

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 407 135**

51 Int. Cl.:

C07D 207/12 (2006.01)

C07D 211/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.1997 E 03005232 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2013 EP 1371645**

54 Título: **Uso de (3S,2'R)-glicopirronio como medicamento**

30 Prioridad:

11.11.1996 AT 197396

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

11.06.2013

73 Titular/es:

**MEDA PHARMA GMBH & CO. KG (100.0%)
BENZSTRASSE 1
61352 BAD HOMBURG, DE**

72 Inventor/es:

**NOE, CHRISTIAN R.;
MUTSCHLER, ERNST;
LAMBRECHT, GÜNTER;
ELGERT, MICHAEL;
CZECHÉ, SITTAH y
WELBROECK, MAGALI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 407 135 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).

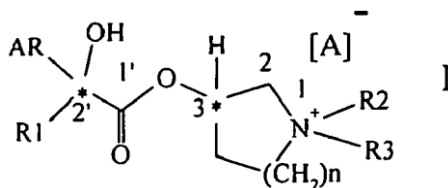
DESCRIPCIÓN

Uso de (3S,2'R)-glicopirronio como medicamento

La presente invención se refiere al uso de sales farmacéuticamente aceptables de (3S,2'R)-glicopirronio como medicamento.

5 Se denomina sal farmacéuticamente aceptable a la sal de un ácido farmacológicamente inocuo.

Se han descrito en algunos casos como antiespasmódicos ésteres de aril-cicloalquil-hidroxiácidos con alcoholes cíclicos, en los que está presente un nitrógeno cuaternario y que se describen con la fórmula general I



10 compuestos por un ácido hidroxicarboxílico en donde AR significa un anillo aromático y en donde R₁ significa un anillo cicloalifático, y compuestos por un componente de alcohol, en donde el grupo hidroxilo se encuentra en un anillo de dimetilpirrolidinio (n = 1) o dimetilpiperidinio (n = 2), en donde R₂ = R₃ significa un alquilo inferior, y en donde A significa un halogenuro. Si los dos radicales R₂ y R₃ son idénticos, los compuestos de la fórmula general I presentan dos centros de quiralidad. Uno de los centros está adscrito a la parte de ácido, y consiste en la posición marcada con 2', mientras que el segundo centro de quiralidad se encuentra en el sistema anular cíclico en la posición marcada con 3. Puesto que los compuestos con esta estructura tienen por lo tanto dos centros de quiralidad, son concebibles en principio cuatro estereoisómeros (3R,2'R; 3S,2'R; 3R,2'S y 3S,2'S). Hasta la fecha no han sido aislados ni preparados por síntesis estereoisómeros puros de la fórmula general I, ni - lo que sirve de base al objeto de la presente invención - se han investigado farmacológicamente. El representante más importante de la fórmula general I, también utilizado terapéuticamente, es el bromuro de glicopirronio (AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = Br). Con la denominación común internacional bromuro de glicopirronio se describe la mezcla racémica de diastereoisómeros en la que están contenidos los cuatro estereoisómeros.

15 Los artículos y patentes publicados hasta la fecha se refieren, o bien a la sustancia activa bromuro de glicopirronio que se presenta como mezcla de estereoisómeros (CAS 596-51-0), con racematos del aminoéster terciario (CRN 131118-11-1) con la configuración eritro (RN 59677-73-5) y treo (RN 59677-70-2), que sólo pueden ser considerados como precursores en la síntesis de los compuestos de la fórmula I, o bien a la mezcla de estereoisómeros del derivado de ciclohexilo análogo (R₁ = ciclohexilo) de la fórmula general I (con n = 1) (RN 101564-29-8). En los artículos de J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 1973, (14), 1875-9, y J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 1973, (14), 1963-6 se describen resultados del análisis de la estructura cristalina de los compuestos, presentes como mezcla de estereoisómeros, bromuro de glicopirronio y bromuro de hexapirronio. Los artículos de Oyo Yakuri, 1973, 7 (6), 881-7; Oyo Yakuri, 1973, 7 (6), 889-901, y Acta Anaesthesiol. Scand., 1978, 22 (4) 447-57, describen resultados de investigaciones farmacológicas con la mezcla de estereoisómeros del compuesto bromuro de glicopirronio o bien con los preparados combinados de esta sustancia con neostigmina y piridostigmina. Los artículos de Finn. Chem. Lett., 1975, (3-4), 94-6 y FI 49713 describen la separación parcial de la mezcla de estereoisómeros por medio de una cristalización con ácido 5-nitrosoftálico y el análisis por NMR de los racematos con configuración treo o con configuración eritro, antes mencionados. En este caso los autores, partiendo de la mezcla de estereoisómeros (CRN 131118-11-1), sólo han llegado a la separación de los diastereómeros en los dos racematos, pero no a la preparación de los compuestos enantioméricamente puros. Los artículos de Fresenius Z. Anal. Chem., 1981, 308 (5), 413-27; Science, 1986, 1132-1135; J. Liq Chromatogr., 1990, vol. 13, nº 4, págs. 779-787; Acta Anaesthesiol. Scand., 1978, 22 (4), 447-57, y la patente europea EP 128886 A2 describen resultados de estudios sobre el análisis cromatográfico de la mezcla de estereoisómeros del compuesto bromuro de glicopirronio o la preparación de las fases estacionarias utilizadas. En ninguna de las publicaciones indicadas se informa de una separación de enantiómeros o aislamiento de los estereoisómeros individuales de la fórmula general I. En todos los casos expuestos se llegó sólo a una separación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en la etapa de los diastereómeros. H. Fuder, M. Meincke, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1993, 347 (6), 591-5, describen el bloqueo de receptores muscarínicos por el bromuro de glicopirronio en experimentos con preparados de órganos. En todos los ensayos descritos, el bromuro de glicopirronio utilizado fue una mezcla de distintos estereoisómeros; no estaban disponibles compuestos enantioméricamente puros individuales. La preparación del compuesto enantioméricamente puro de acuerdo con esta invención no es aún conocida en el estado de la técnica.

