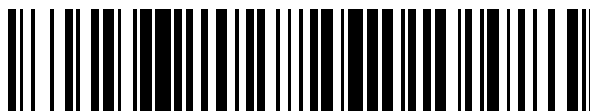


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 139**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4545** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**C07D 453/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2008** **E 11194142 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016** **EP 2431037**

54 Título: **(2S,3R)-N-(2-((3-Piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, nuevas formas de sales, y métodos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

**02.08.2007 US 953610 P**

**02.08.2007 US 953613 P**

**02.08.2007 US 953614 P**

**12.09.2007 US 971654 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**05.05.2017**

73 Titular/es:

**ATTENUA, INC. (100.0%)**  
**250 West 50th St., Suite 17H**  
**New York NY 10019, US**

72 Inventor/es:

**MAZUROV, ANATOLY A. y**  
**PHILLIPS, TERESA Y.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 611 139 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**

(2S,3R)-N-(2-((3-Piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, nuevas formas de sales, y métodos de uso de las mismas

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida en un exceso enantiomérico y diastereoisomérico del 90 % o mayor con respecto a los enantiómeros (2S,3S), (2R,3R) y (2R,3S) de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida y a nuevas formas de sales de los mismos. Estos compuestos se pueden utilizar en métodos para tratar una amplia variedad de afecciones y trastornos, incluyendo los asociados con disfunción de los sistemas nerviosos central y autónomo.

**Antecedentes de la invención**

15 Se ha demostrado que los receptores nicotínicos neuronales (los NNR) característicos del sistema nervioso central (SNC) se presentan en varios subtipos, los más comunes de los cuales son los subtipos  $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 7$ . Véase, por ejemplo, Schmitt, *Current Med. Chem.* 7:749 (2000). Los ligandos que interactúan con el subtipo NNR  $\alpha 7$  han sido propuestos como útiles en el tratamiento de una variedad de afecciones y trastornos. Véase Mazurov *et al.*, *Curr. Med. Chem.* 13: 1567-1584 (2006) y las referencias del mismo, con respecto a la comprensión de los antecedentes del subtipo de receptor nicotínico neuronal  $\alpha 7$ . Se destacan entre estas afecciones y trastornos el deterioro cognitivo, la esquizofrenia, la inflamación, la angiogénesis, el dolor neuropático, y la fibromialgia.

20 Hay una reducción del número de receptores nicotínicos neuronales del hipocampo en el tejido cerebral post-mortem de pacientes esquizofrénicos. También, hay un mejor efecto psicológico en los pacientes esquizofrénicos fumadores frente a los no fumadores. La nicotina mejora las deficiencias de filtrado sensorial en los animales y en los esquizofrénicos. El bloqueo del subtipo NNR  $\alpha 7$  induce una deficiencia de filtrado sensorial similar a la observada en la esquizofrenia. Véase, por ejemplo, Leonard *et al.*, *Schizophrenia Bulletin* 22 (3): 431 (1996). Estudios bioquímicos, moleculares y genéticos del procesamiento sensorial, en pacientes con deficiencia de filtrado sensorial del potencial evocado auditivo P50 dan a entender que el subtipo NNR  $\alpha 7$  puede funcionar en una ruta neuronal inhibitoria. Véase, por ejemplo, Freedman *et al.*, *Biological Psychiatry* 38 (1): 22 (1995).

25 Más recientemente, se ha sugerido que los NNR  $\alpha 7$  son mediadores de la angiogénesis, como se describe por Heeschen *et al.*, *J. Clin. Invest.* 100: 527 (2002), incorporado como referencia. En estos estudios, se demostró que la inhibición del subtipo  $\alpha 7$  disminuye la angiogénesis inflamatoria. También, los NNR  $\alpha 7$  han sido propuestos como objetivos para controlar la neurogénesis y el crecimiento tumoral (Utsugisawa *et al.*, *Molecular Brain Research* 106 (1-2): 88 (2002) y la solicitud de patente de Estados Unidos 2002/0016371. Por último, recientemente, ha sido reconocido el papel del subtipo  $\alpha 7$  en la cognición (Levin and Rezvani, *Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders* 1(4): 423 (2002)), en la neuroprotección (O'Neill *et al.*, *Current Drug Targets: CNS and Neurological Disorders* 1(4): 399 (2002) y Jeyarasasingam *et al.*, *Neuroscience* 109 (2):275 (2002)) y en el dolor neuropático (Xiao *et al.*, *Proc Nat Acad Sci (EE.UU.)* 99 (12): 8360 (2002)).

30 Se ha descrito que varios compuestos interactúan con los NNR  $\alpha 7$  y han sido propuestos como terapias en base a esto. Véase, por ejemplo, los documentos PCT WO 99/62505, PCT WO 99/03859, PCT WO 97/30998, PCT WO 01/36417, PCT WO 02/15662, PCT WO 02/16355, PCT WO 02/16356, PCT WO 02/16357, PCT WO 02/16358, PCT WO 02/17358, Stevens *et al.*, *Psychopharm.* 136: 320 (1998), Dolle *et al.*, *J. Labelled Comp. Radiopharm.* 44: 785 (2001) y Macor *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11: 319 (2001) y las referencias incluidas en los mismos, siendo dichas referencias incorporadas como referencia con respecto a la enseñanza de los antecedentes de los NNR  $\alpha 7$  y de las terapias propuestas. Entre estos compuestos, un tema estructural común es el de la amina bicíclica terciaria sustituida (por ejemplo, quinuclidina). También se ha publicado que compuestos similares de quinuclidina sustituida se unen a los receptores muscarínicos. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 5.712.270 de Sabb y los documentos PCTs, WO 02/00652 y WO 02/051841.

35 Una limitación de algunos compuestos nicotínicos es que se asocian con varios efectos secundarios indeseables, por ejemplo, por la estimulación de receptores musculares y ganglionares. Sigue existiendo la necesidad de compuestos, composiciones, y métodos para prevenir o tratar diversas afecciones o trastornos, tales como trastornos del SNC, incluyendo el alivio de los síntomas de estos trastornos, donde los compuestos exhiben farmacología nicotínica con un efecto beneficioso, especialmente sobre el funcionamiento del SNC, pero sin efectos secundarios significativos asociados. Hay una necesidad de compuestos, composiciones, y métodos que afecten a la función del SNC sin afectar significativamente a aquellos subtipos de receptores nicotínicos que tienen el potencial de inducir efectos secundarios indeseables, tales como una actividad apreciable en sitios cardiovasculares y de músculo esquelético. La presente invención proporciona tales compuestos, composiciones y métodos.

**Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, a (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, en forma sustancialmente pura, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, a (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, sustancialmente libre de los isómeros (2S,3S), (2R,3S) o (2R,3R), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida estereoisómicamente enriquecida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. El exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 90 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 95 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 98 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 99 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 99,5 % o mayor.

Otro aspecto de la presente invención es una sal de ácido de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, en donde el ácido se selecciona de ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido maleico, ácido p-toluenosulfónico, ácido galactárico (múico), ácido D-mandélico, ácido D-tartárico, ácido metanosulfónico, ácidos R- y S-10-canforsulfónicos, ácido cetoglutárico, o ácido hipúrico. En una realización, la estequiometría de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida frente al ácido es 2:1, 1:1, o 1:2. En una realización, la estequiometría es de 1:1. Se describe también hidrocloreto de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o uno de sus hidratos o solvatos, incluyendo los hidratos o solvatos parciales. Se describe también hidrocloreto de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o uno de sus hidratos o solvatos, incluyendo los hidratos o solvatos parciales.

Se describe también una síntesis escalable de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida y nuevos intermedios.

#### Breve descripción de las figuras

Las figuras 1A1-1A4 ilustran las respuestas de receptores  $\alpha 7$  de rata, expresados en células GH4C1 de mamífero, frente a la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida; al racemato, especialmente una mezcla de (2S,3R), (2R,3S), (2R,3R) y (2S,3S); a los estereoisómeros individuales, y a la acetilcolina (ACh).

La figura 1B ilustra una comparación de las respuestas funcionales de los receptores  $\alpha 7$  de rata, expresados en células GH4C1 de mamífero, frente a la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida; al racemato, especialmente una mezcla de (2S,3R), (2R,3S), (2R,3R) y (2S,3S), y a los estereoisómeros individuales dentro del intervalo de concentración eficaz en plasma.

La figura 2A ilustra las respuestas de los receptores  $\alpha 7$  humanos expresados en oocitos de *Xenopus* frente a (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida.

La figura 2B ilustra las respuestas control de receptores  $\alpha 7$  humanos después de la aplicación del compuesto en las concentraciones indicadas. Los datos fueron normalizados con respecto a la carga neta de las respuestas control de ACh 300  $\mu$ M obtenidas 5 min antes de las respuestas evocadas por el agonista experimental. Cada punto representa la media  $\pm$  SEM de las respuestas normalizadas de al menos 4 oocitos.

La figura 3 ilustra una evaluación de los efectos cognitivos en un paradigma de reconocimiento de objetos (OR), que demuestra que la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida tiene efectos positivos a 0,3 y 1 mg/kg administrados i.p., \*  $p < 0,5$ .

La figura 4 ilustra una evaluación de los efectos cognitivos en un paradigma de reconocimiento de objetos (OR), que demuestra que la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida administrada por vía oral tiene efectos positivos en un amplio intervalo de dosis (0,3 -10 mg/kg), \*  $p < 0,5$ .

La figura 5 ilustra los efectos de la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida administrada i.p. en la prevención de deficiencias cognitivas inducidas por MK-801, conocida también como dizocilpina, un antagonista comercialmente disponible no competitivo del receptor NMDA, en la tarea de reconocimiento de objetos (OR),

La figura 6 ilustra que el tiempo medio empleado sobre el objeto A con respecto al objeto B, en la tarea de reconocimiento de objetos (OR), por el grupo tratado con vehículo a los 30 min, 6 h, o 24 h después del ensayo de administración sub-aguda final (p.o.) no fue significativamente diferente ( $p = 0,17$ ;  $p = 0,35$  y  $p = 0,12$ , respectivamente). Alternativamente, a los 30 min, 2 h, 6 h, y 18 h después de la administración sub-aguda final de 0,3 mg/kg de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, los sujetos emplean significativamente ( $P < 0,05$ ) más tiempo investigando el objeto B (nuevo) que el objeto A (familiar). Por otra parte, a las 2 h (75 %) y 6 h (71 %) el índice de reconocimiento se mejoró significativamente en los animales

tratados con 0,3 mg/kg de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida en comparación con el índice de reconocimiento (54 %) del grupo tratado con vehículo a los 30 minutos después de la administración final.

5 La figura 7 ilustra una evaluación de los efectos cognitivos en un paradigma de laberinto de brazos radiales (RAM). Se administró p.o. (0,1, 0,3 y 1,0 mg/kg) (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida 30 minutos antes de la sesión diaria. Fue evidente una mejoría en la realización de la tarea en el grupo tratado con 0,3 mg/kg de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida durante la segunda semana de administración.

10 La figura 8 ilustra un estudio de efectos antipsicóticos, medidos como el comportamiento de hiperactividad inducida por sobreestimulación de dopamina, que muestra que la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (0,3 y 1,0 mg/kg; s.c.) atenúa la hiperactividad locomotora inducida por la apomorfina (1,0 mg/kg) después de la administración subcutánea en ratas.

15 La figura 9 ilustra una evaluación antipsicótica, inhibición prepulso, que indica que las deficiencias inducidas por la apomorfina se invierten con el pretratamiento de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida después de administración subcutánea.

La figura 10A ilustra los resultados del análisis cristalográfico por rayos X del monohidrocloruro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, que demuestra la estereoquímica absoluta de este material. El compuesto representado es la sal hidrocloruro parcialmente hidratada, como se muestra con el anión cloruro totalmente ordenado y la molécula de agua parcialmente ocupada en la unidad asimétrica.

20 La figura 10B ilustra los resultados del análisis cristalográfico por rayos X del monohidrocloruro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, que demuestra la estereoquímica absoluta de este material, representado con un esquema de numeración para referencia. La vista mira hacia abajo del eje cristalográfico *b* de la celda unitaria. Los enlaces de hidrógeno inter-moleculares se muestran como líneas discontinuas.

25 La figura 11A ilustra los resultados del análisis cristalográfico por rayos X de p-clorobenzoato de (2R,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, demostrando la estereoquímica absoluta de este material.

30 La figura 11B ilustra los resultados del análisis cristalográfico por rayos X de p-clorobenzoato de (2R,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, que demuestra la estereoquímica absoluta de este material, representado con un esquema de numeración para referencia.

35 La figura 12 ilustra un cromatograma completo que caracteriza cuatro estereoisómeros de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, donde el 2S,3R demuestra un pico a un tiempo de retención de 5,3 minutos, el 2R,3S demuestra un pico a un tiempo de retención de 7,3 minutos, el 2R,3R demuestra un pico a un tiempo de retención de 8,2 minutos, y el 2S,3S demuestra un tiempo de retención de 12,4 minutos. Como se describe aquí, el análisis requiere una fase móvil que proporcione una resolución adecuada, dando como resultado una composición de hexano:etanol:di-n-butilamina 60:40:0,2 a 1,0 mL/min, con una temperatura de la columna de 20 °C, y una detección en UV a 270 nm.

40 La figura 13 es un XRPD del monohidrocloruro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida que ilustra ambos patrones, el observado (más claro) y el calculado (más oscuro). Ambos patrones están de acuerdo con respecto a los valores  $2\theta$  y las diferencias menores en intensidades y anchuras de pico se pueden atribuir a la resolución del instrumento y a los efectos de orientación preferida. Como se describe en la presente memoria, otras diferencias menores se pueden atribuir a un cambio de temperatura debido a que los datos observados se recogen a temperatura ambiente y los datos calculados se recogen a partir de una estructura a 120K.

45 La figura 14 es un XRPD de monotosilato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida.

#### Descripción detallada de la invención

50 La presente invención proporciona (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en un exceso enantiomérico y diastereoisomérico del 90 % o mayor, con respecto a los enantiómeros (2S,3S), (2R,3S) y (2R,3R) de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida. La (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida tiene una afinidad (valor  $K_i \leq 1$  nM) y una selectividad para el subtipo NNR  $\alpha_7$  y demuestra eficacia en modelos animales de cognición (mejora cognitiva) y de psicosis (efectos antipsicóticos).

55 La (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables está en forma sustancialmente pura. La (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-

azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida está sustancialmente libre de los isómeros (2S,3S), (2R,3S) o (2R,3R), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización adicional, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 95 % o mayor. En una realización adicional, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 98 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y/o diastereoisomérico es del 99 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y/o diastereoisomérico es del 99,5 % o mayor.

Otro aspecto de la presente invención es una sal de ácido de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, en donde el ácido se selecciona de ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido maleico, ácido p-toluenosulfónico, ácido galactárico (múxico), ácido D-mandélico, ácido D-tartárico, ácido metanosulfónico, ácidos R- y S-10-canforsulfónicos, ácido cetoglutárico, o ácido hipúrico. En una realización, la estequiometría de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida frente al ácido es 2:1, 1:1 o 1:2. En una realización, la estequiometría es 1:1. También se describe un hidrocloreto de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o un hidrato o solvato del mismo, incluyendo hidratos o solvatos parciales. Se describe también el monohidrocloreto de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o un hidrato o solvato del mismo, incluyendo hidratos o solvatos parciales.

Se describe también el (2S,3R)-(2-((3-piridinil)metil)-3-amino-1-azabicyclo[2.2.2]octano.

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en un método para tratar o prevenir un trastorno del sistema nervioso central, inflamación, dolor o neovascularización que comprende administrar un compuesto de la presente invención. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se caracteriza por una alteración en la liberación normal de neurotransmisores. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria asociado a la edad, demencia pre-senil, aparición precoz de la enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, demencia por micro-infartos, demencia relacionada con SIDA, demencia de VIH, infartos cerebrales múltiples, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, depresión, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos o síndrome de Tourette. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de enfermedad de Alzheimer, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette.

Otro aspecto de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de un trastorno del sistema nervioso central, inflamación, dolor, o neovascularización. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se caracteriza por una alteración en la liberación normal de neurotransmisores. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona entre deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria asociado a la edad, demencia pre-senil, aparición temprana de enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, demencia por micro-infartos, demencia relacionada con SIDA, demencia de VIH, infartos cerebrales múltiples, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, depresión, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de enfermedad de Alzheimer, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette.

Otro aspecto de la presente invención es un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento o prevención de un trastorno del sistema nervioso central, inflamación, dolor, o neovascularización. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se caracteriza por una alteración en la liberación normal de neurotransmisores. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria asociado a la edad, demencia pre-senil, aparición precoz de enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, demencia por microinfartos, demencia relacionada con SIDA, demencia de VIH, infartos cerebrales múltiples, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, depresión, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette. En una realización, el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de enfermedad de Alzheimer, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención,

ansiedad, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette.

En los métodos y usos mencionados antes, en una realización de la invención la dosis eficaz está entre aproximadamente 1 mg y 10 mg para un periodo de 24-horas.

- 5 Se describe también un método para la fabricación de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mediante la resolución dinámica secuencial y la aminación reductora estereoselectiva de 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ona.

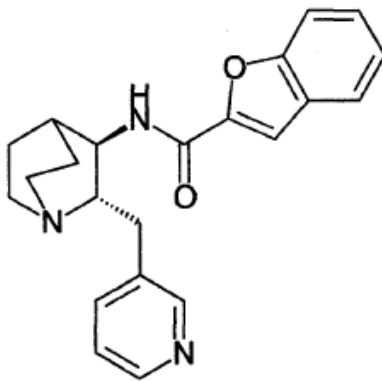
El alcance de la presente invención incluye todas las combinaciones de aspectos, realizaciones y preferencias descritas en esta memoria.

- 10 El desarrollo comercial de los fármacos candidatos implica muchas etapas, incluyendo el escalado de la síntesis y purificación química, la búsqueda de formas óptimas de sal y similares. En la formulación de las composiciones de fármacos, el fármaco está preferiblemente en una forma en la que se pueda manipular y procesar convenientemente. Los factores a tener en cuenta incluyen la viabilidad comercial así como la consistencia en la fabricación. Además, en la fabricación de composiciones de fármacos, es importante que se proporcione un perfil de concentración del fármaco en plasma fiable, reproducible y constante, después de la administración a un paciente.

- 15 La estabilidad química, la estabilidad en estado sólido, y la "vida útil" de los ingredientes activos son también factores muy importantes. El fármaco, y las composiciones que lo contienen, preferiblemente deben ser capaces de conservarse eficazmente durante períodos de tiempo apreciables, sin mostrar ningún cambio significativo en las características fisicoquímicas del componente activo (por ejemplo, su composición química, densidad, higroscopicidad y solubilidad). Por otra parte, es importante también poder proporcionar un fármaco en una forma que sea tan químicamente pura como sea posible. Estas características de la invención se exponen con más detalle a continuación.

### I. Compuestos

- 25 El compuesto de la presente invención es (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, representado como Compuesto A a continuación, o una forma de sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A, en un exceso enantiomérico o diastereoisomérico del 90 % o mayor.



Compuesto A

- 30 El compuesto racémico N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, una síntesis, y la utilidad en el tratamiento médico, se describe en la patente de Estados Unidos N° 6.953.855 de Mazurov *et al.*

- 35 La N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida racémica es un ligando de alta afinidad para el subtipo  $\alpha 7$  del receptor nicotínico neuronal (NNR). La N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida racémica contiene dos átomos de carbono sustituidos asimétricamente. Por lo tanto, la N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida racémica se presenta en cuatro formas estereoisómeras, a saber (S,S), (S,R), (R,R) y (R,S). La (S,R), concretamente, (2S,3R), es el Compuesto A.

- 40 Previamente, se creyó que las formas estereoisómeras predominantes producidas en la síntesis descrita, que incluye la patente de Estados Unidos 6.953.855, se caracterizaban por la configuración relativa *cis* en las posiciones 2 y 3 del anillo 1-azabicyclo[2.2.2]octano (quinuclidina). En otras palabras, se entendía que el diastereoisómero *cis* (el par de enantiómeros (2R,3R) y el (2S,3S)), eran las formas predominantes que resultaban cuando se preparaban por los métodos descritos. Esta determinación, de síntesis predominantemente *cis*, se basaba en: (i) la comparación de las constantes de acoplamiento  $^1\text{H}$  de los núcleos de hidrógeno de las posiciones 2 y 3 del anillo de quinuclidina y de los intermedios diastereoisoméricos (*cis* y *trans*) aislados frente a las constantes de acoplamiento descritas en las publicaciones científicas, y en (ii) el resultado estereoquímico esperado de la química sintética utilizada para producir

la mezcla de compuestos, por analogía con las publicaciones científicas, con referencia a Warawa *et al.*, J. Med. Chem. 18 (6): 587-593 (1975) y Viti *et al.*, Tetrahedron Lett. 35 (32): 5.939-5.942 (1994). Por lo tanto, había expectativa de que se formara la configuración *cis*. Por ello, los ensayos biológicos con el racemato produjeron resultados que fueron presuntamente atribuibles a la configuración *cis* predominante.

- 5 Se ha descubierto ahora, por medio del análisis de difracción de rayos X de las formas de sales cristalinas y análogos, que el diastereoisómero predominante producido en la síntesis original era, de hecho, el diastereoisómero *trans*. Además, se ha descubierto que los dos enantiómeros con la estereoquímica relativa *trans*, a saber, el (2S,3R) y el (2R,3S), difieren sustancialmente uno de otro en su capacidad de interactuar con el subtipo NNR  $\alpha 7$ . La configuración (2S,3R), Compuesto A, tiene mayor actividad.
- 10 Con el análisis posterior, se ha descubierto que el Compuesto A tiene propiedades farmacológicas que le distinguen de: i) cada uno de los otros tres estereoisómeros, considerados individualmente, ii) la mezcla de los cuatro estereoisómeros, es decir, el racemato; y iii) otros ligandos de NNR  $\alpha 7$  descritos en las publicaciones científicas.

15 La (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (Compuesto A) es un agonista completo, altamente selectivo, del receptor NNR  $\alpha 7$  con un valor de EC<sub>50</sub> (para activación) notablemente bajo y una buena separación entre la EC<sub>50</sub> y la IC<sub>50</sub> (para inhibición residual), proporcionando un agonismo funcional en un amplio intervalo de concentraciones terapéuticamente útiles.

## II. Síntesis escalable de (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida

20 Las etapas particulares de síntesis varían en su disponibilidad para el escalado. Se encontraron reacciones que carecen de capacidad para ser realizadas a mayor escala por una variedad de razones, incluyendo motivos de seguridad, gasto de reactivos, dificultad de elaboración o purificación, características energéticas de reacción (termodinámica o cinética), y rendimiento de la reacción.

La síntesis de (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida descrita en la presente memoria ha sido utilizada para producir cantidades en kilogramos de material, y las reacciones de los componentes han sido llevadas a cabo a escala de multi- kilogramos con alto rendimiento.

25 La síntesis escalable utiliza tanto la resolución dinámica de una cetona racemizable (2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona) como la reducción estereoselectiva del derivado de imina (R)- $\alpha$ -metilbencilamina (aminación reductora) de la cetona resuelta. Las secuencias sintéticas descritas aquí son fácilmente escalables y evitan purificaciones cromatográficas.

