



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-075843-00000-0000

Fecha: 2011-06-17 12:35:09

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eva: 378 FASENACIONALI

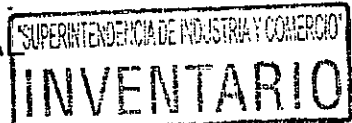
Act. 411 PRESENTACION

Folios: 105

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL



División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

11-75843

54. TÍTULO

SINTESIS DE NOVEDOSAS FORMAS DE SALES DE (R)-3-((E)-2-

(PIRROLIDIN-3-IL) VINIL)-5-(TETRAHIDROPIRAN-4-ILOXI)

PIRIDINA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

TARGACEPT, INC.

DOMICILIO

WINSTON-SALEM, NORTH CAROLINA, U.S.A.

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,

C
01-09-2011

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-075843- -00000-0000

Fecha: 2011-06-17 12:35:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 105

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.
☒ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **TARGACEPT, INC.**
Sociedad constituida y existente bajo las
leyes del Estado de Delaware, Estados
Unidos de América.

Dirección: 200 East First Street, Suite 300,
Winston-Salem,
North Carolina 27101,
Estados Unidos de América

Domicilio: Winston-Salem,
North Carolina,
Estados Unidos de América

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número 35.456.344 T.P 23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. **Srinivisa Rao AKIREDDY**
5829 Fox Point Circle,
Winston-Salem,
North Carolina 27104,
Estados Unidos de América

3. **Timothy J. CUTHBERTSON**
2661 Belwick Village,
Winston-Salem,
North Carolina 27106,
Estados Unidos de América

5. **Gregory J. GATTO**
1148 S. Hawthorne Road,
Winston-Salem,
North Carolina 27103,
Estados Unidos de América

7. **Philip S. HAMMOND**
1162 Bradley Road,
Pinnacle,
North Carolina 27043,
Estados Unidos de América

9. **Julio A. MUÑOZ**
214 Lakeside Drive,
Walnut Cove,
North Carolina 27052,
Estados Unidos de América
2. **Scott R. BREINING**
2363 Rosewood Avenue,
Winston-Salem,
North Carolina 27103,
Estados Unidos de América

4. **Gary Maurice DULL**
6025 Shallowford Road, Lewisville
Winston-Salem,
North Carolina 27023,
Estados Unidos de América

6. **John GENUS**
313 Tollesbury Court,
Winston-Salem,
North Carolina 27127,
Estados Unidos de América

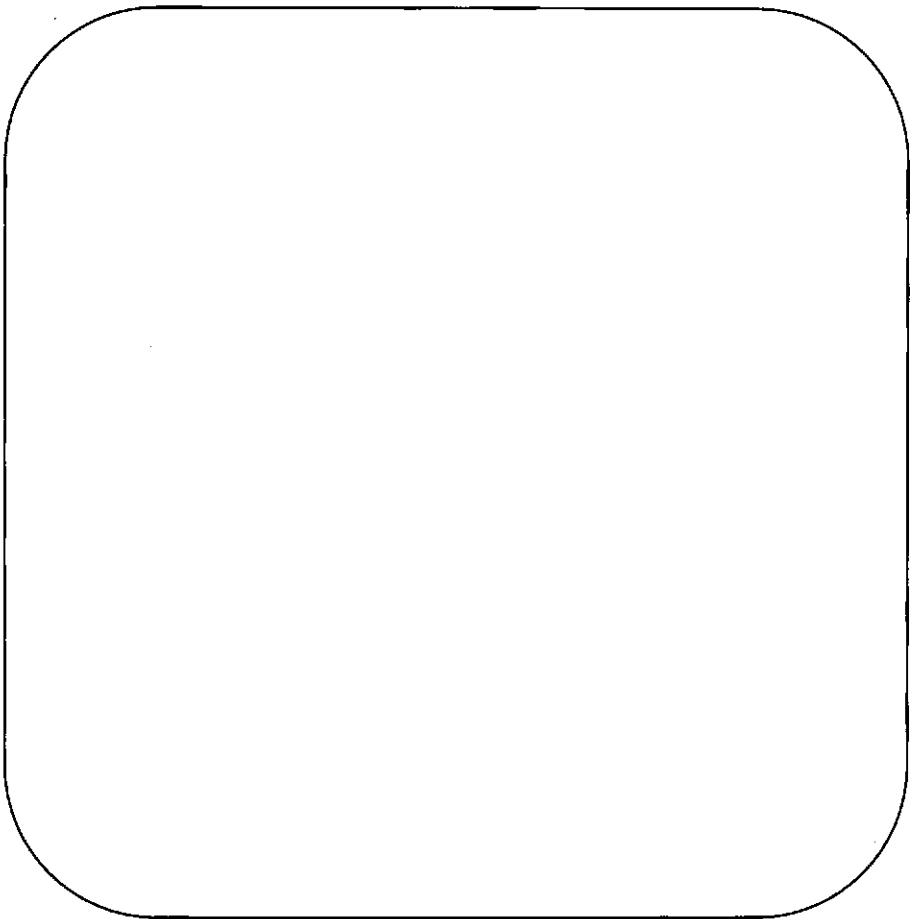
8. **Joseph Pike MITCHENER Jr.**
3609 Wickersham Lane,
Winston-Salem,
North Carolina 27106,
Estados Unidos de América

10. **Pieter Albert OTTEN**
1065 Homestead Place Drive,
King,
North Carolina 27021,
Estados Unidos de América

	11. Daniel YOHANNES 1211 W. 4th Street, Winston-Salem, North Carolina 27101, Estados Unidos de América	12. Nikolai FEDOROV 3950 Tonbridge Lane, Winston-Salem, North Carolina 27106, Estados Unidos de América						
5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/US2009/066092</u> Fecha: <u>30 de noviembre de 2009</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2010/065449 A1</u> Fecha: <u>10 de junio de 2010</u>							
6	Título (54) <u>SÍNTESIS DE NOVEDOSAS FORMAS DE SALES DE (R)-3-((E)-2-(PIRROLIDIN-3-IL)VINIL)-5-(TETRAHIDROPIRAN-4-ILOXI)PIRIDINA</u>							
7	Clasificación Internacional (51) <u>C07D 405/014</u>							
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	<table border="1"><thead><tr><th>(33) País de Origen</th><th>(32) Fecha</th><th>(31) Número de Solicitud</th></tr></thead><tbody><tr><td><u>US</u></td><td><u>01 de diciembre de 2008</u></td><td><u>61/118,885</u></td></tr></tbody></table>	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud	<u>US</u>	<u>01 de diciembre de 2008</u>	<u>61/118,885</u>
(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud						
<u>US</u>	<u>01 de diciembre de 2008</u>	<u>61/118,885</u>						
9	Comprobante de pago No.: <u>11-0054763</u> Fecha: <u>07 de junio de 2011</u> Comprobante de pago No.: <u>11-0049298</u> Fecha: <u>24 de mayo de 2011</u>							
10	Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.oo. ☒ Comprobante de pago por 6 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$162.000.oo. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☒ Poderes, si fuere el caso. ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☒ Declaraciones. ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☐ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS							

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia De Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/065449 A1

Descripción:

Páginas 66 en español

Reivindicaciones: Número (s) 16

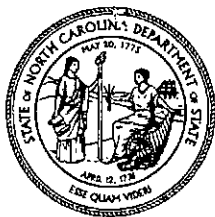
Figuras: Número (s) 3

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

STATE OF NORTH CAROLINA



Department of The
Secretary of State

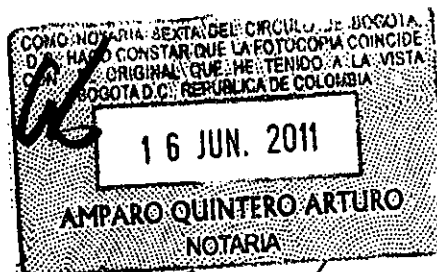
APOSTILLE

(Convention de La Haye 5 octobre 1961)

1. COUNTRY: **UNITED STATES OF AMERICA**
2. This Public Document
has been signed by JULIE P. CRAYNE
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
COMMISSION EXPIRES 6/21/2012
4. bears the seal/stamp of COUNTY OF FORSYTH, NORTH CAROLINA

CERTIFIED

5. at Raleigh, North Carolina
6. the 5TH DAY OF AUGUST, 2009
7. by Secretary of State or Deputy Secretary of State, State of North Carolina
8. No. 19632
9. Seal/Stamp
10. Signature



Claine J. Marshall
Claine J. Marshall

Secretary of State

CAVELIER

ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, B - COLOMBIA

181

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

TARGACEPT, INC.

domiciliado (s) en/of 200 East First Street, Suite 300, Winston-Salem, North Carolina 27101-4165, United States of America

15769
137

Hereby ratify the patent application No. 09.056.352 filed by Emilio Ferrero on June 1, 2009, and,

por el presente nombramos a LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 DANIEL PEÑA, tpa.65620 y GERMAN

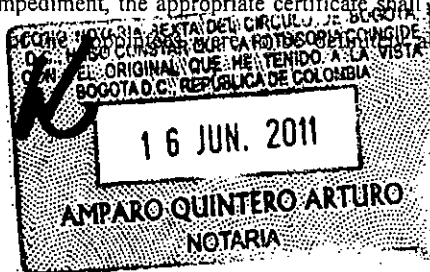
MARIN tpa. 64239, domiciliados en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento

© CAVELIER ABOGADOS

WPC15769 / ID.149642

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 DANIEL PEÑA, tpa.65620 y GERMAN MARIN tpa. 64239

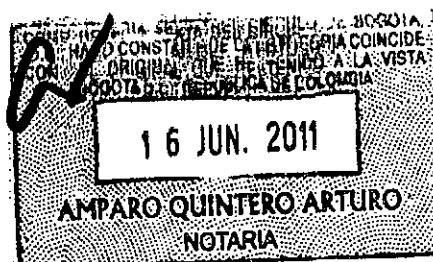
domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any



del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso- administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time. In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.



Dado y firmado hoy/Given and signed this
[ENTER DATE:]

3 August 2009

en/in: Winston-Salem, North Carolina

por/by: Targacept, Inc.

Firma/Signature:

William S. Caldwell, Ph.D

Vice President, Drug Discovery & Development

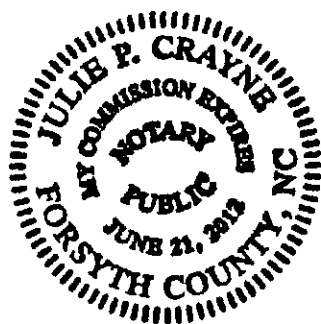
STATE OF NORTH CAROLINA

COUNTY OF Forsyth

I, the undersigned Notary Public for the aforesaid jurisdiction, do hereby certify that William S. Caldwell personally appeared before me this day as Vice President, Drug Discovery & Development, of Targacept, Inc., duly authorized, and acknowledged the due execution of the foregoing document.

Date: 3 day of August, 2009

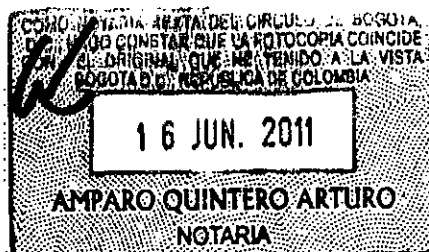
(Official Seal)



Julie P. Crayne
Official Signature of Notary

Julie P. Crayne, Notary Public
Notary's printed name

My commission expires: June 21, 2012



Delaware

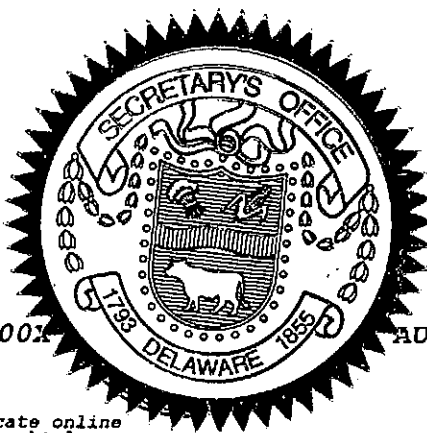
PAGE 1

The First State

I, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED ARE TRUE AND CORRECT COPIES OF ALL DOCUMENTS FILED FROM AND INCLUDING THE RESTATED CERTIFICATE OR A MERGER WITH A RESTATED CERTIFICATE ATTACHED OF "TARGACEPT, INC." AS RECEIVED AND FILED IN THIS OFFICE.

THE FOLLOWING DOCUMENTS HAVE BEEN CERTIFIED:

RESTATED CERTIFICATE, FILED THE EIGHTEENTH DAY OF APRIL, A.D. 2006, AT 11:43 O'CLOCK A.M.



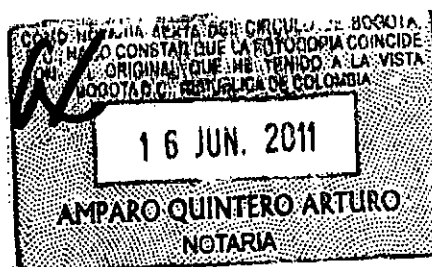
2725940 81001

090733780

You may verify this certificate online
at corp.delaware.gov/authver.shtml

Jeffrey W. Bullock, Secretary of State
AUTHENTICATION: 7443551

DATE: 07-28-09



10

**FOURTH AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION
OF
TARGACEPT, INC.**

Pursuant to Section 242 and Section 245 of the General Corporation Law of Delaware (the "DGCL"), the undersigned corporation hereby submits the following for the purpose of amending and restating its Certificate of Incorporation, as amended, and does hereby certify as follows.

1. The name of the corporation is Targacept, Inc. The corporation's original Certificate of Incorporation was filed on March 7, 1997.

2. The corporation's Certificate of Incorporation is hereby amended and restated in its entirety as set forth in the text of the Fourth Amended and Restated Certificate of Incorporation attached hereto as Exhibit A.

3. This Fourth Amended and Restated Certificate of Incorporation was duly adopted in accordance with Sections 245(c), 242 and 228 of the DGCL and will be effective upon filing.

IN WITNESS WHEREOF, said Targacept, Inc. has caused this Fourth Amended and Restated Certificate of Incorporation to be signed by its President and Chief Executive Officer, this 18 day of April 2006.

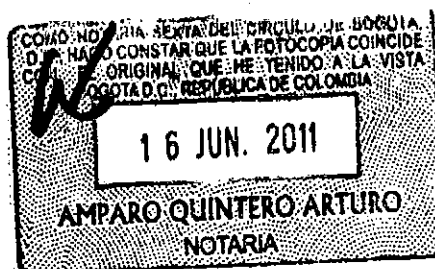
TARGACEPT, INC.

By: 

J. Donald deBethizy

President and Chief Executive Officer

State of Delaware
Secretary of State
Division of Corporations
Delivered 11:47 AM 04/18/2006
FILED 11:43 AM 04/18/2006
SRV 060358269 - 2725940 FILE



11

EXHIBIT A

FOURTH AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION
OF
TARGACEPT, INC.

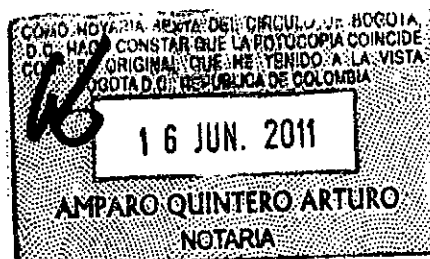
FIRST: The name of the corporation (hereinafter called the "corporation") is Targacept, Inc.

