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 946 (1991)). Se cultivaron células en medio Eagle modificado de Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4mM de L-glutamina, y 50000 unidades de penicilina-estreptomocina (Irvine Scientific). Cuando las células eran confluentes al 80%, fueron puestas sobre placas de poliestireno de 12 pocillos (Costar). Los experimentos fueron conducidos cuando las células alcanzaban 100% de confluencia.

[0082] La función del receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR) se ensayó usando eflujo $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo con el método descrito por Lukas et al., *Anal. Biochem.* 175: 212 (1988). En el día del experimento, el medio de crecimiento fue delicadamente retirado del pocillo y el medio de crecimiento conteniendo cloruro de $^{86}\text{Rubidio}$ (106 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$) fue añadido a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37° durante un mínimo de 3 h. Tras el periodo de carga, el exceso de $^{86}\text{Rb}^+$ se retiró y las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin etiquetar (138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH_2PO_4 , 8.1 mM Na_2HPO_4 , 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , Invitrogen/Gibco, pH. 7.4), teniendo cuidado de no alterar las células. Luego, las células fueron expuestas bien a 100 μM del compuesto de ensayo, 100 μM de nicotina L (Acros Organics) o tampón sólo durante 4 min. Después del periodo de exposición, el sobrenadante conteniendo el $^{86}\text{Rb}^+$ liberado fue extraído y transferido a frascos de centelleo. Se añadió fluido de centelleo y la radioactividad liberada se midió por recuento de centelleo líquido.

[0083] En cada ensayo, cada punto tenía 2 replicados, que se promediaron. La cantidad de liberación de $^{86}\text{Rb}^+$ se comparó a tanto un control positivo (100 μM L-nicotina) como un control negativo (tampón sólo) para determinar el porcentaje de liberación respecto a la de nicotina L.

[0084] Cuando fue apropiado, se determinaron las curvas dosis-respuesta del compuesto de ensayo. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por nicotina L. Se definió también la concentración del compuesto que daba lugar a la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo específico de iones.

Interacción en el Subtipo nAChR Ganglionar de Rata

[0085] La activación de nAChRs ganglionares de rata se estableció sobre la línea clonal de feocromocitoma PC12, que es una línea clonal celular continua de origen de cresta neural, derivada de un tumor de la médula adrenal de rata. Estas células expresan nAChRs tipo ganglionar (ver Whiting et al., *Nature* 327: 515 (1987); Lukas, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 251: 175 (1989); Whiting et al., *Mol. Brain Res.* 10: 61 (1990)).

[0086] Células PC12 de rata fueron mantenidas en un fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con protocolos de rutina (Bencherif et al., *Mol. Cell. Neurosci.* 2: 52 (1991) y Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 946 (1991)). Las células fueron cultivadas en medio Eagle modificado de Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4mM de L-glutamina, y 50000 unidades de penicilina-estreptomocina (Irvine Scientific). Cuando las células eran confluentes al 80%, se colocaron en placas Nunc de 12 pocillos (Nunc) y se recubrieron con 0,03% de poli-L-lisina (Sigma, disuelta en 100 mM de ácido bórico). Los experimentos se realizaron cuando las células alcanzaron 80% de confluencia.

[0087] La función del receptor de acetilcolina nicotínica (nAChR) se ensayó usando eflujo $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo a un método descrito por Lukas et al., *Anal. Biochem.* 175: 212 (1988). En el día del experimento, el medio de crecimiento fue delicadamente extraído del pocillo y se añadió medio de crecimiento conteniendo cloruro de $^{86}\text{Rubidio}$ (106 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$) a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37°C durante un mínimo de 3 h. Tras el periodo de carga, se extrajo el exceso de $^{86}\text{Rb}^+$ y las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin etiquetar (138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH_2PO_4 , 8.1 mM Na_2HPO_4 , 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , Invitrogen/Gibco, pH 7.4), teniendo cuidado de no alterar las células. Luego, las células fueron expuestas bien a 100 μM de compuesto de ensayo, 100 μM de nicotina o tampón solo durante 4 min. Después del periodo de exposición, el sobrenadante conteniendo el $^{86}\text{Rb}^+$ liberado fue extraído y transferido a frascos de centelleo. Se añadió fluido de centelleo y la radioactividad liberada se midió por recuento de centelleo líquido.

[0088] En cada ensayo, cada punto tenía 2 replicados, que se promediaron. La cantidad de liberación de $^{86}\text{Rb}^+$ se comparó a tanto un control positivo (100 μM L-nicotina) como un control negativo (tampón solo) para determinar el porcentaje de liberación respecto a la de nicotina L.

[0089] Cuando fue apropiado, se determinaron las curvas dosis-respuesta del compuesto de ensayo. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por nicotina L. Se definió también la concentración del compuesto que daba lugar a la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo específico de iones.

Interacción en el Subtipo de nAChR Ganglionar Humano

[0090] La línea celular SH-SY5Y es una línea continua derivada por subclonación secuencial de la línea celular parental, SK-N-SH, que fue originalmente obtenida a partir de un neuroblastoma periférico humano. Las células SH-SY5Y expresan un nAChR tipo ganglio (Lukas et al., Mol. Cell. Neurosci. 4: 1 (1993)).

5 **[0091]** Las células SH-SY5Y humanas fueron mantenidas en fase de crecimiento proliferativo de acuerdo a protocolos rutinarios (Bencherif et al., Mol. Cell. Neurosci. 2: 52 (1991) y Bencherif et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 946 (1991)). Se cultivaron células en medio Eagle modificado de Dulbecco (Gibco/BRL) con 10% de suero de caballo (Gibco/BRL), 5% de suero fetal bovino (HyClone, Logan UT), 1mM de piruvato de sodio, 4mM de L-glutamina, y 50000 unidades de penicilina-estreptomina (Irvine Scientific). Cuando las células eran confluentes al 80%, fueron puestas sobre placas de poliestireno de 12 pocillos (Costar). Los experimentos fueron conducidos cuando las células alcanzaban 100% de confluencia.