## 30 III. Preparación de nuevas formas de sal de (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida

35 La (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida como base libre es un polvo amorfo con una solubilidad en agua muy limitada. La base libre reaccionará tanto con ácidos inorgánicos como orgánicos para formar ciertas sales de adición de ácido que tienen propiedades físicas y químicas que son ventajosas para la preparación de composiciones farmacéuticas, incluyendo, pero sin limitarse a cristalinidad, solubilidad en agua, y estabilidad. La estequiometría de las sales de la presente invención puede variar.

Dependiendo de la manera en que se forman las sales descritas aquí, las sales pueden tener estructuras cristalinas que ocluyan disolventes que están presentes durante la formación de la sal. De este modo, las sales pueden producirse como hidratos y otros solvatos de estequiometría variable del disolvente con respecto a la (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida.

40 El método para preparar las formas de sal puede variar. La preparación de formas de sal de (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida generalmente implica:

(i) mezclar la base libre o una solución de la base libre, a saber, (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida en un disolvente adecuado con un ácido puro o una solución de un ácido en un disolvente adecuado;

45 (iia) enfriar la solución de sal resultante, si es necesario para provocar precipitación, o

(iib) añadir un anti-disolvente adecuado para provocar la precipitación, o

(iic) evaporar el primer disolvente y añadir un nuevo disolvente y repetir cualquiera de las etapas (iia) o (iib), y

(iii) filtrar y recoger la sal resultante.

50 En la presente invención, la (2S,3R)-N(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida tiene un exceso enantiomérico y diastereoisomérico del 90 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 95 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 98

% o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 99 % o mayor. En una realización, el exceso enantiomérico y diastereoisomérico es del 99,5 % o mayor.

5 La estequiometría, mezcla de disolventes, concentración de soluto, y temperatura empleada pueden variar. Los disolventes representativos que se pueden utilizar para preparar o recristalizar las formas de sal incluyen, sin limitación, etanol, metanol, alcohol isopropílico, acetona, acetato de etilo, y acetonitrilo.

10 Ejemplos de sales adecuadas farmacéuticamente aceptables descritos en la presente memoria, incluyen sales de adición de ácido inorgánico tales como cloruro, bromuro, sulfato, fosfato, y nitrato; sales de adición de ácido orgánico tales como acetato, galactarato, propionato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, maleato, fumarato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, y ascorbato; y sales con aminoácidos tales como aspartato y glutamato. Las sales pueden ser en algunos casos hidratos o solvatos de etanol. Se proporcionan sales representativas como se describe en las patentes de Estados Unidos números 5.597.919 de Dull *et al.*, 5.616.716 de Dull *et al.* y 5.663.356 de Ruecroft *et al.*

15 La selección de sales para la base libre de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida reveló que, aunque se podían formar muchas sales de ácidos farmacéuticamente aceptables, sólo unas pocas de estas sales tenían propiedades aceptables para la fabricación comercial. La capacidad de predecir las características típicas de una sal comercialmente viable, por lo tanto, no existe. Los ácidos que proporcionaron sales que eran cristalinas, es decir, sales que demuestran cierto grado de cristalinidad, dependiente del método por el que se preparan, incluyen el ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido p-toluenosulfónico, ácido galactárico (múxico), ácido D-mandélico, ácido D-tartárico, ácido metanosulfónico, ácidos R- y S-10-canforsulfónicos, ácido maleico, ácido cetoglutárico y ácido hipúrico. De estas sales, las sales de ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido maleico y ácido p-toluenosulfónico presentaron cada una, propiedades deseables adicionales, incluyendo puntos de fusión altos, buena solubilidad en agua y baja higroscopicidad. Estas características de estas sales fueron inesperadas.

#### IV. Composiciones farmacéuticas

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen las sales descritas aquí, en estado puro o en la forma de una composición en la que los compuestos se combinan con cualquier otro producto farmacéuticamente compatible, que puede ser inerte o fisiológicamente activo. Las composiciones farmacéuticas resultantes se pueden utilizar para prevenir una afección o trastorno en un sujeto propenso a tal afección o trastorno, y/o para tratar a un sujeto que padece la afección o trastorno. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluyen el compuesto de la presente invención y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

35 La manera en que se administran los compuestos puede variar. Las composiciones se administran preferiblemente por vía oral (por ejemplo, en forma líquida dentro de un disolvente tal como un líquido acuoso o no acuoso, o dentro de un vehículo sólido). Las composiciones preferidas para administración oral incluyen pastillas, comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, jarabes y soluciones, incluyendo cápsulas de gelatina dura y cápsulas de liberación prolongada. Los excipientes estándar incluyen aglutinantes, cargas, colorantes, solubilizantes, y similares. Las composiciones se pueden formular en forma de dosis única, o en dosis múltiples o subunitarias. Las composiciones preferidas están en forma líquida o semisólida. Se pueden usar composiciones que incluyen un vehículo líquido farmacéuticamente inerte, tal como agua u otros líquidos o semisólidos farmacéuticamente compatibles. El uso de tales líquidos y semisólidos es bien conocido por los expertos en la técnica.

40 Las composiciones se pueden administrar también mediante inyección, es decir, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intraarterial, intratecal; e intracerebroventricular. La administración intravenosa es el método preferido de inyección. Los vehículos adecuados para inyección son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen soluciones de dextrosa al 5 %, solución salina y solución salina tamponada con fosfato. El fármaco se puede administrar también como una perfusión o inyección (por ejemplo, como una suspensión o como una emulsión en un líquido o mezcla de líquidos farmacéuticamente aceptable).

45 Las formulaciones se pueden administrar también utilizando otros medios, por ejemplo, la administración rectal. Las formulaciones útiles para administración rectal, tales como supositorios, son bien conocidas por los expertos en la técnica. El fármaco se puede administrar también por inhalación (por ejemplo, en forma de un aerosol bien por vía nasal o utilizando dispositivos de administración del tipo indicado en la patente de Estados Unidos nº 4.922.901 de Brooks *et al.*); tópicamente (por ejemplo, en forma de loción); transdérmicamente (por ejemplo, utilizando un parche transdérmico) o iontoforéticamente; o por administración sublingual o bucal. Aunque es posible administrar un compuesto en la forma de un producto químico activo a granel, es preferible presentar un fármaco en la forma de una composición o formulación farmacéutica para administración eficiente y eficaz.

55 Los ejemplos de métodos para la administración de compuestos serán evidentes para los expertos en la técnica. La utilidad de estas formulaciones puede depender de la composición particular utilizada y del sujeto particular que recibe el tratamiento. Estas formulaciones pueden contener un vehículo líquido que puede ser oleoso, acuoso, emulsionado o pueden contener ciertos disolventes adecuados para el modo de administración.



Las composiciones se pueden administrar intermitentemente o a una velocidad gradual, continua, constante o controlada, 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 administran a un ser humano. Además, puede variar la hora del día y el número de veces al día en que se administra la formulación farmacéutica.

- 5 Otros métodos adecuados para la administración de los compuestos de la presente invención se describen en la patente de Estados Unidos N° 5.604.231 de Smith *et al.*

Como se describe aquí, el compuesto de la presente invención se puede administrar en combinación con otros compuestos terapéuticos. Por ejemplo, un compuesto de esta invención se puede utilizar en combinación con otros ligandos de NNR (tal como vareniclina), antioxidantes (tales como agentes captadores de radicales libres), agentes antibacterianos (tales como antibióticos penicilínicos), agentes antivirales (tales como análogos de nucleósidos, como zidovudina y aciclovir), anticoagulantes (tal como warfarina), agentes antiinflamatorios (tales como los AINE), anti-piréticos, analgésicos, anestésicos (tales como los utilizados en cirugía), inhibidores de la acetilcolinesterasa (tales como donepezilo y galantamina), antipsicóticos (tales como haloperidol, clozapina, olanzapina y quetiapina), inmunodepresores (tales como ciclosporina y metotrexato), agentes neuroprotectores, esteroides (tales como hormonas esteroideas), corticosteroides (tales como dexametasona, prednisona, e hidrocortisona), vitaminas, minerales, nutracéuticos, antidepresivos (tales como imipramina, fluoxetina, paroxetina, escitalopram, sertralina, venlafaxina, y duloxetina), ansiolíticos (tales como alprazolam y buspirona), anticonvulsivos (tales como fenitoína y gabapentina), vasodilatadores (tales como prazosina y sildenafil), estabilizadores del estado de ánimo (tales como valproato y aripiprazol), fármacos anti-cáncer (tales como los anti-antiproliferativos), agentes antihipertensivos (tales como atenolol, clonidina, amlodipino, verapamilo, y olmesartán), laxantes, ablandadores de las heces, diuréticos (tales como furosemida), anti-espasmódicos (tales como diciclomina), agentes antidiscinéticos y medicamentos antiulcerosos (tales como esomeprazol).

Los compuestos de la presente invención se pueden emplear solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Tal combinación de agentes farmacéuticamente activos se puede administrar conjuntamente o por separado y, cuando se administra por separado, la administración puede realizarse simultáneamente o secuencialmente, en cualquier orden. Las cantidades de los compuestos o agentes y los tiempos relativos de administración se seleccionarán con el fin de alcanzar el efecto terapéutico deseado. La administración en combinación puede ser por administración concomitante en: (1) una composición farmacéutica unitaria que incluye múltiples compuestos, o (2) composiciones farmacéuticas separadas que incluye cada una, uno de los compuestos. Alternativamente, la combinación se puede administrar separadamente de una manera secuencial en donde un agente de tratamiento se administra en primer lugar y el otro en segundo lugar o viceversa. Tal administración secuencial puede ser próxima en el tiempo o remota en el tiempo. Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento de una variedad de trastornos y afecciones y, para ello, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en combinación con una variedad de otros agentes terapéuticos adecuados útiles en el tratamiento o profilaxis de esos trastornos o afecciones.

La dosis apropiada del compuesto es la cantidad eficaz para prevenir la aparición de los síntomas del trastorno o para tratar algunos síntomas del trastorno que sufre el paciente. Como se ha indicado, por "cantidad eficaz", "cantidad terapéutica" o "dosis eficaz" se entiende aquella cantidad suficiente para producir los efectos farmacológicos o terapéuticos deseados, dando así como resultado la prevención o tratamiento eficaz del trastorno.

40 Cuando se trata un trastorno del SNC, una cantidad eficaz de compuesto es una cantidad suficiente para pasar a través de la barrera hematoencefálica del sujeto, para unirse a sitios de receptores relevantes en el cerebro del sujeto y para modular la actividad de subtipos relevantes de NNR (por ejemplo, para proporcionar la secreción de neurotransmisores, dando así como resultado la prevención o tratamiento eficaz del trastorno). Un ejemplo de prevención de un trastorno se manifiesta por el retraso de la aparición de los síntomas del trastorno. Un ejemplo de tratamiento de un trastorno se manifiesta por una disminución de los síntomas asociados con el trastorno o una mejora de la recurrencia de los síntomas del trastorno. Preferiblemente, la cantidad eficaz es suficiente para obtener el resultado deseado, pero insuficiente para causar efectos secundarios apreciables

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 se administra la composición farmacéutica. Para pacientes humanos, la dosis eficaz de compuestos típicos generalmente requiere la administración del compuesto en una cantidad suficiente para modular la actividad de los NNR pertinentes, pero la cantidad debería ser insuficiente para inducir efectos sobre los músculos esqueléticos y los ganglios en un grado significativo. La dosis eficaz de los compuestos, por supuesto, difiere de paciente a paciente, pero en general incluye cantidades iniciales con las que aparecen efectos sobre el sistema nervioso central u otros efectos terapéuticos deseados, pero por debajo de la cantidad en la que se observan efectos musculares.

Los compuestos descritos en esta memoria, cuando se emplean en cantidades eficaces de acuerdo con los métodos descritos aquí, pueden proporcionar algún grado de prevención de la progresión del trastorno, de mejora de los síntomas, o de mejora, en algún grado, de la recurrencia de trastornos del SNC u otros trastornos. Las cantidades eficaces de estos compuestos están normalmente por debajo de la concentración umbral requerida para provocar

efectos secundarios apreciables, por ejemplo, los efectos relacionados con el musculo esquelético o los ganglios. Los compuestos pueden ser administrados en una ventana terapéutica en la que se tratan ciertos trastornos del SNC y otros trastornos y se evitan ciertos efectos secundarios. Idealmente, la dosis eficaz de los compuestos descritos aquí es suficiente para proporcionar los efectos deseados sobre el trastorno, pero es insuficiente (es decir, no tiene un nivel suficientemente alto) para proporcionar efectos secundarios indeseables. Preferiblemente, los compuestos se administran a una dosis eficaz para el tratamiento de trastornos del SNC u otros trastornos pero menor que, a menudo menor que 1/5, y a menudo menor que 1/10, de la cantidad requerida para provocar ciertos efectos secundarios en cualquier grado significativo.

Lo más preferiblemente, las dosis eficaces están en concentraciones muy bajas, en las que se observa que se producen los efectos máximos con un mínimo de efectos secundarios. Típicamente, la dosis eficaz de tales compuestos generalmente requiere la administración del compuesto en una cantidad de menos de 5 mg/kg de peso del paciente. A menudo, los compuestos de la presente invención se administran en una cantidad de menos de aproximadamente 1 mg/kg de peso del paciente y por lo general menos de aproximadamente 100 µg/kg de peso del paciente, pero frecuentemente entre aproximadamente 10 µg a menos de 100 µg/kg de peso del paciente. Las dosis eficaces anteriores, normalmente, representan esa cantidad administrada como una dosis única, o como una o más dosis administradas durante un período de 24 horas.

Para los pacientes humanos, la dosis eficaz de los compuestos típicos generalmente requiere administrar el compuesto en una cantidad de al menos aproximadamente 1, a menudo al menos aproximadamente 10, y frecuentemente al menos aproximadamente 100 mg/24 horas/paciente. Para los pacientes humanos, la dosis eficaz de los compuestos típicos requiere que la administración del compuesto generalmente no exceda de aproximadamente 500, a menudo que no exceda de aproximadamente 400, y frecuentemente que no exceda de aproximadamente 300 mg/24 horas/paciente. Además, las composiciones se administran ventajosamente en una dosis eficaz de tal modo que la concentración del compuesto dentro del plasma del paciente normalmente no exceda de 50 ng/mL, a menudo que no exceda de 30 ng/mL, y frecuentemente que no exceda de 10 ng/mL. En una realización de la presente invención, una dosis eficaz está entre aproximadamente 1 mg y 10 mg en un periodo de 24 horas.

#### IV. Método de uso de las composiciones farmacéuticas

Como se usa en la presente memoria, un "agonista" es una sustancia que estimula a su copartícipe de unión, típicamente un receptor. La estimulación se define en el contexto del ensayo particular, o puede ser evidente en las publicaciones científicas a partir de una exposición que haga una comparación con un factor o sustancia que es aceptada como un "agonista" o un "antagonista" del copartícipe de unión particular bajo circunstancias sustancialmente similares como es entendido por los expertos en la técnica. La estimulación se puede definir con respecto a un incremento en un efecto o función particular que es inducido por la interacción del agonista o agonista parcial con un copartícipe de unión y puede incluir efectos alostéricos.

Como se usa en esta memoria, un "antagonista" es una sustancia que inhibe a su copartícipe de unión, típicamente un receptor. La inhibición se define en el contexto del ensayo particular, o puede ser evidente en las publicaciones científicas a partir de una exposición que haga una comparación con un factor o sustancia que es aceptada como un "agonista" o un "antagonista" del copartícipe de unión particular bajo circunstancias sustancialmente similares como es entendido por los expertos en la técnica. La inhibición se puede definir con respecto a una disminución en un efecto o función particular que es inducida por la interacción del antagonista con un copartícipe de unión, y puede incluir efectos alostéricos.

Como se usa en la presente memoria, un "agonista parcial" o un "antagonista parcial" es una sustancia que proporciona un nivel de estimulación o inhibición, respectivamente, a su copartícipe de unión que no es enteramente o completamente agonística o antagonística, respectivamente. Se reconocerá que la estimulación, y, por lo tanto, la inhibición es definida intrínsecamente para cualquier sustancia o categoría de sustancias a definir como agonistas, antagonistas o agonistas parciales.

Como se utiliza en la presente memoria, "actividad intrínseca" o "eficacia" se refiere a alguna medida de la efectividad biológica del complejo de copartícipe de unión. Con respecto a la farmacología del receptor, el contexto en el que la actividad intrínseca o eficacia deben ser definidas dependerá del contexto del complejo de copartícipe de unión (por ejemplo, receptor/ligando) y de la consideración de una actividad relevante para un resultado biológico particular. Por ejemplo, en algunas circunstancias, la actividad intrínseca puede variar dependiendo del sistema particular de segundo mensajero implicado. Véase Hoyer, D. and Boddeke, H., Trends Pharmacol. Sci. 14(7): 270-5 (1993), incorporado aquí como referencia, con respecto a dichas enseñanzas. Hasta qué punto dichas evaluaciones contextualmente específicas son relevantes, y cómo podrían ser relevantes en el contexto de la presente invención, será evidente para los expertos en la técnica.

Como se usa en esta memoria, la modulación de un receptor incluye agonismo, agonismo parcial, antagonismo, antagonismo parcial, o agonismo inverso de un receptor.

Los neurotransmisores que se usan en la presente memoria, cuya liberación está mediada por los compuestos descritos aquí incluyen, pero no se limitan a, acetilcolina, dopamina, norepinefrina, serotonina y glutamato y los compuestos descritos en esta memoria funcionan como moduladores del subtipo  $\alpha 7$  de los NNR del SNC.

5 Como se usan en la presente memoria, los términos "prevención" o "profilaxis" incluyen cualquier grado de reducción de la progresión o de retraso en la aparición de una enfermedad, trastorno o afección. El término incluye proporcionar efectos protectores contra una enfermedad, trastorno o afección particular, así como mejorar la recurrencia de la enfermedad, trastorno o afección. Así, en otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene o está en riesgo de desarrollar o de experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por un NNR o nAChR. Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención se pueden usar para lograr un efecto terapéutico o profiláctico beneficioso, por ejemplo, en un sujeto con una disfunción del SNC.

10 Como se ha indicado antes, los compuestos en forma de base libre y de sal de la presente invención modulan el subtipo NNR  $\alpha 7$ , característico del SNC, y se pueden utilizar para prevenir o tratar diversas afecciones o trastornos, incluyendo los del SNC, en sujetos que tienen o son propensos a tales afecciones o trastornos, mediante modulación del NNR  $\alpha 7$ . Los compuestos tienen la capacidad de unirse selectivamente al NNR  $\alpha 7$  y expresan farmacología nicotínica, por ejemplo, actúan como agonistas, agonistas parciales, antagonistas, como se ha descrito. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención, cuando se administran en cantidades eficaces a pacientes que lo necesitan, proporcionan algún grado de prevención de la progresión del trastorno del SNC, es decir, proporcionan efectos protectores, mejora de los síntomas del trastorno del SNC, o mejora de la recurrencia del trastorno de SNC, o una combinación de los mismos.

15 Los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar o prevenir aquellos tipos de afecciones y trastornos para los que otros tipos de compuestos nicotínicos han sido propuestos o se ha demostrado que son útiles como agentes terapéuticos. Véase, por ejemplo, las referencias enumeradas anteriormente en este documento, así como Williams *et al.*, Drug News Perspec. 7(4): 205 (1994), Americ *et al.*, CNS Drug Rev. 1 (1): 1-26 (1995), Americ *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), documentos PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, y patentes de Estados Unidos números 5.583.140 de Bencherif *et al.*, 5.597.919 de Dull *et al.*, 5.604.231 de Smith *et al.* y 5.852.041 de Cosford *et al.*

20 Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas son útiles en el tratamiento o prevención de una variedad de trastornos del SNC, incluyendo trastornos neurodegenerativos, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos neurológicos y adicciones. Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas se pueden utilizar para tratar o prevenir deficiencias y disfunciones cognitivas, relacionadas con la edad y otras causas; trastornos atencionales y demencias incluyendo los debidos a agentes infecciosos o alteraciones metabólicas; para proporcionar neuroprotección; para tratar convulsiones e infartos cerebrales múltiples, para tratar trastornos del estado de ánimo, compulsiones y comportamientos adictivos; para proporcionar analgesia; para controlar la inflamación, tal como la mediada por citocinas y el factor nuclear kappa B; para tratar trastornos inflamatorios; para proporcionar alivio del dolor; para tratar trastornos metabólicos tales como diabetes o síndrome metabólico; y para tratar infecciones, como agentes anti-infecciosos para tratar infecciones por bacterias, hongos, y virus.

#### 40 **Trastornos del SNC**

Entre los trastornos, enfermedades y afecciones en que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden utilizar para tratar o prevenir, están: deterioro de la memoria asociado a la edad (AAMI), deterioro cognitivo leve (MCI), disminución cognitiva relacionada con la edad (ARCD), demencia pre-senil, inicio precoz de enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, 45 deterioro cognitivo sin demencia (CIND), demencia con cuerpos de Lewy, demencia de VIH, demencia por SIDA, demencia vascular, síndrome de Down, traumatismo encefálico, lesión cerebral traumática (TBI), demencia pugilística, enfermedad de Creutzfeld-Jacob y enfermedades priónicas, ictus, isquemia, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, disfunción cognitiva en esquizofrenia, déficits cognitivos en la esquizofrenia tales como la memoria, incluyendo la memoria de trabajo, función ejecutiva, atención, vigilancia, procesamiento de la información y aprendizaje, demencia (ya sea leve, moderada o grave) asociada con la esquizofrenia, parkinsonismo incluyendo la enfermedad de Parkinson, parkinsonismo postencefálico, parkinsonismo-demencia de Gaum, demencia frontotemporal tipo Parkinson (FTDP), enfermedad de Pick, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Huntington, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, parálisis supranuclear progresiva, parestia 50 supranuclear progresiva, síndrome de piernas inquietas, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedades de neuronas motoras (MND), atrofia múltiple sistémica (MSA), degeneración corticobasal, síndrome de Guillain-Barré (GBS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), epilepsia, epilepsia nocturna del lóbulo frontal autosómica dominante, manía, ansiedad, depresión, disforia premenstrual, trastornos de pánico, bulimia, anorexia, narcolepsia, somnolencia diurna excesiva, trastornos bipolares, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno obsesivo compulsivo, arrebatos de ira, trastorno de oposición desafiante, síndrome de

Tourette, autismo, adicción a drogas y a alcohol, tabaquismo, obesidad, caquexia, psoriasis, lupus, colangitis aguda, estomatitis aftosa, úlceras, asma, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, íleo postoperatorio, distonía espástica, diarrea, estreñimiento, pouchitis, pancreatitis, neumonitis viral, artritis, incluyendo artritis reumatoide y osteoartritis, endotoxemia, septicemia, aterosclerosis, fibrosis pulmonar idiopática, dolor agudo, dolor crónico, neuropatías, incontinencia urinaria, diabetes y neoplasias.