50 La acción farmacológica de los fármacos de fórmula general I se basa en su interacción con receptores muscarínicos de acetilcolina (receptores muscarínicos). Se consideran, por tanto, antagonistas de colinoceptor-m, o bien parasimpatorlíticos o - por su efecto relajante sobre la musculatura lisa - antiespasmódicos neurotróficos. Sus múltiples efectos incluyen los parasimpatorlíticos: aceleración de la frecuencia cardíaca, reducción de la secreción de lágrimas, saliva y sudor, así como de las glándulas del tracto digestivo, relajación de la musculatura lisa de los

bronquios, del tracto gastrointestinal, tracto biliar, útero y vejiga urinaria, dilatación de las pupilas y trastornos de la acomodación. Los antiespasmódicos cuaternarios, entre los que se cuentan los compuestos de acuerdo con la fórmula general I, no atraviesan la barrera hematoencefálica y por tanto no son activos sobre el sistema nervioso central. Dependiendo del uso, los efectos deseados e indeseados de los parasimpatolíticos son diferentes. Si se utilizan estas sustancias como antiespasmódicos, por ejemplo la secreción salivar reducida o la dilatación de la pupila son consideradas efectos secundarios.

Gracias a las investigaciones de los últimos años, se sabe que los receptores muscarínicos no tienen una estructura unitaria, sino que los efectos farmacológicos han de atribuirse a la interacción con al menos cuatro subtipos diferentes de receptores muscarínicos. Por una parte, éstos presentan una distinta distribución en diferentes órganos y, por otra parte, en muchas cascadas de señalización neuronales están implicados diferentes subtipos de receptores muscarínicos con diferentes funciones. Diferentes efectos o efectos secundarios pueden atribuirse a interacciones con los distintos subtipos de receptores, por lo que constituye un objetivo del desarrollo de fármacos antiespasmódicos modernos una especificidad de subtipo elevada. El bromuro de glicopirronio es una sustancia activa conocida desde hace tiempo, que no cumple con los requisitos de un agente terapéutico "moderno" de este tipo. No obstante, el bromuro de glicopirronio no es sólo un racemato, sino también una mezcla de diastereómeros, en la cual las proporciones de los isómeros individuales dentro del producto pueden incluso variar, dependiendo del procedimiento de obtención. Por lo tanto, en el caso de tales mezclas de sustancias activas isómeras se puede llegar a perfiles de subtipo fortuitos, con lo que se dificulta el empleo específico, y se provoca la aparición de efectos secundarios inesperados.

Cuando se separa en sus enantiómeros el racemato de un fármaco, a menudo el efecto farmacológico recae sólo en uno de los enantiómeros. A partir del Ejemplo 4, especialmente a partir de la gráfica de trazado logarítmico de la Figura 1, se puede observar que en el caso del glicopirronio todos los isómeros, en principio, pueden presentar afinidad hacia receptores. Sin embargo, los enantiómeros individuales muestran una clara diferencia en sus afinidades, y por otro lado también se producen manifiestas desviaciones en la especificidad hacia los subtipos M_1 - M_4 , pudiendo ascender la diferencia en las afinidades a un factor de aproximadamente 1000, como máximo. Precisamente la elevada afinidad hacia el subtipo M_3 de receptor junto con una afinidad relativamente baja hacia el subtipo M_2 de receptor hace a los enantiómeros con afinidad preferida mayor (por ejemplo 1b y 1c en el Ejemplo 4) sustancias activas particularmente adecuados para la terapia de espasmos de la musculatura lisa del tracto gastrointestinal y el tracto urogenital, así como para el tratamiento de las enfermedades obstructivas del aparato respiratorio. Gracias a un perfil de subtipos particularmente favorable y la posibilidad de muy baja dosificación originada por su elevada afinidad, aportan un éxito terapéutico más eficaz con una reducción significativa del potencial de efectos secundarios.

