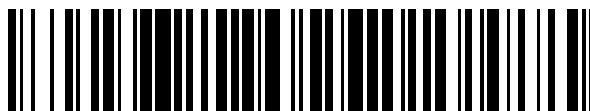


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 169**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 39/385 (2006.01)

A61P 25/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2009 E 09781555 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2012 EP 2313390**

54 Título: **Proceso para la preparación de haptenos basados en nicotina**

30 Prioridad:

08.08.2008 EP 08162095

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

19.02.2013

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

MARTIN, BENJAMIN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 396 169 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

Proceso para la preparación de haptenos basados en nicotina

Campo de la Invención

5 Esta invención se refiere a un proceso para la preparación de haptenos basados en nicotina que son componentes útiles de las vacunas para dejar de fumar.

Antecedentes a la invención

10 El tabaco es la droga adictiva más ampliamente usada del mundo. El principal componente adictivo del tabaco es la nicotina, un alcaloide derivado a partir de las hojas de tabaco. El fumar tabaco en cigarrillos es la principal causa de muerte con posibilidad de prevenirse en los Estados Unidos y en muchos otros países. Aunque la mayoría de los fumadores están conscientes de que el cáncer pulmonar, la enfermedad cardíaca coronaria, la enfermedad pulmonar crónica, y la embolia pueden ser causados por fumar, la mayoría de los fumadores de cigarrillos que tratan de dejarlo fracasan para hacerlo.

15 Existen diferentes tratamientos del comportamiento y farmacológicos disponibles para ayudar a los fumadores a dejarlo, incluyendo la terapia de reemplazo de nicotina (por ejemplo, utilizando gomas de mascar de nicotina o parches transdérmicos) y el tratamiento anti-depresivo (por ejemplo, utilizando bupropión). Sin embargo, los resultados son decididamente mixtos. Pueden dar lugar a efectos secundarios indeseables. Y se apoyan mucho en que los fumadores mantengan su fuerza de voluntad para no fumar.

20 La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 6,932,971 da a conocer una vacuna terapéutica para dejar de fumar. Cuando se administra la vacuna, induce la producción de los altos niveles de anticuerpos específicos de nicotina que se enlazan a la nicotina en la sangre. Debido a que el complejo de la nicotina unida a un anticuerpo es demasiado grande para pasar por la barrera hemato-encefálica, se cree que se reduce de una manera significativa, o inclusive se impide, la absorción de nicotina en el cerebro y la subsiguiente estimulación de las neuronas perceptivas de nicotina en el cerebro. De esta manera, se minimiza el impulso de la adicción y el estímulo inductor de satisfacción de la nicotina.

25 La vacuna de la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 6,932,971 consiste en un hapteno basado en nicotina enlazado por medio de un puente químico a la superficie de una partícula tipo virus recombinante del fago Q β producida en *E. coli*. El hapteno basado en nicotina es un derivado de nicotina conocido, el 1-(trans-3'-hidroxi-metil-nicotinil)-6-hidroxi-succinimidil-succinato (C₁₉H₂₃N₃O₆). Este hapteno se sintetiza mediante la reacción de la trans-3'-hidroxi-metil-nicotina con anhídrido succínico para proporcionar la hidroxi-metil-nicotina succinilada, la O-succinil-3'-hidroxi-metil-nicotina, basándose en el procedimiento que se da a conocer en Langone y colaboradores "Radioimmunoassay of nicotine, cotine and γ -(3-pyridyl)- γ -oxo-N-methylbutyramide", *Methods Enzymol.* 84, páginas 628-640, Academic Press 1982. Este compuesto se mezcla entonces con 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida (EDC), y N-hidroxi-succinimida (NHS), para dar el éster de N-hidroxi-succinimida de la O-succinil-3'-hidroxi-metil-nicotina, es decir, el 1-(trans-3'-hidroxi-metil-nicotinil)-6-hidroxi-succinimidil-succinato anteriormente mencionado.

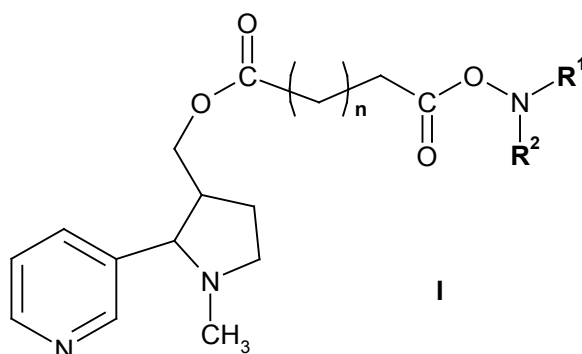
30

35

40 El proceso que se da a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 6,932,971 es indeseable para la producción industrial, debido a que el hapteno que se prepara mediante el proceso puede contener cantidades residuales de EDC, la cual es tóxica y mutagénica. El hapteno también es una molécula inherentemente inestable. Esto dificulta el manejo y la preparación del hapteno. Por consiguiente, existe una necesidad de un proceso para la preparación del hapteno que elimine o cuando menos minimice estos problemas.

Breve Descripción de la Invención

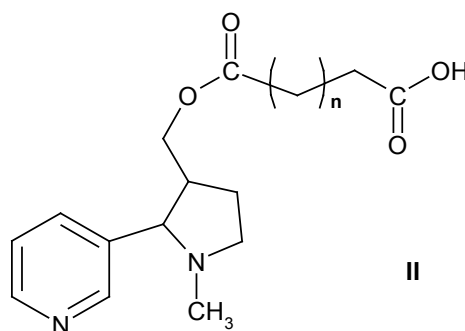
En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de un hapteno basado en nicotina de la fórmula I:



o una sal o solvato del mismo

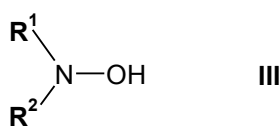
5 en donde n es un entero de 0 a 5, y R¹ y R² forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1, 2, 3 ó 4 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; comprendiendo el proceso los pasos de:

(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II:



10

o una sal o solvato del mismo, en donde n es un entero de 0 a 5,
con un compuesto de la fórmula III



o una sal del mismo,

15 en donde R¹ y R² son como se definen anteriormente en la presente,
y un agente de acoplamiento soportado por polímero; y

(b) filtrar el producto del paso (a), para dar un compuesto de la fórmula I en forma libre, de sal, o de solvato, como se define anteriormente en la presente.

20 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un hapteno basado en nicotina de la fórmula I como se define anteriormente en la presente, que se puede obtener o se obtiene mediante el proceso anteriormente mencionado, para la preparación de un hapteno basado en nicotina de la fórmula I. De preferencia, el hapteno se proporciona como una composición en donde el hapteno es más del 80, 85 ó 90 por ciento puro, como se determine, por ejemplo, mediante ¹H RMN.