15 **[0092]** La función del receptor de acetilcolina nicotínica (nAChR) se ensayó usando eflujo $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo a un método descrito por Lukas et al., Anal. Biochem. 175: 212 (1988). En el día del experimento, el medio de crecimiento fue delicadamente extraído del pocillo y se añadió medio de crecimiento conteniendo cloruro de ^{86}Rb (106 $\mu\text{Ci/mL}$) a cada pocillo. Las células fueron incubadas a 37°C durante un mínimo de 3 h. Tras el periodo de carga, se extrajo el exceso de $^{86}\text{Rb}^+$ y las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin etiquetar (138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH_2PO_4 , 8.1 mM Na_2HPO_4 , 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , Invitrogen/Gibco, pH 7.4), teniendo cuidado de no alterar las células. Luego, las células fueron expuestas bien a 100 μM de compuesto de ensayo, 100 μM de nicotina o tampón solo durante 4 min. Después del periodo de exposición, el sobrenadante conteniendo el $^{86}\text{Rb}^+$ liberado fue extraído y transferido a frascos de centelleo. Se añadió fluido de centelleo y la radioactividad liberada se midió por recuento de centelleo líquido.

20 **[0093]** En cada ensayo, cada punto tenía 2 replicados, que se promediaron. La cantidad de liberación de $^{86}\text{Rb}^+$ se comparó a tanto un control positivo (100 μM L-nicotina) como un control negativo (tampón solo) para determinar el porcentaje de liberación respecto a la de nicotina L.

25 **[0094]** Cuando fue apropiado, se determinaron las curvas dosis-respuesta del compuesto de ensayo. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por nicotina L. Se definió también la concentración del compuesto que daba lugar a la mitad de la activación máxima (EC_{50}) del flujo específico de iones.

Ejemplo 4: Tarea de Reconocimiento del Objeto Novedoso (NOR)

30 **[0095]** La tarea de reconocimiento del objeto novedoso (NOR) se realizó de acuerdo con la descripción de Ennaceur and Delacour Behav. Brain Res. 100: 85-92 (1988).

Ejemplos Sintéticos**Ejemplo 5: Síntesis de N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano**

35 **[0096]** El Ejemplo 5 se refiere a la Síntesis de N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano, que fue preparado como se ha descrito en las solicitudes U.S. 2004/0186107 a Schrimpf et al. y 2005/0101602 a Basha et al., de acuerdo a las siguiente técnicas:

5-Benciltetrahidropirrol[3,4-c]pirrol-1,3-diona (o 7-bencil-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano-2,4-diona)

40 **[0097]** Se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 0.50 mL, 6.5 mmol) a una solución fría (0°C) de maleimida (6,27 g, 0,0646 mol) en diclorometano (150 mL) bajo nitrógeno. Una solución de N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil)bencilamina (20 g, 0,084 mol) en diclorometano (100 mL) se añadió por goteo durante 45 min. Cuando la adición fue completa, la mezcla fue calentada lentamente a temperatura ambiente y agitada durante 16 h. La mezcla se concentró y el residuo resultante se disolvió en diclorometano (200 mL) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 mL). La capa acuosa fue separada y extraída con diclorometano (2 x 75 mL). Los extractos de diclorometano combinados fueron lavados con salmuera (50 mL), secados sobre sulfato de magnesio anhidro, filtrados y concentrados para dar 12,5 g (83.9% rendimiento) de un sólido céreo, amarillo pálido (MS m/z 231 (M+H)).

2-Benciloctahidropirrol[3,4-c]pirrol (o 3-bencil-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano)

50 **[0098]** El 5-benciltetrahidropirrol[3,4-c]pirrol-1,3-diona bruto (4,9 g, 0,021 mol) se disolvió en tetrahidrofurano seco (THF) (50 mL) frío (0°C) bajo nitrógeno, y se añadió por goteo hidruro de aluminio litio (63 mL of 1 M in THF, 0,063 mol) durante 30 min a la solución continuamente enfriada. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y luego se calentó para refluja durante 4 h. La mezcla fue entonces enfriada a 0°C y apagada por adición lenta de exceso de decahidrato de sulfato sódico sólido. La mezcla fue calentada a temperatura ambiente y agitada durante 16 h. Los sólidos se filtraron y el residuo se lavó con etil acetato (3 x 100 mL). Los filtrados combinados fueron concentrados para dar 4.2 g (99% rendimiento) de un sólido céreo (MS m/z 203 (M+H)).

Tert-butil éster 5-bencilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2- ácido carboxílico (o N-bencil-N'-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano)

5 **[0099]** El 2-benciloctahidropirrol[3,4-c]pirrol (4.2 g, 0.021 mol) bruto fue disuelto en THF (50 mL). Se añadieron Di-t-butil dicarbonato (5,5 g, 0,025 mol) y NaHCO₃ acuoso saturado (10 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se apagó con agua (10 mL), y se añadió etil acetato (30 mL). La capa acuosa fue extraída con etil acetato (2 x 20 mL), y los extractos orgánicos combinados fueron secados sobre sulfato de sodio anhidro. La purificación por medio de cromatografía de columna de gel de sílice (1:1 hexanos/ etil acetato) dió 5,07 g (79.8% rendimiento) del compuesto del título (MS m/z 303 (M+H)).

10 Tert-butil éster hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-ácido carboxílico (o N-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano)

[0100] El tert-butil éster 5-bencilhexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2- ácido carboxílico (5,07 g, 0,0168 mol) fue disuelto en metanol (50 mL) y se añadió 20% de Pd(OH)₂/C (húmedo) (-2 g) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante fue calentada (45-50°C) y batida durante 2 h bajo 40 psi de hidrógeno. La mezcla se filtró y concentró para dar 3,49 g (97,7% rendimiento) del compuesto del título (MS m/z 213 (M+H)).

15 Ejemplo 6: Síntesis de N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano

[0101] El Ejemplo 6 se refiere a la síntesis de furan-2-il(hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-il)metanona (o N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano), que se preparó de acuerdo con las siguientes técnicas, ilustrativas de la reacción de acoplamiento usada para hacer amidas heteroaromáticas de 3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano:

20 Furan-2-il(hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-il)metanona trifluoroacetato (o N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano trifluoroacetato)

25 **[0102]** Se combinaron furan-2-ácido carboxílico (0.037 g, 0.33 mmol) y trietilamina (0.125 mL, 0.99 mmol) en diclorometano seco (1 mL), y se añadió O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3, tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU; 0.125 g, 0.33 mmol). Se añadió una solución de tert-butil éster de hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-ácido carboxílico (0.064 g, 0.30 mmol) en diclorometano (0.5 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla era agitada con 10% de hidróxido de sodio acuoso, y la capa orgánica era separada. La capa acuosa fue batida con hidróxido sódico acuoso al 10%, y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (2x2 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 1mL) y se concentraron. El residuo resultante fue disuelto en dimetilformamida (DMF) (0.3 mL) y purificado por HPLC (gradiente acetonitrilo/agua). Las fracciones conteniendo el material deseado se acumularon y concentraron, dejando el producto tert-butoxicarbonil-prottegido.