Otro factor muy importante en el uso terapéutico de los enantiómeros de la fórmula general I consiste en la selectividad cinética de subtipos. Como se puede deducir del Ejemplo 5 o de la Figura 2, los períodos de semivida de disociación de los enantiómeros individuales 1a - 1d de los compuestos de fórmula general I ($AR = \text{fenilo}$, $R_1 = \text{ciclopentilo}$, $R_2 = R_3 = \text{metilo}$, $n = 1$, $A = I$), se sitúan en el caso del subtipo M_3 de receptor entre 1 minuto y 120 minutos, mientras que los períodos de semivida de disociación en el caso de los subtipos M_1 , M_2 y M_4 se sitúan en el intervalo de unos pocos minutos. Precisamente los compuestos con un período de semivida de disociación particularmente largo permiten, por su fuerte unión, una dosis particularmente baja y a la vez un efecto terapéutico sostenido durante largo tiempo. La capacidad de influir deliberadamente en la duración del efecto farmacológico, mediante la oportuna elección de un enantiómero que tenga un determinado período de semivida de disociación, representa un importante avance adicional de los compuestos en cuestión en comparación con el estado de la técnica. Las características descritas no eran predecibles, y no existían indicios en la bibliografía.

En resumen, se puede afirmar que los ésteres enantioméricamente puros de la fórmula general I se distinguen por su selectividad farmacodinámica con respecto al estado de la técnica. En la configuración que se reivindica preferiblemente, muestran una afinidad significativamente mayor hacia receptores muscarínicos M_3 que hacia receptores muscarínicos M_2 , y muestran además una selectividad cinética hacia receptores M_3 , es decir, se difunden sólo de manera lenta desde este tipo de receptor. Debido a estas propiedades, son muy adecuados para la terapia de espasmos de la musculatura lisa del tracto gastrointestinal y del tracto urogenital y para el tratamiento de enfermedades obstructivas del aparato respiratorio, tales como el asma bronquial y bronquitis crónica. En comparación con los parasimpatolíticos no selectivos que se han aplicado hasta la fecha, presentan claras diferencias en las propiedades farmacológicas, debido a su selectividad de subtipos definida. Comparados con mezclas de estereoisómeros o racematos conocidos, los compuestos se pueden usar además en dosis particularmente bajas (¡evitando el lastre enantiomérico!). Por estas razones, es de esperar con seguridad un grado mucho menor de efectos secundarios.

En consecuencia, es objeto de la invención el uso de una sal farmacéuticamente aceptable de [(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio enantioméricamente puro para preparar un medicamento para la terapia de espasmos de la musculatura lisa del tracto gastrointestinal y para el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias (asma, bronquitis crónica).

Se describe de manera especialmente preferida el uso de (3S,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio con elevada **selectividad de subtipo M3** (pK_i mayor que 10) y gran período de semivida de disociación

del receptor M3 en fármacos para el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, preferiblemente el asma bronquial y la bronquitis crónica.

La invención descrita se ilustrará ahora por medio de los siguientes ejemplos. Otras realizaciones de distinto tipo serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la presente descripción. Sin embargo, se hace notar expresamente a este respecto que los Ejemplos y la Descripción tienen una finalidad exclusivamente ilustrativa, y no han de ser tomados como limitaciones de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 (Ejemplo de referencia):

Preparación de yoduro de (3S,2'S)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio, la (fórmula general I, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I)