25 En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método para la preparación de un conjugado de hapteno-vehículo, comprendiendo el método acoplar covalentemente un hapteno basado en nicotina de la fórmula I obtenido o que se pueda obtener mediante el proceso del primer aspecto de la invención, a una o más proteínas de recubrimiento de una partícula tipo virus (VLP). En una modalidad, la partícula tipo virus

(VLP) comprende proteínas de recubrimiento de un fago de ARN, de preferencia el fago Q β .

Descripción Detallada de la Invención

Los términos empleados en la especificación tienen los siguientes significados:

5 "Opcionalmente sustituido", como se utiliza en la presente, significa que el grupo referido puede estar sustituido en una o más posiciones por cualquiera o cualquier combinación de los radicales enlistados posteriormente.

"Halo" o "halógeno", como se utiliza en la presente, puede ser flúor, cloro, bromo o yodo. Halógeno es adecuadamente cloro.

10 "Alquilo de 1 a 5 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena recta o ramificada que tiene 1 a 5 átomos de carbono. Alquilo de 1 a 5 átomos de carbono es adecuadamente metilo o etilo.

15 "Cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, denota cicloalquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono del anillo, por ejemplo un grupo monocíclico, tal como un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclo-octilo, o un grupo bicíclico, tal como bicicloheptilo o biciclo-octilo. Cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono" es adecuadamente cicloalquilo de 5 a 6 átomos de carbono, en especial ciclohexilo.

20 "Grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre", como se utiliza en la presente, es un grupo heterocíclico que contiene 5, 6, 7, 8 9, ó 10 átomos del anillo, uno de los cuales es nitrógeno y está unido al átomo de oxígeno del grupo éster que es distal a la fracción de nicotinilo del compuesto de la fórmula I, en donde, opcionalmente, 1, 2 ó 3 de los otros átomos del anillo son átomos de nitrógeno, y opcionalmente, 1, 2, 3 ó 4 de los otros átomos del anillo se pueden seleccionar a partir de oxígeno y azufre. El grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) puede ser, por ejemplo, un grupo heterocíclico mono-cíclico o bicíclico, saturado o insaturado. El grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) es adecuadamente un grupo heterocíclico de 5 ó 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo, en especial pirrolidinilo enlazado por nitrógeno (N).

30 "Hapteno basado en nicotina", como se utiliza en la presente, se refiere a nicotina, ya sea en su forma S o R enantioméricamente pura, o bien una mezcla de los mismos, la cual se deriva de tal manera que se puede unir a un vehículo, ya sea directamente, o bien por medio de un reticulante.

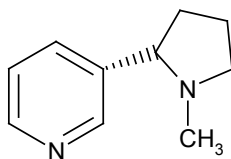
35 "Vacuna", como se utiliza en la presente, se refiere a una formulación que contiene el hapteno basado en nicotina de la presente invención enlazado a un vehículo, y la cual está en una forma que se puede administrar a un animal. Típicamente, la vacuna comprende una solución salina convencional o un medio de solución acuosa con el pH regulado, por ejemplo, una solución de sal de aluminio, en donde se suspende o se disuelve el hapteno basado en el conjugado de nicotina-vehículo. De esta forma, la vacuna se puede utilizar de una manera conveniente para prevenir, mitigar, o tratar de otra manera una condición. Después de introducirse en un huésped, la vacuna es capaz de provocar una respuesta inmunitaria, incluyendo, pero no limitándose a, la producción de anticuerpos y/o citoquinas y/o la activación de células-T citotóxicas, células presentadoras de antígeno (por ejemplo, inmunoglobulinas), células-T auxiliares, células dendríticas y/o otras respuestas celulares.

40 A través de toda esta especificación y en las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de otra manera, la palabra "comprenden", o las variaciones, tales como "comprende" o "comprendiendo", se entenderán para implicar la inclusión de un entero o paso o grupo de enteros o pasos mencionado, pero no la exclusión de cualquier otro entero o paso o grupo de enteros o pasos.

45 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de haptenos basados en nicotina que son componentes útiles de las vacunas para dejar de fumar.

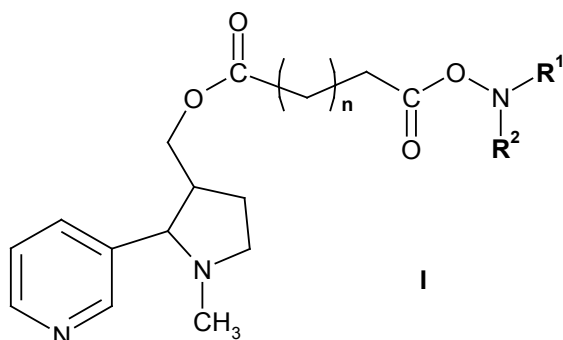
50 Las vacunas para dejar de fumar que contienen haptenos basados en nicotina se dan a conocer en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 6,932,971 (Cytos), US 6,232,082 (Nabi), y US 6,656,469 (IPAB), en donde los haptenos se enlazan, por medio de un puente químico, a una partícula tipo virus recombinante del fago Q β producida en *E. coli.*, una exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante (rEPA), y un toxoide de tétanos, respectivamente.

La nicotina tiene la siguiente estructura química:



La nicotina no provoca una respuesta inmunológica en el hombre. Sin embargo, es posible generar anticuerpos específicos de nicotina en el hombre cuando la nicotina se deriva para formar un hapteno que se enlaza a un vehículo adecuado.

- 5 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de haptenos basados en nicotina de la fórmula I:



10 en forma libre, de sal, o de solvato, en donde n es un entero de 0 a 5, y R¹ y R² forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1, 2, 3 ó 4 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono.

15 Los siguientes aspectos adecuados, preferidos, más preferidos, o muy preferidos de la invención se pueden incorporar de una manera independiente, colectiva, o en cualquier combinación.

n es adecuadamente un entero de 0 a 5, por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4 ó 5, pero en especial 1.

20 R¹ y R² forman juntos, de una manera adecuada, un grupo heterocíclico de 5 a 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno del anillo, y que contiene opcionalmente 1 ó 2 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1 ó 2 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, en especial oxo. Por ejemplo, R¹ y R² forman juntos un grupo pirrolidina sustituido en las posiciones 2 y 5 por oxo, es decir, succinimidilo.

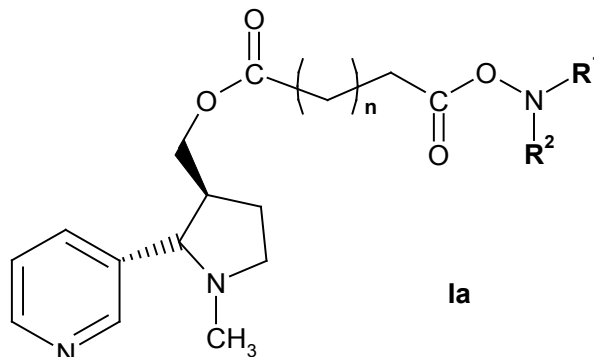
25 Cuando el grupo heterocíclico de 5 a 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) anteriormente mencionado está sustituido por alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, el alquilo de 1 a 4 átomos de carbono es adecuadamente metilo o etilo.