SECOND: The address, including street, number, city and county of the registered office of the corporation in the State of Delaware, is 2711 Centerville Road, Suite 400, City of Wilmington 19808, County of New Castle; and the name of the registered agent of the corporation in the State of Delaware at such address is Corporation Service Company.

THIRD: The purpose of the corporation is to engage in any lawful act or activity for which corporations may be organized under the General Corporation Law of the State of Delaware, as the same now exists or may hereafter be amended.

FOURTH:

1. The total number of shares that the corporation is authorized to issue is One Hundred Five Million (105,000,000), of which: (1) One Hundred Million (100,000,000) shares shall be designated as Common Stock, \$0.001 par value per share ("Common Stock"); and (2) Five Million (5,000,000) shares shall be designated as Preferred Stock, \$0.001 par value per share ("Preferred Stock").
2. The board of directors of the corporation (the "Board") is authorized, subject to any limitations prescribed by law, to provide for the issuance of shares of Preferred Stock in one or more series, to establish from time to time the number of shares to be included in each such series, to increase or decrease the number of shares of any series subsequent to the issue of shares of that series, but not below the number or shares of such series then outstanding, and to fix the designation, powers, preferences, relative, participating optional or other special rights, and any qualifications, limitations and restrictions of the shares of each such series. In case the number of shares of any series shall be so decreased, the shares constituting such decrease shall resume the status that they had prior to the adoption of the resolution originally fixing the number of shares of such series.
3. Each outstanding share of Common Stock shall entitle the holder thereof to one vote on each matter properly submitted to the stockholders of the corporation for a vote; provided, however, that, except as otherwise required by law, holders of Common Stock shall not be entitled to vote on any amendment (including any certificate of designation relating to any series of Preferred Stock) to this certificate of incorporation that relates solely to the terms of one or more outstanding series of Preferred Stock if the holders of such affected series are entitled, either separately or together as a class with the holders of one or more other such series, to vote thereon by law or pursuant to this certificate of



12

incorporation (including any certificate of designation relating to any series of Preferred Stock).

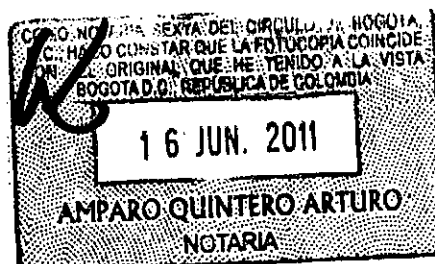
FIFTH: The corporation is to have perpetual existence.

SIXTH: For the management of the business and for the conduct of the affairs of the corporation, and in further definition, limitation and regulation of the powers of the corporation and of its directors and of its stockholders or any class thereof, it is further provided:

1. The business and the conduct of the affairs of the corporation shall be managed by or under the direction of the Board.
2. Any action required or permitted to be taken by the stockholders of the corporation must be effected at a duly called annual or special meeting of stockholders of the corporation and may not be effected by any written consent by such stockholders.
3. Special meetings of stockholders of the corporation may be called only by the Chairman of the Board, the Chief Executive Officer, the President or the Board acting pursuant to a resolution adopted by a majority of the Whole Board and any power of stockholders to call a special meeting of stockholders is specifically denied. Only such business as shall have been stated in the notice of a special meeting of stockholders shall be considered at such special meeting. For purposes of this certificate of incorporation, the "Whole Board" shall mean the total number of directors then fixed in accordance with this certificate of incorporation, whether or not there are any vacancies.

SEVENTH:

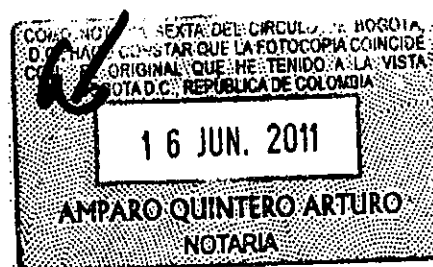
1. Subject to any rights of the holders of any series of Preferred Stock to elect additional directors under specified circumstances, the number of directors shall be fixed from time to time exclusively by the Board. The directors, other than those who may be elected by the holders of any series of Preferred Stock under specified circumstances, shall be divided into three classes, as nearly equal in number as possible, with the term of office of the first class to expire at the corporation's first annual meeting of stockholders following the initial classification of the Board upon the effectiveness of this certificate of incorporation, with the term of office of the second class to expire at the corporation's second annual meeting of stockholders following the initial classification of the Board upon the effectiveness of this certificate of incorporation and with the term of office of the third class to expire at the corporation's third annual meeting of stockholders following the initial classification of the Board upon the effectiveness of this certificate of incorporation, and thereafter for each such term to expire at each third succeeding annual meeting of stockholders after such election and with each director to hold office until



13

his or her successor shall have been duly elected and qualified. At each annual meeting of stockholders, directors elected to succeed those directors whose terms expire shall be elected for a term of office to expire at the third succeeding annual meeting of stockholders after their election, with each director to hold office until his or her successor shall have been duly elected and qualified or until his or her death, retirement, resignation or removal.

2. Newly created directorships resulting from any increase in the authorized number of directors or any vacancies in the Board resulting from death, retirement, resignation, removal from office or other cause may be filled only by a majority vote of the directors then in office even though less than a quorum, or by a sole remaining director, and not by the stockholders. In the event of any increase or decrease in the authorized number of directors, (a) each director then serving as such shall nevertheless continue as a director of the class of which he or she is a member until the expiration of his or her current term or his or her prior death, retirement, resignation or removal and (b) the newly created or eliminated directorships resulting from such increase or decrease shall if reasonably possible be apportioned by the Board among the three classes of directors so as to ensure that no one class has more than one director more than any other class. To the extent reasonably possible, consistent with the foregoing rule, any newly created directorships shall be added to those classes whose terms of office are to expire at the latest dates following such allocation and newly eliminated directorships shall be subtracted from those classes whose terms of office are to expire at the earliest dates following such allocation, unless otherwise provided for from time to time by resolution adopted by a majority of the directors then in office, although less than a quorum. In the event of a vacancy in the Board, the remaining directors, except as otherwise provided by law or this certificate of incorporation, may exercise the powers of the full Board until the vacancy is filled. No decrease in the number of directors constituting the Board shall shorten the term of any incumbent director.
3. No election of directors need be by written ballot unless the Bylaws of the corporation so provide.
4. No stockholder will be permitted to cumulate votes at any election of directors.
5. Advance notice of stockholder nominations for the election of directors and of business to be brought by stockholders before any meeting of the stockholders of the corporation shall be given in the manner provided in the Bylaws of the corporation.

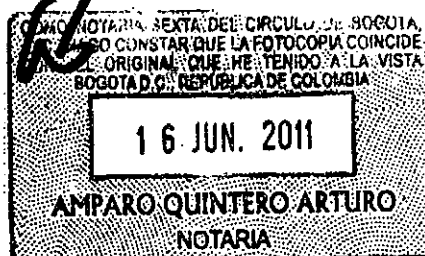


- 14
6. Subject to the rights of the holders of any series of Preferred Stock then outstanding and except as otherwise provided in this certificate of incorporation or required by law, any director, or all of the directors, may be removed from the Board with or without cause, but only by the affirmative vote of the holders of at least 66 2/3% of the aggregate voting power of the then-outstanding shares of capital stock of the corporation entitled to vote in the election of directors, voting together as a single class.

EIGHTH: The power to adopt, amend or repeal the Bylaws of the corporation may be exercised by the Board. The stockholders shall also have the power to adopt, amend or repeal the Bylaws; provided, however, that, in addition to any vote of the holders of any class or series of stock of the corporation required by law or this certificate of incorporation, the affirmative vote of the holders of at least 66 2/3% of the aggregate voting power of the then-outstanding voting shares of voting stock entitled to vote generally in the election of directors, voting together as a single class, shall be required to adopt, amend or repeal all or any portion of Sections 13 or 14 of Article II, Section 2 of Article III, Article VIII and Section 6 of Article IX of the Bylaws.

NINTH: A director of the corporation shall not be personally liable to the corporation or its stockholders for monetary damages for breach of fiduciary duty as a director, except for liability (a) for any breach of the director's duty of loyalty to the corporation or its stockholders, (b) for acts or omissions not in good faith or which involve intentional misconduct or a knowing violation of law, (c) under Section 174 of the General Corporation Law of Delaware, or (d) for any transaction from which the director derived an improper personal benefit. If the General Corporation Law of Delaware is amended to authorize corporate action further eliminating or limiting the personal liability of directors, then the liability of a director of the corporation shall be eliminated or limited to the fullest extent permitted by the General Corporation Law of Delaware as so amended. Neither any amendment, repeal or modification of this article nor the adoption of any provision of this certificate of incorporation or the Bylaws of the corporation inconsistent with this article shall adversely affect any right or protection of a director of the corporation existing at the time of such amendment, repeal, modification or adoption.

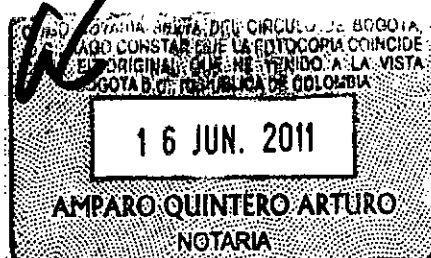
TENTH: The corporation shall, to the fullest extent permitted by the provisions of Section 145 of the General Corporation Law of the State of Delaware, as the same may be amended and supplemented, indemnify any person who is or was a director or officer of the corporation, or is or was serving at the request of the corporation as a director, officer or trustee of another corporation, partnership, joint venture, trust, employee benefit plan or other enterprise, from and against any and all of the expenses, liabilities, or other matters referred to in or covered by said section, and the indemnification provided for herein shall not be deemed exclusive of any other rights to which such persons may be entitled under any Bylaw, agreement, vote of stockholders or disinterested directors or otherwise, both as to action in his or her official capacity and as to action in another capacity while holding such office, and shall continue as to a person who has ceased to be a director or officer and shall inure to the benefit of the heirs, executors, and administrators of such a person. In addition, the corporation may, to the extent



15

authorized from time to time by the Board, grant indemnification rights to other employees or agents of the corporation or other persons serving the corporation and such rights may be equivalent to, or greater or less than, those indemnification rights of directors and officers set forth in this article or the Bylaws. Neither any amendment, repeal or modification of this article nor the adoption of any provision of this certificate of incorporation or the Bylaws of the corporation inconsistent with this article shall adversely affect any right or protection of a director or officer of the corporation existing at the time of such amendment, repeal, modification or adoption.

ELEVENTH: From time to time any of the provisions of this certificate of incorporation may be amended, altered or repealed and other provisions authorized by the laws of the State of Delaware at the time in force may be added or inserted in the manner and at the time prescribed by said laws; provided, however, that, notwithstanding any other provision of this certificate of incorporation, or any provision of law that might otherwise permit a lesser vote or no vote, but in addition to any vote of the holders of any class or series of the stock of this corporation required by law or by this certificate of incorporation, the affirmative vote of the holders of at least 66 2/3% of the voting power of the then-outstanding shares of voting stock entitled to vote generally in the election of directors, voting together as a single class, shall be required to amend or repeal Article SIXTH, Article SEVENTH, Article EIGHTH, Article NINTH, Article TENTH or this Article ELEVENTH. All rights conferred upon stockholders of the corporation by this certificate of incorporation are granted subject to the provisions of this Article ELEVENTH.



Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Jeffrey W. Bullock

3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

Certified

5. at Dover, Delaware

6. the twenty-eighth day of July, A.D. 2009

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

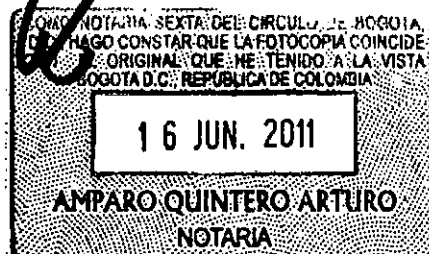
8. No. 0391739

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

msar
Secretary of State



17

TRADUCCION OFICIAL NO.782/2009.-

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES Y LLEVA SELLO Y FIRMA DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGÚN RESOLUCION No. 3618 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA EL 6 DE SEPT. DE 1972.

TRADUCCION DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL DOCUMENTO DE REPRESENTACION Y PODER OTORGADO POR **TARGACEPT, INC.**, DOMICILIADA EN 200 EAST FIRST STREET, SUITE 300 WNSTON-SALEM, NORTH CAROLINA 27101-4165, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, PARA LA RATIFICACION DE LA SOLICITUD DE PATENTE NO. 09.056.352 RADICADA POR EMILIO FERRERO EL 1° DE JUNIO DE 2009, A LOS DOCTORES LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, DANIEL PEÑA Y GERMAN MARIN

DADO Y FIRMADO EL 3 DE AGOSTO DE 2009

FIRMADO: WILLIAM S. CALDWELL, PH.D.

VICEPRESIDENTE, DESARROLLO Y DESCUBRIMIENTO DE MEDICAMENTOS

ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE

CONDADO DE FORSYTH

YO, EL SUSCRITO, NOTARIO PÚBLICO PARA LA MENCIONADA JURISDICCION, POR MEDIO DEL PRESENTE CERTIFICO QUE **WILLIAM S. DALDWELL**, QUIEN PERSONALMENTE COMPARECIÓ ANTE MÍ ESTE DIA EN SU CALIDAD DE VICEPRESIDENTE, DESARROLLO Y DESCUBRIMIENTO DE MEDICAMENTOS, DE **TARGACEPT INC.**, DEBIDAMENTE AUTORIZADO Y RECONÓCIO LA DEBIDA EJECUCION DEL ANTERIOR DOCUMENTO.

FECHA: 3 DE AGOSTO DE 2009

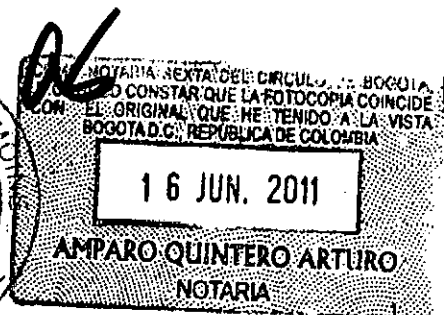
FIRMADO: JULIE P. CRAYNE, NOTARIO

NOTARIO PUBLICO

CON COMISIÓN HASTA EL 21 DE JUNIO DE 2012.

HAY SELLO DE NOTARIO

Handwritten signature



18

ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE
DEPARTAMENTO DEL SECRETARIO DE ESTADO
APOSTILLA

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

- 1. PAIS: ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

- 2. HA SIDO FIRMADO POR: JULIE P. CRAYNE
- 3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO PUBLICO CON COMISION HSTA EL 6/21/2012
- 4. LLEVA EL SELLO DE: CONDADO DE FORSYTH, CAROLINA DEL NORTE.