En un aparato de reacción seco se disponen 20 mmol de (3S)-1-metil-3-pirrolidino y 24 mmol de éster metílico de ácido 2-ciclopentil-2-hidroxi-fenilacético en 500 ml de n-heptano absoluto. A continuación, para eliminar cualquier traza de humedad, se destilan, haciéndolos pasar por el decantador de agua, 200 ml de heptano. Después de enfriar se añaden 2 mmol (10% en moles) de NaH o NaOMe y de nuevo se calienta a ebullición. Se selecciona la temperatura de modo que el n-heptano destila lentamente. La cantidad que se elimina es repuesta continuamente desde un embudo de adición, durante aproximadamente 5-6 horas, hasta que el hidroxiéster ha reaccionado por completo. Tras el tratamiento acuoso de la mezcla de reacción y la extracción con éter, el producto en bruto se seca sobre Na₂SO₄ / K₂CO₃ 2:1. Después de filtrar con succión el agente de secado se pre-enfría en un baño de hielo y, enfriando con baño de hielo, se añade HCl en éter / 2-butanona hasta saturación. De este modo el producto se separa inicialmente como un aceite. Mediante la adición de 2-butanona o por destilación de éter se obtiene una disolución transparente de la que cristaliza, al enfriar con hielo, el hidrocloreto de la mezcla de diastereómeros (3S,2'R/S)-3-(2-ciclopentilhidroxifenilacetoxi)-1-metil-pirrolidina (fórmula general IV, Ar = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = metilo, n = 1). Rendimiento 15,7 mmol. P. fus. 176°C.

Preparación de los hidrogenotarratos: separación de diastereómeros por cristalización fraccionada:

Para preparar los hidrogenotarratos se transfieren 15 mmol del hidrocloreto antes descrito con tampón NaHCO₃ / K₂CO₃ de pH 10 a un embudo de separación y se extrae la fase acuosa tres veces con 150 ml de éter dietílico cada vez. Las fases etéreas reunidas se mezclan con 100 ml de acetato de etilo y se secan sobre Na₂SO₄ / K₂CO₃ 2:1. Después de filtrar con succión el agente desecante, se reduce el volumen en un evaporador rotatorio hasta aproximadamente 100 ml. Se calienta la disolución hasta aproximadamente 60°C y se trata con una disolución de 1,2 equivalentes (18 mmol) de ácido tartárico enantioméricamente puro en acetato de etilo. El hidrogenotarrato cristaliza durante una noche en un frigorífico. Por recristalización repetida se pueden separar los diastereoisómeros hasta en un exceso diastereomérico (de) de 99%. Rendimiento 8,3 mmol. D-(-)-hidrogenotarrato de (3S,2'S)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1-metil-pirrolidina, fórmula IV (AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = metilo, n = 1): P. fus. 178-179°C. Espectro de ¹H-NMR (300 MHz, CD₄O): δ (ppm) 1,3-1,7 (m, 8H, CH₂ de ciclopentilo), 2,05-2,1 (M, 1H, C4), 2,39-2,46 (m, 1H, C4), 2,77 (S, 3H, N-metilo), 2,97-3,0 (m, 1H, C1 de ciclopentilo), 3,18-3,25 (dd, 1H, C2, ²J = 12,8 Hz, ³J = 0-1 Hz), 3,31-3,5 (m, 2H, C5), 3,6-3,7 (dd, 1H, 3J = 5,2 Hz, 2J = 13 Hz, C2), 4,42 (S, 2H, tartrato), 5,34-5,39 (m, 1H, C3), 7,2-7,8 (m, 5H). Asignación basada en H,H-COSY-NMR.

Cuaternización:

Después de liberar las bases por extracción con éter frente a tampón de bicarbonato de pH 10 y secar sobre Na₂SO₄ / K₂CO₃ 2:1 se cuaterniza mediante la adición de 3 equivalentes (20 mmol) de yoduro de metilo y se filtra con succión el producto cristalino resultante yoduro de (3S,2'S)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio 1a (fórmula general I, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I). (La determinación del exceso diastereomérico se puede llevar a cabo mediante métodos de HPLC sobre β-ciclodextrina y fases "Whelck" o por análisis de los espectros de NMR de los hidrogenotarratos antes descritos.)

Yoduro de (3S,2'S)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio (1a) de la fórmula general I (AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I). P.fus. 165°C. ¹H-NMR (300 MHz, CD₄O): δ (ppm) 1,15-1,4 (M, 2H), 1,5-1,7 (M, 6H), metileno de ciclopentilo), 2,2 (M, 1H, C4), 2,63 (M, 1H, C4), 2,9 (S, 3H, N-metilo), 2,93-2,99 (M, 1H, metino de ciclopentilo), 3,1 (S, 3H, N-metilo), 3,43-3,47 (dd, 1H, C2, ²J = 14 Hz, ³J = 0 Hz), 3,5-3,7 (M, 2H, C5), 3,75 (dd, 1H, C2, ²J = 13,7 Hz, ³J = 6,05 Hz), 5,38 (M, 1H, C3), 7,15-7,4 (m, 3H), 7,5-7,65 (m, 2H), ¹³C-NMR (52 MHz CD₄O): δ (ppm) 24,4-25,4 (4t, metileno de ciclopentilo), 28,5 (t, C4), 47,4 (t, metino de ciclopentilo), 51,3 (q, N-metilo), 51,8 (q, N-metilo), 63,6 (t, C5), 68,9 (t, C2), 72,0 (d, C3), 78,4 (s, C2 de hidroxiéster), 124,5 (d), 126,1 (d), 126,7 (d), 140,5 (s) 172,4 (s).