Quando el grupo heterocíclico de 5 a 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) anteriormente mencionado está sustituido por alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, el alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono es adecuadamente metoxilo o etoxilo.

30 Cuando el grupo heterocíclico de 5 a 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) anteriormente mencionado está sustituido por cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono es adecuadamente pentilo o hexilo.

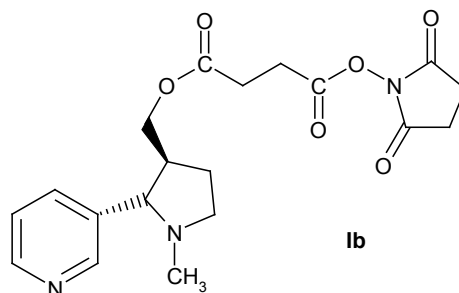
35 Los haptenos incluyen cuando menos un átomo de carbono asimétrico, de modo que existen en las formas isoméricas individuales o como mezclas de los mismos, por ejemplo, como mezclas racémicas o diaestereoméricas. La presente invención abarca la preparación de todos los isómeros individuales de cada estereocentro (por ejemplo, los isómeros SS, SR, RS, y RR), así como las mezclas, por ejemplo, las mezclas racémicas (por ejemplo, 50:50 de dos isómeros o 25:25:25:25 de los cuatro isómeros); o las mezclas diaestereoméricas, de los mismos.

Los haptenos basados en nicotina de la fórmula I son de una manera adecuada los haptenos basados en nicotina de la fórmula Ia:



en forma libre, de sal, o de solvato, los cuales son una mezcla racémica de enantiómeros *trans*.

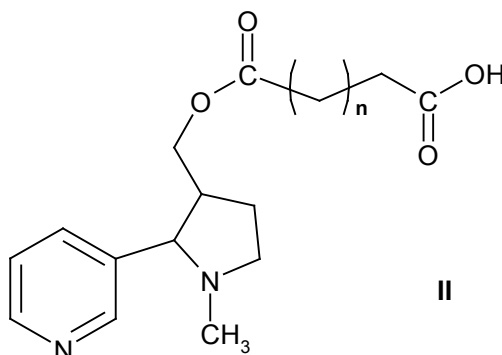
- 5 En una modalidad especialmente preferida, el haptene basado en nicotina de la fórmula I es un haptene basado en nicotina de la fórmula Ib:



- 10 en forma libre, de sal, o de solvato, el cual es un racemato de succinimidil-éster de éster de metilen-mono-succinato de *trans*-4-nicotina, también conocido como 1-metil-2-piridin-3-il-pirrolidin-3-il-metil-éster de 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il-éster de *trans*-ácido succínico (C₁₉H₂₃N₃O₆).

El proceso para la preparación de los haptenos basados en nicotina de la fórmula I comprende dos pasos, (a) y (b), los cuales se pueden llevar a cabo en un reactor convencional (de preferencia con agitación lenta con el objeto de no dañar la estructura del polímero), y filtración en una unida convencional.

En el paso (a), un compuesto de la fórmula II:

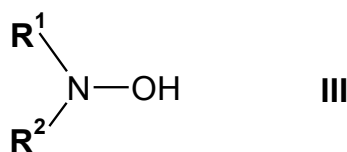


15

o una sal o solvato del mismo,

en donde n es un entero de 0 a 5,

se hace reaccionar con un compuesto de la fórmula III:

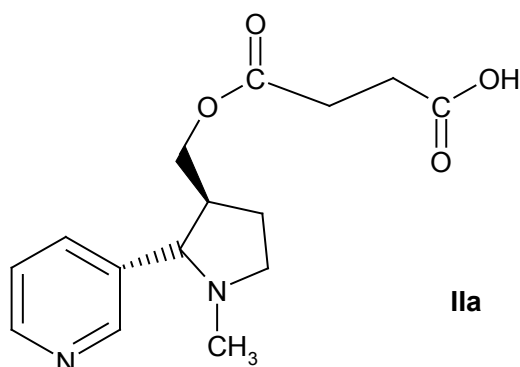


o una sal del mismo,

en donde R^1 y R^2 son como se definen anteriormente en la presente,

y con un agente de acoplamiento soportado por polímero.

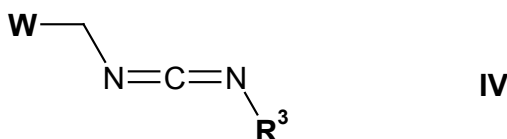
5 En una modalidad preferida, el compuesto de la fórmula II es un compuesto de la fórmula IIa:



en forma libre, de sal, o de solvato.

10 El agente de acoplamiento soportado por polímero es adecuadamente un reactivo de síntesis en fase de solución soportado por polímero, para producir las especies de ácido activado en la formación de los enlaces de amida y los ésteres.

En una modalidad preferida, el agente de acoplamiento soportado por polímero es un compuesto de la fórmula IV:



15 en donde W denota un sustrato en fase sólida químicamente enlazado al grupo metileno indicado, y R^3 es alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono.

Cuando R^3 es alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, es adecuadamente etilo o isopropilo.

Cuando R^3 es cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, es adecuadamente ciclohexilo.

20 En una modalidad especialmente preferida, el compuesto de la fórmula IV es adecuadamente una resina de ciclohexil-carbodi-imida que está comercialmente disponible en Varian Inc como la resina de PL-DCC StratoSpheres^{MR}.

25 Una ventaja de utilizar un agente de acoplamiento soportado por polímero es que los sub-productos tóxicos permanecen enlazados al soporte polimérico, simplificando mucho de esta manera el procedimiento del proceso, al eliminar la necesidad de extracciones acuosas, y la remoción del sub-producto sólido (la dicitclohexil-urea). Cualquier especie de ácido o amina sin reaccionar se puede remover mediante la adición de una resina eliminadora apropiada.

30 Los compuestos de las fórmulas II y III de preferencia se mezclan antes de entrar en contacto con el agente de acoplamiento soportado por polímero. Se debe observar que la mezcla del compuesto de la fórmula II con el agente de acoplamiento soportado por polímero antes de mezclar el compuesto de la fórmula III, puede disminuir el rendimiento de los haptenos basados en nicotina de la fórmula I, e inclusive puede conducir a la formación de productos alternativos.