CERTIFICADO

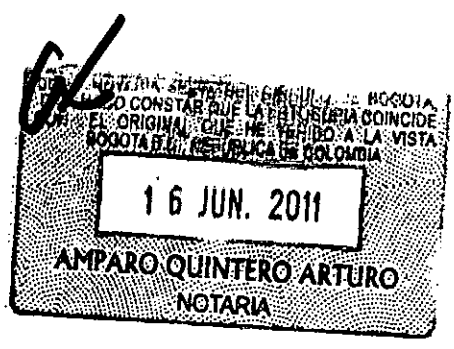
- 5. EN: RALEIGH, CAROLINA DEL NORTE
- 6. EL: 5 DE AGOSTO DE 2009
- 7. POR: EL SECRETARIO DE ESTADO O EL SECRETARIO DE ESTADO DELEGADO, DEL ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE
- 8. BAJO EL NO.: 19632
- 9. SELLO: SECRETARIO DE ESTADO, ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE
- 10. FIRMADO: ELAINE Z. MARSHALL, SECRETARIO DE ESTADO

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES
138036
COPIA AUTENTICADA
DEL
DOCUMENTO REGISTRADO
EN EL
MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES
2009 SEP 24 A 10:32
NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
SECRETARIA DE
RELACIONES
EXTERIORES
BOGOTA

LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE



DELAWARE
EL PRIMER ESTADO

YO, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR MEDIO DEL PRESENTE CERTIFICO QUE LAS COPIAS DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS SON COPIAS VERDADERAS Y CORRECTAS DE TODOS LOS DOCUMENTOS RADICADOS, INCLUYENDO **CERTIFICADO DE CONSTITUCION RECONFIRMADO O UNA CESIÓN CON EL CERTIFICADO RECONFIRMADO ADJUNTO DE TARGACEPT, INC.,** TAL COMO FUE RECIBIDO Y RADICADO EN ESTE DESPACHO.

LOS SIGUIENTES DOCUMENTOS HAN SIDO CERTIFICADOS:

CERTIFICADO RECONFIRMADO, RADICADO EL 18 DE ABRIL DE 2006 A LAS 11:43 A.M.

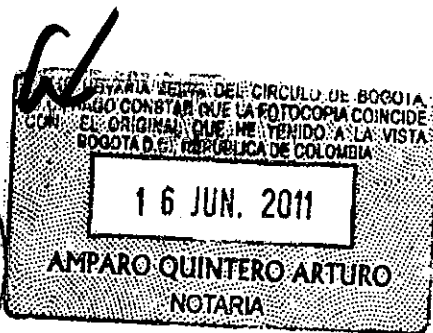
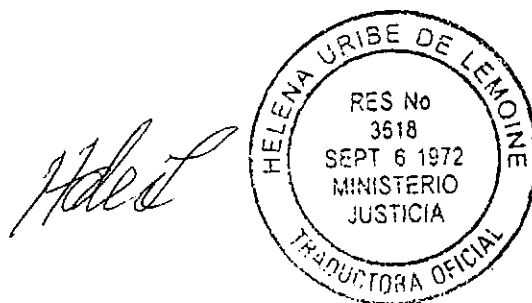
FIRMADO: JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARIO DE ESTADO

AUTENTICACION NUMERO: 7443551

FECHA: 07/28/09

HAY SELLO EN RELIEVE DEL SECRETARIO DE ESTADO -

2725940 8100X 090733780



APOSTILLA

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAIS: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **JEFFREY W. BULLOCK**
3. ACTUANDO EN CAPACIDAD DE: **NOTARIO PUBLICO, ESTADO DE DELAWARE**
4. LLEVA EL SELLO DE: **SECRETARIO DE ESTADO**

RESEARCH
REFERENCES
EXTENSIVE

CERTIFICADO

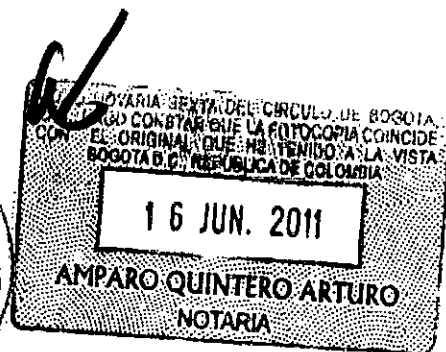
5. EN: DOVER, DELAWARE
6. EL: 28 DE JULIO DE 2009
7. POR: SECRETARIO DE ESTADO, ESTADO DE DELAWARE
8. BAJO EL NO.: **0391739**
9. SELLO: ESTADO DE DELAWARE
10. FIRMADO: ILEGIBLE.

RESPONSABILIDADE
FILIAR

LA TRADUCTORA OFICIAL

LA TRADUCTORA OFICIAL
Hebera Mike Bestmone

HELENA URIBE DE LEMOINE



ESTADO DE DELAWARE
SECRETARIO DE ESTADO
DIVISION DE SOCIEDADES
ENTREGADO A LAS 11:47 AM 04/18/2006
RADICADO 11:43 AM 04/18/2006
SRV 060358269 -ARCHIVO 2725940

**CUARTO CERTIFICADO DE CONSTITUCION MODIFICADO Y
RECONFIRMADO DE TARGACEPT, INC.**

De conformidad con la Sección 242 y la Sección 245 de la Ley General de Sociedades del Estado de Delaware ("DGCL") la sociedad suscrita se permite someter el siguiente texto con el fin de modificar y confirmar su Certificado de Constitución, tal como el mismo ha sido enmendado y por medio del presente certifica lo siguiente.

1. El nombre de la sociedad es **Targacept, Inc.** El Certificado de Constitución Original de la Sociedad fue radicado el 7 de Marzo de 1997.
2. El Certificado de Constitución de la Sociedad se modifica y confirma en su totalidad tal como se estipula en el texto del Cuarto Certificado de Constitución Modificado y Reconfirmado adjunto al presente como Anexo A.
3. Este Cuarto Certificado de Constitución Modificado y Reconfirmado adjunto fue debidamente adoptado de conformidad con las Secciones 245(c), 242 y 228 de la DGCL y será efectivo desde el momento de su radicación.

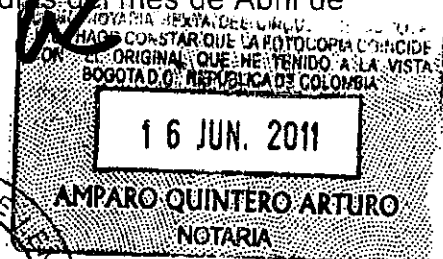
En testimonio de lo anterior la sociedad **Targacept, Inc.**, ordena que el presente Cuarto Certificado de Constitución Modificado y Reconfirmado sea firmado por su Presidente y Director Ejecutivo a los 18 días del mes de Abril de 2006.

TARGACEPT, INC.

FIRMADO: J. DONALD DE BETHIZY

PRESIDENTE Y DIRECTOR EJECUTIVO

Handwritten signature



ANEXO A
CUARTO CERTIFICADO DE CONSTITUCIÓN MODIFICADO Y
RECONFIRMADO
DE TARGACEPT, INC.

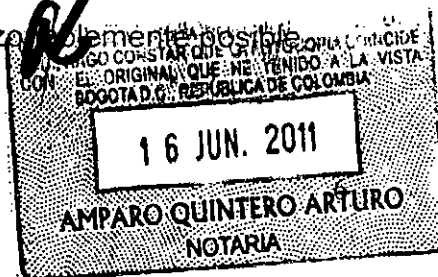
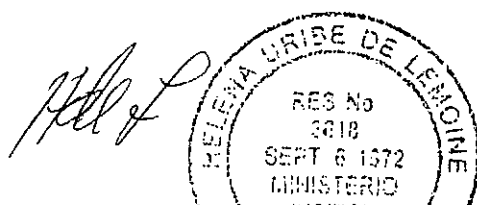
PRIMERO: El nombre de sociedad (de aquí en adelante llamada la "Sociedad") es Targacept, Inc.

SEGUNDO: la dirección, incluyendo la calle, el número, la ciudad y el Condado de la oficina registrada de la sociedad en el Estado de Delaware, es 2711 Centerville Road, Suite 400, Ciudad de Wilmington 19808, Condado de New Castle, y el nombre del Agente registrado de la Sociedad en el Estado de Delaware en dicha dirección es Corporation Service Company.

TERCERO: El objeto de la sociedad es comprometerse en cualquier actividad legal para la cual puedan constituirse las sociedades bajo la Ley General de Sociedades del Estado de Delaware, tal como las mismas existen en la actualidad o puedan ser modificadas en el futuro.

Los cargos directivos recién creados resultantes de cualquier aumento en el número de directores autorizados o de una vacante en la Junta que resulte por concepto de muerte, retiro, renuncia, remoción de un funcionario o por cualquier otra causa, puede llenarse únicamente mediante el voto mayoritario de los directores que se encuentren en ejercicio del cargo, aun si son menos de un quórum, o por el único director restante pero no por los accionistas. En caso de cualquier aumento o disminución en el número de directores autorizados:

(a) cada director que preste sus servicios como tal deberá continuar como director de la clase de la cual es miembro hasta la expiración de su cargo actual, o su muerte, retiro, renuncia o remoción; y (b) el recién creado o eliminado director que resulte de dicho aumento o disminución deberá, si fuere razonablemente posible, ser nombrado por la junta de entre las tres clases de directores de tal manera que se garantice que ninguna de las clases tendrá un director más que cualquier otra clase. En la medida razonablemente posible,

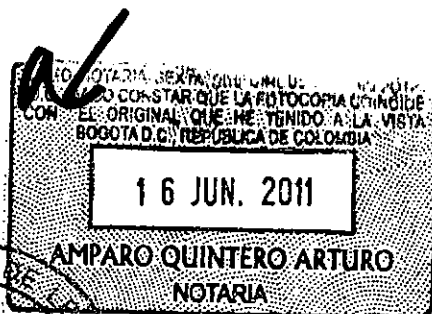


23

TRADUCCION OFICIAL NO.782/2009.-

consistente con la norma anterior, cualquier cargo directivo recién creado será agregado a aquellas clases cuyos términos del cargo expirarán en las últimas fechas siguientes a dicha asignación, y los cargos directivos recién eliminados se restarán de aquellas clases cuyos términos del cargo expirarán en las fechas más tempranas después de dicha asignación, a menos que se disponga en forma distinta periódicamente mediante resolución debidamente aprobada por una mayoría de los directores que se encuentren en ejercicio del cargo, aunque haya menos del quórum. En caso de una vacante en la junta, los directores restantes, salvo que se dispone en forma distinta por ley o en el certificado de constitución, podrán ejercer los poderes de la junta en pleno, hasta que la vacante sea llenada. La disminución del número de directores que constituyen la Junta, no disminuye la vigencia de un director titular.

Helena



T1032260PC

7/9

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to this international application TARGACEPT, INC. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, AKIREDDY, Srinivisa Rao
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, BREINING, Scott R.
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, CUTHBERTSON, Timothy J.
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, DULL, Gary Maurice
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, GATTO, Gregory J.
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, GENUS, John
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, HAMMOND, Philip S.
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, MITCHENER, JR., Joseph Pike
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, MUNOZ, Julio A.
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, OTTEN, Pieter Albert
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, YOHANNES, Daniel
VIII-2-1(i)		TARGACEPT, INC. is entitled as employer of the inventor, FEDOROV, Nikolai

25

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)
(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
10 June 2010 (10.06.2010)



(10) International Publication Number
WO 2010/065449 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 405/14 (2006.01) A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(74) Agent: **FLX, Amy, H.**; Womble Carlyle Sandridge & Rice, PLLC, Attention: Patent Docketing, P.O. Box 7037, Atlanta, GA 30357 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2009/066092

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date:
30 November 2009 (30.11.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/118,885 1 December 2008 (01.12.2008) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **TARGACEPT, INC.** [US/US]; 200 East First Street, Suite 300, Winston-Salem, NC 27101 (US).

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **AKIREDDY, Srinivasa, Rao** [IN/US]; 5829 Fox Point Circle, Winston-Salem, NC 27104 (US). **BREINING, Scott, R.** [US/US]; 2363 Rosewood Avenue, Winston-Salem, NC 27103 (US). **CUTHBERTSON, Timothy, J.** [US/US]; 2661 Belwick Village, Winston-Salem, NC 27106 (US). **DULL, Gary, Maurice** [US/US]; 6025 Shallowford Road, Lewisville, NC 27023 (US). **GATTO, Gregory, J.** [US/US]; 1148 S. Hawthorne Road, Winston-Salem, NC 27103 (US). **GENUS, John** [US/US]; 313 Tollesbury Court, Winston-Salem, NC 27127 (US). **HAMMOND, Phillip, S.** [US/US]; 1162 Bradley Road, Pinnacle, NC 27043 (US). **MITCHENER, Joseph, Pike, Jr.** [US/US]; 3609 Wickersham Lane, Winston-Salem, NC 27106 (US). **MUNOZ, Julio, A.** [GT/US]; 214 Lakeside Drive, Walnut Cove, NC 27052 (US). **OTTEN, Pieter, Albert** [US/US]; 1065 Homestead Place Drive, King, NC 27021 (US). **YOHANNES, Daniel** [ER/US]; 1211 W. 4th Street, Winston-Salem, NC 27101 (US). **FEDOROV, Nikolai** [RU/US]; 3950 Tonbridge Lane, Winston-Salem, NC 27106 (US).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: (R) -3- (E) -2- (PYRROLIDIN-3-YL) VINYL) -5- (TETRAHYDROPYRAN-4-YLOXY) PYRIDINE, ITS SALTS, ITS SYNTHESIS AND ITS USE AS LIGAND FOR NICOTINIC ACETYLCHOLINERGIC RECEPTORS

(57) Abstract: The present invention relates to (R) -3- (E) -2- (pyrrolidin-3-yl) vinyl) -5- (tetrahydropyran-4-yloxy) pyridine, its salt forms, and to processes for the commercial-scale production of these compounds in sufficient purity and quality for use in pharmaceutical compositions. The present invention relates also the use of this compound in the manufacture of a medicament for the treatment of CNS related disorders.

WO 2010/065449 A1

**SÍNTESIS DE NOVEDOSAS FORMAS DE SALES DE (R)-3-((E)-2-(PIRROLIDIN-3-IL)VINIL)-5-(TETRAHIDROPIRAN-4-ILOXI)
PIRIDINA**

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos que se unen a, y modulan, la actividad de receptores nicotínicos neuronales de acetilcolina, a sales novedosas de los mismos, a procesos para preparar estos compuestos, a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, y a métodos de usar estos compuestos para tratar una amplia variedad de enfermedades y trastornos, incluyendo los asociados con disfunción del sistema nervioso central (SNC).

Arte Previo de la Invención

El potencial terapéutico de compuestos que localizan receptores nicotínicos neuronales (NNRs), también conocidos como receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), ha sido objeto de varias reseñas. Véase, por ejemplo, Breining et al., *Ann. Rep. Med. Chem.* **40**: 3 (2005), Hogg and Bertrand, *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.* **3**: 123 (2004). Entre las clases de indicaciones para las cuales los ligandos de NNR se han propuesto como terapias están los trastornos del SNC mencionados a continuación. Existe una distribución heterogénea de subtipos nAChR en los dos sistemas nerviosos central y periférico. Por ejemplo, los subtipos nAChR que son predominantes en cerebro de vertebrados son $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, y $\alpha 3\beta 2$, mientras que los que predominan en los ganglios autónomos son $\alpha 3\beta 4$, y los de la unión neuromuscular son $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ y $\alpha 1\beta 1\gamma\epsilon$.