La determinación de la pureza diastereomérica (de) se realizó mediante comparación de las integrales de los protones N-metílicos de los hidrogenotarratos diastereoméricos en los espectros de ¹H-NMR (300 MHz, CD₄O), o bien por análisis de HPLC sobre fases de β-ciclodextrina (Ciclobond β-CD-OH, 50*0,4 cm, tampón: 85% de H₂O, 15% de CH₃CN, 0,2% de CH₃COOH v/v, 0,35 ml/ minuto, isocrático, detección UV: 236 nm).

Ejemplo 2:

Preparación de yoduro de (3S,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio 1b (fórmula general 1, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = 1)

- 5 A partir de las aguas madres de la separación de diastereómeros descrita en el Ejemplo 1, se hace cristalizar mediante la adición de éter el (D)-(-)-hidrogenotartrato del compuesto con la configuración (3S,2'R). La recristalización repetida conduce a un de superior a 98%.

10 (D)-(-)-hidrogenotartrato de (3S,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1-metil-pirrolidina (fórmula general IV, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = metilo, n = 1): P. fus. 158-160°C. ¹H-NMR (300 MHz, CD₄O): δ (ppm) 1,3-1,7 (M, 8H, CH₂ de ciclopentilo), 2,0-2,1 (M, 1H, C4), 2,39-2,46 (m, 1H, C4), 2,81 (S, 3H, N-metilo), 2,93-3,05 (m, 1H, C1 de ciclopentilo), 3,24-3,4 (m, 3H, C2, C5), 3,63-3,7 (dd, 1H, ³J = 5,2 Hz, ²J = 13 Hz, C2), 4,42 (S, 2H, tartrato), 5,38 (m, 1H, C3), 7,2-7,7 (m, 5H). Asignación en base a H,H-COSY-NMR.

15 La cuaternización se realizó asimismo tal como se ha descrito antes, y proporcionó el producto resultante cristalino yoduro de (3S,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio 1b (fórmula general I, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I). P. fus. 108-109°C. ¹H-NMR (300 MHz, CD₄O): δ (ppm) 1,15-1,4 (M, 2H), 1,5-1,7 (M, 6H), metileno de ciclopentilo), 2,2 (M, 1H, C4), 2,65-2,85 (m, 1H, C4), 3,01 (m, 1H, metino de ciclopentilo), 3,06 (S, 3H, N-metilo), 3,1 (S, 3H, N-metilo), 3,55-3,8 (m, 3H, C2, C5), 4,07 (dd, 1H, C2, ²J = 13,8 Hz, ³J = 6,2 Hz), 5,48 (M, 1H, C3), 7,26-7,4 (M, 3H), 7,5-7,65 (m, 2H).

20 ¹³C-NMR (50 MHz, CD₄O) / DEPT y correlación CH): δ (ppm) 27,0 (t), 27,4 (t), 27,41 (t), 28,06 (t, metileno de ciclopentilo), 31,26 (t, C4), 46,6 (t, metino de ciclopentilo), 53,8 (q, N-metilo), 54,3 (q, N-metilo), 66,2 (t, C5), 71,5 (t, C2), 74,5 (d, C3), 81,2 (s, C2 de hidroxíéster), 127 (d), 128,8 (d), 129,35 (d), 143,2 (s) 175,0 (s).

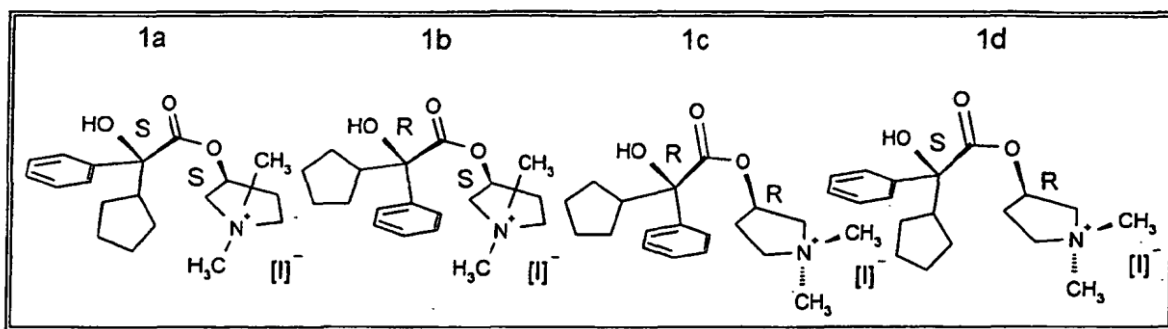
La determinación de la pureza diastereomérica se realizó como se describe en el Ejemplo 1.