La reacción se puede efectuar empleando los métodos conocidos para hacer reaccionar ácidos carboxílicos con compuestos de amino y el agente de acoplamiento soportado por polímero (por ejemplo, derivados de carbodi-imida enlazados al sustrato), o de una manera análoga, por ejemplo, como se describe posteriormente en la presente en los Ejemplos. La reacción se lleva a cabo de una manera conveniente utilizando un solvente orgánico, tal como 2-butanona (también conocida como etil-metil-cetona o butan-2-ona), es decir, los compuestos de las fórmulas II y III se disuelven en el solvente en un primer recipiente, y el agente de acoplamiento soportado por polímero se hincha con el mismo solvente en un segundo recipiente. El contenido del primero y el segundo recipientes se combina de tal manera que los compuestos de las fórmulas II y III reaccionen con un intermediario del agente de acoplamiento soportado por polímero. Las temperaturas de reacción adecuadas son de 20°C a 70°C, de preferencia de 40°C a 60°C, pero en especial de aproximadamente 50°C.

El aumento de la temperatura de la reacción muy probablemente aumentaría la velocidad de la reacción, pero esto tiende a aumentar la cantidad y el número de productos secundarios. Las temperaturas más altas pueden conducir a la abertura del anillo nucleofílico del grupo succinimidilo, seguida por una reconfiguración.

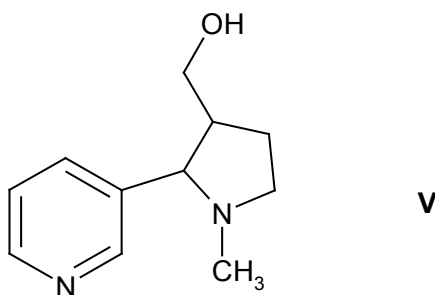
En el paso (b), se filtra el producto del paso (a), para dar el hapteno basado en nicotina de la fórmula I en solución.

La filtración se puede lograr por cualquier medio conocido en este campo.

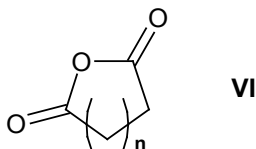
El producto final es de una alta pureza, en especial cuando se compara con el proceso a escala de laboratorio descrito en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 6,932,971. Esto es particularmente importante cuando se prepara el hapteno para probar clínicamente la vacuna. Con frecuencia es difícil purificar los haptenos basados en nicotina, debido a que esto tiende a conducir a la degradación a través de la hidrólisis. De preferencia, la pureza del hapteno de nicotina es más del 80, 85 ó 90 por ciento puro, como se determine, por ejemplo, mediante ¹H RMN.

Si se desea, la forma sólida resultante se disuelve en un solvente orgánico adecuado, por ejemplo, 2-butanona, para el embarque y almacenamiento, el cual está adecuadamente a una temperatura reducida, es decir, de -100°C a 20°C, por ejemplo, a aproximadamente -80°C.

Los compuestos de la fórmula II están comercialmente disponibles o se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula V:



con un compuesto de la fórmula VI:

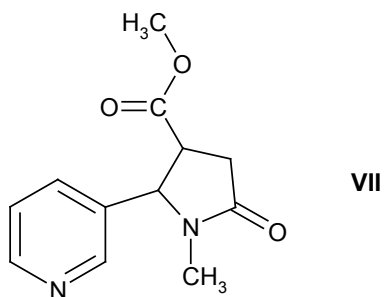


en donde n es un entero de 0 a 5. La reacción se puede efectuar empleando los métodos conocidos para hacer reaccionar la dihidro-furan-2,5-diona o sus análogos con alcoholes, o de una manera análoga, por ejemplo, como se describe posteriormente en la presente, en los Ejemplos.

Los compuestos de la fórmula III están comercialmente disponibles, o bien se pueden obtener mediante los procedimientos conocidos para la preparación de compuestos N-heterocíclicos hidroxilados.

Los compuestos de la fórmula IV están comercialmente disponibles.

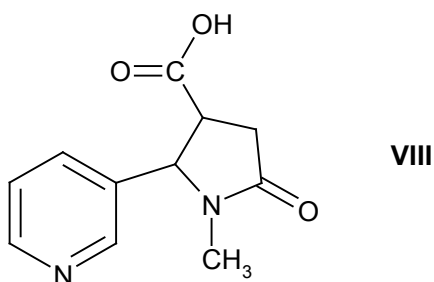
El compuesto de la fórmula V se puede obtener mediante la reducción de un compuesto de la fórmula VII:



5 es decir, el metil-éster del ácido 1-metil-5-oxo-2-piridin-3-il-pirrolidin-3-carboxílico. La reacción se puede efectuar empleando los métodos conocidos para reducir ésteres, de preferencia utilizando un agente reductor, tal como hidruro de litio y aluminio, o de una manera análoga, por ejemplo, como se describe posteriormente en la presente, en los Ejemplos.

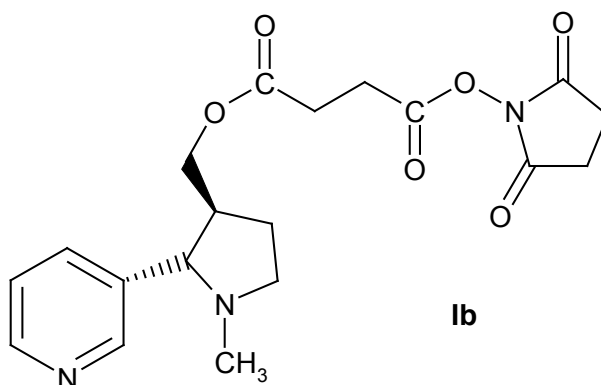
Los compuestos de la fórmula VI están comercialmente disponibles.

El compuesto de la fórmula VII se puede obtener mediante la esterificación de un compuesto de la fórmula VIII:



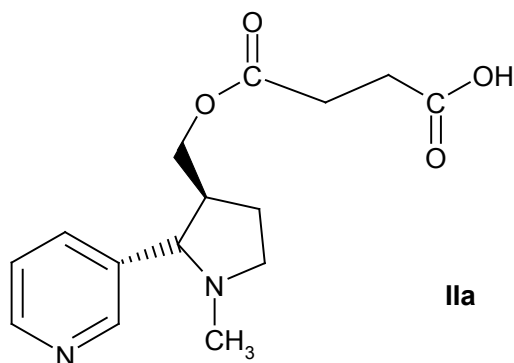
10 es decir, el ácido 1-metil-5-oxo-2-piridin-3-il-pirrolidin-3-carboxílico. La reacción se puede efectuar empleando los métodos conocidos para la esterificación de ácidos carboxílicos con alcoholes para formar ésteres, de preferencia utilizando un agente de deshidratación, tal como cloruro de tionilo (SOCl₂), o de una manera análoga, por ejemplo, como se describe posteriormente en la presente, en los Ejemplos.

15 En una modalidad preferida, la presente invención es un proceso para la preparación de un hapteno basado en nicotina de la fórmula Ib:

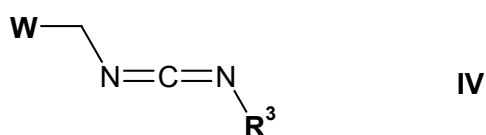


o una sal o solvato del mismo, comprendiendo el proceso los pasos de:

(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula IIa:



con N-hidroxi-succinimida y un agente de acoplamiento soportado por polímero de la fórmula IV:



5 en donde W denota un sustrato en fase sólida químicamente enlazado al grupo metileno indicado, y R³ es alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono; y

(b) filtrar el producto del paso (a), para dar un compuesto de la fórmula Ib en forma libre, de sal, o de solvato.