30 Este material fue disuelto en una mezcla de ácido trifluoroacético (0.5 mL) y diclorometano (0.5 mL), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 1h. Los volátiles fueron eliminados por evaporación rotativa, seguido por tratamiento de alto vacío, para dar 77 mg de un aceite (80% rendimiento) (¹H NMR (d₄-metanol, 300 MHz) 3,20 (m, 2H), 3,47-4,2 (m, 8H), 6,60 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,72 (d, 1H); MS m/z 207 (M+H)).

Ejemplo 7: Síntesis de N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano trifluoroacetato

35 **[0103]** El Ejemplo 7 se refiere a la síntesis de 5-clorofuran-2-il(hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-il)metanona trifluoroacetato (o N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano trifluoroacetato), que fue preparado conforme a las siguientes técnicas, ilustrativas de la reacción de acoplamiento usada para hacer amidas heteroaromáticas de 3,7-diazabicyclo[3.3.0]octano:

5-Clorofuran-2- ácido carboxílico

40 **[0104]** Se añadió hidróxido de sodio acuoso (80 mL al 10%) a una solución de nitrato de plata (8,0 g, 47 mmol) en agua (20 mL). Esta suspensión fue agitada y lentamente tratada con hidróxido de amonio acuoso al 30% hasta que se aclaró. Se añadió una solución de 5-clorofuran-2-carboxaldehído (3,0 g, 23 mmol) (Aldrich Chemical) en metanol (5 mL), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción fue filtrada, y el filtrado lavado con éter (100 mL). El filtrado acuoso se hizo luego ácido (~pH 3) por la adición de ácido sulfurico

45 frío al 20%. La mezcla resultante fue extraída con etil acetato (3 x 100 mL). Los extractos se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio acuoso (100 mL), secados (sulfato sódico anhidro) y concentrados al vacío para dar 3,2 g (95% rendimiento) de sólido blanco (mp 178-179°C). Esta reacción fue fácilmente escalable y se realizó múltiples veces a escala >10 g.

N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo [3.3.0] octano trifluoroacetato

50 **[0105]** Oxalil cloruro (12,2 g, 95,8 mmol) conteniendo una gota de DMF fue añadido por goteo a una solución enfriada con hielo de 5-clorofuran-2-ácido carboxílico (6,25 g, 47,9 mmol) en 200 mL de diclorometano. Tras completar la adición, el baño de hielo se eliminó y la reacción se calentó a temperatura ambiente durante un periodo de 1 h. Los volátiles se eliminaron por vacío, y el residuo fue disuelto en THF (50 mL). Esta solución del cloruro ácido se añadió luego a una solución agitada enfriada con hielo de tert-butil éster hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-2-ácido carboxílico (10,2 g, 47,9 mmol) y diisopropiletilamina (25 g, ~4 equivalentes) en THF (200 mL). Esta mezcla se

55

agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Los volátiles fueron entonces eliminados por vacío, y el residuo se dividió entre agua (100 mL) y éter (300 mL). La capa de éter y dos extractos de éter (100 mL) de la capa acuosa se concentraron en el evaporador giratorio. El residuo fue cromatografiado en columna sobre gel de sílice, eluyéndose con 0-60% de acetato de etilo en gradiente de hexano. La concentración de fracciones seleccionadas dió 13,9 g (85.3% rendimiento) de jarabe amarillo pálido. Una parte de este material (12,9 g, 37,9 mmol) fue disuelta en una mezcla de diclorometano y ácido trifluoroacético (100 mL cada uno). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y luego se concentró al vacío. El residuo se dividió entre cloroformo (200 mL) y carbonato de potasio acuoso al 50% (200 mL), y la capa acuosa fue extraída con cloroformo (3 x 200 mL). Las capas combinadas de cloroformo se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentró al vacío, dejando 8,66 g (95% rendimiento) de sólido amarillo pálido (¹H NMR (d₄-metanol, 300 MHz) 3,15-3,35 (m, 4H), 3,50-4,20 (m, 6H), 6,51 (d, 1H), 7,17 (d, 1H); MS m/z 241 (M+H)).

Ejemplo 8: Síntesis de tert-butil éster 3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano-3-ácido carboxílico

[0106] El ejemplo 8 se refiere a la síntesis de tert-butil éster 3,7-diazabicyclo[3.3.1]de nonano-3- ácido carboxílico (or N-(tertbutoxicarbonil)- 3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano), que fue preparado conforme a las siguientes técnicas:

15 **Tert-butil éster 7-Bencil-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano-3- ácido carboxílico (o N-bencil-N'-(tert-butoxicarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano)**

[0107] Se preparó tert-butil éster 7-bencil-3,7-diazabicyclo [3.3.1] nonano-3-ácido carboxílico conforme a los procedimientos fijados por Stead et al. en Org. Lett. 7(20): 4459 (2005).

Tert-butil éster 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]-3- ácido carboxílico

20 [0108] Se disolvió tert-butil éster 7-bencil-3,7-diazabicyclo[3.3.1]de nonano-3-ácido carboxílico (0,49 g, 1,6 mmol) en metanol (20 mL) y se añadió 20% Pd(OH)₂/C (húmedo) (~ 2 g) en atmósfera de nitrógeno. Esta mezcla se calentó a unos 50 °C y se agitó durante 2 h bajo 55 psi de hidrógeno. La mezcla resultante fue filtrada y concentrada para dar 0,32 g (94% rendimiento) del compuesto del título (MS m/z 227 (M+H)).