Ejemplo 3 (Ejemplo de referencia):

Preparación de yoduro de (3R,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio 1c (Fórmula general I, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I)

- 25 La preparación se realizó como se describe en el Ejemplo 1, partiendo de (3R)-1-metil-3-pirrolidinol, utilizando ácido L-(+)-tartárico para la separación de los diastereómeros. El proceso descrito en el Ejemplo 1 proporcionó yoduro de (3R,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio 1c (fórmula general I, AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = I). Los datos analíticos de NMR de ¹H y de ¹³C son consistentes con los del compuesto con la configuración (3S,2'S) expuesto en el Ejemplo 1. P. fus. 165-166°C.

- 30 La determinación de la pureza diastereomérica se realizó como se describe en el Ejemplo 1.



Fórmulas de los enantiómeros 1a - 1d

Ejemplo 4:

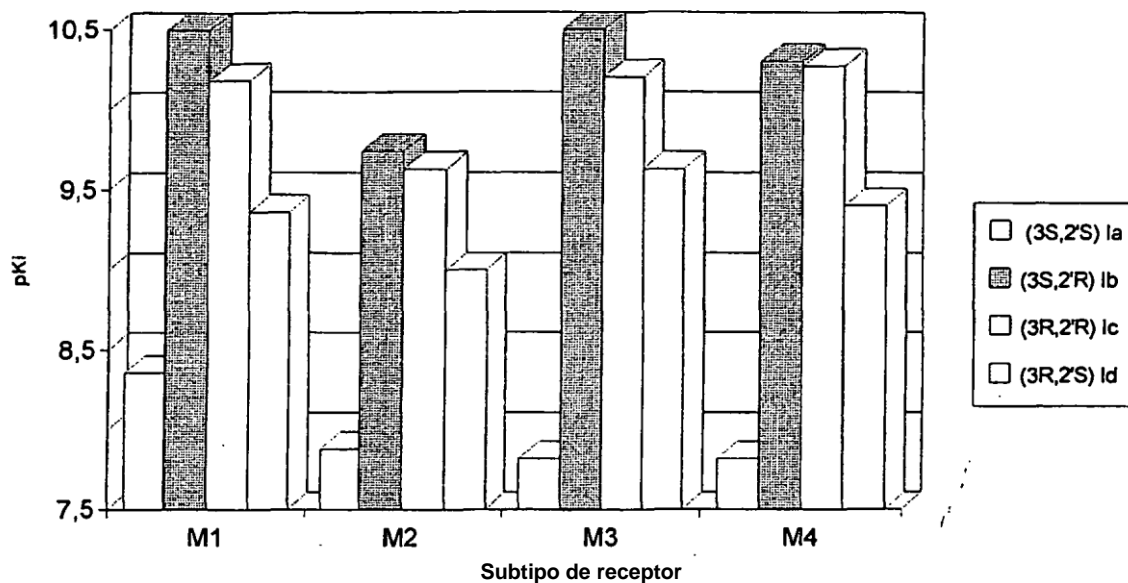
Datos farmacológicos de los compuestos de la fórmula estructural general I con AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, n = 1, R₂ = R₃ = metilo, A = yoduro

Tabla 1

Datos farmacológicos de afinidad de los compuestos la-d							
Configuración absoluta del compuesto ^{§1}	pA ₂	pK _i	pA ₂ ^a	pK _i ^c	pEC ₅₀ ^a	PK _i ^b	pK _i ^b
	RVD (M1)	M1	GPA (M2)	M2	(GPI (M3)	(M3)	(M4)
(3S,2'S) la	8,22	8,36	7,92	7,88	6,82	7,82	7,82
(3S,2'R) lb	10,40	10,48	9,39	9,74	9,39	10,50	10,30
(3R,2'R) lc	10,30	10,18	9,43	9,63	8,76	10,2	10,27
(3R,2'S) ld	9,53	9,36	8,69	9,00	8,57	9,63	9,40

a valores de pA₂ y pEC₅₀ obtenidos en experimentos funcionales en el conducto deferente de conejos, aurícula de cobaya e íleon de cobaya
b valores de pK_i obtenidos de estudios de unión de [³H]-NMS a receptores humanos M₁, M₃ y M₄ de células CHO-K1
c valores de pK_i obtenidos de estudios de unión de [³H]-NMS a receptores M₂ de preparaciones de corazón de rata
d pA₂ = 7,61