10 Los haptenos preparados mediante el proceso de la presente invención se pueden preparar como la base libre, o como una forma de sal o de solvato. Si se desea o es necesario, se pueden convertir en diferentes formas de sal o de solvatos (de una manera adecuada, utilizando un solvente no alcohólico), y *viceversa*, de una manera convencional. Los isómeros, tales como los enantiómeros y diaestereómeros, se pueden obtener de una manera convencional, por ejemplo, mediante síntesis asimétrica a partir de los materiales de partida correspondientemente sustituidos asimétricamente, por ejemplo, ópticamente activos, o con catalizadores asimétricos ópticamente activos o auxiliares ópticamente activos.

15 Los haptenos preparados mediante el proceso de la presente invención son componentes útiles de las vacunas para dejar de fumar. Para hacer estas vacunas, el hapteno se conjuga covalentemente con un vehículo adecuado, por ejemplo, una partícula tipo virus (VLP), tal como una partícula tipo virus (VLP) basada en las proteínas de recubrimiento de un fago de ARN, de preferencia el fago de ARN Q β , como se describe en la Publicación Internacional Número WO04/009116. Los procesos adecuados se describen en la
20 Publicación Internacional Número WO04/009116, por ejemplo, un proceso en donde el hapteno de nicotina derivada reacciona con los residuos de lisina presentes sobre la superficie de las proteínas de recubrimiento de las partículas tipo virus para formar un enlace de amida. El conjugado de hapteno-vehículo se combina entonces con uno o más ingredientes de formulación farmacéuticamente aceptables. Las formulaciones adecuadas, por ejemplo, se describen en la Publicación Internacional Número WO2007/131972, en donde la
25 formulación incluye cuando menos un sacárido no reductor, por ejemplo, sacarosa o trehalosa, y cuando menos un tensoactivo no iónico, de preferencia para dar un pH de 5.4 a 6.6. En una modalidad, estas formulaciones se liofilizan.

30 En una modalidad de la presente invención, la composición comprende además un adyuvante, que de preferencia es un adyuvante que contiene aluminio, de preferencia una sal de aluminio, de preferencia hidróxido de aluminio, de preferencia un gel mineral que contiene aluminio, más preferiblemente alhidrogel (hidrogel de aluminio). En una modalidad preferida de la presente invención, la composición comprende de 1 miligramo a 2 miligramos, de preferencia de 1.2 miligramos a 1.7 miligramos, más preferiblemente de 1.3 miligramos a 1.5 miligramos de sal de aluminio, de preferencia hidróxido de aluminio.

35 La vacuna típicamente se inyecta en pacientes humanos que deseen una ayuda para dejar de fumar. Las dosificaciones y regímenes de dosificación adecuados se describen en la Publicación Internacional Número WO2008/129020. Por ejemplo, el régimen de dosificación puede comprender cuando menos una primera, una segunda, y una tercera administración de la composición en el ser humano, en donde el intervalo de tiempo entre la primera administración y la segunda administración, y entre la segunda administración y la tercera administración es de cuando mucho 18 días. De preferencia, el intervalo de tiempo entre la primera
40 administración y la segunda administración, y entre la segunda administración y la tercera administración es de cuando menos tres días, de preferencia de cuando menos cuatro días, más preferiblemente de cuando menos cinco días. En una modalidad preferida, el intervalo de tiempo entre la primera administración y la

segunda administración, y entre la segunda administración y la tercera administración es de cuando menos cinco días y de cuando mucho 18 días.

En una modalidad preferida, durante cada administración, se administra una dosis de cuando menos 50 microgramos del conjugado de hapteno-vehículo, de preferencia de cuando menos 100 microgramos, o de preferencia de cuando menos 200 microgramos o de cuando menos 300 microgramos. La dosis del conjugado de hapteno-vehículo de preferencia no excederá de 500 microgramos, de preferencia no excederá de 400 microgramos. En una modalidad preferida de la presente invención, durante cada administración, se administran aproximadamente 100 microgramos del conjugado de hapteno-vehículo. Las composiciones se pueden administrar mediante diferentes métodos conocidos en la técnica, pero normalmente se administrarán mediante inyección, infusión, inhalación, administración oral, u otros métodos físicos adecuados. Las composiciones se pueden administrar de una manera alternativa intramuscularmente, intravenosamente, transmucosalmente, transdérmicamente o subcutáneamente. En una modalidad muy preferida, la administración de la composición se administra subcutáneamente. Los componentes de las composiciones para su administración incluyen soluciones y suspensiones estériles acuosas (por ejemplo, solución salina fisiológica) o no acuosas. Los ejemplos de los solventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo.

Los anticuerpos contra la nicotina son inducidos por una reacción inmunitaria del cuerpo al conjugado de partículas de hapteno-vehículo. Se cree que estos anticuerpos se enlazarán a cualquier nicotina inhalada, impidiéndole pasar a través de la barrera hemato-encefálica. Como tal, no habrá enlace alguno de la nicotina con los sitios objetivo del cerebro, y no se presentará la liberación de dopamina resultante que proporciona la sensación de placer/ recompensa. De esta manera, el paciente tendrá más probabilidades de continuar absteniéndose de fumar.

La invención se describe adicionalmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos, los cuales son solamente ilustrativos y no limitantes.