Los deterioros o disfunciones cognitivas pueden estar asociados con trastornos o afecciones psiquiátricas, tales como esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, incluyendo pero sin limitarse a trastorno psicótico, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno delirante, trastorno psicótico breve, trastorno psicótico compartido, y trastornos psicóticos debidos a una o más afecciones médicas generales, demencias y otros trastornos cognitivos, incluyendo pero sin limitarse a deterioro cognitivo leve, demencia pre-senil, enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, deterioro de la memoria asociado a la edad, demencia con cuerpos de Lewy, demencia vascular, complejo de demencia por SIDA, dislexia, parkinsonismo incluyendo la enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo y demencia de la enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo de la esclerosis múltiple, deterioro cognitivo causado por lesión traumática cerebral, demencias debidas a otras afecciones médicas generales, trastornos de ansiedad, incluyendo pero sin limitarse a trastorno de pánico sin agorafobia, trastorno de pánico con agorafobia, agorafobia sin historia de trastorno de pánico, fobia específica, fobia social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés post-traumático, trastorno de estrés agudo, trastorno de ansiedad generalizada y trastorno de ansiedad generalizada debido a una afección médica general, trastornos del estado de ánimo, incluyendo pero sin limitarse a trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión bipolar, manía bipolar, trastorno bipolar I, depresión asociada con episodios maníacos, depresivos o mixtos, trastorno bipolar II, trastorno ciclotímico, y trastornos del estado de ánimo debido a afecciones médicas generales, trastornos del sueño, incluyendo pero sin limitarse a trastornos de disomnia, insomnio primario, hipersomnia primaria, narcolepsia, trastornos de parasomnia, trastorno de pesadillas, trastorno de terror al sueño y trastorno de sonambulismo, retraso mental, trastornos del aprendizaje, trastorno de habilidades motoras, trastornos de comunicación, trastornos generalizados del desarrollo, trastornos de déficit de atención y comportamiento disruptivo, trastorno de déficit de atención, hiperactividad con déficit de atención, trastornos de alimentación y comida de la infancia, niñez, o adultos, trastornos de tics, trastornos de eliminación, trastornos relacionados con sustancias, incluyendo pero sin limitarse a dependencia de sustancias, abuso de sustancias, intoxicación por sustancias, abstinencia de sustancias, trastornos relacionados con alcohol, trastornos relacionados con anfetaminas o similares de anfetaminas, trastornos relacionados con cafeína, trastornos relacionados con cannabis, trastornos relacionados con cocaína, trastornos relacionados con alucinógenos, trastornos relacionados con inhalantes, trastornos relacionados con nicotina, trastornos relacionados con opioides, trastornos relacionados con fenciclidina o similares de fenciclidina, y trastornos relacionados con sedantes, hipnóticos, o ansiolíticos, trastornos de personalidad incluyendo, pero sin limitarse a trastorno de personalidad obsesivo-compulsivo y trastornos de control de impulsos.

Los síntomas de la esquizofrenia se dividen generalmente en tres categorías: positivos, negativos y cognitivos. Los síntomas positivos, se pueden denominar también "síntomas psicóticos", e incluyen delirios y alucinaciones. "Positivo" se refiere a tener síntomas patentes. Los síntomas negativos incluyen aplanamiento emocional o falta de expresión, incapacidad de empezar y seguir adelante con actividades, discurso que es breve y carente de contenido, y una falta de placer o interés en las actividades. "Negativo" se refiere a una falta de ciertas características que de otro modo estarían presentes en un individuo sano. Los síntomas cognitivos se refieren a los procesos de pensamiento. Los síntomas cognitivos incluyen deficiencias cognitivas tales como la memoria, incluyendo la memoria de trabajo, función ejecutiva, atención, vigilancia, procesamiento de información y aprendizaje, con referencia a Sharma *et al.*, Cognitive Function in Schizophrenia: Deficits, Functional Consequences and Future Treatment, *Psychiatr. Clin. N. Am.* 26 (2003) 25-40. La esquizofrenia afecta también al estado de ánimo. Aunque muchas personas afectadas de esquizofrenia se deprimen, algunas también tienen aparentes cambios de humor e incluso estados tipo bipolar.

Las afecciones y trastornos anteriores se analizan con más detalle, por ejemplo, en la American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000. También se puede hacer referencia a este manual para un mayor detalle sobre los síntomas y características de diagnóstico asociados con el consumo, el abuso y la dependencia de sustancias.

Preferiblemente, el tratamiento o la prevención de enfermedades, trastornos y afecciones se produce sin efectos secundarios adversos apreciables, incluyendo, por ejemplo, aumentos significativos en la presión arterial y en la 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, se cree que modulan la actividad del NNR  $\alpha 7$  sin interacción apreciable con los subtipos nicotínicos que caracterizan a los ganglios humanos, como se demuestra por la falta de capacidad para provocar la función nicotínica en tejidos cromafines suprarrenales, o músculo esquelético, demostrado además por una falta de capacidad de provocar la función nicotínica en preparaciones celulares que expresan receptores nicotínicos de tipo muscular. Por lo tanto, se cree que estos compuestos son capaces de tratar o prevenir enfermedades, trastornos y afecciones sin provocar efectos

secundarios significativos asociados a la actividad en los sitios ganglionares y neuromusculares. Así, la administración de los compuestos se cree que provee una ventana terapéutica en la que se proporciona el tratamiento de determinadas enfermedades, trastornos y afecciones, y se evitan ciertos efectos secundarios. Es decir, una dosis eficaz del compuesto se cree que es suficiente para proporcionar los efectos deseados sobre la enfermedad, trastorno o afección, pero se cree que es insuficiente, es decir que no tiene un nivel suficientemente alto, para proporcionar efectos secundarios indeseables.

Por lo tanto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia, tal como una terapia descrita anteriormente.

En otro aspecto aún, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno del SNC, tal como un trastorno, enfermedad o afección descrita anteriormente.

### Inflamación

Se sabe que el sistema nervioso, principalmente a través del nervio vago, regula la magnitud de la respuesta inmunitaria innata mediante la inhibición de la liberación del factor de necrosis tumoral (TNF) de macrófagos. Este mecanismo fisiológico se conoce como la "ruta anti-inflamatoria colinérgica" (véase, por ejemplo, Tracey, "The inflammatory reflex," *Nature* 420: 853-9 (2002)). La inflamación excesiva y la síntesis del factor de necrosis tumoral provocan morbilidad e incluso mortalidad en diversas enfermedades. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a, endotoxemia, artritis reumatoide, osteoartritis, psoriasis, asma, aterosclerosis, fibrosis pulmonar idiopática, y enfermedad inflamatoria del intestino.

Las afecciones inflamatorias que se pueden tratar o prevenir administrando los compuestos descritos en la presente memoria, incluyen, pero no se limitan a, inflamación crónica y aguda, psoriasis, endotoxemia, gota, seudogota aguda, artritis gotosa aguda, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, polimiositis, dermatomiositis, espondilitis anquilosante, enfermedad de Still, enfermedad de Still del adulto, rechazo de aloinjertos, rechazo crónico de trasplantes, asma, aterosclerosis, lesión pulmonar dependiente de fagocitos mononucleares, fibrosis pulmonar idiopática, dermatitis atópica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome disneico agudo del adulto, síndrome torácico agudo en anemia de células falciformes, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colangitis aguda, estomatitis aftosa, pouchitis, glomerulonefritis, nefritis por lupus, trombosis, y reacción de injerto contra hospedador.

### Respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o vírica

Muchas infecciones bacterianas y/o víricas (por ejemplo, meningitis, hepatitis y nefritis) se asocian con efectos secundarios provocados por la formación de toxinas y la respuesta natural del cuerpo a las bacterias o virus y/o las toxinas. Como se ha expuesto anteriormente, la respuesta del cuerpo a la infección implica a menudo la generación de una cantidad significativa de TNF y/o otras citocinas. La sobre-expresión de estas citocinas puede dar como resultado una lesión significativa, tal como un síndrome de shock séptico (cuando la bacteria es sepsis), shock endotóxico, urosepsis, y shock tóxico

La expresión de citocinas está mediada por los NNR, y se puede inhibir administrando agonistas o agonistas parciales de estos receptores. Los compuestos descritos en esta memoria que son agonistas o agonistas parciales de estos receptores pueden ser utilizados por lo tanto para minimizar la respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana, así como con infecciones víricas y fúngicas. Ejemplos de tales infecciones bacterianas incluyen ántrax, botulismo y septicemia. Algunos de estos compuestos pueden tener también propiedades antimicrobianas.

Estos compuestos se pueden utilizar también como terapia adyuvante en combinación con terapias existentes para tratar infecciones bacterianas, víricas y fúngicas, tales como antibióticos, antivirales y antifúngicos. También se pueden usar antitoxinas para unirse con las toxinas producidas por los agentes infecciosos y permitir que las toxinas ligadas pasen a través del cuerpo sin generar una respuesta inflamatoria. Ejemplos de antitoxinas están descritos, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos N° 6.310.043 de Bundle *et al.* Otros agentes eficaces contra las toxinas bacterianas y otras toxinas pueden ser eficaces y su efecto terapéutico puede ser complementado por co-administración con los compuestos descritos en la presente memoria.

### Dolor

Los compuestos se pueden administrar para tratar y/o prevenir el dolor, incluyendo dolor agudo, neurológico, inflamatorio, neuropático y crónico. La actividad analgésica de los compuestos descritos en la presente memoria se puede demostrar en modelos de dolor inflamatorio persistente y de dolor neuropático, realizados como se describe en la Solicitud de patente publicada de Estados Unidos N° 20010056084 A1 (Allgeier *et al.*), en donde se demuestra hiperalgesia en el modelo de dolor inflamatorio en rata con adyuvante completo de Freund e hiperalgesia mecánica en el modelo de dolor neuropático de ligadura parcial del nervio ciático de ratón.

El efecto analgésico es adecuado para tratar el dolor de diversa génesis o etiología, en particular en el tratamiento del dolor inflamatorio e hiperalgesia asociada, dolor neuropático e hiperalgesia asociada, dolor crónico (por ejemplo, dolor crónico grave, dolor post-operatorio, y dolor asociado con diversas enfermedades, incluyendo cáncer, angina, cólico renal o biliar, menstruación, migraña, y gota). El dolor inflamatorio puede ser de diversa génesis, incluyendo artritis y enfermedad reumatoide, teno-sinovitis y vasculitis. El dolor neuropático incluye neuralgia del trigémino o neuralgia herpética, dolor neuropático diabético, causalgia, lumbalgia, y síndromes de desaferenciación tales como avulsión del plexo braquial.

### Neovascularización

El NNR  $\alpha 7$  se asocia con la neovascularización. La inhibición de la neovascularización, por ejemplo, administrando antagonistas (o en ciertas dosis, agonistas parciales) del NNR  $\alpha 7$  puede tratar o prevenir afecciones caracterizadas por neovascularización o angiogénesis indeseable. Tales afecciones pueden incluir las caracterizadas por angiogénesis inflamatoria y/o angiogénesis inducida por isquemia. La neovascularización asociada con el crecimiento tumoral también se puede inhibir administrando los compuestos descritos en la presente memoria que funcionan como antagonistas o agonistas parciales de NNR  $\alpha 7$ .

El antagonismo específico de la actividad específica de NNR  $\alpha 7$  reduce la respuesta angiogénica a la inflamación, isquemia y neoplasia. Pueden encontrarse directrices sobre sistemas de modelos animales apropiados para evaluar los compuestos descritos en esta memoria, por ejemplo, en Heeschen, C. *et al.*, "A novel angiogenic pathway mediated by non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors," J. Clin. Invest. 110(4): 527-36 (2002), con respecto a la divulgación de la inhibición de la angiogénesis específica de  $\alpha 7$  y el modelo celular (*in vitro*) y animal de actividad angiogénica relevante para enfermedades humanas, especialmente el modelo de tumor de pulmón de Lewis (*in vivo*), en ratones – véase, en particular, las páginas 529 y 532-533).

Los tipos representativos de tumores que se pueden tratar utilizando los compuestos descritos en la presente memoria incluyen NSCLC (cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de colon, carcinoma de recto, carcinoma de pulmón, carcinoma de orofaringe, carcinoma de hipofaringe, carcinoma de esófago, carcinoma de estómago, carcinoma de páncreas, carcinoma de hígado, carcinoma de la vesícula biliar, carcinoma del conducto biliar, carcinoma del intestino delgado, carcinoma del tracto urinario, carcinoma de riñón, carcinoma de vejiga, carcinoma de urotelio, carcinoma de tracto genital femenino, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de útero, carcinoma de ovario, coriocarcinoma, enfermedad trofoblástica gestacional, carcinoma del tracto genital masculino, carcinoma de próstata, carcinoma de vesículas seminales, carcinoma de testículos, tumores de células germinales, carcinoma de glándulas endocrinas, carcinoma de tiroides, carcinoma suprarrenal, carcinoma de la hipófisis, carcinoma de piel, hemangiomas, melanomas, sarcomas, sarcoma del hueso y de tejido blando, sarcoma de Kaposi, tumores del cerebro, tumores de los nervios, tumores de los ojos, tumores de las meninges, astrocitomas, gliomas, glioblastomas, retinoblastomas, neuromas, neuroblastomas, schwannomas, meningiomas, tumores sólidos derivados de tumores malignos hematopoyéticos (tales como leucemias, cloromas, plasmocitomas, y las placas y tumores de micosis fungoides y linfoma/leucemia cutánea de células T), y tumores sólidos que surgen de linfomas.

Los compuestos se pueden administrar también en combinación con otras formas de tratamiento anticáncer, incluyendo la coadministración con agentes antitumorales antineoplásicos, tales como cis-platino, adriamicina, daunomicina, y similares, y/o agentes anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), como se conocen en la técnica.

Los compuestos se pueden administrar de tal manera que se dirijan al sitio del tumor. Por ejemplo, los compuestos se pueden administrar en microesferas, micropartículas o liposomas conjugados con varios anticuerpos que dirigen las micropartículas al tumor. Además, los compuestos pueden estar presentes en microesferas, micropartículas o liposomas que son de tamaño apropiado para pasar, a través de las arterias y las venas, pero que se alojan en los lechos capilares que rodean a los tumores y que administran los compuestos localmente al tumor. Esos dispositivos de administración de fármacos son conocidos en la técnica.

### Otros trastornos

Además de tratar trastornos del sistema nervioso central, inflamación, neovascularización, y dolor, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar también para prevenir o tratar ciertas otras afecciones, enfermedades y trastornos en los que los NNR desempeñan un papel. Los ejemplos incluyen trastornos autoinmunitarios tales como lupus, trastornos asociados con liberación de citocinas, caquexia secundaria a infección (por ejemplo, como ocurre en el SIDA, complejo relacionado con el SIDA y neoplasia), trastornos metabólicos, incluyendo diabetes tipo I, diabetes tipo II, síndrome metabólico, obesidad, o hiperglucemia, penfitis, incontinencia urinaria, enfermedades retinales, enfermedades infecciosas, miastenia, síndrome de Eaton-Lambert, hipertensión, osteoporosis, vasoconstricción, vasodilatación, arritmias cardíacas, bulimia, anorexia, así como las indicaciones expuestas en la solicitud PCT publicada WO 98/25619. Los compuestos de esta invención se pueden administrar también para tratar convulsiones tales como las que son sintomáticas de la epilepsia, y para tratar afecciones tales como la sífilis y la enfermedad de Creutzfeld-Jakob.

## Usos de diagnóstico

Se describen también en la presente memoria, compuestos que se pueden utilizar en composiciones de diagnóstico, tales como sondas, particularmente cuando se modifican para incluir marcadores apropiados. Las sondas se pueden utilizar, por ejemplo, para determinar el número relativo y/o la función de los receptores específicos, en particular del subtipo de receptor  $\alpha 7$ . Para este fin, los compuestos de la presente invención se marcan más preferiblemente con un resto isotópico radiactivo tal como  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{123}\text{I}$  o  $^{125}\text{I}$ .

Los compuestos administrados se pueden detectar utilizando métodos de detección conocidos apropiados para la marca utilizada. Ejemplos de métodos de detección incluyen tomografía de emisión de positrones (PET) y tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT). Los radiomarcadores descritos anteriormente son útiles en captura de imágenes por PET (por ejemplo,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$  o  $^{76}\text{Br}$ ) y SPECT (por ejemplo,  $^{123}\text{I}$ ), con semividas de aproximadamente 20,4 minutos para  $^{11}\text{C}$ , aproximadamente 109 minutos para  $^{18}\text{F}$ , aproximadamente 13 horas para  $^{123}\text{I}$ , y aproximadamente 16 horas para  $^{76}\text{Br}$ . Se desea una actividad específica alta para visualizar los subtipos de receptores seleccionados a concentraciones de no saturación. Las dosis administradas normalmente están por debajo del intervalo tóxico y proporcionan imágenes de alto contraste. Se espera que los compuestos puedan administrarse a niveles no tóxicos. La determinación de la dosis se lleva a cabo de una manera conocida por los expertos en la técnica de captura de imágenes radiomarcadas. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 5.969.144 de London *et al.*

Los compuestos se pueden administrar usando técnicas conocidas. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 5.969.144 de London *et al.*, como se ha indicado. Los compuestos se pueden administrar en composiciones de formulación que incorporan otros ingredientes, tales como los tipos de ingredientes que son útiles en la formulación de una composición de diagnóstico. Compuestos útiles de acuerdo con la realización de la presente invención se emplean más preferiblemente en forma de alta pureza. Véase la patente de Estados Unidos N° 5.853.696 de Elmalch *et al.*

Una vez que se han administrado los compuestos a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano), puede capturarse una imagen de la presencia de dicho compuesto dentro del sujeto y puede cuantificarse por técnicas apropiadas para indicar la presencia, cantidad y funcionalidad de los subtipos seleccionados de NNR. Además de los seres humanos, los compuestos también se pueden administrar a animales, tales como ratones, ratas, perros y monos. La captura de imágenes por SPECT y PET se puede llevar a cabo utilizando cualquier técnica y aparato apropiado. Véase Villemagne *et al.*, en: Americ *et al.* (Eds.) *Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*, 235-250 (1998) y la patente de Estados Unidos N° 5.853.696 de Elmalch *et al.*

Los compuestos radiomarcados se unen con alta afinidad a subtipos selectivos de NNR (por ejemplo,  $\alpha 7$ ) y presentan preferiblemente uniones no específicas insignificantes con otros subtipos de receptores nicotínicos colinérgicos (por ejemplo, aquellos subtipos de receptores asociados con músculos y ganglios). Por ello, los compuestos se pueden usar como agentes para captura de imágenes no invasiva, de subtipos de receptores nicotínicos colinérgicos dentro del cuerpo de un sujeto, particularmente dentro del cerebro para el diagnóstico asociado con una variedad de enfermedades y trastornos del SNC.

Las composiciones de diagnóstico se pueden utilizar en un método para diagnosticar una enfermedad en un sujeto, tal como un paciente humano. El método implica administrar a dicho paciente un compuesto marcado de manera detectable como se describe aquí, y detectar la unión de dicho compuesto con los subtipos seleccionados de NNR (por ejemplo, subtipo de receptor  $\alpha 7$ ). Los expertos en la técnica de utilización de herramientas de diagnóstico, tales como PET y SPECT, pueden usar los compuestos radiomarcados descritos aquí para diagnosticar una amplia variedad de afecciones y trastornos, incluyendo las afecciones y trastornos asociados con disfunción del sistema nervioso central y del sistema nervioso autónomo. Tales trastornos incluyen una amplia variedad de enfermedades y trastornos del SNC, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y esquizofrenia. Estas y otras enfermedades y trastornos representativos que pueden ser evaluados incluyen los que se indican en la patente de Estados Unidos N° 5.952.339 de Bencherif *et al.*

Las composiciones de diagnóstico se pueden utilizar en un método para monitorizar los subtipos selectivos de receptores nicotínicos de un sujeto, tal como un paciente humano. El método implica administrar un compuesto marcado de forma detectable como se describe aquí a ese paciente y detectar la unión de dicho compuesto con los subtipos seleccionados de receptores nicotínicos, concretamente el subtipo de receptor  $\alpha 7$ .

## Unión al receptor

Los compuestos de esta invención se pueden utilizar como ligandos de referencia en ensayos de unión para compuestos que se unen con subtipos de NNR, en particular el subtipo de receptor  $\alpha 7$ . Para este fin, los compuestos de esta invención se marcan preferiblemente con un resto radioactivo isotópico tal como  $^3\text{H}$ , o  $^{14}\text{C}$ .

## V. Ejemplos sintéticos

Los siguientes ejemplos sintéticos se proporcionan para ilustrar la presente invención y no se deben interpretar como limitantes del alcance de la misma. En estos ejemplos, todas las partes y porcentajes están en peso, a menos que se indique otra cosa. Todas las soluciones son acuosas a menos que se indique otra cosa.

5 **Ejemplo 1: Síntesis a pequeña escala de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida (Compuesto A) y su enantiómero, (2R,3S)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

2-((3-Piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona

Se disolvió hidróxido de potasio (56 g, 0,54 mol) en metanol (420 mL). Se añadió hidrocloreto de 3-quinuclidinona (75 g, 0,49 mol) y se agitó la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente. Se añadió 3-piridincarboxaldehído (58 g, 0,54 mol) y la mezcla se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se volvió amarilla durante este período, con depósito de sólidos endurecidos sobre las paredes del matraz. Se rasparon los sólidos de las paredes y se rompieron los pedazos. Con una agitación rápida, se añadió agua (390 mL). Cuando se disolvieron los sólidos, se enfrió la mezcla a 4 °C durante la noche. Se recogieron los cristales por filtración, se lavaron con agua y se secaron al aire para obtener 80 g de un sólido amarillo. Se obtuvo una segunda cosecha (8 g) por concentración del filtrado hasta ~10 % de su volumen anterior y enfriamiento a 4 °C durante la noche. Ambas cosechas fueron suficientemente puras para su posterior transformación (88 g, 82 % de rendimiento).

2-((3-Piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona

Se suspendió 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (20 g, 93 mmol) en metanol (200 mL) y se trató con 46 mL de ácido clorhídrico 6 M. Se añadió paladio al 10 % sobre carbón (1,6 g) y se agitó la mezcla bajo hidrógeno a 172 kPa (25 psi) durante 16 h. Se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas, y se separó el disolvente del filtrado por evaporación rotatoria. Esto proporcionó hidrocloreto de 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona crudo, como una goma blanca (20 g), que se trató posteriormente con hidróxido de sodio 2 M (50 mL) y cloroformo (50 mL) y se agitó durante una hora. Se separó la capa de cloroformo, y la fase acuosa se trató con hidróxido de sodio 2 M (~ 5 mL, suficiente para subir el pH a 10) y cloruro de sodio acuoso saturado (25 mL). Esta mezcla acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 10 mL), y los extractos de cloroformo reunidos se secaron (sulfato de magnesio anhidro) y se concentraron por evaporación rotatoria. Se disolvió el residuo (18 g) en éter caliente (320 mL) y se enfrió a 4 °C. El sólido blanco se separó por filtración, se lavó con una pequeña porción de éter frío y se secó al aire. La concentración del filtrado hasta ~10 % de su volumen anterior y el enfriamiento a 4 °C produjeron una segunda cosecha. Se obtuvo un rendimiento conjunto de 16 g (79 %)

3-Amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano

A una solución en agitación de 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (3,00 g, 13,9 mmol) en metanol seco (20 mL), bajo nitrógeno, se añadió una solución 1 M de cloruro de cinc en éter (2,78 mL, 2,78 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 min, se trató esta mezcla con formiato de amonio sólido (10,4 g, 167 mmol). Después de agitar durante otra hora a temperatura ambiente, se añadió cianoborohidruro de sodio sólido (1,75 g, 27,8 mmol) en porciones. Se agitó entonces la reacción a temperatura ambiente durante la noche y se terminó por adición de agua (~ 5 mL). La reacción sofocada se sometió a reparto entre hidróxido de sodio 5 M (10 mL) y cloroformo (20 mL). La capa acuosa se extrajo con cloroformo (20 mL), y las capas orgánicas reunidas se secaron (sulfato de sodio), se filtraron y se concentraron. Esto dejó 2,97 g de una goma amarilla. El análisis por GCMS indicó que el producto era una mezcla 1:9 de las aminas *cis* y *trans*, junto con trazas del alcohol correspondiente (98 % de recuperación total, en masa).