Una limitación de algunos compuestos nicotínicos es que están asociados con varios efectos secundarios indeseables, debido a la unión no específica a múltiples subtipos nAChR. Por ejemplo, la unión a, y la estimulación de, subtipos nAChR ganglionar y muscular puede llevar a efectos secundarios, los cuales pueden limitar la utilidad de un compuesto de unión nicotínica particular como agente terapéutico.

El desarrollo comercial de un medicamento candidato involucra muchos pasos, incluyendo el desarrollo de un método sintético rentable, que sea adaptable a un proceso de fabricación a gran escala. El desarrollo comercial implica

27

asimismo investigación relativa a las formas de las sales de la sustancia farmacológica, que exhiban una pureza apropiada, estabilidad química, propiedades farmacéuticas, y características que faciliten un manejo y procesamiento convenientes. Además, las composiciones que contienen la sustancia farmacológica deben tener una vida útil adecuada. Es decir, no deben presentar cambios significativos en características físico-químicas tales como, aunque no limitadas a, composición química, contenido de agua, densidad, higroscopicidad, estabilidad y solubilidad, luego del almacenamiento durante un período apreciable de tiempo. Adicionalmente, perfiles de concentración plasmática, reproducibles y constantes del fármaco, luego de la administración a un paciente son también factores importantes.

Generalmente se prefieren las formas de sales sólidas para formulaciones orales debido a su tendencia a exhibir estas propiedades en una manera preferencial; y, en el caso de medicamentos básicos, las sales de adición de ácido son a menudo una sal preferida. No obstante, las diferentes formas de sales varían en gran medida en su capacidad de impartir estas propiedades, y tales propiedades no pueden predecirse con precisión razonable. Por ejemplo, algunas sales son sólidas a temperaturas ambientes, mientras que otras sales son líquidos, aceites viscosos, o gomas a temperaturas ambientes. Además, algunas formas de sales son estables al calor y la luz bajo condiciones extremas, y otras se descomponen fácilmente bajo condiciones mucho más moderadas. Asimismo, las sales varían enormemente en su higroscopicidad, siendo más ventajosa una higroscopicidad menor. Por consiguiente, el desarrollo de una forma de sal de adición de ácido apropiada de un medicamento básico para uso en una composición farmacéutica es un proceso altamente impredecible.

5-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina racémica, su síntesis, y su forma de sal hemi-galactarato se divulgan en WO 04/078752 la cual se incorpora por referencia, y sus contrapartes. Debido a las propiedades farmacológicas ventajosas de un enantiómero simple sobre su racemato, existe una necesidad de síntesis estereoespecífica, preferiblemente un proceso apropiado para producción a gran escala. Además, existe una necesidad de formas de sales que presenten propiedades mejoradas, tales como por ejemplo pureza, estabilidad, solubilidad y biodisponibilidad. Características preferenciales de estas formas de sales novedosas incluyen las que incrementarían la facilidad o eficiencia de fabricación del ingrediente activo y su composición farmacéutica en

un producto farmacéutico comercial, y estabilidad mejorada del fármaco durante un período de tiempo prolongado.

Sumario de la Invención

Un aspecto de la presente invención es (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable. Un aspecto de la presente invención es mono-L-malato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato. Otro aspecto es hemigalactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato. Otro aspecto es oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato. Otro aspecto es di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

Un aspecto de la presente invención es (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable, sustancialmente libre de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina. En una incorporación, (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está presente en una cantidad de menos de 25% en peso. En una incorporación, (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está presente en una cantidad de menos de 15% en peso. En una incorporación, (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está presente en una cantidad de menos de 5% en peso. En una incorporación, (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está presente en una cantidad de menos de 2% en peso. En una incorporación, (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está presente en una cantidad de menos de 1% en peso. En una incorporación, (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina está libre de una cantidad significativa de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

Un aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que contiene un compuesto como se divulga en esta especificación y uno o más coadyuvantes, vehículos, o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una incorporación, la composición farmacéutica contiene además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

29

Un aspecto de la presente invención incluye un compuesto mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina para uso como medicamento en tratar un trastorno mediado por NNR.

Otro aspecto incluye un método para el tratamiento o prevención de un trastorno mediado por NNR, que comprende administrar a un mamífero necesitado de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto incluye el uso de un compuesto (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por NNR.

En una incorporación del compuesto, método, o uso ya mencionados, el trastorno se selecciona del grupo conformado por trastornos del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o virosis, dolor, síndrome metabólico, trastornos autoinmunitarios. En una incorporación, el trastorno SNC se selecciona de disfunción cognitiva en esquizofrenia (CDS – *cognitive dysfunction in schizophrenia*), Enfermedad de Alzheimer (EA), trastorno de déficit de atención (ADD – *attention deficit disorder*), demencia pre-senil (síntomas iniciales de la Enfermedad de Alzheimer), demencia del tipo de Alzheimer, deterioro cognitivo ligero, deterioro de la memoria asociado con la edad, y trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD – *attention deficit hyperactivity disorder*).

Otro aspecto de la presente invención incluye un régimen de administración de una composición farmacéutica, que comprende administrar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, en cantidades de entre 7 a 2200 µg/kg.

En los aspectos e incorporaciones, otra incorporación incluye el caso en el que (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina se provee como su sal mono-L-malato, hemi-galactarato, oxalato, o di-p-toluoil-D-tartrato.

Otro aspecto comprende intermedios novedosos, incluyendo dietil (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato; ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico; *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietyl)pirrolidin-1-carboxilato; y *tert*-butil (R)-3-(2-yodoetyl)pirrolidin-1-carboxilato.

Otro aspecto incluye un método de elaborar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina por mediación de uno o más de dietil (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato, ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico, *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietyl)pirrolidin-1-carboxilato, y *tert*-butil (R)-3-(2-yodoetyl)pirrolidin-1-carboxilato.

Otro aspecto incluye un método de elaborar *tert*-butil (R)-3-vinilpirrolidin-1-carboxilato por mediación de uno o más de dietil (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato, ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico, *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietyl)pirrolidin-1-carboxilato, y *tert*-butil (R)-3-(2-yodoetyl)pirrolidin-1-carboxilato.

Otro aspecto incluye un método de purificar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, con respecto a (R)-3-((Z)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina isomérica y (R)-3-(1-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, por conversión en la sal oxalato y regeneración de la base libre.

Combinaciones de aspectos e incorporaciones forman incorporaciones adicionales de la presente invención.

Breve Descripción de las Figuras

Figura 1 describe el reconocimiento de objeto novedoso (NOR - *novel object recognition*) vs. dosis para (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal, designada en lo sucesivo como Compuesto A. Se observó un efecto estadísticamente significativo para dosis tan bajas como 0.004 $\mu\text{M/kg}$.

Figura 2 describe reconocimiento de objeto novedoso (NOR) vs. tiempo para (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal, Compuesto A, para dosis tan bajas como 0.004 $\mu\text{M/kg}$. Se observó

un efecto estadísticamente significativo hasta 8h después de la dosificación.

Figura 3 describe los resultados de Estudios con el Laberinto de Brazos Radiales (RAM - *Radial Arm Maze*) en los cuales (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal, Compuesto A, supera los déficits inducidos por escopolamina en el laberinto de brazos radiales.

Descripción Detallada

Definiciones

Las siguientes definiciones tienen como fin aclarar, pero no limitar, los términos definidos. Si un término particular empleado en esta especificación no está específicamente definido, tal término no se considerará impreciso. Más bien, los términos se emplean dentro de sus significados aceptados.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "compuesto(s)" puede usarse para significar la forma de base libre, o alternativamente, una forma de sal de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (Fórmula I), dependiendo del contexto, lo cual será fácilmente evidente. Las personas expertas en el arte podrán distinguir la diferencia.

Tal como se emplea en esta especificación, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a vehículo(s), diluyente(s), excipiente(s) o formas de sales del compuesto de Fórmula I, que son compatibles con los demás ingredientes de la composición y no nocivos al destinatario de la composición farmacéutica.

Tal como se emplea en esta especificación, la expresión "grado farmacéutico" se refiere a un compuesto o composición de un estándar apropiado para uso como medicina. Con referencia a la discusión en esta especificación, compuestos de grado farmacéutico de la presente invención, particularmente sus formas de sales, exhiben propiedades apropiadas, incluyendo pureza, estabilidad, solubilidad, y biodisponibilidad para uso en un producto farmacéutico. Características preferenciales incluyen aquellas que aumentarían la facilidad o eficiencia de fabricación del ingrediente activo y su composición en un producto

32

farmacéutico comercial. Además, los compuestos de grado farmacéutico de la presente invención pueden sintetizarse usando una síntesis estereoespecífica que puede ampliarse a una producción a gran escala, exhibiendo particularmente una pureza y un rendimientos adecuados.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "composición farmacéutica" se refiere a un compuesto de la presente invención mezclado opcionalmente con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas exhiben preferiblemente un grado de estabilidad a las condiciones ambientales, con el fin de hacerlas apropiadas para propósitos de fabricación y comercialización.

Tal como se emplea en esta especificación, los términos "cantidad efectiva", "cantidad terapéutica", o "dosis efectiva" se refieren a una cantidad del compuesto of la presente invención suficiente para provocar los efectos farmacológicos o terapéuticos deseados, resultando así en una prevención efectiva o tratamiento de un trastorno. La prevención del trastorno puede manifestarse retrasando o impidiendo la evolución del trastorno, así como la aparición de los síntomas asociados con el trastorno. El tratamiento del trastorno puede manifestarse por una disminución o eliminación de síntomas, inhibición o regresión de la evolución del trastorno, así como cualquier otra contribución al bienestar del paciente.

Como se discutirá con más detalle a continuación y con referencia a Figuras 1 y 2, se observa un efecto estadísticamente significativo para dosis del compuesto o Fórmula I, o su sal farmacéuticamente aceptable, tan bajas como 0.004 $\mu\text{M}/\text{kg}$, incluyendo efectos observados hasta 8 h después de la dosificación. La dosis efectiva puede variar, dependiendo de factores tales como el estado del paciente, la gravedad de los síntomas del trastorno, y la manera en la que se administra la composición farmacéutica. Por consiguiente, tal como se emplea en esta especificación, la dosis efectiva puede ser menor que 100 mg, en otra incorporación menor que 50 mg, en otra incorporación menor que 10 mg, o en otra incorporación menor que 1mg. Estas dosis efectivas representan por lo general la cantidad administrada como dosis única, o como una o más dosis administradas durante un período de 24 h.

Tal como se emplea en esta especificación, la expresión calidad, pureza o "sustancialmente" o "suficientemente" puro, incluye calidad o pureza mayor que

20%, preferiblemente mayor que 30%, y más preferiblemente mayor que 40% (v.g. mayor que cualquiera de 50, 60, 70, 80, o 90%).

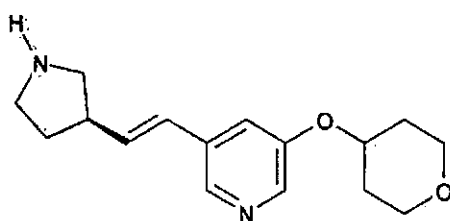
El término "estabilidad", como se define en esta especificación, incluye estabilidad química y estabilidad en estado sólido, donde la expresión "estabilidad química" incluye el potencial de almacenar sales de la invención en una forma aislada, o en la forma de una composición farmacéutica en la cual se provee en mezcla con vehículos, diluyentes, excipientes, o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables, tal como en una presentación farmacéutica oral, tal como una tableta, cápsula, o similares, bajo condiciones de almacenamiento normal, con un grado insignificante de degradación química o descomposición, y la expresión "estabilidad en estado sólido", incluye el potencial de almacenar sales de la invención en una forma sólida aislada, o en la forma de una composición farmacéutica sólida, en la cual se provee, en mezcla con vehículos, diluyentes, excipientes, o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables, tales como en una presentación farmacéutica oral, tal como una tableta, cápsula, o similares, bajo condiciones de almacenamiento normal, con un grado insignificante de transformación de estado sólido, tal como cristalización, re-cristalización, transición de fase de estado sólido, hidratación, deshidratación, solvatación, o desolvatación.

Ejemplos o "condiciones de almacenamiento normal" incluyen una o más de temperaturas de entre -80 °C y 50 °C, preferiblemente entre 0 °C y 40 °C y, más preferiblemente, temperaturas ambientes, tales como 15 °C a 30 °C, presiones de entre 0.1 y 2 bares, preferiblemente a presión atmosférica, humedad relativa de entre 5 y 95%, preferiblemente 10 a 60%, y exposición a 460 lux, o menos, de luz UV/visible, durante períodos prolongados, tales como mayores que, o iguales a seis meses. Bajo tales condiciones, puede comprobarse que las sales de la invención se degradan químicamente, o se descomponen, o se transforman en su estado sólido, según lo apropiado, menos de 5%, más preferiblemente menos de 2% y, especialmente, menos de 1%. La persona experta en el arte observará que los anteriores límites superiores e inferiores, mencionados para temperatura, presión y humedad relativa, representan extremos de condiciones de almacenamiento normal, y que ciertas combinaciones de estos extremos no se experimentarán durante el almacenamiento normal (v.g. una temperatura de 50 °C y una presión de 0.1 bar).

Tal como se emplea en esta especificación, el término "trastorno", a menos que se exprese lo contrario, significa cualquier afección, disfunción, o enfermedad asociada con actividad del receptor NNR.

Compuestos

Una incorporación de la presente invención se refiere a (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (Fórmula I) o su sal farmacéuticamente aceptable.



Fórmula I

Como se observará por las personas expertas en el arte, diferentes convenciones de denominación pueden designar un compuesto de manera diferente. Por consiguiente, Compuesto A puede denominarse (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o, alternativamente, (R)-3-(2-pirrolidin-3-il)-vinil)-5-((tetrahidro-2H-piran-4-il)oxi)piridina. Tales convenciones de denominación no deben emplearse para introducir ambigüedad en esta especificación.

En una incorporación, el compuesto de Fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable es sustancialmente puro. En una incorporación, el compuesto de Fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable está sustancialmente libre de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina. En una incorporación, el compuesto de Fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable está presente en una cantidad de alrededor de 75% en peso comparada con (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, preferiblemente mayor que 85% en peso, más preferiblemente mayor que 95% en peso, más preferiblemente mayor que 98% en peso, y muy preferiblemente 99% en peso o mayor. Una incorporación se refiere a (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (Fórmula I) 100% pura.

Proceso

Una incorporación de la presente invención se refiere a un método para la preparación de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable, sustancialmente libre de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina en peso. Otra incorporación de la presente invención se refiere a un método para la preparación de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable que contiene menos de 25%, preferiblemente menos de 15%, más preferiblemente menos de 5%, aún más preferiblemente menos de 2%, y muy preferiblemente menos de 1% de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina en peso, sin el empleo de un paso de separación cromatográfica quiral. En una incorporación de la presente invención, se provee un método para fabricación de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina sustancialmente pura, sin recurrir a separación cromatográfica.