Ejemplo 9: Síntesis de N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano trifluoroacetato

25 [0109] El ejemplo 9 se refiere a la síntesis de (3,7-diazabicyclo[3.3.1]non-3-il)-furan-2-ilmetanona trifluoroacetato (o N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano trifluoroacetato), que fue preparado de acuerdo a las siguiente técnicas, ilustrativas de la reacción de acoplamiento usada para hacer amidas heteroaromáticas de 3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano:

30 **3,7-Diazabicyclo[3.3.1]non-3-il)-furan-2-il metanona trifluoroacetato (o N-(furan-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano trifluoroacetato)**

[0110] Furan-2- ácido carboxílico (0,032 g, 0,29 mmol) se combinó con trietilamina (0,870 mmol, 0,121 mL) en diclorometano seco (1 mL) y se añadió HBTU (0,11 g, 0,29 mmol). Se añadió una solución de tert-butil éster 3,7-diazabicyclo[3.3.1]-3-ácido carboxílico (0,059 g, 0,26 mmol) en diclorometano (0,5 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla fue tratada con hidróxido de sodio acuoso 10% y extraída con cloroformo (2 x 2 mL). Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con agua (2 x 1 mL), y concentrados. El residuo resultante fue disuelto en DMF (0,3 mL) y purificado por HPLC (gradiente acetone/agua). Las fracciones que contienen el material deseado se acumularon y concentraron, dejando el producto protegido tert-butoxicarbonil. Este material fue disuelto en una mezcla de ácido trifluoroacético (0,5 mL) y diclorometano (0,5 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1h. Los volátiles fueron eliminados por evaporación rotatoria, seguido por tratamiento de alto vacío, para dar 36 mg de un aceite (41% rendimiento) (¹H NMR (d₄-metanol, 300 MHz) 2,10 (bs, 2H), 2,35 (bs, 2H), 3,30-3,45 (m, 4H), 3,55 (m, 2H), 6,65 (m, 1H), 7,15 (d, 1H), y 7,75 (d, 1H). MS m/z 221 (M+H)).

Ejemplo 10: Síntesis de N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano trifluoroacetato

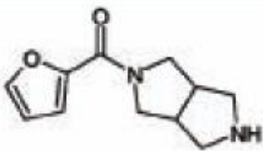
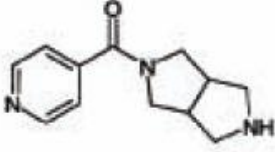
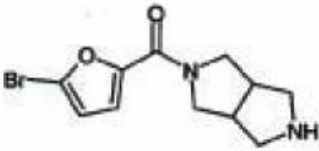
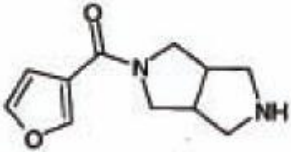
45 [0111] El ejemplo 10 se refiere a la síntesis de (3,7-diazabicyclo[3.3.1]non-3-il)-5-clorofuran-2-ilmetanona trifluoroacetato (o N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano trifluoroacetato), que fue preparado por un proceso similar al descrito en el Ejemplo 9, de acuerdo a las siguientes técnicas:

[0112] 5-Clorofuran-2- ácido carboxílico (0,96 g, 6,5 mmol) fue combinado con trietilamina (21 mmol, 2,9 mL) en diclorometano seco (10 mL), y se añadió HBTU (2,47 g, 65,1 mmol). Se añadió una solución de tert-butil éster 3,7-diazabicyclo[3.3.1]-3-ácido carboxílico (1,5 g, 66 mmol) en diclorometano (5 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se trató con hidróxido de sodio acuoso al 10% y se extrajo con cloroformo (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 10 mL), y se concentraron. El residuo resultante fue purificado por cromatografía de columna sobre gel de sílice, eluyendo con un etil acetato en gradiente de hexano, para dar el producto tertbutoxicarbonil protegido, como un aceite viscoso. Este material fue disuelto en una mezcla de ácido trifluoroacético (20 mL) y diclorometano (20 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1h. Los volátiles se eliminaron por evaporación rotativa, seguido por tratamiento de alto vacío, para dar 1.38

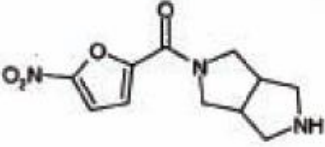
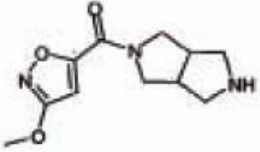
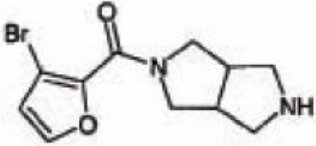
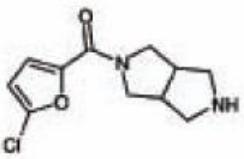
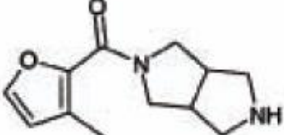
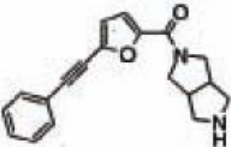
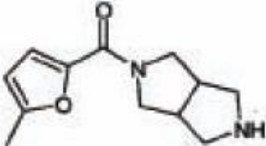
g (57.5% rendimiento) de aceite viscoso amarillo (^1H NMR (d4-metanol, 300 MHz) 2.00 (bs, 2H), 2.155 (bs, 2H), 3.15-3.35 (m, 6H), 4.25 (m, 2H), 6.53 (d, 1H) and 7.10 (d, 1H). MS m/z 255 (M+H)).

Ejemplo 11: Datos Tabulares Espectrales y de Unión del Receptor

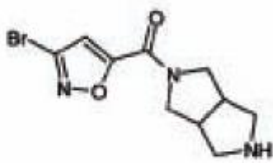
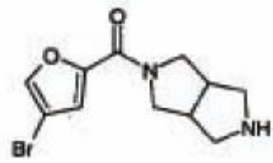
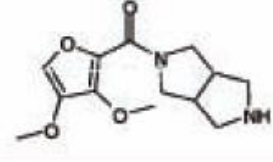
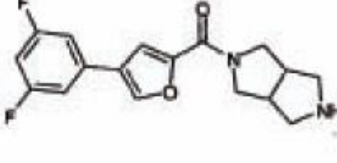
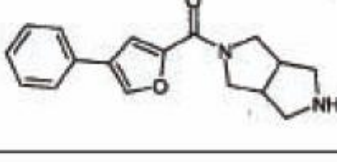
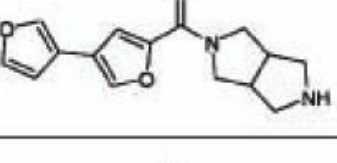
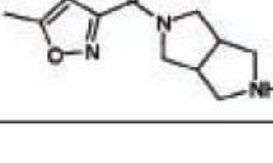
- 5 **[0113]** Los arriba ilustrados procedimientos de acoplamiento de amida fueron utilizados para los compuestos mostrados en las Tablas 1 y 2. En algunos casos, fueron sintetizados compuestos a una escala suficiente para obtener datos de resonancia magnética nuclear (NMR). En otros casos, los compuestos fueron producidos a una escala menor en varias clases de aparatos paralelos de síntesis y fueron caracterizados (estructuralmente) por LCMS solamente.