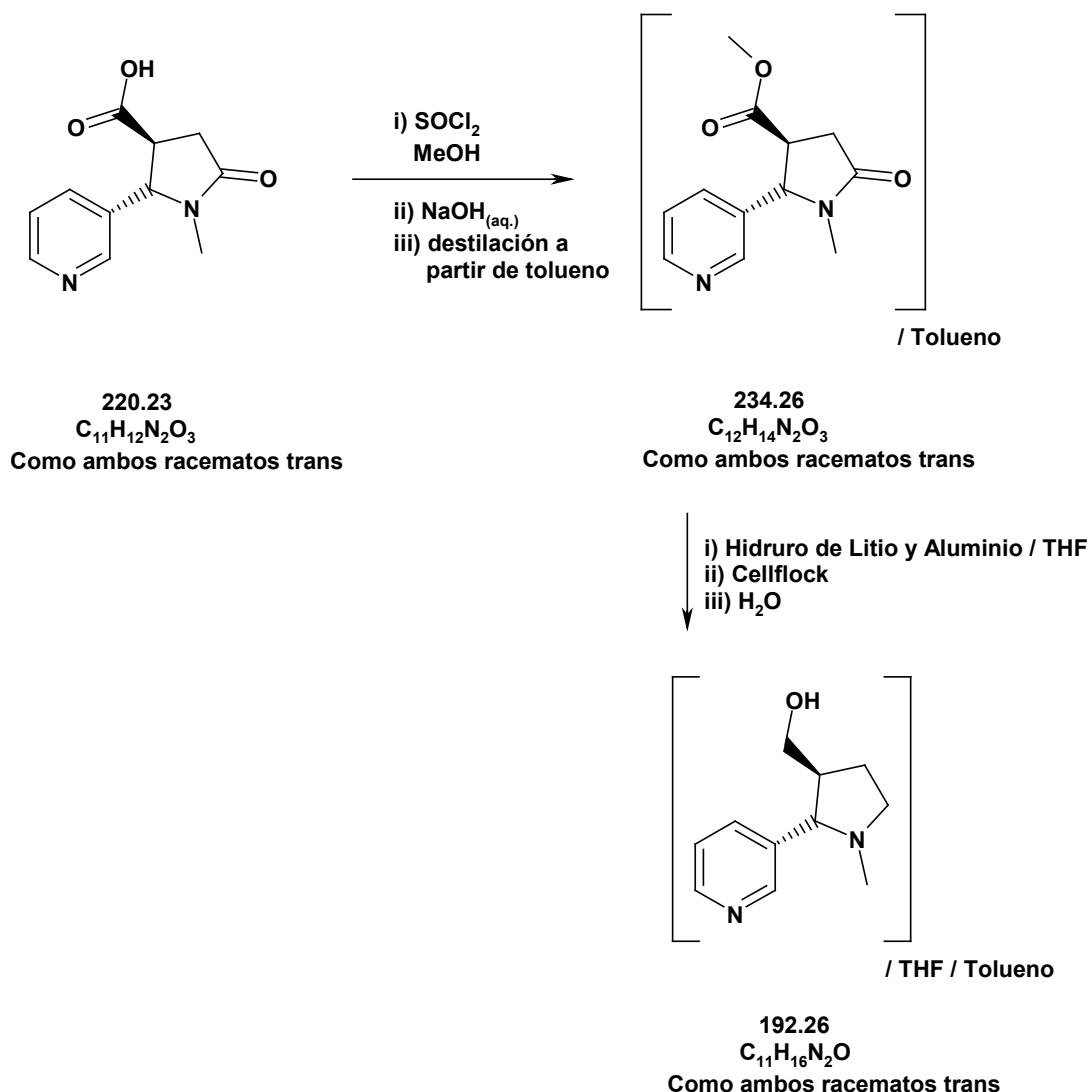
25 EJEMPLOS

Preparación de materiales de partida

Preparación de alcohol de trans-4-nicotina-metileno racémico:

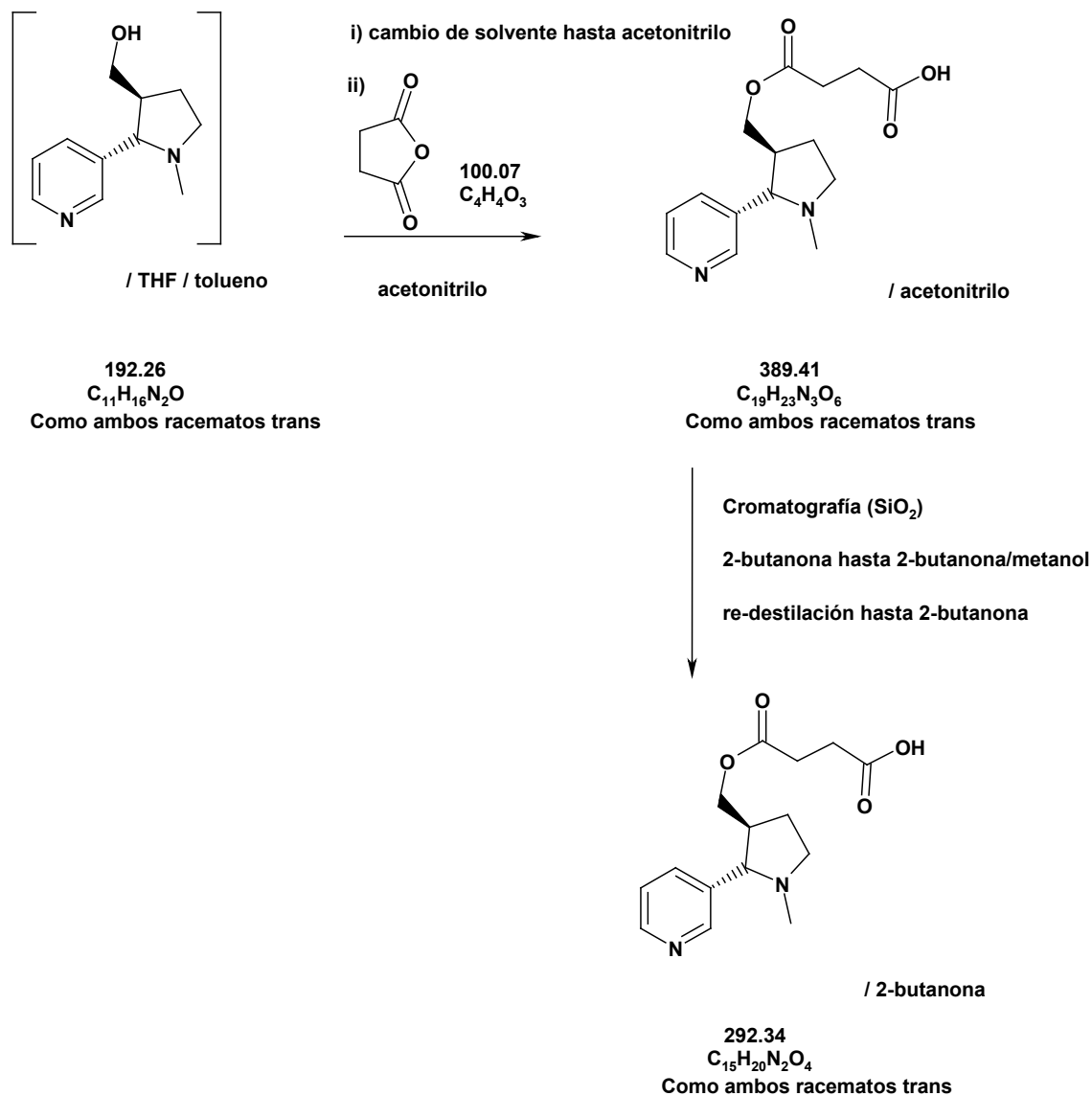
Se agrega ácido trans-4-cotinin-carboxílico racémico (1.8 kilogramos) a metanol (17 litros) a temperatura ambiente, y la suspensión se calienta hasta 35°C (temperatura interna) (recipiente Buechi vidriado de 50 litros). Entonces se agrega cuidadosamente cloruro de tionilo (1.07 kilogramos) durante una hora a 35°C. La solución se deja agitándose durante 1 hora adicional, después de lo cual, se conduce un Control En Proceso (conversión mediante HPLC) para asegurar una reacción completa. Se agrega tolueno (12 litros) a la mezcla de reacción, antes de enfriarse hasta -5°C (temperatura interna), y la solución se apaga cuidadosamente con una solución acuosa de hidróxido de sodio (2.5 kilogramos, 10 N). La filtración para remover el NaCl se emprende antes de lavar la torta con metanol (6.3 litros), y de la subsiguiente remoción azeotrópica del metanol y el agua mediante destilaciones repetidas a partir de tolueno (volumen total de tolueno de 48 litros). Una segunda filtración (remoción de NaCl adicional) da el trans-metil-éster de trans-4-cotinin racémico como una solución en tolueno (concentración en el intervalo de 9 por ciento en masa/masa). La solución se debe almacenar durante un período limitado debido a la cristalización espontánea. Los cristales se pueden volver a disolver al calentarse hasta 50°C (temperatura externa) durante 1 hora.