Métodos Sintéticos Generales

La 3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina racémica puede sintetizarse como se divulga en PCT WO2004/078752, incorporada en esta especificación por referencia, empleando un acoplamiento catalizado por paladio de *tert*-butil 3-vinilpirrolidin-1-carboxilato con la 3-bromo-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina, seguido por el retiro del grupo protector *tert*-butoxicarbonilo. En la síntesis racémica, el *tert*-butil 3-vinilpirrolidin-1-carboxilato requerido se produjo tratando *tert*-butil 3-formilpirrolidin-1-carboxilato con metilentrifenilfosforano (reactivo de Wittig). Aunque el *tert*-butil 3-formilpirrolidin-1-carboxilato puede elaborarse por varios métodos, no fue un intermedio ideal para la síntesis de un enantiómero simple, porque es susceptible de racemización durante la reacción de Wittig. Por consiguiente, se diseñó una nueva ruta sintética, una caracterizada por fidelidad estereoquímica.

Los compuestos pueden prepararse de acuerdo con los siguientes métodos usando materiales de partida y reactivos disponibles en el comercio.

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina puede prepararse por acoplamiento catalizado por paladio de *tert*-butil (R)-3-vinilpirrolidin-1-carboxilato (compuesto **9**) y 3-bromo-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina (compuesto **12**) como se expone en Esquema 3.

La preparación de compuesto **9** se expone en Esquema 1. El *terc*-butil (R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-carboxilato disponible en el comercio (compuesto **1**) se trata con cloruro de metanosulfonilo para producir *terc*-butil (R)-3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto **2**), el cual se hace entonces reaccionar con dietilmalonato y una base apropiada (v.g., *terc*-butoxido de potasio o etóxido de sodio) para producir dietil (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato (compuesto **3**) con estereoquímica inversa alrededor del carbono quiral.

Disolventes apropiados para estas reacciones pueden seleccionarse del grupo de tolueno, xilenos, 1-metil-2-pirrolidinona, dimetilformamida, dimetilacetamida, etanol, *terc*-butanol, tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente para la formación del éster metanosulfónico es tolueno, y el disolvente para el desplazamiento del malonato es 1-metil-2-pirrolidinona. En otra incorporación el disolvente para el desplazamiento del malonato es etanol. Bases apropiadas para estas reacciones pueden seleccionarse del grupo de trietilamina, dietilisopropilamina, diisopropiletilamina, *terc*-butoxido de potasio, metal sodio, hidruro de sodio, etóxido de sodio, hidruro de potasio e hidruro de litio. En una incorporación la base para la formación de éster metanosulfónico es trietilamina, y la base para el desplazamiento del malonato es *terc*-butoxido de potasio. En otra incorporación la base para el desplazamiento del malonato es etóxido de sodio.

La hidrólisis de diéster **3** con hidróxido de potasio acuoso produce ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (compuesto **4**), el cual se descarboxila para obtener ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)acético (compuesto **5**). Disolventes apropiados para estas reacciones pueden seleccionarse del grupo de agua, etanol, tetrahidrofurano, dimetilformamida, dimetilacetamida, 1,2-dimetoxietano, dioxano, 1-metil-2-pirrolidinona, tolueno, sulfóxido de dimetilo, y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente para la hidrólisis del éster es tetrahidrofurano acuoso, y el disolvente para la descarboxilación es 1-metil-2-pirrolidinona. En otra incorporación el disolvente para la hidrólisis del éster es etanol, y el disolvente para la descarboxilación es una mezcla de sulfóxido de dimetilo y tolueno. Bases apropiadas la reacción de hidrólisis pueden seleccionarse del grupo de hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de bario y carbonato de cesio. En una incorporación la base es hidróxido

37

de potasio.

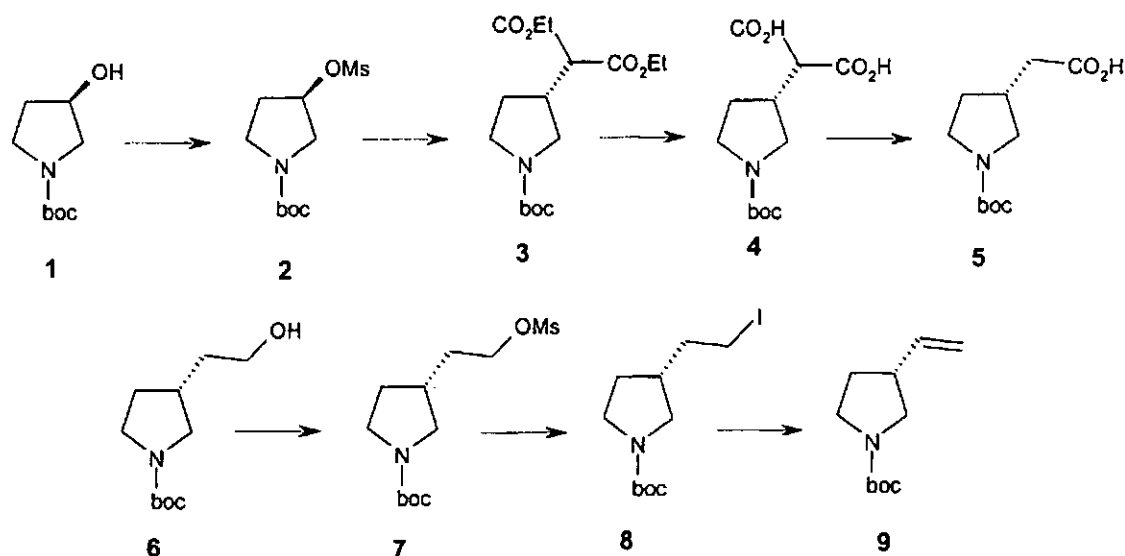
La reducción del compuesto **5** produce *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietil)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto **6**), el cual puede hacerse reaccionar con cloruro de metanosulfonilo y luego yoduro de sodio para producir *tert*-butil (R)-3-(2-(metilsulfonilo)etil)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto **7**) y *tert*-butil (R)-3-(2-yodoetil)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto **8**), respectivamente. Disolventes apropiados para la reacción de reducción pueden seleccionarse del grupo de tetrahydrofurano, éter, dioxano, 1,2-dimetoxietano, y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente es tetrahydrofurano. Agentes reductores apropiados pueden seleccionarse del grupo de borano, diborano, un complejo borano-tetrahydrofurano, un complejo de borano-éter dimetílico y un complejo de borano-sulfuro de dimetilo.

Disolventes apropiados para la formación del éster metanosulfónico pueden seleccionarse del grupo de tolueno, xilenos, éter, tetrahydrofurano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente para la formación del éster metanosulfónico es tolueno. Bases apropiadas para la formación del éster metanosulfónico pueden seleccionarse del grupo de trietilamina, dietilisopropilamina y diisopropiletilamina. En una incorporación la base para la formación del éster metanosulfónico es trietilamina. Disolventes apropiados para el desplazamiento del yoduro pueden seleccionarse del grupo de 1-metil-2-pirrolidinona, dimetilformamida, dimetilacetamida, etanol, *tert*-butanol, tetrahydrofurano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, sulfóxido de dimetilo, y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente para el desplazamiento del yoduro es 1,2-dimetoxietano.

Finalmente, el tratamiento de compuesto **8** con *tert*-butóxido de potasio produce el compuesto **9**. Disolventes apropiados para esta reacción pueden seleccionarse del grupo de 1,2-dimetoxietano, 1-metil-2-pirrolidinona, dimetilformamida, dimetilacetamida, etanol, tetrahydrofurano, dioxano y mezclas de los anteriores. En una incorporación el disolvente es 1,2-dimetoxietano. Bases apropiadas para esta reacción pueden seleccionarse del grupo de *tert*-butóxido de potasio, etóxido de sodio y diazabicycloundecano. En otra incorporación la base es *tert*-butóxido de potasio.

Una incorporación de la invención se refiere a un proceso para la preparación de compuesto **9** empleando los pasos de reacción como se expone

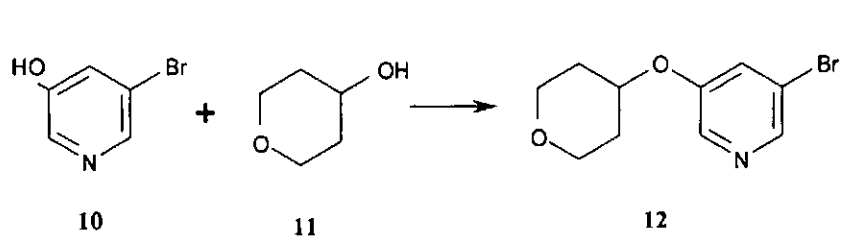
en Esquema 1 y en la discusión ya indicada.



Esquema 1

La preparación de 3-bromo-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)-piridina (compuesto **12**) se expone en Esquema 2. El acoplamiento de 3-bromo-5-hidroxipiridina (compuesto **10**) con 4-hidroxitetrahidro-2H-pirano (compuesto **11**) produce compuesto **12**. Condiciones apropiadas para el acoplamiento incluyen aquellas en las cuales se emplean una fosfina (v.g., trifenilfosfina) y un compuesto azo (v.g., dietil azodicarboxilato, también conocido con DEAD), en un disolvente inerte, para efectuar el acoplamiento (v.g., tolueno). Alternativamente, pueden emplearse otras condiciones, en las cuales el anión oxo de 3-bromo-5-hidroxipiridina desplaza un grupo saliente de la 4-posición de tetrahidropirano.

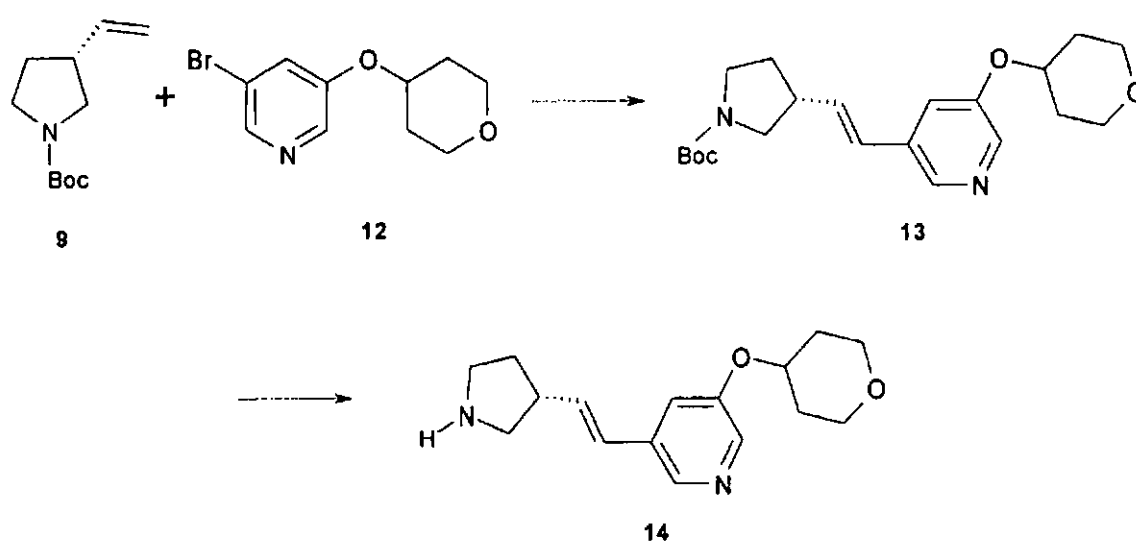
Una incorporación de la invención se refiere a un proceso para la preparación de compuesto **12** empleando los pasos de reacción como se exponen en Esquema 2 y más arriba.



Esquema 2

Los pasos finales en la preparación de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-

(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (forma de base libre) se ilustran en Esquema 3. Compuestos **9** y **12** se acoplan mediante una reacción de acoplamiento mediada por acetato de paladio para proporcionar *terc*-butil (R)-(E)-3-(2-(5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato (también conocido como (R)-5-(1-(*terc*-butoxicarbonil)-(E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, compuesto **13**), el cual se desprotege para producir (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (compuesto **14**). Disolventes apropiados para la reacción de acoplamiento catalizada por paladio pueden seleccionarse del grupo de 1-metil-2-pirrolidinona, dimetilformamida, dimetilacetamida y acetonitrilo. En una incorporación el disolvente es 1-metil-2-pirrolidinona. Bases apropiadas para la reacción de acoplamiento catalizada por paladio pueden seleccionarse del grupo de trietilamina, dietilisopropilamina, diisopropiletilamina. En una incorporación la base es diisopropiletilamina. Ligandos apropiados de fosfina para la reacción de acoplamiento catalizada por paladio pueden seleccionarse del grupo de tri-*n*-butilfosfina, tri-*terc*-butilfosfina, triciclohexilfosfina, trifenilfosfina y tri-*o*-tolilfosfina. En una incorporación el ligando de fosfina es triciclohexilfosfina. Catalizadores de paladio apropiados para la reacción de acoplamiento catalizada por paladio pueden seleccionarse del grupo de acetato de paladio, cloruro de paladio y tris(dibencilacetona) de dipaladio. En una incorporación el catalizador de paladio es acetato de paladio. Disolventes apropiados para la reacción de desprotección pueden seleccionarse del grupo de agua, diclorometano, cloroformo y dicloroetano. En una incorporación el disolvente es diclorometano. En otra incorporación el disolvente para la reacción de desprotección es agua. Ácidos apropiados para la reacción de desprotección pueden seleccionarse del grupo de ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. En una incorporación el ácido es ácido trifluoroacético.



Esquema 3

Una incorporación de la invención se refiere a un proceso para la preparación de compuesto **14** empleando los pasos de reacción, como se exponen más arriba en Esquemas 1, 2 y 3. La invención se refiere además a un proceso para la preparación de la forma de la sal de malato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, el cual comprende el paso adicional de hacer reaccionar la base libre con ácido L-málico en una mezcla de 2-propanol y acetato de isopropilo u otro disolvente apropiado, como se describe a continuación.

Otra incorporación de la invención se refiere a la formación de la sal oxalato de compuesto **14** y al uso de la sal oxalato como un intermedio de purificación en la producción del compuesto **14**. El acoplamiento catalizado por paladio de los compuestos **9** y **12** produce una mezcla de materiales en la cual predomina el compuesto **13**, representando típicamente 75-80% de los productos de acoplamiento. Los productos de acoplamiento restantes incluyen el correspondiente isómero Z, *terc*-butil (R)-(Z)-3-(2-(5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato, y un así llamado isómero "exo", *terc*-butil (R)-3-(1-(5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato, que representa típicamente -5% y hasta 20% de los productos de acoplamiento respectivamente. El retiro de estos isómeros secundarios del isómero principal deseado se realizó inesperada y convenientemente por la desprotección de la mezcla de isómeros, seguida por la conversión de la base libre en la sal oxalato. La precipitación inicial de la sal oxalato en mezclas de agua/2-propanol, por ejemplo, produce compuesto **14** en el cual las impurezas isoméricas se reducen a <1% cada una, o mejor. Purificación adicional puede realizarse mediante recristalización.

Ejemplos de compuestos de la presente invención, que se marcan con un radioisótopo apropiado a varios usos diagnósticos, son por ejemplo, análogos marcados con ^{11}C o ^{18}F del compuesto **14**, los cuales serían apropiados para empleo en tomografía por emisión de positrones.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras descritas en esta especificación tienen como finalidad incluir además compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos.