(2R,3S) y (2S,3R)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano

Se añadió ácido Di-p-toluoil-D-tartárico (5,33 g, 13,8 mmol) a una solución en agitación de 3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano crudo (6,00 g, 27,6 mmol de *cis/trans* 1:9) en metanol (20 mL). Después de disolución completa, la solución límpida se concentró entonces hasta una masa sólida mediante evaporación rotatoria. Se disolvió el sólido en una cantidad mínima de metanol hirviendo (~5 mL). Se enfrió la solución lentamente, primero a temperatura ambiente (1 h), después, durante ~4 h a 5 °C y, finalmente, a -5 °C durante la noche. Se recogió la sal precipitada mediante filtración por succión y se recristalizó en 5 mL de metanol. El secado al aire dejó 1,4 g de sólido blanco, que se sometió a reparto entre cloroformo (5 mL) e hidróxido de sodio 2 M (5 mL). La capa de cloroformo y un extracto clorofórmico de 5 mL de la capa acuosa se reunieron, se secaron (sulfato de sodio anhidro) y se concentraron para dar un aceite incoloro (0,434 g). La pureza enantiomérica de esta base libre se determinó por conversión de una porción en su N-(terc-butoxicarbonil)-L-prolinamida, que fue analizada entonces para determinar la pureza diastereoisomérica (98 %) utilizando LCMS.

Las aguas madre de la cristalización inicial se basificaron (pH ~ 11) con hidróxido de sodio 2 M y se extrajeron dos veces con cloroformo (10 mL). Los extractos clorofórmicos se secaron (sulfato de sodio anhidro) y se concentraron para dar un aceite. Esta amina (3,00 g, 13,8 mmol) se disolvió en metanol (10 mL) y se trató con ácido di-p-toluoil-L-tartárico (2,76 g, 6,90 mmol). Se calentó la mezcla para ayudar a la disolución y después se enfrió lentamente a -5



°C, donde se mantuvo durante la noche. El precipitado se recogió mediante filtración por succión, se recrystalizó en metanol y se secó. Esto dejó 1,05 g de un sólido blanco. La sal se convirtió en la base libre (rendimiento = 0,364 g), y la pureza enantiomérica (97 %) se evaluó usando el método de prolinamida, como se ha descrito anteriormente para el otro enantiómero.

5 Enantiómero trans A de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida

Se añadió gota a gota difenilclorofosfato (0,35 mL, 0,46 g, 1,7 mmol) a una solución de ácido benzofuran-2-carboxílico (0,28 g, 1,7 mmol) y trietilamina (0,24 mL, 0,17 g, 1,7 mmol) en diclorometano seco (5 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 min, se añadió una solución de (2S,3R)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (0,337 g, 1,55 mmol) (que se deriva de la sal de ácido di-p-toluoil-D-tartárico) y trietilamina (0,24 mL, 0,17 g, 1,7 mmol) en diclorometano seco (5 mL). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente, y después se trató con hidróxido de sodio al 10 % (1 mL). Se separó la mezcla bifásica, y la capa orgánica se concentró en un evaporador centrífugo Genevac. El residuo se disolvió en metanol (6 mL) y se purificó por HPLC sobre una columna de gel de sílice C18, utilizando un gradiente de acetonitrilo/agua, que contenía 0,05 % de ácido trifluoroacético, como eluyente. La concentración de las fracciones seleccionadas, el reparto del residuo resultante entre cloroformo y bicarbonato de sodio acuoso saturado, y la evaporación del cloroformo dio 0,310 g (42 % de rendimiento) de polvo blanco (95 % de pureza por GC-MS). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,51 (d, 1H), 8,34 (dd, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,58 (dt, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,13 (dd, 1H), 6,63 (d, 1H), 3,95 (t, 1H), 3,08 (m, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,78 (m, 2H), 2,03 (m, 1H), 1,72 (m, 3H), 1,52 (m, 1H).

Se determinó más tarde que este material (enantiómero trans A) era idéntico, por análisis cromatográfico quiral, al material cuya configuración absoluta es 2S,3R (determinado por análisis cristalográfico de rayos X).

Enantiómero trans B de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida

Se añadió gota a gota difenilclorofosfato (96 µL, 124 mg, 0,46 mmol) a una solución de ácido benzofuran-2-carboxílico (75 mg, 0,46 mmol) y trietilamina (64 µL, 46 mg, 0,46 mmol) en diclorometano seco (1 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 45 min, se añadió una solución de (2R,3S)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (0,10 g, 0,46 mmol) (que se deriva de la sal de ácido di-p-toluoil-L-tartárico) y trietilamina (64 mL, 46 mg, 0,46 mmol) en diclorometano seco (1 mL). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente, y después se trató con hidróxido de sodio al 10 % (1 mL). Se separó la mezcla bifásica, y la capa orgánica y el extracto clorofórmico (2 mL) de la capa acuosa se concentraron por evaporación rotatoria. El residuo se disolvió en metanol y se purificó por HPLC en una columna de gel de sílice C18, utilizando un gradiente de acetonitrilo/agua, que contenía 0,05 % de ácido trifluoroacético, como eluyente. La concentración de las fracciones seleccionadas, el reparto del residuo resultante entre cloroformo y bicarbonato de sodio acuoso saturado, y la evaporación del cloroformo dio 82,5 mg (50 % de rendimiento) de un polvo blanco. El espectro de NMR fue idéntico al obtenido para el isómero 2S,3R. Dado que el precursor inmediato de este material (enantiómero trans B) es enantiomérico con el precursor inmediato del compuesto 2S,3R (enantiómero trans A), la configuración absoluta del enantiómero trans B se supone que es 2R,3S.

**Ejemplo 2: Síntesis a gran escala de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida y sal p-toluenosulfonato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-1-benzofuran-2-carboxamida**

2-((3-Piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona

Se añadieron hidrocloreuro de 3-quinuclidinona (8,25 kg, 51,0 mol) y metanol (49,5 L) a un matraz de reacción, de vidrio, de 100 L, bajo atmósfera de nitrógeno, equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura, y un condensador. Se añadió hidróxido de potasio (5,55 kg, 99,0 mol) a través de un embudo de polvo durante un periodo de aproximadamente 30 min, dando como resultado un aumento de la temperatura de reacción de 50 °C a 56 °C. Durante un periodo de aproximadamente 2 h, se añadió 3-piridincarboxaldehído (4,80 kg, 44,9 mol) a la mezcla de reacción. Se agitó la mezcla resultante a 20 °C ± 5 °C durante un mínimo de 12 h, y la reacción se monitorizó por cromatografía en capa fina (TLC). Una vez completada la reacción, se filtró la mezcla de reacción a través de un embudo de vidrio sinterizado y la torta del filtro se lavó con metanol (74,2 L). Se concentró el filtrado, se transfirió a un matraz de reacción, y se añadió agua (66,0 L). Se agitó la suspensión durante un mínimo de 30 min, se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua (90,0 L) hasta que el pH del lavado fue 7-9. Se secó el sólido a vacío a 50 °C ± 5 °C durante un mínimo de 12 h para dar 8,58 kg (89,3 %) de 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona.

Sal di-p-toluoil-D-tartrato de (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona

Se añadieron 2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (5,40 kg, 25,2 mol) y metanol (40,5 L) a un recipiente de reacción de 72 L, en atmósfera inerte, equipado con un agitador mecánico, sonda de temperatura, sistema de regulación de gas a baja presión y manómetro. El espacio superior vacío se llenó con nitrógeno, y se agitó la mezcla para obtener una solución de color amarillo claro. Se añadió al matraz paladio al 10 % sobre carbón (50 % de humedad) (270 g). La atmósfera del reactor se evacuó utilizando una bomba de vacío, y el espacio superior vacío fue reemplazado con hidrógeno a 2,49-4,98 kPa (10 a 20 pulgadas de agua) de presión. La

5 evacuación y presurización con hidrógeno se repitieron 2 veces más, dejando el reactor bajo 4,98 kPa (20 pulgadas de agua) de presión de gas hidrógeno después de la tercera presurización. Se agitó la mezcla de reacción a 20 °C ± 5 °C durante un mínimo de 12 h, y se monitorizó la reacción por TLC. Una vez completada la reacción, se filtró la suspensión a través de un lecho de Celite®545 (1,9 kg) en un embudo de vidrio sinterizado, y la torta del filtro se lavó con metanol (10,1 L). Se concentró el filtrado para obtener un semi-sólido que se transfirió, bajo atmósfera de nitrógeno, a un matraz de reacción de 200 L equipado con un agitador mecánico, condensador y sonda de temperatura. Se disolvió el residuo semi-sólido en etanol (57,2 L), y se añadió ácido di-p-toluoil-D-tartárico (DTTA) (9,74 kg, 25,2 mol). Se calentó la mezcla de reacción en agitación a reflujo, durante un mínimo de 1 h, y durante un mínimo adicional de 12 h, mientras se enfriaba la reacción entre 15 °C y 30 °C. Se filtró la suspensión utilizando un filtro de mesa, y la torta del filtro se lavó con etanol (11,4 L). El producto se secó a vacío a temperatura ambiente para obtener 11,6 kg (76,2 % de rendimiento, 59,5 % corregido en cuanto a pureza) de sal di-p-toluoil-D-tartrato de (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona.

Sal di-p-toluoil-D-tartrato de (2S,3R)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano

15 Se añadieron agua (46,25 L) y bicarbonato de sodio (4,35 kg, 51,8 mol) a un matraz de 200 L. Cuando la disolución fue completa, se añadió diclorometano (69,4 L). Se añadió sal di-p-toluoil-D-tartrato de (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (11,56 kg, 19,19 mol), y la mezcla de reacción se agitó entre 2 min y 10 min. Se dejaron separar las capas durante un mínimo de 2 min (se añadió agua adicional (20 L) cuando fue necesario para el reparto de las capas). Se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se añadió diclorometano (34,7 L) a la fase acuosa restante, y se agitó la suspensión entre 2 min y 10 min. Se dejaron separar las capas entre 2 min y 10 min. Una vez más, se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La extracción de la fase acuosa con diclorometano (34,7 L) se repitió una vez más, como antes. Las muestras de cada extracción se sometieron a análisis por HPLC quiral. Se separó el sulfato de sodio por filtración, y los filtrados se concentraron para obtener (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (4,0 kg) como un sólido

25 La (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona (3,8 kg) se transfirió a un matraz de reacción, de vidrio, limpio, de 100 L, bajo atmósfera de nitrógeno, equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura. Se añadieron tetrahidrofurano anhidro (7,24 L) y (+)-(R)- $\alpha$ -metilbencilamina (2,55 L, 20,1 mol). Se añadió isopropóxido de titanio(IV) (6,47 L 21,8 mol) a la mezcla de reacción en agitación durante un período de 1 h. Se agitó la reacción bajo atmósfera de nitrógeno durante un mínimo de 12 h. Se añadió etanol (36,17 L) a la mezcla de reacción. Se enfrió la mezcla de reacción por debajo -5 °C, y se añadió borohidruro de sodio (1,53 kg, 40,5 mol) en porciones, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 15 °C (esta adición tardó varias horas). La mezcla de reacción se agitó entonces a 15 °C ± 10 °C durante un mínimo de 1 h. Se monitorizó la reacción por HPLC, y cuando la reacción fue completa (como se indica por menos de 0,5 % de (2S)-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-ona restante), se añadió hidróxido de sodio 2 M (15,99 L) y se agitó la mezcla durante un mínimo de 10 min. Se filtró la mezcla de reacción por un lecho de Celite®545 en un embudo de mesa. La torta del filtro se lavó con etanol (15,23 L), y se concentró el filtrado para obtener un aceite.

40 Se transfirió el concentrado a un matraz de reacción, de vidrio, limpio, de 100 L, equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura, en atmósfera inerte. Se añadió agua (1 L), y se enfrió la mezcla a 0 °C ± 5 °C. Se añadió a la mezcla ácido clorhídrico 2 M (24 L) para ajustar el pH de la mezcla a pH 1. Se agitó entonces la mezcla durante un mínimo de 10 min, y se añadió lentamente hidróxido de sodio 2 M (24 L) para ajustar el pH de la mezcla a pH 14. Se agitó la mezcla durante un mínimo de 10 min, y se extrajo la fase acuosa con diclorometano (3 x 15,23 L). Las fases orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (2,0 kg), se filtraron, y se concentraron para dar (2S,3R)-N-((1R)-feniletil)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (4,80 kg, 84,7 % de rendimiento).

45 El (2S,3R)-N-((1R)-feniletil)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano se transfirió a un matraz de vidrio de 22 L equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura, en atmósfera inerte. Se añadió agua (4,8 L), y la mezcla en agitación se enfrió a 5 °C ± 5 °C. Se añadió lentamente al matraz de reacción ácido clorhídrico concentrado (2,97 L), manteniendo la temperatura de la mezcla por debajo de 25 °C. La solución resultante se transfirió a un matraz de reacción de 72 L que contenía etanol (18 L), equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura, y un condensador, en atmósfera inerte. Se añadieron al matraz, paladio al 10 % sobre carbón (50 % de humedad) (311,1 g) y ciclohexeno (14,36 L). La mezcla de reacción se calentó a casi reflujo durante un mínimo de 12 h, y se monitorizó la reacción por TLC. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla de reacción por debajo de 45 °C, y se filtró por un lecho de Celite®545 (1,2 kg) sobre un embudo de vidrio sinterizado. Se lavó la torta del filtro con etanol (3 L) y se concentró el filtrado para obtener una fase acuosa. Se añadió agua (500 mL) al filtrado concentrado, y esta capa acuosa reunida se lavó con metil terc-butil éter (MTBE) (2 x 4,79 L). Se añadió hidróxido de sodio 2 M (19,5 L) a la fase acuosa para ajustar el pH de la mezcla a pH 14. Se agitó entonces la mezcla durante un mínimo de 10 min. Se extrajo la fase acuosa con cloroformo (4 x 11,96 L), y las fases orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (2,34 kg). Se filtró y se concentró el filtrado para obtener (2S,3R)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (3,49 kg, rendimiento > cuantitativo) como un aceite.

60 El (2S,3R)-3-amino-2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano se transfirió a un matraz de reacción, limpio, de 100 L, equipado con un agitador mecánico, un condensador y una sonda de temperatura, en atmósfera inerte. Se

añadieron etanol (38,4 L) y ácido di-*p*-toluolil-D-tartárico (3,58 kg, 9,27 mol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo suave durante un mínimo de 1 h. Se agitó entonces la mezcla de reacción durante un mínimo de 12 h mientras se enfriaba entre 15 °C y 30 °C. Se filtró la mezcla resultante y se lavó la torta del filtro con etanol (5,76 L). La torta del filtro se transfirió a un matraz de reacción, de vidrio, limpio, de 100 L equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura, y un condensador bajo atmósfera inerte. Se añadió una solución de etanol/agua 9:1 (30,7 L), y la suspensión resultante se calentó a reflujo suave durante un mínimo de 1 h. Se agitó entonces la mezcla de reacción durante un mínimo de 12 h mientras se enfriaba entre 15 °C y 30 °C. Se filtró la mezcla y la torta del filtro se lavó con etanol (5,76 L). Se recogió el producto y se secó a vacío a 50 °C ± 5 °C durante un mínimo de 12 h para dar 5,63 kg (rendimiento 58,1 %) de sal di-*p*-toluolil-D-tartrato de (2*S*,3*R*)-3-amino-2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano.

(2*S*,3*R*)-*N*-(2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida

Se añadieron sal di-*p*-toluolil-D-tartrato de (2*S*,3*R*)-3-amino-2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (3,64 kg, 5,96 mol) y solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (14,4 L, 46,4 mol) a un matraz de reacción, de vidrio, de 72 L, equipado con un agitador mecánico bajo atmósfera inerte. Se añadió hidróxido de sodio 5 M (5,09 L) a la mezcla en agitación para ajustar el pH de la mezcla a pH 14. Se agitó entonces la mezcla durante un mínimo de 10 min. Se extrajo la solución acuosa con cloroformo (4 x 12,0 L), y las capas orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (1,72 kg). Se filtraron las capas orgánicas reunidas, y se concentró el filtrado para obtener (2*S*,3*R*)-3-amino-2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano (1,27 kg) como un aceite.

El (2*S*,3*R*)-3-amino-2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octano se transfirió a un matraz de reacción, de vidrio, de 50 L, equipado con un agitador mecánico bajo atmósfera inerte. Se añadieron a la mezcla de reacción diclorometano (16,5 L), trietilamina (847 mL, 6,08 mol), ácido benzofuran-2-carboxílico (948 g, 5,85 mol) y *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N*,1-hexafluorofosfato de tetrametiluronio (HBTU) (2,17 kg, 5,85 mol). Se agitó la mezcla durante un mínimo de 4 horas a temperatura ambiente, y se monitorizó la reacción por HPLC. Una vez completada la reacción, se añadió a la mezcla de reacción carbonato de potasio acuoso al 10 % (12,7 L, 17,1 mol) y se agitó la mezcla durante un mínimo de 5 min. Se separaron las capas y la fase orgánica se lavó con salmuera al 10 % (12,7 L). Se separaron las capas y la fase orgánica se enfrió a 15 °C ± 10 °C. Se añadió lentamente ácido clorhídrico 3 M (8,0 L) a la mezcla de reacción para ajustar el pH de la mezcla a pH 1. Se agitó después la mezcla durante un mínimo de 5 min, y las capas se sometieron a reparto durante un mínimo de 5 min. Se filtraron los sólidos utilizando un filtro de mesa. Se separaron las capas del filtrado y la fase acuosa y los sólidos del embudo se transfirieron al matraz de reacción. Se añadió lentamente al matraz hidróxido de sodio 3 M (9,0 L), en porciones, para ajustar el pH de la mezcla a pH 14. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (2 x 16,5 L). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (1,71 kg). Se filtró la mezcla, y el filtrado se concentró para dar (2*S*,3*R*)-*N*-(2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida (1,63 kg, 77,0 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

*p*-Toluenosulfonato de (2*S*,3*R*)-*N*-(2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il) benzofuran-2-carboxamida

Se añadieron a una garrafa (2*S*,3*R*)-*N*-(2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-il)benzofuran-2-carboxamida (1,62 kg, 4,48 mol) y diclorometano (8,60 kg). El porcentaje del material en solución, peso/peso, se determinó por análisis de HPLC. Se concentró la solución hasta un aceite, se añadió acetona (4 L), y se concentró la mezcla hasta un sólido oleoso. Se añadió más acetona (12 L) al sólido oleoso en el bulbo del evaporador rotatorio, y la suspensión resultante se transfirió a un matraz de reacción, de vidrio, de 50 L con un agitador mecánico, una sonda de temperatura, y un condensador bajo atmósfera inerte. Se calentó la mezcla de reacción a 50 °C ± 5 °C. Se añadió a la solución agua (80,7 g), y se agitó durante un mínimo de 10 min. Se añadió a la mezcla de reacción ácido *p*-toluenosulfónico (853 g, 4,44 mol) en porciones durante aproximadamente 15 min. Se calentó la mezcla de reacción a reflujo y se mantuvo a esa temperatura durante un mínimo de 30 minutos para obtener una solución. Se enfrió la reacción a 40 °C ± 5 °C durante aproximadamente 2 h. Se añadió acetato de isopropilo (14,1 L) durante aproximadamente 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió lentamente a temperatura ambiente durante un mínimo de 10 h. Se filtró la mezcla y la torta del filtro se lavó con acetato de isopropilo (3,5 L). El producto aislado se secó al vacío a 105 °C ± 5 °C entre 2 h y 9 h para dar 2,19 kg (88,5 % de rendimiento) de *p*-toluenosulfonato de (2*S*,3*R*)-*N*-(2-((3-*piridinil*)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, punto de fusión (p.f.) 226-228 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,78 (m, J = 5,1, 1H), 7,63 (d, J = 7,9, 1H), 7,54 (d, J = 7,8, 1H), 7,49 (d, J = 8,1, 2H), 7,37 (m, J = 8,3, 1H), 7,33 (m, J = 8,3, 6,9, 1,0, 1H), 7,18 (m, J = 7,8, 6,9, 1,0, 1H), 7,14 (d, J = 8,1, 2H), 7,09 (s, 1H), 6,99 (dd, J = 7,9, 5,1, 1H), 4,05 (m, J = 7,7, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 3,28 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 3,15 (dd, J = 13,2, 4,7, 1H), 3,02 (dd, J = 13,2, 11,5, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,02 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,79 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 157,2, 154,1, 150,1, 148,2, 146,4, 145,2, 138,0, 137,0, 130,9, 128,2 (2), 126,9, 126,8, 125,5 (2), 123,7, 123,3, 122,7, 111,7, 100,7, 61,3, 50,2, 48,0, 40,9, 33,1, 26,9, 21,5, 20,8, 17,0.

Muestras de este material se convirtieron en el Compuesto A base libre (para uso en los estudios de selección de sales) por tratamiento con hidróxido de sodio acuoso y extracción con cloroformo. La evaporación completa del cloroformo dejó un polvo casi blanco, p.f. 167-170 °C, con las siguientes características espectrales: MS por electropulverización de iones positivos [M + H]<sup>+</sup> m/z de iones = 362. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,53 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 8,43 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 8,28 (dd, J = 1,6, 4,7 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,63 (dt, J = 1,7, 7,7 Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,46 (m, J = 8,5, 7,5 Hz, 1H), 7,33 (m, J = 7,7, 7,5 Hz, 1H), 7,21 (dd, J =

4,7, 7,7 Hz, 1H), 3,71 (m, J = 7,6 Hz, 1H), 3,11 (m, 1H), 3,02 (m, 1H), 2,80 (m, 2H), 2,69 (m, 2H), 2,55 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,56 (m, 1H), 1,26 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 158,1, 154,1, 150,1, 149,1, 146,8, 136,4, 135,4, 127,1, 126,7, 123,6, 122,9, 122,6, 111,8, 109,3, 61,9, 53,4, 49,9, 40,3, 35,0, 28,1, 26,1, 19,6.

- 5 La sal monohidrocloruro del Compuesto A (véase el Ejemplo 5) se sometió a análisis cristalográfico por rayos X. La estructura cristalina resultante (mostrada en las figuras 10A y 10B, respectivamente) estableció la configuración absoluta 2S,3R del Compuesto A.

**Ejemplo 3: Síntesis de la sal fosfato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

- 10 Se añadieron a un matraz de fondo redondo (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (8,18 g, 22,6 mmol) y 2-propanol (180 mL). Se agitó la mezcla y se calentó a 65-70 °C hasta que se disolvieron todos los sólidos. La solución se agitó vigorosamente a 65-70 °C, y se añadió ácido fosfórico (1,65 mL, 24,3 mmol) gota a gota con una pipeta. Inmediatamente se formó un sólido blanco granular. Se agitó la mezcla a 65-70 °C durante 30 minutos, se enfrió a temperatura ambiente (23 °C) y se agitó durante otras 24 h. Los sólidos blancos se recogieron por filtración con succión, la torta del filtro se lavó con 2-propanol (20 mL) y el sólido se secó al aire durante al menos 1 h. Se secó el sólido adicionalmente en una estufa de vacío a 75 °C durante la noche (16 h) para dar 10,7 g del producto (rendimiento > cuantitativo), p.f. 265-273 °C con descomposición, con cambios de cristalinidad observados a ~180 °C. La <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) indicó la presencia de 2-propanol (solvato fuerte), lo que puede explicar que el rendimiento sea mayor que cuantitativo. El análisis por LC quiral dio una pureza de 97,1 % (270 nm).