Table 1					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$		$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	^1H NMR: CD_3OD , 300 MHz
	Rata	humano			
	20	33	13000	207	δ 7.72 (d, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.60 (t, 1H), 3.47-4.2 (m, 8H), 3.2 (m, 2H)
	26	160	HTS FALLIDO	218	δ 9.00 (d, 2H), 8.20 (m, 2H), 3.7-4.0 (m, 3H), 3.47-3.7 (m, 5H), 3.2 (m, 2H)
	54	73	12000	287	
	53	220	3100	207	

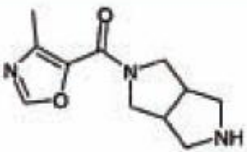
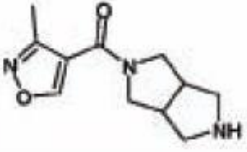
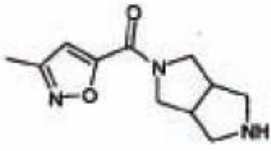
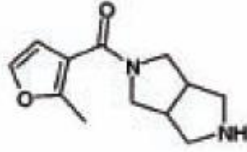
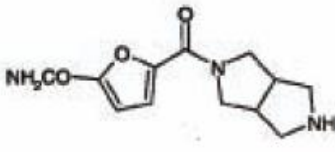
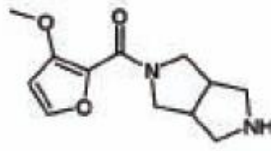
(continuación)

Table 1					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	^1H NMR: CD_3OD , 300 MHz
	35	31	2900	252	
	19	19	3500	238	
	1.5	1.5	12000	287	
	33	28	91000	241	δ 7.17 (d, J = 0.61 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 0.73 Hz, 1H), 4.20-3.50 (m, 6H), 3.35-3.15 (m, 4H)
	44	54	25000	221	
	230	43	3200	307	
	130	28	23000	221	

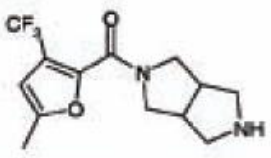
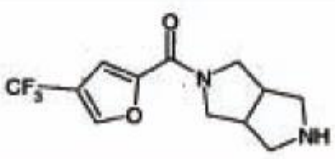
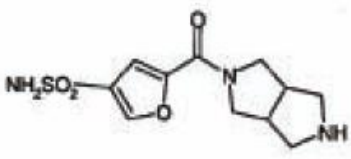
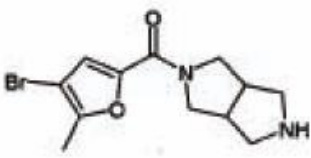
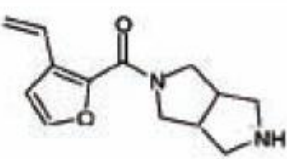
(continuación)

Tabla 1					
Estructura	Ki de α 4 β 2 Rata	Ki de α 4 β 2 Humano	α 7 Ki	MS: m/z (M+H)	^1H NMR: CD_3OD , 300 MHz
	17	44	ND; Fallido HTS	288	
	29	18	ND; Fallido HTS	287	δ 7.80 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 3.5-4.2 (m, 8H), 3.20 (m, 2H)
	140	40	ND; Fallido HTS	287	
	54	24	ND; Fallido HTS	319	δ 7.50 (s, 1H), 7.17 (m, 2H), 6.78 (m, 1H), 6.60 (s, 1H), 3.95-3.76 (m, 4H), 3.70-3.58 (m, 2H), 3.32-3.08 (m, 4H)
	260	86	12000	283	
	110	95	ND; Fallido HTS	273	
	150	84	ND; Fallido HTS	222	

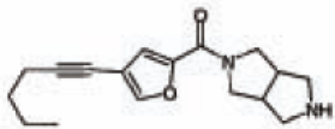
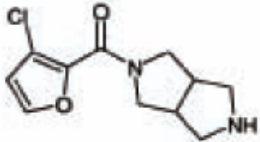
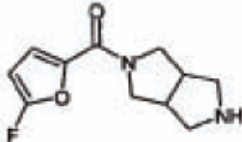
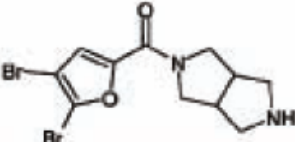
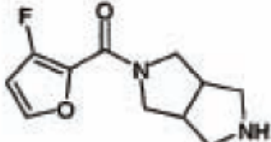
(continuación)

Table 1					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	15	9.2	210000	222	
	24	14	56000	222	
	32	31	ND; Fallido HTS	222	
	61	29	160000	221	δ 7.38 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 3.79 (m, 2 H), 3.45 (m, 2 H), 3.06 (m, 2 H), 2.89 (m, 2 H), 2.67 (m, 2 H), 2.37 (s, 3H)
	53	63	ND; Fallido HTS	250	
	353	100	ND; Fallido HTS	237	δ 7.55 (s, 1H), 6.7-6.6 (m, 1H), 3.9 (s, 3H), 3.85 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.15 (m, 4H)

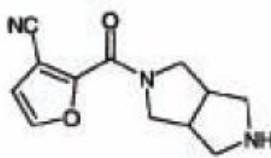
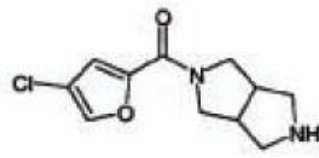
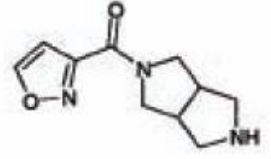
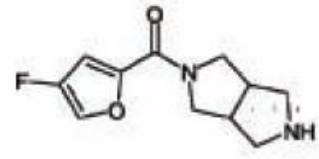
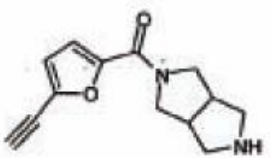
(continuación)