41

Por ejemplo, compuestos que tienen la presente estructura excepto por el reemplazo de un átomo de hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo de un átomo de carbono por ^{13}C o ^{14}C , o el reemplazo de un átomo de nitrógeno por ^{15}N , o el reemplazo de un átomo de oxígeno con ^{17}O o ^{18}O están dentro del ámbito de la invención. Tales compuestos isotópicamente marcados son útiles como herramientas de investigación o diagnóstico.

En todos los ejemplos descritos a continuación, se emplean grupos protectores para grupos sensibles o reactivos, donde sea necesario, de acuerdo con principios generales de química sintética. Los grupos protectores se manipulan de acuerdo con métodos estándar de síntesis orgánica (T. W. Green and P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York (1999)). Estos grupos se eliminan en una fase conveniente de la síntesis del compuesto usando métodos que son fácilmente evidentes a las personas expertas en el arte. La selección de procesos, así como las condiciones de reacción y el orden de su ejecución, serán consistentes con la preparación de compuestos de la presente invención.

La presente invención provee además un método para la síntesis de compuestos novedosos, útiles como intermedios, tales como dietil (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato (compuesto 3), ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (compuesto 4), *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietil)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto 6), y *tert*-butil (R)-3-(2-yodoetil)pirrolidin-1-carboxilato (compuesto 8).

Formas de Sales

Un aspecto de la presente invención se refiere a formas novedosas de sales de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina. (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina en la forma de base libre es un aceite viscoso con limitada solubilidad en agua. No obstante, la base libre puede reaccionar tanto con ácidos orgánicos como inorgánicos para elaborar sales de adición de ácido que tienen propiedades físicas, las cuales son ventajosas para la preparación de composiciones farmacéuticas tales como cristalinidad, solubilidad en agua, y estabilidad frente a la degradación química.

La presente invención se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de

(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina. Ejemplos de sales apropiadas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido inorgánico tales como cloruro, bromuro, sulfato, fosfato, y nitrato; sales de adición de ácido orgánico tales como acetato, galactarato, propionato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, maleato, fumarato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, y ascorbato; sales con aminoácido ácido tales como aspartato y glutamato; sales de metal alcalino tales como sal de sodio y sal de potasio; sales de metal alcalinotérreo tales como sal de magnesio y sal de calcio; sal de amonio; sales básicas orgánicas tales como sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de dicitclohexilamina, y sal de N,N'-dibenciletilendiamina; y sales con aminoácido básico tales como sal de lisina y sal de arginina. En algunos casos, las sales pueden ser hidratos o solvatos, tales como solvatos de etanol.

Una incorporación de la presente invención se refiere a sales de adición de ácido de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina en donde el ácido se selecciona de ácido clorhídrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido malónico, ácido L-tartárico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido L-málico, ácido R-mandélico, ácido S-mandélico, ácido succínico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido adípico, ácido galactárico, ácido di-p-toluoil-D-tartárico, ácido oxálico, ácido D-glucurónico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 4-metoxibenzoico, ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico, ácido (1R,3S)-(+)-canfórico, y ácido p-toluenosulfónico. La presente invención incluye asimismo hidratos y solvatos de estas formas de sales.

La estequiometría de las sales comprendidas en la presente invención puede variar. Por ejemplo, es típico que la relación molar de ácido a (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina sea 1:2 o 1:1, pero pueden ser posibles otras relaciones, tales como 3:1, 1:3, 2:3, 3:2 y 2:1, y se incluyen análogamente en el ámbito de la presente invención.

Dependiendo de la manera por la cual se forman las sales descritas en esta especificación, las sales pueden tener estructuras cristalinas que bloquean disolventes que están presentes durante la formación de la sal. Por consiguiente, las sales pueden ocurrir como hidratos y demás solvatos de estequiometría variable de disolvente en relación con (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

43

En una incorporación de la presente invención, la sal tiene una estequiometría de ácido a (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina de 1:2. En otra incorporación, la sal tiene una estequiometría de ácido a (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina de 1:1.

Otra incorporación de la presente invención se refiere a mono-L-malato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

Otra incorporación de la presente invención se refiere a hemi-galactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

Otra incorporación de la presente invención se refiere a oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

Otra incorporación de la presente invención se refiere a di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

Una incorporación de la presente invención se refiere a las siguientes sales de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina;

4-Acetamidobenzoico
Adípico
(1 R,3S)-(+)-Canfórico
(1 S)-(+)-1 O-Canfórico
Cítrico
Fumárico
D-glucurónico
Clorhídrico
4-Hidroxibenzoico
1-Hidroxi-2-naftoico (Xinafoico)
Maleico
L-Málico

44

Malónico
(R)-Mandélico
(S)-Mandélico
Metanosulfónico
4-Metoxibenzoico
Fosfórico
Succínico
L-Tartárico
p-Toluenosulfónico.H2O

o su hidrato o solvato.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a procesos para la preparación de las sales. Las sales pueden obtenerse por cristalización, bajo condiciones controladas.

La invención se refiere igualmente a un proceso para la preparación de sales de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, que comprende los siguientes pasos: (i) mezclar la base libre, o una solución de la base libre de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina sustancialmente pura en un disolvente apropiado, con cualquiera de los ácidos ya mencionados en forma pura, o como una solución de cualquiera de los ácidos en un disolvente apropiado, típicamente 0.5 a 1 equivalentes del ácido;

- (ii)(a) enfriar la solución de sal resultante, si es necesario, para producir precipitación, o
- (ii)(b) agregar un anti-disolvente apropiado para producir precipitación, o
- (ii)(c) evaporar el disolvente y agregar un nuevo disolvente y repetir uno cualquiera de los pasos (ii)(a) o (ii)(b); y (iii) filtrar y recolectar la sal.

La estequiometría, mezcla de disolventes, concentración del soluto, y la temperatura empleada pueden variar.

Disolventes representativos que pueden emplearse para preparar o recrystalizar las formas de sales incluyen, sin limitación, etanol, metanol, propanol, 2-propanol, acetato de isopropilo, acetona, acetato de etilo, tolueno, agua, metil etil cetona, metil isobutil cetona, *terc*-butil metil éter, tetrahidrofurano, diclorometano, n-heptano, y acetonitrilo.

45

En una incorporación el disolvente se selecciona de etanol, propanol, acetato de isopropilo, agua, hexano, o mezclas de los anteriores, y la temperatura empleada para precipitación está entre 16°C y 25°C.

En una incorporación el ácido es ácido L-málico, y el disolvente usado es 2-propanol solo o en combinación con acetato de isopropilo. En otra incorporación el ácido es ácido oxálico, y el disolvente utilizado es 2-propanol acuoso.

En una incorporación adicional, las sales son mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

La estabilidad de las sales obtenidas puede demostrarse en una variedad de modos. La propensión a absorber y liberar humedad atmosférica puede evaluarse por adsorción dinámica de vapor (DVS - *dynamic vapor sorption*).

Métodos de Tratamiento

(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición farmacéutica que contiene los citados compuestos pueden usarse para la prevención o tratamiento de varias enfermedades o trastornos, para los cuales se han propuesto otros tipos de compuestos nicotínicos o se ha demostrado que son útiles como productos terapéuticos, tales como trastornos del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o virosis, dolor, síndrome metabólico, trastornos autoinmunitarios u otros trastornos descritos con mayor detalle en esta especificación. Los compuestos pueden usarse asimismo como un agente de diagnóstico en estudios de unión a receptor (*in vitro* e *in vivo*). Tales enseñanzas terapéuticas y demás enseñanzas se describen, por ejemplo, en las referencias enumeradas anteriormente en esta especificación, incluyendo Williams et al., *Drug News Perspec.* 7(4): 205 (1994), Arneric et al., *CNS Drug Rev.* 1(1): 1-26 (1995), Arneric et al., *Exp. Opin. Invest. Drugs* 5(1): 79-100 (1996), Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1413 (1996), Lippiello et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279: 1422 (1996), Damaj et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291: 390 (1999); Chiari et al., *Anesthesiology* 91: 1447 (1999), Lavand'homme and Eisenbach, *Anesthesiology* 91: 1455 (1999), Holladay et al., *J. Med. Chem.* 40(28): 4169-94

46

(1997), Bannon et al., *Science* **279**: 77 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, y las Patentes de los Estados Unidos No. 5,583,140 a Bencherif et al., 5,597,919 a Dull et al., 5,604,231 a Smith et al., y 5,852,041 a Cosford et al.

Una incorporación de la presente invención se refiere al uso de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable en la fabricación de un medicamento.

Otra incorporación de la presente invención se refiere al uso de mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina para uso como un medicamento.

Una incorporación de la presente invención se refiere a un método para el tratamiento o prevención de trastornos del sistema nervioso central (SNC), que comprende administrar a un mamífero, necesitado de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato. Más específicamente, el trastorno puede seleccionarse del grupo conformado por trastornos del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o virosis, dolor, síndrome metabólico, trastornos autoinmunitarios u otros trastornos descritos con mayor detalle en esta especificación.

Una incorporación de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes, excipientes, o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables.

Una incorporación de la presente invención se refiere al uso de una composición farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para tratamiento de trastornos del SNC.

Otra incorporación de la presente invención se refiere al uso de (R)-3-((E)-2-

47

(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable, o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de trastornos mediados por NNR.

Otra incorporación de la presente invención se refiere a un método de modular NNR en un sujeto necesitado de ello mediante la administración de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato.

Trastornos del SNC

((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, o una composición farmacéutica que contiene los citados compuestos, son útiles en el tratamiento o prevención de una variedad de trastornos del SNC, incluyendo trastornos neurodegenerativos, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos neurológicos, y adicciones. Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas pueden usarse para tratar o prevenir déficits cognitivos y disfunciones relacionadas con la edad o de otro origen; trastornos de atención y demencias, incluyendo las debidas a agentes infecciosos o alteraciones metabólicas; para proporcionar neuroprotección; para tratar convulsiones y infartos cerebrales múltiples; para tratar trastornos del estado de ánimo, compulsiones y comportamientos adictivos; para proporcionar analgesia; para controlar la inflamación, tal como la mediada por citocinas y el factor nuclear kappa B; para tratar trastornos inflamatorios; para proporcionar alivio del dolor; y para tratar infecciones, como agentes anti-infecciosos para tratar infecciones bacterianas, fúngicas, y víricas. Entre los trastornos, enfermedades y afecciones que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden usarse para tratar o prevenir se encuentran: deterioro de la memoria asociado con la edad (AAMI - *age-associated memory impairment*), deterioro cognitivo leve (MCI - *mild cognitive impairment*), mengua cognitiva relacionada con la edad (ARCD - *age-related cognitive decline*), demencia pre-senil, síntomas iniciales de la enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia del tipo de Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo no demencia (CIND - *cognitive impairment no dementia*), demencia por cuerpos de Lewy, demencia por VIH,

complejo de demencia por SIDA, demencia vascular, síndrome de Down, trauma cerebral, lesión cerebral traumática (TBI - *traumatic brain injury*), demencia pugilística, enfermedad de Creutzfeld-Jacob y enfermedades priónicas, apoplejía, isquemia, trastorno de déficit de atención, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, disfunción cognitiva en esquizofrenia, déficits cognitivos en esquizofrenia, parkinsonismo incluyendo la enfermedad de Parkinson, parkinsonismo postencefalítico, parkinsonismo-demencia de Gaum, demencia frontotemporal tipo Parkinson (FTDP – *frontotemporal dementia Parkinson's Type*), enfermedad de Pick, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Huntington, corea de Huntington, discinesia tardía, hipercinesia, parálisis supranuclear progresiva, paresia supranuclear progresiva, síndrome de las piernas inquietas, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ALS - *amyotrophic lateral sclerosis*), enfermedades de las neuronas motoras (MND - *motor neuron diseases*), atrofia sistémica múltiple (MSA - *multiple system atrophy*), degeneración corticobasal, síndrome de Guillain-Barre (GBS - *Guillain-Barre Syndrome*), y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP - *chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*), epilepsia, epilepsia nocturna del lóbulo frontal autosómica, manía, ansiedad, depresión, disforia premenstrual, trastornos de pánico, bulimia, anorexia, narcolepsia, somnolencia diurna excesiva, trastornos bipolares, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno obsesivo compulsivo, arrebatos de cólera, trastorno desafiante por oposición, síndrome de Tourette, autismo, adicción al alcohol y las drogas, adicción al tabaco, y trastornos alimenticios.

Deterioros cognitivos o disfunciones pueden asociarse con trastornos o enfermedades psiquiátricas, tales como esquizofrenia y demás trastornos psicóticos, incluyendo pero no limitados a trastorno psicótico, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno ilusorio, trastorno psicótico breve, trastorno psicótico compartido, y trastornos psicóticos debidos a enfermedades generales, demencias y demás trastornos cognitivos, incluyendo pero no limitados a deterioro cognitivo moderado, demencia pre-senil, enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia del tipo de Alzheimer, deterioro de la memoria relacionado con la edad, demencia por cuerpos de Lewy, demencia vascular, complejo de demencia por SIDA, dislexia, parkinsonismo incluyendo enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo y demencia de enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo por esclerosis múltiple, deterioro cognitivo causado

49

por lesión cerebral traumática, demencias debidas a otras enfermedades generales, trastornos de ansiedad, incluyendo pero no limitados a trastorno de pánico sin agorafobia, trastorno de pánico con agorafobia, agorafobia sin historial de trastorno de pánico, fobia específica, fobia social, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés pos-traumático, trastorno de estrés agudo, trastorno de ansiedad generalizada y trastorno de ansiedad generalizada debida a un enfermedad general, trastornos del estado de ánimo, incluyendo pero no limitados a trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión bipolar, manía bipolar, trastorno bipolar I, depresión asociada con episodios maníacos, depresivos o mixtos, trastorno bipolar II, trastorno ciclotímico, y trastornos del estado de ánimo debidos a enfermedades generales, trastornos del sueño, incluyendo pero no limitados a trastornos de disomnias, insomnio primario, hipersomnia primaria, narcolepsia, trastornos de parasomnia, trastorno de pesadillas, trastorno de terror en el sueño y trastorno de sonambulismo, retardo mental, trastornos de aprendizaje, trastornos de habilidades motoras, trastornos de comunicación, trastornos generalizados del desarrollo perversivos, trastornos de déficit de atención y conducta disocial, trastorno de déficit de atención, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, trastornos de la ingesta de alimentos y trastornos alimentarios de la infancia, niñez, o adultez, trastornos de tics, trastornos de eliminación, trastornos relacionados con sustancias, incluyendo pero no limitados a dependencia de sustancias, abuso de sustancias, intoxicación con sustancias, abstinencia de sustancias, trastornos relacionados con el alcohol, trastornos relacionados con anfetaminas o sustancias similares a anfetaminas, trastornos relacionados con la cafeína, trastornos relacionados con la marihuana, trastornos relacionados con la cocaína, trastornos relacionados con alucinógenos, trastornos relacionados con inhalantes, trastornos relacionados con nicotina, trastornos relacionados con opioideos, trastornos relacionados con fenciclidina o sustancias similares a fenciclidina, y trastornos relacionados con sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, trastornos de la personalidad, incluyendo pero no limitados a trastorno de la personalidad obsesiva-compulsiva y trastornos de control de impulsos.