La solución de trans-metil-éster de 4-cotinin racémica (1.91 kilogramos como una solución en tolueno) se agrega lentamente a temperatura ambiente a una solución de hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano (7.79 kilogramos, 4.5 por ciento en masa/masa, Chemetall) (recipiente Buechi vidriado de 100 litros). La mezcla de reacción se deja agitándose durante 4 horas, después de lo cual, se agrega Cellflock (1.5 kilogramos), y la reacción se apaga cuidadosamente con agua (0.5 kilogramos). Después de dos horas de agitación adicional, las sales de litio y aluminio insolubles se remueven mediante filtración, y la torta se lava con tetrahidrofurano (13 litros). El alcohol de trans-4-nicotina-metileno racémico se obtiene como una solución en tetrahidrofurano / tolueno (concentración en el intervalo del 4 por ciento en masa/masa).



Preparación de éster de metilen-mono-succinato de trans-4-nicotina racémico:

- 5 El alcohol de trans-4-nicotina-metileno racémico como una solución en tetrahidrofurano / tolueno (1.27 kilogramos, concentración en el intervalo del 4 por ciento en masa/masa) se calienta a 55°C (temperatura interna), y se repite la destilación, seguida por la adición de acetonitrilo (volumen total de 21.6 litros), para proporcionar el alcohol en acetonitrilo (recipiente Buechi vidriado de 50 litros). La solución del alcohol de trans-4-nicotina-metileno racémico (1.27 kilogramos, como una solución en acetonitrilo en el intervalo del 12 por ciento en masa/masa) entonces se calienta hasta 70°C (temperatura interna), a la cual se le agrega lentamente una solución de anhídrido succínico (VI) en acetonitrilo (668 gramos, 23 por ciento en masa/masa). La mezcla de reacción se deja agitándose a 70°C durante 8 horas hasta que se confirma suficiente conversión hasta el producto (II) mediante el Control En Proceso (conversión mediante HPLC). Se hace un cambio de solvente hasta 2-butanona, y el material crudo se pasa por cromatografía sobre sílice (15 kilogramos) (Aparato de placa de filtración, 20 litros), eluyendo el producto con una mezcla de 2-butanona/metanol (1:1, 192 kilogramos). En seguida del análisis para determinar la pureza (HPLC), se destilan entonces las fracciones seleccionadas, y el solvente se cambia de regreso hasta el 100 por ciento de 2-butanona.
- 10
- 15



Ejemplo 1 - Preparación de succinimidil-éster de éster de metilen-mono-succinato de trans-4-nicotina racémico

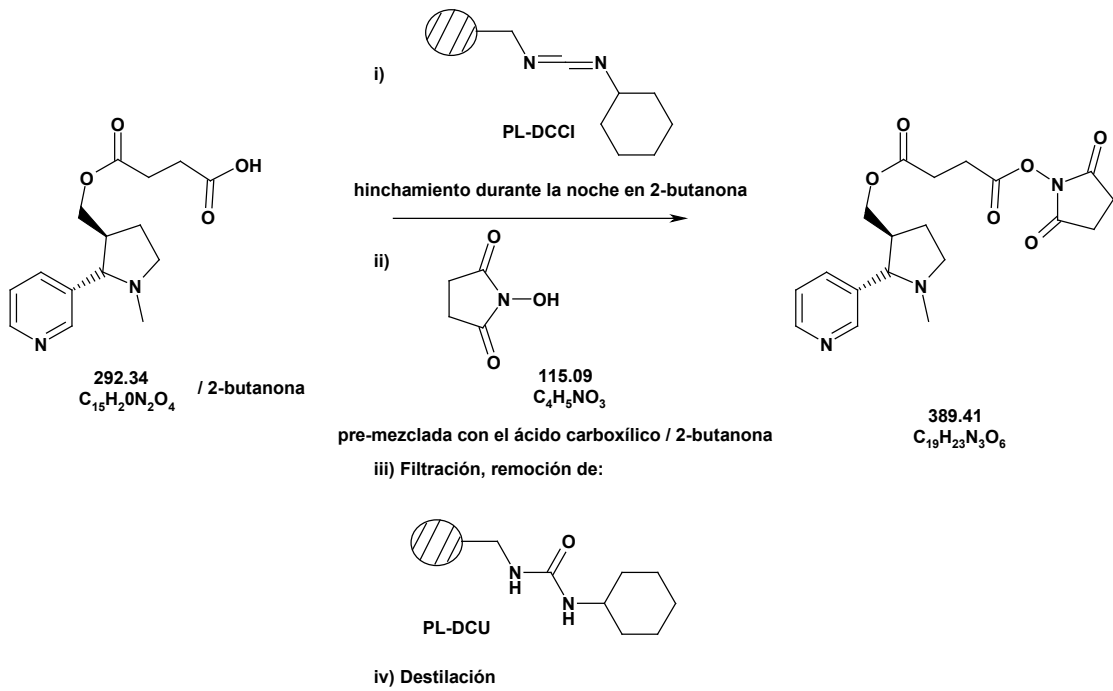
5 La resina polimérica de ciclohexil-carbodi-imida IV (resina de PL-DCC StratoSpheres^{MR} ex Varian Inc) se hincha previamente en 2-butanona (8.3 litros) durante la noche a temperatura ambiente con agitación lenta (recipiente Buechi vidriado de 100 litros).

10 El éster de metilen-mono-succinato de trans-4-nicotina (solución de 500 gramos en 2-butanona, concentración en el intervalo del 25 por ciento en masa/masa), y N-hidroxi-succinimida (206 gramos) se mezclan previamente con 2-butanona (3.5 litros), agitando durante 1 hora (recipiente Buechi vidriado de 50 litros). La mezcla se agrega lentamente al reactor que contiene la suspensión de PL-DCC hinchada, la cual se ha calentado previamente hasta 50°C (temperatura interna). La agitación lenta se continúa durante 2 horas.