**Ejemplo 4: Síntesis de la sal maleato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

- 25 Se añadió ácido maleico (0,067 g, 0,630 mmol) a una suspensión caliente de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (0,203 g, 0,560 mmol) en acetato de isopropilo (2 mL), depositando sólidos finos de color blanco, junto con un residuo gomoso. Se añadieron adicionalmente acetato de isopropilo (3 mL) y ácido maleico (0,006 g) y se calentó la mezcla a reflujo. Se añadió isopropanol (5 mL) a reflujo. La mezcla resultante de sólidos blancos se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, y los sólidos se lavaron con acetato de isopropilo (2 mL). Se secó el producto a vacío a 60 °C durante 18 h para dar 0,228 g de un sólido blanquecino escamoso (84,7 % de rendimiento), p.f. 180-182 °C. La <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) indicó una estequiometría de mono-sal. Calculado para C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> · C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C, 65,40, H, 5,70, N, 8,80; Encontrado: C, 65,35, 65,29, H, 5,86, 5,68, N, 8,69, 8,78.

**Ejemplo de referencia 5: Síntesis de sales hidrocloruro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

- 35 Monohidrocloruro: Se preparó una solución de ácido clorhídrico/THF añadiendo ácido clorhídrico concentrado (1,93 mL de solución 12 M, 23,2 mmol) gota a gota a 8,5 mL de THF enfriado. Se calentó la solución a temperatura ambiente. Se añadieron a un matraz de fondo redondo (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (8,49 g, 23,5 mmol) y acetona (85 mL). Se agitó la mezcla y se calentó a 45-50 °C hasta que se obtuvo una solución completa. Se añadió gota a gota la mezcla de ácido clorhídrico/THF preparada anteriormente, durante un período de 5 min, utilizando THF adicional (1,5 mL) en la transferencia. Se empezaron a formar sólidos granulares blancos durante la adición de la solución de ácido. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, y se agitó durante la noche (16 h). Se recogieron los sólidos por filtración con succión, se lavó la torta del filtro con acetona (10 mL), y se secó el sólido al aire con succión durante 30 minutos. Se secó el sólido adicionalmente en una estufa de vacío a 75 °C durante 2 h para dar 8,79 g de cristales blancos finos (94 % de rendimiento), p.f. 255-262 °C. El análisis por LC quiral dio una pureza de 98,8 % (270 nm). La <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) no muestra disolventes residuales y confirma la estequiometría mono. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,7 (s ancho, 1H-amonio cuaternario), 8,80 (s ancho, 1H-amida H), 8,54 (s, 1H), 8,23 (d, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,05-3,55 (m, 6H), 2,00 a 2,10 (m, 3H), 1,90 (m, 1H), 1,70 (m, 1H). Un análisis cristalográfico por rayos x de esta sal estableció la distribución estereoquímica y la estequiometría (véase las figuras 10A y 10B).
- 50 Dihidrocloruro: se burbujeó lentamente cloruro de hidrógeno gaseoso en una solución enfriada con hielo de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (1,9 g, 5,3 mmol) en éter anhidro (25 mL). Se eliminaron los compuestos volátiles, primero en una corriente de nitrógeno y después con alto vacío (lavador de hidróxido de sodio en línea de alto vacío). Se trituró el residuo varias veces con pequeños volúmenes de éter anhidro (que se desecha), y el sólido restante se secó a alto vacío. Esto dio 2,17 g (94 % de rendimiento) de un polvo blanquecino, p.f. 210-212 °C (higroscópico). El análisis por LC quiral dio una pureza de 93,7 % (270 nm). MS con electropulverización de iones positivos [M + H]<sup>+</sup> m/z de iones = 362. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9,15 (s, 1H), 8,84 (d, 1H), 8,63 (d, 1H), 7,97 (t, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,35 (t, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,40-3,85 (m, 6H), 1,95-2,40 (m, 5H).

**Ejemplo 6: Síntesis de la sal hemigalactarato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido galactárico (múxico) (36,3 mg, 0,173 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). La mezcla se sometió a reflujo cuando se añadió agua (8 gotas); después se filtró la mezcla caliente a través de un tapón de algodón que se lavó a continuación con etanol (1 mL). El enfriamiento no dio ningún precipitado. Los compuestos volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria, y el residuo (espuma blanca) se trituró con isopropanol (desechado), y el sólido restante se disolvió a reflujo en acetona/agua (7:1, 4 mL). El enfriamiento lento a 5 °C produjo un sólido blanco, que se separó por filtración, se lavó con isopropanol (3 x 1 mL), y se secó a alto vacío. Esto dejó 118 mg (73 % de rendimiento) de finas placas de color blanco, p.f. 134-139 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,18 (t, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,98 (m, 1H), 4,08 (s, 1H, ácido galactárico), 3,98 (d, 1H), 3,77 (s, 1H, ácido galactárico), 3,66 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,95-3,30 (m, 4H), 1,65-2,05 (m, 5H).

**Ejemplo 7: Síntesis de la sal D-tartrato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido tartárico (25,6 mg, 0,173 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). La solución resultante se enfrió lentamente a temperatura ambiente. No precipitaron sólidos, por lo que la solución se concentró para dar una espuma blanca. Los intentos de cristalizar en isopropanol fallaron. Se disolvió la espuma en metanol y se añadió otro semi-equivalente de ácido tartárico (25,6 mg, 0,173 mmol). Se concentró la mezcla para dar una espuma blanca, que no cristalizaría en mezclas de metanol e isopropanol. El material concentrado (mezcla de sólido y líquido gomoso) se suspendió entonces en acetato de etilo (1 mL), produciendo un sólido blanco. Este se aisló por filtración (lavado con acetato de etilo) y se secó en una estufa de vacío (18 h a 40 °C), para dar 141 mg (79,7 % de rendimiento) de la sal con estequiometría mono (NMR), p.f. 136-140 °C. El análisis por LC quiral dio una pureza de 98,1 % (270 nm). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,50 (s, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,86 (d, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,38 (t, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,21 (t, 1H), 4,34 (s, 2H, ácido tartárico), 4,26 (d, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,15 a 3,55 (m, 4H), 1,90-2,30 (m, 5H).

**Ejemplo 8: Síntesis de sal metanosulfonato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran 2-carboxamida**

Se añadió ácido metanosulfónico (33,2 mg, 0,346 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). El enfriamiento no dio ningún precipitado. Se calentó la mezcla a reflujo, y la mezcla caliente se filtró a través de un tapón de algodón, que posteriormente se lavó con metanol (1 mL). Los compuestos volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria y el residuo (espuma de color amarillo claro) se disolvió en isopropanol caliente (1 mL). De nuevo, el enfriamiento no dio ningún precipitado. Se evaporó el isopropanol, y se suspendió el residuo en acetona (1 mL). La filtración y secado en estufa de vacío (18 h a 50 °C) dieron 146 mg (92,5 % de rendimiento) de un sólido de color beige claro, p.f. 240-243 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,32 (s, 1H), 7,82 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,38 (m, 2H), 7,20 (m, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,01 (m, 1H), 4,09 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 3,00-3,40 (m, 4H), 2,67 (s, 3H, ácido metanosulfónico), 1,75-2,15 (m, 5H).

**Ejemplo 9: Síntesis de la sal D-mandelato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido D-mandélico (52,6 mg, 0,346 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). La dilución con acetato de etilo (4 mL) y el enfriamiento no produjeron ningún precipitado. Los compuestos volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria y el residuo (espuma blanca) se disolvió en isopropanol caliente (0,5 mL). El enfriamiento a 5 °C produjo cristales blancos que se recogieron mediante filtración por succión. El secado en estufa de vacío (18 h a 45 °C) dio 111 mg (62,4 % de rendimiento) de un sólido beige claro, p.f. 188,5-193°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,33 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,27 (m, 8H, incluye ácido mandélico), 7,12 (s, 1H), 7,01 (m, 1H), 4,85 (s, 1H, ácido mandélico), 4,10 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,48 (m, 2H); 3,00-3,40 (m, 4H), 1,75-2,15 (m, 5H).

**Ejemplo 10: Síntesis de sal R-canforsulfonato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido R-10-canforsulfónico (80,3 mg, 0,346 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). El enfriamiento no dio ningún precipitado. Los compuestos volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria y el residuo (espuma blanca) se disolvió en isopropanol caliente (0,5 mL). El enfriamiento a 5 °C produjo unos cristales blancos y una suspensión lechosa. El raspado de los lados del matraz con una espátula transformó eventualmente la mezcla en una masa espesa de finos cristales blancos. Se añadieron otros 0,5 mL de isopropanol, y se recogieron los cristales mediante filtración por succión. El secado en estufa de vacío (5 horas a 70 °C, seguido por 2 horas a 110 °C) dio 193

mg (93,8 % de rendimiento) de un sólido blanco, p.f. 149,5-156 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,30 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,99 (m, 1H), 4,07 (d, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,45 (m, 2H), 3,95-3,35 (m, 5H, incluye ácido canforsulfónico), 2,64 (d, 1H, ácido canforsulfónico), 2,22 (m, 2H), 1,70-2,10 (m, 8H, incluye ácido canforsulfónico), 1,45 (m, 1H, ácido canforsulfónico), 1,25 (m, 1H, ácido canforsulfónico), 0,85 (s, 3H, ácido canforsulfónico), 0,68 (s, 3H, ácido canforsulfónico).

**Ejemplo 11: Síntesis de sal S-canforsulfonato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido S-10-canforsulfónico (80,3 mg, 0,346 mmol) a una solución de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (125 mg, 0,346 mmol) en etanol caliente (1 mL). La dilución con acetato de etilo (4 mL) y el enfriamiento no produjeron ningún precipitado. Los compuestos volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria, y el residuo (espuma blanca) se disolvió en isopropanol caliente (1,5 mL). El enfriamiento a 5 °C produjo cristales blancos. Se concentró la mezcla hasta ~ 0,5 mL y se enfrió de nuevo a 5 °C. Se recogió entonces el sólido por filtración con succión y se secó a vacío, inicialmente 18 h a 45 °C, pero después a temperaturas sucesivamente más altas (finalmente a 110 °C) para eliminar el isopropanol residual. Esto proporcionó 143 mg (69,7 % de rendimiento) de un sólido blanco, p.f. 153,5-157 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,34 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,99 (m, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,44 (m, 2H), 3,95-3,35 (m, 5H, incluye ácido canforsulfónico), 2,67 (d, 1H, ácido canforsulfónico), 2,23 (m, 2H), 1,70-2,10 (m, 8H, incluye ácido canforsulfónico), 1,46 (m, 1H, ácido canforsulfónico), 1,25 (m, 1H, ácido canforsulfónico), 0,84 (s, 3H, ácido canforsulfónico), 0,64 (s, 3H, ácido canforsulfónico).

Utilizando procedimientos similares a los descritos antes (ejemplos 3-11), se caracterizaron otras diversas formas de sales. Los resultados de estas preparaciones se detallan en los ejemplos 12-14.

**Ejemplo 12: Síntesis de sal sulfato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se precipitó una sal sulfato en una mezcla de acetato de isopropilo y agua. P.f. 278 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,28 (s ancho, 1H, amida), 8,56 (dd, 1H), 8,24 (t, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 7,21 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 3,10-3,60 (m, 5H), 2,05 (m, 3H), 1,92 (m, 1H), 1,73 (m, 1H).

**Ejemplo 13: Síntesis de sal cetoglutarato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Una sal α-cetoglutarato se precipitó en acetato de isopropilo. P.f. 177 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,64 (s, 1H, amida), 8,50 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,78 (m, 2H), 3,00-3,45 (m, 5H), 2,81 (m, 2H, ácido cetoglutárico), 2,41 (m, 2H, ácido cetoglutárico), 1,96 (m, 3H), 1,83 (m, 1H), 1,60 (m, 1H).

**Ejemplo 14: Síntesis de sal hipurato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se precipitó una sal hipurato en acetona (demasiado higroscópica para obtener el punto de fusión). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,79 (s, 1H, amida), 8,56 (d, 1H), 8,44 (s, 1H, ácido hipúrico), 8,29 (m, 1H), 7,87 (m, 2H, ácido hipúrico), 7,76 (d, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,49 (m, 4H, incluye ácido hipúrico), 7,34 (m, 2H), 7,21 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,74 (m, 2H), 3,00 a 3,50 (m, 5H), 2,80 (m, 2H, ácido hipúrico), 1,79 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,30 (m, 1H).

**Ejemplo 15: Aislamiento de (2R,3R)- y (2S,3S)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida y conversión en sales de ácido galactárico**

Una muestra del sobrenadante procedente del aislamiento de *p*-toluenosulfato de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida (Ejemplo 2) se concentró por evaporación rotatoria, se ajustó a pH 10 con hidróxido de sodio acuoso al 10 % y se extrajo con diclorometano. El extracto de diclorometano se evaporó, y el residuo (1,8 g) se disolvió en etanol absoluto (55 mL) que contenía 0,5 % de di-*n*-butilamina. Se inyectó esta solución, en porciones de 0,25 mL, en una columna de HPLC quiral Chiralpak® AD de 25 cm x 2,1 cm, eluyendo con hexano/etanol/di-*n*-butilamina 60:40:0,2 (caudal = 30 mL/min), monitorizado a 270 nm. El aislamiento del efuente que eluye a ~7,5 min y el que eluye a ~13,5 min dio, después de la evaporación del disolvente, 0,48 g (98 % de pureza quiral) y 0,47 g (99 % de pureza quiral) respectivamente de un aceite incoloro. Los dos espectros de NMR fueron idénticos. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,49 (s, 1H), 8,45 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,52 (m, 4H), 7,35 (t, 1H), 7,20 (dd, 1H), 7,05 (d, 1H), 4,55 (dt, 1H), 3,43 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,90 (m, 5H), 2,09 (m, 1H), 1,88 (m, 4H).

Una solución caliente de cada una de las muestras de base libre en etanol absoluto (10 mL) se trató con un equivalente de ácido galactárico. Las mezclas resultantes se calentaron a 75 °C durante 5 min y se enfriaron, con agitación, a temperatura ambiente. Los sólidos resultantes se recogieron mediante filtración por succión y se secaron a vacío, dando 0,65 g (87 % de rendimiento) y 0,62 g (85 % rendimiento), respectivamente, de un sólido

granular blanco (p.f. 200-205 °C en cada caso). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,38 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,94 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 4,42 (m, 1H), 4,21 (s, 2H), 3,87 (d, 2H), 3,68 (m, 1H), 3,35 (m, 6H), 2,25 (m, 2H), 2,02 (m, 3H).

5 **Ejemplo 16: Síntesis de sal p-clorobenzoato de (2R,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2] octubre-3-il)benzofuran-2-carboxamida**

Se añadió ácido p-cloro-benzoico sólido (46,8 mg, 0,299 mmol) en una porción a una solución del isómero que eluye antes, de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il) benzofuran-2-carboxamida del Ejemplo 15 (108 mg, 0,299 mmol) en acetona (10 mL). Se calentó esta mezcla casi a reflujo durante 30 min y se enfrió a temperatura ambiente. No se formó ningún precipitado, por lo que la solución se concentró hasta aproximadamente un 20 % de su volumen anterior (placa caliente), en cuyo punto se empezaron a formar cristales. Se enfrió la mezcla y se diluyó con isopropanol (2 mL). Se concentró esta mezcla por evaporación lenta del disolvente a temperatura ambiente, y los sólidos resultantes se recogieron y secaron. Esto produjo 145 mg (94 % de rendimiento) de cristales de color amarillo claro, p.f. 150-152 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,49 (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,93 (d, 2H, ácido p-cloro-benzoico), 7,67 (m, 2H), 7,57 (d, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,36 (d, 2H, ácido p-cloro-benzoico), 7,30 (m, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,00 (d, 1H, amida), 6,90 (s ancho, amonio cuaternario), 4,62 (m, 1H), 3,85 (dd, 1H), 3,36 (m, 1H), 2,95-3,25 (m, 5H), 2,16 (s, 1H), 1,70-2,10 (m, 4H).

El análisis cristalográfico por rayos X de esta muestra reveló que su estereoquímica absoluta era 2R,3R (véase las figuras 11A y 11B). El isómero que eluye más tarde del Ejemplo 15, tiene así por eliminación, la configuración absoluta 2S,3S.

20 **Ejemplo 17: Método cromatográfico quiral para análisis de los estereoisómeros**

La generación de un método cromatográfico quiral para la separación de los cuatro estereoisómeros, uno de otro, resultó ser muy difícil. Los intentos iniciales (utilizando fase móvil de hexano/isopropanol/trietilamina) dio lugar a solapamiento de picos y formas de picos que no eran óptimas. El cambio de isopropanol a etanol y de trietilamina a di-*n*-butilamina mejoró la resolución y la forma de los picos y acortó el tiempo de ejecución. Los detalles del método son como sigue:

Columna analítica: Chiralpak ® AD (250 x 4,6 mm, 5 µm)

Fase móvil: hexano/etanol/di-*n*- butilamina 60:40:0,2

Volumen de inyección: 10 µL

Caudal: 1,0 mL por minuto

30 Temperatura: 20 °C

Detección: UV a 270 nm

Tiempo de ejecución total: ~ 25 minutos

Orden de elución (tiempo de retención RT): 2S,3R (5,3 min); 2R,3S (7,3 min); 2R,3R (8,3 min); 2S,3S (12,1 min)

Un cromatograma representativo de los análogos de estereoisómeros se muestra en la figura 12.

35 **Ejemplo 18: XRPD**

El análisis de XRPD se realizó para varias muestras de sales descritas en la presente memoria. Se proporcionan patrones de difracción para las sales hidrocloreuro (Figura 13) y tosilato (Figura 14).

Difracción de Rayos-X de Polvo (XRPD)

Se recogieron patrones de difracción de Rayos X de polvo en uno o ambos de dos instrumentos. Algunos se recogieron en un Difractómetro Siemens D5000 utilizando radiación CuKα (40 kV, 40 mA), goniómetro θ-θ, divergencia V20 y rendijas receptoras, un monocromador secundario de grafito y un contador de centelleo. Se comprueba el funcionamiento del instrumento utilizando un estándar Corundum certificado (NIST, 1976). Las muestras analizadas en condiciones ambientales se prepararon como muestras en placa plana utilizando polvo tal como se recibieron. Aproximadamente 35 mg de la muestra se empaquetaron cuidadosamente en un hueco de una oblea de silicio, pulida, de fondo cero (510). Se hizo girar la muestra en su propio plano durante el análisis, barriendo de 2° a 42° en etapas de 0,05° a 4 segundos por etapa, utilizando CuKα1 (λ = 1.5406Å).

Algunos de los patrones de difracción de rayos X de polvo se recogieron en un difractómetro Bruker AXS C2 GADDS utilizando radiación CuKα (40 kV, 40 mA), etapa XYZ automatizada, microscopio de vídeo láser para posicionamiento de automuestra y un detector de área bidimensional HiStar. La óptica de rayos X consiste en un único espejo multicapa Göbel acoplado con un colimador de poro de 0,3 mm. La divergencia del haz (es decir, el

- tamaño efectivo del haz de rayos X sobre la muestra) fue de aproximadamente 4 mm. Se empleó un modo de barrido continuo  $\theta$ - $\theta$  con una distancia muestra-detector de 20 cm que da un intervalo  $2\theta$  efectivo de  $3,2^\circ$  - $30,0^\circ$ . Normalmente, la muestra debería ser expuesta al haz de rayos X durante 120 segundos. Las muestras ensayadas en condiciones ambientales se prepararon como especímenes de placa plana utilizando el polvo tal como se recibió, sin molienda. Aproximadamente 1-2 mg de la muestra se presionaron ligeramente sobre una oblea de silicio para obtener una superficie plana. Las muestras ensayadas en condiciones no ambientales se montaron sobre una oblea de silicio con un compuesto conductor del calor. La muestra se calentó entonces a la temperatura apropiada a aproximadamente  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  y a continuación se mantuvo isotérmicamente durante aproximadamente 5 min antes de que se iniciara la recogida de datos.
- 5
- 10 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)
- Se recogieron los datos de DSC en un TA Instruments Q1000 equipado con un auto-muestreador de 50 posiciones. Se calibró el instrumento para calibración de energía y temperatura usando indio certificado. Típicamente 0,5-1,5 mg de cada muestra, en una cápsula de aluminio perforada, se calentaron a  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  de  $25^\circ\text{C}$  a  $175$ - $200^\circ\text{C}$ . Se mantuvo una purga de nitrógeno a  $30\text{ mL}/\text{min}$  sobre la muestra.
- 15 Análisis termogravimétrico (TGA)
- Los datos de TGA se recogieron en un TA Instruments Q500 TGA, equipado con un auto-muestreador de 16 posiciones. El instrumento fue calibrado en cuanto a temperatura utilizando Alumel certificado. Típicamente 5-10 mg de cada muestra se cargaron sobre un crisol de platino pretarado y cápsula de aluminio de DSC, y se calentaron a  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  desde temperatura ambiente hasta  $350^\circ\text{C}$ . Se mantuvo una purga de nitrógeno a  $60\text{ mL}/\text{min}$  sobre la muestra.
- 20 Microscopía de luz polarizada (PLM)
- Se estudiaron las muestras en un microscopio de luz polarizada Leica LM/DM con una cámara de vídeo digital para captura de imágenes. Se puso una pequeña cantidad de cada muestra en un portaobjetos de vidrio, se montó en aceite de inmersión y se cubrió con un cubreobjetos de vidrio, siendo separadas las partículas individuales lo más posible. La muestra se observó con el aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplada a un filtro  $\lambda$  de falso color.
- 25 Microscopía de platina caliente (HSM)
- La microscopía de platina caliente se llevó a cabo utilizando un microscopio de luz polarizada Leica LM/DM combinado con una platina caliente Mettler-Toledo MTFP82HT y una cámara de vídeo digital para captura de imágenes. Se puso una pequeña cantidad de cada muestra sobre un portaobjetos de vidrio con las partículas individuales separadas tanto como fue posible. La muestra se observó con el aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplada a un filtro  $\lambda$  de falso color, mientras era calentada desde la temperatura ambiente, típicamente a  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ .
- 30 Sorción gravimétrica de vapor (GVS)
- 35 Se determinaron isotermas de sorción en cualquiera o en ambos de dos instrumentos. Algunos experimentos se llevaron a cabo utilizando un analizador de sorción de humedad VTI Corporation SGA-100, controlado por el software VTI FlowSystem 4. La temperatura de la muestra se mantuvo a  $25^\circ\text{C}$  con la ayuda de un baño de temperatura constante Polyscience. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo. El cambio de peso, como función del % de humedad relativa (HR), se monitorizó utilizando una balanza registradora Cahn Digital Recording Balance D-200 con una precisión de  $\pm 0,0001\text{ g}$ .
- 40 Típicamente, se colocó una muestra de 10-20 mg en la cápsula tarada de la balanza en condiciones ambientales. Se secó la muestra a  $50^\circ\text{C}$  durante 1 h. La isoterma de adsorción estándar se realizó a  $25^\circ\text{C}$  a intervalos de 5 % de HR sobre un intervalo de HR de 5-95 %, y la isoterma de desorción se realizó de manera similar a  $25^\circ\text{C}$  a intervalos de 5 % de HR en un intervalo de HR de 95-5 %. Los criterios de equilibración de la muestra incluyeron 0,0100 % en peso en 5 min o un tiempo máximo de equilibración de 180 min para cada punto de datos del % de HR.
- 45 Se obtuvieron algunas isotermas de sorción utilizando un analizador de sorción de humedad Hiden IGASorp, controlado por el software CFRSorp. La temperatura de la muestra se mantuvo a  $25^\circ\text{C}$  mediante un baño de agua recirculante Huber. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo, con un caudal total de  $250\text{ mL}/\text{min}$ . La humedad relativa se midió mediante una sonda calibrada Vaisala RH (intervalo dinámico 0-95 % de HR), situada cerca de la muestra. El cambio de peso, (relajación de masa) de la muestra en función del % de HR se monitorizó constantemente por la microbalanza (precisión  $\pm 0,001\text{ mg}$ ). Típicamente, se colocaron 10-20 mg de muestra en un cestillo de malla de acero inoxidable tarado, en condiciones ambientales. La muestra se cargó y se descargó a 40 % de HR y  $25^\circ\text{C}$  (condiciones ambientales típicas). Se realizó una isoterma de sorción de humedad como se indica a continuación (dando 2 barridos un ciclo completo). La isoterma estándar se realizó a  $25^\circ\text{C}$  en intervalos del 10 % de HR en un intervalo de 0-90% de HR.
- 50
- 55



## Parámetros del método genérico de GVS

Parámetros	Valores
Adsorción – Barrido 1	40-90
Desorción/Adsorción-Barrido 2	85-seco, seco-40
Intervalos (% de HR)	10
Número de barridos	2
Caudal (mL/min)	250
Temperatura (°C)	25
Estabilidad (°C/min)	0,05
Tiempo mínimo de sorción (horas)	1
Tiempo máximo de sorción (horas)	4
Modo	AF2
Precisión (%)	98

5 El software utiliza un procedimiento de minimización de mínimos cuadrados junto con un modelo de relajación de masa, para predecir un valor asintótico. El valor medido de relajación de masa debe estar dentro del 5 % del valor previsto por el software, antes de que sea seleccionado el siguiente valor de % de HR. El tiempo mínimo de equilibración se fijó en 1 h y el máximo en 4 h. Típicamente, las muestras se recogieron después de completar la isoterma y se re-analizaron por XRPD.