Table 1					
Estructura	Ki de $\alpha_4\beta_2$ rata	Ki de $\alpha_4\beta_2$ Humano	α_7 Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	1000	45	ND; Fallido HTS	289	δ 6.48 (s, 1H), 3.5-4.0 (m, 6H), 3.3-3.1 (m, 4H), 2.35 (s, 3H)
	320	36	ND; Fallido HTS	275	δ 8.25 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 4.2-3.6 (m, 4H), 3.55 (dd, 2H), 3.3-3.2 (m, 4H)
	31	28	ND; Fallido HTS	286	δ 8.15 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 4.2-3.6 (m, 4H), 3.5 (dd, 2H), 3.4-3.2 (m, 4H),
	20	22	ND; Fallido HTS	299/301	
	140	51	ND; Fallido HTS	233	δ 7.58 (dd, J = 2, 0.5 Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 18, 11 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 2, 0.5 Hz, 1H), 5.70 (dd, J = 18, 1.5 Hz, 1H), 5.32 (dd, J = 11, 1.5 Hz, 1H), 4.20-3.62 (m, 4H), 3.62-3.58 (m, 2H), 3.25-3.18 (m, 4H)

(continuación)

Tabla 1					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	^1H NMR: CD_3OD , 300 MHz
	43	21	ND; Fallido HTS	287	δ 7.81 (s, 1H), 7.08 (d, J = 1 Hz, 1H), 4.18-3.62 (m, 4H), 3.59 (m, 2H), 3.30-3.20 (m, 4H), 2.40 (t, J = 7 Hz, 2H), 1.60-1.44 (m, 4H), 0.95 (t, J = 7 Hz, 3H)
	2.8	2.4	ND; Fallido HTS	241	
	8.3	16	ND; Fallido HTS	225	
	20	4.9	ND; Fallido HTS	366	
	35	27	ND; Fallido HTS	225	δ 7.60 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 2 Hz, 1H), 4.18-3.65 (m, 4H), 3.60 (m, 2H), 3.22 (m, 4H)

(continuación)

Tabla 1					
Estructura	Ki de α 4 β 2 rata	Ki de α 4 β 2 Humano	α 7 Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	25	14	ND; Fallido HTS	232	δ 7.85(d, J=2 Hz, 1H), 6.95(d, J=2 Hz, 1H), 4.25-3.63 (m, 4H), 3.60(m, 2H), 3.24 (m, 4H)
	21	9.7	ND; Fallido HTS	241	δ 7.83(d, J=1 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 4.20-3.62 (m, 4H), 3.60(m, 2H), 3.28-3.19 (m, 4H)
	89	90	ND; Fallido HTS	208	δ 8.79 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 4.12 (dd, J = 12, 7 Hz, 1H), 3.99 (dd, J = 12, 3 Hz, 1H), 3.90 (dd, J = 13, 8 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 13, 4 Hz, 1H), 3.58 (m, 2H), 3.24 (m, 4H)
	36	21	ND; Fallido HTS	225	δ 7.80(d, J=1 Hz, 1H), 7.78 (d, J=1 Hz, 1H), 4.21-3.62 (m, 4H), 3.58(m, 2H), 3.21 (m, 4H)
	140	48	ND; Fallido HTS	231	

(Continuará)

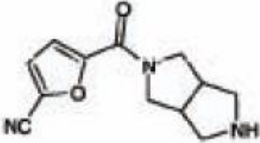
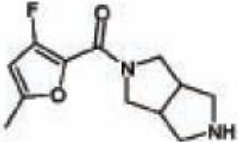
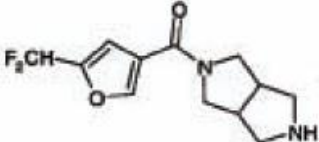
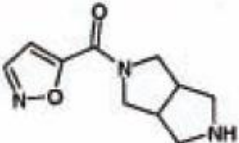
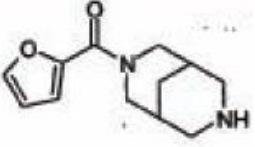
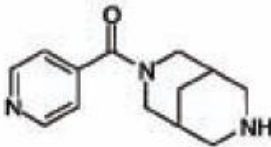
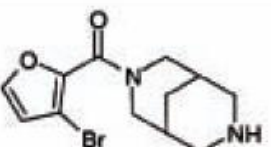
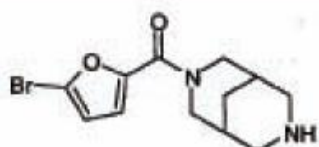
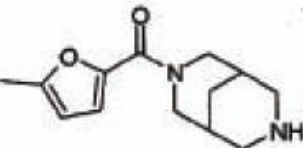
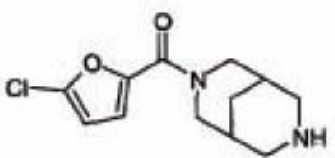
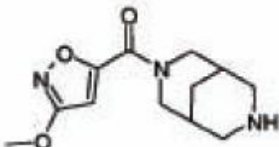
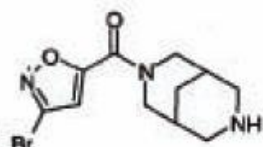
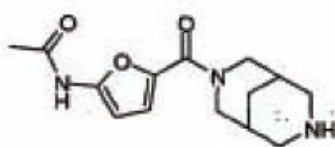
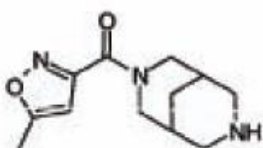
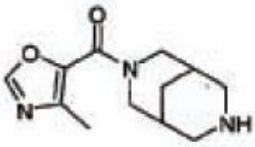
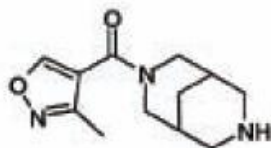
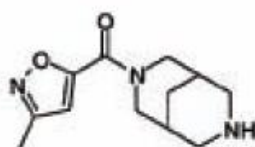
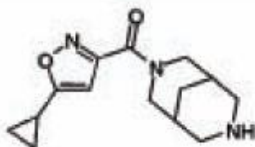
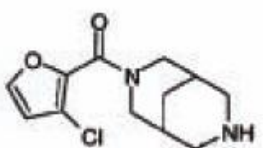
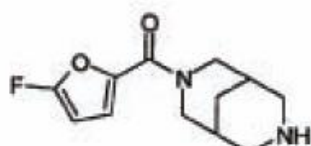
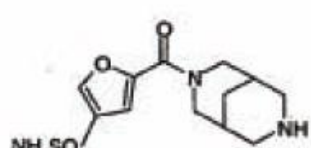
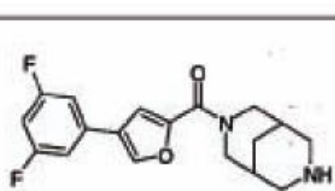
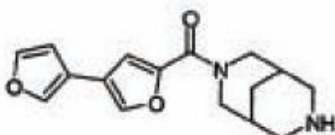
Tabla 1					
Estructura	Ki de $\alpha 4 \beta 2$ Rata	Ki de $\alpha 4 \beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	50	40	ND; Fallido HTS	232	
	65	14	ND; fallido HTS	239	δ 6.24 (s, 1H), 4.17-3.65 (m, 4H), 3.57 (m, 2H), 3.19 (m, 4H), 2.34 (s, 3H)
	51	130	ND; Fallido HTS	257	
	43	69	ND; Fallido HTS	208.3	δ 8.52 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 2 Hz, 1H), 4.15 (dd, J = 8, 12 Hz, 1H), 3.91 (m, 2H), 3.72 (dd, J = 4, 14 Hz, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.33 - 3.23 (m, 4H).