Las anteriores afecciones y trastornos se discuten con mayor detalle, por ejemplo, en the American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000. Este Manual puede consultarse igualmente para un mayor detalle sobre los síntomas y características de

SO

diagnóstico asociadas con el uso, abuso, y dependencia de sustancias.

Una incorporación se refiere a un método de tratar o prevenir trastornos del SNC en un sujeto necesitado de ello, método que comprende administrar al citado sujeto ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, o una composición farmacéutica que contiene los citados compuestos.

En otra incorporación los trastornos del SNC se seleccionan de disfunción cognitiva en esquizofrenia (CDS), Enfermedad de Alzheimer (AD), trastorno de déficit de atención (ADD), demencia pre-senil (síntomas iniciales de la enfermedad de Alzheimer), demencia del tipo de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria relacionado con la edad y trastorno de déficit de atención con hiperactividad trastorno (ADHD). En una incorporación los trastornos del SNC se seleccionan de deterioro de la memoria y deterioro del aprendizaje.

Inflamación

El sistema nervioso, principalmente a través del nervio vago, es conocido por regular la magnitud de la respuesta inmunitaria innata inhibiendo la liberación del factor de necrosis tumoral producido por macrófagos (TNF). Este mecanismo fisiológico se conoce como la "ruta anti-inflamatoria colinérgica" (véase, por ejemplo, Tracey, "The inflammatory reflex," *Nature* **420**: 853-9 (2002)). La inflamación excesiva y la síntesis del factor de necrosis tumoral causan morbilidad e incluso mortalidad en una variedad de enfermedades. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a, endotoxemia, artritis reumatoide, osteoartritis, psoriasis, asma, aterosclerosis, fibrosis pulmonar idiopática, y síndrome del intestino irritable.

Enfermedades inflamatorias que pueden tratarse o prevenirse administrando los compuestos descritos en esta especificación incluyen, pero no se limitan a, inflamación crónica y aguda, psoriasis, endotoxemia, gota, seudogota aguda, artritis gotosa aguda, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, rechazo de aloinjertos, rechazo crónico de trasplantes, asma, aterosclerosis, lesión pulmonar dependiente de fagocitos mononucleares, fibrosis pulmonar idiopática, dermatitis atópica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de dificultad

51

respiratoria aguda, síndrome torácico agudo en anemia drepanocítica, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colangitis aguda, estomatitis aftosa, inflamación de la bolsa ileal, glomerulonefritis, nefritis lúpica, trombosis, y reacción injerto vs. huésped.

Respuesta Inflamatoria Asociada con Infección Bacteriana y/o Virosis

Muchas infecciones bacterianas y/o virosis se asocian con efectos secundarios ocasionados por la formación de toxinas, y la respuesta natural del cuerpo a las bacterias o virus y/o las toxinas. Como ya se discutió, la respuesta del cuerpo a la infección implica a menudo generar una cantidad significativa de TNF y/o otras citocinas. La sobreexpresión de estas citocinas puede tener como resultado una lesión significativa, tal como choque septicémico (cuando la bacteria es sepsis), choque endotóxico, urosepsis, neumonitis vírica, y síndrome de choque tóxico.

La expresión de citocinas está mediada por NNRs, y pueden inhibirse administrando agonistas o agonistas parciales de estos receptores. Aquellos compuestos descritos en esta especificación, que son agonistas o agonistas parciales de estos receptores, pueden emplearse, por consiguiente, para minimizar la respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana, así como infecciones víricas y fúngicas. Ejemplos de tales infecciones bacterianas incluyen ántrax, botulismo, y septicemia. Asimismo algunos de estos compuestos pueden tener propiedades antimicrobianas.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse igualmente como tratamiento adjunto en combinación con terapias existentes para manejar infecciones bacterianas, víricas y fúngicas, tales como antibióticos, antivíricos y antifúngicos. De igual manera, pueden usarse antitoxinas para unirse a toxinas producidas por los agentes infecciosos y permitir que las toxinas unidas pasen por el cuerpo sin generar una respuesta inflamatoria. Ejemplos de antitoxinas se divulgan, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 6,310,043 a Bundle *et al.* Otros agentes efectivos contra toxinas bacterianas y demás pueden ser efectivos, y su efecto terapéutico puede complementarse por la co-administración con los compuestos descritos en esta especificación.

Dolor

52

Los compuestos pueden administrarse para tratar y/o prevenir dolor, incluyendo dolor agudo, nervioso, inflamatorio, neuropático y crónico. La actividad analgésica de los compuestos descritos en esta especificación puede demostrarse en modelos de dolor inflamatorio persistente y de dolor neuropático, realizados como se describe en la Solicitud de Patente Publicada de los Estados Unidos No. 20010056084 A1 (Allgeier *et al.*) (v.g., hiperalgesia mecánica en el modelo con ratas, con coadyuvante completo de Freund, de dolor inflamatorio e hiperalgesia mecánica en el modelo del ligamiento parcial del nervio ciático de ratón de dolor neuropático).

El efecto analgésico es apropiado para tratar dolor de varias génesis o etiología, en particular en el tratamiento de dolor inflamatorio e hiperalgesia asociada, dolor neuropático e hiperalgesia asociada, dolor crónico (v.g., dolor crónico agudo, dolor pos-operatorio y dolor asociado con varias enfermedades incluyendo cáncer, angina, cólico renal o biliar, menstruación, migraña y gota). El dolor inflamatorio puede ser de génesis diversa, incluyendo artritis y enfermedad reumatoide, teno-sinovitis y vasculitis. El dolor neuropático incluye neuralgia herpética o del trigémino, neuropatías, dolor de neuropatía diabética, causalgia, dolor de espalda y síndromes de desaferenciación tales como avulsión del plexo braquial.

Una incorporación se refiere a un método de tratar dolor en un sujeto necesitado de ello, método que comprende administrar al citado sujeto ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, o una composición farmacéutica que contiene los citados compuestos.

Otros Trastornos

Además de para tratar trastornos del SNC, inflamación, y dolor, los compuestos de la presente invención pueden emplearse igualmente para prevenir o tratar algunas otras afecciones, enfermedades, y trastornos, en los cuales los NNRs juegan un papel. Ejemplos incluyen trastornos autoinmunitarios tales como lupus, trastornos asociados con liberación de citocinas, caquexia secundaria a infección (v.g., como ocurre en SIDA, complejo relacionado con SIDA y neoplasia), obesidad, pénfigo, incontinencia urinaria, enfermedades retinianas, enfermedades

S3

infecciosas, miastenia, síndrome de Eaton-Lambert, distonía, hipertensión, osteoporosis, vasoconstricción, vasodilatación, arritmias cardíacas, diabetes tipo I, diabetes tipo II, úlceras, bulimia, anorexia, estreñimiento, y diarrea, así como aquellas indicaciones divulgadas en la solicitud PCT publicada WO 98/25619. Los compuestos de esta invención pueden administrarse asimismo para tratar convulsiones tales como las que son sintomáticas de la epilepsia, y para tratar afecciones tales como sífilis y enfermedad de Creutzfeld-Jakob.

Usos Diagnósticos

Otra incorporación de la presente invención se refiere a compuestos que son útiles como agentes diagnósticos y en estudios de unión a receptor, como los descritos en esta especificación.

Los compuestos pueden usarse en composiciones diagnósticas, tales como sondas, particularmente cuando se modifican para incluir marcas apropiadas. Las sondas pueden emplearse, por ejemplo, para determinar el número relativo y/o función de receptores específicos, particularmente el subtipo de receptor $\alpha\beta 2$. Para este propósito los compuestos de la presente invención se marcan muy preferiblemente con una fracción isotópica radioactiva tal como ^{11}C , ^{18}F , ^{76}Br , ^{123}I o ^{125}I .

Una incorporación de la invención se refiere a ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, en donde uno a tres de los átomos representa un isótopo detectable seleccionado de ^3H , ^{19}F y ^{13}C , o en donde uno de los átomos es un isótopo detectable seleccionado de ^{18}F , ^{11}C y ^{14}C .

Los compuestos administrados pueden detectarse usando métodos de detección conocidos, apropiados para la marca utilizada. Ejemplos de métodos de detección son conteo de centelleo, tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada de emisión de fotón (SPECT - *single-photon emission computed tomography*), gammagrafía, exploración de resonancia magnética (MRI - *magnetic resonance imaging*) o espectroscopía de resonancia magnética (MRS - *magnetic resonance spectroscopy*). Las radiomarcas descritas anteriormente son útiles en exploración PET (v.g., ^{11}C , ^{18}F o ^{76}Br) y SPECT (v.g., ^{123}I), con semi-vidas

54

de alrededor de 20.4 min para ^{11}C , de alrededor de 109 min para ^{18}F , de alrededor de 13 h para ^{123}I , y de alrededor de 16 h para ^{76}Br . Se desea una elevada actividad específica para visualizar los subtipos seleccionados de receptor en concentraciones no saturantes. Por lo general, las dosis administradas son bajas y proporcionan imágenes de alto contraste. La determinación de la dosis se lleva a cabo en una manera conocida por una persona en el arte de la exploración marcada radiactivamente ("*radiolabel imaging*"). Los compuestos pueden administrarse en composiciones que incorporan otros ingredientes, tales como aquellos tipos de ingredientes que son útiles en formular una composición diagnóstica. Compuestos útiles de acuerdo con la realización de la presente invención se emplean muy preferiblemente en formas de alta pureza. Luego de administrar los compuestos a un sujeto (v.g., un sujeto humano), puede representarse en una imagen la presencia de ese compuesto en el sujeto y cuantificarse por técnicas apropiadas, con el fin de indicar la presencia, cantidad, y funcionalidad de subtipos NNR seleccionados. Además de los humanos, los compuestos pueden suministrarse asimismo a animales, tales como ratones, ratas, caballos, perros, y monos. La exploración SPECT y PET puede llevarse a cabo usando cualquier técnica y aparato apropiados. Los compuestos radiomarcados se unen con alta afinidad a subtipos NNR selectivos (v.g., $\alpha 4\beta 2$) y preferiblemente exhiben unión no específica desdeñable a otros subtipos de receptor colinérgico nicotínico (v.g., aquellos subtipos de receptor asociados con el músculo y los ganglios). Como tales, los compuestos pueden usarse como agentes para exploración no invasiva de subtipos de receptor colinérgico nicotínico en el cuerpo de un sujeto, particularmente en el cerebro, para diagnosis asociada con una variedad de enfermedades y trastornos del SNC.

En un aspecto, las composiciones diagnósticas pueden emplearse en un método para diagnosticar una enfermedad en un sujeto, tal como un paciente humano. El método implica administrar a ese paciente un compuesto detectablemente marcado, como se describe en esta especificación, y detectar la unión de ese compuesto a subtipos NNR seleccionados (v.g., subtipos de receptor $\alpha 4\beta 2$). Las personas expertas en el arte de usar herramientas diagnósticas, tales como PET y SPECT, pueden utilizar los compuestos radiomarcados descritos en esta especificación para diagnosticar una amplia variedad de afecciones y trastornos, incluyendo afecciones y trastornos asociados con disfunción de los sistemas nervioso y autónomo. Tales trastornos incluyen una amplia variedad de enfermedades y trastornos del SNC, tales como enfermedad de Alzheimer,

enfermedad de Parkinson, y esquizofrenia o cualquier trastorno mencionado en esta especificación.

Unión a Receptor

Los compuestos de esta invención pueden utilizarse como ligandos de referencia en análisis de unión para compuestos que se unen a subtipos NNR, particularmente los subtipos de receptor $\alpha 4\beta 2$. Para este propósito, los compuestos de esta invención se marcan preferiblemente con una fracción isotópica radioactiva tal como ^3H , o ^{14}C . Ejemplos de tales análisis de unión se describen en detalle a continuación.

Composiciones Farmacéuticas

En un aspecto la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de la presente invención y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Otro aspecto de la invención provee un proceso para la preparación de una composición farmacéutica, incluyendo mezclar el compuesto de la presente invención con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La manera en la cual se administra el compuesto de la presente invención puede variar. El compuesto de la presente invención se administra preferiblemente por vía oral. Composiciones farmacéuticas preferidas para administración oral incluyen tabletas, cápsulas, comprimidos oblongos ("**caplets**"), jarabes, soluciones, y suspensiones. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden proveerse en presentaciones farmacéuticas de liberación modificada, tales como formulaciones en tableta y cápsula de liberación en el tiempo.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse igualmente mediante inyección, a saber, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, e intracerebroventricular. Vehículos para inyección pueden incluir soluciones de dextrosa al 5%, solución salina, y solución salina amortiguada con fosfato.

Las composiciones pueden administrarse además empleando otros medios,

56

por ejemplo, administración rectal. Los compuestos pueden administrarse también por inhalación, por ejemplo, en la forma de un aerosol; tópicamente, tal como, en forma de una loción; transdérmicamente, tal como, empleando un parche transdérmico (por ejemplo, usando tecnología que se encuentra disponible en el comercio de Novartis y Alza Corporation), por inyección en polvo, o por absorción bucal, sublingual, o intranasal.

Composiciones farmacéuticas pueden formularse en una presentación farmacéutica unitaria, o en presentaciones farmacéuticas múltiples o subunitarias.

La administración de las composiciones farmacéuticas descritas en esta especificación puede ser intermitente, o a una tasa gradual, continua, constante o controlada. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un animal de sangre caliente, por ejemplo, un mamífero tal como un ratón, rata, gato, conejillos de Indias, conejo, caballo, perro, cerdo, vaca, o mono; pero, ventajosamente, se administra a un ser humano.

Combinaciones

El compuesto de la presente invención puede usarse en el tratamiento de una variedad de trastornos y afecciones y, como tal, puede utilizarse en combinación con una variedad de otros agentes terapéuticos útiles en el tratamiento o profilaxis de esos trastornos. Por consiguiente, una incorporación de la presente invención se refiere a la administración del compuesto de la presente invención en combinación con otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, el compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con otros ligandos NNR (tales como vareniclina), antioxidantes (tales como agentes secuestrantes de radicales libres), agentes antibacterianos (tales como antibióticos de penicilina), agentes antivíricos (tales como análogos de nucleósido, como zidovudine y aciclovir), anticoagulantes (tales como warfarina), agentes anti-inflamatorios (tales como antiinflamatorios no esteroideos), anti-piréticos, analgésicos, anestésicos (tales como los usados en cirugía), inhibidores de acetilcolinesterasa (tales como donepezil y galantamina), antipsicóticos (tales como haloperidol, clozapina, olanzapina, y quetiapina), inmuno-supresores (tales como ciclosporina y metotrexato), agentes neuroprotectores, esteroides (tales como hormonas esteroideas), corticosteroides (tales como dexametasona, predisona, e hidrocortisona), vitaminas, minerales, alimentos medicinales

SX

("nutraceuticals"), anti-depresivos (tales como imipramina, fluoxetina, paroxetina, escitalopram, sertralina, venlafaxina, y duloxetina), ansiolíticos (tales como alprazolam y buspirona), anticonvulsivos (tales como fenitoína y gabapentina), vasodilatadores (tales como prazosina y sildenafil), estabilizadores del estado de ánimo (tales como valproato y aripiprazol), medicamentos antineoplásicos (tales como anti-proliferantes), agentes anti-hipertensores (tales como atenolol, clonidina, amlodipina, verapamil, y olmesartán), laxantes, ablandadores de materia fecal, diuréticos (tales como furosemida), anti-espasmódicos (tales como diciclomina), agentes anti-discinéticos, y medicamentos anti-ulcerantes (tales como esomeprazol). Tal combinación de agentes terapéuticos puede administrarse conjunta o separadamente y, cuando se administra separadamente, la administración puede ocurrir simultánea o secuencialmente, en cualquier orden. Las cantidades de los compuestos o agentes y los tiempos oportunos relativos de administración se seleccionarán con el fin de lograr el efecto deseado. La administración en combinación de un compuesto de la presente invención con otros agentes terapéuticos puede ser en combinación mediante administración en forma concomitante en: (1) una composición farmacéutica unitaria que incluye los dos compuestos; o (2) composiciones farmacéuticas separadas, incluyendo cada una uno de los compuestos. Alternativamente, la combinación puede administrarse separadamente en una manera consecutiva, en donde un agente de tratamiento se administra primero y el otro en segundo lugar. Tal administración secuencial puede ser cercana en el tiempo o remota en el tiempo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una terapia de combinación, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva del compuesto de la presente invención y uno o más de otros agentes terapéuticos incluyendo quimioterapéuticos, agentes terapéuticos de radiación, agentes terapéuticos génicos, o agentes usados en inmunoterapia.