5



Valores de pK_i obtenidos de estudios de unión de [³H]-NMS. Los compuestos la-d son como en la Tabla 1

10

Ejemplo 5

Datos cinéticos para el subtipo M3 de receptor de los compuestos de la fórmula estructural general I con AR = fenilo, R₁ = ciclopentilo, R₂ = R₃ = metilo, n = 1, A = yoduro

Tabla 2

Constantes de asociación y de disociación, períodos de semivida de disociación para el subtipo M3 de receptor			
ME-X del compuesto ¹	k on ^e	k off ^f	t _{1/2} [min] ^g
(3S,2'S) Ia	0,052	0,800	1
(3S,2'R) Ib	0,410	0,0100	70
(3R,2'R) Ic	0,160	0,0060	120
(3R,2'S) * Id	0,028	0,0080	90

e constante de asociación, nmol/minuto
d constante de disociación, nmol/minuto
g período de semivida de disociación, en minutos
 Datos cinéticos obtenidos de estudios de unión de NMS a subtipos M3 de receptor, de líneas celulares CHO-K1

1 La asignación de la configuración absoluta en la posición 2 de los hidroxiácidos se realizó mediante comparación de los espectros CD con los ácidos ciclohexil-mandélicos correspondientes. La asignación de la configuración absoluta de los ácidos 2-ciclohexil-2-hidroxi-fenilacéticos se realizó por medio de los valores de rotación según T.D. Inch *et al.*, J. Chem. Soc. 1968, páginas 1693-1699.
 * Estudios analíticos revelaron posteriormente que el enantiómero (3R,2'S) utilizado en ese momento estaba contaminado con una fracción de aproximadamente 20% del enantiómero de gran actividad (3R,2'R). Probablemente, el período de semivida para el enantiómero (3R,2'S) puro es de sólo 1-5 minutos, aproximadamente.

5

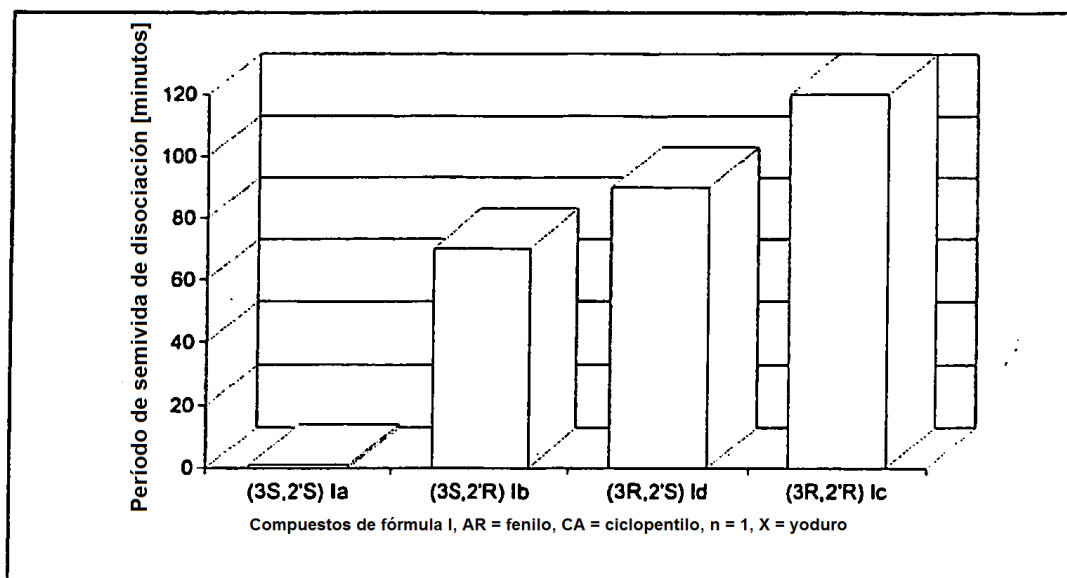


Figura 2

Períodos de semivida de disociación en el subtipo M3 de receptor, obtenidos en estudios de unión de [3H]-NMS. Los compuestos Ia-Id son como en la Tabla

10

Ejemplo 6 (Ejemplo de referencia):

Bromuro de (3*R*,2'*R*)-3-[(2'-ciclopentil-2'-hidroxi-2'-fenilacetil)oxi]-1,1-dimetilpirrolidinio (fórmula general I, AR = fenilo, R1 = ciclopentilo, R2 = R3 = metilo, n = 1, A⁻ = Br⁻)

5 En un aparato de reacción seco se dispusieron 5 mmol de (3*R*)-1-metil-3-pirrolidinol y 5 mmol de éster metílico de ácido (2*R*)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacético en 150 ml de n-heptano absoluto. A continuación, para eliminar cualquier traza de humedad, se eliminaron por destilación, y se hicieron pasar por un decantador de agua, 100 ml de heptano. Después de enfriar, se añadieron 0,5 mmoles de NaOMe (10% en moles) y se calentó de nuevo a ebullición. La cantidad que se elimina es repuesta continuamente desde un embudo de adición, durante
10 aproximadamente 5-6 horas. Después del tratamiento acuoso de la mezcla de reacción y la extracción con éter, se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ / K₂CO₃ 2:1. La eliminación del agente desecante y del disolvente proporciona la base libre.