Tabla 2					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	31	9.9	15000	221	δ 7.75 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 6.65 (m, 1H), 4.55 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.3-3.45 (m, 4H), 2.35 (bs, 2H), 2.1 (bs, 2H)
	110	18	1700	232	
	79	17	ND; Fallido HTS	301	
	41	51	ND; Fallido HTS	301	
	100	42	ND; Fallido HTS	235	
	15	7.3	120000	255	δ 7.10 (d, 1H), 6.53 (d, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.15-3.35 (m, 6H), 2.15 (bs, 2H), 2.0 (bs, 2H)

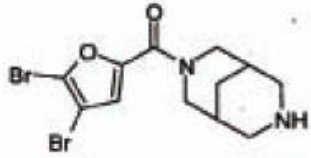
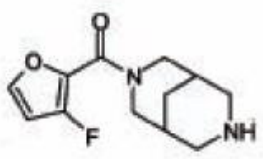
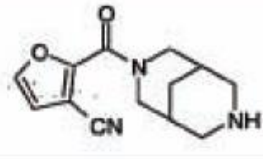
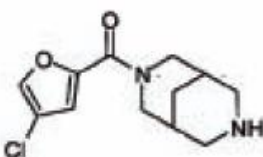
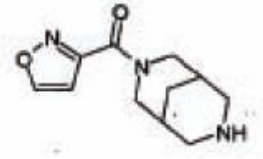
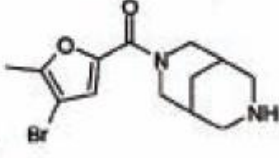
(continuación)

Tabla 2					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	33	180	ND; Fallido HTS	252	
	5.9	18	ND; fallido HTS	302	
	87	210	ND; fallido HTS	278	δ 7.18 (d, 1H), 6.36 (d, 1H), 4.56 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.40-3.24 (m, 4H), 2.30 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.05 (m, 2H)
	68	96	ND; Fallido HTS	236	
	20	64	ND; Fallido HTS	236	
	9.5	21	ND; Fallido HTS	236	
	29	47	ND; Fallido HTS	236	

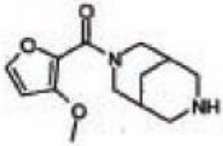
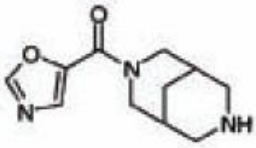
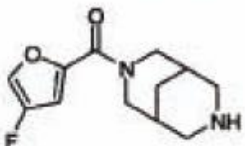
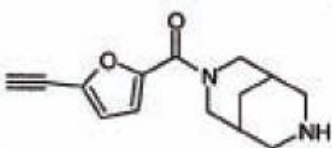
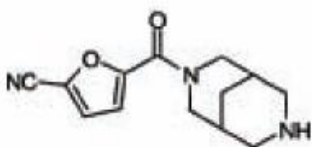
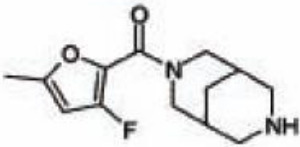
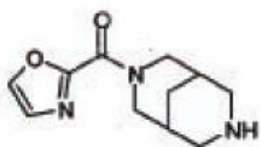
(continuación)

Table 2					
Estructura	ki de $\alpha 4\beta 2$ rata	ki de $\alpha 4\beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	^1H NMR: CD_3OD , 300 MHz
	25	83	ND; fallido -ITS	262	
	96	29	ND; fallido ITS	255	
	6.4	4.6	ND; fallido HTS	239	
	86	62	ND; fallido HTS	300	8.19 (s, 1H), 7.3 (s, 1H), 4.45 (d, 2H), 3.6-3.2 (m, 6H), 2.27 (bs, 2H), 2.1-2.0 (m, 2H)
	6.3	23	ND; fallido -ITS	333	8.22 (d, J = 1 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 1 Hz, 1H), 7.27 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 4.55 (d, J=13Hz, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.42-3.30 (m, 4H), 2.31 (bs, 2H), 2.06 (m, 2H)
	2	35	ND; fallido -ITS	287	

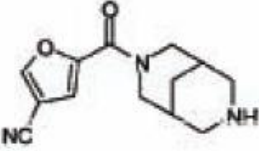
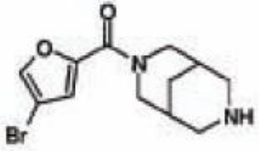
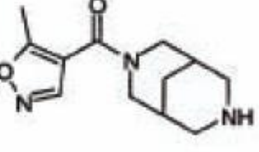
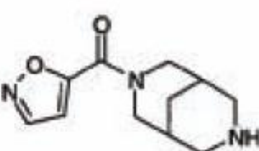
(continuación)

Table 2					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Ki rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Ki Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	4	1.6	ND; fallido HTS	380	
	110	57	ND; fallido HTS	239	δ 7.63 (dd, J = 4, 2 Hz, 1H), 6.62 (dd, J = 2, 1Hz, 1H), 4.37 (d, J = 14 Hz, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.34 (m, 4H), 2.28 (bs, 2H), 2.06 (m, 2H)
	110	31	ND; fallido HTS	246	
	13	5.2	ND; fallido HTS	255	
	77	10	ND; fallido HTS	255	
	7.5	5.2	ND; fallido HTS	313/315	(CDCl_3) δ 6.95 (s, 1H), 4.60 (d, 2H), 3.55 (d, 2H), 3.38 (m, 2H), 3.25 (d, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.25 (m, 2H), 2.05 (m, 2H)

