

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 373**

51 Int. Cl.:

C07C 211/38 (2006.01)
C07C 211/41 (2006.01)
C07D 205/04 (2006.01)
C07D 295/033 (2006.01)
A61K 31/13 (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2011 PCT/US2011/037630**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011 WO11149859**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2011 E 11724498 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017 EP 2576496**

54 Título: **Antagonistas no competitivos del receptor nicotínico**

30 Prioridad:

20.08.2010 US 375606 P
27.05.2010 US 349027 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2017

73 Titular/es:

CATALYST BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
260 Littlefield Avenue
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

AKIREDDY, SRINIVASA RAO;
BHATTI, BALWINDER SINGH;
HEEMSTRA, RONALD JOSEPH;
MELVIN, MATT S.;
SPEAKE, JASON;
XIAO, YUNDE y
YOHANNES, DANIEL

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 623 373 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

Antagonistas no competitivos del receptor nicotínico

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos que modulan los receptores nicotínicos como moduladores no competitivos (por ejemplo, antagonistas no competitivos), a métodos para su síntesis, a métodos para su uso y a sus composiciones farmacéuticas.

10

Antecedentes de la invención

Los receptores nicotínicos son dianas para un gran número de compuestos exógenos y endógenos que modulan alostéricamente su función. Véase, Arias, H. R., *Binding sites for exogenous and endogenous, non-competitive inhibitors of the nicotinic acetylcholine receptor*, *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Biomembranes* 1376:173-220 (1998) y Arias, H. R., Bhumireddy, P., *Anesthetics as chemical tools to study the structure and function of nicotinic acetylcholine receptors*, *Current Protein & Peptide Science* 6:451-472 (2005). La función de los receptores nicotínicos puede disminuir o ser bloqueada por compuestos diferentes estructuralmente denominados moduladores no competitivos, incluyendo los antagonistas no competitivos (revisado por Arias, H. R., Bhumireddy, P., Bouzat, C., *Molecular mechanisms and binding site locations for noncompetitive antagonists of nicotinic acetylcholine receptors*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38:1254-1276 (2006)).

Los moduladores no competitivos comprenden una amplia gama de compuestos diferentes estructuralmente que inhiben la función del receptor mediante la acción en un sitio o sitios diferentes del sitio de unión ortostérico. La modulación del receptor ha demostrado ser muy compleja. Los mecanismos de acción y las afinidades de unión de los moduladores no competitivos difieren entre subtipos de receptores nicotínicos (Arias et al., 2006). Los moduladores no competitivos pueden actuar por al menos dos mecanismos diferentes: un mecanismo alostérico y/o uno estérico.

Un mecanismo antagonista alostérico implica la unión de un antagonista no competitivo al receptor y la estabilización de un estado conformacional no conductor, concretamente, un estado de reposo o desensibilizado y/o un aumento en la tasa de la desensibilización del receptor.

Por el contrario, una representación sencilla de un mecanismo de estérico es que una molécula antagonista bloquee físicamente el canal iónico. Dichos antagonistas pueden denominarse moduladores de canal no competitivos (MNC). Algunos inhiben los receptores mediante la unión dentro del poro cuando el receptor está en el estado abierto, bloqueando de este modo físicamente la penetración de iones. Mientras que algunos solo actúan como bloqueantes de canal abierto puros, otros bloquean canales tanto abiertos como cerrados. Dichos antagonistas inhiben el flujo de iones a través de un mecanismo que no implica la unión en los sitios ortostéricos.

40

Se ha demostrado que los barbitúricos, los anestésicos disociativos, los antidepresivos y ciertos esteroides inhiben los receptores nicotínicos mediante mecanismos alostéricos, incluyendo el bloqueo de canales abiertos y cerrados. Los estudios de barbitúricos apoyan un modelo mediante el cual la unión se produce en los estados tanto abierto como cerrado de los receptores, dando como resultado el bloqueo del flujo de iones. Véase, Dilger, J. P., Boguslavsky, R., Barann, M., Katz, T., Vidal, A. M., *Mechanisms of barbiturate inhibition of acetylcholine receptor channels*, *Journal General Physiology* 109:401-414 (1997). Aunque la acción inhibitoria de los anestésicos locales sobre la conducción nerviosa está mediada principalmente por el bloqueo de canales de sodio abiertos por voltaje, los receptores nicotínicos también son dianas de los anestésicos locales. Véase, Arias, H. R., *Role of local anesthetics on both cholinergic and serotonergic ionotropic receptors*, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23:817-843 (1999) y Arias, H. R. y Blanton, M. P., *Molecular and physicochemical aspects of local anesthetics acting on nicotinic acetylcholine receptor-containing membranes*, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 2:385-410 (2002).

Por ejemplo, la tetracaína se une a los canales receptores preferentemente en el estado de reposo. Los anestésicos disociativos inhiben varios receptores nicotínicos de tipo neuronal en intervalos de concentraciones clínicas, con ejemplos tales como la fenciclidina (PCP) (Connolly, J., Coulter, J. y Heinemann, S. F., *Alpha 4-beta 2 and other nicotinic acetylcholine receptor subtypes as targets of psychoactive and addictive drugs*, *British Journal of Pharmacology* 105:657-666 (1992)), ketamina (Flood, P. y Krasowski M. D., *Intravenous anesthetics differentially modulate ligand-gated ion channels*, *Anesthesiology* 92:1418-1425 (2000); y Ho, K. K. y Flood, P., *Single amino acid residue in the extracellular portion of transmembrane segment 2 in the nicotinic $\alpha 7$ acetylcholine receptor modulate sensitivity to ketamine*, *Anesthesiology* 100:657-662 (2004)) y dizocilpina (Krasowski, M. D. y Harrison, N. L., *General anaesthetic actions on ligand-gated ion channels*, *Cellular and Molecular Life Sciences* 55:1278-1303 (1999)). Los estudios indican que los anestésicos disociativos se unen a un único sitio o a sitios solapados en el canal iónico en reposo e indican que el locus ketamina/PCP solapa parcialmente el sitio de unión de la tetracaína en el canal receptor. La dizocilpina, también conocida como MK-801, es un anestésico disociativo y un anticonvulsivante que también actúa como antagonista no competitivo en diferentes receptores nicotínicos. Se ha notificado que la dizocilpina es un bloqueante de canal abierto de los receptores nicotínicos neuronales $\alpha 4\beta 2$. Véase,

65

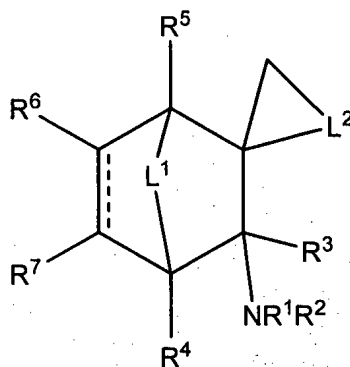
Buisson, B. y Bertrand, D., *Open-channel blockers at the human $\alpha\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor*, *Molecular Pharmacology* 53:555-563 (1998).

Además de sus acciones bien conocidas sobre los sistemas de recaptación de monoamina y de serotonina, también se ha demostrado que los antidepresivos modulan los receptores nicotínicos. Los primeros estudios demostraron que los antidepresivos tricíclicos actúan como antagonistas no competitivos. Véase, Gumilar, F., Arias, H. R., Spitzmaul, G., Bouzat, C, *Molecular mechanisms of inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by tricyclic antidepressants: Neuropharmacology* 45:964-76 (2003). García-Colunga et al., notifican que la fluoxetina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibe las corrientes de membrana provocadas por la activación de los receptores nicotínicos musculares o neuronales de una forma no competitiva; ya sea mediante el aumento de la tasa de desensibilización y/o mediante la inducción del bloqueo de los canales. Véase, García-Colunga, J., Awad, J. N. y Miledi, R., *Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac)*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94:2041-2044 (1997); y García-Colunga, J., Vazquez-Gómez, E. y Miledi, R., *Combined actions of cinc and fluoxetine on nicotinic acetylcholine receptors*, *The Pharmacogenomics Journal* 4:388-393 (2004). La mecamilamina, aprobada anteriormente para el tratamiento de la hipertensión, es un antagonista no competitivo clásico del receptor nicotínico y también se sabe bien que inhibe la función del receptor mediante el bloqueo del canal iónico. Véase, Giniatullin, R. A., Sokolova, E. M., Di Angelantonio, S., Skorinkin, A., Talantova, M. V., Nistri, A. *Rapid Relief of Block by Mecamylamine of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors of Rat Chromaffin Cells In Vitro: An Electrophysiological and Modeling Study*. *Molecular Pharmacology* 58: 778-787 (2000).

El documento WO 03/080046 describe derivados de aminociclohexano azabíclicos, azatricíclicos y azaespirocíclicos que actúan como antagonistas de los receptores de NMDA, de 5HT₃ y de los receptores nicotínicos neuronales y pueden utilizarse en el tratamiento de trastornos del SNC que impliquen alteraciones de la transmisión glutamatergica, serotoninérgica y nicotínica, en el tratamiento de trastornos inmunomoduladores y tienen actividad antimalárica, antitripanosómica, contra el virus de Borna, contra el VHS y contra el virus de la Hepatitis C.

Sumario de la invención

La presente invención incluye compuestos de Fórmula I:



Fórmula I

en la que

- R¹ es H y R² es = alquilo C₁₋₆;
 R³ es H, alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆ sustituido con alcoxi C₁₋₆;
 cada uno de R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ es individualmente H, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;
 L¹ es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CR⁸R⁹, CR⁸R⁹CR¹⁰R¹¹ y O;
 L² es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CH₂, CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂ o CH₂CH₂CH₂CH₂;
 cada uno de R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ es individualmente hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y la línea discontinua indica un doble enlace opcional;
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

La presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse para el tratamiento o la prevención de una amplia diversidad de afecciones o trastornos y en particular de aquellos trastornos caracterizados por la disfunción de la neurotransmisión colinérgica nicotínica o la degeneración de las neuronas colinérgicas nicotínicas.

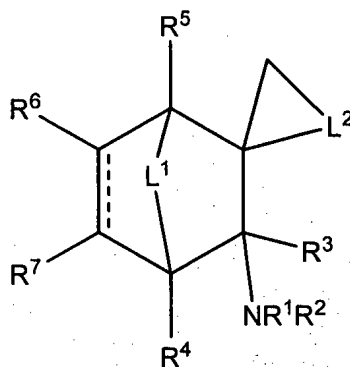
La presente invención incluye una composición que comprende un compuesto de Fórmula I para su uso en el tratamiento o la prevención de trastornos y disfunciones, tales como trastornos y disfunciones del SNC, y también para el tratamiento o la prevención de ciertas afecciones, por ejemplo, para aliviar el dolor, la hipertensión y la inflamación, en mamíferos que necesitan dicho tratamiento.

5

Descripción detallada de la invención

I. Compuestos

10 Una realización de la presente invención incluye compuestos de Fórmula I:



Fórmula I

en la que

15

R¹ es H y R² es alquilo C₁₋₆;

R³ es H, alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆ sustituido con alcoxi C₁₋₆;

cada uno de R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ es individualmente H, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

20

L¹ es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CR⁸R⁹, CR⁸R⁹CR¹⁰R¹¹ y O;

L² es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CH₂, CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂ o CH₂CH₂CH₂CH₂;

cada uno de R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ es individualmente hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y

la línea discontinua indica un doble enlace opcional;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25

En una realización, R³ es alquilo C₁₋₆. En una realización, cada uno de R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ es H. En una realización, L¹ es CR⁸R⁹ y cada uno de R⁸ y R⁹ es hidrógeno. En una realización, L² es CH₂CH₂. En una realización, la línea discontinua es un enlace sencillo.

30

Un aspecto de la presente invención incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35

Un aspecto de la presente invención incluye un compuesto de Fórmula I para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente mediante el uso de moduladores no competitivos (por ejemplo, antagonistas no competitivos), incluyendo pero no limitados a bloqueantes de canales, que comprende la administración de un compuesto de la presente invención. En una realización, la enfermedad o afección es un trastorno del SNC. En otra realización, la enfermedad o afección es la inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o afección es el dolor. En otra realización, la enfermedad o afección es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o afección es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o afección es otro trastorno descrito en el presente documento.

40

45

Un aspecto de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente mediante el uso de antagonistas no competitivos, tales como bloqueantes de canales. En una realización, la enfermedad o afección es un trastorno del SNC. En otra realización, la enfermedad o afección es la inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o afección es el dolor. En otra realización, la enfermedad o afección es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o afección es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o afección es otro trastorno descrito en el presente documento.

50

Un aspecto de la presente invención incluye un compuesto de la presente invención para su uso como un principio activo terapéutico. Un aspecto, por tanto, incluye un compuesto de la presente invención para su uso en el

tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente mediante el uso de antagonistas no competitivos, tales como bloqueantes de canales. En una realización, la enfermedad o afección es un trastorno del SNC. En otra realización, la enfermedad o afección es la inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o afección es el dolor. En otra realización, la enfermedad o afección es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o afección es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o afección es otro trastorno descrito en el presente documento.

Las enfermedades o afecciones particulares incluyen la depresión, incluyendo el trastorno depresivo mayor, la hipertensión, el síndrome del intestino irritable (SII), incluyendo el SII-D (diarrea predominante), la vejiga hiperactiva (VHA) y la adicción, incluyendo dejar de fumar.

El alcance de la presente invención incluye todas las combinaciones de aspectos y realizaciones.

Las siguientes definiciones pretenden aclarar, pero no limitar, los términos que se definen. Si un término particular utilizado en el presente documento no se define específicamente, dicho término no debe considerarse indefinido. Por el contrario, los términos se utilizan dentro de sus significados aceptados.

Como se utiliza en toda la presente memoria descriptiva, el número preferido de átomos, tales como átomos de carbono, se representará mediante, por ejemplo, la frase "alquilo C_{x-y}", que se refiere a un grupo alquilo, como se define en el presente documento, que contiene el número especificado de átomos de carbono. Se aplicará también una terminología similar a otros términos e intervalos preferidos. Por tanto, por ejemplo, alquilo C₁₋₆ representa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a seis átomos de carbono.

Como se utiliza en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos de "alquilo" como se utiliza en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, n-butilo, terc-butilo, isopentilo y n-pentilo.

Como se utiliza en el presente documento, el término "alquileno" se refiere a un grupo divalente, tal como "metileno" y "etileno", que se refiere a las formas divalentes -CH₂- y -CH₂-CH₂-, respectivamente.

Como se utiliza en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un único anillo de benceno o a un sistema de anillos de benceno condensados. Los ejemplos de grupos "arilo" como se utiliza en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, fenilo, 2-naftilo, 1-naftilo, antraceno y fenantreno. Los anillos arilo preferidos tienen hasta diez miembros.

Como se utiliza en el presente documento, un sistema de anillos de benceno condensados comprendido dentro del término "arilo" incluye hidrocarburos policíclicos condensados, concretamente en el que un hidrocarburo cíclico con menos del número máximo de dobles enlaces no acumulativos, por ejemplo en el que un anillo hidrocarbonado saturado (cicloalquilo, tal como un anillo ciclopentilo) está condensado con un anillo aromático (arilo, tal como un anillo de benceno) para formar, por ejemplo, grupos tales como indanilo y acenaftalenilo, y también incluye grupos tales como, como ejemplos no limitantes, dihidronaftaleno y tetrahidronaftaleno.

Como se utiliza en el presente documento, el término "alcoxi" se refiere a un grupo -OR^a, en el que R^a es alquilo como se ha definido en el presente documento.

Como se utiliza en el presente documento, el término "ariloxi" se refiere a un grupo -OR^a, en el que R^a es arilo como se ha definido en el presente documento.

Como se utiliza en el presente documento "amino" se refiere a un grupo -NR^aR^b, en el que cada uno de R^a y R^b es hidrógeno. Adicionalmente, "amino sustituido" se refiere a un grupo -NR^aR^b en el que cada uno de R^a y R^b es individualmente alquilo, arilalquilo o arilo. Como se utiliza en el presente documento, cuando ya sea R^a o R^b es distinto de hidrógeno, un grupo de este tipo puede denominarse como un "amino sustituido" o, por ejemplo, si R^a es H y R^b es alquilo, como un "alquilamino".

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo o vehículos, a un diluyente o diluyentes, a un excipiente o excipientes o a formas de sal de los compuestos de la presente invención que son compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no son perjudiciales para el receptor de la composición farmacéutica.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a un compuesto de la presente invención opcionalmente mezclado con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas presentan preferentemente un grado de estabilidad a las condiciones ambientales con el fin de hacerlas adecuadas para fines de fabricación y comercialización.

Como se utilizan en el presente documento, las expresiones "cantidad eficaz", "cantidad terapéutica" y "dosis eficaz" se refieren a una cantidad del compuesto de la presente invención suficiente para provocar los efectos farmacológicos o terapéuticos deseados, dando como resultado, de este modo, un tratamiento eficaz de un

trastorno. El tratamiento de un trastorno puede manifestarse mediante el retraso o la prevención de la aparición o la progresión de la enfermedad, así como de la aparición o la progresión de síntomas asociados al trastorno. El tratamiento de un trastorno también puede manifestarse mediante una disminución o eliminación de síntomas, la inversión de la progresión del trastorno, así como cualquier otra contribución al bienestar del paciente.

5 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. Normalmente, para ser administrados en una dosis eficaz, los compuestos pueden administrarse en una cantidad de menos de 5 mg/kg de peso del paciente. Los compuestos pueden administrarse en una cantidad de menos de 1 mg/kg de peso del paciente a menos de 100 ug/kg de peso del paciente y, adicionalmente, entre 1 µg/kg y menos de 100 µg/kg de peso del paciente. Las dosis eficaces anteriores normalmente representan la cantidad que puede administrarse como una dosis única o como una o más dosis que pueden administrarse durante un período de 24 horas.

15 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante diversos métodos, incluyendo métodos de síntesis bien establecidos. Se exponen a continuación métodos de síntesis generales ilustrativos y, después, se preparan compuestos específicos de la invención en los Ejemplos de trabajo.

20 En los ejemplos que se describen a continuación, se emplean grupos protectores para grupos sensibles o reactivos donde sea necesario de acuerdo con los principios generales de la química de síntesis. Los grupos protectores se manipulan de acuerdo con métodos convencionales de síntesis orgánica (T. W. Green y P. G. M. Wuts (1999) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, John Wiley & Sons, con respecto a grupos protectores). Estos grupos se retiran en una etapa conveniente de la síntesis de compuestos utilizando métodos que son evidentes fácilmente para los expertos en la materia. La selección de procesos, así como las condiciones de reacción y el orden de su ejecución serán coherentes con la preparación de compuestos de la presente invención

25 En el presente documento también se describe un método para la síntesis de compuestos útiles como intermedios en la preparación de compuestos de la presente invención junto con métodos para su preparación.

30 Los compuestos pueden prepararse de acuerdo con los métodos que se describen a continuación, utilizando materiales de partida y reactivos disponibles fácilmente. En estas reacciones, pueden emplearse variantes conocidas por sí mismas para los expertos habituales en esta materia, pero no se describen en detalle en el presente documento.

35 A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Los compuestos que tienen la presente estructura excepto por el reemplazo de un átomo de hidrógeno por un deuterio o tritio o el reemplazo de un átomo de carbono por un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C , están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, el deuterio se ha utilizado ampliamente para examinar la farmacocinética y el metabolismo de compuestos biológicamente activos. Aunque el deuterio se comporta de manera similar al hidrógeno desde un punto de vista químico, existen diferencias significativas en las energías de enlace y las longitudes de enlace entre un enlace deuterio-carbono y un enlace hidrógeno-carbono. En consecuencia, la sustitución de hidrógeno por deuterio en un compuesto biológicamente activo puede dar como resultado un compuesto que generalmente conserva su potencia bioquímica y su selectividad pero manifiesta propiedades de absorción, distribución, metabolismo y/o excreción (ADME) significativamente diferentes en comparación con su homólogo sin isótopos. Por tanto, la sustitución con deuterio puede dar como resultado una eficacia, una seguridad y/o una tolerabilidad del fármaco mejoradas para algunos compuestos biológicamente activos.

50 Los compuestos de la presente invención pueden cristalizar en más de una forma, una característica conocida como polimorfismo y dichas formas polimórficas ("polimorfos") están dentro del alcance de la presente invención. Generalmente, el polimorfismo puede ocurrir como respuesta a cambios en la temperatura, la presión o ambas. El polimorfismo también puede ser resultado de variaciones en el proceso de cristalización. Los polimorfos pueden distinguirse por diversas características físicas conocidas en la técnica tales como patrones de difracción de rayos X, solubilidad y punto de fusión.

55 Algunos de los compuestos que se describen en el presente documento contienen uno o más centros quirales o pueden ser capaces de existir de otra forma como múltiples estereoisómeros. El alcance de la presente invención incluye mezclas de estereoisómeros, así como enantiómeros purificados o mezclas enriquecidas enantioméricamente/diastereoméricamente. También se incluyen dentro del alcance de la invención los isómeros individuales de los compuestos representados por las fórmulas de la presente invención, así como cualquier mezcla total o parcialmente equilibrada de los mismos. La presente invención también incluye los isómeros individuales de los compuestos representados por las fórmulas anteriores como mezclas con isómeros de los mismos en las que uno o más centros quirales están invertidos.

65 Cuando se desea un compuesto como un solo enantiómero, esto puede obtenerse mediante síntesis estereoespecífica, mediante resolución de los productos finales o cualquier intermedio conveniente, o mediante métodos cromatográficos quirales como se conocen en la técnica. La resolución del producto final, un intermedio o

un material de partida, puede efectuarse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, *Stereochemistry of Organic Compounds* (Wiley-Interscience, 1994).

5 La presente invención incluye una sal o un solvato de los compuestos que se describen en el presente documento, incluyendo combinaciones de los mismos tales como un solvato de una sal. Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas solvatadas, por ejemplo hidratadas, así como formas no solvatadas, y la presente invención abarca todas dichas formas.

10 Normalmente, pero no absolutamente, las sales de la presente invención son sales farmacéuticamente aceptables. Las sales incluidas dentro de la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a sales atóxicas de los compuestos de la presente invención.

15 Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales de adición de ácido inorgánicas tales como cloruro, bromuro, sulfato, fosfato y nitrato; sales de adición de ácido orgánicas tales como acetato, galactarato, propionato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, maleato, fumarato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato y ascorbato; sales con aminoácidos ácidos tales como aspartato y glutamato; sales de metales alcalinos tales como sal de sodio y sal de potasio; sales de metales alcalinotérreos tales como sal de magnesio y sal de calcio; sal de amonio; sales básicas orgánicas tales como sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de dicitlohexilamina y sal de N,N'-dibenciletilendiamina; y sales con aminoácidos básicos tales como sal de lisina y sal de arginina. Las sales pueden ser en algunos casos hidratos o solvatos de etanol.

II. Métodos generales de síntesis

25 Los expertos en la materia de la síntesis orgánica apreciarán que existen múltiples medios de producción de compuestos de la presente invención, así como medios para producir compuestos de la presente invención que se marcan con un radioisótopo adecuado para diversos usos.

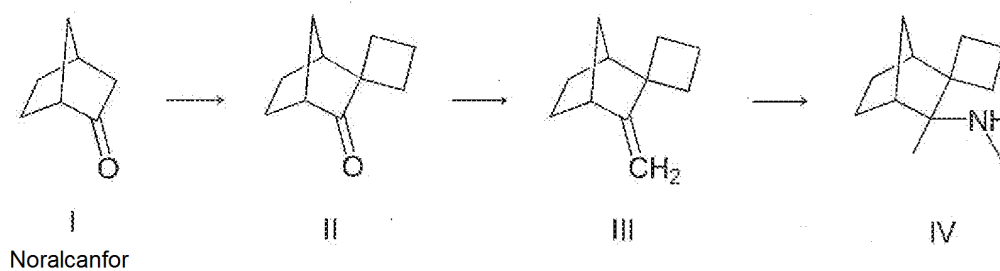
30 Uno de los medios de producción de compuestos de la presente invención se esboza en el Esquema 1 (véanse los Ejemplos de Síntesis). Por tanto, el noralcanfor (2-norbornanona) puede alquilarse adyacente al grupo funcional carboxilo, utilizando técnicas bien conocidas por los expertos en la materia de la síntesis orgánica. Normalmente, para dichas transformaciones se utiliza el tratamiento de la cetona con una base fuerte (por ejemplo, hidruro de sodio, alcóxido de sodio, amida de sodio) para formar un enolato intermedio, seguido del tratamiento con un haluro o sulfonato de alquilo. En ciertas condiciones, la alquilación puede realizarse con un α,ω -dihaloalcano (tal como 1,3-dibromopropano), de manera que se forme un enlace espiro. Aunque el Esquema 1 muestra la formación de un espirociclobutano (Compuesto II) de esta manera también son accesibles otros tamaños de anillo (por ejemplo, espirociclopentano), mediante el uso de otros α,ω -dihaloalcanos. El grupo funcional carbonilo posteriormente puede convertirse en un metileno exocíclico (Compuesto III), utilizando química de Wittig (o equivalente). El tratamiento de compuestos de exo-metileno con cianuro de hidrógeno (o reactivos similares, tales como tiocianatos), en presencia de ácido fuerte, puede proporcionar los formamido compuestos terciarios correspondientes, en un proceso conocido como la reacción de Ritter. La reducción del formamido compuesto, utilizando un agente reductor de hidruro, tal como hidruro de litio y aluminio o hidruro de sodio bis(metoxietoxi)aluminio, proporciona la correspondiente amina secundaria, Compuesto IV.

45 Como alternativa, también pueden utilizarse 2-norbornanonas sustituidos como materiales de partida en la transformación que se esboza en el Esquema 2. Por tanto, cada uno de D-alcanfor y L-alcanfor (ambos disponibles en el mercado) puede transformarse en estereoisómeros del Compuesto V. También pueden utilizarse otros materiales de partida de cetona. Por ejemplo, el homólogo de 2-norbornanona, biciclo[2,2,2]octan-2-ona, puede prepararse por hidrogenación de biciclo[2,2,2]oct-5-en-2-ona, que en su vez puede hacerse mediante procedimientos similares a los publicados por Kozikowski y Schmiesing, *J. Org. Chem.* 48:1000-1007 (1983), con respecto a dicha reacción. De forma similar, la 7-oxabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-ona, producida como se describe por Black y Vogel, *Helv. Chim. Acta* 67:1612 (1984), puede hidrogenarse para proporcionar 7-oxabicyclo[2.2.1]heptan-2-ona. Cada una de estas cetonas es un material de partida potencial para transformaciones similares a las que se muestran en los Esquemas 1 y 2.

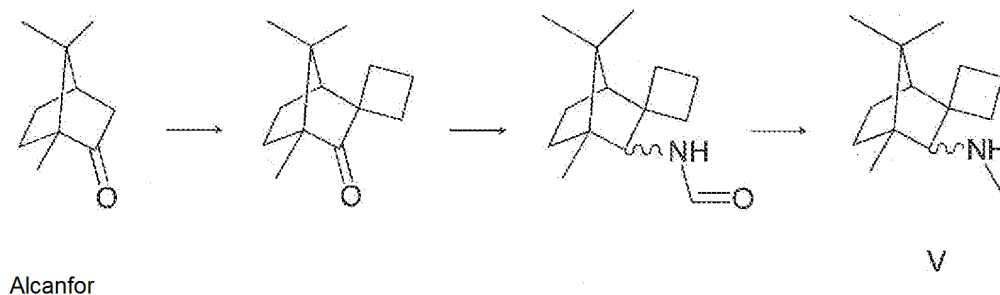
55 El grupo funcional espirociclopropano puede instalarse utilizando la química de Simmons-Smith y químicas similares. Por tanto, la reacción de 3-metilen-2-norbornanona con diyodometano en presencia de la pareja cinc-cobre proporciona espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropan]-3-ona, que después puede transformarse en compuestos de la presente invención utilizando reacciones ya descritas. Ciertos compuestos que contienen espirociclopropano son conocidos en la bibliografía y también sirven como punto de partida para la síntesis de compuestos de la presente invención. Véase, por ejemplo, Gream y Pincombe, *Aust. J. Chem.* 27:543-565 (1974), con respecto a dicha reacción.

65 Pueden convertirse aminas secundarias, tales como los Compuestos IV y V, en aminas terciarias a través de la intermediación de amidas y carbamatos. Por tanto, el tratamiento secuencial de dichos compuestos con dicarbonato de di-terc-butilo e hidruro de litio y aluminio producirá la N-metil amina terciaria correspondiente.

Esquema 1



Esquema 2



- 5 La incorporación de radioisótopos específicos también es posible. Por ejemplo, las reducciones de amidas y carbamatos con agentes reductores de deuteruro de litio y aluminio o de trituro de aluminio y litio pueden producir N-trideuterometil o N-tritritometil aminas. Como alternativa, la generación de una amida o carbamato, en la que el carbono de carbonilo es un átomo de ^{11}C , ^{13}C o ^{14}C , seguida de reducción con hidruro de litio y aluminio, producirá una amina con el átomo de ^{11}C , ^{13}C o ^{14}C , incorporado. La incorporación de radioisótopos específicos con frecuencia es deseable en la preparación de compuestos que se van a utilizar en un entorno de diagnóstico (por ejemplo, como agentes formadores de imágenes) o en los estudios funcionales y metabólicos.

III. Composiciones farmacéuticas

- 15 Aunque es posible administrar el compuesto de la presente invención en forma de un químico activo a granel, es preferible administrar el compuesto en forma de una composición o formulación farmacéutica. Por tanto, en un aspecto, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de Fórmula I y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Otro aspecto de la invención proporciona un proceso para la preparación de una
- 20 composición farmacéutica que incluye mezclar uno o más compuestos de Fórmula I y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptablemente.

La manera en la que se administra el compuesto de la presente invención puede variar. El compuesto de la presente invención se administra preferentemente por vía oral. Las composiciones farmacéuticas preferidas para la administración oral incluyen comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, jarabes, soluciones y suspensiones. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden proporcionarse en formas de dosificación de liberación modificada tales como formulaciones de comprimidos y cápsulas de liberación temporalizada.

30 Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse mediante inyección, concretamente, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intraarterial, intratecal e intracerebroventricular. La administración intravenosa es un método preferido de inyección. Son bien conocidos por los expertos en la materia vehículos adecuados para inyección e incluyen soluciones de dextrosa al 5 %, solución salina y solución salina tamponada con fosfato.

35 Las formulaciones también pueden administrarse utilizando otros medios, por ejemplo, la administración rectal. Son bien conocidas por los expertos en la materia formulaciones útiles para la administración rectal, tales como los supositorios. Los compuestos también pueden administrarse por inhalación, por ejemplo, en forma de un aerosol por vía tópica, tal como, en forma de loción; por vía transdérmica, tal como, utilizando un parche transdérmico (por ejemplo, mediante el uso de tecnología que está disponible en el mercado de Novartis y Alza Corporation), por

40 inyección de polvo o por absorción bucal, sublingual o intranasal.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de dosis unitaria o en dosis múltiples o subunitarias.

La administración de las composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento puede ser

intermitente o a una velocidad gradual, continua, constante o controlada. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un animal de sangre caliente, por ejemplo, un mamífero tal como un ratón, rata, gato, conejo, perro, cerdo, vaca o mono; pero, ventajosamente, se administra a un ser humano. Además, la hora del día y el número de veces por día que se administra la composición farmacéutica pueden variar.

5 Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse en el tratamiento de diversos trastornos y afecciones y, como tales, pueden utilizarse en combinación con otros diversos agentes terapéuticos adecuados útiles en el tratamiento o la profilaxis de esos trastornos o afecciones. Por tanto, una posibilidad es la administración del compuesto de la presente invención en combinación con otros compuestos terapéuticos. Por ejemplo, el compuesto de la presente invención puede utilizarse en combinación con otros ligandos de RNN (tales como vareniclina), moduladores alostéricos de RNN, antioxidantes (tales como agentes neutralizantes de radicales libres), agentes antibacterianos (tales como antibióticos de penicilina), agentes antivirales (tales como análogos de nucleósidos, como zidovudina y aciclovir), anticoagulantes (tales como warfarina), agentes antiinflamatorios (tales como AINE), antipiréticos, 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), inmunosupresores (tales como ciclosporina y metotrexato), agentes neuroprotectores, esteroides (tales como hormonas esteroideas), corticoesteroides (tales como dexametasona, prednisona e hidrocortisona), vitaminas, minerales, productos nutracéuticos, antidepresivos (tales como imipramina, fluoxetina, paroxetina, escitalopram, sertralina, venlafaxina y duloxetine), ansiolíticos (tales como alprazolam y buspirona), anticonvulsivos (tales como fenitoína y gabapentina), vasodilatadores (tales como prazosina y sildenafil), estabilizantes del estado de ánimo (tales como valproato y aripiprazol), fármacos antineoplásicos (tales como los antiproliferativos), agentes antihipertensivos (tales como atenolol, clonidina, amlodipino, verapamilo y olmesartán), laxantes, laxantes emolientes, diuréticos (tales como furosemida), antiespasmódicos (tales como dicyclomina), agentes antidiscinéticos y medicamentos antiulcerosos (tales como esomeprazol). Puede administrarse una combinación de este tipo de agentes farmacéuticamente activos juntos o por separado y, cuando se administran por separado, la administración puede producirse simultáneamente o secuencialmente, en cualquier orden. Las cantidades de los compuestos o agentes y los tiempos de administración relativos se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico deseado. La administración en combinación de un compuesto de la presente invención con otros agentes de tratamiento puede ser en combinación mediante la administración simultánea en: (1) una composición farmacéutica unitaria que incluye ambos compuestos; o (2) composiciones farmacéuticas separadas incluyendo cada una uno de los compuestos. Como alternativa, la combinación puede administrarse por separado de una manera secuencial en la que un agente de tratamiento se administra en primer lugar y el otro en segundo lugar. Dicha administración secuencial puede ser cercana en el tiempo o remontarse en el tiempo.

35 Otra posibilidad incluye la terapia de combinación que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz del compuesto de la presente invención y una o más de otras terapias incluyendo la quimioterapia, la radioterapia, la terapia génica o la inmunoterapia.

40 IV. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para la prevención o el tratamiento de diversas afecciones o trastornos para los que se han propuesto otros tipos de compuestos nicotínicos o para los que se demuestra que son útiles como agentes terapéuticos, tales como trastornos del SNC, la inflamación, la respuesta inflamatoria asociada a la infección bacteriana y/o viral, el dolor, el síndrome metabólico, los trastornos autoinmunes, las adicciones, la obesidad u otros trastornos que se describen en más detalle en el presente documento. Este compuesto también puede utilizarse como agente de diagnóstico (in vitro e in vivo). Dichos contenidos terapéuticos y otros se describen, por ejemplo, en las referencias enumeradas anteriormente en el presente documento, incluyendo Williams et al., *Drug News Perspec.* 7(4): 205 (1994), Arneric et al., *CNS Drug Rev.* 1(1): 1-26 (1995), Arneric et al., *Exp. Opin. Invest. Drugs* 5(1): 79-100 (1996), Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1413 (1996), Lippiello et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1422 (1996), Damaj et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291: 390 (1999); Chiari et al., *Anesthesiology* 91: 1447 (1999), Lavand'homme y Eisenbach, *Anesthesiology* 91: 1455 (1999), Holladay et al., *J. Med. Chem.* 40(28): 4169-94 (1997), Bannon et al., *Science* 279: 77 (1998), documento PCT WO 94/08992, documento PCT WO 96/31475, documento PCT WO 96/40682 y las patentes de los EE.UU. N.º 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.

55 Trastornos del SNC

Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas son útiles en el tratamiento o la prevención de diversos trastornos del SNC, incluyendo trastornos neurodegenerativos, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos neurológicos y adicciones. Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas pueden utilizarse para el tratamiento o la prevención de los déficits y disfunciones cognitivos, relacionados con la edad y de otra clase; trastornos de la atención y demencias, incluidos los causados por agentes infecciosos o trastornos metabólicos; para proporcionar neuroprotección; para tratar convulsiones e infartos cerebrales múltiples; para el tratamiento de 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 el tratamiento de trastornos inflamatorios; para proporcionar alivio del dolor; y para tratar infecciones, como agentes antiinfecciosos para el tratamiento de

- infecciones bacterianas, fúngicas y virales. Entre los trastornos, enfermedades y afecciones para el tratamiento o la prevención de los cuales pueden utilizarse los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención están: deterioro de la memoria asociado a la edad (SCAE), deterioro cognitivo leve (DCL), deterioro cognitivo relacionado con la edad (DCRE), demencia presenil, enfermedad de Alzheimer de inicio temprano,
- 5 demencia senil, demencia del tipo enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo sin demencia (DCSD), demencia con cuerpos de Lewy, demencia por VIH, complejo de demencia del SIDA, demencia vascular, síndrome de Down, traumatismo craneal, traumatismo craneoencefálico (TCE), demencia pugilística, enfermedad de Creutzfeld-Jacob y enfermedades priónicas, ictus, isquemia central, isquemia periférica, trastorno de déficit de atención, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, dislexia, esquizofrenia, trastorno
- 10 esquizofreniforme, trastornos esquizoafectivos, disfunción cognitiva en la esquizofrenia, déficits cognitivos en la esquizofrenia, parkinsonismo incluyendo la enfermedad de parkinson, parkinsonismo postencefálico, parkinsonismo-demencia de Gaum, demencia frontotemporal del tipo enfermedad de parkinson (DFTP), enfermedad de Pick, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Huntington, corea de Huntington, discinesia, discinesia tardía, distonía espástica, hipercinesia, parálisis supranuclear progresiva, parálisis supranuclear progresiva,
- 15 síndrome de piernas inquietas, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedades de las neuronas motoras (ENM), atrofia de sistemas múltiples (ASM), degeneración corticobasal, síndrome de Guillain-Barré (SGB) y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC), epilepsia, epilepsia del lóbulo frontal nocturna dominante autosómica, manía, ansiedad, depresión, incluyendo el trastorno depresivo mayor (TDM), disforia premenstrual, trastornos de pánico, bulimia, anorexia, narcolepsia, somnolencia diurna excesiva, trastornos bipolares, trastornos de ansiedad generalizada, trastorno obsesivo
- 20 compulsivo, estallidos de ira, trastorno de la conducta, trastorno desafiante de oposición, síndrome de Tourette, autismo, adicción a las drogas y el alcohol, adicción al tabaco y, por tanto, son útiles como agentes para dejar de fumar, para dejar de comer compulsivamente y para la disfunción sexual.
- 25 Las deficiencias o disfunciones cognitivas pueden asociarse a trastornos o afecciones psiquiátricos, tales como la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, incluyendo pero no limitados al trastorno psicótico, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno delirante, trastorno psicótico breve, trastorno psicótico compartido y trastornos psicóticos debidos a afecciones médicas generales, demencias y otros trastornos cognitivos, incluyendo pero no limitados al deterioro cognitivo leve, demencia presenil, enfermedad de Alzheimer, demencia
- 30 senil, demencia de tipo enfermedad de Alzheimer, deterioro de la memoria relacionado con 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 provocado por un traumatismo craneoencefálico, demencia debido a otras afecciones médicas generales, trastornos de ansiedad, incluyendo pero no limitados a trastorno de pánico sin
- 35 agorafobia, trastorno de pánico con agorafobia, agorafobia sin historia de trastorno de pánico, fobia específica, fobia social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés posttraumático, 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 no limitados a trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión bipolar, manía bipolar, trastorno bipolar I, depresión asociada a episodios maníacos, depresivos o mixtos, trastorno bipolar II,
- 40 trastorno ciclotímico y trastornos del estado de ánimo debido a afecciones médicas generales, trastornos del sueño, incluyendo pero no limitados a trastornos de disomnía, insomnio primario, hipersomnía primaria, narcolepsia, trastornos de parasomnía, trastorno por pesadillas, trastorno de terrores nocturnos y trastorno de sonambulismo, retraso mental, trastornos del aprendizaje, trastornos de las habilidades motoras, trastornos de comunicación, trastornos generalizados del desarrollo, déficit de atención y trastornos de mal comportamiento, trastorno de déficit
- 45 de atención, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, trastornos alimentarios y de la alimentación de la infancia, la niñez o en adultos, trastornos de tics, trastornos de la eliminación, trastornos relacionados con sustancias, incluyendo pero no limitados a la dependencia de sustancias, abuso de sustancias, intoxicación por sustancias, abstinencia de sustancias, trastornos relacionados con el alcohol, trastornos relacionados con anfetamina o sustancias similares a anfetamina, trastornos relacionados con la cafeína, trastornos relacionados con el cannabis, trastornos relacionados con la cocaína, trastornos relacionados con alucinógenos, trastornos
- 50 relacionados con inhalantes, trastornos relacionados con la nicotina, trastornos relacionados con los opioides, trastornos relacionados con la fenciclidina o con sustancias similares a la fenciclidina y trastornos relacionados con sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, trastornos de la personalidad, incluyendo pero no limitados a trastornos de la personalidad obsesivo-compulsivo y trastorno del control de impulsos.
- 55 El rendimiento cognitivo puede evaluarse con una escala cognitiva validada, tal como, por ejemplo, la subescala cognitiva de la Escala de Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer (ADAS-cog, del inglés *Alzheimer's Disease Assessment Scale*). Una medida de la eficacia de los compuestos de la presente invención en la mejora de la cognición puede incluir la medición del grado de cambio de un paciente de acuerdo a una escala de este tipo.
- 60 Con respecto a comportamientos compulsivos y adictivos, los compuestos de la presente invención pueden utilizarse como terapia para la adicción a la nicotina, incluyendo como un agente para dejar de fumar y para otros trastornos de la recompensa cerebral, tal como el abuso de sustancias, incluyendo la adicción al alcohol, la adicción a las drogas ilícitas y los fármacos de prescripción, los trastornos de la alimentación, incluyendo la obesidad y las
- 65 adicciones conductuales, tales como los juegos de azar u otras manifestaciones conductuales de la adicción similares.

Las afecciones y los trastornos anteriores se analizan con más detalle, por ejemplo, en el *American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, Cuarta Edición, Revisión del texto, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000. También puede hacerse referencia a este manual en busca de más detalles acerca de los síntomas y de las características de diagnóstico asociadas al consumo, abuso y dependencia de sustancias.

Inflamación

Se sabe que el sistema nervioso, principalmente a través del nervio vago, regula la magnitud de la respuesta inmune innata mediante la inhibición de la liberación del factor de necrosis tumoral de macrófagos (TNF). Este mecanismo fisiológico es conocido como la "vía colinérgica antiinflamatoria" (véase, por ejemplo, Tracey, "*The Inflammatory Reflex*", *Nature* 420:853-9 (2002)). La inflamación excesiva y la síntesis de 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 intestinal.

Las afecciones inflamatorias que pueden tratarse o prevenirse mediante la administración de los compuestos que se describen en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, inflamación crónica y aguda, psoriasis, endotoxemia, gota, pseudogota aguda, artritis gotosa aguda, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, rechazo de aloinjertos, rechazo de trasplantes crónico, asma, aterosclerosis, lesión pulmonar dependiente de fagocitos mononucleares, fibrosis pulmonar idiopática, dermatitis atópica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, síndrome torácico agudo en la enfermedad de células falciformes, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome del intestino irritable, incluyendo el SII con diarrea predominante, enfermedad de Crohn, úlceras, colitis ulcerosa, colangitis aguda, estomatitis aftosa, caquexia, bursitis, glomerulonefritis, nefritis por lupus, trombosis y la reacción de injerto contra hospedador.

Respuesta inflamatoria asociada a infección bacteriana y/o viral

Muchas infecciones bacterianas y/o virales se asocian a efectos secundarios provocados por la formación de toxinas y la respuesta natural del cuerpo a las bacterias o los virus y/o las toxinas. Como se ha analizado anteriormente, la respuesta del cuerpo a la infección con frecuencia implica la generación de una cantidad significativa de TNF y/u otras citocinas. La sobreexpresión de estas citocinas puede dar como resultado lesiones significativas, tales como el choque séptico (cuando la bacteria es la sepsis), el choque endotóxico, la urosepsis, la neumonitis viral y el síndrome de choque tóxico.

La expresión de citocinas está mediada por los RNN y puede inhibirse mediante la administración de agonistas o agonistas parciales de estos receptores. Los compuestos que se describen en el presente documento que son agonistas o agonistas parciales de estos receptores pueden, por tanto, utilizarse para minimizar la respuesta inflamatoria asociada a la infección bacteriana, así como a las infecciones virales y fúngicas. Los ejemplos de dichas infecciones bacterianas incluyen el ántrax, el botulismo y la sepsis. Algunos de estos compuestos también pueden tener propiedades antimicrobianas. Además, los compuestos pueden utilizarse en el tratamiento de la enfermedad de Raynaud, concretamente la vasoconstricción periférica dolorosa inducida por virus.

Estos compuestos también pueden utilizarse como terapia complementaria en combinación con terapias existentes para el tratamiento de infecciones bacterianas, virales y fúngicas, tales como antibióticos, antivirales y antifúngicos. También pueden utilizarse antitoxinas para unirse a las toxinas producidas por los agentes infecciosos y permitir a las toxinas unidas pasar a través del cuerpo sin generar una respuesta inflamatoria. Se describen ejemplos de antitoxinas, por ejemplo, en la patente de los EE.UU. N.º 6.310.043 de Bundle et al. Pueden ser eficaces otros agentes eficaces contra las toxinas bacterianas y otras y su efecto terapéutico puede complementarse mediante la coadministración con los compuestos que se describen en el presente documento.

Dolor

Los compuestos pueden administrarse para el tratamiento y/o la prevención del dolor, incluyendo el dolor agudo, neurológico, inflamatorio, neuropático y crónico. Los compuestos pueden utilizarse en combinación con opiáceos para minimizar la probabilidad de adicción a los opiáceos (por ejemplo, la terapia ahorradora de morfina). La actividad analgésica de los compuestos que se describen en el presente documento puede demostrarse en modelos de dolor inflamatorio persistente y de dolor neuropático, realizados como se describe en la Solicitud de patente Publicada de los EE.UU. N.º 20010056084 A1 (Allgeier et al.) (por ejemplo, la hiperalgesia mecánica en el modelo de dolor inflamatorio en rata en adyuvante completo de Freund y la hiperalgesia mecánica en el modelo de dolor neuropático con ligadura parcial del nervio ciático en ratón).

El efecto analgésico es adecuado para el tratamiento del dolor de diversos orígenes o etiologías, en particular en el tratamiento del dolor inflamatorio y la hiperalgesia asociada, el dolor neuropático y la hiperalgesia asociada, el dolor crónico (por ejemplo, el dolor crónico severo, el dolor postoperatorio y el dolor asociado a diversas afecciones incluyendo el cáncer, la angina de pecho, el cólico renal o biliar, la menstruación, la migraña y la gota). El dolor

inflamatorio puede ser de diversos orígenes, incluyendo la artritis y la enfermedad reumatoide, la tenosinovitis y la vasculitis. El dolor neuropático incluye la neuralgia del trigémino o herpética, neuropatías tales como el dolor de la neuropatía diabética, la causalgia, la lumbalgia y los síndromes de desafrenciación tales como la avulsión del plexo braquial.

5

Neovascularización

La inhibición de la neovascularización, por ejemplo, mediante la administración de antagonistas (o en ciertas dosis, agonistas parciales) de los receptores nicotínicos pueden tratar o prevenir afecciones caracterizadas por una neovascularización o angiogénesis indeseable. Dichas afecciones pueden incluir las caracterizadas por la angiogénesis inflamatoria y/o la angiogénesis inducida por isquemia. También puede inhibirse la neovascularización asociada al crecimiento tumoral mediante la administración de los compuestos que se describen en el presente documento que funcionan como antagonistas o agonistas parciales de los receptores nicotínicos.

10

15

El antagonismo específico de los receptores nicotínicos reduce la respuesta angiogénica a la inflamación, la isquemia y la neoplasia. Puede encontrarse orientación con respecto a sistemas de modelos animales apropiados para evaluar los compuestos que se describen en el presente documento, 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).

20

Los tipos de tumores representativos que pueden tratarse utilizando los compuestos que se describen en el presente documento incluyen el CPM, el CPNM, el cáncer de ovario, el cáncer de páncreas, el carcinoma de mama, el carcinoma de colon, el carcinoma de recto, el carcinoma de pulmón, el carcinoma de orofaringe, el carcinoma de hipofaringe, el carcinoma de esófago, el carcinoma de estómago, el carcinoma de páncreas, el carcinoma de hígado, el carcinoma de vesícula biliar, el carcinoma de conducto biliar, el carcinoma de intestino delgado, el carcinoma del tracto urinario, el carcinoma de riñón, el carcinoma de vejiga, el carcinoma del urotelio, el carcinoma del tracto genital femenino, el carcinoma de cuello uterino, el carcinoma de útero, el carcinoma de ovario, el coriocarcinoma, la enfermedad trofoblástica gestacional, el carcinoma del tracto genital masculino, el carcinoma de próstata, el carcinoma de vesículas seminales, el carcinoma de testículos, los tumores de células germinales, el carcinoma de glándulas endocrinas, el carcinoma de tiroides, el carcinoma suprarrenal, el carcinoma de la hipófisis, el carcinoma de piel, hemangiomas, melanomas, sarcomas, el sarcoma de tejidos blandos y de huesos, el sarcoma de Kaposi, tumores cerebrales, tumores de los nervios, tumores de los ojos, tumores de las meninges, astrocitomas, gliomas, glioblastomas, retinoblastomas, neuromas, neuroblastomas, schwannomas, meningiomas, tumores sólidos que surgen de tumores hematopoyéticos malignos (tales como leucemias, cloromas, plasmacitomas y las placas y tumores del linfoma/leucemia de linfocitos T por micosis fungoide y cutáneo) y tumores sólidos que surgen de linfomas.

25

30

35

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

40

Los compuestos pueden administrarse de manera que se dirijan al sitio tumoral. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse en microesferas, micropartículas o liposomas conjugados con diversos anticuerpos que dirigen las micropartículas al tumor. Adicionalmente, los compuestos pueden estar presentes en microesferas, micropartículas o liposomas que estén dimensionados apropiadamente para pasar a través de las arterias y las venas, pero que se alojen en los lechos capilares que rodean los tumores y administren los compuestos localmente al tumor. Dichos dispositivos de entrega de fármacos son conocidos en la técnica.

45

Otros trastornos

Además del tratamiento de trastornos del SNC, de la inflamación y de la neovascularización y el dolor, los compuestos de la presente invención también pueden utilizarse para la prevención o el tratamiento de ciertas otras afecciones, enfermedades y trastornos en los que los RNN desempeñan un papel. Los ejemplos incluyen trastornos autoinmunes tales como el lupus, los trastornos asociados a la liberación de citocinas, la caquexia secundaria a la infección (por ejemplo, como ocurre en el SIDA, complejo relacionado con el SIDA y la neoplasia), la obesidad, la pempfitis, la incontinencia urinaria, la vejiga hiperactiva (VHA), la diarrea, el estreñimiento, las enfermedades retinianas, las enfermedades infecciosas, la miastenia, el síndrome de Eaton-Lambert, la hipertensión, la preeclampsia, la osteoporosis, la vasoconstricción, la vasodilatación, las arritmias cardíacas, la diabetes de tipo I, la diabetes de tipo II, la bulimia, la anorexia y la disfunción sexual, así como las indicaciones que se presentan en la solicitud PCT publicada WO 98/25619. Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse para el tratamiento de convulsiones tales como las que son sintomáticas de la epilepsia y para el tratamiento de afecciones tales como la sífilis y la enfermedad de Creutzfeld-Jakob.

50

55

60

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para el tratamiento de infecciones bacterianas y afecciones dermatológicas, tales como el pénfigo foliáceo, el pénfigo vulgar y otros trastornos, tales como la acantólisis, en la que las hay presentes respuestas autoinmunes con un título alto de anticuerpos para RNN

65

ganglionar. En estos trastornos, y en otras enfermedades autoinmunes, tales como la Miastenia Gravis, el fragmento Fab del anticuerpo se une al receptor RNN (reticulación de 2 receptores), lo que induce la internalización y la degradación.

5 Usos diagnósticos

Los compuestos pueden utilizarse en composiciones de diagnóstico, tales como sondas, en particular cuando se modifican para incluir los marcadores apropiados. Para este fin, los compuestos de la presente invención muy preferentemente se marcan con el resto isotópico radiactivo ^{11}C .

10 Los compuestos administrados pueden detectarse utilizando tomografía de emisión de positrones (PET). Se desea una elevada actividad específica para visualizar los subtipos de receptores seleccionados a concentraciones no saturantes. Las dosis administradas normalmente están por debajo del intervalo tóxico y proporcionan imágenes de alto contraste. Se espera que los compuestos sean susceptibles de administración en niveles atóxicos. La
15 determinación de la dosis se realiza de una manera conocida para un experto en la materia de la formación de imágenes por radiomarcado. Véase, por ejemplo, la patente de los EE.UU. N.º 5.969.144 de London et al.

Los compuestos pueden administrarse utilizando técnicas conocidas. Véase, por ejemplo, la patente de los EE.UU. N.º 5.969.144 de London et al., como se ha indicado. Los compuestos pueden administrarse en composiciones de
20 formulación que incorporen otros ingredientes, tales como los tipos de ingredientes que son útiles en la formulación de una composición de diagnóstico. Los compuestos útiles de acuerdo con la realización de la presente invención muy preferentemente se emplean en formas de alta pureza. Véase, la patente de los EE.UU. N.º 5.853.696 de Elmalch et al.

25 Después de que los compuestos se administran a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano), la presencia de dicho compuesto dentro del sujeto puede someterse a la formación de imágenes y puede cuantificarse mediante técnicas adecuadas con el fin de indicar la presencia, la cantidad y el grupo funcional. Además de los seres humanos, los compuestos también pueden administrarse a animales, tales como ratones, ratas, perros y monos. La SPECT y la
30 TEP pueden realizarse utilizando cualquier técnica y aparato apropiados. Véase Villemagne et al., en: Arneric et al. (Editores) *Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*, 235-250 (1998) y patente de los EE.UU. N.º 5.853.696 de Elmalch et al., para una divulgación de técnicas de imagen representativas.

V. Ejemplos de síntesis

35 **Ejemplo 1: Exo-N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina**

A una solución de 2-norbornanona (norcalcanfor) (16,0 g, 145 mmol) y 1,3-dibromopropano (203 mmol, 20,7 ml; 41,1 g,) en éter dietílico (450 ml) se le añadió amida de sodio (363 mmol, 14,8 g) y la mezcla se agitó a reflujo durante 24 h. La mezcla se vertió en 200 ml de agua con hielo y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se
40 extrajo con 200 ml de éter. Los extractos de éter combinados se concentraron y el residuo líquido se destiló a 60 a 100 °C a un vacío de 1330 a 2660 Pa (10 a 20 Torr) para obtener 14 g de producto impuro. Éste se disolvió en 150 ml de hexano y se agitó con una solución de permanganato de potasio (12,0 g, 75,9 mmol) en agua (150 ml) durante 5 h. La mezcla bifásica se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas, que después se lavó con hexano (100 ml). La capa de hexano se separó y la capa acuosa se extrajo con 600 ml de hexano. Las capas de
45 hexano se combinaron, se concentraron y se purificaron en columna de gel de sílice, eluyendo con éter al 10-40 % en hexano, para obtener espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (Compuesto II en el Esquema 1) (6,1 g, rendimiento del 28 %) en forma de un aceite. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2,55-2,49 (m, 2H), 2,18-2,08 (m, 2H), 2,00-1,58 (m, 7H), 1,49-1,36 (m, 3H); CLEM (m/z): 151 (M+1).

50 A una suspensión de bromuro de (metil)trifenilfosfonio (49,9 mmol, 18,2 g) en tetrahidrofurano seco (THF) (100 ml) a -78 °C se le añadió n-butil-litio (46,5 mmol, 18,6 ml de solución 2,5 M en hexano). La mezcla se agitó durante 30 min a -78 °C. A esta mezcla se le añadió espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (5,00 g, 33,3 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se añadió hexano (300 ml) y la mezcla se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice de 80 g, eluyendo con hexano, para
55 obtener 3-metilenespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutano] (Compuesto III en el Esquema 1) (3,7 g, 75 %) en forma de un aceite. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 4,82 (s, 2H), 2,63 (s a, 1 H), 2,22 (s a, 1 H), 2,05-1,78 (m, 6H), 1,63-1,52 (m, 1 H), 1,48-1,34 (m, 3H), 1,21-1,12 (m, 2H).

60 A una suspensión de 3-metilenespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutano] (2,10 g, 14,2 mmol) y tiocianato de potasio (14,2 mmol, 1,39 g) se le añadió lentamente una solución de ácido sulfúrico (1,40 g; 14,3 mmol) en agua (0,52 ml) durante 15 min a 50 °C. La solución se agitó a 85 °C durante 5,5 h. La solución se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno (20 ml) y se lavó secuencialmente con agua (20 ml) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml). La capa de tolueno se recogió, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. Al filtrado se le
65 añadió hidruro de sodio bis(metoxietoxi)aluminio (28 mmol, 7,9 ml de solución al 65-70 % en tolueno) y la mezcla resultante se agitó a 85 °C durante 2 h. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una mezcla de hidróxido de sodio acuoso 3 N (3 ml) e hipoclorito de sodio al 5 % (15 ml) lentamente gota a gota, en intervalos. La capa de tolueno se

separó y se lavó con agua (30 ml). Después, la capa de tolueno se extrajo con ácido clorhídrico acuoso 1 N (10 ml, 2 veces). La capa de tolueno se desechó y los extractos de ácido clorhídrico combinados se hicieron básicos por adición de hidróxido de sodio acuoso al 10 % (a pH 10). La mezcla acuosa básica se extrajo con éter (30 ml, 2 veces). Los extractos de éter se recogieron, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con CMA al 0-40 % (cloroformo:metanol:amoníaco acuoso al 30 %, 9:1:0,1) en cloroformo, para obtener exo-N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,38 g, rendimiento del 15 %) (Compuesto IV en el Esquema 1) en forma de un aceite. El aceite se disolvió en 5 ml de diclorometano, se enfrió en baño de hielo y se combinó con 2 ml de ácido clorhídrico acuoso 6 M. La mezcla se concentró y se secó al vacío para obtener la sal de clorhidrato. RMN ¹H (D₂O, 400 MHz): δ 2,41 (s, 3H), 2,24-2,18 (m, 2H), 1,98-1,90 (m, 1H), 1,82-1,74 (m, 1H), 1,67-1,58 (m, 2H), 1,52-1,11 (m, 8H), 0,95 (s, 3H); CLEM (m/z): 180 (M+1).

La estereoquímica exo se estableció mediante RMN.

Ejemplo 2: Separación cromatográfica quiral de exo-N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina

Se disolvió exo-N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (2,0 g) en 20 ml de acetonitrilo y se separó con inyecciones de 0,2 ml en la columna quiral (Chiral Pak AD-H, 5 micrómetros, 250 x 20 cm), utilizando dietilamina al 0,2 % en acetonitrilo/isopropanol (95:5), con una velocidad de flujo de 10 ml/min. Las fracciones que contenían el pico 1 (elución temprana) y el pico 2 (elución tardía) se concentraron por separado. Los dos residuos se disolvieron individualmente en 10 ml de diclorometano, se trataron con 2 ml de ácido clorhídrico acuoso 6 N y se concentraron a sequedad. Estos productos de sal de clorhidrato pesaron 0,74 g, (pico 1) y 0,48 g, (pico 2), respectivamente.

Ejemplo 3: N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentan]-3-amina

A una solución de 2-norbornanona (25,0 g, 227 mmol) y 1,4-dibromobutano (68,0 g, 317 mmol) en éter dietílico (700 ml) se le añadió amida de sodio (23,1 g, 567 mmol). Esta mezcla se calentó a reflujo durante 24 h, se enfrió y se vertió en 200 ml de agua con hielo. La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se extrajo con 200 ml de éter dietílico. Los extractos de éter de dietilo combinados se concentraron y el residuo se destiló a 65-80 °C a 931-1995 Pa (7-15 Torr) para obtener 19 g de producto impuro. Éste se disolvió en hexano (500 ml) y se agitó con permanganato de potasio acuoso (30 g, 0,19 mol, en 500 ml) durante 5 h. La mezcla se filtró y la capa de hexano se recogió. La capa acuosa se extrajo con 600 ml de hexano. Las capas de hexano combinadas se concentraron y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo al 5-15 % en hexano, para obtener espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentan]-3-ona (12,6 g, 33,8 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,56 (d, J = 5,1 Hz, 1 H), 2,24 (s a, 1 H), 1,44-1,88 (m, 14 H); CLEM (m/z): 165 (M+1).

A una suspensión de bromuro de (metil)trifenilfosfonio (17,6 g, 48,4 mmol) en THF (100 ml) a -78 °C se le añadió n-butil-litio (18,1 ml de solución 2,5 M en THF, 45 mmol) y la mezcla se agitó 30 minutos. A esta mezcla se le añadió espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentan]-3-ona (5,30 g, 32,3 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió hexano (200 ml) y la mezcla se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice de 80 g, eluyendo con hexano, para obtener 3-metilenespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentano] (4,80 g, 91,7 %) en forma de un aceite.

Se añadió ácido sulfúrico (1,61 ml, 2,96 g, 30,2 mmol) lentamente a una suspensión de 3-metilenespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentano] (4,80 g, 29,6 mmol) y tiocianato de potasio (2,96 g, 30,2 mmol) a 50 °C. Después, la mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 5,5 h, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno (30 ml) y se lavó con agua (20 ml) seguida de bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml). La capa de tolueno se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. Al filtrado se le añadió hidruro de sodio bis(metoxietoxi)aluminio (solución al 40 % en tolueno, 2 equivalentes) y la reacción se agitó a 85 °C durante 2 h. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de hidróxido de sodio acuoso 3 N (20 ml) en hipoclorito de sodio acuoso al 5 % (35 ml) lentamente (gota a gota a intervalos). La capa de tolueno se separó y se lavó con agua (30 ml). Después, la capa de tolueno se extrajo con ácido clorhídrico acuoso 1 N (10 ml, 2 veces) y se desechó. La capa de ácido clorhídrico acuoso se hizo básica (hasta pH 10) mediante la adición de hidróxido de sodio acuoso al 10 % y se extrajo con éter dietílico. Los extractos de éter dietílico se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando CMA al 0-40 % (cloroformo:metanol:amoníaco acuoso al 30 %, 9:1:0,1) en cloroformo para obtener N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopentan]-3-amina (1,2 g, 53 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,28 (s, 3H), 2,24 (s a, 1H), 1,84-1,76 (m, 2H), 1,73-1,68 (m, 1 H), 1,62-1,52 (m, 4H), 1,48-1,24 (m, 7H), 1,09-1,05 (m, 1H), 1,04 (s, 3H); CLEM (m/z): 194 (M+1).

Ejemplo 4: Procedimiento general para la fabricación de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-aminas N-sustituidas

Ciertas espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-aminas N-sustituidas pueden prepararse mediante la aminación reductora de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona. El siguiente procedimiento, que utiliza metilamina y que proporciona trifluoroacetato de N-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina, es a

modo de ejemplo. Las aminaciones reductoras utilizando dimetilamina, azetidina y pirrolidina se realizaron de una manera similar.

A una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (0,15 g, 1,0 mmol) y metilamina (4,0 ml de solución 2,0 M en THF, 8,0 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 ml) se le añadieron ácido acético (0,2 ml) y triacetoxiborohidruro de sodio (0,85 g, 4,0 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 h, se diluyó con diclorometano (10 ml), se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se concentró. El residuo se purificó en HPLC preparativa, eluyendo con mezclas de ácido fórmico al 0,05 % en agua y ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo. Las fracciones seleccionadas se concentraron y el residuo se disolvió en metanol (2 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (0,1 ml) y la mezcla se concentró y se secó al vacío para obtener trifluoroacetato de N-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,088 g) en forma de una goma. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz, δ 3,06-3,02 (m, 1H), 2,568 (s, 3H), 2,54 (s a, 1H), 2,34 (s a, 1H), 2,02-1,83 (m, 6H), 1,56-1,42 (m, 5H), 1,26-1,32 (m, 1H); CLEM (m/z): 166 (M+1)

Ejemplo 5: (1S,3R,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina y (1S,3S,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina

La siguiente química, utilizando D-alcanfor como material de partida, se repitió utilizando L-alcanfor como material de partida, proporcionando productos que son enantioméricos de los que se describen en el presente documento.

Una mezcla de D-(+)-alcanfor (4,40 g, 28,9 mmol) y amida de sodio (2,50 g, 61,5 mmol) en tolueno (100 ml) se agitó a 100 °C durante 30 min. Se añadió una solución de 1,3-dibromopropano (31,8 mmol, 3,24 ml, 6,42 g) en tolueno (20 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante 3 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con agua (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se disolvió en metanol al 5 % en diclorometano (80 ml) y se enfrió a -78 °C. Se pasó ozono a través de la solución hasta que se mantuvo el color azul (~10 minutos). Después, se añadió sulfuro de dimetilo (2 ml) y la reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice (40 g), eluyendo con éter al 0-20 % en hexano, para obtener (1S,4R)-4,7,7-trimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (1,66 g, rendimiento del 29,9 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,26 (m, 1H), 2,10-1,97 (m, 5H), 1,85-1,1,66 (m, 2H), 1,62-1,53 (m, 1H), 1,47-1,40 (m, 1 H), 1,28-1,19 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,75 (s, 3H); CLEM (m/z): 193 (M+1).

Una mezcla de (1S,4R)-4,7,7-trimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (1,60 g, 8,32 mmol) y formamida (10 ml) en ácido fórmico (7 ml) se agitó a 175 °C durante 72 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en 200 ml de agua con hielo y se extrajo con éter (50 ml, 2 veces). Los extractos de éter combinados se lavaron con agua (40 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para obtener N-(4,7,7-trimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-il)formamida (1,55 g, rendimiento del 84,2 %) en forma de una goma.

A una solución de N-(4,7,7-trimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-il)formamida (1,50 g, 6,78 mmol) en THF (40 ml) a 0 °C se le añadió lentamente hidruro de litio y aluminio (27,1 mmol, 27,1 ml de solución 1,0 M en THF). Después de la adición completa, la reacción se calentó a reflujo durante 48 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición, en porciones, de decahidrato de sulfato de sodio sólido (10 g). Después de agitar durante 1 h, esta mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice de 40 g, utilizando CMA al 0-100 % (cloroformo:metanol:amoníaco acuoso al 30 %; 9:1:0,1) en cloroformo como eluyente, para obtener un producto de exo-amina, (1S,3R,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,49 g; rendimiento del 35 %) y un producto de endo-amina, (1S,3S,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,30 g; rendimiento del 21 %), ambos en forma de aceites. Los dos productos se convirtieron en sus sales de clorhidrato mediante la disolución de cada uno en 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y la concentración y el secado al vacío de las muestras. RMN ¹H de clorhidrato de exo-(1S,3R,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (D₂O, 400 MHz): δ 2,80 (s, 3H), 2,72 (s a, 1 H), 2,22-1,91 (m, 4H), 1,84-1,72 (m, 3H), 1,54-1,45 (m, 2H), 1,38-1,31 (m, 1H), 1,10-1,01 (m, 1H), 0,87 (s, 3H), 0,75 (s, 3H), 0,72 (s, 3H); CLEM (m/z): 208 (M+1). RMN ¹H de clorhidrato de endo-(1S,3R,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (D₂O, 400 MHz): δ 3,12 (s a, 1H), 2,79 (s, 3H), 2,26-2,16 (m, 1H), 2,01-1,85 (m, 3H), 1,78-1,69 (m, 3H), 1,60-1,51 (m, 1 H), 1,36-1,24 (m, 2H), 1,08-1,00 (m, 1H), 0,85 (s, 3H), 0,78 (s, 3H), 0,75 (s, 3H); CLEM (m/z): 208 (M+1).

Ejemplo de Referencia 6: Procedimiento general para la conversión de aminas secundarias en N-metil aminas terciarias

Ciertas N-metil aminas terciarias pueden prepararse mediante la aminación reductora de las aminas secundarias correspondientes. El siguiente procedimiento, que utiliza formaldehído y que proporciona clorhidrato de exo-(1S,3R,4R)-N,N,4,7,7-pentametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina, es a modo de ejemplo. Se realizaron reacciones análogas de N-metilación sobre diversas aminas secundarias.

A una solución de (1S,3R,4R)-N,4,7,7-tetrametilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,10 g,

0,48 mmol) y formaldehído acuoso al 30 % (1 ml) en metanol (4 ml) se le añadió triacetoxiborohidruro de sodio (0,31 g, 1,4 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se interrumpió con solución de bicarbonato de sodio acuoso saturado (30 ml) y se extrajo con diclorometano (30 ml, 2 veces). Se añadió ácido fórmico (0,2 ml) a los extractos orgánicos combinados y se concentraron en un evaporador rotatorio. El residuo se purificó mediante CLEM preparativa, utilizando mezclas de ácido fórmico al 0,05 % en agua y ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo. Las fracciones seleccionadas se combinaron, se hicieron básicas (pH 9) mediante la adición de hidróxido de sodio acuoso al 10 % y se extrajeron con diclorometano (30 ml, 2 veces). Los extractos orgánicos combinados se trataron con 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado. Esta mezcla se concentró y se secó al vacío para obtener (1S,3R,4R)-N,N,4,7,7-pentametilspiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,06 g) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (D₂O, 400 MHz): δ 3,27 (s, 3H), 3,19 (s, 3H), 3,10 (s, 1 H), 2,55-2,28 (m, 4H), 2,18-1,97 (m, 3H), 1,80-1,60 (m, 3H), 1,45-1,36 (m, 1H), 1,28 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); CLEM (m/z): 222 (M+1).

Ejemplo 7: Trifluoroacetato de N-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropan]-3-amina

Se añadió 3-metilen-2-norbornanona pura (8,9 g, 73 mmol), seguida de diyodometano puro (8,30 ml, 103 mmol), a una suspensión de la pareja cinc-cobre (9,1 g, 57 mmol) en éter dietílico (75 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 6 h. Se añadió una segunda porción de pareja de cinc y cobre (10 g) y el reflujo se continuó durante 16 h adicionales. Después, la reacción se inactivó con agua (200 ml) y se diluyó con éter dietílico (200 ml). La mezcla bifásica se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. La capa orgánica se separó, se lavó con ácido clorhídrico acuoso al 10 % (50 ml, 2 veces), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se pasó a través de una columna de gel de sílice, eluyendo con diclorometano. Las fracciones seleccionadas se concentraron y el residuo se destiló al vacío en un aparato de destilación bulbo a bulbo a 399 Pa (3 Torr), recogiendo espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropan]-3-ona (1,6 g) en forma de un aceite. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,71-2,69 (m, 1H), 2,06 (s a, 1H), 2,00-1,72 (m, 3H), 1,66-1,57 (m, 3H), 1,09-1,00 (m, 2H), 0,91-0,89 (m, 1 H), 0,80-0,75 (m, 1 H).

A una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropan]-3-ona (0,13 g, 0,96 mmol) y metilamina (4,0 ml de solución 2,0 M en THF, 8,0 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 ml) se le añadió ácido acético (0,2 ml) y triacetoxiborohidruro de sodio (0,85 g, 4,0 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. La reacción se diluyó con diclorometano (10 ml), se lavó con solución de bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) y se concentró. El residuo se purificó en HPLC preparativa, eluyendo con mezclas de ácido fórmico al 0,05 % en agua y ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo. Las fracciones seleccionadas se concentraron y el residuo se disolvió en metanol (2 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (0,1 ml) y la mezcla se concentró y se secó al vacío, para obtener trifluoroacetato de N-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina (0,005 g) en forma de una goma. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 2,76 (s a, 1H), 2,59 (s, 3H), 1,85-1,82 (m, 1 H), 1,69-1,55 (m, 6H), 1,34-1,28 (m, 1 H), 0,83-0,78 (m, 1H), 0,67-0,62 (m, 1H), 0,58-0,50 (m, 2H); CLEM (m/z): 152 (M+1).

Ejemplo 8: Clorhidrato de N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropan]-3-amina

A una solución de (3-metilespiro[biciclo[2.2.1]hept[5]eno-2,1'-ciclopropano]-3-il)metanol (9,4 g, 57 mmol), preparado como se describe por Gream y Pincombe, *Aust. J. Chem.* 27:543-565 (1974), en metanol (20 ml) se le añadieron 0,8 g de Pd/C al 10 % (húmedo) en atmósfera de nitrógeno. La atmósfera se reemplazó por hidrógeno a 344,700 Pa (50 psi) y la mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Después, la reacción se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas, que después se lavó con metanol. El filtrado se concentró para producir 9,60 g de (3-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano]-3-il)metanol en forma de un sólido de color blanco (99 %).

A una solución agitada de trióxido de cromo (8,0 g, 76 mmol) en agua (30 ml) enfriada en un baño de hielo, se le añadió ácido sulfúrico al 96 % (6,9 ml, 120 mmol) cuidadosamente. Mientras se continuaba enfriando y agitando la solución oxidante en un baño de hielo, se añadió una solución de (3-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano]-3-il)metanol (9,5 g; 57 mmol) en acetona (115 ml) durante un período de 20 min. Después de la adición completa, la mezcla de reacción se agitó durante 3 h mientras se calentaba a temperatura ambiente. Después, la reacción se diluyó con agua (45 ml) y acetato de etilo (200 ml). Lentamente, se añadió polvo de bisulfito de sodio hasta que el color marrón se disipó y la capa acuosa se volvió de color azul. Las fases se separaron y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (100 ml, 2 veces). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. El agente de secado se separó por filtración y el filtrado se concentró para producir un aceite de color verde. El aceite se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (200 g), utilizando un gradiente de acetato de etilo al 0-50 % en hexanos. Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron para proporcionar 6,0 g de ácido 3-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano]-3-carboxílico en forma de un sólido de color blanco (58 %).

A una solución agitada de ácido 3-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano]-3-carboxílico (2,8 g, 15 mmol) y trietilamina (2,6 ml, 18 mmol) en tolueno (70 ml) enfriada en un baño de hielo, se le añadió azida difenilfosfónica (3,5 ml, 16 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se agitó durante 2,5 h. Se añadió alcohol bencilico (1,7 ml, 16 mmol) a la reacción y la mezcla se agitó durante 16 h adicionales a 90 °C. La mezcla de reacción se enfrió y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (60 g), utilizando un

gradiente de acetato de etilo al 0-15 % en hexano. Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron para proporcionar 1,6 g de una mezcla de materiales, incluyendo 3-isocianato-3-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano] y el correspondiente carbamato de bencilo, en forma de un sólido de color blanco. Esta mezcla se disolvió en THF seco (16 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió lentamente hidruro de litio y aluminio (8,5 ml de 2,0 M en THF, 17 mmol). La reacción se calentó a 55 °C durante 3 h. Después, la reacción se enfrió en un baño de hielo y se diluyó con éter dietílico (20 ml). La reacción se inactivó mediante la adición cuidadosa de agua hasta el desprendimiento de gases. La suspensión viscosa de color blanco resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, tiempo durante el cual las sales se volvieron más granulares. Después, la suspensión se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas y la torta del filtro se lavó con éter dietílico (10 ml) y después acetato de etilo (10 ml). Los filtrados combinados se extrajeron con ácido clorhídrico 6 M (4 ml, 3 veces). Los extractos acuosos se combinaron y se concentraron en un evaporador rotatorio para proporcionar 1,6 g de N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclopropano]-3-amina en forma de un sólido de color blanco (rendimiento del 53 %). RMN ¹H (400 MHz, D₂O): δ 2,52 (s, 1 H), 2,46 (s, 3H), 1,72 (d, J = 11 Hz, 1 H), 1,49-1,41 (m, 3H), 1,39-1,32 (m, 2H), 1,28 (d, J = 11 Hz, 1 H), 1,02 (s, 3H), 0,59-0,51 (m, 3H), 0,45-0,43 (m, 1 H); CLEM (m/z): 166 (M+1).

Ejemplo 9: N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-amina y N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]octano-2,1'-ciclopentan]-3-amina

El intermedio, biciclo[2,2,2]oct-5-en-2-ona, se fabricó utilizando procedimientos descritos por Kozikowski y Schmiesing, *J. Org. Chem.* 48:1000-1007 (1983) y después se transformó posteriormente en N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-amina y N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]octano-2,1'-ciclopentan]-3-amina.

Una mezcla de acrilonitrilo (79,4 g, 1,49 mol), 1,3-ciclohexadieno (60 g, 0,75 mol) e hidroquinona (1,1 g, 10 mmol) se selló en un tubo y se calentó a 120 °C durante 18 h. La mezcla resultante se concentró y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo (del 0,5 % al 1 %) en éter de petróleo, para proporcionar una mezcla separable de isómeros (presumiblemente endo/exo) de 5-cianobiciclo[2,2,2]oct-2-eno (64 g, rendimiento del 64 %) en forma de un semisólido de color blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,32 (m, 2H), 1,75 (m, 3H), 2,04 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 6,23 (m, 1H), 6,30 (m, 1H); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,28 (m, 2H), 1,50 (m, 3H), 1,94 (m, 1H), 2,68 (m, 2H), 2,87 (m, 1H), 6,29 (m, 1H), 6,44 (m, 1H); CLEM (m/z): 134 (M+1).

A una mezcla a reflujo de piridina (14,2 g, 0,180 mol), pentacloruro de fósforo (28,0 g, 0,135 mol) y cloroformo (100 ml) se le añadió gota a gota una solución de 5-cianobiciclo[2,2,2]oct-2-eno (12 g, 90 mmol) en cloroformo (50 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 15 h, se enfrió y se vertió sobre hielo. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo (del 0,5 % al 1 %) en éter de petróleo, para proporcionar 5-cloro-5-cianobiciclo[2,2,2]oct-2-eno (14,3 g, rendimiento del 95 %) en forma de un semisólido de color blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,3-1,5 (m, 3H), 2,02-2,18 (m, 2H), 2,51 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 6,22 (m, 1H), 6,41 (m, 1H); CGEM (m/z): 167.

A una solución agitada de 5-cloro-5-cianobiciclo[2,2,2]oct-2-eno (65 g, 0,39 mol) (que representa varias ejecuciones del procedimiento anterior) en sulfóxido de dimetilo (500 ml) se le añadieron hidróxido de potasio (87,4 g, 1,56 mol) y agua (30 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 h, se diluyó con agua (1000 ml) y se extrajo con éter (500 ml, 4 veces). Los extractos de éter combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con mezclas de éter dietílico (del 1 % al 5 %) en éter de petróleo, para proporcionar biciclo[2,2,2]oct-5-en-2-ona (23,8 g, rendimiento del 50 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,53-1,84 (m, 4H), 2,01-2,02 (m, 2H), 2,96-2,99 (m, 1H), 3,11-3,13 (m, 1H), 6,15-6,21 (m, 1H), 6,43-6,48 (m, 1H); CGEM (m/z): 122.

Se añadió n-butil-litio (56,5 ml de 1,6 M en hexanos, 90,4 mmol) a una solución de diisopropilamina (11,2 ml, 8,05 g, 79,6 mmol) en THF seco (108 ml) a -78 °C. La mezcla se calentó a 0 °C y se agitó durante 30 min. La solución se enfrió de nuevo a -78 °C y se añadió biciclo[2,2,2]oct-5-en-2-ona (5,00 g, 36,2 mmol) disuelto en THF (10 ml). La reacción se agitó durante 30 min a -78 °C y después se añadió triamida hexametilfosfórica (13,9 ml, 14,3 g, 79,6 mmol) seguida de 1,4-dibromobutano (4,76 ml, 8,59 g, 39,8 mmol). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 16 h, se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado (50 ml), se diluyó con éter (100 ml) y se lavó con agua (50 ml, 3 veces). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en una columna de sílice de 120 g, eluyendo con hexano al 100 % para 4 volúmenes de columna, seguido de un gradiente en etapa a hexano/acetato de etilo 9:1. Las fracciones seleccionadas se concentraron para proporcionar espiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-ona (5,1 g; pureza del ~90 % por CG/EM) en forma de un aceite transparente. El material se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional, mediante disolución en THF seco (20 ml) y enfriamiento a -78 °C. Después, se añadió bromuro de metilmagnesio (28,6 ml de 3,0 M en éter dietílico, 85,8 mmol) y la reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y se interrumpió mediante la adición cuidadosa de cloruro de amonio acuoso saturado. La reacción se transfirió a un embudo de separación y se retiró la capa acuosa. La capa orgánica se lavó dos veces con agua (10 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se

concentró. El material restante (aceite incoloro) era una mezcla de 3-metilespiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-ol (4,9 g) y material de partida.

5 Sin purificación adicional, la muestra generada inmediatamente antes se combinó con cianuro de sodio (1,93 g, 37,8 mmol) en ácido acético (20 ml). Esta mezcla se enfrió a 0 °C y se agitó a esa temperatura mientras se añadía ácido sulfúrico (20 ml) lentamente. La reacción, que se volvió de color rojo oscuro después de la adición completa de los reactivos, se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Después, se interrumpió con la adición de 100 ml de agua, se volvió básica (pH 9) mediante la adición de hidróxido de sodio acuoso 3 M y se extrajo con diclorometano (50 ml, 4 veces). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para
10 obtener un sólido de color blanco. El sólido se disolvió en THF seco (200 ml), se enfrió a 0 °C y se mantuvo a esta temperatura mientras se añadía una solución de hidruro de litio y aluminio (25,2 ml de 2 M en THF, 50,4 mmol) lentamente. La reacción se calentó a reflujo durante 18 h, se enfrió en baño de hielo y se interrumpió mediante la adición cuidadosa de 5 g de decahidrato de sulfato de sodio. La mezcla resultante se agitó durante 30 min y se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se purificó en columna de gel de sílice de 120 g, utilizando CMA al 0-70 % en cloroformo, proporcionando N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-amina (0,20 g, rendimiento del 2,7 %). Este material se recogió en diclorometano (5 ml), se convirtió en la sal de HCl mediante el tratamiento con 0,5 ml de ácido clorhídrico 4 M en dioxano y concentrando la mezcla resultante. El sólido amorfo resultante se disolvió en metanol (3 ml) y se precipitó con éter dietílico (3 ml). El disolvente se retiró por aspiración y el precipitado se trituró tres veces con éter dietílico (3 ml). Después, la muestra de sal de clorhidrato se secó al vacío. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,02 (s, 3H), 1,19-1,42 (m, 4H), 1,51-1,64 (m, 7H), 1,81 (m, 1H), 2,21 (m, 2H), 2,73 (s, 3H), 5,57 (dd, J₁ = 9 Hz, J₂ = 3 Hz, 1H), 6,01 (d, J = 6 Hz, 1H); CLEM (m/z): 206 (M+1).

25 Se disolvió N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]oct[5]eno-2,1'-ciclopentan]-3-amina (80 mg, 0,39 mmol) en metanol (7,8 ml) y se añadió Pd/C al 10 % (húmedo) (41 mg). Esta mezcla se colocó en un globo de gas hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de tierra de diatomeas y el filtrado se concentró, dejando N,3-dimetilespiro[biciclo[2.2.2]octano-2,1'-ciclopentan]-3-amina (45 mg, rendimiento del 56 %). Ésta se disolvió en diclorometano (3 ml), se convirtió en su sal de ácido clorhídrico mediante el tratamiento con 0,3 ml de ácido clorhídrico 4 M en dioxano y concentrando la mezcla resultante. El sólido amorfo resultante se disolvió en metanol (3 ml) y se precipitó con éter dietílico (1 ml). El disolvente se retiró por aspiración y el precipitado se trituró tres veces con éter dietílico (3 ml). Después, la muestra de sal de clorhidrato se secó al vacío. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 0,99 (s, 3H), 1,31 (m, 2H), 1,45-1,70 (m, 10H), 1,85 (m, 1H), 2,08 (m, 3H), 2,22-2,35 (m, 1H), 2,65 (s, 3H), 3,02 (m, 1H); CLEM (m/z): 208 (M+1).

35 VI. Ensayos biológicos

Caracterización de interacciones en receptores de acetilcolina nicotínicos. Materiales y Métodos

40 **Estirpes celulares.** Se obtuvieron estirpes celulares SH-EP1-α4β2 humana (Eaton et al., 2003), SH-EP1-α4β4 humana (Gentry et al., 2003) y SH-EP1-α6β3β4α5 (Grinevich et al., 2005) del Dr. Ron Lukas (Barrow Neurological Institute). Las estirpes celulares de SH-EP1, las células PC12, SH-SY5Y y TE671/RD se mantuvieron en fase de crecimiento proliferativo en medio de Eagle modificado por Dulbecco (Invitrogen, Carlsbad, California) con suero de caballo al 10 % (Invitrogen), suero bovino fetal al 5 % (Hyclone, Logan UT), piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 4 mM. Para el mantenimiento de los transfectantes estables, los medios de células α4β2 y α4β4 se suplementaron con zeocina 0,25 mg/ml e higromicina B 0,13 mg/ml. La selección se mantiene para las células α6β3β4α5 con zeocina 0,25 mg/ml, higromicina B 0,13 mg/ml, geneticina 0,4 mg/ml y blastidina 0,2 mg/ml.

Ensayos de unión a receptores

50 **Preparación de membranas a partir de tejidos de rata.** Se obtuvieron cortezas de rata de Analytical Biological Services, Incorporated (ABS, Wilmington, Delaware). Se diseccionaron tejidos de ratas Sprague-Dawley hembra, se congelaron y se enviaron en hielo seco. Los tejidos se almacenaron a -20 °C hasta que fueron necesarios para la preparación de membranas. Se agruparon cortezas de 10 ratas y se homogeneizaron mediante Polytron (Kinematica GmbH, Suiza) en 10 volúmenes (peso:volumen) de tampón preparativo enfriado en hielo (KCl 11 mM, KH₂PO₄ 6 mM, NaCl 137 mM, Na₂HPO₄ 8 mM, HEPES 20 mM (ácido libre), yodoacetamida 5 mM, EDTA 1,5 mM, PMSF 0,1 mM pH 7,4). El homogeneizado resultante se centrifugó a 40.000 g durante 20 minutos a 4 °C y el sedimento resultante se resuspendió en 20 volúmenes de agua enfriada con hielo. Después de una incubación de 60 minutos a 4 °C, se recogió un nuevo sedimento mediante centrifugación a 40.000 g durante 20 minutos a 4 °C. El sedimento final se resuspendió en tampón preparativo y se almacenó a -20 °C. El día del ensayo, el tejido se descongeló, se centrifugó a 40.000 g durante 20 minutos y después se volvió a suspender en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco, pH 7,4 (PBS, Invitrogen) a una concentración final de 2-3 mg de proteína/ml. Las concentraciones de proteína se determinaron utilizando el kit de Ensayo de Proteína BCA de Pierce (Pierce Biotechnology, Rockford, IL), con albúmina de suero bovino como patrón.

65 **Preparación de membranas a partir de estirpes celulares clonales.** Las células se recogieron en PBS enfriado en hielo, pH 7,4, después se homogeneizaron con un Polytron (Kinematica GmbH, Suiza). Los homogeneizados se centrifugaron a 40.000 g durante 20 minutos (4 °C). El sedimento se resuspendió en PBS y la concentración de

proteína se determinó utilizando el kit de Ensayo de Proteína BCA de Pierce (Pierce Biotechnology, Rockford, IL).

Unión competitiva a receptores en preparaciones de membrana. La unión a receptores nicotínicos se ensayó en membranas utilizando métodos convencionales adaptados de procedimientos publicados (Lippiello y Fernandes 1986; Davies et al., 1999). En resumen, las membranas se reconstruyen a partir de reservas congeladas y se incubaron durante 2 h en hielo en 150 μ l de tampón de ensayo (PBS) en presencia de compuesto competidor (de 0,001 nM a 100 μ M) y radioligando. Se utilizó [3 H]-nicotina (L-(-)-[N-metil-3H]-nicotina, 69,5 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences, Waltham, MA) para los estudios de unión a $\alpha 4\beta 2$ humano. Se utilizó [3 H]-epibatidina (52 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences) para los estudios de unión a los otros subtipos de receptores nicotínicos. Se utilizó Bencilato de L-[Bencilico.-4,4- 3 H] Quinuclidinilo ([3 H]QNB) para los estudios de unión al receptor muscarínico. La incubación se terminó mediante filtración rápida en un recolector de tejido de tipo multifiltro (Brandel, Gaithersburg, MD) utilizando filtros GF/B empapados previamente en polietilenimina al 0,33 % (p/v) para reducir la unión no específica. Los filtros se lavaron 3 veces con PBS enfriado con hielo y la radioactividad retenida se determinó mediante recuento de centelleo líquido.

Análisis de datos de unión. Los datos de unión se expresaron como porcentaje de la unión total al control. Las réplicas para cada punto se promediaron y se representaron frente al logaritmo de la concentración del fármaco. La CI_{50} (concentración del compuesto que produce una inhibición de la unión del 50 %) se determinó mediante regresión de mínimos cuadrados no lineal utilizando el software GraphPad Prism (GraphPAD, San Diego, CA). K_i se calculó utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng y Prusoff, 1973).

Ensayos funcionales de flujo de calcio

De veinticuatro a cuarenta y ocho horas antes de cada experimento, las células se sembraron en placas de 96 pocillos de paredes negras y de fondo transparente (Corning, Corning, NY) a 60-100.000 células/pocillo. El día del experimento, el medio de cultivo se retiró con cuidado, se añadieron 200 μ l de reactivo de ensayo 1X FLIPR Calcio 4 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) en tampón de ensayo (HEPES 20 mM, base TRIS 7 mM, $CaCl_2$ 4 mM, D-glucosa 5 mM, $MgSO_4$ 0,8 mM, KCl de 5 mM, $MgCl_2$ 0,8 mM, N-metil D-glucamina 120 mM, NaCl 20 mM, pH 7,4 para las células SH-EP1- $\alpha 4\beta 2$ humanas o HERPES 10 mM, $CaCl_2$ 2,5 mM, D-glucosa 5,6 mM, $MgSO_4$ 0,8 mM, KCl 5,3 mM, NaCl 138 mM, pH 7,4 con TRIS-base para todas las demás estirpes celulares) a cada pocillo y las placas se incubaron a 37 °C durante 1 hora (29 °C para las células SH-EP1- $\alpha 4\beta 2$ humanas tratadas con 29 °C). Para los estudios de inhibición, se añadió compuesto competidor (10 pM - 10 μ M) en el momento de adición del colorante. Las placas se retiraron de la incubadora y se dejaron equilibrar a temperatura ambiente. Las placas se transfirieron a un lector de placas de formación de imágenes fluorométrico FLIPR Tetra (Molecular Devices) para la adición de compuesto y el seguimiento de la fluorescencia (excitación 485 nm, emisión 525 nm). La cantidad de flujo de calcio se comparó tanto con un positivo (nicotina) como un control negativo (tampón solo). El control positivo se definió como la respuesta del 100 % y los resultados de los compuestos de ensayo se expresaron como porcentaje del control positivo. Para los estudios de inhibición, el agonista de nicotina se utilizó en concentraciones de 1 μ M para células SH-EP1- $\alpha 4\beta 2$ humanas y SH-EP1- $\alpha 4\beta 4$ humanas, 10 μ M para células PC12 y SH-SY5Y y 100 μ M para las células TE671/RD.