## Determinación de agua por Karl Fischer (KF)

10 El contenido de agua de cada muestra se midió en un coulombímetro Mettler Toledo DL39 utilizando un reactivo Hydranal Coulomat AG y una purga de argón. Se introdujeron las muestras sólidas pesadas en el recipiente de una cápsula de platino TGA que estaba conectada a un septum *suba-seal* para evitar la entrada de agua. Se utilizaron aproximadamente 10 mg de muestra por valoración y se hicieron determinaciones por duplicado.

## Solubilidad termodinámica acuosa por HPLC

15 Se determinó la solubilidad acuosa suspendiendo suficiente compuesto en 0,25 mL de agua para dar una concentración máxima final  $\geq 10$  mg/mL del compuesto parental en forma libre. La suspensión se equilibró a 25 °C durante 24 h, y después se midió el pH. Se filtró entonces la suspensión a través de un filtro de fibra de vidrio C a una placa de 96 pocillos. Se diluyó entonces el filtrado por un factor de 101. La cuantificación se realizó por HPLC con referencia a una solución estándar de aproximadamente 0,1 mg/mL en DMSO. Se inyectaron diferentes volúmenes de las soluciones de muestras estándar, diluidas y sin diluir. Se calculó la solubilidad usando las áreas de los picos determinadas por integración del pico encontrado en el mismo tiempo de retención que el pico principal de la inyección estándar. Cuando hubo suficiente sólido en la placa filtrante, se recogió el XRPD.

20

## Detalles del método genérico para el método termodinámico de solubilidad acuosa

Tipo de método	Fase inversa con elución en gradiente		
Columna:	Phenomenex Luna C18 (2) 5 $\mu$ m 50x 4.6 mm		
Temperatura de la columna (°C):	25		
Inyección ( $\mu$ L)	5, 8 y 50		
Detección:	260,80		
Longitud de onda, amplitud de banda (nm)			
Caudal (mL/min)	2		
Fase A	TFA al 0,1 % en agua		
Fase B	TFA al 0,085 % en acetonitrilo		
Horario	Tiempo(min)	% de Fase A	% de Fase B
	0,0	95	5
	1,0	80	20
	2,3	5	95
	3,3	5	95
	3,5	95	5
	4,4	95	5

## Pureza química por HPLC

El análisis de pureza se realizó sobre un sistema Agilent HP1100 series equipado con un detector de matriz de diodos y utilizando software ChemStation v9. Se usó uno de los dos métodos detallados a continuación.

## 5 Método 1

Tipo de método:	Fase inversa con elución en gradiente		
Columna:	Kromasil 5 µm C18, 150 x 4,6 mm		
Temperatura de columna (°C)	26		
Inyección (µL)	10		
Detección:	302, 8		
Longitud de onda, amplitud de banda (nm)			
Caudal (mL/min)	1,0		
Fase A:	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,0256 M + sal sódica de ácido 1-hexanosulfónico 0,02 M		
Fase B:	Acetonitrilo		
Horario:	Tiempo (min)	% de Fase A	% de Fase B
	0	90	10
	8	90	10
	40	10	90
	41	90	10
	49	90	10
	50	90	10

## Método 2

Tipo de método	Fase inversa con elución en gradiente		
Columna:	Phenomenex Luna C18 (2) 150 x 4,6 mm, 5 µm		
Temperatura de la columna (°C):	25		
Inyección (µL)	5		
Detección:	255, 90		
Longitud de onda, amplitud de banda (nm)			
Caudal (mL/min)	1		
Fase A	TFA al 0,1 % en agua		
Fase B	TFA al 0,085 % en acetonitrilo		
Horario	Tiempo(min)	% de Fase A	% de Fase B
	0	95	5
	25	5	95
	25,2	95	5
	30	95	5

## Cromatografía iónica

- 10 Los datos se recogieron en un Metrohm 861 Advanced Compact IC utilizando el software IC Net v2.3. Las muestras se prepararon como soluciones madre de 1000 ppm en agua. Cuando la solubilidad de la muestra era baja, se utilizó un codisolvente adecuado tal como DMSO. Las muestras se diluyeron a 50 ppm o 100 ppm con un disolvente apropiado antes del ensayo. La cuantificación se logró por comparación con soluciones estándar de concentración conocida del ion a analizar.

- 15 Método de cromatografía iónica para aniones

Tipo de método	Intercambio de aniones
Columna:	Metrosep A Supp 5-250 (4,0 x 250 mm)
Temperatura de la columna (°C)	Ambiente
Inyección (µL)	20
Detección:	Detector de conductividad
Caudal (mL/min)	0,7
Eluyente	Carbonato de sodio 3,2 mM Hidrogenocarbonato de sodio en agua 1,0 mM

## Método de cromatografía iónica para cationes

Tipo de método	Intercambio de cationes
Columna:	Metrosep C 2-250 (4,0 x 250 mm)
Temperatura de la columna (°C)	Ambiente
Inyección (µL)	20
Detección:	Detector de conductividad
Caudal (mL/min)	1,0
Eluyente	Ácido tartárico 4,0 mM Ácido dipicolínico en agua 0,75 mM

5 Se pesaron en un vial de vidrio aproximadamente 50 mg de hidrocloreuro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida y se calentaron a 50 °C. Se añadieron al sólido porciones de 100 µL de 1-butanol/agua (5 % en volumen de agua) hasta que se formó una solución clara (500 µL en total). Se agitó la muestra a 50 °C durante 1 hora y se hicieron observaciones. Después de calentar a 50 °C durante una hora la muestra seguía siendo una solución clara y se enfrió desde 50 °C a 25 °C a una velocidad de 1,4 °C por hora. La muestra se mantuvo como una solución límpida al enfriar y se cubrió con parafilm agujereado con un alfiler, y se dejó que se evaporara a temperatura ambiente. Después de 2 semanas, se observaron cristales grandes en la muestra parcialmente evaporada. La figura 13 es un XRPD de monohidrocloreuro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida que ilustra ambos patrones, el observado (más ligero) y el calculado (más oscuro).

15 El patrón experimental proviene de la muestra de monohidrocloreuro de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida mientras que el ejemplo calculado proviene de la estructura cristalina única de rayos X como se describe aquí y se representa en las figuras 10A y 10B. Ambos patrones están de acuerdo con respecto a los valores de  $2\theta$  y la pequeña diferencia en intensidades y anchuras de picos puede ser atribuida a la resolución del instrumento y a efectos de la orientación preferida. Además, pequeñas diferencias se pueden atribuir a un cambio de temperatura debido a que los datos observados se recogen a temperatura ambiente y los datos calculados se toman de una estructura a 120K.

20 La sal tosilato, específicamente la mono-sal cristalina, fue confirmada y el patrón de difracción se muestra en la figura 14 utilizando radiación  $\text{CuK}\alpha$  (40 kV, 40 mA), goniómetro  $\theta$ - $\theta$ , divergencia V20 y rendijas de recepción, un monocromador secundario de grafito, y un contador de centelleo. Un difractograma XRPD de la sal tosilato después de 1 semana a 40 °C/75 % de HR revela un cambio, pero la muestra está todavía en la forma 1. Probablemente, el cambio se debe a una forma más hidratada.

## VII. Ensayos biológicos

30 La capacidad del Compuesto A y sus estereoisómeros para unirse y modular la función de los diversos subtipos de NNR fue evaluada como se describe en la patente de Estados Unidos 6.953.855 de Mazurov *et al.*, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia. Los perfiles de selectividad de los receptores para el Compuesto A (incluyendo 5HT<sub>3</sub> y muscarínico) se llevaron a cabo por NovaScreen® Biosciences Corporation.

Las medidas electrofisiológicas de la respuesta de los NNR  $\alpha 7$  fueron tomadas en dos sistemas de expresión: NNR  $\alpha 7$  de rata en células GH4C1 de mamíferos y NNR  $\alpha 7$  humanos en oocitos de *Xenopus*.

35 Las células GH4C1 que expresan el NNR  $\alpha 7$  de rata se prepararon como se describe por Placzek *et al.*, Mol. Pharm. 68(6): 1863-1876 (2005). Las medidas electrofisiológicas de actividad agonista se lograron utilizando el sistema de perfusión rápida Dynaflo y sujeción de parche utilizando este sistema de expresión de células GH4C1. Tanto la acetilcolina como la nicotina produjeron la activación, dependiente de la concentración, de la corriente mediada por

$\alpha 7$ . Los valores  $EC_{50}$  de los agonistas de las publicaciones científicas fueron comparables a los obtenidos utilizando este método (véase Dunlop *et al.* Biochem Pharmacol en prensa (2007) y materiales Dynaflo online ([www.cellectricon.com](http://www.cellectricon.com))).

5 Las corrientes de las células completas registradas con un amplificador Axopatch 700A se filtraron a 1 kHz y se muestrearon a 5 kHz mediante una tarjeta PCI (National Instrument). Comparadas con estudios previos, las soluciones salinas se modificaron como se indica para aumentar la estabilidad de la corriente. Las células se registraron a temperatura ambiente en el siguiente medio extracelular: NaCl 130 mM, KCl 5 mM,  $CaCl_2$  2 mM,  $MgCl_2$  2 mM, HEPES 10 mM, ajustado a pH 7,4 con NaOH acuoso. Se llenaron electrodos de borosilicato (3 - 5 M $\Omega$ ) con el siguiente medio: TRIS fosfato 130 mM, NaCl 5 mM,  $MgCl_2$  2 mM, HEPES 10 mM, EGTA 10 mM, ajustado a pH 7,4 con KOH acuoso (véase Wu *et al.*, J. Physiol. 576:103-118 (2006)). En estas condiciones, la actividad de macro-corriente obtenida con el registro de células completas y NNR dura hasta 60 min cuando es provocada con una concentración 1000  $\mu$ M de acetilcolina (ACh).

15 Los procedimientos de manipulación celular se adoptaron de las notas de aplicación de Cellectricon para Dynaflo. En resumen, después de retirar del incubador, se lavaron las células cuidadosamente tres veces con medio de registro y se colocaron sobre la platina de un microscopio invertido Zeiss. Fue necesaria una media de 5 min antes de que se estableciera la configuración de registro de las células enteras. Para evitar la modificación de las condiciones celulares, se registró una única célula por carga única de células en un chip de silicio Dynaflo. No se pudieron detectar diferencias en la fracción de células sensibles, entre las condiciones experimentales. Más del 95 % de las células respondieron a ACh, y cada célula que presenta una corriente medible fue tenida en cuenta. Las células se mantuvieron a -60 mV durante todo el experimento. Todas las soluciones de los artículos de ensayo se prepararon diariamente a partir de soluciones madre. Se realizaron a diario nuevas soluciones madre de acetilcolina (ACh) en solución de Ringer y se diluyeron. Las curvas dosis-respuesta se describieron por ecuaciones simples de Hill utilizando el software Prism 5.0.

25 Los oocitos de *Xenopus* que expresan NNR  $\alpha 7$  humano se prepararon como se describe por Papke and Papke, Brit. J. Pharmacol. 137: 49-61 (2002). Se usaron hembras maduras (> 9 cm) de sapo africano *Xenopus laevis* (Nasco, Ft. Atkinson, WI) como fuente de oocitos. Antes de la cirugía, los sapos fueron anestesiados colocando el animal en una solución de 1,5 g/L de éster etílico de ácido 3-aminobenzoico durante 30 min. Los oocitos fueron retirados mediante una incisión hecha en el abdomen.

30 Con el fin de retirar la capa de células foliculares, los oocitos recogidos se trataron con 1,25 mg/mL de colagenasa de Worthington Biochemical Corporation (Freehold, NJ) durante 2 horas a temperatura ambiente en solución de Barth libre de calcio (NaCl 88 mM, KCl 1 mM, HEPES 15 mM, pH 7,6,  $MgSO_4$  0,81 mM,  $NaHCO_3$  2,38 mM, 0,1 mg/mL de sulfato de gentamicina). Posteriormente, se aislaron capas de 5 oocitos y se inyectaron con 50 nL (5-20 ng) de cada uno de los ARNc  $\alpha 7$  humanos. Se hicieron registros 2 a 7 días después de la inyección. Se prepararon cada día nuevas soluciones madre de acetilcolina (ACh) en solución de Ringer.

35 Se realizaron experimentos utilizando OpusXpress 6000A (Axon Instruments, Union City CA). OpusXpress es un sistema integrado que proporciona empalamiento y fijación de voltaje automatizado de hasta ocho oocitos en paralelo. Ambos electrodos de tensión y corriente se rellenaron con KCl 3 M. Las células se sometieron a fijación de voltaje a un potencial de mantenimiento de -60mV. Se recogieron datos a 50 Hz y se filtraron a 20 Hz. Las células se sometieron a perfusión en baño con solución Ringer, y se administraron las soluciones agonistas desde una placa de 96 pocillos a través de puntas de pipeta desechables, lo que eliminó cualquier posibilidad de contaminación cruzada. Los caudales se fijaron en 2 mL/min. Las aplicaciones de fármacos se alternaron entre los controles de ACh y los agonistas experimentales. Las aplicaciones fueron de 12 segundos de duración seguidas por periodos de lavado de 181 segundos.

45 Las respuestas se calcularon como carga neta (véase Papke and Papke, Brit. J. Pharmacol 137: 49-61 (2002), citado antes) para los receptores  $\alpha 7$ . Cada oocito recibió una aplicación inicial de control, de ACh, después una aplicación de un fármaco experimental y, después una aplicación de control de seguimiento de ACh (300  $\mu$ M). Las respuestas a las aplicaciones de fármacos experimentales se calcularon con respecto a las respuestas precedentes de control de ACh con el fin de normalizar los datos, compensando los diferentes niveles de canal de expresión entre los oocitos. Nótese que ACh 300  $\mu$ M produjo respuestas máximas de carga neta de los receptores  $\alpha 7$  por lo que la normalización con respecto a los controles de ACh efectivamente normalizó los datos con respecto a las respuestas máximas de ACh. Las medias y los errores estándar (SEM) se calcularon a partir de las respuestas normalizadas de al menos cuatro oocitos para cada concentración experimental. Para las relaciones concentración-respuesta, se representaron gráficamente los datos derivados de análisis de carga neta utilizando Kaleidagraph 3,0.2 (Abelbeck Software, Reading, PA), y se generaron las curvas a partir de la ecuación de Hill.

55 La caracterización del comportamiento del Compuesto A se llevó a cabo según los siguientes protocolos. La tarea de reconocimiento de objetos (OR) se realizó de acuerdo con la descripción de Ennaceur and Delacour Behav. Brain Res. 100: 85-92 (1988). El paradigma de laberinto de brazos radiales (RAM) se realizó de acuerdo con la descripción de Levin *et al.*, Behav. Pharm. 10: 675-680 (1999). El ensayo de inhibición pre-pulso (PPI) se realizó según la descripción de Suemaru *et al.*, Brit. J. Pharmacol. 142 (5): 843-850 (2004). La inversión del ensayo de

actividad locomotora inducida por apomorfina (APO LOCO) se realizó de acuerdo con la descripción de Roux *et al.*, Curr. Protocols in Pharmacol. Unit 5.17 (1999).

### Resumen de la actividad biológica *in vitro*

5 El compuesto A inhibe de forma competitiva la unión de la MLA (metillicaconitina) radiomarcada a los NNR  $\alpha 7$  del hipocampo de cerebro de rata con valores de la constante de equilibrio ( $K_i$ ) de  $\sim 1$  nM, lo que indica que tiene una afinidad muy alta para el subtipo NNR  $\alpha 7$ . Los estereoisómeros del Compuesto A tienen los siguientes valores de  $K_i$  en los NNR  $\alpha 7$  de rata: 2R,3S (42 nM) [previamente registrado como 28 nM]; 2R,3R (1 nM); 2S,3S (25  $\mu$ M) (véase la figura 1A). Como se ilustra en la figura 1A2, el Compuesto A, enantiómero 2S,3R, demuestra una actividad en el subtipo  $\alpha 7$  en contraste con sus tres análogos enantioméricos, que se representan como puntos solapados con actividad débil. El Compuesto A no se une a los NNR  $\alpha 4\beta 2$  con ninguna afinidad significativa (valores de  $K_i > 2$   $\mu$ M).

10 Se examinó la actividad funcional de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables (Compuesto A) y sus estereoisómeros utilizando técnicas electrofisiológicas de fijación de parches con NNRs  $\alpha 7$  de rata expresados establemente en células GH4C1 (mamíferos). En estos experimentos, el Compuesto A produjo un perfil funcional notablemente diferente en comparación con los otros isómeros individuales y con la mezcla racémica de los cuatro isómeros. Como se puede ver en las figuras 1A y 1B, el Compuesto A es mucho más potente y eficaz para provocar una respuesta funcional ( $E_{max} = 93$  % con respecto a la acetilcolina (ACh);  $EC_{50} = 14$  nM) que cualquiera de los otros isómeros o la mezcla de los cuatro isómeros. En efecto, el Compuesto A (el isómero 2S,3R) es el único isómero de N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida que es capaz de proporcionar un agonismo potente en todo el intervalo de concentración de 1-50 nM, asociándose la concentración 10 nM con la actividad *in vivo* descrita en esta memoria, como se muestra en la figura 1B.

15 La actividad funcional del Compuesto A se evaluó también electrofisiológicamente en oocitos de *Xenopus* que expresan transitoriamente los NNRs  $\alpha 7$  humanos. En este sistema, el Compuesto A tiene un valor de  $EC_{50}$  de 33 nM y una  $E_{max}$  de 100 % de respuesta a ACh. Hubo reducciones en posteriores respuestas control a ACh después de la aplicación de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida a concentraciones superiores a 100 nM ( $IC_{50} = 200$  nM). En contraste con los agonistas totales de  $\alpha 7$  previamente descritos (véase Asties *et al.*, Current Drug Targets CNS Neurological Disorders 1(4): 337-348 (2002)), la separación entre los valores  $EC_{50}$  e  $IC_{50}$  para (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida indica que las concentraciones que producen la respuesta funcional semimáxima de  $\alpha 7$  redujo a un mínimo, aunque no completamente, la inhibición residual. No hubo activación detectable cuando se aplicó (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida a los oocitos que expresan el subtipo  $\alpha 4\beta 2$  humano y no hubo disminuciones significativas en las respuestas posteriores de control a ACh, lo que indica que la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida no es ni un agonista ni un antagonista de  $\alpha 4\beta 2$ .

20 25 30 35 Los compuestos mostraron poca o ninguna actividad agonista en modelos funcionales que llevan receptores de tipo muscular (subtipo  $\alpha 1\beta 1\gamma \delta$  en células clonales humanas TE671/RD) o receptores de tipo ganglionar (subtipo  $\alpha 3\beta 4$  en el subclón Shooter de células PC12 de feocromocitoma de rata y en células clonales SHSY-5Y humanas), generando  $\leq 10$  % (músculo humano),  $\leq 20$  % (ganglio de rata) y  $\leq 10$  % (ganglio humano) de respuesta de nicotina en estos subtipos. Estos datos indican selectividad para los subtipos del SNC sobre los subtipos del SNP.

40 45 Debido a la homología próxima de secuencia y estructural entre los receptores  $\alpha 7$  y 5-hidroxitriptamina (5HT<sub>3</sub>) y a la reactividad cruzada para estos 2 receptores observada con otros ligandos nicotínicos, se investigó la afinidad del Compuesto A para los receptores 5HT<sub>3</sub>. El Compuesto A (10  $\mu$ M) presentó 59 % de inhibición de la unión del radioligando con el receptor 5HT<sub>3</sub> de ratón y 25 % de inhibición con el receptor humano. La investigación de la activación funcional en el receptor 5HT<sub>3</sub> humano sugiere una activación mínima o ninguna (esto es, se obtuvo una respuesta máxima del 15 % de activación a 100  $\mu$ M).

Los receptores muscarínicos son otra área de interés debido a las interacciones que se han observado con otros ligandos nicotínicos. El Compuesto A presentó una interacción de mínima a ninguna cuando se examinó en ensayos competitivos de inhibición de la unión para los receptores muscarínicos M1, M2, centrales no selectivos y periféricos no selectivos.

50 Los datos muestran que el Compuesto A es selectivo para los ligandos NNR  $\alpha 7$ . El Compuesto A no se une bien a aquellos subtipos del receptor nicotínico que son característicos del sistema nervioso periférico o a los receptores muscarínicos o serotoninérgicos 5HT<sub>3</sub>. Así, el Compuesto A tiene potencial terapéutico para tratar trastornos del sistema nervioso central sin producir efectos secundarios asociados con la interacción con el sistema nervioso periférico.

### 55 Resumen de la actividad biológica *in vivo*

El Compuesto A, (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, presenta una eficacia significativa en dos modelos de comportamiento de

5 cognición. El Compuesto A demostró una potente actividad en el paradigma de reconocimiento de objetos en ratas, tanto después de administración i.p. (intraperitoneal, Figura 3) como p.o (oral, Figura 4), y también demostró actividad en un amplio intervalo de dosis tras administración oral (Figura 4). Administrado por vía intraperitoneal a las mismas dosis bajas (0,3 y 1 mg/kg) el Compuesto A tiende a invertir las deficiencias, inducidas por MK-801, en la tarea de reconocimiento de objetos (OR) (Figura 5), y administrado oralmente a 0,3 mg/kg, los efectos cognitivos del Compuesto A duran por lo menos 18 horas (Figura 6). En el paradigma del laberinto de brazos radiales (RAM) (Figura 7) que examina la memoria de trabajo, el Compuesto A aumentó significativamente el número de elecciones correctas antes de dar error. Estos resultados muestran el potencial de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida para tratar deficiencias y disfunciones cognitivas asociadas con esquizofrenia, incluidas las de la memoria de trabajo.

10 Para que un compuesto sea útil para tratar la disfunción cognitiva en esquizofrenia, no debe disminuir los efectos de los antipsicóticos clásicos o atípicos contra los síntomas positivos de esquizofrenia. Por lo tanto, es apremiante que, además de sus propiedades de mejora cognitiva, el Compuesto A muestre también eficacia en la inversión de la actividad locomotora inducida por la apomorfinita (APO LOCO) (Figura 8) y en la inhibición pre-pulso (PPI) (Figura 9), modelos de síntomas positivos de esquizofrenia. Por ello, se debe esperar que la (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida proporcione un beneficio adicional contra los síntomas positivos, así como también contra los síntomas cognitivos, asociados con esquizofrenia.

15 Las respuestas farmacológicas específicas observadas pueden variar de acuerdo con y dependiendo del compuesto activo particular seleccionado o de si hay o no presentes vehículos farmacéuticos, así como del tipo de formulación y modo de administración empleados, y tales variaciones o diferencias esperadas en los resultados se contemplan de acuerdo con la práctica de la presente invención.

20

## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un compuesto (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en un exceso enantiomérico o diastereoisomérico del 90 % o mayor con respecto a (2S,3S)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, (2R,3S)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o (2R,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,
- 10 en donde el compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable, es una sal de ácido de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida, cuyo ácido se selecciona del grupo que consiste en ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido maleico, ácido toluenosulfónico, ácido galactárico (múxico), ácido D-mandélico, ácido D-tartárico, ácido metanosulfónico, ácidos R-10-canforsulfónico y S-10-canforsulfónico, ácido cetoglutárico, y ácido hipúrico.
- 15 **2.** Un compuesto (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, en un exceso enantiomérico o diastereoisomérico del 99 % o mayor.
- 3.** La sal de ácido de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde la estequiometría de (2S,3R)-N-(2-((3-piridinil)metil)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)benzofuran-2-carboxamida frente al ácido es 2:1, 1:1, o 1:2.
- 4.** La sal de ácido de la reivindicación 3, en donde la estequiometría es 1:1.
- 20 **5.** El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de un trastorno del sistema nervioso central, inflamación, dolor, o neovascularización.
- 6.** Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en el tratamiento o prevención de un trastorno del sistema nervioso central, inflamación, dolor, o neovascularización.
- 25 **7.** El uso de la reivindicación 5 o el compuesto para uso de la reivindicación 6, en donde el trastorno del sistema nervioso central se selecciona de deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria asociado a la edad, demencia pre-senil, aparición precoz de la enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, demencia por micro-infartos, demencia relacionada con SIDA, demencia de VIH, infartos cerebrales múltiples, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, depresión, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette.
- 30 **8.** El uso o compuesto para uso de la reivindicación 7, en donde el trastorno del sistema nervioso central se selecciona entre enfermedad de Alzheimer, manía, trastorno de déficit de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, dislexia, esquizofrenia, disfunción cognitiva en esquizofrenia, depresión, trastornos obsesivo-compulsivos, o síndrome de Tourette.
- 35 **9.** El uso o compuesto para uso de la reivindicación 8, en donde el trastorno del sistema nervioso central es esquizofrenia o disfunción cognitiva en esquizofrenia.
- 40 **10.** El uso o compuesto para uso de la reivindicación 8, en donde el trastorno del sistema nervioso central es trastorno de déficit de atención o trastorno de hiperactividad con déficit de atención.
- 11.** Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Afinidades de unión  
Hipocampo de rata

Mezcla:	1 nM
2S,3R (Comp):	1 nM
2R,3S:	42 nM
2R,3R:	1 nM
2S,3S:	25 $\mu$ M

Figura 1A.1

Registros en células enteras de alfa7 de ratas en células de mamífero

Compuesto A frente a sus estereoisómeros

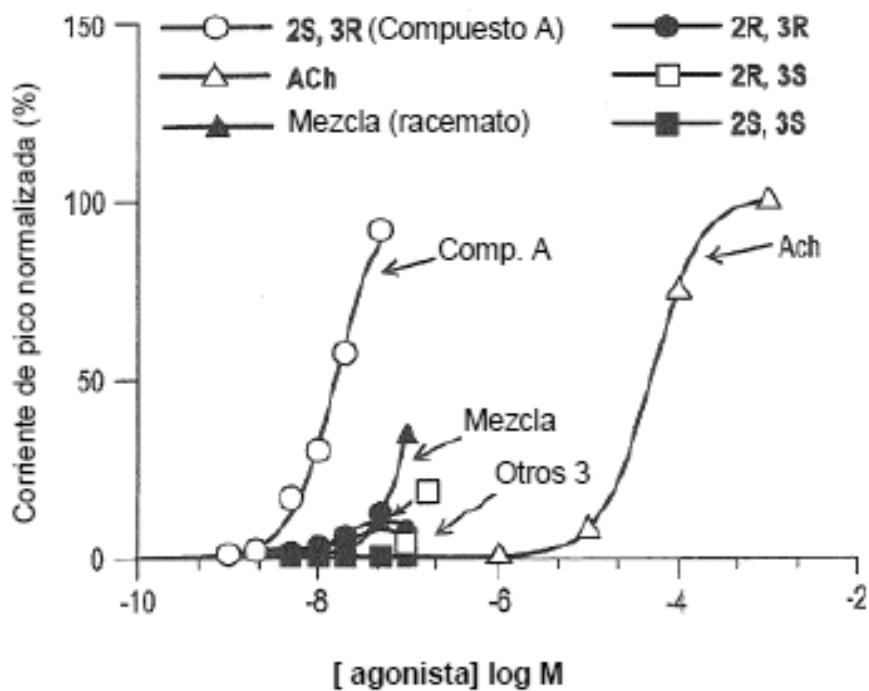


Figura 1A.2



Compuesto A en  $\alpha 7$  de rata en línea celular GH4C1

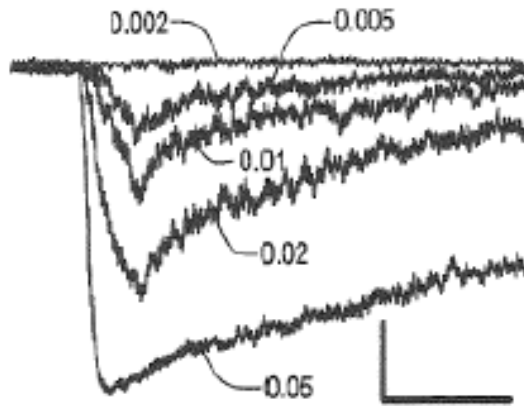


Figura 1A.3

A Ch en  $\alpha 7$  de rata en línea celular GH4C1

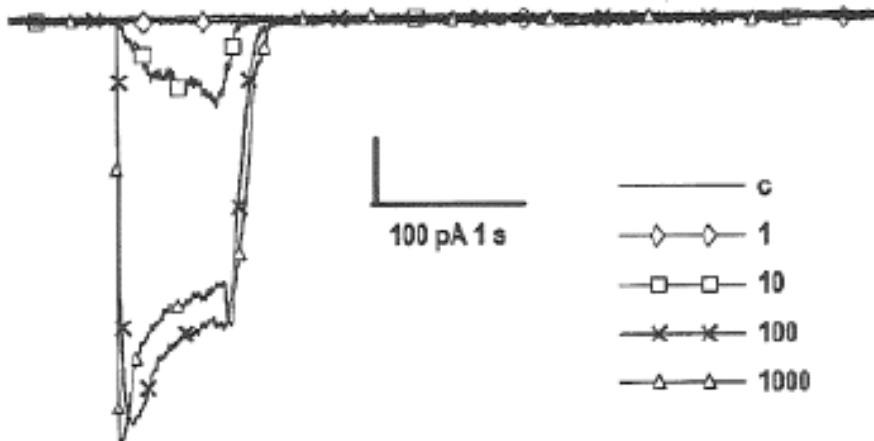


Figura 1A.4

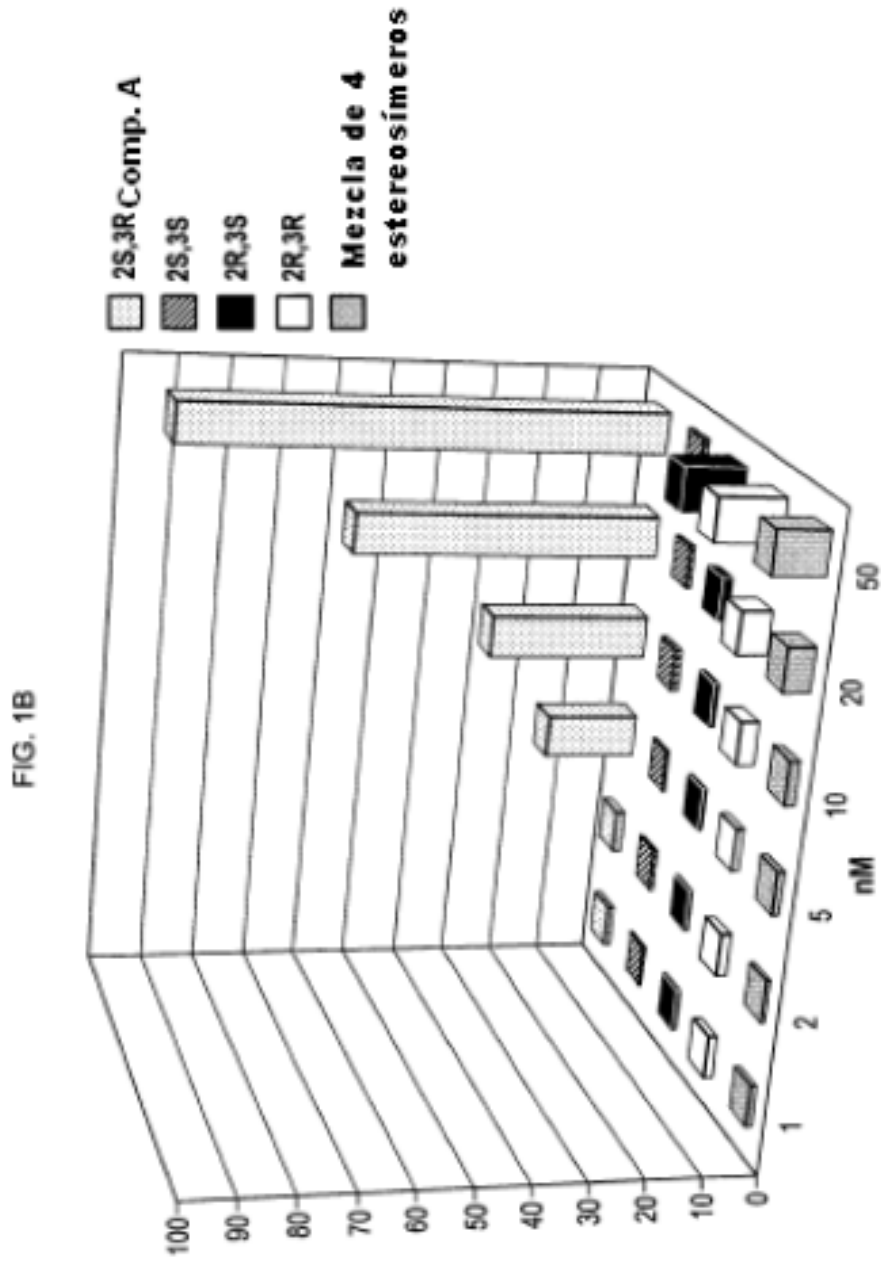


FIG. 2A

Activación  $\alpha 7$

A

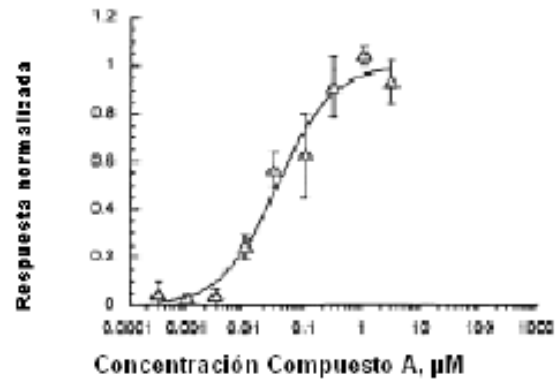


FIG. 2B

Controles Ach despues de la aplicación del Compuesto A

B

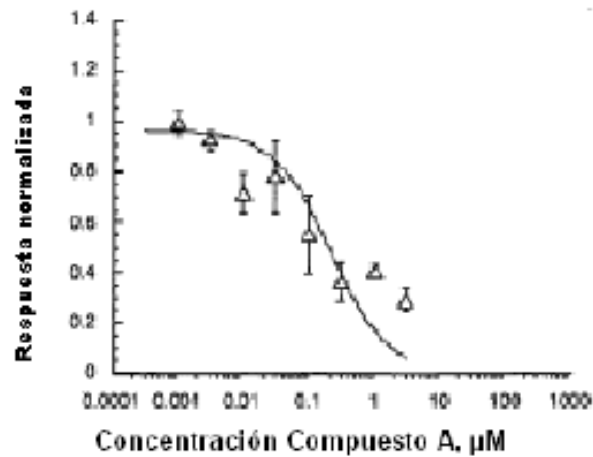


FIG. 3

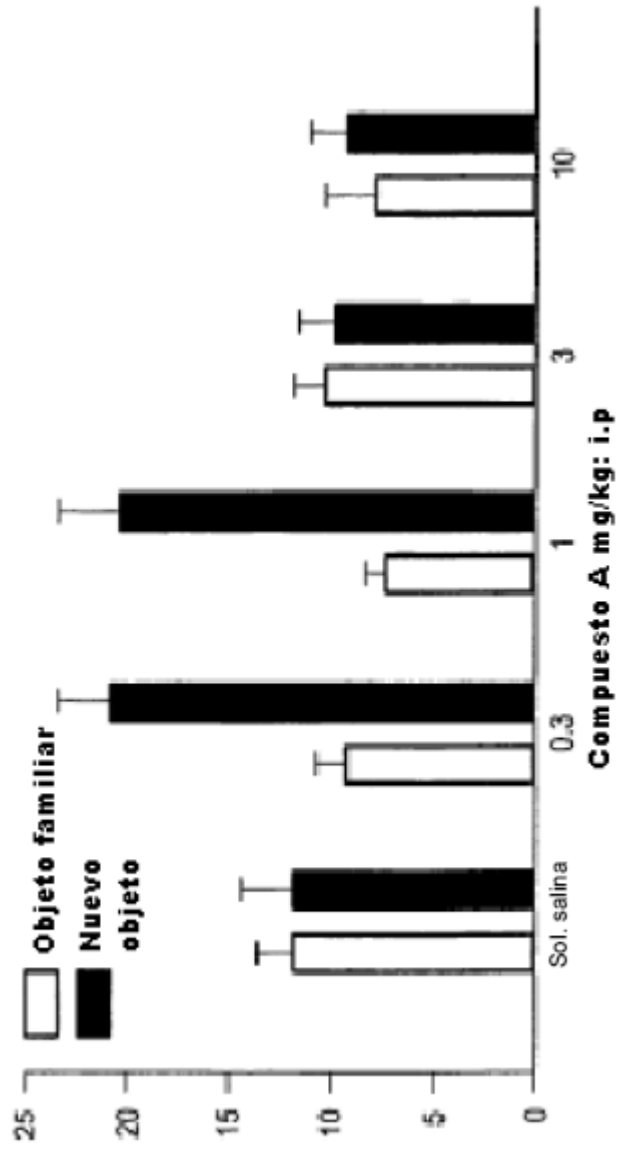


FIG. 4

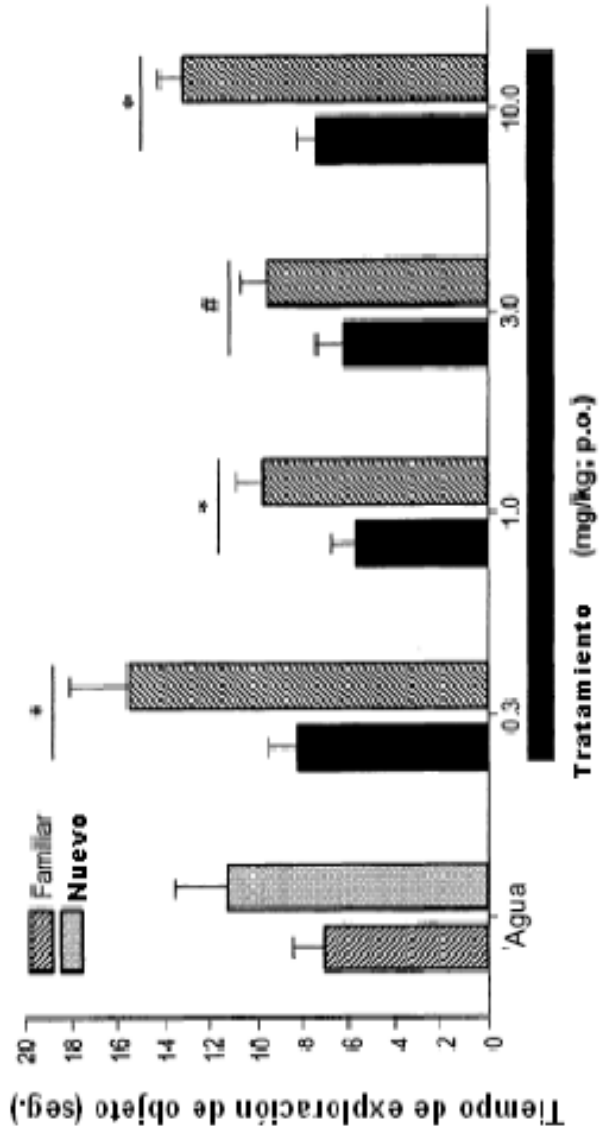


FIG. 5A

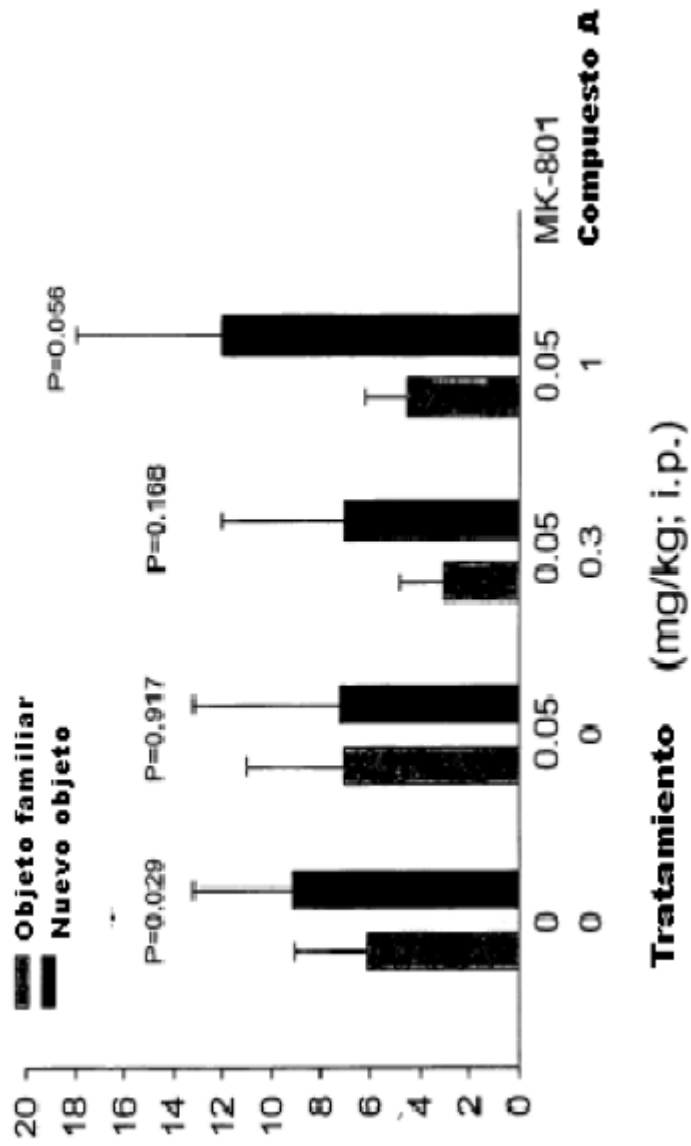
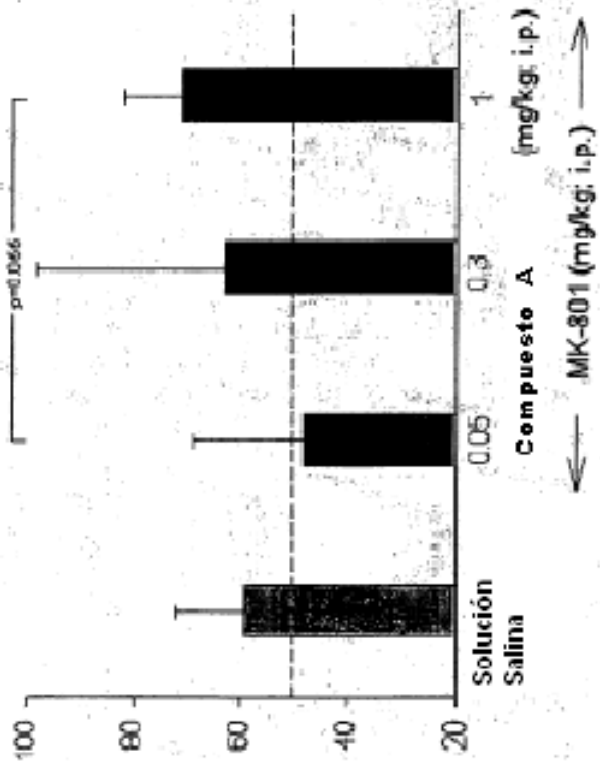