(continuación)

Tabla 2					
Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ rata	Ki de $\alpha 4\beta 2$ Humano	$\alpha 7$ Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	560	28	ND; fallido HTS	251	
	28	26	ND; fallido HTS	222	
	28	14	ND; fallido HTS	239	
	220	47	ND; fallido HTS	245	
	35	8.7	ND; fallido HTS	246	
	500	62	ND; fallido HTS	253/505	
	370	85	ND; fallido HTS	222	δ 8.09 (d, 1H), 7.40 (d, 1H), 3.65-3.23 (m, 8H), 2.30 (m, 2H), 2.05 (m, 2H)

(continuación)

Tabla 2					
Estructura	Ki de α 4 β 2 rata	Ki de α 4 β 2 Humano	α 7 Ki	MS: m/z (M+H)	$^1\text{H NMR}$: CD_3OD , 300 MHz
	27	23	ND; fallido HTS	246	
	12	1.7	ND; fallido HTS	301	
	65	31	ND; fallido HTS	236	
	52	30	ND; fallido HTS	222	δ 8.53 (d, 1H), 6.90 (d, 1H), 4.60-4.20 (m, 2H), 3.58-3.25 (m, 6H), 2.30 (m, 2H), 2.05 (m, 2H)

Resumen de Datos Biológicos

- 5 **[0114]** Los compuestos de las Tablas 1 y 2, representativos de la presente invención, presentaron constantes de inhibición (valores K_i) en los subtipos $\alpha 4\beta 2$ de rata y humano yendo de 1 nM a 1000 nM y 1 nM to 220 nM respectivamente, indicando alta afinidad para el subtipo $\alpha 4\beta 2$. Los valores K_i en el subtipo $\alpha 7$ varian dentro del rango de 1700 nM a 210.000 nM (en muchos casos los compuestos no se unieron lo suficiente en filtrado de alto flujo en el subtipo $\alpha 7$ para garantizar la determinación de K_i). Estos mismos compuestos presentaron relativamente poca actividad funcional tanto en el subtipo de músculo humano (1-25% de la respuesta máxima a la nicotina) o de ganglio humano (1-20% de la respuesta máxima a la nicotina).
- 10 **[0115]** Ciertos compuestos ejemplificados fueron evaluados en la tarea NOR. Así, tanto N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano (Figura 1) como N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.1] nonano (Figura 2) eran activos en OR en ratas, a 0,1 mg/kg y 0,3 mg/kg respectivamente. Esto proporciona evidencia de la eficacia (y potencia) de los compuestos de la presente invención para tratar déficits cognitivos, trastornos de atención y demencias, y el potencial de estos compuestos para terapia humana.
- 15 **[0116]** Lo anterior es ilustrativo de la presente invención y no debe ser interpretado como limitativo de la misma. La invención se define por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0] octano, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.
2. Un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 para uso en tratar trastornos del sistema nervioso central.
- 5 3. Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 o 2, y uno o más diluyentes, excipientes y/o soportes inertes farmacéuticamente aceptables.
- 10 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en donde el N-(5-clorofuran-2-ilcarbonil)-3,7-diazabicyclo[3.3.0]de octano, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable se provee en una intervalo de dosis de desde unos 100 µg/kg hasta cerca de 1 mg/kg por día.
5. Uso de un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 o 2 o una composición de acuerdo a la reivindicación 3 o 4, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central.
- 15 6. Un compuesto de la reivindicación 2, una composición de las reivindicaciones 3 o 4 o el uso de la reivindicación 5, en donde el trastorno es seleccionado del grupo formado por deficiencia de memoria asociada con la edad, deficiencia cognitiva leve, demencia presenil (aparición temprana de la enfermedad de Alzheimer), demencia senil (demencia del tipo Alzheimer), demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, enfermedad de Alzheimer, derrame cerebral, demencia compleja de VIH, trastorno de déficit de atención, deficiencias cognitivas, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme y transtorno esquizoefectivo.,
- 20 7. Un compuesto, composición o uso de la reivindicación 6, en donde el trastorno es seleccionado del grupo formado por demencia leve a moderada tipo Alzheimer, deficiencia cognitiva leve y deficiencia de memoria asociada con la edad.
8. Un compuesto, composición o uso de la reivindicación 6, en donde el trastorno es trastorno de déficit de atención o trastorno de hiperactividad con déficit de atención.
- 25 9. Un compuesto, composición o uso de la reivindicación 6, en donde el trastorno es esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, déficits cognitivos, o transtorno esquizoafectivo.

FIG. 1

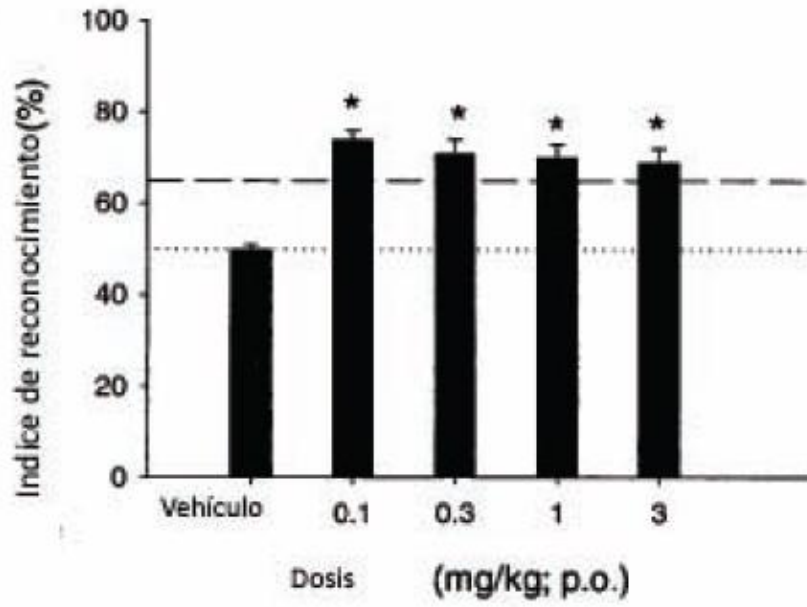


FIG. 2