15 ¹H-NMR (benceno-d₆) (300 MHz): δ = 7,94 (d, ³J = 7,33 Hz, 2H, fenilo, 2" y 6"-CH); 7,36-7,15 (m, 3H, fenilo, 3", 5" y 4"-CH, benceno [7,25]); 5,15-5,08 (m, 1H, 3-CH); 4,24 (s, 1H, -OH); 3,16-3,03 (m, 1H, metino de ciclopentilo); 2,62-2,47 (m, 2H, 2-CHH y 5-CHH); 2,24 (dd, ²J = 10,87 Hz, ³J = 5,9 Hz, 1H, 2-CHH (3'*R*,2*R*)); 2,09 (s, 3H, NCH₃, (3'*R*,2*R*)); 2,04-1,91 (m, 2H, 5-CHH 4-CHH); 1,89-1,52 (m, 6H, 4-CHH, metileno de ciclopentilo); 1,51-1,35 (m, 3H, metileno de ciclopentilo). ¹³C-NMR (benceno-d₆) (50 MHz): δ = 175,6 (s, 1-COO); 142,8 (s, 1"-C de fenilo); 128,3 (d, fenilo, 3" y 5"-C); 127,6 (d, fenilo, 4"-C); 126,4 (d, 2" y 6"-C de fenilo); 79,6 (s, 2-C); 76,9 (d, 3'-C); 61,6 (t, 2'-C); 54,8 (t, 5'-C); 47,8 (d, metino de ciclopentilo); 41,6 (q, NCH₃); 32,8 (t, 4'-C); 27,3/26,9/26,8/26,5 (t, metileno de ciclopentilo).

20 Cuaternización:

La base libre se cuaterniza mediante la adición de 3 equivalentes de bromuro de metilo, en solución en terc.-butilmetil éter, y se filtra con succión el producto cristalino resultante.

Los datos analíticos de [¹H]- y [¹³C]-NMR de la sal cuaternaria concuerdan con los del compuesto 1a de configuración (3*S*,2'*S*) indicados en el Ejemplo 1

25 La determinación de la configuración absoluta se realizó mediante análisis estructural por rayos X.

Ejemplo 7:

Bromuro de (3*S*,2'*R*)-3-[(2'-ciclopentil-2'-hidroxi-2'-fenilacetil)oxi]-1,1-dimetilpirrolidinio (fórmula general I, AR = fenilo, R1 = ciclopentilo, R2 = R3 = metilo, n = 1, A⁻ = Br⁻)

30 La preparación se lleva a cabo de acuerdo con la metodología general indicada en el Ejemplo 6 a partir de (3*S*)-metilpirrolidinol y éster metílico de ácido (2*R*)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacético. Datos de NMR de la base libre:

35 ¹H-NMR (benceno-d₆) (300 MHz): δ = 7,94 (d, ³J = 7,33 Hz, 2H, 2" y 6"-CH de fenilo); 7,36-7,15 (m, 3H, 3", 5" y 4"-CH de fenilo, benceno [7,25]); 5,15-5,08 (m, 1H, 3-CH); 4,24 (s, 1H, -OH); 3,16-3,03 (m, 1H, metino de ciclopentilo); 2,62-2,47 (m, 2H, 2-CHH y 5-CHH); 2,40 (dd, ²J = 10,83 Hz, ³J = 5,85 Hz, 2-CHH); 2,13 (s, NCH₃); 2,04-1,91 (m, 2H, 5-CHH 4-CHH); 1,89-1,52 (m, 6H, 4-CHH, metileno de ciclopentilo); 1,51-1,35 (m, 3H, metileno de ciclopentilo)

Los datos analíticos de [¹H]- y [¹³C]-NMR de la sal cuaternaria concuerdan con los del compuesto 1b de configuración (3*S*,2'*R*) indicados en el Ejemplo 2.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una sal farmacéuticamente aceptable de (3S,2'R)-3-[(ciclopentilhidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetil-pirrolidinio para preparar un medicamento para el tratamiento de espasmos de la musculatura lisa del tracto gastrointestinal y para el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias.