

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 329**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01)  
**A61K 31/198** (2006.01)  
**A61K 31/5377** (2006.01)  
**A61K 31/47** (2006.01)  
**A61K 31/496** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.06.2013 PCT/US2013/048771**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2014 WO14005122**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2013 E 13810090 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2017 EP 2867219**

54 Título: **Agentes bloqueantes neuromusculares asimétricos reversibles de duración ultra-corta, corta o intermedia**

30 Prioridad:

**29.06.2012 US 201261666244 P**  
**21.09.2012 US 201261703991 P**  
**30.04.2013 US 201361817706 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.07.2017**

73 Titular/es:

**CORNELL UNIVERSITY (100.0%)**  
**395 Pine Tree Road, Suite 310**  
**Ithaca, NY 14850, US**

72 Inventor/es:

**SAVARESE, JOHN J. y**  
**MCGILVRA, JEFF D.**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 625 329 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**

Agentes bloqueantes neuromusculares asimétricos reversibles de duración ultra-corta, corta o intermedia

**Antecedentes**

5 Los agentes bloqueantes neuromusculares son comúnmente administrados por vía intravenosa durante la anestesia general para relajar los músculos, intubar la tráquea y facilitar la ventilación controlada.

Actualmente, dos tipos (clases) de agentes bloqueantes neuromusculares predominan en la práctica clínica:

10 (1) Agentes bloqueantes neuromusculares de duración intermedia. Ejemplos son rocuronio, vecuronio y cisatracurio. Este tipo de agente es comúnmente administrado por bolo repetitivo para el mantenimiento del bloqueo neuromuscular, y también puede ser administrado en alta dosificación para facilitar la intubación de la tráquea. La recuperación del bloqueo neuromuscular es relativamente lenta y comúnmente requiere antagonismo (inversión) por administración de una anticolinesterasa, tal como neostigmina, al final de la anestesia, para restaurar la función normal en el plazo de un tiempo razonablemente corto (10-15 min).

15 (2) Agentes bloqueantes neuromusculares de duración corta o ultra-corta. Ejemplos son mivacurio (corta) y succinilcolina (ultra-corta). Este tipo de agente comúnmente muestra una rápida aparición del efecto y se administra para facilitar la intubación de la tráquea. Un segundo uso conveniente y seguro es para el mantenimiento del bloqueo por infusión continua, donde se produce recuperación espontánea rápidamente tras la retirada de la infusión.

20 Agentes bloqueantes neuromusculares a modo de ejemplo de la clase (2) que pertenecen al grupo de los bis(isoquinolilalcanol)diésteres se desvelan en las publicaciones de patente internacional WO 2010/107488 A1 y WO 2005/041960 A2, además de en la patente de EE.UU. 8.148.398 B2.

25 Ambas de las clases anteriores de agentes bloqueantes neuromusculares tienen desventajas. La lenta recuperación de los agentes de duración intermedia requiere la administración del antagonista neostigmina. La aparición relativamente lenta del bloqueo de este tipo (clase) de agentes bloqueantes neuromusculares requiere una alta dosificación para permitir la intubación traqueal en el plazo de 60-90 segundos. Esta alta dosificación alarga el bloqueo considerablemente, a tanto como una a tres horas o más, tiempo durante el cual el bloqueo puede ser demasiado profundo como para ser antagonizado por neostigmina.

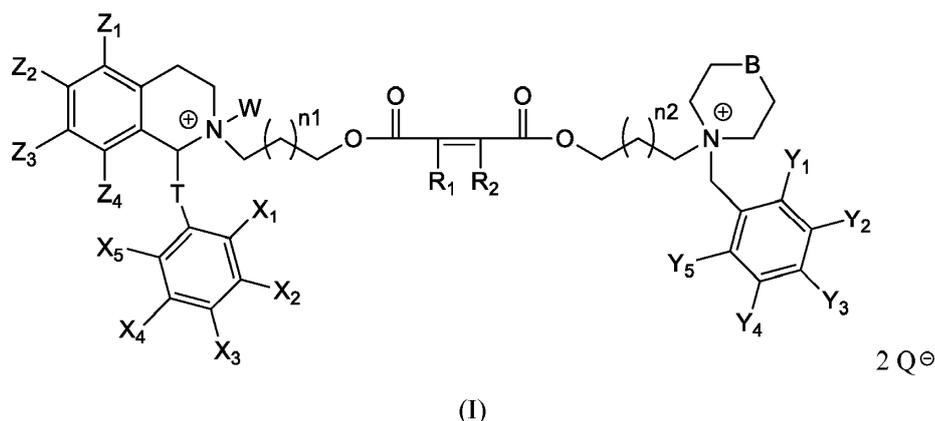
Los agentes que acción corta y ultra-corta mivacurio y succinilcolina son ambos metabolizados por pseudocolinesterasa, un sistema enzimático que puede ser anormal por una amplia variedad de motivos; en tales casos, el bloqueo producido por estos fármacos es notablemente prolongado.

30 Aunque todavía está en uso común debido a su rápida aparición que facilita pronto (60 s) la intubación de la tráquea, la succinilcolina tiene muchos otros efectos secundarios no deseables muy conocidos, tales como arritmias cardíacas y dolor muscular, y el fármaco es un agente desencadenante del síndrome de hipertermia maligna frecuentemente mortal. Una de las desventajas del mivacurio es su propiedad liberadora de histaminas que, aunque relativamente débil, requiere mejora de forma que se reduzca o suprima completamente. Además, la aparición de  
35 bloqueo inducido por mivacurio es comparativamente lenta con relación a la succinilcolina.

**Sumario**

40 La invención se refiere a agentes bloqueantes neuromusculares (NMBA) como se especifica en la reivindicación 1 de duración ultra-corta, corta o intermedia, en los que el bloqueo neuromuscular (NMB) inducido por los agentes es reversible, tal como por administración de cisteína o compuestos relacionados; a la administración de tales agentes bloqueantes neuromusculares para su uso en la inducción de un bloqueo neuromuscular en un mamífero; y a un kit como se especifica en la reivindicación 14 que comprende un agente bloqueante neuromuscular tal, y un agente de inversión (antagonista) tal como cisteína o un compuesto relacionado, para su uso en inducir e invertir el bloqueo neuromuscular tal como en pacientes quirúrgicos.

En diversas realizaciones, la invención proporciona un agente bloqueante neuromuscular de fórmula (I)



en la que cada uno de  $R_1$  y  $R_2$  está seleccionado independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y halógeno, y  $R_1$  y  $R_2$  pueden estar dispuestos en una configuración *cis* o *trans* en los dos átomos de carbono de doble enlace a los que  $R_1$  y  $R_2$  están respectivamente unidos;

5 T está seleccionado del grupo que consiste en  $CH_2$  y  $CH_3$ , en el que si T es  $CH_3$ , el grupo fenilo con los sustituyentes  $X_1 - X_5$  no está presente;

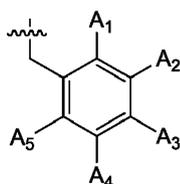
B está seleccionado del grupo que consiste en  $CH_2$ , O, NR, y un enlace sencillo directo, en el que R es H, alquilo ( $C_{1-6}$ ) o acilo ( $C_{1-6}$ );

$n_1$  y  $n_2$  son cada uno independientemente igual a 0, 1, 2 o 3;

10 cada uno de  $X_1, X_2, X_3, X_4$  y  $X_5$  es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos  $X_1, X_2, X_3, X_4$  o  $X_5$  cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi; cada uno de  $Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$  y  $Y_5$  es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos  $Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$  o  $Y_5$  cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

15 cada uno de  $Z_1, Z_2, Z_3$  y  $Z_4$  es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos  $Z_1, Z_2, Z_3$  o  $Z_4$  cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

W está seleccionado del grupo que consiste en metilo y un grupo bencilo de fórmula:



20 en la que cada uno de  $A_1, A_2, A_3, A_4$  y  $A_5$  es independientemente en cada aparición hidrógeno o metoxi, o dos  $A_1, A_2, A_3, A_4$  o  $A_5$  cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi, y una línea ondulada indica un punto de enlace; y,

en la que cada  $Q^\ominus$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado.

25 En diversas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) es de la configuración absoluta (R) en el átomo de carbono que lleva el grupo T. En diversas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) tiene una relación *trans* de anillo entre el grupo T y la cadena de conector que une el resto cuaternario isoquinolinio al éster; es decir, el grupo T y el grupo W pueden estar en *cis* en el anillo entre sí.

La invención también se refiere a una forma de dosificación para administración parenteral que comprende 0,1 mg a 500 mg del agente bloqueante neuromuscular como se especifica en la reivindicación 1 para su uso para paralizar un sujeto mamífero, en un disolvente biocompatible adecuado, tal como solución salina estéril.

30 La invención proporciona además el agente bloqueante neuromuscular como se especifica en la reivindicación 1 para su uso para inducir un bloqueo neuromuscular en un mamífero, que puede ser un ser humano, o puede ser un mamífero no humano. El mamífero puede ser sometido a una anestesia general. Los fines terapéuticos también pueden comprender un procedimiento quirúrgico. El NMBA puede administrarse al paciente, por ejemplo, en una dosis que oscila de 0,01 a 1 mg/kg de peso corporal. Los inventores en el presente documento han descubierto inesperadamente que una dosis terapéutica para la inducción de NMB no parece inducir taquicardia en monos rhesus, que es ventajoso en comparación con la succinilcolina, un NMBA de acción ultra-corta artificial. El uso anterior puede comprender además la inversión del bloqueo neuromuscular en un mamífero que comprende

5 administrar al mamífero una cantidad eficaz de al menos uno de L-cisteína, D-cisteína, o una mezcla de las mismas; N-acetilcisteína; glutatión; homocisteína; metionina; S-adenosil-metionina; o penicilamina; o cualquier combinación de los mismos; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. El antagonista bloqueante neuromuscular puede administrarse por vía intravenosa, en combinación con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable, en una dosificación de 0,1 mg/kg a 500 mg/kg.

10 La invención proporciona además un kit como se especifica en la reivindicación 14 que comprende (a) una cantidad eficaz de un agente bloqueante neuromuscular descrito en el presente documento, (b) una cantidad eficaz de un antagonista para el agente bloqueante neuromuscular que comprende al menos uno de L-cisteína, D-cisteína, o una mezcla de las mismas; N-acetilcisteína; glutatión; homocisteína; metionina; S-adenosil-metionina; o penicilamina; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y (c) instrucciones que se dirigen al usuario para emplear el antagonista para invertir los efectos del agente bloqueante en un mamífero al que se administra el agente bloqueante. Los componentes del kit pueden estar envasados por separado. El agente bloqueante neuromuscular y/o el antagonista del agente bloqueante neuromuscular en el kit pueden ser un polvo o sólido soluble. El agente bloqueante neuromuscular y el antagonista del mismo pueden administrarse por vía intravenosa, en combinación con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable, y las instrucciones pueden incluir indicaciones para mezclar el polvo o sólido soluble con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. O, el NMBA, el antagonista (agente de inversión), o ambos, pueden ser una solución en un disolvente biocompatible adecuado, tal como solución salina estéril, a un pH apropiado.

### **Breve descripción de las figuras**

20 La Figura 1 es un gráfico que muestra datos de un estudio de respuesta a dosis para la generación de NMB en un mono rhesus para un compuesto de la invención (es decir, 1759-50).

La Figura 2 muestra un transcurso de tiempo de respuesta de sacudida de la recuperación espontánea de un mono rhesus para una dosis de 0,06 mg/kg del mismo compuesto 1759-50 proporcionado al sujeto de prueba.

25 La Figura 3 muestra un transcurso de tiempo de respuesta de sacudida para el bloqueo neuromuscular inducido por el compuesto 1759-50 a una dosis de 4x la dosis DE95, que compara el tiempo de inversión espontánea frente al tiempo de inversión usando una dosis de 30 mg/kg del agente de inversión clorhidrato de L-cisteína.

30 La Figura 4 muestra un transcurso de tiempo de respuesta de sacudida para el bloqueo completo por el compuesto 1759-50, que compara el tiempo de inversión espontánea frente al tiempo de inversión con una dosis de inversión de 30 mg/kg del agente clorhidrato de L-cisteína.

La Figura 5 muestra una comparación de la relación del 5-95 % de intervalo de recuperación de la sacudida con respecto a la duración de la infusión del compuesto 1759-50 en el mono rhesus.

### **Descripción detallada**

35 Como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto imponga claramente de otro modo.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento cuando se refiere a un valor numérico o intervalo, permite un grado de variabilidad en el valor o intervalo, por ejemplo, dentro del 10 %, o dentro del 5 % de un valor establecido o de un límite establecido de un intervalo.

40 Todos los porcentajes de composiciones se dan como porcentajes en peso, a menos que se establezca de otro modo.

45 La expresión "cantidad eficaz", cuando se usa para describir la inducción de bloqueo neuromuscular o inversión de ese bloqueo, se refiere a la cantidad de un compuesto de la invención que es eficaz para provocar los efectos deseados en un individuo que está tratándose, que se ajusta basándose en el conocimiento y la discreción del médico adjunto y tiene en cuenta factores médicos significativos, tales como la masa corporal del paciente. En particular, una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado de NMB o inversión de NMB. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de los compuestos de la invención es sobrepasado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

50 "Sustancialmente", como se usa el término en el presente documento, significa completamente o casi completamente; por ejemplo, una composición que está "sustancialmente libre" de un componente tanto no tiene ningún componente como contiene una cantidad traza tal que cualquier propiedad funcional relevante de la composición no sea afectada por la presencia de la cantidad traza, o un compuesto es "sustancialmente puro" si solo hay trazas insignificantes de las impurezas presentes.

Expresiones tales como "en condiciones adecuadas para proporcionar" o "en condiciones suficientes para dar", o similares, en el contexto de los métodos de síntesis, como se usan en el presente documento, se refieren a condiciones de reacción, tales como tiempo, temperatura, disolvente, concentraciones de reactante, y similares, que están dentro de los conocimientos básicos para un investigador para variar, que proporcionan una cantidad o rendimiento útil de un producto de reacción. No es necesario que el producto de reacción deseado sea el único producto de reacción o que los materiales de partida sean completamente consumidos, siempre que el producto de reacción deseado pueda aislarse o usarse además de otro modo.

Por "químicamente factible" se indica una disposición de enlace o un compuesto donde no son violadas las reglas generalmente entendidas de estructura orgánica; por ejemplo, una estructura dentro de una definición de una reivindicación que contuviera en ciertas situaciones un átomo de carbono pentavalente que no existe en la naturaleza se entendería que no está dentro de la reivindicación. Las estructuras desveladas en el presente documento, en todas sus realizaciones, pretenden incluir solo estructuras "químicamente factibles", y cualquier estructura citada que no sea químicamente factible, por ejemplo en una estructura mostrada con átomos o grupos variables, no pretende ser desvelada o reivindicada en el presente documento.

Cuando se especifica que un sustituyente es un átomo o átomos de identidad especificada, "o un enlace", una configuración se refiere a cuando el sustituyente es "un enlace" al que los grupos que están inmediatamente adyacentes al sustituyente especificado se conectan directamente entre sí en una configuración de enlace químicamente factible.

Están previstas todas las formas quirales, diaestereoméricas, racémicas de una estructura, a menos que se indique específicamente una forma estereoquímica o isomérica particular. En varios casos, aunque se describe un estereoisómero individual entre los compuestos específicamente reivindicados, la designación estereoquímica no implica que formas isoméricas alternativas sean menos preferidas, no deseadas, o no reivindicadas. Los compuestos usados en la presente invención pueden incluir isómeros ópticos enriquecidos o resueltos en cualquiera o todos los átomos asimétricos como es evidente de las representaciones, a cualquier grado de enriquecimiento. Tanto las mezclas racémicas como diaestereoméricas, además de los isómeros ópticos individuales, pueden aislarse o sintetizarse de manera que estén sustancialmente libres de sus componentes enantioméricos o diaestereoméricos, y estos están todos dentro del alcance de la invención.

Como se usa en el presente documento, los términos "compuesto estable" y "estructura estable" pretenden indicar un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento a un grado de pureza útil de una mezcla de reacción, y formulación en un agente terapéutico eficaz. Solo se contemplan compuestos estables en el presente documento.

Cuando se refiere a un grupo, por ejemplo, un grupo "alquilo", sin ninguna limitación en el número de átomos en el grupo, se entiende que la reivindicación está definida y limitada con respecto al tamaño del grupo alquilo, ambos por definición; es decir, el tamaño (el número de átomos de carbono) poseído por un grupo tal como un grupo alquilo es un número finito, inferior al número total de átomos de carbono en el universo y limitado por el entendimiento del experto en cuanto al tamaño del grupo por ser razonable para una entidad molecular; y por funcionalidad, es decir, el tamaño del grupo tal como el grupo alquilo está limitado por las propiedades funcionales que confiere el grupo a una molécula que contiene el grupo tal como solubilidad en medios líquidos acuosos u orgánicos. Por tanto, una reivindicación que se refiera a un "alquilo" u otro grupo químico o resto está definida y limitada, ya que el número de átomos en el grupo no puede ser infinito.

Los términos "halo" o "halógeno" o "haluro" por sí mismos o como parte de otro sustituyente significan, a menos que se establezca de otro modo, un átomo de flúor, cloro, bromo o de yodo, preferentemente, flúor, cloro o bromo.

El término "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere a un grupo OH.

El término "alcoxi" o "alcoxilo" se refiere a un átomo de oxígeno conectado a un grupo alquilo, que incluye un grupo cicloalquilo, como se ha definido anteriormente. Ejemplos de grupos alcoxi lineales incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentiloxi, hexiloxi, y similares. Ejemplos de alcoxi ramificado incluyen isopropoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, isopentiloxi, isohexiloxi, y similares. Grupos alcoxi a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi de 1-6 o 2-6 átomos de carbono, referidos en el presente documento como alcoxi C<sub>1-6</sub> y alcoxi C<sub>2-6</sub>, respectivamente. Grupos alcoxi a modo de ejemplo incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi, etc.

Un grupo alcoxi puede incluir de uno a aproximadamente 12-20 átomos de carbono unidos al átomo de oxígeno, y puede incluir además dobles o triples enlaces, y también puede incluir heteroátomos. Por ejemplo, un grupo aliloxi es un grupo alcoxi dentro del significado en el presente documento. Un grupo metoxietoxi también es un grupo alcoxi dentro del significado en el presente documento, ya que es un grupo metilendioxi en un contexto donde dos átomos adyacentes de una estructura están sustituidos con él.

Un grupo "acilo", como el término se usa en el presente documento, se refiere a un grupo que contiene un resto carbonilo en el que el grupo está unido mediante el átomo de carbono del carbonilo. El átomo de carbono del carbonilo también está unido a otro átomo de carbono, que puede ser parte de un grupo alquilo, arilo, aralquilcicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclilo, heterociclialquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o similares. En el

caso especial en el que el átomo de carbono de carbonilo esté unido a un hidrógeno, el grupo es un grupo "formilo", un grupo acilo como el término se define en el presente documento. Un grupo acilo puede incluir 0 a aproximadamente 12-20 átomos de carbono adicionales unidos al grupo carbonilo. Una acilamina es una amida; un grupo hidroxilo acilado es un éster, etc.

5 Una "sal", como es muy conocido en la técnica, incluye un compuesto orgánico tal como un ácido carboxílico, un ácido sulfónico, o una amina, en forma iónica, en combinación con un contraión. Por ejemplo, ácidos en su forma aniónica pueden formar sales con cationes tales como cationes metálicos, por ejemplo sodio, potasio, y similares; con sales de amonio tales como  $\text{NH}_4^+$  o los cationes de diversas aminas, que incluyen sales de tetraalquilamonio tales como tetrametilamonio, u otros cationes, tales como trimetilsulfonio, y similares. Una sal "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable" es una sal formada a partir de un ión que ha sido autorizado para consumo humano y es generalmente no tóxica, tal como una sal de cloruro o una sal de sodio. Un "ión bipolar" es una sal interna tal como puede formarse en una molécula que tiene al menos dos grupos ionizables, uno que forma un anión y el otro un catión, que sirven para equilibrarse entre sí. Por ejemplo, aminoácidos tales como glicina pueden existir en una forma de ión bipolar. Un "ión bipolar" es una sal dentro del significado en el presente documento. Los compuestos de la presente invención pueden tomar la forma de sales. El término "sales" engloba sales de adición de ácidos libres o bases libres que son compuestos de la invención.

Las sales pueden ser "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que poseen perfiles de toxicidad dentro de un intervalo que proporciona utilidad en aplicaciones farmacéuticas. Las sales farmacéuticamente inaceptables pueden, sin embargo, poseer propiedades tales como alta cristalinidad, que tienen utilidad en la práctica de la presente invención, tales como, por ejemplo, utilidad en el proceso de síntesis, purificación o formulación de compuestos de la invención. "Farmacéuticamente o farmacológicamente aceptable" incluyen entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra inadecuada cuando se administran a un animal, o un ser humano, según convenga. Para administración humana, las preparaciones deben cumplir esterilidad, pirogenicidad, y seguridad general y patrones de pureza según se requiera por la Oficina de Patrones Biológicos de la FDA.

Pueden prepararse sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Ejemplos de ácidos inorgánicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Pueden seleccionarse ácidos orgánicos apropiados de clases alifáticas, cicloalifáticas, aromáticas, aralifáticas, heterocíclicas, carboxílicas y sulfónicas de ácidos orgánicos, ejemplos de los cuales incluyen ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, trifluorometanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, p-toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algínico,  $\beta$ -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente no aceptables incluyen, por ejemplo, percloratos y tetrafluoroboratos.

Además, donde características o aspectos de la invención se describen en términos de grupos de Markush, aquellos expertos en la materia reconocerán que la invención también se describe así en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush. Por ejemplo, si X se describe como seleccionado del grupo que consiste en bromo, cloro y yodo, están completamente descritas reivindicaciones para X que es bromo y reivindicaciones para X que es bromo y cloro. Además, donde se describen características o aspectos de la invención en términos de grupos de Markush, aquellos expertos en la materia reconocerán que la invención también se describe así en términos de cualquier combinación de miembros individuales o subgrupos de miembros de grupos de Markush. Así, por ejemplo, si X se describe como seleccionado del grupo que consiste en bromo, cloro y yodo, e Y se describe como seleccionado del grupo que consiste en metilo, etilo y propilo, están completamente descritas reivindicaciones para X que es bromo e Y que es metilo.

Si un valor de una variable que es necesariamente un número entero, por ejemplo, el número de átomos de carbono en un grupo alquilo o el número de sustituyentes en un anillo, se describe como un intervalo, por ejemplo, 0-4, lo que se indica es que el valor puede ser cualquier número entero entre 0 y 4, ambos incluidos, es decir, 0, 1, 2, 3 o 4.

Pueden aplicarse condiciones a cualquiera de las categorías o realizaciones desveladas en las que una cualquiera o más de las otras realizaciones o especies anteriormente desveladas pueden excluirse de tales categorías o realizaciones.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse de varias formas basándose en las enseñanzas contenidas en el presente documento y los procedimientos de síntesis conocidos en la técnica. En la descripción de los métodos sintéticos descritos más adelante, debe entenderse que todas las condiciones de reacción propuestas, que incluyen elección de disolvente, atmósfera de reacción, temperatura de reacción, duración del experimento y procedimientos de procesamiento, pueden elegirse para ser las condiciones estándar para aquella reacción, a menos que se indique lo contrario. Se entiende por un experto en la materia de la síntesis orgánica que la funcionalidad presente en diversas porciones de la molécula debe ser compatible con los reactivos y reacciones propuestos. Sustituyentes no compatibles con las condiciones de reacción serán evidentes para un experto en la materia, y, por tanto, se indican métodos alternativos. Los materiales de partida para los ejemplos están tanto

comercialmente disponibles como se preparan fácilmente por métodos convencionales a partir de materiales conocidos. Todos los productos químicos comercialmente disponibles se obtuvieron de Aldrich, Alfa Aesar, Wako, Acros, Fisher, Fluka, Maybridge o similares y se usaron sin más purificación, excepto donde se indique. Se obtienen disolventes secos, por ejemplo, pasando éstos a través de columnas de alúmina activada.

- 5 La presente invención engloba además compuestos aislados de la invención. La expresión "compuesto aislado" se refiere a una preparación de un compuesto de la invención, o una mezcla de compuestos de la invención, en la que el compuesto aislado se ha separado de los reactivos usados, y/o subproductos formados, en la síntesis del compuesto o compuestos. "Aislado" no significa que la preparación sea técnicamente pura (homogénea), sino que es suficientemente pura para el compuesto en una forma en la que puede usarse terapéuticamente.
- 10 Preferentemente, un "compuesto aislado" se refiere a una preparación de un compuesto de la invención o una mezcla de compuestos de la invención, que contiene el compuesto nombrado o mezcla de compuestos de la invención en una cantidad de al menos el 10 por ciento en peso del peso total. Preferentemente, la preparación contiene el compuesto nombrado o mezcla de compuestos en una cantidad de al menos el 50 por ciento en peso del peso total; más preferentemente al menos el 80 por ciento en peso del peso total; y lo más preferentemente al menos el 90 por ciento, al menos el 95 por ciento o al menos el 98 por ciento en peso del peso total de la preparación.

Los compuestos de la invención y productos intermedios pueden aislarse de sus mezclas de reacción y purificarse por técnicas convencionales tales como filtración, extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida, destilación, recristalización o cromatografía, que incluye cromatografía ultrarrápida, o HPLC.

## 20 *Isomería óptica*

Se entenderá que cuando los compuestos de la presente invención contienen uno o más centros quirales, los compuestos pueden existir en, y pueden aislarse como, formas enantioméricas o diaestereoméricas individuales y sustancialmente puras o como mezclas racémicas. Por tanto, la presente invención incluye cualquier enantiómero, diaestereómero, racemato o mezcla posible de los mismos de los compuestos de la invención.

- 25 Los compuestos de la invención, o compuestos usados en poner en práctica los métodos de la invención, pueden contener uno o más centros quirales y, por tanto, existir como estereoisómeros. El término "estereoisómeros", cuando se usa en el presente documento, consiste en todos los enantiómeros o diaestereómeros. Estos compuestos pueden designarse por los símbolos "(+)", "(-)", "R" o "S," dependiendo de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono estereogénico, pero el experto reconocerá que una estructura puede indicar un centro quiral implícitamente. La presente invención engloba diversos estereoisómeros de estos compuestos y mezclas de los mismos. Mezclas de enantiómeros o diaestereómeros pueden designarse "(±)" en la nomenclatura, pero el experto reconocerá que una estructura puede indicar un centro quiral implícitamente.

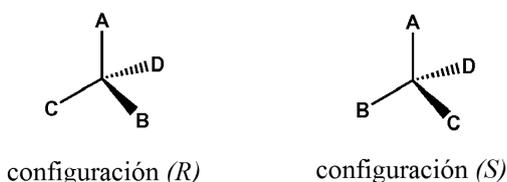
- Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más dobles enlaces y, por tanto, existir como isómeros geométricos resultantes de la disposición de sustituyentes alrededor de un doble enlace carbono-carbono.
- 35 Sustituyentes alrededor de un doble enlace carbono-carbono se designan como que están en la configuración "Z" o "E" en la que los términos "Z" y "E" se usan según patrones de la IUPAC. A menos que se especifique de otro modo, estructuras que representan dobles enlaces engloban tanto los isómeros "E" como "Z". Sustituyentes alrededor de un doble enlace carbono-carbono pueden denominarse alternativamente "*cis*" o "*trans*," donde "*cis*" representa sustituyentes en el mismo lado del doble enlace y "*trans*" representa sustituyentes en lados opuestos del doble enlace.
- 40 En los compuestos de maleato de la invención, el doble enlace central lleva grupos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> de fórmula (I) como se describe y reivindica en el presente documento en una orientación *cis*. En compuestos de fumarato y clorofumarato de la invención, el doble enlace central lleva grupos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> en una configuración *trans*.

- Los compuestos de la invención, o compuestos usados en la práctica de los métodos de la invención, pueden contener un anillo carbocíclico o heterocíclico y, por tanto, existir como isómeros geométricos resultantes de la disposición de sustituyentes alrededor del anillo. Se designa que la disposición de sustituyentes alrededor de un anillo carbocíclico o heterocíclico está en la configuración "Z" o "E" en la que los términos "Z" y "E" se usan según las normas de la IUPAC. A menos que se especifique de otro modo, las estructuras que representan anillos carbocíclicos o heterocíclicos engloban tanto los isómeros "Z" como "E". Sustituyentes alrededor de un anillo carbocíclico o heterocíclico también pueden denominarse "*cis*" o "*trans*", donde el término "*cis*" representa sustituyentes en el mismo lado del plano del anillo y el término "*trans*" representa sustituyentes en lados opuestos del plano del anillo. Mezclas de compuestos en los que los sustituyentes están dispuestos en tanto los mismos lados como en opuestos del plano del anillo se designan "mezclas *cis/trans*". Por ejemplo, en los compuestos de fórmula (IR), o de fórmula (IS), los grupos "T" y "W" están en la orientación *cis* entre sí. En los compuestos de fórmula (I), los grupos "T" y "W" pueden estar en una orientación *cis* o *trans* entre sí.

- 55 Pueden prepararse sintéticamente enantiómeros y diaestereómeros individuales de los compuestos contemplados a partir de materiales de partida comercialmente disponibles que contienen centros asimétricos o estereogénicos, o por preparación de mezclas racémicas, seguido de métodos de resolución muy conocidos para aquellos expertos habituales en la materia. Estos métodos de resolución se ejemplifican por (1) unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, separación de la mezcla resultante de diaestereómeros por recristalización o cromatografía y

liberación del producto ópticamente puro del auxiliar, (2) formación de sal empleando un agente de resolución ópticamente activo, (3) separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas de cromatografía de líquidos quirales o (4) resolución cinética usando reactivos químicos o enzimáticos estereoselectivos. También pueden resolverse mezclas racémicas en sus enantiómeros componentes por métodos muy conocidos, tales como cromatografía de líquidos de fase quiral o cristalizando el compuesto en un disolvente quiral. Son muy conocidos en la técnica síntesis estereoselectivas, una reacción química o enzimática en la que un único reactante forma una mezcla desigual de estereoisómeros durante la creación de un nuevo estereocentro o durante la transformación de uno preexistente. Las síntesis estereoselectivas engloban tanto transformaciones enantio- como diaestereoselectivas, y pueden implicar el uso de auxiliares quirales. Por ejemplos, véase Carreira y Kvaerno, Classics in Stereoselective Synthesis, Wiley-VCH: Weinheim, 2009.

Los isómeros resultantes de la presencia de un centro quiral comprenden un par de isómeros no superponibles que se llaman "enantiómeros". Enantiómeros individuales de un compuesto puro son ópticamente activos, es decir, son capaces de girar el plano de la luz polarizada del plano. Los enantiómeros individuales se designan según el sistema de *Cahn-Ingold-Prelog*. La prioridad de sustituyentes se clasifica basándose en los pesos atómicos, un peso atómico más alto, como se ha determinado por el procedimiento sistemático, que tiene una clasificación de prioridad más alta. Una vez se determina la clasificación de prioridad de los cuatro grupos, la molécula se orienta de manera que el grupo de clasificación más bajo indique lejos del espectador. Entonces, si el orden de clasificación descendente de los otros grupos avanza en el sentido de las agujas del reloj, se designa que la molécula tiene una configuración absoluta (R), y si la clasificación descendente de los otros grupos avanza en contra de las agujas del reloj, se designa que la molécula tiene una configuración absoluta (S). En el ejemplo en el esquema a continuación, la clasificación de *Cahn-Ingold-Prelog* es  $A > B > C > D$ . El átomo de clasificación más bajo, D está orientado lejos del espectador.



Un átomo de carbono que lleva los átomos A-D como se muestra anteriormente se conoce como un átomo de carbono "quiral", y la posición de un átomo de carbono tal en una molécula se llama un "centro quiral".

La presente invención pretende englobar diaestereómeros, además de sus formas diaestereoméricamente y enantioméricamente puras racémicas y resueltas, y sales de las mismas. Pares diaestereoméricos pueden resolverse por técnicas de separación conocidas que incluyen cromatografía normal y de fase inversa, y cristalización.

"Isómero óptico aislado" o "enantiómero aislado" significa un compuesto que ha sido sustancialmente purificado del (de los) isómero(s) óptico(s) correspondiente(s) de la misma fórmula. Preferentemente, el isómero aislado es al menos el 80 %, más preferentemente al menos el 90 % enantioméricamente puro, incluso más preferentemente al menos el 98 % enantioméricamente puro, lo más preferentemente al menos el 99 % enantioméricamente puro, en peso. Por "pureza enantiomérica" se indica el porcentaje del enantiómero predominante en una mezcla enantiomérica de isómeros ópticos de un compuesto. Un enantiómero puro individual tiene una pureza enantiomérica del 100 %.

Los isómeros ópticos aislados pueden purificarse a partir de mezclas racémicas por técnicas de separación quiral muy conocidas. Según un método tal, una mezcla racémica de un compuesto de la invención, o un producto intermedio quiral del mismo, se separa en el 99 % en peso de isómeros ópticos puros por HPLC usando una columna quiral adecuada, tal como un miembro de la serie de la familia DAICEL® CHIRALPAK® de columnas (Daicel Chemical Industries, Ltd., Tokio, Japón). La columna opera según las instrucciones del fabricante.

Otro método muy conocido de obtención de isómeros ópticos separados y sustancialmente puros es la resolución clásica, por la que un compuesto racémico quiral que contiene un grupo funcional ionizado, tal como un grupo amina o carboxilato protonado, forma sales diaestereoméricas con un aditivo no racémico quiral opuestamente ionizado. Las formas de sal diaestereoméricas resultantes pueden entonces separarse por medios físicos estándar, tales como solubilidad diferencial, y entonces el aditivo no racémico quiral puede ser tanto eliminado como intercambiarse con un contraión alternativo por medios químicos estándar, o alternativamente la forma de sal diaestereomérica puede retenerse como una sal que va a usarse como agente terapéutico o como precursor de un agente terapéutico.

#### Visión general

Los compuestos de la presente invención como se especifica en la reivindicación 1 son estructuralmente novedosos porque son diésteres biscuaternarios de ácidos clorofumárico, fumárico o maleico donde los grupos cuaternarios son muy diferentes, creando una molécula altamente asimétrica donde un resto cuaternario incluye un sistema de anillos de isoquinolinio, opcionalmente sustituido con grupos que contienen oxígeno tales como hidroxilo, metoxilo,

metilendioxi y etilendioxi, y el otro resto cuaternario incluye un sistema de morfolinio, piperidinio, piperazinio o pirrolidinio que está dispuesto adyacente a un grupo bencilo, que puede estar sustituido con grupos que contienen oxígeno tales como hidroxilo, metoxilo, metilendioxi y etilendioxi.

5 La novedosa estructura de diéster asimétrica se basa en un ácido fumárico, clorofumárico o maleico olefínico central y puede conferir propiedades únicas a los compuestos, tales como la duración de la acción, y la reversibilidad del bloqueo neuromuscular en un paciente por administración al paciente de un compuesto tal como cisteína u otra molécula que contiene azufre que pueda reaccionar con el doble enlace del grupo de diéster clorofumárico, fumárico o maleico que une los dos restos cuaternarios. Aunque no se desea quedar ligado a teoría, se cree que la adición de un aminoácido tal como cisteína al doble enlace reactivo del diéster biscuaternario sirve para aumentar enormemente la hidrofilia y la eliminación del agente bloqueante neuromuscular, mientras que reduce su potencia en el receptor.

Los agentes bloqueantes neuromusculares (NMBA) de la invención pueden incluir las siguientes características estructurales específicas individuales:

(1) Duración ultra-corta o corta (< 10 min o 10-15 min a la dosificación DE95 en monos).

15 (2) Duración intermedia (15-25 min en monos).

(3) Ataque de cisteína en el doble enlace central, dando un aducto inactivo que entonces se somete a hidrólisis alcalina espontánea dando fragmentos que también son inactivos y fácilmente solubles en agua, y por tanto fácilmente eliminables en la orina. Esta forma de inversión es única entre los NMBA debido a que la cisteína convierte la molécula activa en productos de degradación inactivos en una reacción química que no requiere catalizador orgánico (sistema enzimático) y ningún órgano de eliminación tal como el hígado o el riñón. Como resultado, la función normal vuelve en el plazo de 2-3 min desde la administración de la cisteína.

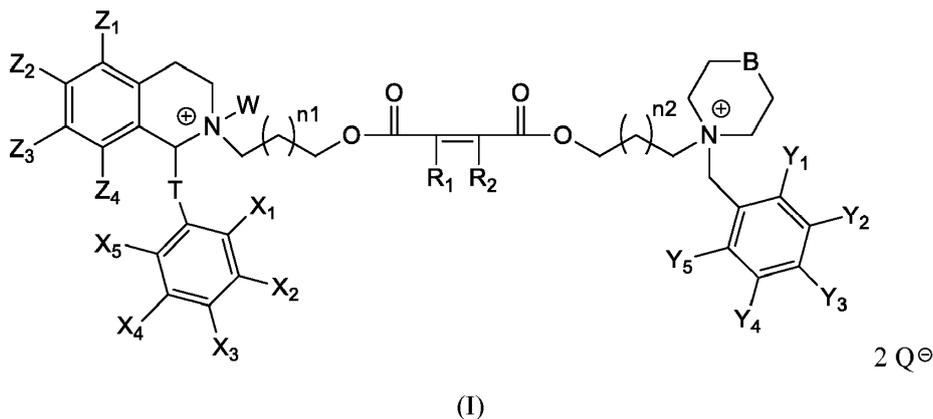
(4) La duración *in vivo* se correlaciona con la tasa de ataque de la cisteína *in vitro*.

25 (5) Se logra una reducción significativa del efecto secundario de las respuestas circulatorias sugerente de liberación de histamina en especialmente los compuestos de diéster de isoquinolinio/morfolinio mixtos.

(6) Puede lograrse el antagonismo rápido y completo del bloqueo neuromuscular en el plazo de 2-3 min en cualquier momento por tanto D- como L-cisteína administrada i.v., incluso tras una gran dosis de NMBA de 4-Sx DE95.

#### Compuestos de la invención

30 La invención proporciona un agente bloqueante neuromuscular de fórmula (I)



en la que cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> está seleccionado independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y halógeno, y R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden estar dispuestos en una configuración *cis* o *trans* en los dos átomos de carbono de doble enlace a los que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> están respectivamente unidos;

35 T está seleccionado del grupo que consiste en CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>, en la que si T es CH<sub>3</sub>, el grupo fenilo con los sustituyentes X<sub>1</sub> - X<sub>5</sub> no está presente;

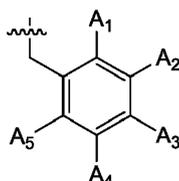
B está seleccionado del grupo que consiste en CH<sub>2</sub>, O, NR, y un enlace sencillo directo, en la que R es H, alquilo (C<sub>1-6</sub>) o acilo (C<sub>1-6</sub>);

n<sub>1</sub> y n<sub>2</sub> son cada uno independientemente igual a 0, 1, 2 o 3;

cada uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> y X<sub>5</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> o X<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi; cada uno de Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> y Y<sub>5</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> o Y<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

- 5 cada uno de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> y Z<sub>4</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> o Z<sub>4</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

W está seleccionado del grupo que consiste en metilo y un grupo bencilo de fórmula:



- 10 en la que cada uno de A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>5</sub> es, independientemente en cada aparición, hidrógeno o metoxi, o dos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> o A<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi, y una línea ondulada indica un punto de enlace; y,

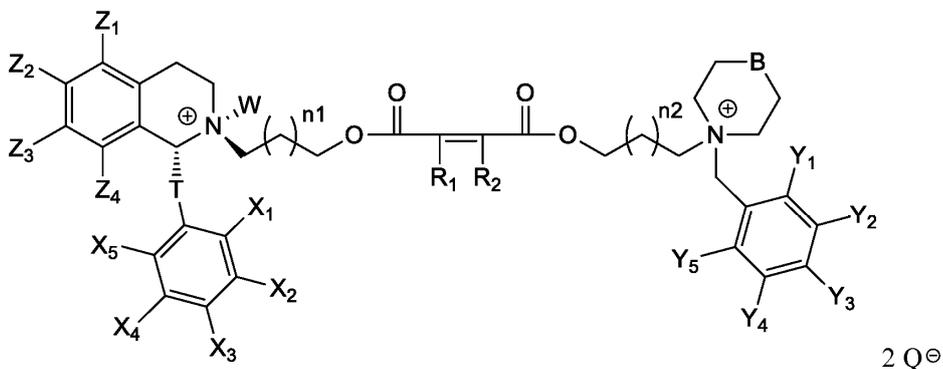
en la que cada Q<sup>⊖</sup> es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado.

- 15 El NMBA de fórmula (I) posee en su estructura central dos centros quirales dispuestos adyacentes entre sí en el resto cuaternario de isoquinolinio, es decir, el grupo T que lleva el átomo de carbono y el grupo W que lleva amonio cuaternarizado. Por consiguiente, el grupo T y el grupo W pueden estar dispuestos en una configuración *cis* o *trans* con respecto al anillo del resto de isoquinolinio que los lleva. Por ejemplo, el grupo T y el grupo W pueden estar dispuestos en una configuración de anillo en *cis*, es decir, dispuestos en el mismo lado del anillo, mientras que el grupo que se une a los grupos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> que llevan el resto de diéster insaturado.

- 20 Los grupos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> están seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno y halógeno, y la disposición de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> alrededor del doble enlace de los átomos de carbono que llevan respectivamente los grupos R<sub>1</sub>/R<sub>2</sub> pueden estar en *cis* o *trans*. Por consiguiente, la invención proporciona diésteres bis-cuaternarios que incluyen maleatos, halomaleatos, dihalomaleatos, fumaratos, halofumaratos y dihalofumaratos. Un ejemplo de un diéster halogenado es un diéster bis-cuaternario de clorofumarato.

- 25 Cada uno de los dos diaestereómeros de fórmula (I) posee él mismo dos posibles formas enantioméricas; para el diaestereómero en el que el grupo T y el grupo W están en la configuración *cis* del anillo (es decir, grupo T y el conector al grupo éster están en la configuración *trans* del anillo), estos dos enantiómeros se muestran como las fórmulas (IR) y (IS), a continuación. Las designaciones (R) y (S) se aplican basándose en la configuración absoluta del grupo T que lleva el átomo de carbono. La configuración absoluta diseñada del grupo W que lleva el átomo de nitrógeno del amonio puede variar dependiendo de la identidad de grupo W en las reglas de CIP tratadas anteriormente, pero en la fórmula (IR), que tiene una configuración absoluta (R) en el grupo T que lleva el átomo de carbono, y en la fórmula (IS) que tiene una configuración absoluta (S) en el grupo T que lleva el átomo de carbono, el grupo W está dispuesto en una configuración *cis* de anillo con respecto a T, mientras que la cadena de unión al resto de diéster insaturado central es *trans* del anillo con respecto a T.

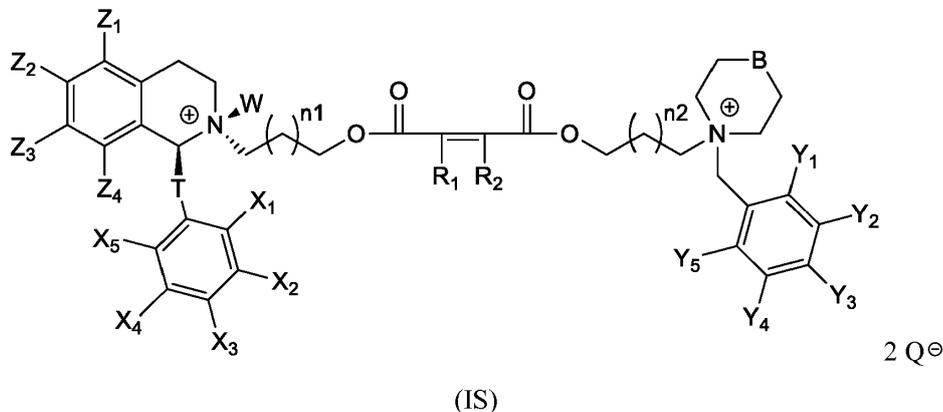
- 35 Por consiguiente, la invención proporciona, en realizaciones particulares, un agente bloqueante neuromuscular como se especifica en la reivindicación 1 que tiene la fórmula (IR)



(IR)

en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ ,  $Y_4$ ,  $Y_5$ ,  $Z_1$ ,  $Z_2$ ,  $Z_3$ ,  $Z_4$ ,  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$ ,  $W$ ,  $B$ ,  $Q^\ominus$  y  $T$  son como se han definido anteriormente para la fórmula (I).

La invención también proporciona la forma enantiomérica de fórmula (IR), es decir, un agente bloqueante neuromuscular de fórmula (IS)



5

en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ ,  $Y_4$ ,  $Y_5$ ,  $Z_1$ ,  $Z_2$ ,  $Z_3$ ,  $Z_4$ ,  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$ ,  $W$ ,  $B$ ,  $Q^\ominus$  y  $T$  son como se han definido anteriormente para la fórmula (I).

10

En todas las fórmulas (I), (IR) y (IS), las dos cargas eléctricas positivas del NMBA bis-cuaternario están equilibradas por dos cargas aniónicas, que pueden estar comprendidas por un único anión múltiplemente cargado (por ejemplo, sulfato, fosfato), o por dos aniones individualmente cargados (por ejemplo, haluro, tal como cloruro). Cada  $Q^\ominus$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado en las composiciones anteriores de materia.

15

Cada uno de los anillos que llevan grupos  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$ , u (opcionalmente)  $A$ , puede ser un anillo sustituido como se ha definido anteriormente. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la invención proporciona un agente bloqueante neuromuscular de la invención en el que al menos uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  o  $X_5$  no es hidrógeno; o al menos uno de  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ ,  $Y_4$  o  $Y_5$  no es hidrógeno; o al menos uno de  $Z_1$ ,  $Z_2$ ,  $Z_3$  o  $Z_4$  no es hidrógeno; o al menos uno de  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$  o  $A_5$  no es hidrógeno; o cualquier combinación de los mismos. Como se observa en los ejemplos específicos, más adelante, los anillos pueden estar sustituidos en cualquier posición disponible, y están frecuentemente sustituidos en la posición 4 o disustituidos en las posiciones 3,4 de los grupos fenilo, y en la posición 6,7 del grupo isoquinolinio.

20

En otras realizaciones, la invención puede proporcionar un NMBA de la invención en el que  $X_2$  y  $X_3$  son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o  $Y_2$  y  $Y_3$  son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o  $Z_2$  y  $Z_3$  son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o cualquier combinación de los mismos.

25

Más específicamente, la invención puede proporcionar un agente bloqueante neuromuscular de la invención en el que  $T$  es  $CH_2$  y el anillo de fenilo que lleva  $X_1 - X_5$  está presente. El término "compuesto de la invención", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto de fórmula (I), en cualquiera de sus realizaciones, o a un compuesto a modo de ejemplo, como se desvela y se reivindica en el presente documento.

30

Con respecto al resto cuaternario que incluye un sistema de morfolinio ( $B$  es oxígeno), piperidinio ( $B$  es  $CH_2$ ), piperazinio ( $B$  es  $NR$ ) o pirrolidinio ( $B$  es un enlace sencillo directo) que está dispuesto adyacente a un grupo bencilo, es decir, que comprende el grupo  $B$ , un centro cuaternario está permanentemente presente debido a la presencia del átomo de nitrógeno cuaternarizado en la cadena que conecta el anillo de fenilo sustituido con  $Y$  con el grupo diéster insaturado central. En diversas realizaciones,  $B$  puede ser un átomo de oxígeno (serie de morfolinio). En otras realizaciones,  $B$  puede ser un enlace sencillo directo (serie de pirrolidinio).

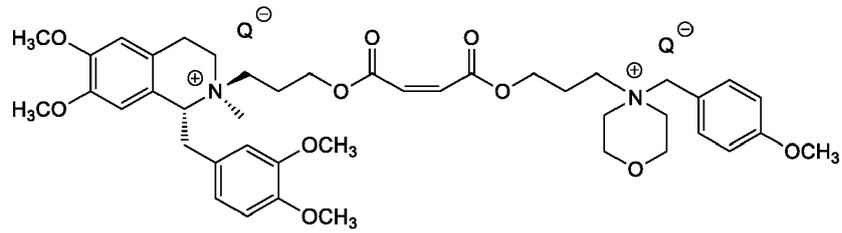
35

Las dos cadenas de enlace que unen cada uno de los dos restos cuaternarios contienen cada una al menos dos átomos de carbono y un átomo de oxígeno que forma un enlace de éster con el clorofumarato central, maleato, etc. Uno de los átomos de carbono de cada conector está unido directamente al átomo de nitrógeno cuaternario, es decir, del grupo isoquinolinio en un resto cuaternario y del anillo que comprende el grupo  $B$  en el otro resto cuaternario. Por ejemplo, cuando cada variable  $n_1$  y  $n_2$  es igual a 1, cada conector comprende tres átomos de carbono del esqueleto que conectan el átomo de nitrógeno cuaternario respectivo al átomo de oxígeno del éster respectivo. En otras realizaciones, están contenidos dos, cuatro o cinco átomos del esqueleto por cada grupo de conector.

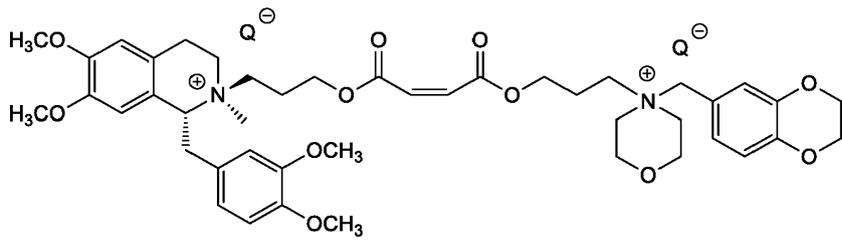
40

La invención proporciona, en realizaciones particulares adicionales, un éster de maleato, es decir, cuando los grupos  $R_1$  y  $R_2$  están dispuestos en una configuración *cis*, y  $R_1$  y  $R_2$  son ambos hidrógeno. Por ejemplo, un NMBA de la invención que comprende un éster de maleato puede seleccionarse del grupo que consiste en:

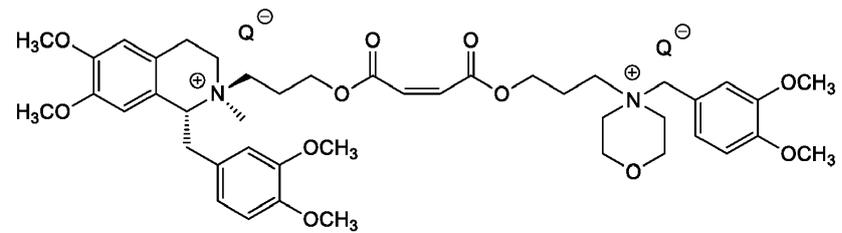
Maleatos de morfolinio



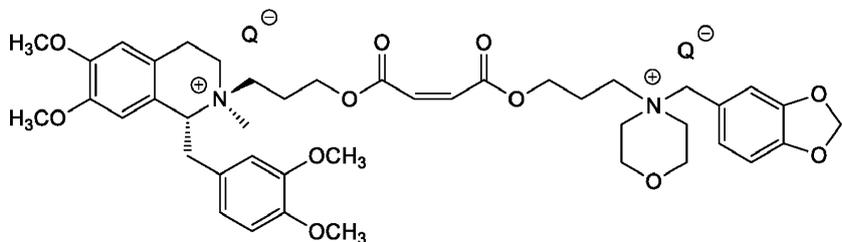
(1521-83, 1566-07),



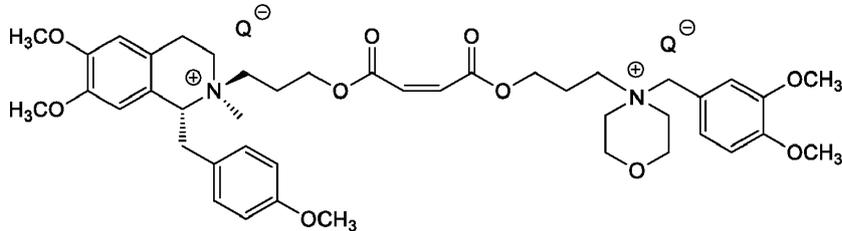
(1521-78, 1566-14),



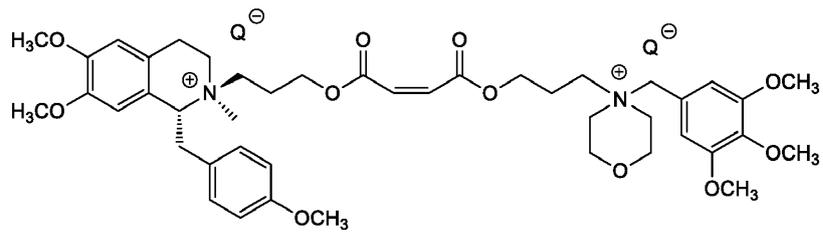
(1521-34, 1521-54),



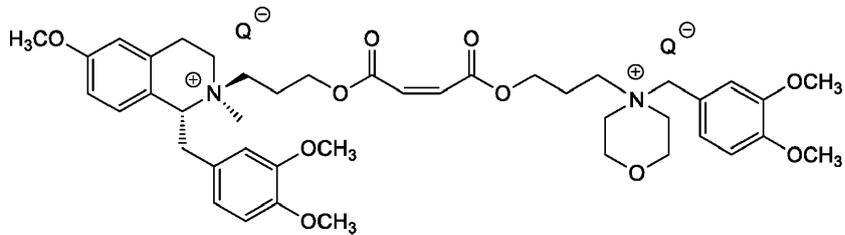
(1521-08, 1521-20, 1521-57),



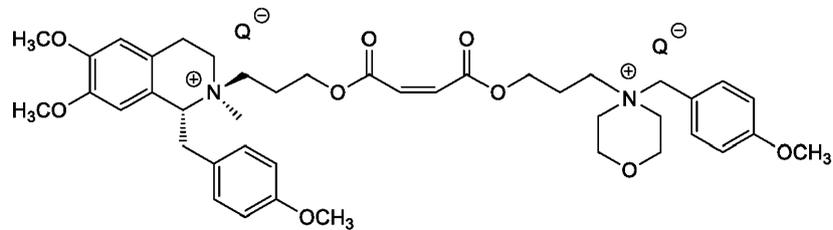
(1726-01, 1759-50),



(1759-58),

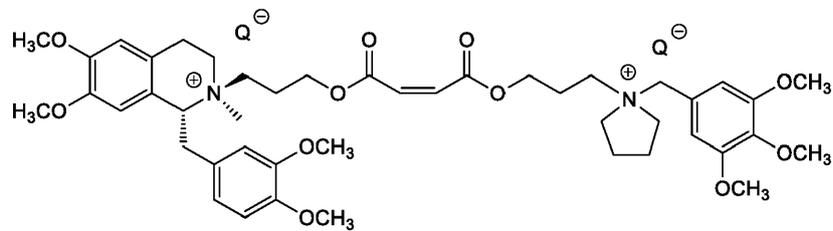


(1759-85),

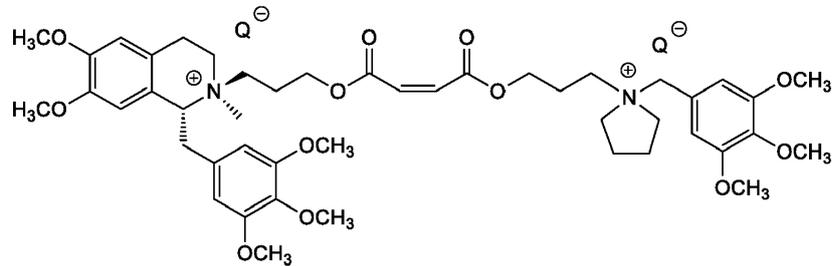


(1625-05).

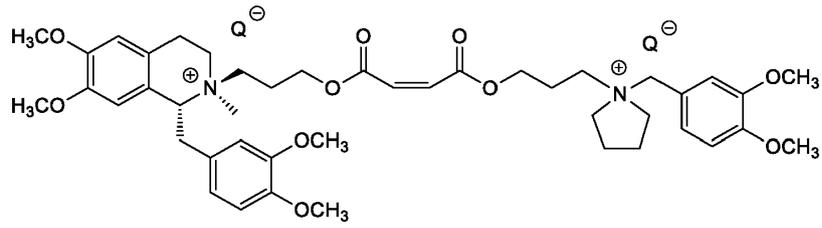
*Maleatos de pirrolidinio*



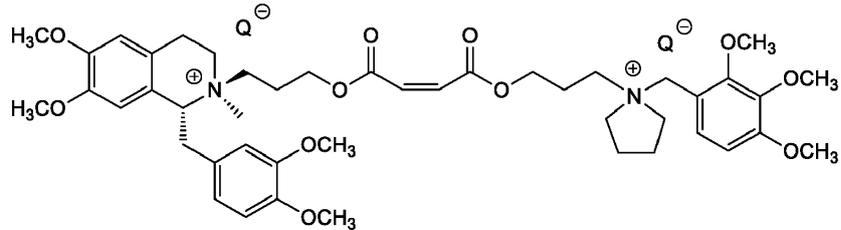
(1343-13, 1343-47),



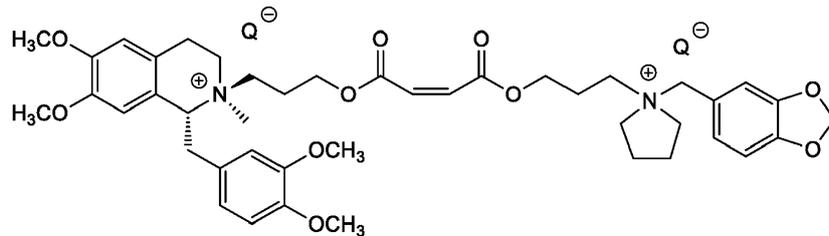
(1343-29),



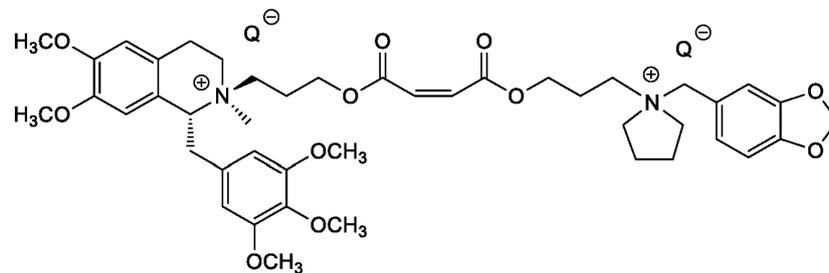
(1390-80),



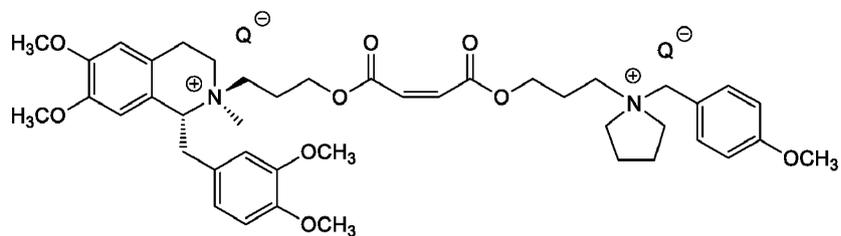
(1449-35),



(1449-68),



(1449-81), y

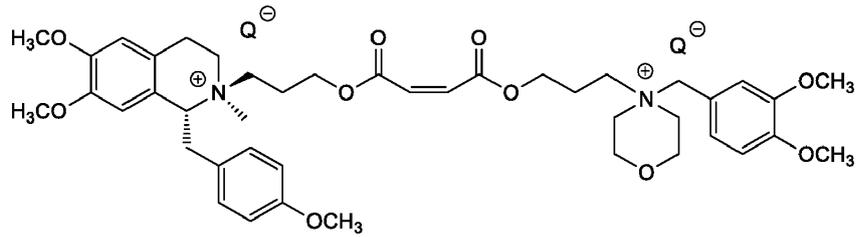


(1521-28),

5

en las que cada  $Q^{\ominus}$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado, por ejemplo, cloruro. Los números de índice asociados a cada estructura son números de lotes; es decir, una única estructura química puede tener múltiples números de lote sinónimos.

10 Se proporciona un éster de maleato con propiedades biológicas particularmente favorables, que comprende un agente bloqueante neuromuscular de fórmula

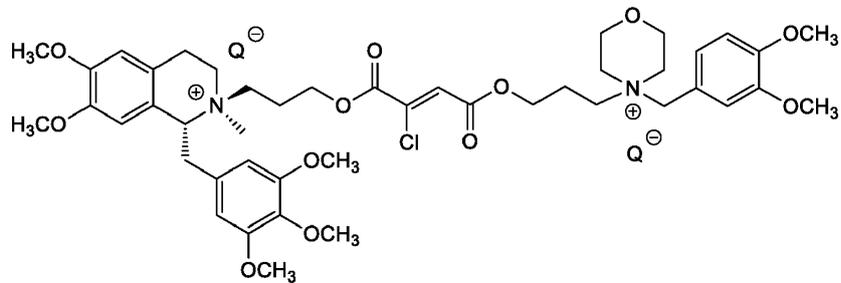


(1726-01, 1759-50),

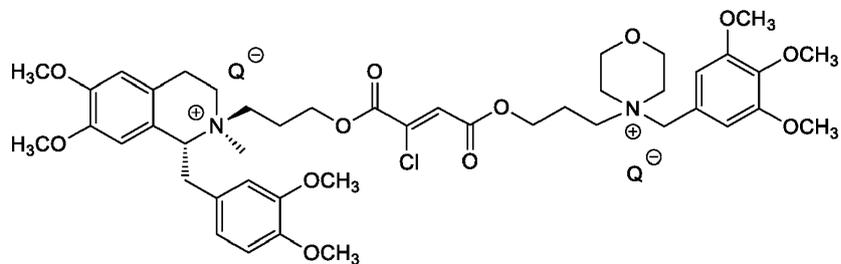
en la que cada  $Q^{\ominus}$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado, por ejemplo, cloruro, y se trata en mayor detalle más adelante.

- 5 La invención proporciona, en realizaciones particulares aún adicionales, un éster de clorofumarato, es decir, cuando los grupos  $R^1$  y  $R^2$  están dispuestos en una configuración *trans*, y, en una realización,  $R^1$  es cloro y  $R^2$  es hidrógeno. Es evidente que también se proporciona una serie isomérica de clorofumaratos, en la que  $R^1$  es hidrógeno y  $R^2$  es cloro, que puede tener los mismos patrones de sustitución en cuanto a ésteres de clorofumarato a modo de ejemplo.

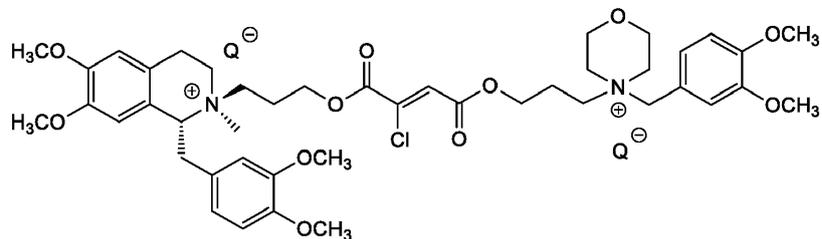
*Clorofumaratos: Morfolinio*



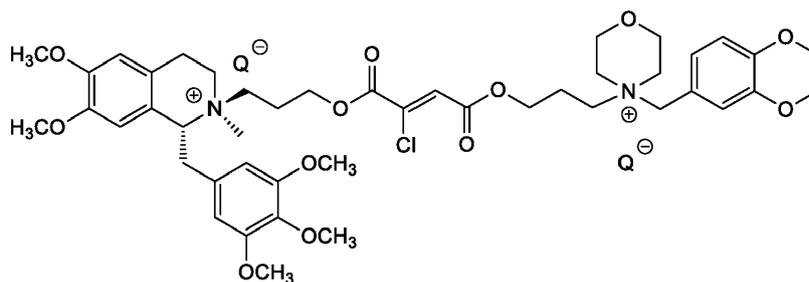
(1566-01),



(1566-22),

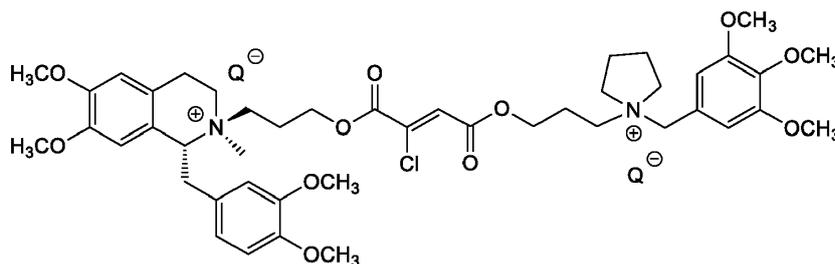


(1521-74),

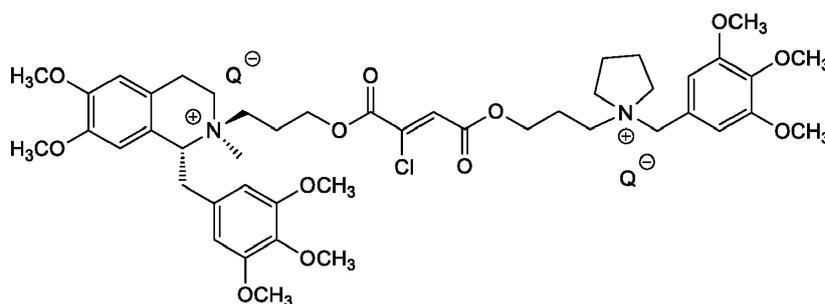


(1598-46),

*Clorofumaratos: Pirrolidinio*



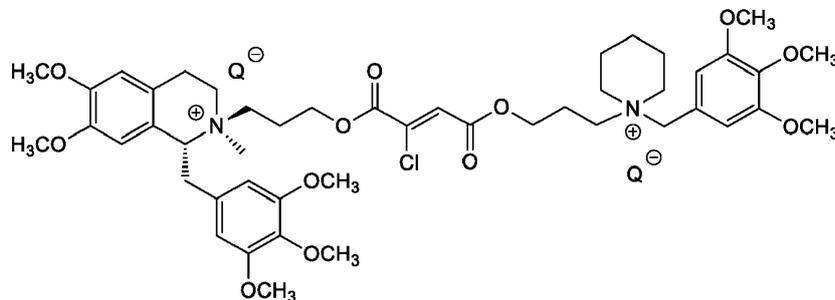
(1326-72), y



(1326-69),

- 5 en las que cada  $Q^{\ominus}$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado, por ejemplo, cloruro. Otra vez, los identificadores asociados son números de lote, y una estructura puede tener múltiples números de lote sinónimos asignados como identificadores.

*Clorofumaratos: Piperidinio*



(1343-05)

- 10 Así, en realizaciones particulares aún adicionales, la invención proporciona un compuesto de NMBA, en el que el compuesto produce, tras la administración de una cantidad eficaz del compuesto a un paciente, un bloqueo neuromuscular. Como se trata adicionalmente más adelante, la cantidad eficaz de NMBA puede ser 0,01-10 mg por kg de peso corporal del paciente, o 0,1-1 mg por kg de peso corporal del paciente.

Además, la invención proporciona, en realizaciones particulares aún adicionales, un compuesto de NMBA, en el que el bloqueo neuromuscular es reversible por administración al paciente de una cantidad eficaz de un compuesto de tior; por ejemplo, en el que el compuesto de tior es L-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, D-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

#### **Métodos de síntesis**

Los compuestos de la invención pueden ser preparados por el experto habitual usando los procedimientos desvelados más adelante conjuntamente con el conocimiento habitual de un químico orgánico sintético. Como los compuestos de la invención son asimétricos alrededor del resto de diéster insaturado central, es decir, maleato, fumarato, y similares, los compuestos de la invención se preparan fácilmente de una manera escalonada, acoplado el resto cuaternario de isoquinolinio y el segundo resto cuaternario que lleva el anillo cíclico de morfolinio, piperidinio, piperazinio o pirrolidinio en etapas separadas al diácido insaturado para dar los compuestos de diéster bis-cuaternarios asimétricos producto de la invención.

También se hace referencia a la solicitud de patente PCT/US2010/000796, publicada como WO2010/107488; véanse, por ejemplo, las páginas 47-55, en las que se desvelan los métodos de preparación de muchos productos intermedios relacionados.

Las siguientes abreviaturas se usan en todo este documento.

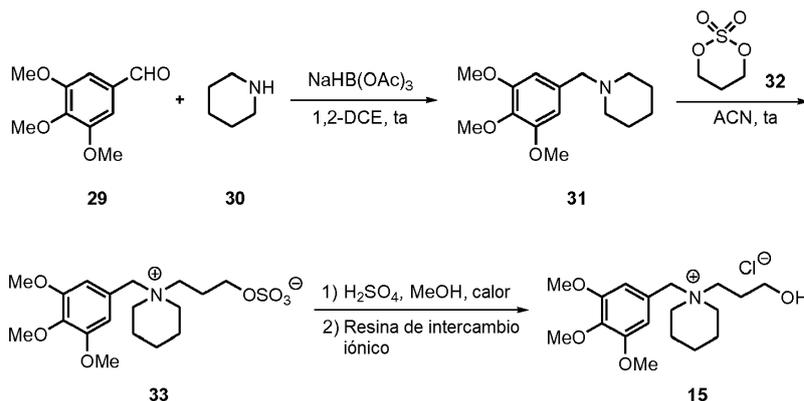
	ACN	Acetonitrilo
	DCE	Dicloroetano
20	DCM	Diclorometano
	DI	Desionizada
	DIPEA, <sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> EtN	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
	DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
	DMSO	Sulfóxido de dimetilo
25	eq	Equivalentes
	Et <sub>2</sub> O	Éter dietílico
	EtOAc	Acetato de etilo
	h	Horas
	HCl	Ácido clorhídrico
30	LiHDMS	Hexametildisilazida de litio
	mg	Miligramos
	min	Minutos
	ml	Mililitros
	μl	Microlitros
35	mmol	Milimoles
	EM	Espectroscopía de masas
	MeOH	Metanol
	MTBE	Metil <i>terc</i> -butil éter
	NMM	<i>N</i> -Metilmorfolina
40	TA, ta	Temperatura ambiente
	sat.	Saturado
	TFA	Ácido trifluoroacético

THF                    Tetrahidrofurano  
 ~                        a (intervalo, por ejemplo, X~Y = X a Y)

### Precursores

5 La solicitud de patente PCT/US2010/000796, publicada como WO2010/107488, páginas 47-55, describe métodos de preparación para los primeros precursores del resto cuaternario del "lado izquierdo" (isoquinolinio), y los procedimientos a continuación describen el método de preparación de reactivos para el segundo resto cuaternario del "lado derecho" (morfolinio, pirrolidinio, etc.).

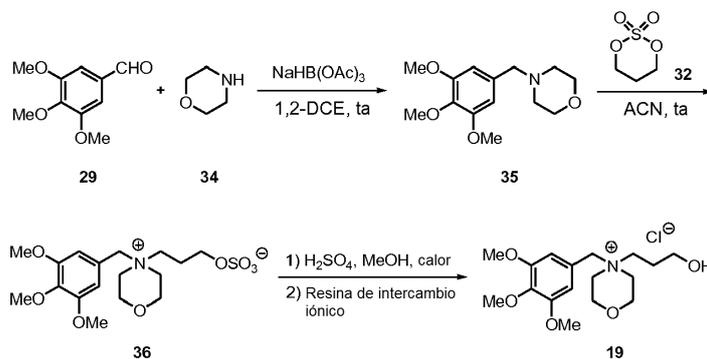
### Compuesto 15



10 Se cargó una disolución de **29** (4,0 g, 0,020 moles) y **30** (3,0 ml, 0,031 moles) en 1,2-DCE (50 ml) con triacetoxiborohidruro de sodio (5,0 g, 0,022 moles) en porciones durante 3 minutos a temperatura ambiente y la mezcla amarilla turbia se agitó durante 5 horas. La disolución se cargó con NaOH acuoso para alcanzar un pH acuoso  $\geq 10$  tras la separación de fases. Se lavaron los extractos orgánicos con una disolución de salmuera y el disolvente se eliminó a vacío. El líquido amarillo resultante se disolvió en 1,2-DCE y se extrajo con HCl acuoso 1 M.  
 15 La disolución de producto acuoso ácido se lavó con 1,2-DCE. El pH de la disolución acuosa se ajustó a  $\geq 10$  usando NaOH acuoso en presencia de 1,2-DCE. La acuosa básica se extrajo adicionalmente con 1,2-DCE. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se separaron del disolvente a vacío dando **31** [4,3 g, rendimiento del 80 %] como un líquido amarillo claro.

20 Se cargó una disolución con agitación de **31** (4,3 g, 0,016 moles) en ACN (20 ml) con **32** (4,5 g, 0,032 moles) en una porción a temperatura ambiente. La disolución clara de color amarillo claro se calentó a  $45 \pm 5$  °C durante 19 horas. Se enfrió la disolución turbia a temperatura ambiente y el disolvente se eliminó a vacío. El aceite resultante se disolvió en ACN (12 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora dando una suspensión blanquecina densa. La suspensión se cargó con MTBE (60 ml) y se agitó adicionalmente 2 horas. La filtración a vacío dio un sólido blanquecino que se lavó con MTBE y se secó durante la noche a vacío a temperatura ambiente dando **33** [6,9 g, rendimiento del 106 %, sólido aislado no analizado para el contenido de MTBE] como un sólido blanquecino.  
 25

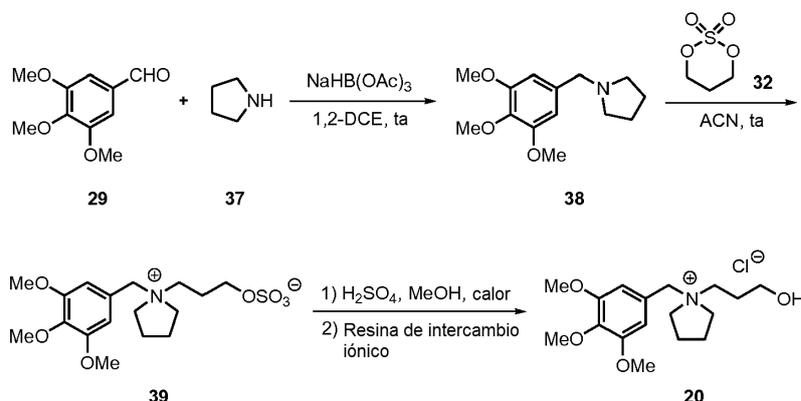
30 Se cargó una disolución amarilla turbia de **33** (6,5 g, 0,016 moles) en MeOH (65 ml) con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,069 ml, 0,0013 moles) y se calentó a  $55 \pm 5$  °C durante 17 horas. La disolución amarilla clara se enfrió a temperatura ambiente y se pasó a través de un tapón lavado con MeOH de resina Dowex 1X8-100 (26 g) cuatro veces por elución por gravedad. La resina se lavó con MeOH. Los eluatos que contenían el producto se separaron del disolvente a vacío y el disolvente se intercambió por 1,2-DCE mediante múltiples ciclos de destilación para eliminar el MeOH y dar una suspensión blanca. La suspensión se sometió a filtración a vacío dando sólidos blanquecinos que se lavaron con 1,2-DCE. Los sólidos se secaron en una estufa de vacío a  $35 \pm 5$  °C dando **15** [3,9 g, rendimiento del 67 %] como un sólido de blanco a blanquecino.

Compuesto 19

5 Se aisló el compuesto **35** [3,7 g, rendimiento del 90 %] como un aceite amarillo claro a partir de **29** (3,0 g, 0,015 moles), **34** (2,0 ml, 0,023 moles) y triacetoxiborohidruro de sodio (6,8 g, 0,031 moles) en 1,2-DCE (50 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **31**.

Se calentó una disolución clara de color amarillo claro de **35** (3,7 g, 0,014 moles) y **32** (3,8 g, 0,028 moles) en ACN (25 ml) a  $40 \pm 5$  °C durante 49 horas antes de enfriarse hasta temperatura ambiente. La mezcla blanca resultante se sometió a filtración a vacío dando un sólido blanco que se lavó con MTBE. Los sólidos se secaron a vacío a temperatura ambiente dando **36** [4,9 g, rendimiento del 88 %] como un sólido blanco.

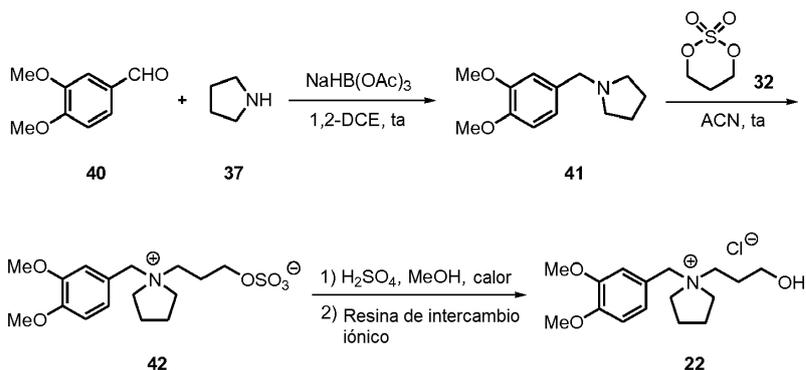
10 Se aisló el compuesto **19** [1,5 g, rendimiento del 47 %] como un sólido blanquecino a partir de **36** (4,9 g, 0,012 moles) y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,051 ml, 0,00096 moles) en MeOH (50 ml) y usando la resina Dowex 1X8-100 (20 g) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **15**.

Compuesto 20

15 Se aisló el compuesto **38** [5,1 g, rendimiento cuant.] como un aceite rojo a partir de **29** (4,0 g, 0,020 moles), **37** (2,5 ml, 0,031 moles) y triacetoxiborohidruro de sodio (5,0 g, 0,022 moles) en 1,2-DCE (50 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **31**.

20 Se aisló el compuesto **39** [8,9 g, rendimiento del 112 %, espuma aislada no analizada para el contenido de MTBE] como una espuma naranja clara a partir de **38** (5,1 g, 0,020 moles) y **32** (5,6 g, 0,041 moles) en ACN (15 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **33**.

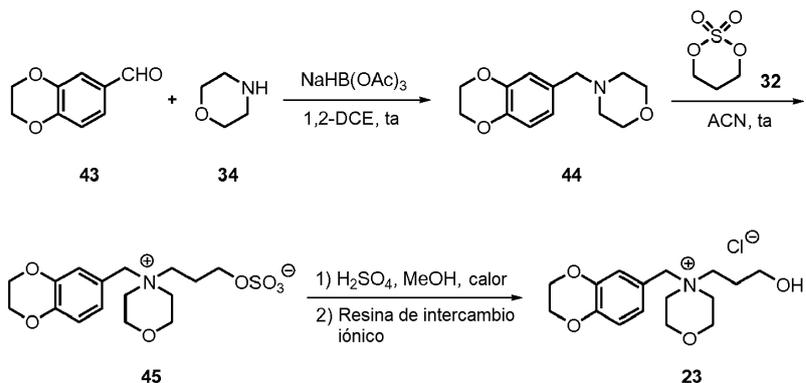
Se aisló el compuesto **20** [5,4 g, rendimiento del 77 %] como un sólido blanco a partir de **39** (7,9 g, 0,020 moles) y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,087 ml, 0,0016 moles) en MeOH (56 ml) y usando la resina Dowex 1X8-100 (32 g) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **20**.

Compuesto 22

5 Se aisló el compuesto **41** [6,0 g, rendimiento del 91 %] como un aceite naranja a partir de **40** (5,0 g, 0,030 moles), **37** (3,8 ml, 0,045 moles) y triacetoxiborohidruro de sodio (7,0 g, 0,033 moles) en 1,2-DCE (60 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **31**.

Se aisló el compuesto **42** [8,8 g, rendimiento del 90 %] como un sólido amarillo pálido a partir de **41** (6,0 g, 0,027 moles) y **32** (8,2 g, 0,060 moles) en ACN (18 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **33**.

10 Se aisló el compuesto **22** [6,9 g, rendimiento del 89 %] como un sólido amarillo pálido a partir de **42** (8,8 g, 0,025 moles) y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,10 ml, 0,0020 moles) en MeOH (88 ml) y usando la resina Dowex 1X8-100 (35 g) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **20**.

Compuesto 23

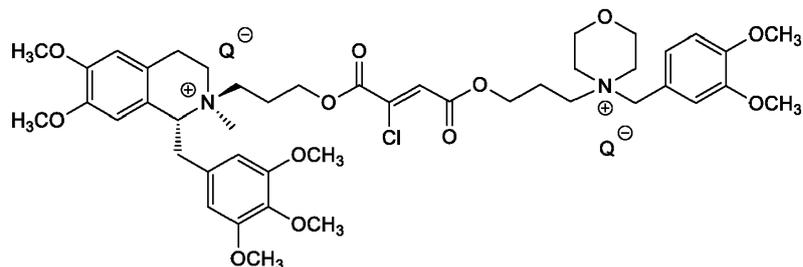
15 Se aisló el compuesto **44** [4,0 g, rendimiento del 92 %] como un aceite amarillo pálido a partir de **43** (3,0 g, 0,018 moles), **34** (2,4 ml, 0,027 moles) y triacetoxiborohidruro de sodio (8,2 g, 0,037 moles) en 1,2-DCE (50 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **31**.

Se aisló el compuesto **45** [5,7 g, rendimiento del 91 %] como un sólido blanquecino a partir de **44** (4,0 g, 0,017 moles) y **32** (4,7 g, 0,034 moles) en ACN (16 ml) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **36**.

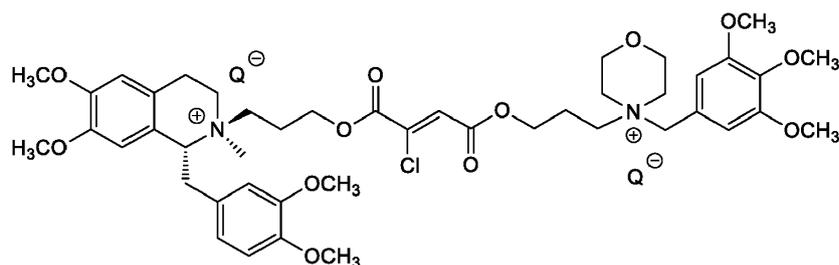
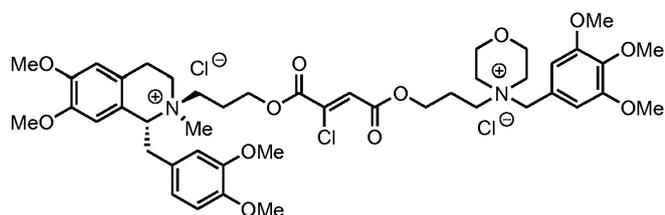
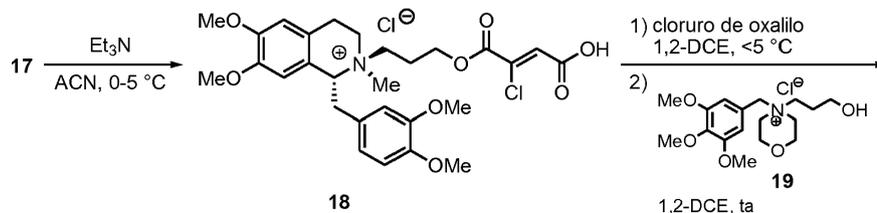
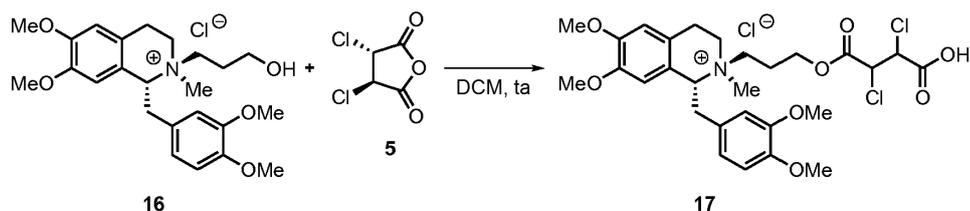
20 Se aisló el compuesto **23** [4,2 g, rendimiento del 82 %] como un sólido blanco a partir de **45** (5,7 g, 0,015 moles) y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,065 ml, 0,0012 moles) en MeOH (57 ml) y usando la resina Dowex 1X8-100 (23 g) según el procedimiento general usado para preparar el compuesto **20**.



1566-01



1566-22

Síntesis de 1566-22**NMB 1566-22**

- 5 A una disolución de **16** (4,0 g, 0,0089 moles) en 1,2-DCE (60 ml) a temperatura ambiente (ta) se cargó anhídrido 1,3-diclorosuccínico (3,9 g, 0,023 moles). La disolución se agitó durante 22 horas a ta bajo  $\text{N}_2$ . La mezcla de reacción se diluyó con DCM (40 ml) y ACN (35 ml) para proporcionar una disolución amarilla clara que se añadió a MTBE con agitación (800 ml) durante 40 minutos dando una suspensión de producto. Se aisló el compuesto **17** como un sólido blanquecino [5,5 g, rendimiento del 99 %] después de la filtración a vacío, seguido de lavado con MTBE y secado durante 16 horas a ta a vacío.

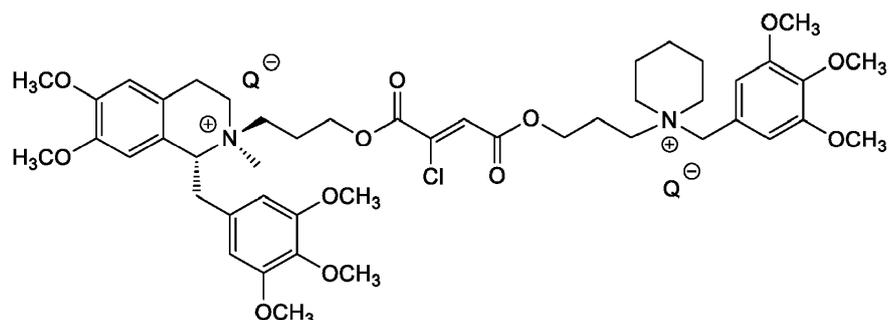
10 A una disolución de **17** (5,5 g, 0,088 moles) en ACN (49 ml) se añadió trietilamina (3,1 ml, 0,022 moles) durante 6 minutos a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ . La suspensión amarilla-naranja resultante se agitó a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La filtración a vacío dio una disolución clara de color amarillo claro que se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma amarilla. La espuma se disolvió en DCM y se extrajo con agua DI. El pH de la fase acuosa se ajustó a  $\leq$

2 usando HCl acuoso 1 M y se extrajo con 4:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso). Los extractos orgánicos combinados se sometieron a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite amarillo. El aceite se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 25 minutos. La suspensión se agitó > 1 hora a ta y el compuesto **18** se aisló como un sólido blanquecino [4,6 g, rendimiento del 89 %] después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado durante 16 horas a ta a vacío.

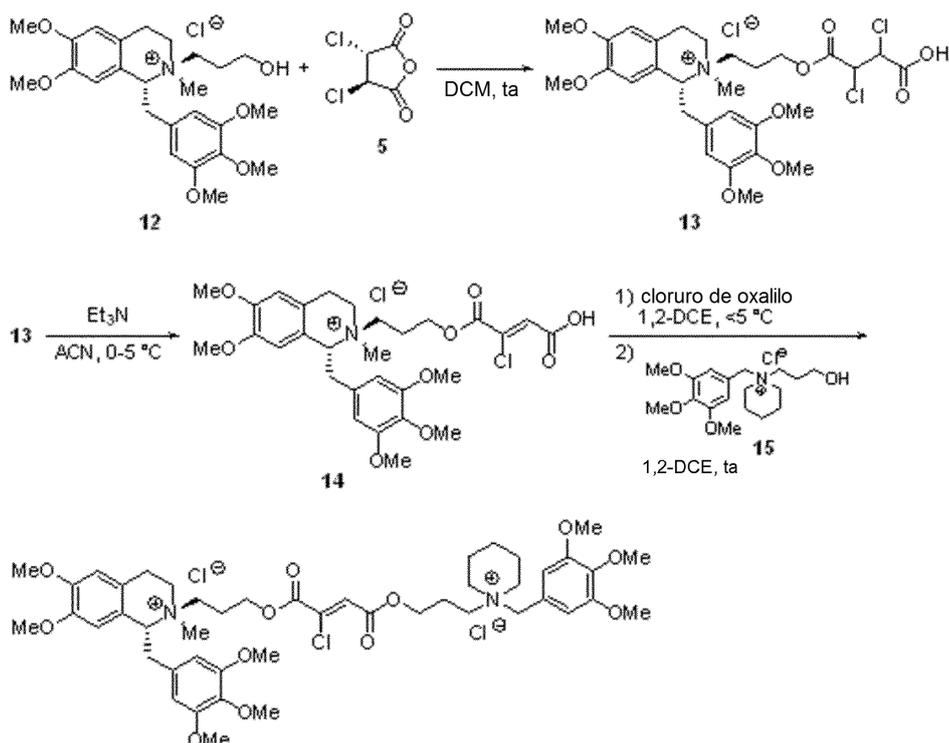
A una disolución de **18** (1,5 g, 0,0026 moles) en 1,2-DCE anhidro (70 ml) se añadió cloruro de oxalilo (1,1 ml, 0,013 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 6 minutos bajo  $N_2$ . La disolución amarilla brillante se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 2 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite amarillo. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (10 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **19** (0,91 g, 0,0025 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,8 g) en mezcla de 1,2-DCE seco (45 ml) y ACN (20 ml) durante 5 minutos a ta. La suspensión amarilla pálida se agitó 17 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma amarilla oscura. La espuma se disolvió en 1,2-DCE y se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 27 % en peso) y se extrajo con 5:1 de  $CHCl_3$ :ACN. La disolución de producto de  $CHCl_3$ :ACN se lavó con 12:1 de salmuera:10 % de  $KHCO_3$  acuoso y 24 % de NaCl acuoso. Las fases de lavado acuoso se retro-extrajeron con 5:1 de  $CHCl_3$ :ACN y las fases de retro-extracción se combinaron con la disolución de producto y se secaron sobre  $Na_2SO_4$ . La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma amarilla oscura que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (400 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1566-22** [1,4 g, rendimiento del 58 %] como un sólido blanquecino.

Clorofumaratos: Piperidinio

1343-05



Síntesis



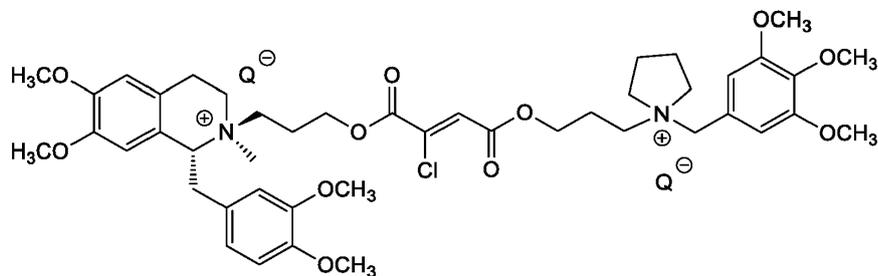
A una disolución de **12** (6,0 g, 0,012 moles) en 1,2-DCE (60 ml) y ACN (20 ml) a temperatura ambiente (ta) se cargó anhídrido 1,3-diclorosuccínico (5,7 g, 0,034 moles). La disolución se agitó durante 7 horas a ta bajo N<sub>2</sub>. La disolución de reacción se añadió a MTBE con agitación (9 volúmenes) durante 30 minutos dando una suspensión de producto. Se aisló el compuesto **13** como un sólido blanquecino [7,8 g, rendimiento cuantitativo] después de la filtración a vacío, seguido de lavado con MTBE y secado durante 16 horas a ta a vacío.

A una disolución de **13** (7,8 g, 0,012 moles) en ACN (85 ml) se añadió trietilamina (5,0 ml, 0,036 moles) durante 10 minutos a 0 ± 5 °C. La suspensión roja clara resultante se agitó a 0 ± 5 °C durante 1,5 horas. La filtración a vacío dio una disolución rosa oscura clara que se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite rojo. El aceite se disolvió en DCM y se extrajo con agua DI. El pH de la fase acuosa se ajustó a ≤ 2 usando HCl acuoso 1 M y se extrajo con 4:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso). Los extractos orgánicos combinados se sometieron a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma amarilla. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (12 volúmenes) a ta durante 25 minutos. La suspensión se agitó > 1 hora a ta y se aisló el compuesto **14** como un sólido blanquecino [6,6 g, rendimiento del 90 %] después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado durante 18 horas a ta a vacío.

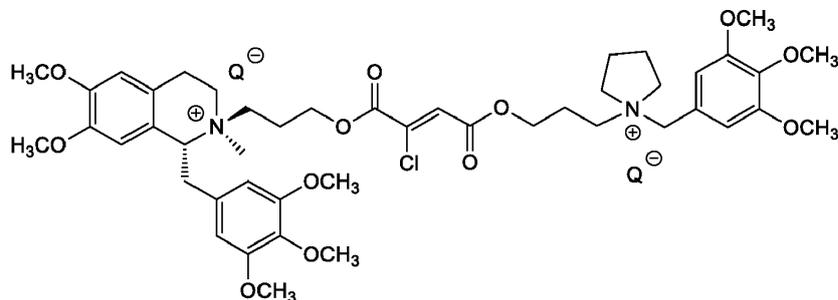
A una disolución de **14** (0,8 g, 0,0013 moles) en 1,2-DCE anhidro (25 ml) se añadió cloruro de oxalilo (0,6 ml, 0,0065 moles) a 0 ± 5 °C durante 5 minutos bajo N<sub>2</sub>. La disolución amarilla brillante se agitó a 0 ± 5 °C durante 1 hora y se dejó calentar a ta durante 2 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite amarillo. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (10 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **15** (0,45 g, 0,0012 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,3 g) en 1,2-DCE seco (15 ml) durante 5 minutos a ta. La suspensión amarilla pálida se agitó 15 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso) y se extrajo con CHCl<sub>3</sub>. La disolución de producto de CHCl<sub>3</sub> se lavó con 12:1 de salmuera: 10 % de KHCO<sub>3</sub> acuoso, 24 % de NaCl acuoso y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma amarilla clara que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (260 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1343-05** [0,74 g, rendimiento del 62 %] como un sólido blanquecino.

*Clorofumaratos: Pirrolidinio*

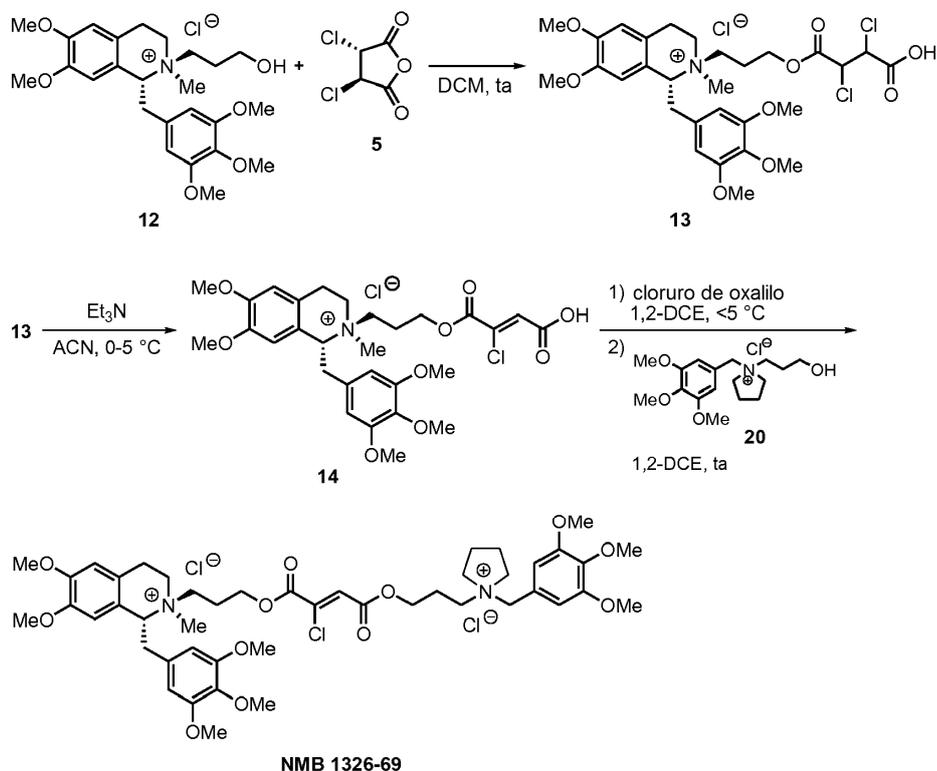
1326-72



1326-69



## Síntesis de 1326-69



5 A una disolución de **12** (6,0 g, 0,012 moles) en 1,2-DCE (60 ml) a temperatura ambiente (ta) se cargó anhídrido 1,3-diclorosuccínico (5,5 g, 0,034 moles). La disolución se agitó durante 22 horas a ta bajo  $\text{N}_2$ . La mezcla de reacción se diluyó con DCM (1 volumen) para proporcionar una disolución turbia que se añadió a MTBE con agitación (12 volúmenes) durante 30 minutos dando una suspensión de producto. Se aisló el compuesto **13** como un sólido blanquecino [6,3 g, rendimiento del 78 %] después de la filtración a vacío, seguido de lavado con MTBE y secado durante 16 horas a ta a vacío.

10 A una disolución de **13** (6,3 g, 0,0097 moles) en ACN (57 ml) se añadió trietilamina (3,4 ml, 0,024 moles) durante 11 minutos a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ . La suspensión roja clara resultante se agitó a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La filtración a vacío dio una disolución roja clara que se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite rojo. El aceite se disolvió en DCM y se extrajo con agua DI. El pH de la fase acuosa se ajustó a  $\leq 2$  usando HCl acuoso 1 M y se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso). Los extractos orgánicos combinados se sometieron a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma amarilla. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 45 minutos. La suspensión se agitó  $> 1$  hora a ta y se aisló el compuesto **14** como un sólido blanquecino [5,3 g, rendimiento del 89 %] después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado durante 17 horas a ta a vacío.

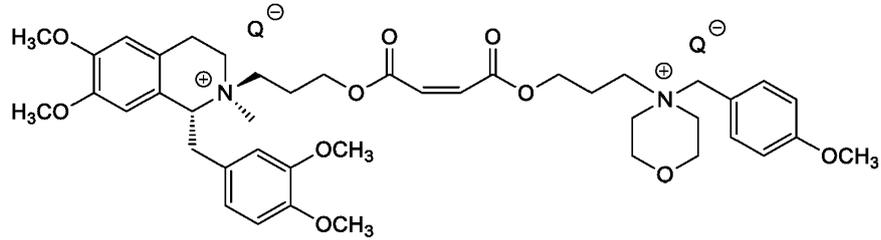
20 A una disolución de **14** (1,6 g, 0,0026 moles) en 1,2-DCE anhidro (30 ml) se añadió cloruro de oxalilo (1,1 ml, 0,013 moles) a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 5 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución amarilla brillante se agitó a  $0 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite amarillo. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (10 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **20** (0,84 g, 0,0024 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,4 g) en 1,2-DCE seco (25 ml) durante 8 minutos a ta. La suspensión amarilla pálida se agitó 16 horas a ta y se sometió a filtración a vacío, dilución con DCM y extracción con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 23 % en peso) y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ . La disolución de producto de  $\text{CHCl}_3$  se sometió a dos ciclos de lavado acuoso usando 15:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso, seguido de 24 % de NaCl acuoso. El secado sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , seguido de la filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta, dieron una espuma amarilla clara que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (250 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1326-69** [1,3 g, rendimiento del 55 %] como un sólido blanquecino.

Maleatos: Morfolinio

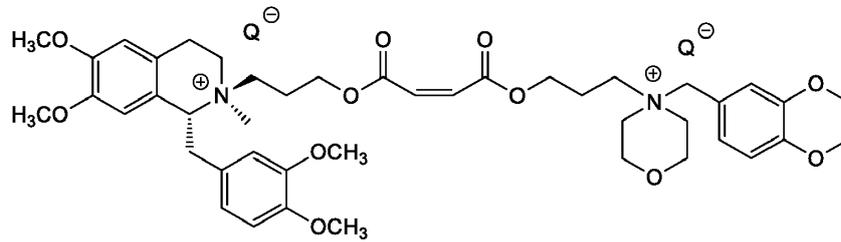
Las síntesis presentadas a continuación son representativas de los métodos de preparación de maleatos de morfolinio, se presentan a continuación. Métodos análogos de preparación de otros maleatos basados en el

siguiente procedimiento pueden ser adaptados por el experto habitual usando selección de reactivos y optimización rutinaria para preparar otros miembros de la serie de maleato de compuestos de NMBA de la invención.

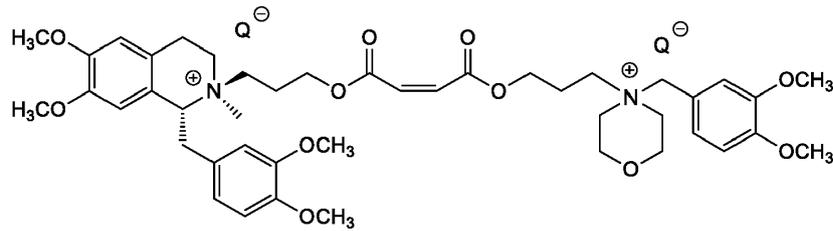
1521-83, 1566-07



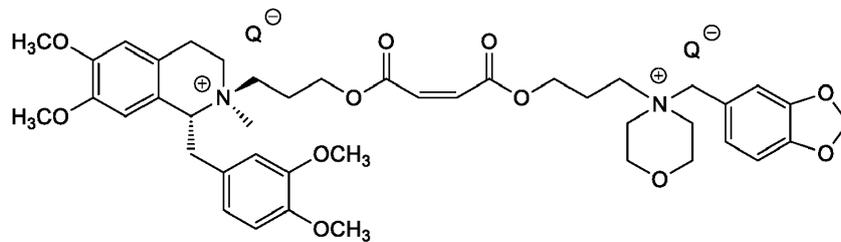
1521-78, 1566-14

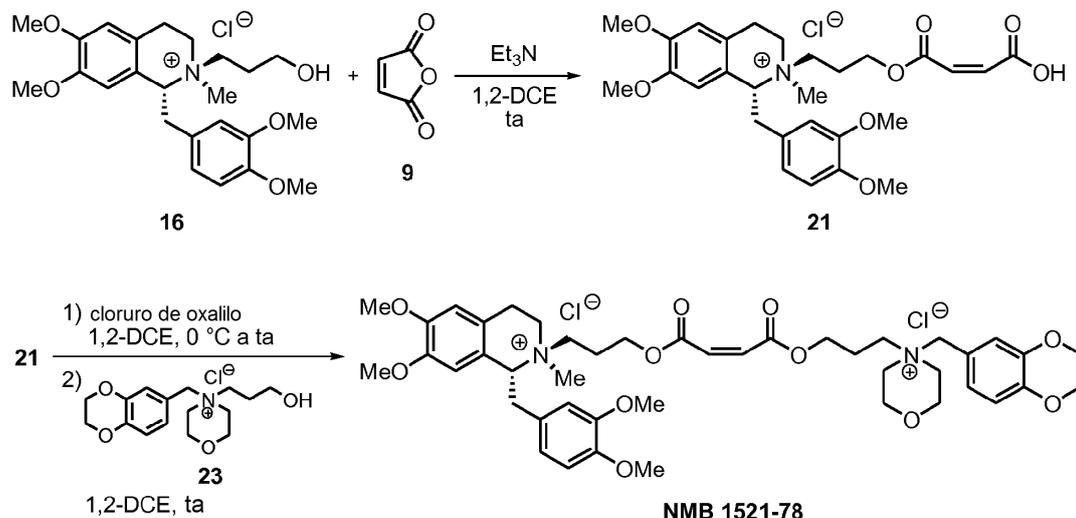


1521-34, 1521-54



1521-08, 1521-57



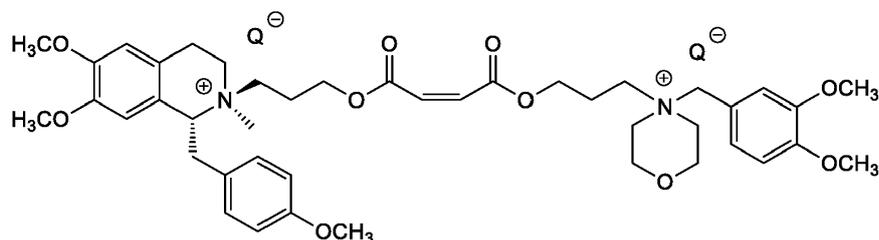
Síntesis de 1521-78

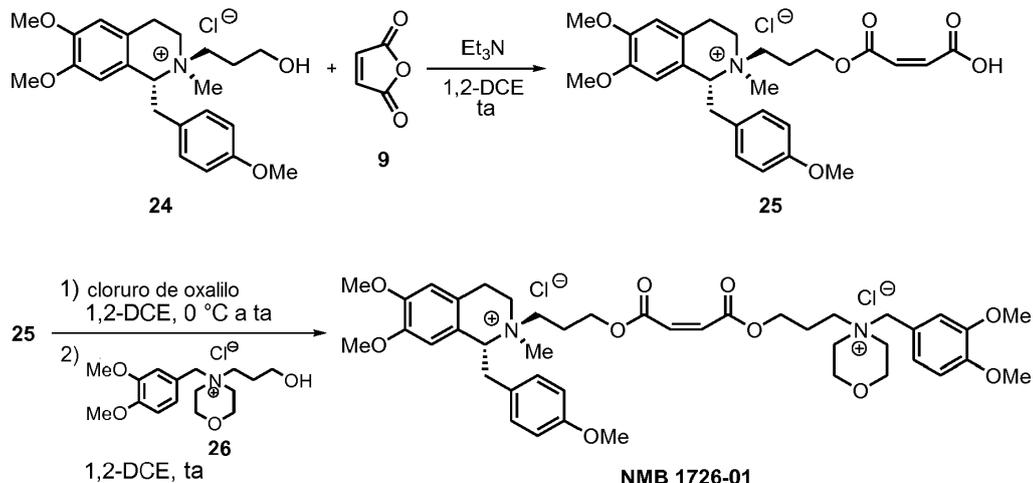
Se cargó una disolución de **16** (5,1 g, 0,011 moles) y anhídrido maleico (1,7 g, 0,017 moles) en 1,2-DCE (40 ml) y ACN (50 ml) con trietilamina (1,7 ml, 0,012) durante 6 minutos a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla naranja turbia se agitó 3 horas a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla roja oscura resultante se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite marrón rojizo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con agua DI, se retuvo la fase de DCM y la disolución de producto acuosa se ajustó a  $\text{pH} \leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La fase de DCM retenida se extrajo con 1 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y la disolución de producto acuosa se ajustó a un  $\text{pH} \leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera y se combinó con la primera disolución de producto de DCM/ACN secando sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La disolución de producto se filtró y se sometió a una eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 1 hora. La suspensión se agitó a ta durante 6 horas. Se aisló el compuesto **21** [5,0 g, rendimiento del 80 %] como un sólido blanquecino después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 16 h a ta.

A una disolución de **21** (0,60 g, 0,0011 moles) en 1,2-DCE anhidro (20 ml) se añadió cloruro de oxalilo (0,48 ml, 0,0055 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 2 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución amarilla brillante se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 1 hora y ta durante 1,5 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite púrpura. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco.

El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (8 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **23** (0,35 g, 0,0011 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,2 g) en mezcla de 1,2-DCE seco (15 ml) y ACN (10 ml) durante 6 minutos a ta. La suspensión púrpura pálida se agitó 17 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón rojiza. La espuma se disolvió en 1,2-DCE y se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 26 % en peso) y se extrajo con 5:1 de  $\text{CHCl}_3$ :ACN. La disolución de producto de  $\text{CHCl}_3$ :ACN se lavó con 12:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y 24 % de NaCl acuoso. Las fases de lavado acuoso se retro-extrajeron con 5:1 de  $\text{CHCl}_3$ :ACN y las fases de retro-extracción se combinaron con la disolución de producto y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma marrón que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (200 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1521-78** [0,40 g, rendimiento del 42 %] como un sólido blanquecino.

1726-01, 1759-50

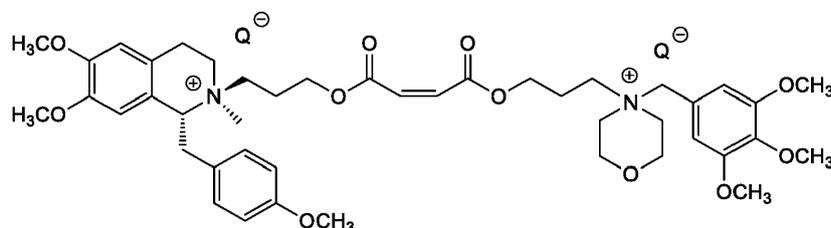


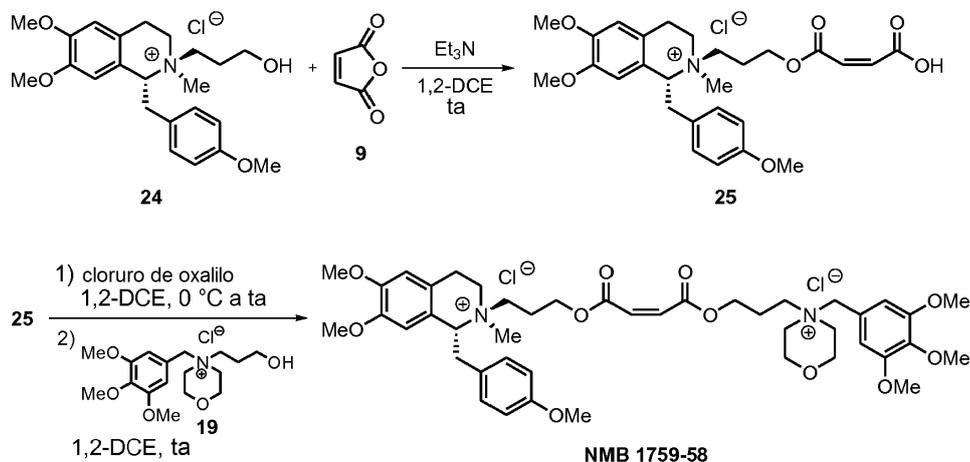
Síntesis

Se cargó una disolución de **24** (2,4 g, 0,0057 moles) y anhídrido maleico (0,84 g, 0,0085 moles) en ACN (24 ml) con trietilamina (0,87 ml, 0,0063) durante 2 minutos a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla naranja turbia se agitó 5 horas a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla roja oscura resultante se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite marrón rojizo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con agua DI y la disolución de producto acuosa se ajustó a  $\text{pH} \leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La disolución de producto se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 1 hora. La suspensión se agitó a ta durante 6 horas. Se aisló el compuesto **25** [2,9 g, rendimiento del 95 %] como un sólido marrón claro después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 16 h a ta.

A una disolución de **25** (1,3 g, 0,0025 moles) en 1,2-DCE anhidro (40 ml) se añadió cloruro de oxalilo (1,1 ml, 0,013 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 3 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución marrón oscura se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 2 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite marrón oscuro. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (8 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **26** (0,82 g, 0,0025 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,3 g) en mezcla de 1,2-DCE seco (35 ml) y ACN (20 ml) durante 4 minutos a ta. La suspensión marrón oscura se agitó 20 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón. La espuma se disolvió en 1,2-DCE y se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 25 % en peso) y se extrajo con 4:1 de ACN:DCM. La disolución de producto de ACN:DCM se lavó con 10:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y salmuera. Las fases de lavado acuoso se retro-extrajeron con 4:1 de ACN:DCM y las fases de retro-extracción se combinaron con la disolución de producto y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma marrón que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (250 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1726-01** [1,1 g, rendimiento del 53 %] como un sólido blanquecino.

1759-58



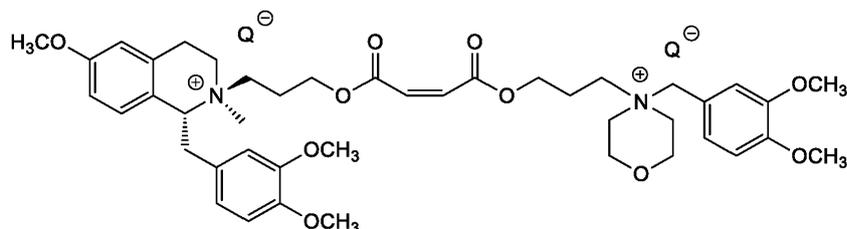
Síntesis

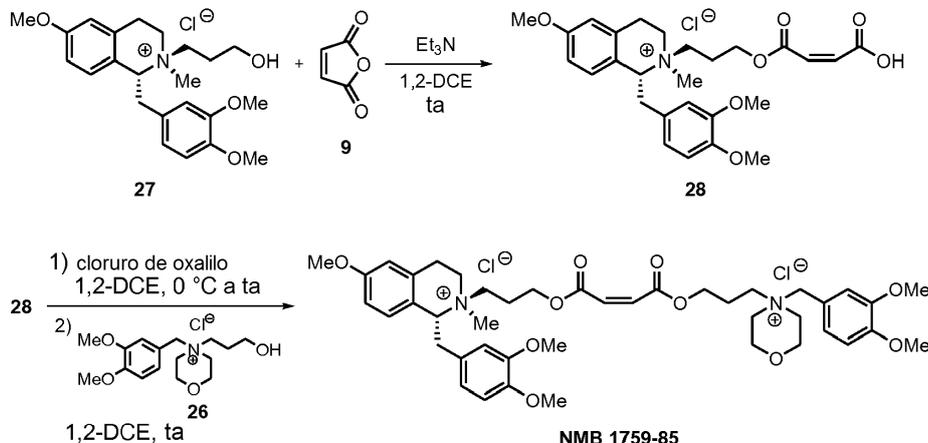
Se cargó una disolución de **24** (2,4 g, 0,0057 moles) y anhídrido maleico (0,84 g, 0,0085 moles) en ACN (24 ml) con trietilamina (0,87 ml, 0,0063) durante 2 minutos a  $0 \pm 5^\circ\text{C}$ . La mezcla naranja turbia se agitó 5 horas a  $0 \pm 55^\circ\text{C}$ . La mezcla roja oscura resultante se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite marrón rojizo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con agua DI y la disolución de producto acuosa se ajustó a pH a  $\leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La disolución de producto se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 1 hora. La suspensión se agitó a ta durante 6 horas. Se aisló el compuesto **25** [2,9 g, rendimiento del 95 %] como un sólido marrón claro después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 16 h a ta.

A una disolución de **25** (0,79 g, 0,0015 moles) en 1,2-DCE anhidro (30 ml) se añadió cloruro de oxalilo (0,66 ml, 0,0076 moles) a  $0 \pm 55^\circ\text{C}$  durante 2 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución marrón oscura se agitó a  $0 \pm 55^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite marrón oscuro. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (8 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **19** (0,54 g, 0,0015 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,3 g) en mezcla de 1,2-DCE seco (10 ml) y ACN (15 ml) durante 3 minutos a ta. La suspensión marrón oscura se agitó 16 horas a ta y se sometió a filtración a vacío. La disolución marrón oscura se diluyó con DCM y se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 25 % en peso) y se extrajo con 4:1 de ACN:DCM. La disolución de producto de ACN:DCM se lavó con 10:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y salmuera. Las fases de lavado acuoso se retro-extrajeron con 4:1 de ACN:DCM y las fases de retro-extracción se combinaron con la disolución de producto y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma marrón que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (120 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1759-58** [0,37 g, rendimiento del 29 %] como un sólido blanquecino.

1759-85



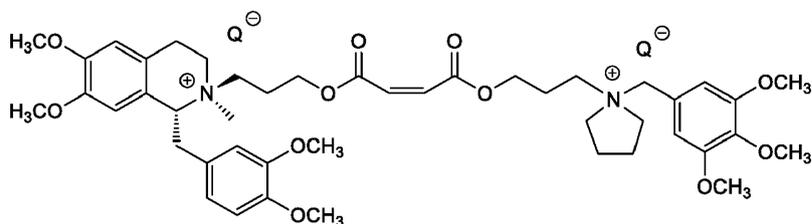
Síntesis

Se cargó una disolución en 1,2-DCE de **27** (4,2 g **27**, 0,010 moles, 0,14 g de **27**/g de disolución) y anhídrido maleico (1,5 g, 0,015 moles) en ACN (42 ml) con trietilamina (1,5 ml, 0,011) durante 2 minutos a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla naranja turbia se agitó 6 horas a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla roja oscura resultante se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite marrón rojizo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con 6:1 de agua DI: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y la disolución de producto acuosa se ajustó a pH a  $\leq 2$  usando HCl acuoso 6 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La disolución de producto se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma marrón. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 1 hora. La suspensión se agitó a ta durante 1 hora. Se aisló el compuesto **28** [5,1 g, rendimiento del 98 %] como un sólido marrón claro después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 14 h a ta.

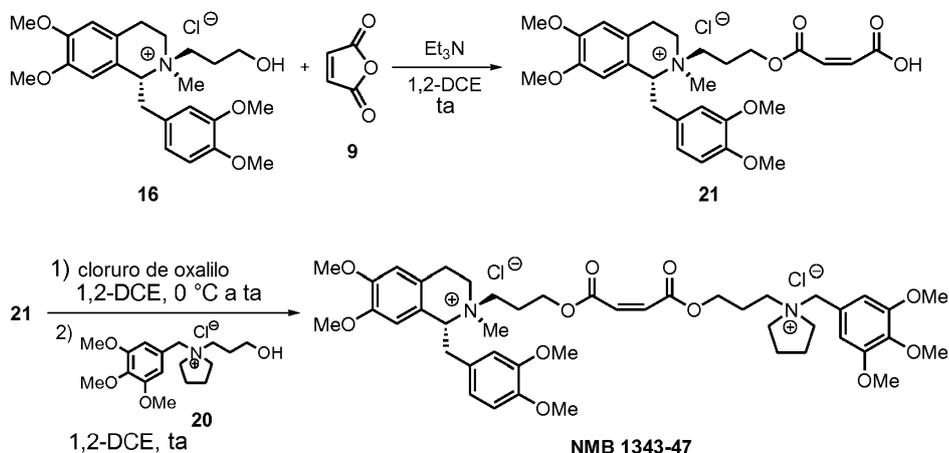
A una disolución de **28** (1,5 g, 0,0029 moles) en 1,2-DCE anhidro (40 ml) se añadió cloruro de oxalilo (1,3 ml, 0,014 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 3 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución marrón oscura se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 3 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite marrón oscuro. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (8 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **26** (0,94 g, 0,0028 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,3 g) en mezcla de 1,2-DCE seco (5 ml) y ACN (15 ml) durante 4 minutos a ta. La suspensión marrón oscura se agitó 16 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y se diluyó con ACN. La disolución marrón oscura se lavó con 10:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y salmuera. Las fases de lavado acuoso se retro-extrajeron con 4:1 de ACN:DCM y las fases de retro-extracción se combinaron con la disolución de producto y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron una espuma marrón que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (200 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1759-85** [1,1 g, rendimiento del 46 %] como un sólido blanquecino.

Maleatos: Pirrolidinio

1343-13, 1343-47



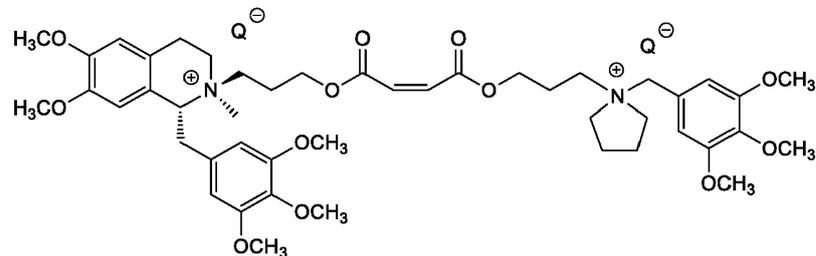
## Síntesis de 1343-47



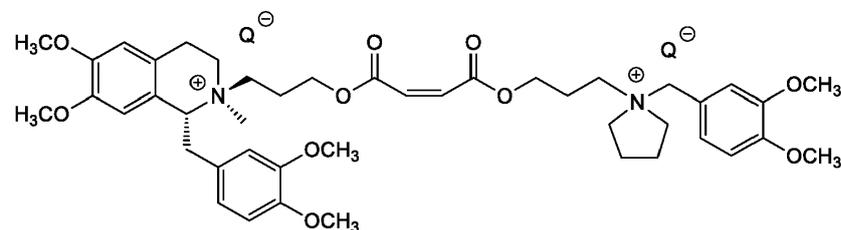
Una disolución de **16** (3,9 g, 0,0086 moles) y anhídrido maleico (1,3 g, 0,013 moles) en 1,2-DCE (30 ml) se cargó con trietilamina (1,3 ml, 0,0095) durante 5 minutos a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla naranja turbia de reacción se agitó 1 hora a  $0 \pm 5$  °C y 1 hora a temperatura ambiente (ta). La mezcla roja oscura se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite rojo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con agua DI y la disolución de producto acuosa se ajustó a un  $\text{pH} \leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite amarillo claro. El aceite se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 25 minutos. La suspensión se agitó a ta durante 1 hora. Se aisló el compuesto **21** [3,3 g, rendimiento del 69 %] como un sólido blanquecino después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 16 h a ta.

A una disolución de **21** (2,8 g, 0,0050 moles) en 1,2-DCE anhidro (50 ml) se añadió cloruro de oxalilo (2,2 ml, 0,025 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 3 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución amarilla brillante se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 1 hora y durante 2 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite púrpura. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (12 ml) y se añadió a una suspensión con agitación del compuesto **20** (1,6 g, 0,0047 moles) y polvo de tamiz molecular de 4Å (0,3 g) en 1,2-DCE seco (50 ml) durante 10 minutos a ta. La suspensión púrpura pálida se agitó 16 horas a ta y se sometió a filtración a vacío y dilución con DCM. La disolución se extrajo con agua DI y la disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 26 % en peso) y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ . La disolución de producto de  $\text{CHCl}_3$  se lavó con 12:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso, 24 % de NaCl acuoso y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración a vacío y la eliminación de disolvente a vacío a ta dieron un aceite marrón oscuro. El aceite se disolvió en agua DI y la disolución acuosa se agitó con carbono activo (500 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1343-47** [2,1 g, rendimiento del 52 %] como un sólido blanquecino.

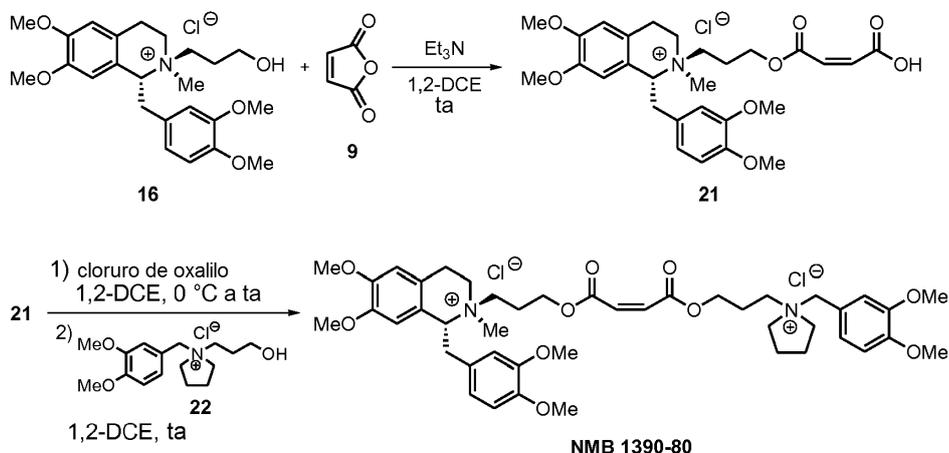
## 1343-29



## 1390-80



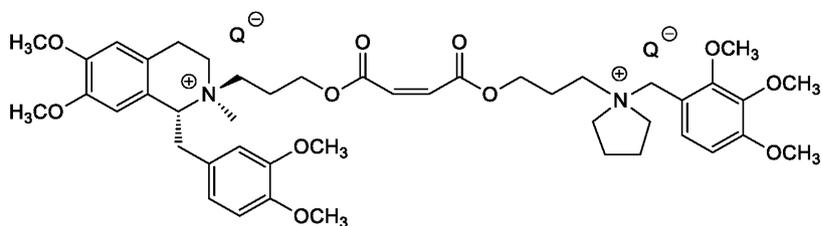
## Síntesis de 1390-80



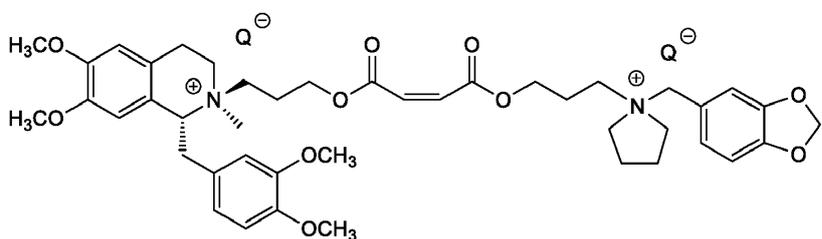
Una disolución de **16** (8,0 g, 0,018 moles) y anhídrido maleico (2,6 g, 0,027 moles) en 1,2-DCE (60 ml) y ACN (80 ml) se cargó con trietilamina (2,7 ml, 0,020) durante 5 minutos a  $0 \pm 5$  °C. La mezcla de reacción naranja turbia se agitó 1 hora a  $0 \pm 5$  °C y 2 horas a temperatura ambiente (ta). La mezcla roja oscura se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando un aceite rojo que se disolvió en DCM. La disolución se extrajo con agua DI y la disolución de producto acuosa se ajustó a un pH  $\leq 2$  usando HCl acuoso 1 M. La disolución acuosa se extrajo con 5:1 de DCM:ACN en presencia de NaCl (disolución acuosa al 24 % en peso de NaCl). La disolución de producto de DCM/ACN se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma amarilla clara. La espuma se disolvió en DCM (1 volumen) y se añadió a MTBE con agitación (10 volúmenes) a ta durante 25 minutos. La suspensión se agitó a ta durante 1 hora. Se aisló el compuesto **21** [5,9 g, rendimiento del 60 %] como un sólido blanquecino después de la filtración a vacío, lavado con MTBE y secado a vacío durante 16 h a ta.

A una disolución de **21** (3,0 g, 0,0055 moles) en 1,2-DCE anhidro (75 ml) se añadió cloruro de oxalilo (2,4 ml, 0,027 moles) a  $0 \pm 5$  °C durante 3 minutos bajo  $\text{N}_2$ . La disolución amarilla brillante se agitó a  $0 \pm 5$  °C durante 1 hora y ta durante 2 horas. La disolución se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta para proporcionar un aceite púrpura. El aceite se sometió a dos ciclos de destilación de disolvente a vacío adicionales a ta usando 1,2-DCE seco. El aceite se disolvió en 1,2-DCE seco (50 ml) y se cargó con polvo de tamiz molecular de 4Å (0,5 g) y compuesto **22** (1,5 g, 0,0046 moles) a ta. La suspensión púrpura pálida se agitó 15 horas a ta y se sometió a filtración a vacío dando una disolución púrpura clara que se diluyó con DCM. La disolución se extrajo con agua DI. La disolución de producto acuosa se cargó con NaCl (disolución acuosa al 23 % en peso) y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ . La disolución de producto de  $\text{CHCl}_3$  se sometió a dos ciclos de lavados acuosos que consistían en 12:1 de salmuera: 10 % de  $\text{KHCO}_3$  acuoso y 24 % de NaCl acuoso. La disolución de producto se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se sometió a eliminación de disolvente a vacío a ta dando una espuma naranja oscura que se disolvió en agua DI. La disolución acuosa se agitó con carbono activo (400 mg) y se filtró. El residuo de carbono se lavó con agua DI. La disolución de producto acuosa se liofilizó dando **NMB 1390-80** [2,6 g, rendimiento del 56 %] como un sólido blanquecino.

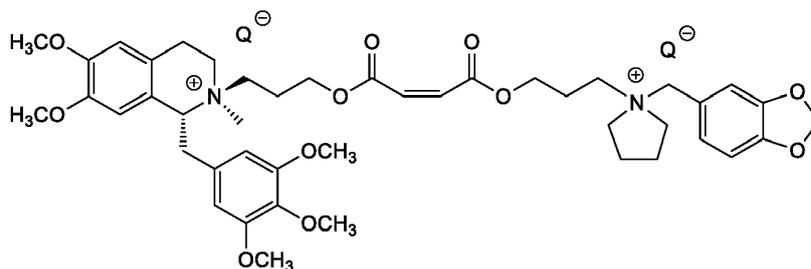
1449-35



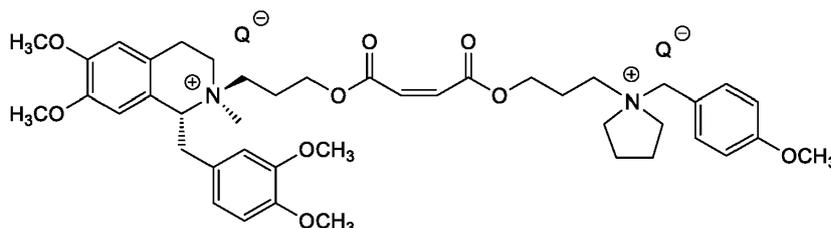
1449-68



1449-81



1521-28



#### Composiciones farmacéuticas y usos

5 Los compuestos de la invención como se especifican en la reivindicación 1 pueden usarse en diversas composiciones adaptadas para inducir el bloqueo neuromuscular en pacientes según se necesite en anestesia quirúrgica. Un compuesto de la invención produce, tras la administración de una cantidad eficaz del compuesto a un paciente, un bloqueo neuromuscular.

10 Un compuesto de la invención puede administrarse mediante inyección como una disolución adecuada y puede producir el bloqueo neuromuscular de completitud suficiente para permitir que el compuesto se use eficazmente como un auxiliar a la anestesia en cirugía mayor. Una cantidad eficaz de un compuesto inventivo para administración a un paciente humano puede ser 0,01-10 mg por kg de peso corporal del paciente. Más específicamente, la cantidad eficaz puede ser 0,1-1 mg por kg de peso corporal del paciente. El compuesto puede administrarse de un modo conocido para el anestésista o cirujano experto habitual en la materia, usando los métodos y aparatos muy conocidos para este procedimiento en cirugía.

15 Una composición puede comprender un compuesto de la invención y un disolvente biocompatible adecuado. La composición puede adaptarse para administración parenteral a un paciente humano, que comprende una disolución inyectable del compuesto en un disolvente biocompatible adecuado. Una disolución inyectable de un compuesto de la invención en un disolvente adecuado puede comprender 1 mg/ml a 10 mg/ml del compuesto por dosis de la disolución inyectable. La disolución puede administrarse mediante jeringa, mediante goteo intravenoso, o mediante cualquiera de las técnicas muy conocidas para el profesional de la materia.

20 Un disolvente biocompatible adecuado comprende agua libre de pirógenos estéril. El disolvente puede comprender además NaCl isotónico, u otras sustancias de ajuste de la tonicidad. Un disolvente biocompatible adecuado también puede comprender alcohol, un polietilenglicol, DMSO, o cualquier mezcla de los mismos, que puede ser puro o puede estar en una mezcla con agua.

25 Los compuestos de la invención son conocidos por ser, de algún modo, inestables durante el almacenamiento prolongado en medio alcalino. Por consiguiente, una forma de dosificación de la invención puede ajustarse a un pH ácido para la estabilización. En una forma de dosificación de la disolución de la invención, el pH de la disolución puede ser 2,5 a 3,5. La forma de dosificación puede adaptarse para almacenamiento congelado, tal como envasando en recipientes que pueden resistir a la congelación, que llevan etiquetado resistente a la congelación, y similares.

30 En diversas realizaciones, los compuestos como se especifican en la reivindicación 1 presentan efectos de bloqueo neuromuscular que son reversibles por administración al paciente de una cantidad eficaz de un compuesto de tiol. Una característica destacada de la presente invención es la ya reversibilidad de los efectos del bloqueo neuromuscular de algunos de los compuestos de la invención por administración al paciente, tal como por administración intravenosa, de un compuesto de tiol, tal como L-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, D-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un estereoisómero de glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se trata en el presente documento, sin desear quedar ligado a teoría, los inventores creen que la inactivación de los efectos del bloqueo neuromuscular de diversas realizaciones de compuestos de la invención por un

compuesto de tiol tiene lugar mediante una reacción intermolecular *in vivo* del compuesto de NMBA inventivo y el tiol, que produce un producto de reacción intermedio. Se cree que cada una de las clases de compuestos de fumaratos, y maleatos, es susceptible a esta reacción, y se ha encontrado que los efectos del bloqueo neuromuscular de los fumaratos (incluyendo clorofumaratos) y maleatos son reversibles por administración de compuestos de tiol tales como cisteína (L o D) o glutatión.

La administración de un compuesto como se especifica en la reivindicación 1, por ejemplo en forma de una composición como se ha descrito anteriormente, a un paciente produce el bloqueo neuromuscular en el que el bloqueo neuromuscular es no despolarizante. El bloqueo neuromuscular puede lograrse con poco o ningún efecto circulatorio.

Una característica destacada de la invención es que el bloqueo neuromuscular puede invertirse posteriormente por la administración de un compuesto de tiol. Los inventores creen que la inversión se produce por una reacción del compuesto de tiol con un enlace múltiple reactivo de un compuesto inventivo. Por consiguiente, los fumaratos y maleatos de la invención tienen efectos reversibles del tiol.

El compuesto de tiol usado para la inversión del bloqueo neuromuscular puede ser L-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, D-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un estereoisómero de glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En diversos ámbitos, el bloqueo es reversible en el plazo de 2-5 minutos después de administración del compuesto de tiol al paciente tras la inducción del bloqueo neuromuscular. La rápida inversión puede ser ventajosa en llevar a cabo los procedimientos quirúrgicos de los presentes inventores, ya que permite usar respiración mecánica durante solo el periodo de tiempo necesario, hasta el punto que el bloqueo pueda inhibir la acción del diafragma del paciente en la respiración natural. Por consiguiente, el compuesto de tiol, tal como la cisteína (L o D) o una sal de la misma, puede administrarse al paciente inmediatamente tras un procedimiento quirúrgico para el que un compuesto de fórmula (I) había sido previamente administrado al paciente. Por ejemplo, el compuesto de tiol usado para invertir inmediatamente el bloqueo neuromuscular tras la cirugía puede comprender cisteína o una sal de la misma en el que la cisteína o sal de la misma se administra a una dosis de 10 mg/kg a 50 mg/kg en una base libre. Más específicamente, la cisteína o sal de la misma puede ser clorhidrato de D-cisteína. El uso de una sal de D-cisteína puede estar más libre de efectos secundarios no deseados que el uso de una sal de L-cisteína. Una disolución de L-cisteína, D-cisteína, glutatión, o un estereoisómero de glutatión, puede ajustarse a un pH de aproximadamente 5-6 antes de la administración al paciente para invertir el bloqueo neuromuscular.

Por consiguiente, la invención proporciona un compuesto de la invención para su uso para crear el bloqueo neuromuscular, en el que el bloqueo puede ser reversible por administración de un compuesto de tiol.

La invención proporciona una forma de dosificación de un compuesto de la invención que comprende una disolución inyectable del compuesto en un disolvente biocompatible adecuado. La forma de dosificación puede comprender 1 mg/ml a 10 mg/ml (cantidad absoluta 0,1 mg a 500 mg) del compuesto en el disolvente biocompatible. Como se trata anteriormente, el disolvente biocompatible adecuado puede comprender agua libre de pirógenos estéril, que opcionalmente contiene NaCl isotónico. O, el disolvente biocompatible adecuado puede comprender alcohol, un polietilenglicol, DMSO, o cualquier mezcla de los mismos, que opcionalmente incluye además agua o una disolución isotónica de NaCl. El pH de la disolución puede ser 2,5 a 3,5 para estabilizar la forma de dosificación contra la degradación con el tiempo del NMBA. La forma de dosificación de la invención puede adaptarse para almacenamiento congelado. En diversas realizaciones, el pH de la disolución puede ajustarse, por ejemplo a un pH de 5-6, antes de la administración al paciente.

La invención proporciona además un kit que comprende un compuesto de la invención en un primer recipiente y un compuesto de tiol adecuado para invertir el efecto del bloqueo neuromuscular del compuesto en un paciente en un segundo recipiente, e instrucciones para su uso. El segundo recipiente con el compuesto de tiol en la formulación adecuada puede suministrarse cuando el compuesto inventivo comprende un compuesto reversible de tiol. El primer recipiente puede comprender una forma de dosificación de cualquiera de la invención como se trata anteriormente. El segundo recipiente del kit puede comprender una disolución de clorhidrato de L-cisteína, clorhidrato de D-cisteína, o ambas. La disolución puede tamponarse a un pH de 2-3 para el almacenamiento. El kit puede comprender además un tercer recipiente que comprende un tampón para ajustar el pH de la disolución del primer recipiente, el segundo recipiente, o ambos, a 5-6 antes de la administración al paciente.

Puede inducirse un bloqueo neuromuscular en un mamífero para fines terapéuticos administrando al mamífero el agente bloqueante neuromuscular de la invención. Como se describe, el bloqueo neuromuscular puede inducirse, por ejemplo, para la intubación respiratoria, cuando el mamífero está sometido a anestesia general, tal como para un paciente humano durante un procedimiento quirúrgico, o para un mamífero doméstico o de zoológico que se somete a cirugía.

Debido a la reversibilidad del bloqueo neuromuscular causada por los efectos de la duración ultra-corta, corta e intermedia de los compuestos de NMBA de la invención, el bloqueo neuromuscular puede ser invertido

administrando al paciente una cantidad eficaz de al menos uno de L-cisteína, D-cisteína, o una mezcla de las mismas; N-acetilcisteína; glutatión; homocisteína; metionina; S-adenosil-metionina; o penicilamina; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; en la que el bloqueo neuromuscular se genera por uno de los compuestos de NMBA de la invención. Por ejemplo, la D-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable, puede administrarse por vía intravenosa. Puede administrarse una única dosificación del agente de inversión, por ejemplo D-cisteína, en una dosificación de 0,1 mg/kg a 500 mg/kg.

Los compuestos de la invención pueden usarse para proporcionar relajación muscular durante la anestesia y cirugía y en medicina de urgencias, con las características de recuperación espontánea más rápida, además de antagonismo inmediato en cualquier momento por D- o L-cisteína. Los compuestos tienen menos efectos secundarios circulatorios debido a la evidente liberación de histamina.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones bloqueantes neuromusculares de la presente invención es suficiente para proporcionar relajación muscular durante la anestesia y cirugía y en medicina de urgencias en un sujeto. La dosificación de principio(s) activo(s) puede variar, dependiendo del motivo para su uso y el sujeto individual. La dosificación puede ajustarse basándose en el peso del sujeto, la edad y salud del sujeto, y tolerancia para el compuesto o composición. Una dosis adecuada para obtener un bloqueo neuromuscular para seres humanos adultos (150 lb o 70 kg) es 0,1 mg a 500 mg, o en algunas realizaciones 1 mg a 500 mg, o en otras realizaciones 0,5 mg a 150 mg, o en realizaciones adicionales 3,5 mg a 50 mg. Así, una preparación parenteral farmacéutica adecuada para administración a seres humanos contendrá preferentemente 0,1 a 50 mg/ml de uno o más de los presentes compuestos en disolución o múltiplos de los mismos para viales multi-dosis.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de antagonistas de compuestos bloqueantes neuromusculares de la presente invención es suficiente para antagonizar un bloqueo neuromuscular producido por la administración a un mamífero de un agente bloqueante neuromuscular de la invención. La dosificación de principio(s) activo(s) puede variar, dependiendo del motivo para su uso y el sujeto individual. La dosificación puede ajustarse basándose en el peso del sujeto, la edad y salud del sujeto, y la tolerancia por el compuesto o composición. Una dosis adecuada de cisteína o una molécula tipo cisteína para antagonizar un bloqueo neuromuscular en seres humanos adultos (con un peso promedio de 150 lbs o 70 kg) es 5 mg a 10.000 mg, o 50 mg a 2000 mg, o 150 a 750 mg. Así, una preparación parenteral farmacéutica adecuada para administración a seres humanos contendrá preferentemente 0,1 a 2000 mg/ml de cisteína o una molécula tipo cisteína, o una combinación de cisteína y moléculas tipo cisteína, en disolución o múltiplos de la misma para viales multi-dosis. Alternativamente, en general, las dosificaciones de cisteína en seres humanos para la inversión de bloqueos neuromusculares son 10-100 mg/kg o 30-50 mg/kg. Así, las dosificaciones y volúmenes típicos de cisteína que van a inyectarse probablemente estarán en el intervalo de 1000-10000 mg o 2000-5000 mg de cisteína (basados en pesos corporales de 70-100 kg). Así, se han desarrollado composiciones y métodos para proporcionar estas cantidades de cisteína en volúmenes convenientes de 5 ml a 50 ml o 10 ml a 25 ml. Tales composiciones pueden administrarse rápidamente, por ejemplo, como una inyección intravenosa de bolo único durante un periodo de tiempo de 2 segundos a 60 segundos, o 5 segundos a 10 segundos. La disoluciones descritas en el presente documento tienen concentraciones de cisteína que son 100-300 mg/ml o 180-250 mg/ml de cisteína de manera que se logran concentraciones de cisteína *in vivo* apropiadas después de la administración para invertir rápidamente un bloqueo neuromuscular.

Se ha mostrado que la cisteína antagoniza rápidamente un bloqueo neuromuscular inducido por los compuestos descritos en el presente documento. Para realizar la inversión de un bloqueo neuromuscular generado por uno de estos agentes, la cisteína se administra mediante inyección intravenosa. Sin embargo, el pH natural de las disoluciones de clorhidrato de cisteína a concentraciones de 50 mg/ml o más en disolución acuosa (por ejemplo, 0,9 % de solución salina) es muy bajo, oscilando de pH 0,8 a pH 1,0. Además, la cisteína no es soluble a concentraciones superiores a 50 mg/ml en su forma de base, pero concentraciones más altas de cisteína se administran más convenientemente para la inversión de bloqueos neuromusculares. Por ejemplo, la administración en bolo de volúmenes superiores a 50 ml durante un periodo de tiempo de 5-10 s no es generalmente conveniente en un quirófano. Por tanto, para administrarse a pacientes, se han desarrollado disoluciones de cisteína que tienen concentraciones más altas y valores de pH más altos como se describe en el presente documento.

En general, las disoluciones de cisteína para su uso como un agente de inversión del bloqueo neuromuscular en la práctica clínica tienen algunas o todas de las siguientes propiedades generales:

- 1) Una disolución fisiológica con 150-300 mg/ml (o 150-250 mg/ml) de cisteína;
- 2) Un pH de la disolución de 4,0-5,0 para prevenir la irritación venosa y/o traumatismo; y/o
- 3) Aditivos antioxidantes para prevenir la formación del dímero de cisteína, cistina, que es inactivo e insoluble.

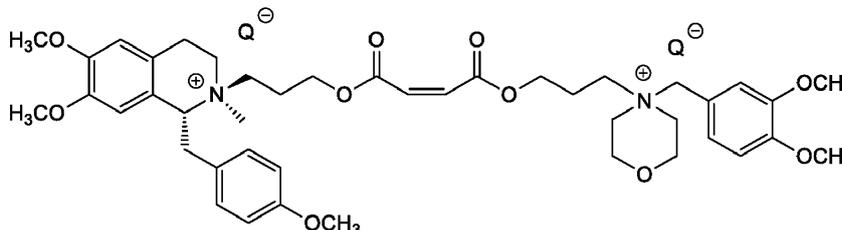
Dentro de la invención, las disoluciones de cisteína con estas propiedades son estables, no irritantes y apropiadas para inyección en bolo en un escenario de quirófano.

Tanto el isómero L como el isómero D de cisteína pueden usarse en las disoluciones de cisteína proporcionadas en el presente documento, o puede emplearse una combinación de L-cisteína y D-cisteína, por ejemplo, la forma racémica. La L-cisteína se produce endógenamente y cruza la barrera hematoencefálica en gran medida mediante un transportador de aminoácidos específico. Así, la L-cisteína puede contribuir a la estimulación nerviosa central tras la administración de grandes dosis (por ejemplo, 100 mg/kg o más). A diferencia, el isómero D de cisteína no se encuentra normalmente en cantidades sustanciales dentro del cuerpo, y no es un sustrato para procesos metabólicos que implican a la L-cisteína tales como la síntesis de glutatión. Además, la D-cisteína no es un sustrato importante para los transportadores de aminoácidos que son específicos del isómero L. Como se ilustra en el presente documento, la D-cisteína puede invertir eficazmente un bloqueo neuromuscular por agente bloqueante neuromuscular. Además, 100 mg/kg de D-cisteína provocan menos de un aumento en la tensión arterial media que la L-cisteína, de acuerdo con la probabilidad de menos entrada en el sistema nervioso central.

Se probaron compuestos de NMBA seleccionados como se describe en la solicitud de patente PCT/US2010/000796, publicada como WO2010/107488 (véanse las páginas 66-78). Se generaron curvas de dosis-respuesta para el bloqueo de sacudidas por los compuestos de prueba como se han descrito. Para garantizar la mínima influencia acumulada / residual en estos datos, se hizo dosificación secuencial en modo de aumento de dosis. Se separaron dosis sucesivas por al menos tres semividas estimadas más allá de la recuperación completa de la dosis previa hasta TOF del 110-120 %, que es normal para estos monos. Solo la primera o dos dosis que dan del 5 al 99 % de bloqueo se incluyeron de cualquier experimento único para el cálculo de los datos de dosis-respuesta. Se hicieron estudios comparativos de recuperación espontánea frente al antagonismo/inversión de al menos 3 semividas estimadas tras los estudios de dosis-respuesta. Se calcularon DE50 y DE95 a partir de la regresión del logaritmo de la dosis frente al logit del porcentaje de bloqueo de sacudida. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Como es evidente, para los 13 compuestos informados en la Tabla 1, todos mostraron alta potencia (0,05 a 0,25 mg/kg de dosis real) y corta duración de la acción (aproximadamente 12 minutos a por debajo de 5 minutos, dependiendo del compuesto específico).

La Figura 1 es un gráfico que muestra los datos de un estudio de respuesta a dosis para el compuesto 1759-50 (también conocido como el compuesto 1726-01):



en monos rhesus. Un análisis estadístico proporciona un valor de DE95 de  $0,054 \pm 0,0022$  mg/kg. Para comparación, se determinó que el gantacurio tenía una DE95 en un estudio de control de  $0,063 \pm 0,0021$  mg.kg.

La Figura 2 muestra un transcurso de tiempo de recuperación espontánea para una dosis de 0,06 mg/kg del mismo compuesto. Como puede apreciarse, el bloqueo neuromuscular dura aproximadamente seis minutos, sin efecto aparente sobre la tensión arterial, y, a diferencia de la succinilcolina, no hay efecto aparente sobre la frecuencia cardíaca. Así, el efecto secundario no deseado de la taquicardia no está inducido por un compuesto de la invención a una dosis eficaz para inducir NMB.

La Figura 3 muestra un transcurso de tiempo de la respuesta de sacudida para el bloqueo neuromuscular inducido por el compuesto 1759-50 a una dosis de 4x dosis DE95, comparando la inversión espontánea frente a la inversión con 30 mg/kg de clorhidrato de L-cisteína. La inversión espontánea a esta alta dosificación requirió aproximadamente 11 minutos, mientras que la dosis de L-cisteína terminó el bloqueo neuromuscular aproximadamente dos minutos tras la administración.

La Figura 4 muestra un transcurso de tiempo de la respuesta de sacudida para el bloqueo neuromuscular inducido por el compuesto 1759-50 al 100 % de bloqueo. Como puede apreciarse, la inversión inducida por cisteína se produce en el plazo de aproximadamente 2 minutos, en comparación con más de 10 minutos para la inversión espontánea del bloqueo.

La Figura 5 muestra una comparación de la relación del 5-95 % del intervalo de recuperación de la sacudida con respecto a la duración de la infusión del compuesto 1759-50 en el mono rhesus. Como puede apreciarse, el tiempo medio para la recuperación, espontánea o inducida por L-cisteína, no está significativamente afectado por la duración previa de la infusión por el NMBA.

Estos datos indican que la recuperación del bloqueo neuromuscular inducido por el compuesto 1759-50, tanto en bolo como infusión, no está afectada por la dosificación o duración de la infusión, y que inversiones por 30 mg/kg de L-cisteína son igual de eficaces en cualquier momento tras la administración en bolo o infusión.

Tabla 1.

Compuesto	Categoría química de ácido/éster	Cuaternario ("derecho") N.º 2	DE 95 (mg/kg)	Duración (min ± DE)	Dosis administrada real (mg/kg)	(n)	Reversibilidad (Cisteína)
1521-78 (1566-14)	Maleato	Morfolinio	0,05	12,1 ± 2,1	0,05	11	Sí
1521-83 (1566-07)	Maleato	Morfolinio	0,07	7,9 ± 2,3	0,08	22	Sí
1343-13 (1343-47)	Maleato	Pirrolidinio	0,06	8,8 ± 2,6	0,06	19	Sí
1390-80	Maleato	Pirrolidinio	0,07	9,0 ± 2,1	0,08	11	Sí
1598-46	Clorofumarato	Morfolinio	0,1	6,8 ± 2,3	0,1	4	Sí
1521-74	Clorofumarato	Morfolinio	0,16	4,3 ± 1,1	0,16 - 0,20	3	Sí
1566-22	Clorofumarato	Morfolinio	0,19	3,7 ± 0,3	0,24 - 0,25	3	Sí
1326-69 (1302-47)	Clorofumarato	Pirrolidinio	0,11	4,5 ± 1,8	0,1	10	Sí
1343-05	Clorofumarato	Piperidinio	,07	6,7 ± 2,1	0,5 - 0,8	5	Sí
1759-85	Maleato	Morfolinio	0,22	5,4 ± 1,3	0,2	4	Sí
1726-01 (1759-50)	Maleato	Morfolinio	0,05	7,6 ± 2,4	0,05	11	Sí
1625-01	Maleato	Morfolinio	0,09	6-9	0,10	6	Sí
1759-58	Maleato	Morfolinio	0,064	6-8	0,05 - 0,06	8	Sí
1625-05	Maleato	Morfolinio	0,09	6	-	-	Sí
1566-01	Clorofumarato	Morfolinio	0,61	8	0,06	1	Sí
1521-34	Maleato	Morfolinio	0,47	14	,05	2	Sí
1521-08	Maleato	Morfolinio	,103	10	,10	7	Sí
1449-35	Maleato	Pirrolidinio	,126	5	,10	2	Sí
1521-28	Maleato	Pirrolidinio	,335	6,5	0,4	1	Sí

Todos los compuestos son isoquinolinio para el cuaternario N.º 1 (lado izquierdo).

La Tabla 2 muestra datos que indican la duración total y los intervalos de recuperación del 5-95 %, espontánea e inducida por L-cisteína (30 mg/kg), de bloqueo neuromuscular con el compuesto 1759-50.

Tabla 2:

Inversión de CW 1759-50 por L-cisteína frente a recuperación espontánea en monos tras la dosificación en bolo e infusiones								
Puntos clave	Dosis mg/kg	DE	n	Duración total (min)* (recuperación espontánea)	Intervalo del 5-95 % (recuperación espontánea)	n	Intervalo del 5-95 % con L-cisteína	n
	0,05-0,06	DE <sub>99</sub>	57	7,3 ± 0,3	5,2 ± 0,2	33	NA	NA
<b>Punto "A"****</b>	0,2	4x DE <sub>95</sub>	55	11,9 ± 0,3	6,2 ± 0,2	45	1,9 ± 0,2	9
<b>Punto "B"****</b>	Infusiones continuas, 30-120 min		22	NA	5,2 ± 0,3	11	2,1 ± 0,2	11

\* Desde la inyección hasta el 95 % de altura de sacudida tras la dosis en bolo

\*\* Dosificación de L-cisteína 30 mg/kg

\*\*\* Intervalos de recuperación comparativos (espontánea frente a inversión por L-cisteína) cuando se administra L-cisteína a +1 min tras la dosificación en bolo de 4x DE<sub>95</sub> (0,2 mg/kg)

\*\*\*\* Intervalos de recuperación comparativos (espontánea frente a inversión por L-cisteína) cuando se administra L-cisteína a +1 min tras la retirada de la infusión.

a p<0,01 frente a recuperación espontánea

b p>0,05, inversión de 4x DE<sub>95</sub> frente a la inversión de infusiones

5

Tabla 3: Comparación del compuesto 1759-50 con gantacurio

	Dosis (mg/kg)	Bloqueo (%)	Aparición (s)	Duración total (min)	n
Gantacurio	0,064 ± 0,010	99,2 ± 0,5	97,1 ± 11,7	7,4 ± 1,9	9
CW1759-50	0,060 ± 0,012	99,3 ± 0,2	94,0 ± 8,7	8,2 ± 1,5	8

Con respecto al % de bloqueo, tiempo hasta la aparición y duración total del efecto, el compuesto 1759-50 es comparable al gantacurio en potencia.

Estudios en monos rhesus anestesiados

10 Preparación y cuidado de animales

Los experimentos fueron autorizados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales del Colegio Médico de Weill de la Universidad de Cornell (Nueva York, Nueva York) y del Colegio Médico de Albany (Albany, Nueva York), donde se realizaron los estudios. Se estudió una colonia de 10 monos macho adultos (*Macaca mulatta*) que pesaban 8-18 kg a intervalos de ~ 6 semanas. Los animales se alojaron y se cuidaron según la Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Research Council, Washington, DC). Se alimentaron con una dieta estándar para monos del viejo mundo, enriquecida con frutas y verduras, y otras novedades dietéticas y fueron seguidos durante todo el estudio para verificar la salud normal por examen físico, peso corporal y estudios de laboratorio clínico (hemograma completo, nitrógeno ureico en sangre y creatinina y pruebas de la función hepática).

15

Anestesia y sistema experimental

20

El día de cada estudio, los monos recibieron ketamina (7-10 mg/kg i.m.) seguido de intubación traqueal bajo anestesia tópica con 4 % de lidocaína. La ventilación se controló a 10 ml/kg y 20 respiraciones/min con isoflurano (1,0 - 2,0 %) y N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub> (mezcla 2:1). Se administró Ringer lactato a ~10 ml kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Se monitorizó la tensión arterial desde una cánula femoral, tibial superficial o radial (22 de calibre). Se midió la frecuencia cardíaca por tacógrafo de

la onda de pulso arterial. La temperatura central se mantuvo a 36,5-38,0 °C por mantas térmicas. Se monitorizaron continuamente el electrocardiograma y la oximetría de pulso.

5 Se colocaron electrodos de aguja (25 de calibre) que transmiten pulsos de onda cuadrada de 0,2 ms de duración a tensión supramáxima que se generaron por un estimulador Grass S-88 (Grass Instruments, Quincy, MA) en el nervio peroneo en la rodilla para provocar respuestas de sacudida del extensor digital del pie a 0,15 Hz. Se diseccionó libre una pequeña vía (10-20 %) del tendón bajo técnica estéril y se ató a un transductor de fuerza Grass FT 10 (Grass Instruments, Quincy, MA) a una tensión del nivel inicial de 50 gm. Se interpuso estimulación por tren de cuatro (TOF, 2 Hz durante 2 s) en puntos apropiados, especialmente 1-2 min antes de la dosificación de NMBA y tras la recuperación de la sacudida al 95 % del inicial, donde TOF se evaluó posteriormente cada 1-2 min.

10 Los registros de los datos circulatorios y neuromusculares se hicieron en un polígrafo Grass 7B (Grass Instruments). Se dejó un periodo de nivel inicial de 15-20 min para la estabilización de registros antes de la dosificación.<sup>2</sup>

Al final de cada experimento, los animales estaban debilitados, se administraron analgésicos por práctica veterinaria, y los animales se devolvieron a sus domicilios y se atendieron hasta que se pusieron de pie.

#### Determinación de la potencia y duración del bloqueo neuromuscular

15 Se generaron curvas de dosis-respuesta para el bloqueo de sacudidas por gantacurio, CW 002, CW 011, cisatracurio, CW002-Cys, NB 938-69, NB 1064-81, NB 802-17 (CW 001), NB 832-65 y NB 1163-79, cuyas estructuras se han mostrado todas anteriormente, del siguiente modo. Para garantizar la influencia acumulada / residual mínima en estos datos, se hizo dosificación secuencial en modo de aumento de dosis. Se separaron dosis sucesivas por al menos tres semividas estimadas más allá de la recuperación completa de la dosis previa hasta TOF del 110-120 %, que es normal para estos monos. Solo se incluyeron la primera o dos dosis que dan del 5 al 99 %  
20 bloqueo de cualquier experimento individual para el cálculo de datos de dosis-respuesta.

Estudios comparativos de recuperación espontánea frente al antagonismo/inversión se hicieron al menos 3 semividas estimadas tras los estudios de dosis-respuesta.

25 Se calcularon DE50 y DE95 a partir de la regresión del logaritmo de la dosis frente a logit del porcentaje de bloqueo de sacudida.

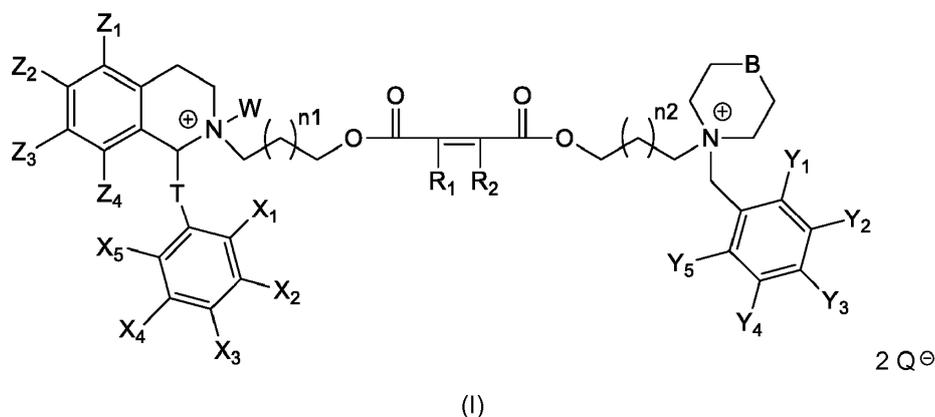
#### Inversión del bloqueo neuromuscular por cisteína

##### Definiciones

DE95:	La dosis calculada requerida para el 95 % de bloqueo de la sacudida
TOF	Relación del tren de cuatro, T4/T1 tras 2 Hz durante la estimulación de 2 s
Duración de la acción:	Duración de la inyección para la recuperación de la sacudida al 95 % de la altura de control
5-95 % del tiempo de recuperación:	Intervalo de tiempo para la recuperación de sacudidas del 5 % al 95 % de altura de sacudida
Inversión clásica o antagonismo:	Antagonismo del bloqueo al 2 % de altura de sacudida
Inversión inmediata o antagonismo:	Antagonismo del bloqueo 1 min tras la inyección de 2-6x dosis DE95 de NMB
Inversión plena o inversión completa o antagonismo completo:	Recuperación de la sacudida al 95 por ciento o más de la altura de control, y TOF a un valor del 100 % o más
Inversión química:	Abolición del bloqueo neuromuscular por conversión del fármaco de bloqueo neuromuscular activo en un derivado inactivo en una reacción puramente química que no requiere catalizador enzimático
Dosis completamente eficaz de cisteína:	Dosis requerida para restaurar la función neuromuscular a normal, es decir, sacudida > 95 % y TOF 100 % o más, en el plazo de 5 minutos o menos.

REIVINDICACIONES

1. Un agente bloqueante neuromuscular de fórmula (I)



5 en la que cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> está seleccionado independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y halógeno, y R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden estar dispuestos en una configuración *cis* o *trans* en los dos átomos de carbono de doble enlace a los que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> están respectivamente unidos;

T está seleccionado del grupo que consiste en CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>, en la que si T es CH<sub>3</sub>, el grupo fenilo con los sustituyentes X<sub>1</sub> - X<sub>5</sub> no está presente;

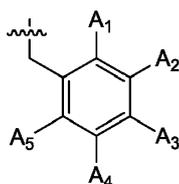
10 B está seleccionado del grupo que consiste en CH<sub>2</sub>, O, NR, y un enlace sencillo directo, en la que R es H, alquilo (C<sub>1-6</sub>) o acilo (C<sub>1-6</sub>);

n<sub>1</sub> y n<sub>2</sub> son cada uno independientemente igual a 0, 1, 2 o 3;

15 cada uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> y X<sub>5</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> o X<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi; cada uno de Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> y Y<sub>5</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno, hidroxilo o metoxi, o dos Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> o Y<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

cada uno de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> y Z<sub>4</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno hidroxilo o metoxi, o dos Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> o Z<sub>4</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi;

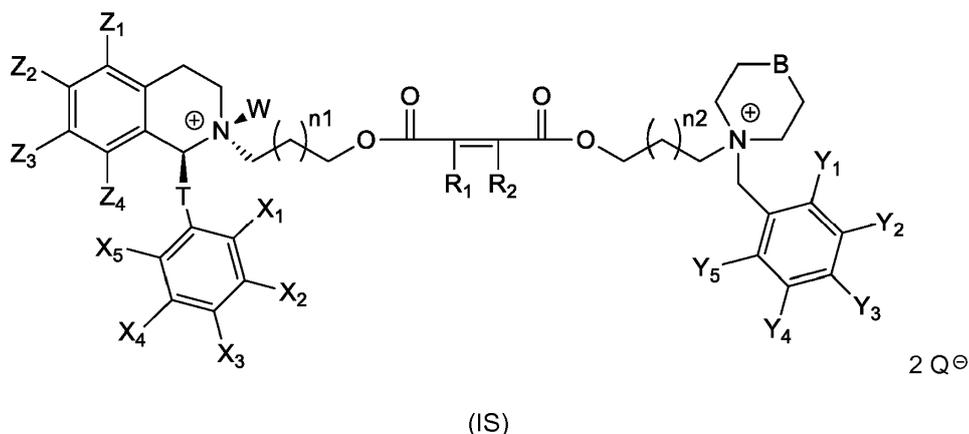
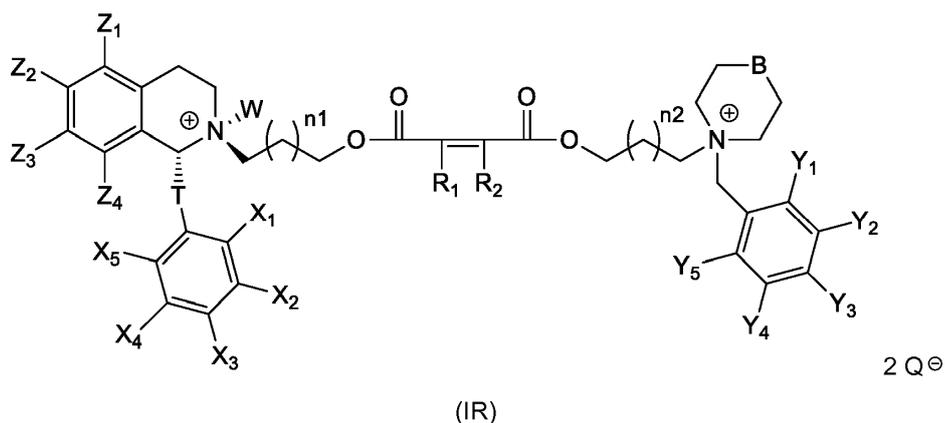
W está seleccionado del grupo que consiste en metilo y un grupo bencilo de fórmula:



20 en la que cada uno de A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>5</sub> es independientemente en cada aparición hidrógeno o metoxi, o dos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> o A<sub>5</sub> cualesquiera adyacentes forman juntos un grupo metilendioxi o etilendioxi, y una línea ondulada indica un punto de enlace; y,

en la que cada Q<sup>⊖</sup> es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado.

2. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 1 de fórmula (IR) y/o de fórmula (IS):



en las que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>5</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub>, Y<sub>5</sub>, Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub>, Z<sub>4</sub>, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, W, B, Q<sup>⊖</sup> y T son como se definen en la reivindicación 1.

5 3. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 1, en el que:

al menos uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> o X<sub>5</sub> no es hidrógeno; o al menos uno de Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> o Y<sub>5</sub> no es hidrógeno; o al menos uno de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> o Z<sub>4</sub> no es hidrógeno; o al menos uno de A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> o A<sub>5</sub> no es hidrógeno; o cualquier combinación de los mismos;

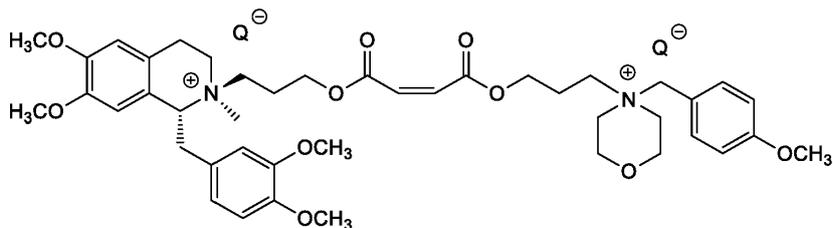
10 X<sub>2</sub> y X<sub>3</sub> son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o Y<sub>2</sub> y Y<sub>3</sub> son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o Z<sub>2</sub> y Z<sub>3</sub> son ambos metoxi o juntos forman metilendioxi o etilendioxi, o cualquier combinación de los mismos;

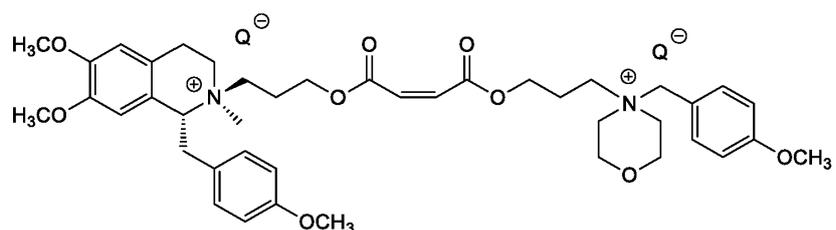
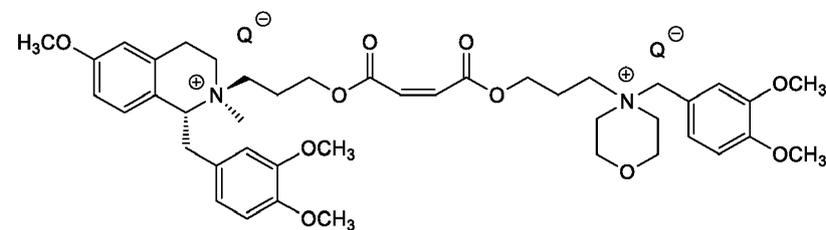
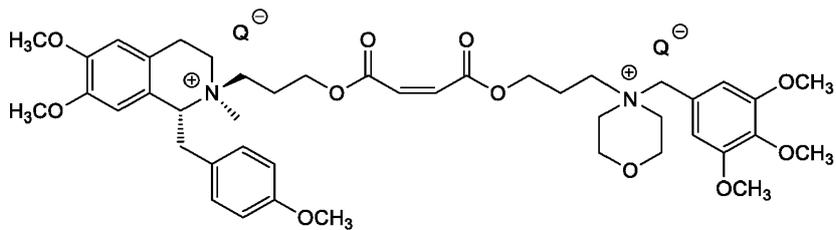
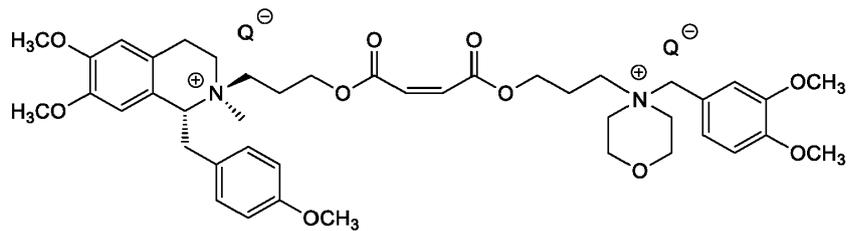
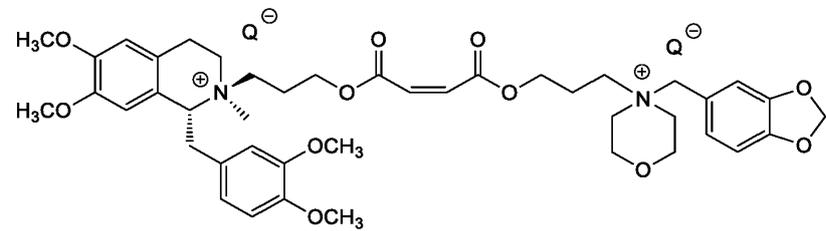
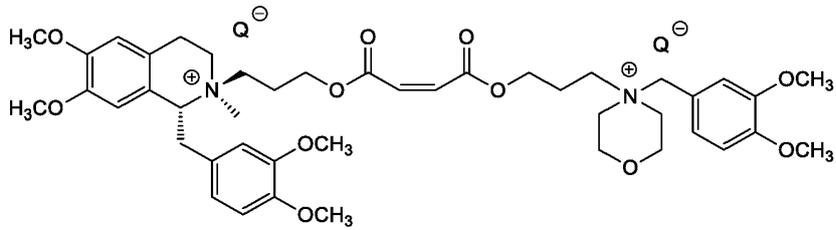
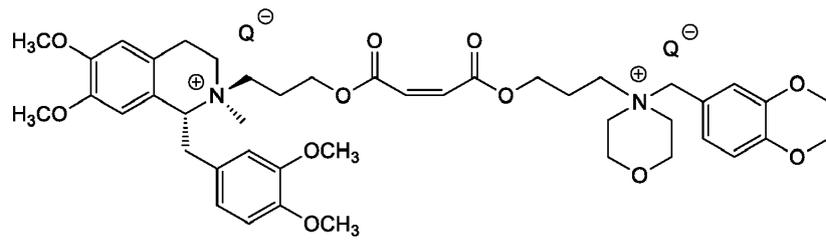
T es CH<sub>2</sub> y está presente el anillo de fenilo que lleva X<sub>1</sub> - X<sub>5</sub>;

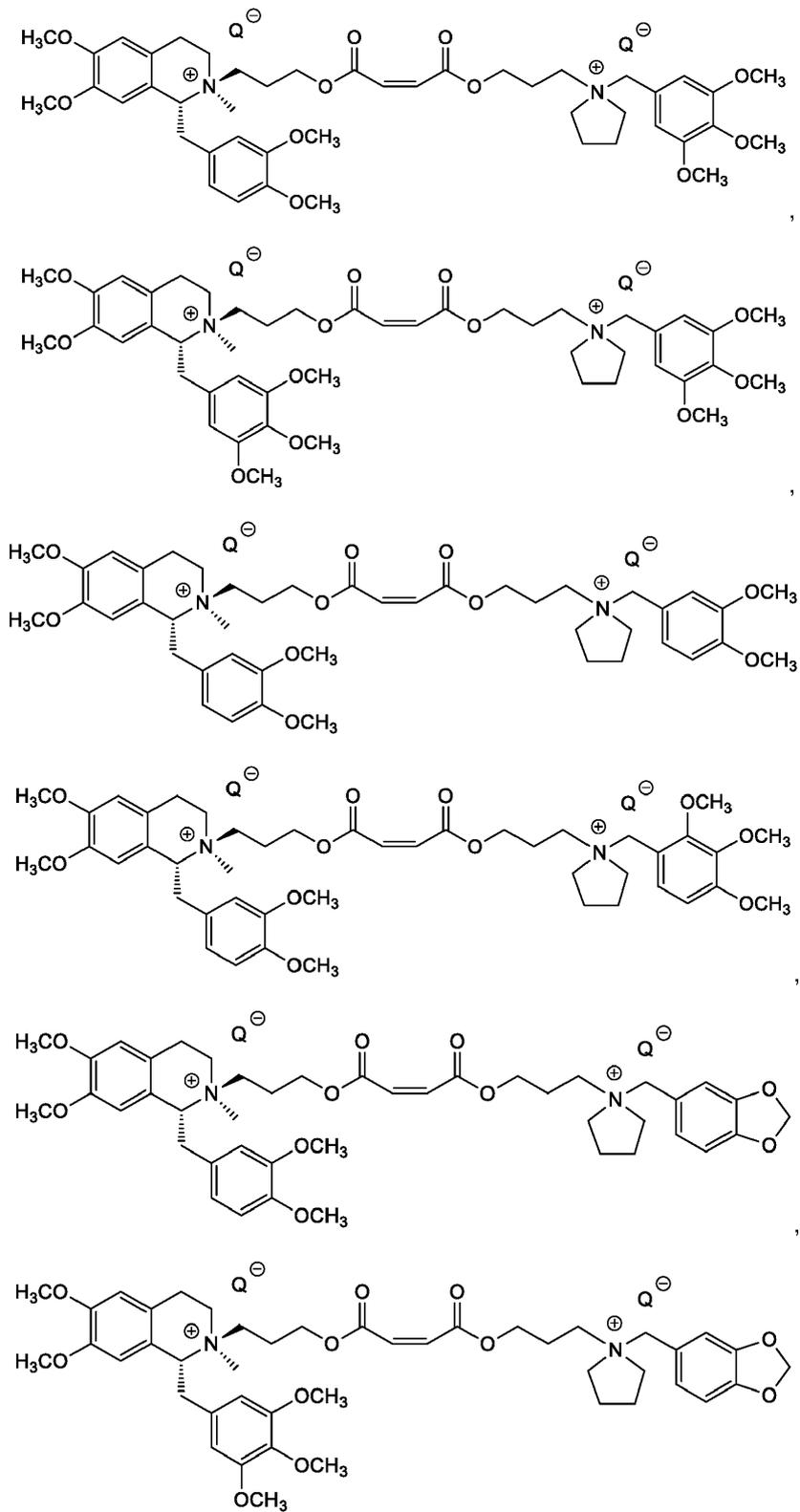
B es oxígeno o B es un enlace sencillo directo;

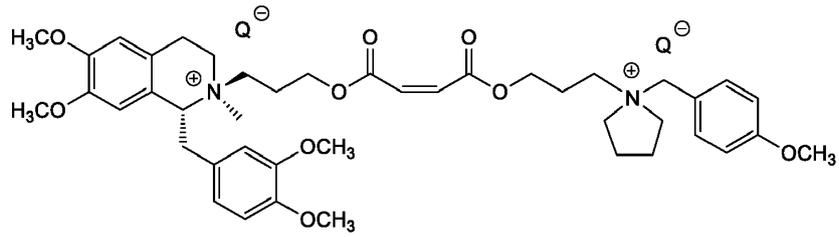
n<sub>1</sub> y n<sub>2</sub> son cada uno igual a 1.

15 4. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 1 que comprende un diéster de maleato seleccionado de:



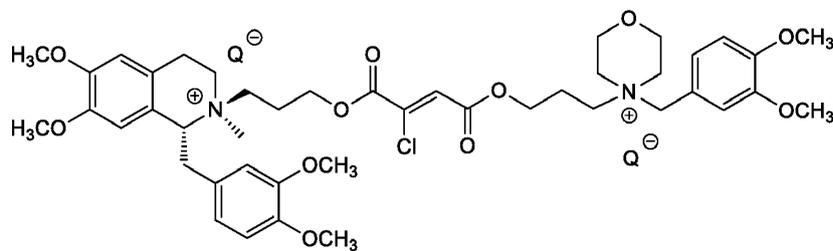
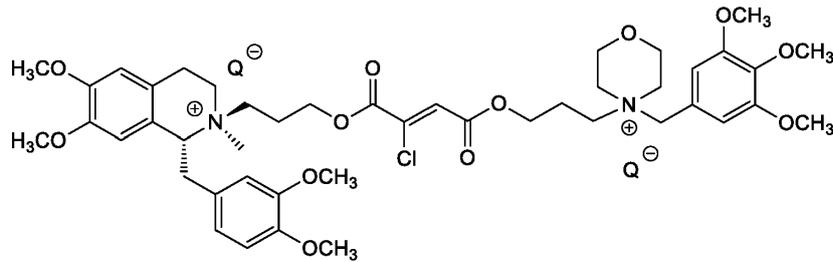
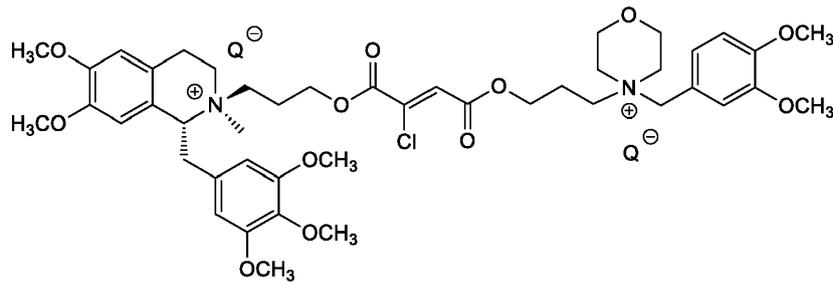
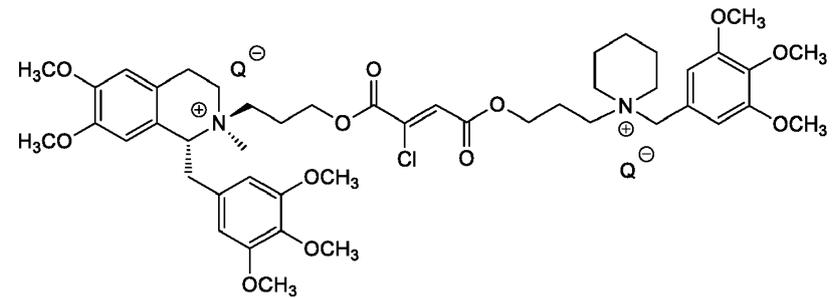


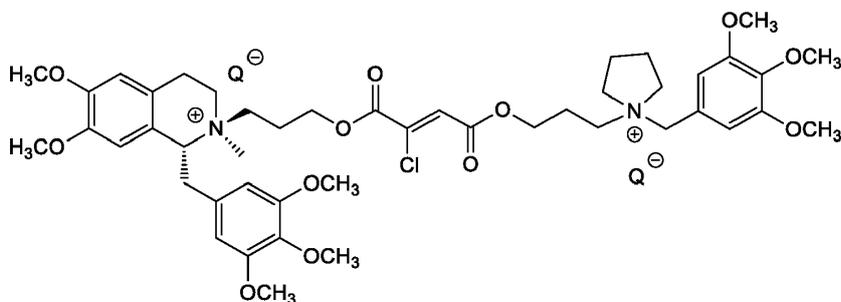
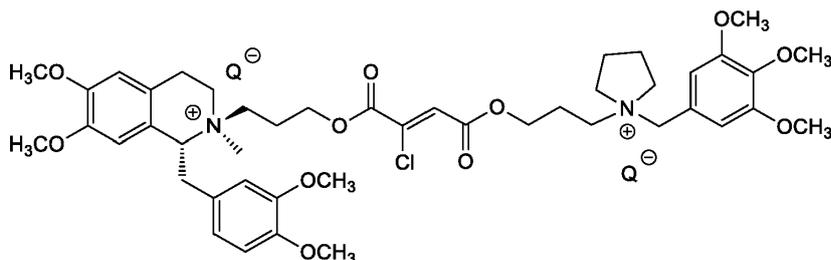
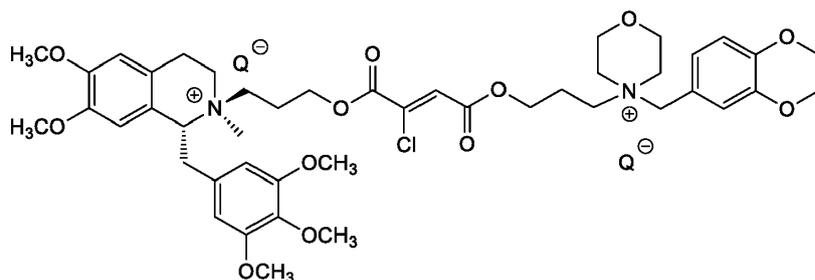




en las que cada  $Q^{\ominus}$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado.

5. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 1 que comprende un diéster de clorofumarato seleccionado de:





o cualquier combinación de los mismos,

5 en la que cada  $Q^{\ominus}$  es un anión farmacéuticamente aceptable independientemente seleccionado.

6. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 1, en el que el compuesto produce, tras la administración de una cantidad eficaz del compuesto a un paciente, un bloqueo neuromuscular; y en el que la cantidad eficaz puede ser aproximadamente 0,01-10 mg por kg de peso corporal del paciente.

10 7. El agente bloqueante neuromuscular de la reivindicación 6, en el que el bloqueo neuromuscular es reversible por administración al paciente de una cantidad eficaz de un compuesto de tioril, en el que el compuesto de tioril puede ser L-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, D-cisteína o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, glutatión o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o cualquier combinación de los mismos.

15 8. Una forma de dosificación para administración parenteral que comprende 0,1 mg a 500 mg del agente bloqueante neuromuscular de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso para paralizar un sujeto mamífero, en un disolvente biocompatible adecuado.

9. El agente bloqueante neuromuscular de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso para la inducción de un bloqueo neuromuscular en un mamífero.

20 10. El agente bloqueante neuromuscular para el uso de la reivindicación 9, en el que el mamífero se somete a anestesia general o se somete a un procedimiento quirúrgico, y/o en el que el mamífero es un ser humano, o es un animal doméstico o de zoológico.

11. El agente bloqueante neuromuscular para el uso de la reivindicación 9 o 10, comprendiendo el uso además la inversión del bloqueo neuromuscular administrando una cantidad eficaz de al menos uno de L-cisteína, D-cisteína, o una mezcla de las mismas; N-acetilcisteína; glutatión; homocisteína; metionina; S-adenosil-metionina; o penicilamina; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 12. El agente bloqueante neuromuscular para el uso de la reivindicación 11, en el que la cantidad eficaz se administra por vía intravenosa, en combinación con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable; en el que la cantidad eficaz se administra en una dosificación de 0,1 mg/kg a 500 mg/kg; y/o en el que el mamífero es un ser humano, o es un animal doméstico o de zoológico.

13. Un kit que comprende:

(a) una cantidad eficaz de un agente bloqueante neuromuscular de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7,

5 (b) una cantidad eficaz de un antagonista para el agente bloqueante neuromuscular que comprende al menos uno de L-cisteína, D-cisteína, o una mezcla de las mismas; N-acetilcisteína; glutatión; homocisteína; metionina; S-adenosil-metionina; o penicilamina; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; y

(c) instrucciones que informan al usuario sobre cómo emplear el antagonista para invertir los efectos del agente bloqueante neuromuscular en el mamífero al que se administra el agente bloqueante.

14. El kit de la reivindicación 13, en el que (a), (b) y (c) están envasados por separado,

en el que el agente bloqueante neuromuscular es un polvo o sólido soluble en agua;

10 en el que el antagonista para el agente bloqueante neuromuscular es un polvo o sólido soluble;

en el que el agente bloqueante neuromuscular y el antagonista del mismo se administran por vía intravenosa, en combinación con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable, y las instrucciones incluyen indicaciones para la mezcla del polvo o sólido soluble con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable; y/o

15 en el que el antagonista es cisteína seleccionada del grupo que consiste en L-cisteína, D-cisteína, una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y cualquier combinación de las mismas.

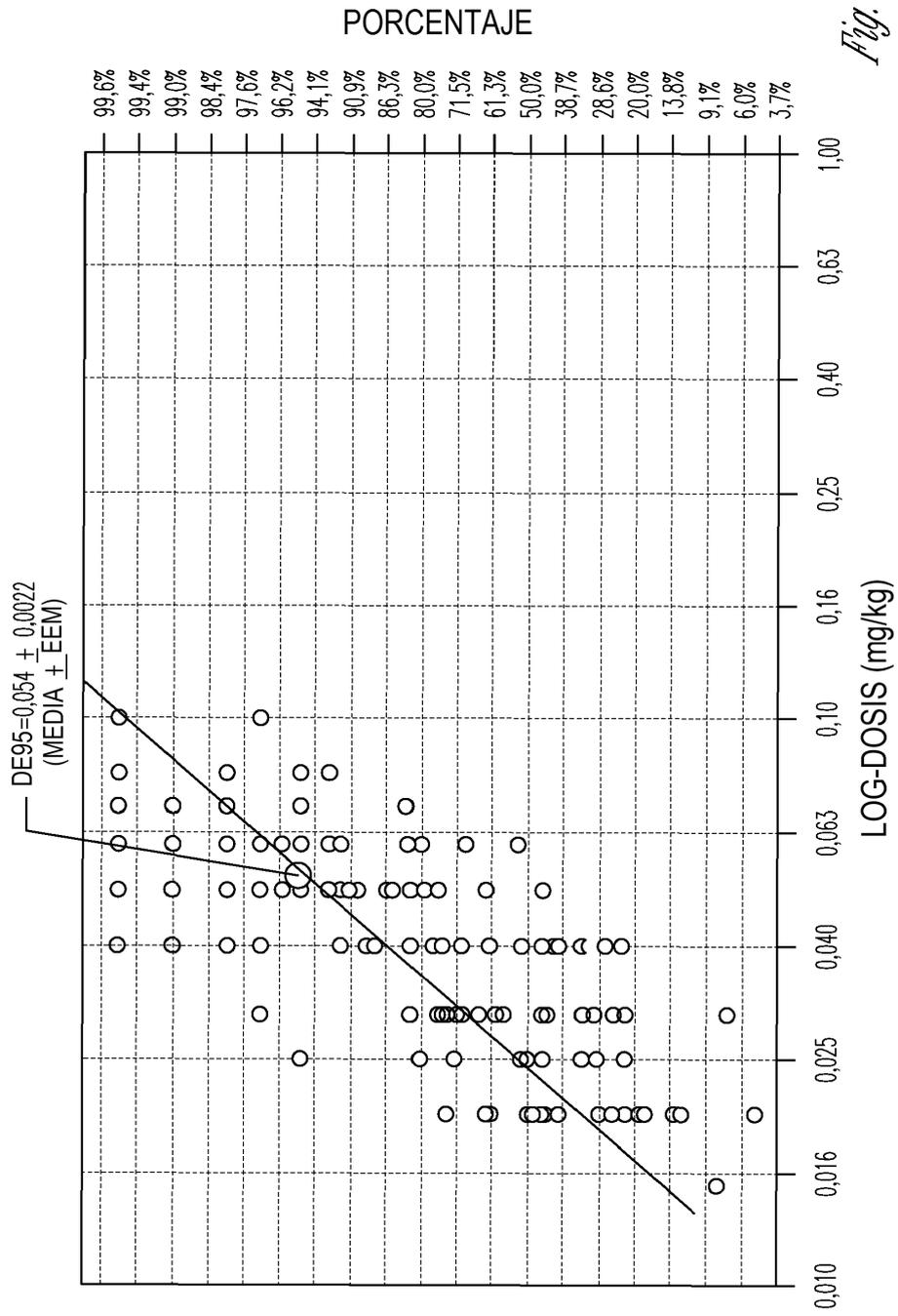
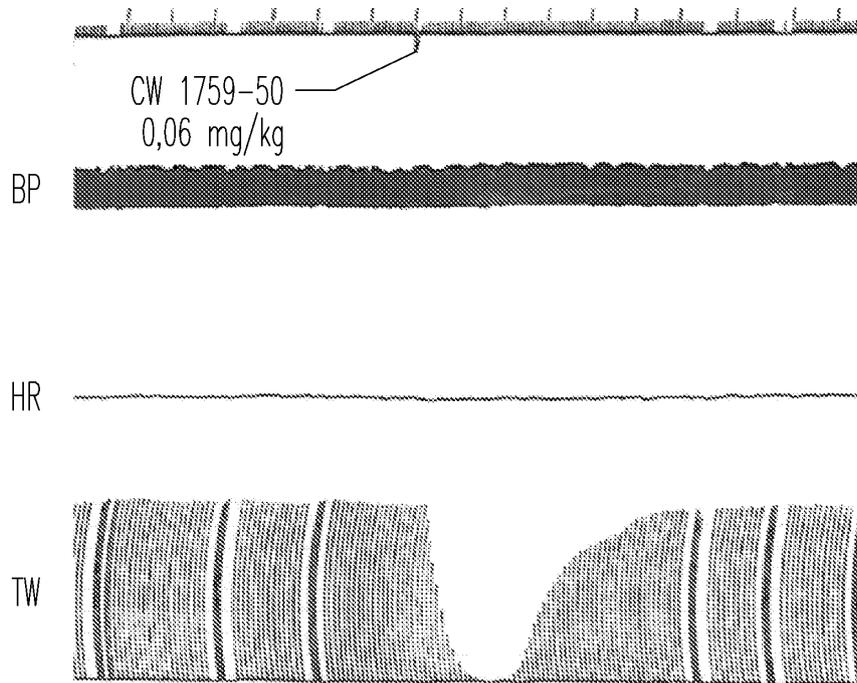


Fig. 1



*Fig. 2*

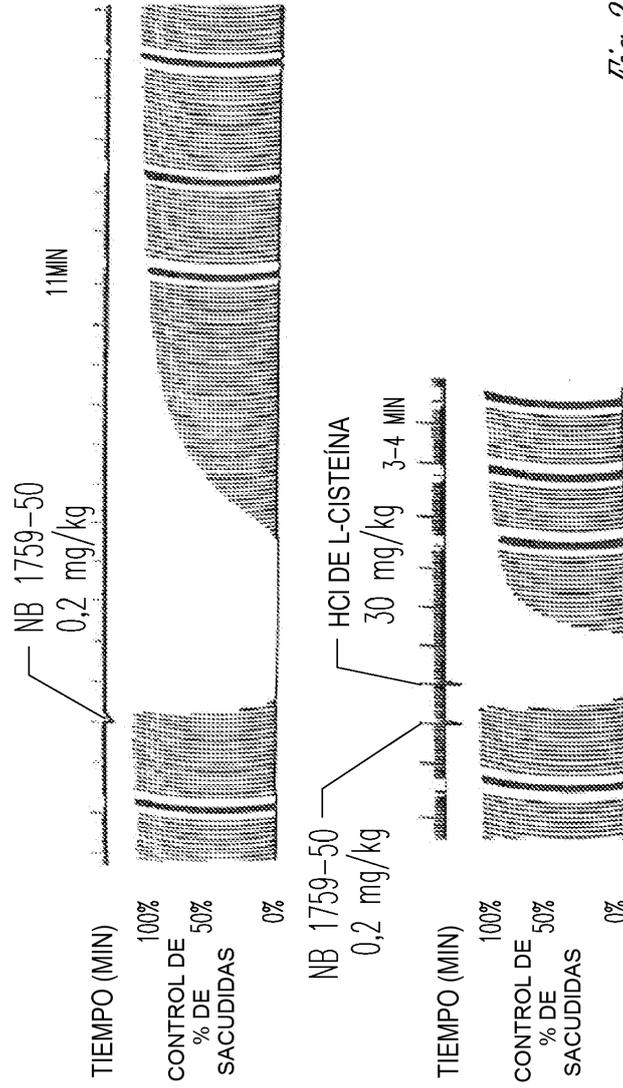


Fig. 3

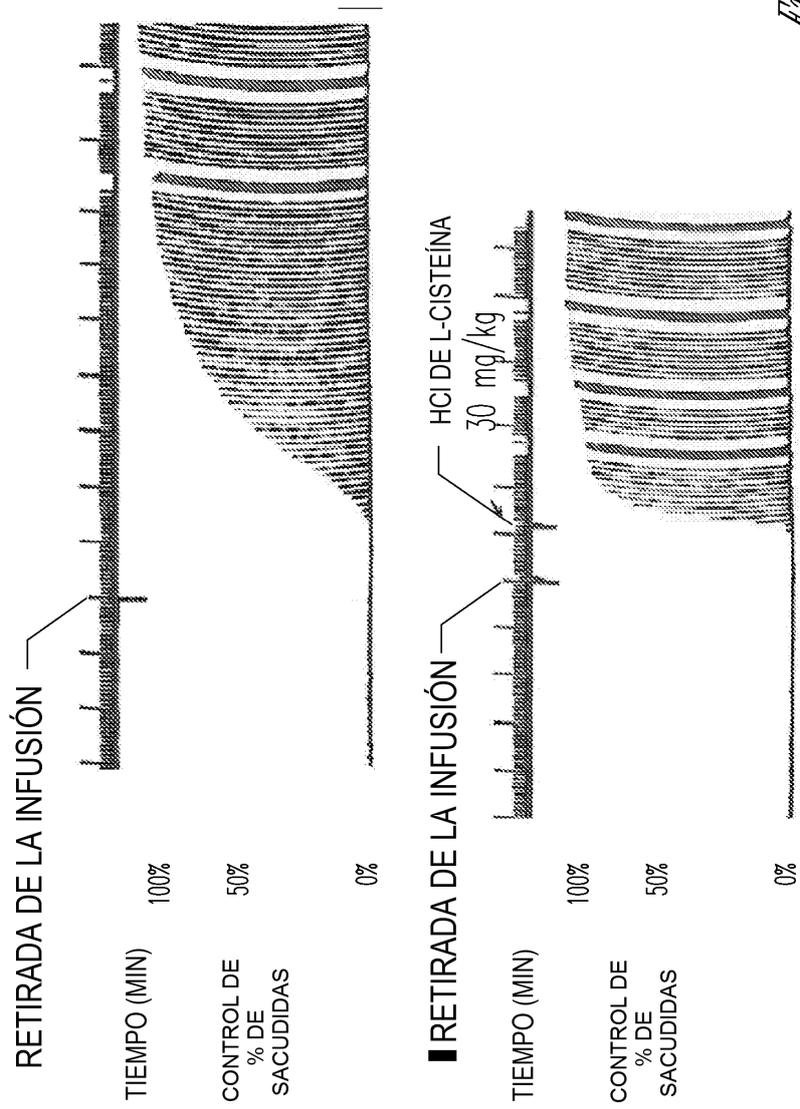


Fig. 4

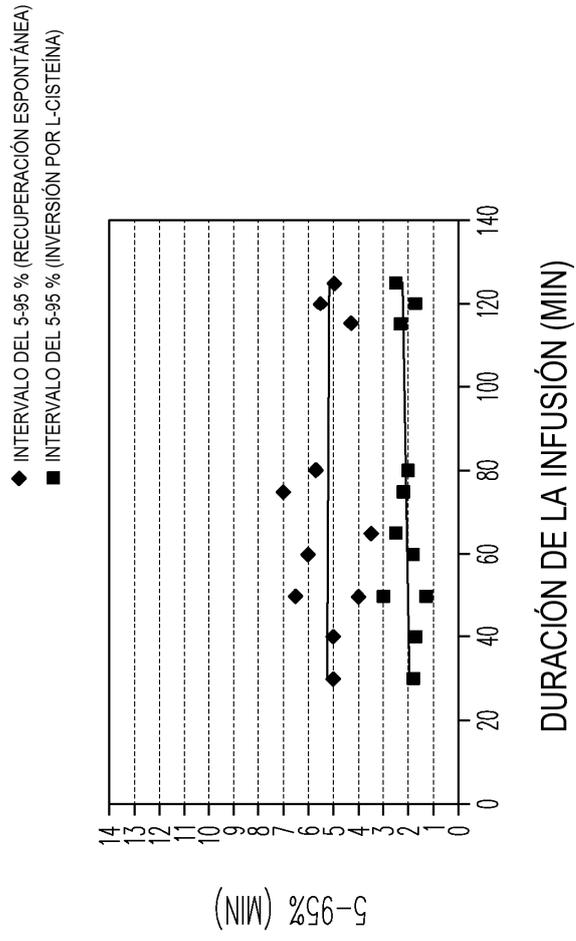


Fig. 5