Liberación de neurotransmisores

Se realizaron estudios de liberación de dopamina utilizando sinaptosomas estriales obtenidos de cerebro de rata como se ha descrito anteriormente (Bencherif et al., 1998). Se agrupó tejido estriatal de dos ratas (hembras, Sprague-Dawley, con un peso de 150-250 g) y se homogeneizó en sacarosa enfriada con hielo 0,32 M (8 ml) que contenía HERPES 5 mM, pH 7,4, utilizando un homogeneizador de vidrio/vidrio. El tejido se centrifugó a 1.000 x g durante 10 minutos. El sedimento se desechó y el sobrenadante se centrifugó a 12.500 x g durante 20 minutos. El sedimento resultante se resuspendió en tampón de perfusión enfriado con hielo que contenía inhibidores de la monoamina oxidasa (NaCl 128 mM, KH_2PO_4 1,2 mM, KCl 2,4 mM, $CaCl_2$ 3,2 mM, $MgSO_4$ 1,2 mM, HERPES 25 mM, ácido ascórbico 1 mM, HCl de pargilina 0,02 mM y glucosa 10 mM, pH 7,4) y se centrifugó durante 15 minutos a 23.000 x g. El sedimento final se resuspendió en tampón de perfusión (2 ml) para su uso inmediato.

La suspensión de sinaptosomas se incubó durante 10 minutos en una incubadora de agitación a 37 °C para restaurar la actividad metabólica. Se añadió [3 H]Dopamina ([3 H]DA, actividad específica = 28,0 Ci/mmol, NEN Research Products) a una concentración final de 0,1 μ M y la suspensión se incubó a 37 °C durante otros 10 minutos. Se cargaron alícuotas de tampón de perfusión (100 μ l) y el tejido (100 μ l) en las cámaras de suprafusión de un Sistema de Suprafusión Brandel (serie 2500, Gaithersburg, MD). El tampón de perfusión (temperatura ambiente) se bombeó dentro de las cámaras a una velocidad de aproximadamente 0,6 ml/min durante un período de lavado de 8 min. Se aplicó compuesto competidor (10 pM-100 nM) en la corriente de perfusión durante 8 minutos. Después se aplicó nicotina (10 μ M) en la corriente de perfusión durante 48 segundos. Se recogieron fracciones (de 12 segundos cada una) de forma continua desde cada cámara a lo largo de todo el experimento para capturar la liberación basal y la liberación máxima inducida por agonista y para restablecer el valor basal después de la aplicación del agonista. El perfundido se recogió directamente en viales de centelleo, a los que se añadió fluido de centelleo. La [3 H]DA liberada se cuantificó mediante recuento de centelleo. Para cada cámara, el área integrada del pico se normalizó a su valor basal.

La liberación se expresó como un porcentaje de liberación obtenido con la nicotina de control en ausencia de competidor. Dentro de cada ensayo, cada concentración de compuesto de ensayo se duplicó utilizando 2 cámaras; los duplicados se promediaron. Se definió la concentración de compuesto que da como resultado la mitad de la inhibición máxima (CI_{50}) del flujo de iones específico.

5

Electrofisiología de pinzamiento zonal

Manipulación de las células. Después de la retirada de las células GH4C1-T6'S $\alpha 7$ de rata de la incubadora, se aspiró el medio, las células se trataron con tripsina durante 3 minutos, se trituraron suavemente para desprenderlas de la placa, se lavaron dos veces con medio de registro y se resuspendieron en 2 ml de solución externa (véase a continuación para la composición). Las células se colocaron en el montaje de microplacas Dynaflo en la platina de un microscopio invertido Zeiss (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY). En promedio, fueron necesarios 5 minutos antes de que se estableciera la configuración de registro de células enteras. Para evitar la modificación de las condiciones de las células, se registró una única célula por carga individual. Para evocar respuestas cortas, se aplicaron compuestos durante 0,5 s utilizando un sistema Dynaflo (Celletricon, Inc., Gaithersburg, MD), en el que cada canal entregó soluciones impulsadas por presión ya sea a 344.737 o 1.034.214 Pa (50 o 150 psi).

10

15

Electrofisiología. Se utilizaron registros de corrientes de células enteras convencionales. Se utilizaron microelectrodos de vidrio (resistencia de 5-10 M Ω) para formar juntas de estanqueidad herméticas (> 1 G Ω) en la superficie celular hasta que se aplicó succión para convertir en registro de células enteras convencional. Después, se fijó el voltaje de las células a potenciales de retención de -60 mV y se midieron las corrientes de iones en respuesta a la aplicación de ligandos. Se filtraron corrientes de células enteras, registradas con un amplificador Axon 700A, a 1 kHz y se tomaron muestras a 5 kHz mediante una placa ADC 1440 (Molecular Devices). La resistencia de acceso de células enteras fue de menos de 20 M Ω . La obtención de datos de las corrientes de células enteras se realizó utilizando un Clampex 10 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) y los resultados se representaron utilizando Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Los datos experimentales se presentan como la media \pm E.T.M. y se analizaron comparaciones de diferentes condiciones para determinar la significación estadística mediante ensayos de t de Student y ANOVA de dos vías. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (22 ± 1 °C). Los perfiles de concentración-respuesta se ajustaron a la ecuación de Hill y se analizaron utilizando Prism 5.0.

20

25

30

Soluciones y aplicación de fármacos. La solución externa patrón contenía: NaCl 120 mM, KCl 3 mM, MgCl₂ 2 mM, CaCl₂ 2 mM, D-glucosa 25 mM y HEPES 10 mM y se ajustó a pH 7,4 con base Tris. La solución interna para registros de célula entera consistía en: fosfato dibásico Tris 110 mM, base Tris 28 mM, EGTA 11 mM, MgCl₂ 2 mM, CaCl₂ 0,1 mM y Mg-ATP 4 mM, pH 7,3. (Liu et al., 2008). Para iniciar respuestas de corrientes de células enteras, células en movimiento entregaron compuestos desde la solución de control a la solución que contenía el agonista y en sentido contrario de manera que el intercambio de soluciones se produjo en ~50 ms (basándose en tiempos de aumento de la corriente máxima al 10-90 %). Se ajustaron intervalos entre aplicaciones de compuestos (0,5-1 min) específicamente para asegurar la estabilidad de la capacidad de respuesta del receptor (sin reducción funcional) y la selección de las soluciones de pipeta utilizadas en la mayor parte de los estudios que se describen en el presente documento se realizó con el mismo objetivo. Se adquirieron (-)-Nicotina y acetilcolina (ACh) de Sigma-Aldrich (San Luis, MO). Todos los fármacos se prepararon a diario a partir de soluciones madre.

35

40

Para determinar la inhibición de las corrientes inducidas por ACh por los compuestos de la presente invención, se estableció un registro basal estable aplicando ACh 70 μ M (por lo general 5-10 aplicaciones consecutivas estables). Después se coaplicó ACh (70 μ M) con compuesto de ensayo en un intervalo de concentraciones de 1 nM a 10 μ M. Puesto que la cola de la corriente (la corriente medida al final de la aplicación de ACh de 0,5 s) experimentó los cambios más profundos, las representaciones de inhibición y recuperación representan la amplitud de la cola de la corriente.

45

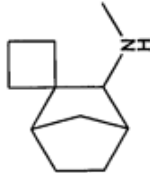
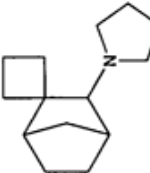


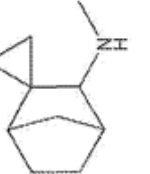
50 Resumen tabulado

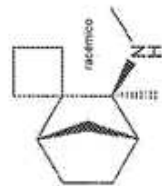
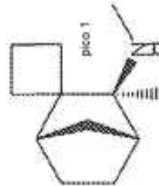
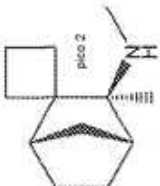
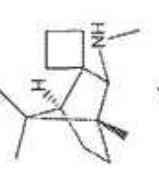
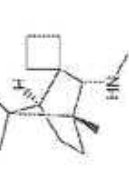
Como se muestra en la Tabla 1, los compuestos representativos de la presente invención normalmente presentan constantes de inhibición (valores de K_i) para los subtipos de receptores $\alpha 4\beta 2$ humanos y ganglionares en el intervalo de 1-100 nM, lo que indica una baja afinidad por los sitios de unión ortostéricos (es decir, el sitio de unión del agonista competitivo) de estos subtipos de receptores. Los datos de la Tabla 1, sin embargo, también ilustran que los compuestos representativos de la presente invención inhiben eficazmente el flujo de iones para estos subtipos de receptores, con valores de CI_{50} típicos de menos de aproximadamente 2 mM y los valores de $I_{m\acute{a}x}$ de >95 %. Tomados en conjunto, estos datos demuestran que los compuestos representativos de la presente invención son eficaces en la inhibición del flujo de iones mediado por estos subtipos de receptores a través de un mecanismo que no implica la unión en los sitios ortostéricos.




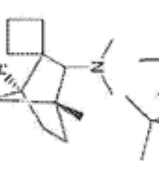
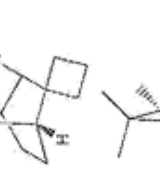

55

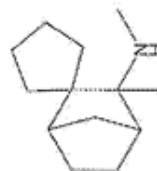

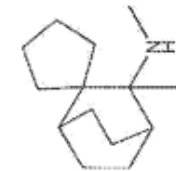
60

Tabla 1

Estructura	Ki de $\alpha 4\beta 2$ humana (nM)	Ki de ganglio humano (nM)	CI50 de flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humana [29C/HS] (nM)	Imáx de flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humana [29C/HS] (% de inh)	CI50 de flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humana [37C/LSJ] (nM)	Imáx de flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humana [37C/LSJ] (% de inh)	CI50 de flujo de Ca de ganglio humano (nM)	Imáx de flujo de Ca de ganglio humano (% de inh)
	>10.000	>10.000	1000	99	500	97	160	160
	3800	>10.000	1400	99	59	96	190	79
	10.000	>10.000	1400	96	740	98	190	89
	2600	>10.000	1800	98	620	98	230	98
	540	>10.000	2100	97	570	93	440	93

	8700	>10.000	610	98	230	95	98	93
	>10.000	>10.000	210	98	97	96	23	100
	>10.000	>10.000	260	98	65	94	40	98
	>10.000	>10.000	1300	99	492	96	180	97
	5600	>10.000	710	98	430	96	74	99

					
>10.000	>10.000	>10.000	>10.000	3200	2600
>10.000	>10.000	>10.000	>10.000	>10.000	>10.000
1000	310	540	140	1100	740
97	97	96	96	96	95
600	270	520	350	280	380
96	93	97	95	95	95
98	60	100	66	65	86
95	97	98	97	95	99

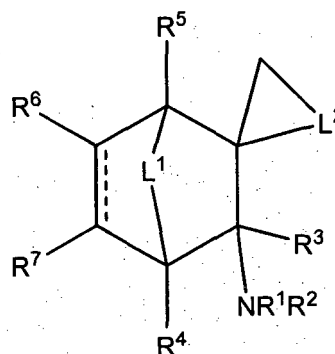
	>10.000	>10.000	1100	99	120	100	35	96
	>10.000	>10.000	380	97	120	93	170	98
	3000	>10.000	>10.000		400	95	240	92

Las respuestas farmacológicas específicas observadas pueden variar de acuerdo con y dependiendo del principio activo particular seleccionado o de si hay vehículos farmacéuticos presentes, así como del tipo de formulación y del modo de administración empleado y dichas variaciones o diferencias esperadas en los resultados se incluyen de acuerdo con la práctica de la presente invención.

- 5 Aunque se ilustran y se describen en detalle realizaciones específicas de la presente invención en el presente documento, la invención no se limita a las mismas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

5

en la que

- 10 R^1 es H y R^2 es alquilo C_{1-6} ;
 R^3 es H, alquilo C_{1-6} o alquilo C_{1-6} sustituido con alcoxi C_{1-6} ;
 cada uno de R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es individualmente H, alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} ;
 L^1 es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CR^8R^9 , $CR^8R^9CR^{10}R^{11}$ y O;
 L^2 es una especie de enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en CH_2 , CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2$ o $CH_2CH_2CH_2CH_2$;
 15 cada uno de R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} es individualmente hidrógeno o alquilo C_{1-6} ; y
 la línea discontinua indica un doble enlace opcional;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^3 es alquilo C_{1-6} .
3. El compuesto de las reivindicaciones 1 o 2, en el que cada uno de R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es H.
4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que L^1 es CR^8R^9 y cada uno de R^8 y R^9 es hidrógeno.
- 25 5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que L^2 es CH_2CH_2 .
6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la línea discontinua es un enlace sencillo.
- 30 7. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el compuesto es exo-N,3-dimetilspiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-amina, un enantiómero de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 35 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
9. Uso de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de un trastorno del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada a infección bacteriana y/o viral, dolor, síndrome metabólico, un trastorno autoinmune, una adicción u
- 40 obesidad.
10. El uso de la reivindicación 9, en el que la enfermedad o la afección son síndrome del intestino irritable con diarrea predominante (SII-D), vejiga hiperactiva (VHA), adicción a la nicotina, dejar de fumar, depresión, trastorno depresivo mayor o hipertensión.
- 45 11. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso como un principio activo terapéutico.
- 50 12. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento o la prevención de un trastorno del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada a infección bacteriana y/o viral, dolor, síndrome metabólico, un trastorno autoinmune, una adicción u obesidad.

13. El compuesto para el uso de las reivindicaciones 11 o 12, en donde la enfermedad o la afección son síndrome del intestino irritable con diarrea predominante (SII-D), vejiga hiperactiva (VHA), adicción a la nicotina, dejar de fumar, depresión, trastorno depresivo mayor o hipertensión.