15 En seguida del Control En Proceso con éxito (conversión mediante HPLC), la suspensión se filtra para remover el reactivo polimérico, y se lavan los sub-productos y la torta. Entonces se remueve completa o parcialmente la 2-butanona mediante destilación utilizando un evaporador giratorio. El succinimidil-éster de éster de metilen-mono-succinato de trans-4-nicotina racémico se forma como un aceite dorado cuando se seca completamente con una masa de 673 gramos.

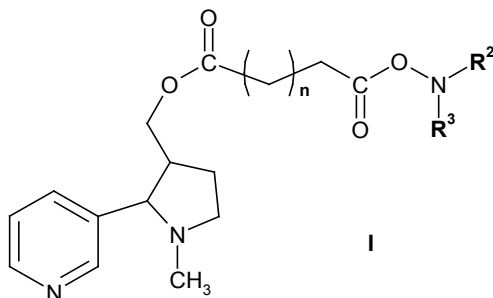
Se determina que el producto final tiene una pureza de >70 por ciento mediante el ensayo de HPLC (comparación de área con un análogo aminado), y de ≥90 por ciento mediante ¹H RMN.

El proceso se resume en el siguiente esquema:



REIVINDICACIONES

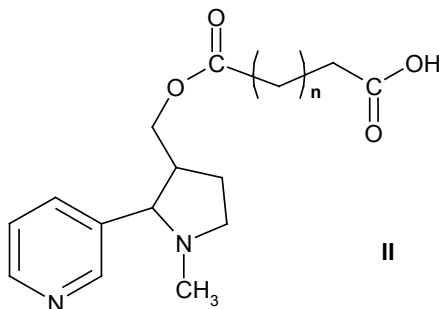
1. Un proceso para la preparación de un hapteno basado en nicotina de la fórmula I:



o una sal o solvato del mismo,

5 en donde n es un entero de 0 a 5, y R¹ y R² forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo, y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1, 2, 3 ó 4 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4
10 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, comprendiendo el proceso los pasos de:

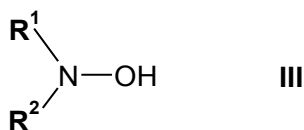
(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II:



o una sal o solvato del mismo,

en donde n es un entero de 0 a 5,

15 con un compuesto de la fórmula III:



o una sal del mismo,

20 en donde R¹ y R² forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo, y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1, 2, 3 ó 4 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono,

y un agente de acoplamiento soportado por polímero; y

25 (b) filtrar el producto del paso (a), para dar un compuesto de la fórmula I en forma libre, de sal, o de solvato, en donde n es un entero de 0 a 5, y R¹ y R² forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 10 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene de 1 a 4 átomos de nitrógeno del anillo, y que contiene opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y

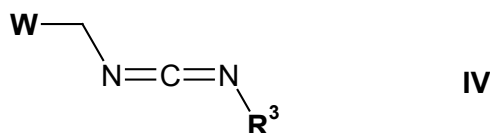
azufre, estando el grupo heterocíclico opcionalmente sustituido en las posiciones 1, 2, 3 ó 4 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono.

2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde n del compuesto de la fórmula II es 1.

5 3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, en donde R¹ y R² del compuesto de la fórmula III, forman juntos un grupo heterocíclico de 5 a 6 miembros enlazado por nitrógeno (N) que contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno del anillo, y que contiene opcionalmente 1 ó 2 heteroátomos diferentes seleccionados a partir del grupo que consiste en oxígeno y azufre, estando el grupo heterocíclico
10 opcionalmente sustituido en las posiciones 1 ó 2 por halógeno, ciano, hidroxilo, oxo, amino, amino-carbonilo, nitro, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono.

4. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde R¹ y R² del compuesto de la fórmula III, forman juntos un grupo pirrolidina sustituido en las posiciones 2 y 5 por oxo.

15 5. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el agente de acoplamiento soportado por polímero es un compuesto de la fórmula IV.



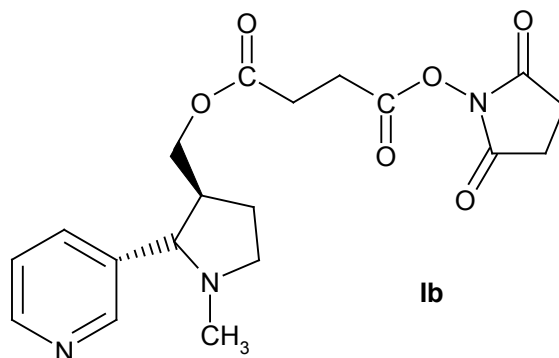
en donde W denota un sustrato en fase sólida químicamente enlazado al grupo metileno indicado, y R³ es alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono.

20 6. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde R³ del compuesto de la fórmula IV es etilo, isopropilo o ciclohexilo.

7. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el paso (a) se lleva a cabo a una temperatura de 40°C a 60°C.

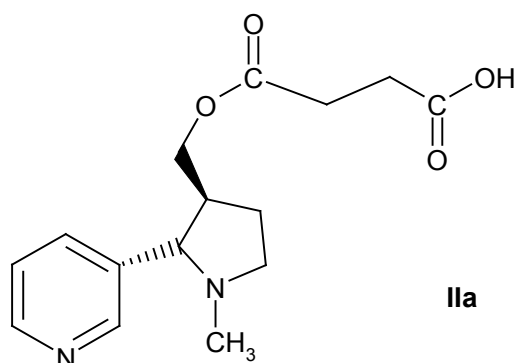
25 8. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el paso (a) se lleva a cabo en 2-butanona como solvente.

9. Un proceso para la preparación de un hapteno basado en nicotina de la fórmula I como se define en la reivindicación 1, que también es un compuesto de la fórmula Ib:

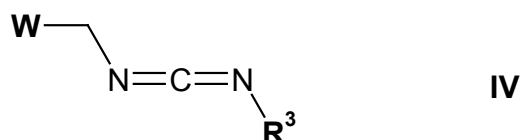


o una sal o solvato del mismo, comprendiendo el proceso los pasos de:

30 (a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula IIa:



o una sal o solvato del mismo, con N-hidroxi-succinimida o una sal de la misma,
y un agente de acoplamiento soportado por polímero de la fórmula IV:



- 5 en donde W denota un sustrato en fase sólida químicamente enlazado al grupo metileno indicado, y R³ es alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono; y
- (b) filtrar el producto del paso (a), para dar un compuesto de la fórmula Ib en forma libre, de sal, o de solvato.
10. Un método para la preparación de un hapteno basado en un conjugado de nicotina-vehículo, comprendiendo el método acoplar covalentemente un hapteno basado en nicotina de la fórmula I que se puede obtener mediante el proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, a una o más proteínas de recubrimiento de una partícula tipo virus (VLP).
11. Un método de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la partícula tipo virus (VLP) comprende proteínas de recubrimiento de un fago de ARN.