FIG. 5B



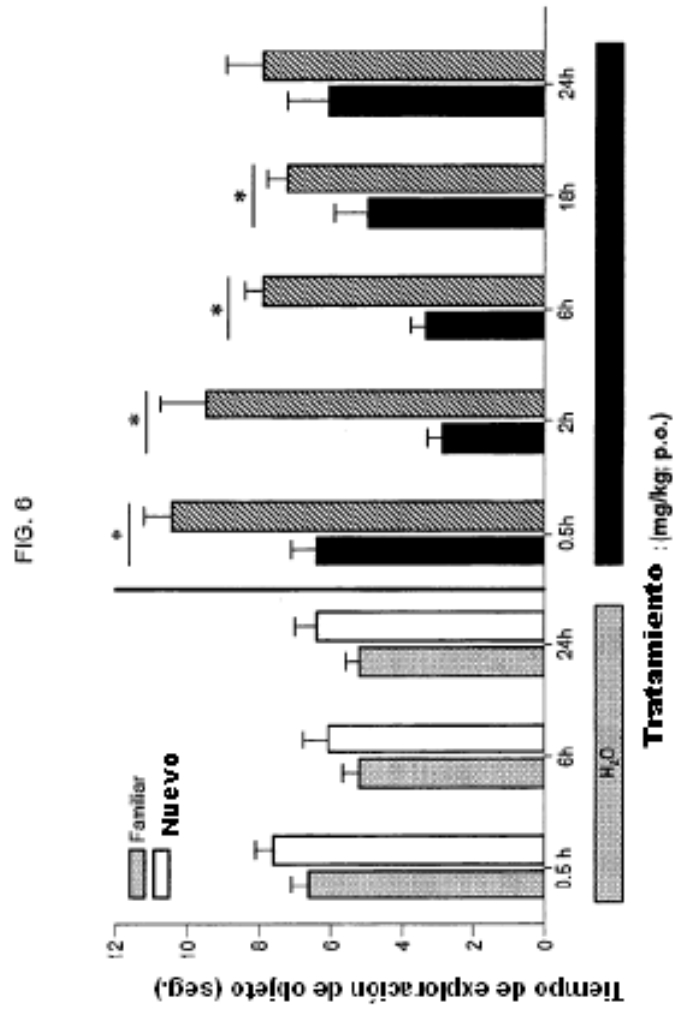




FIG. 7

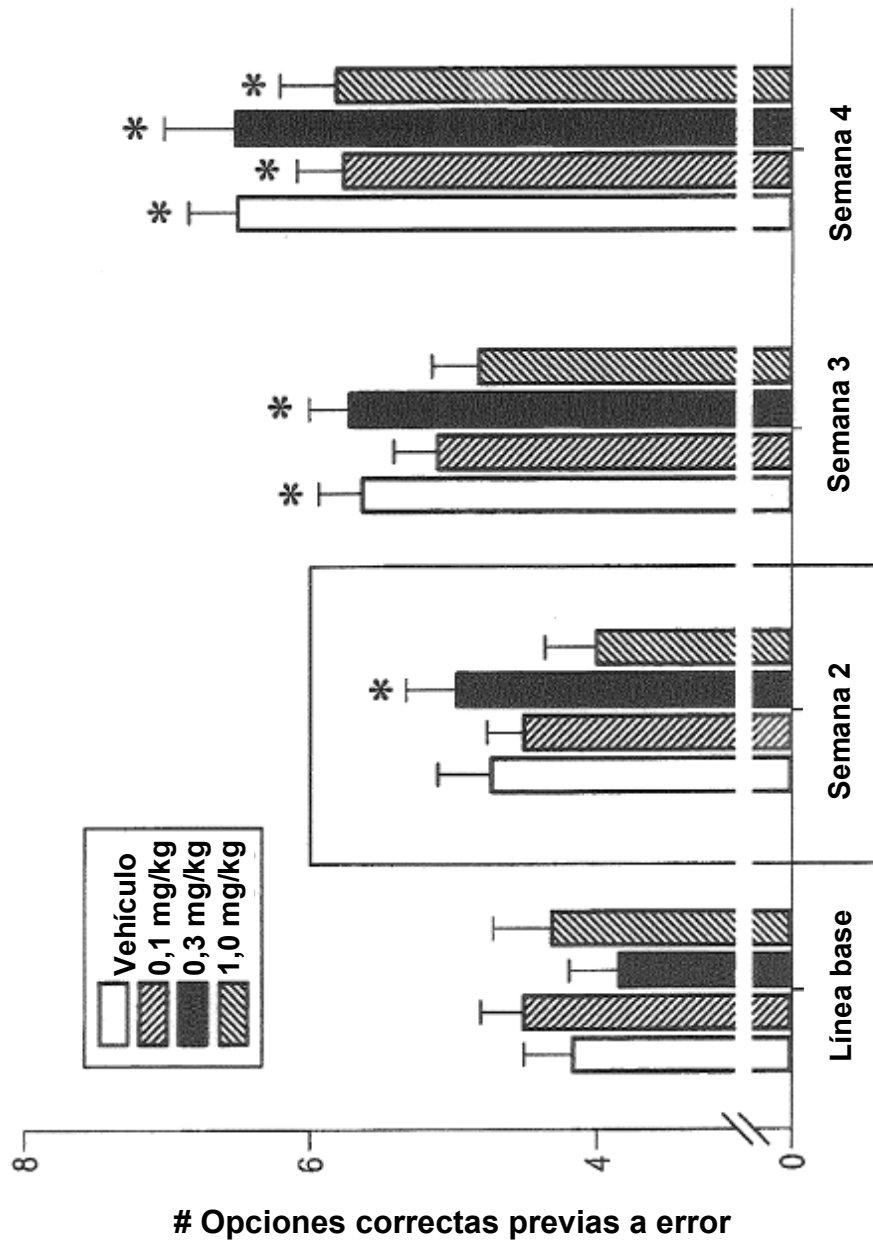
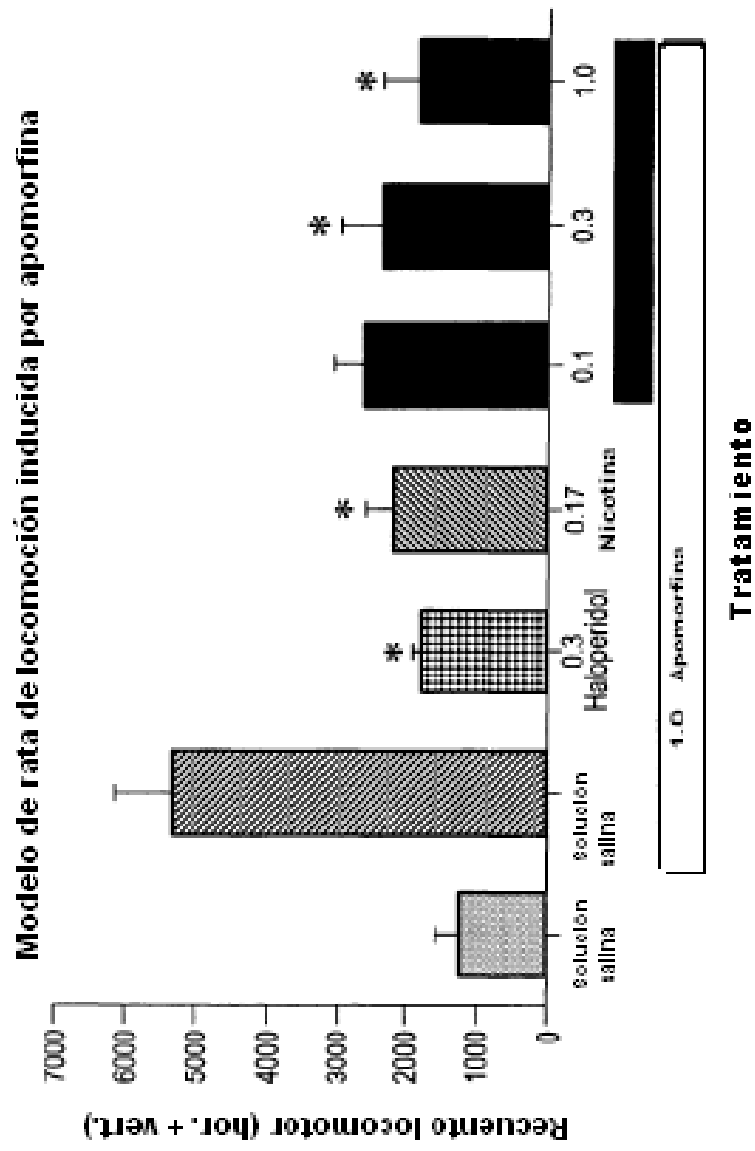
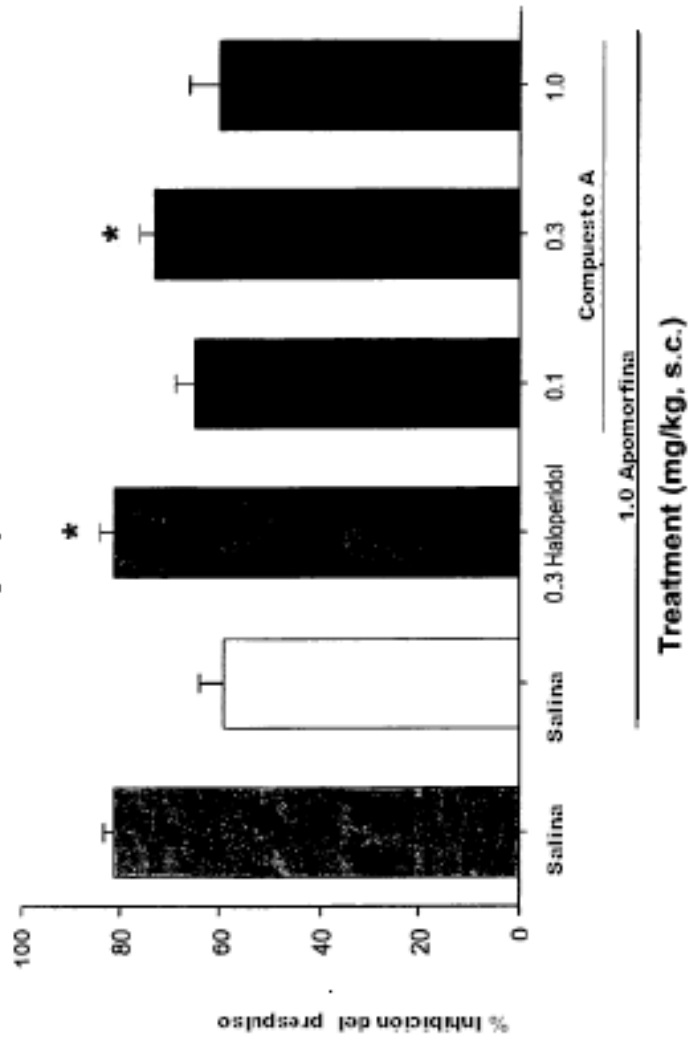


FIG. 8



**FIG. 9**  
**Inhibición del prepulso en modelo de rata**



Significativamente diferente de solución salina 1.0 mg/kg. Apomorfina P 0.05

FIG. 10A

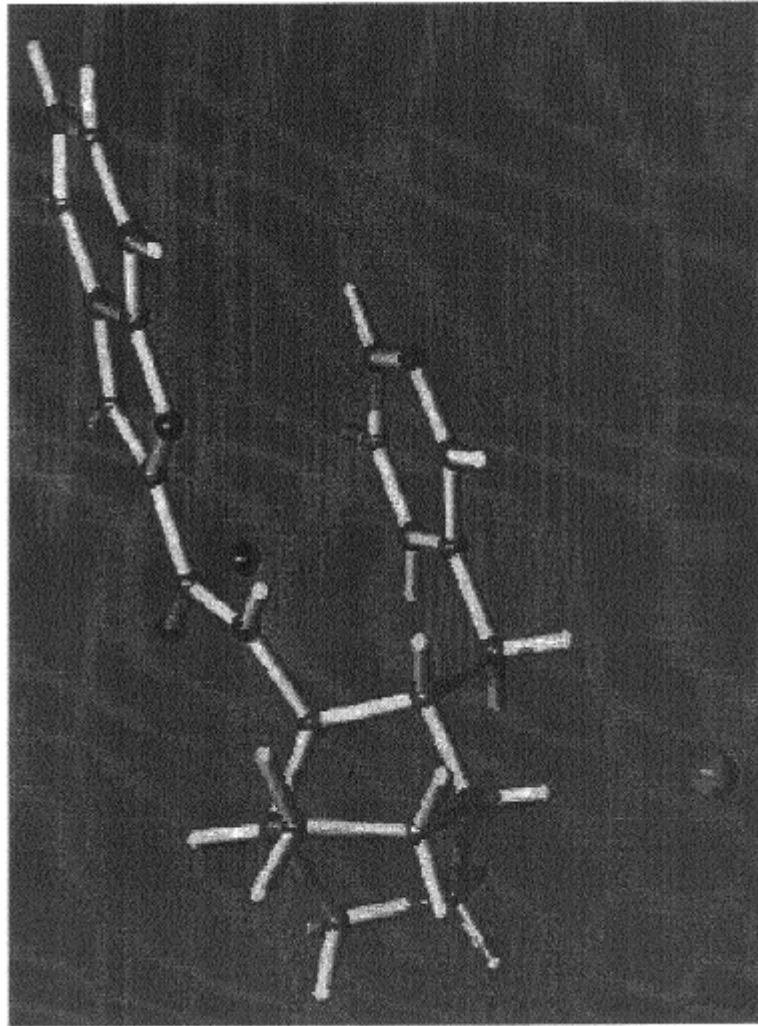


FIG. 10B

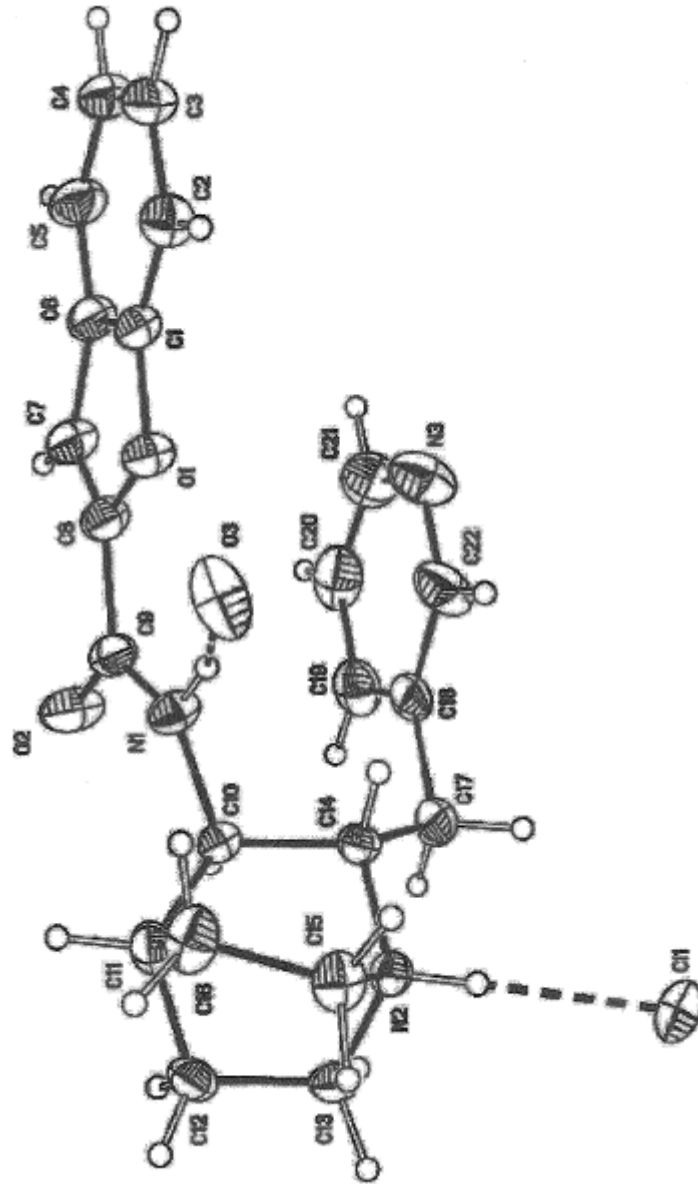


FIG. 11A

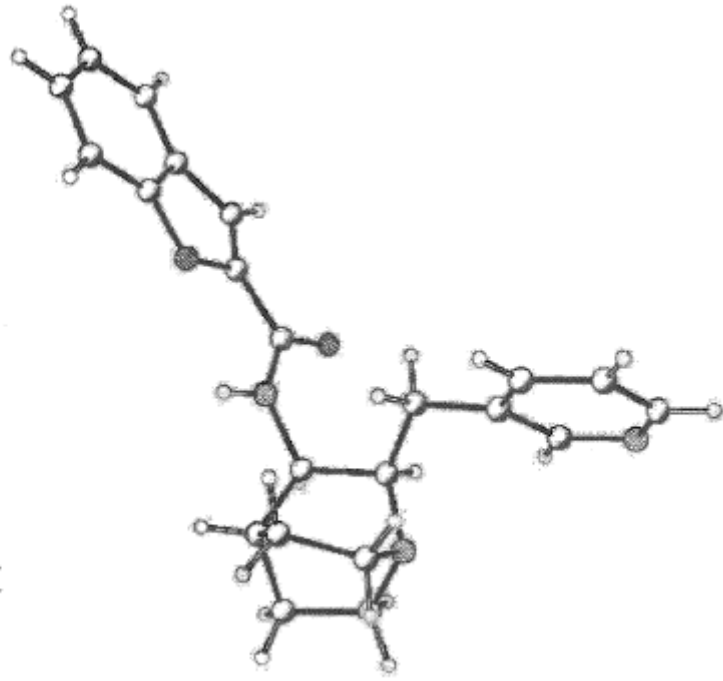


FIG. 11B

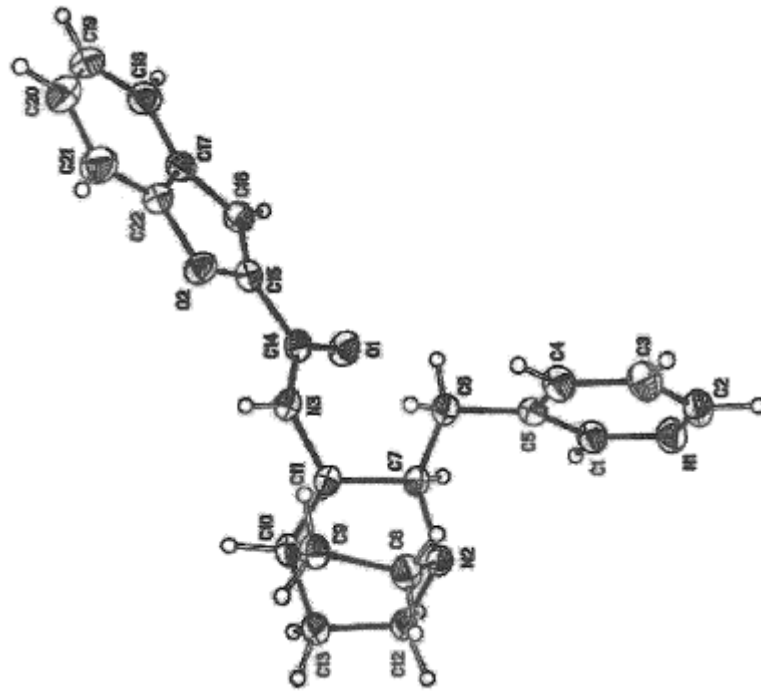


FIG. 12

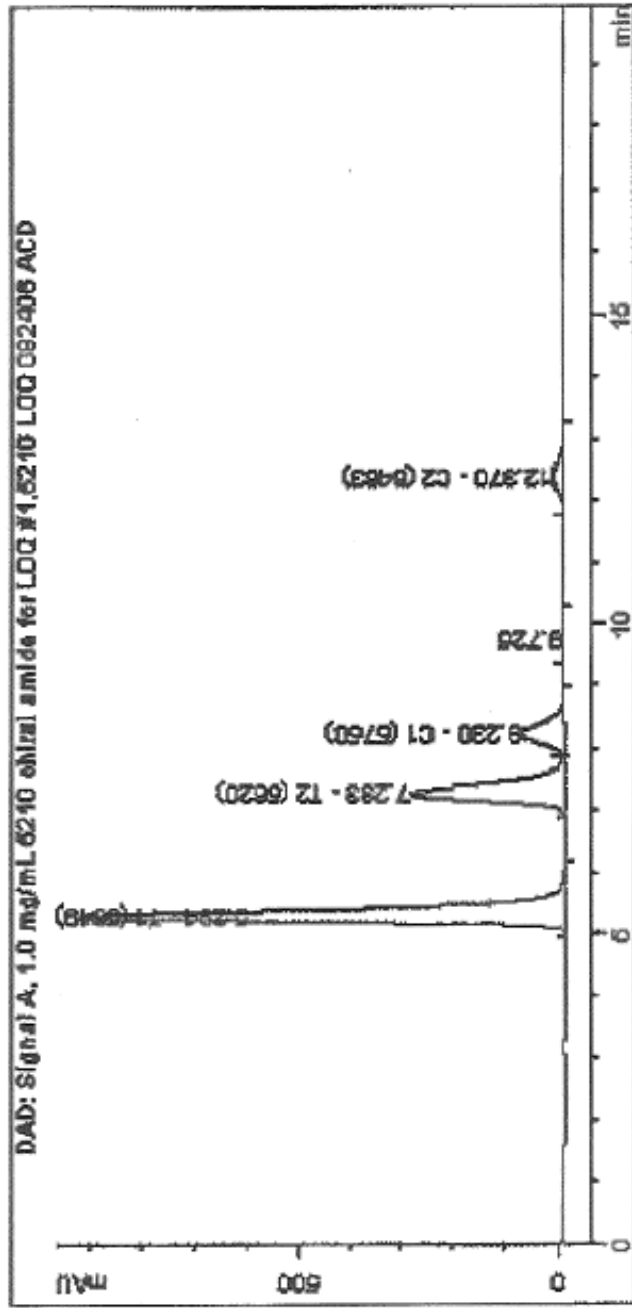




FIG. 13

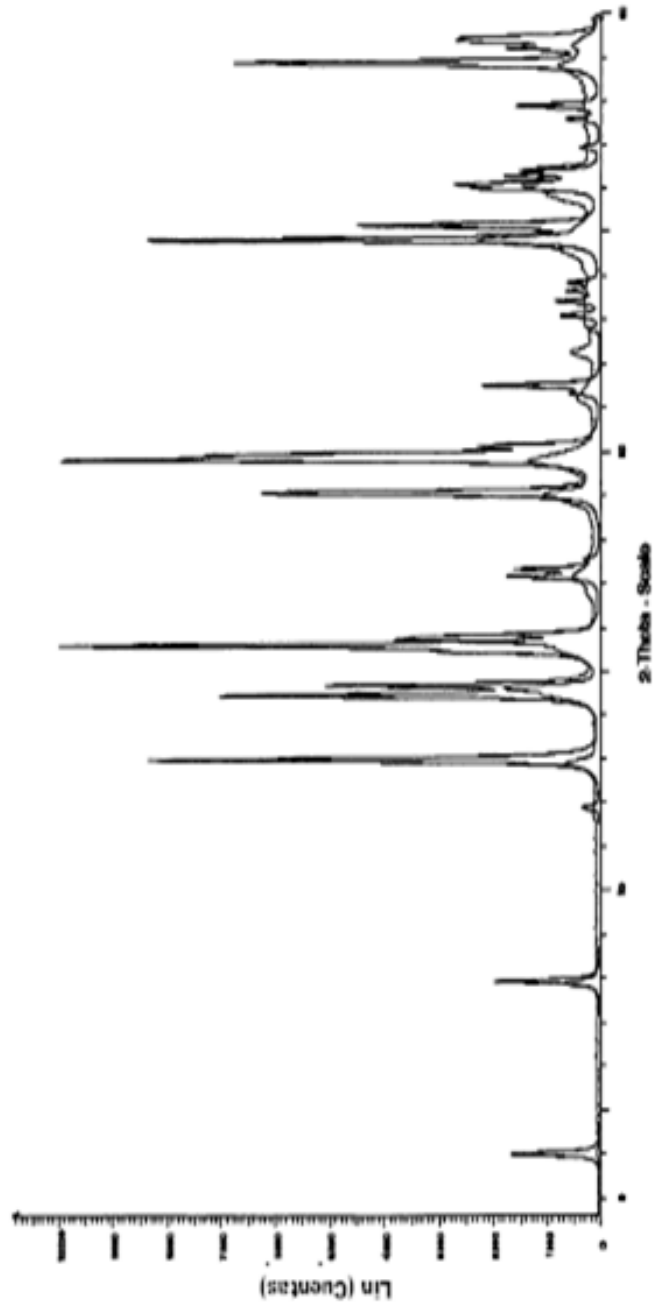


FIG. 14