Dosis Baja

((R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal es un sustrato para la bomba cerebral Pgp que se localiza en la barrera hematoencefálica. La bomba Pgp es responsable de bombear sustancias *fuera* del cerebro. Debido a esta bomba, a menudo es difícil tener medicamentos en el cerebro en cantidades terapéuticamente efectivas. Con frecuencia, esto resulta en la administración de altas dosis de fármacos, los cuales, con estas dosis elevadas,

S8

pueden tener efectos secundarios en otras partes del cuerpo humano.

((R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, a pesar de ser un sustrato para la bomba Pgp, puede administrarse en dosis bajas, teniendo al mismo tiempo una duración o efecto relativamente prolongado. Por ejemplo, comparada con la acetilcolina, el agonista natural para NNR, la respuesta para ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina es dos veces tan grande en el análisis *in vitro* con $\alpha 4\beta 2$.

Una incorporación de la invención se refiere a la administración de una composición farmacéutica que contiene ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, en ciertas incorporaciones, su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, en cantidades de entre 1 a 2200 $\mu\text{g}/\text{día}$. En otra incorporación la cantidad es 50 a 1500 $\mu\text{g}/\text{día}$. En una incorporación adicional la cantidad es 50 a 1000 $\mu\text{g}/\text{día}$. En una incorporación la cantidad es 50 a 500 $\mu\text{g}/\text{día}$. En otra incorporación la cantidad es 75 a 300 $\mu\text{g}/\text{día}$. En todavía otra incorporación la cantidad es 75 a 200 $\mu\text{g}/\text{día}$. En aún otra incorporación la cantidad es 75 a 150 $\mu\text{g}/\text{día}$.

La dosis de ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable, o en ciertas incorporaciones, su sal mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato, puede administrarse una, dos, o tres veces al día. Una incorporación se refiere a una administración una vez al día. Otra incorporación se refiere a una administración dos veces al día.

Otra incorporación de la invención se refiere a un agonista NNR que tiene una semi-vida ($t_{1/2}$) entre 5 y 8 horas. En una incorporación la $t_{1/2}$ está entre 6 y 7 horas. En otra incorporación la $t_{1/2}$ es 6.8 horas.

Otra incorporación de la invención se refiere a un agonista NNR que tiene una duración de acción de entre 5 y 10 horas. En una incorporación la duración es entre 6 a 9 horas. En una incorporación adicional la duración es 8 horas.

En una incorporación adicional el agonista es un agonista $\alpha 4\beta 2$.

59

En todavía otra incorporación el agonista es ((R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proveen para ilustrar la presente invención, y no deben interpretarse como limitantes de la misma. En estos ejemplos, todos los porcentajes son en peso, a menos que se anote lo contrario.

Ejemplo 1: Instrumentación y protocolos experimentales para la caracterización de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina y sus formas de sales

Espectrometría por Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

Se recolectaron espectros NMR en un instrumento Varian Unity 300 MHz o un instrumento Bruker 400MHz, equipado con un cargador automático de muestras y controlado por una consola DRX400. Se adquirieron experimentos automáticos usando ICONNMR v4.0.4 (build 1) operando con Topspin v 1.3 (nivel de código 8) empleando los experimentos cargados del estándar Bruker. Para espectroscopia no rutinaria, los datos se adquirieron mediante el empleo de Topspin únicamente.

Punto de Fusión

Se utilizó un aparato de punto de fusión de fase caliente Fisher-Johns, en un escenario correspondiente a la tasa de calentamiento de alrededor de 5 °C por min.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*)

Se recolectaron los datos DSC en un TA Instruments Q1000 o un Mettler DSC 823e equipado con un cargador automático de muestras de 50 posiciones. El instrumento se calibró con respecto energía y temperatura usando indio certificado. Por lo general 0.5-1.5 mg de cada muestra, en una cazoleta de aluminio con pequeños agujeros, se calentaron a 10 °C/min de 25 °C a 175-200 °C. Sobre la muestra se mantuvo una purga de nitrógeno a 30 mL/min.

Adsorción Dinámica de Vapor (DVS - Dynamic Vapor Sorption)

Se determinaron las isothermas de adsorción empleando un analizador de adsorción de humedad intrínseca SMS DVS controlado por software de recopilación de programas de análisis SMS. Se mantuvo la temperatura de la muestra a 25 °C mediante los controles del instrumento. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo, con un caudal total de 200 mL/min. La humedad relativa se midió con una sonda calibrada Rotronic (rango dinámico de 1.0-100 % RH), localizada cerca de la muestra. La variación en peso, (relajación de masas) de la muestra como una función de % RH se monitoreó constantemente por la microbalanza (exactitud ± 0.005 mg).

Por lo general se puso una muestra de 5-20 mg en la canastilla de acero inoxidable de malla, pesada bajo condiciones ambientes. La muestra se cargó y descargó a 40% RH y 25 °C (condiciones ambientes típicas). Se realizó una isoterma de adsorción de humedad como se describe a continuación (2 exploraciones dan 1 ciclo completo). La isoterma estándar se efectuó a 25 °C en intervalos de 10% RH en un rango 0-90% RH.

Parámetros del método genérico DVS

Parámetros	Valores
Adsorción – Escaneo 1	40-90
Desorción / Adsorción – Escaneo 2	90 - Seco, Seco - 40
Intervalos (% RH)	10
Número de Escaneos	2
Caudal (mL/min)	200
Temperatura (°C)	25
Estabilidad (°C/min)	0.2
Tiempo de Adsorción (h)	6 horas de pausa

Pureza Química por HPLC

El análisis de pureza se llevó a cabo empleando un sistema en serie Agilent HP1100, equipado con un detector de arreglo de diodos y empleando el software ChemStation vB.02.01-SR1. Parámetros del método HPLC para determinación de la pureza química:

Preparación de la Muestra	0.5 mg/mL en acetonitrilo:agua 1:1 (v/v)
Columna:	Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 4.6 mm, 5 μ m

61

Temperatura de Columna (°C):	25		
Inyección (nL):	5		
Detección: Longitud de Onda, Ancho de Banda (nm):	255, 90		
Caudal (mL/min):	1		
Fase A:	0.1% TFA en agua		
Fase B:	0.085% TFA en acetonitrilo		
Cronograma:	Tiempo (min)	% Fase A	% Fase B
	0	95	5
	25	5	95
	25.2	95	5
	30	95	5

Cromatografía de Intercambio Iónico

Se recolectaron datos en un Metrohm 761 Advanced Compact IC (para cationes) y un Metrohm 861 Advanced Compact IC (para aniones) empleando software IC Net v2.3. Se prepararon las muestras como disoluciones madre ("*stocks*") 1000 ppm en DMSO. Las muestras se diluyeron a 100 ppm con DMSO antes de la experimentación. La cuantificación se logró por comparación con soluciones estándar de concentración conocida del ión que se estaba analizando. Método de Cromatografía de Intercambio Iónico para aniones:

Tipo de método	Intercambio de aniones
Columna:	Metrosep A Supp 5 - 250 (4.0 x 250 mm)
Temperatura de la Columna (°C):	Ambiente
Inyección (µL):	20
Detección:	Detector de conductividad
Caudal (mL/min):	0.7
Eluyente:	3.2 mM carbonato de sodio, 1.0 mM bicarbonato de sodio en agua

Método de Cromatografía de Intercambio Iónico para cationes:

Tipo de método	Intercambio de cationes
Columna:	Metrosep C 2 - 250 (4.0 x 250 mm)
Temperatura de la Columna (°C):	Ambiente
Inyección (µL):	20
Detección:	Detector de conductividad
Caudal (mL/min):	1.0
Eluyente:	4.0 mM Ácido tartárico, 0.75 mM Ácido dipicolínico en agua

Ejemplo 2. Síntesis de *terc*-butil (R)-3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato (2)

Procedimiento A: A una solución de *terc*-butil (R)-3-hidroxipirrolidin-1-

62

carboxilato (200 g, 1.07 mol) y trietilamina (167 g, 1.63 mol) en tolueno (700 mL) a -20 a -30 °C se agregó cloruro de metanosulfonilo (156 g, 1.36 mol) gota a gota manteniendo simultáneamente la temperatura a -10 a -20 °C. La solución se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar. Se tomaron muestras de la solución de reacción cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la suspensión se filtró para eliminar el clorhidrato de trietilamina. El filtrado se lavó con ~600 mL de solución de bicarbonato de sodio acuoso diluido. La capa orgánica se secó y concentró bajo presión reducida para producir **2** como un aceite viscoso (260 g, 92%), el cual se utilizó sin purificación posterior. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.27 (m, 1H), 3.44 - 3.76 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.26 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 1.47 (s, 9H).

Procedimiento B: Un reactor se cargó con *terc*-butil (R)-3-hidroxipirrolidin-1-carboxilato (2.00 kg, 10.7 mol), tolueno (8.70 kg) y trietilamina (1.75 kg, 17.3 mol). El reactor se lavó con nitrógeno durante 15 min. La mezcla se agitó y enfrió a 3 °C. Cloruro de metanosulfonilo (1.72 kg, mol) se agregó lentamente (durante un período de 2 h) con enfriamiento continuo en baño helado (reacción exotérmica) (una vez completa la adición, la temperatura era 14 °C). La mezcla, ahora viscosa con clorhidrato de trietilamina precipitado, se agitó 12 h a medida que se calentaba a 20 °C. Los dos análisis GC y TLC (colorante ninhidrina) indicaron que no quedaba material de partida. La mezcla se filtró para eliminar el clorhidrato de trietilamina, y el filtrado se devolvió al reactor. El filtrado se lavó entonces (2 x 3 kg) con bicarbonato de sodio acuoso al 5%, empleando 15 min de tiempo de agitación y 15 min de sedimentación para cada lavado. La capa orgánica resultante se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. Los volátiles se eliminaron del filtrado bajo vacío, primero a 50 °C durante 4 h y luego a temperatura ambiente durante 10 h. El residuo pesó 3.00 kg (rendimiento 106%) y fue idéntico, mediante análisis cromatográfico y NMR, a muestras preparadas previamente, con la excepción de que contenía tolueno.

Ejemplo 3. Síntesis de dietil (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato (3)

Preparación A: A una solución de *terc*-butóxido de potasio (187 g, 1.62 mol) en 1-metil-2-pirrolidinona (1.19 L) se agregó malonato de dietilo (268 g, 1.67 mol), manteniendo simultáneamente la temperatura por debajo de 35 °C. La solución se

63

calentó a 40 °C y se agitó durante 20-30 min. Se agregó *tert*-butil (R)-3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato (112 g, 420 mmol), y la solución se calentó a 65 °C y se agitó durante 6 h. Se tomaron muestras de la solución de reacción cada 2 h y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción (10-12 h), la mezcla se enfrió a alrededor de 25 °C. Se agregó agua desionizada (250 mL) a la solución, y se ajustó el pH a 3-4 por la adición de 2N ácido clorhídrico (650 mL). La suspensión resultante se filtró, y se agregaron agua (1.2 L) y cloroformo (1.4 L). La solución se mezcló concienzudamente, y se recolectó la capa de cloroformo y se evaporó bajo presión reducida para producir un aceite amarillo. El aceite se disolvió en hexanos (2.00 L) y se lavó con agua desionizada (2 x 1.00 L). La capa orgánica se concentró bajo presión reducida a 50-55 °C para producir un aceite amarillo pálido (252 g), cuyo análisis ¹H NMR indica que es 49.1% de **3** (123.8 g) junto con 48.5% de malonato de dietilo (122g), y 2% de 1-metil-2-pirrolidinona (5 g). El material se llevó al siguiente paso sin purificación posterior. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.20 (q, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.27 (d, J = 10 Hz, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.27 (t, 6H).

Preparación B: Un reactor, mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno, se cargó con etanol de graduación alcohólica 200 (5.50 kg) y 21% (en peso) etóxido de sodio en etanol (7.00 kg, 21.6 mol). La mezcla se agitó y se calentó a 30 °C. Se agregó malonato de dietilo (3.50 kg, 21.9 mol) durante un período de 20 min. La mezcla de reacción se calentó entonces a 40 °C durante 1.5 h. Se agregó una solución de *tert*-butil (R)-3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato (3.00 kg del producto de Ejemplo 2, Procedimiento B, 10.7 mol) en etanol de graduación alcohólica 200 (5.50 kg), y la mezcla resultante se calentó a reflujo (78 °C) durante 2 h. Los dos análisis GC y TLC (colorante ninhidrina) indicaron que no quedaba material de partida. La mezcla agitada se enfrió entonces a 25 °C, se diluyó con agua (2.25 kg), y se trató lentamente con una solución de ácido clorhídrico concentrado (1.27 kg, 12.9 mol) en agua (5.44 kg). Esta mezcla se lavó dos veces con metil *tert*-butil éter (MTBE) (14.1 kg y 11.4 kg), empleando 15 min de tiempo de agitación y 15 min de sedimentación para cada lavado. Los lavados MTBE combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (1 kg), se filtraron y se concentraron bajo vacío a 50 °C durante 6 h. El residuo (aceite rojo) pesó 4.45 kg y fue 49% del producto deseado mediante análisis GC (rendimiento general 62% de *tert*-butil (R)-3-hidroxipirrolidin-1-carboxilato).

Ejemplo 4. Síntesis de ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (4)

Procedimiento A: A una solución del producto de Ejemplo 3, Procedimiento A (232 g), que contenía 123.8 g (380 mmol) de **3** y 121.8 g (760 mmol) de malonato de dietilo, en tetrahidrofurano (1.2 L) se agregó una solución de hidróxido de potasio al 21% (450 g en 0.50 L de agua desionizada) manteniendo simultáneamente la temperatura por debajo de 25 °C. La mezcla de reacción se calentó a 45 °C y se agitó durante 1 h. Se tomaron muestras de la solución de reacción cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción (2-3 h), la mezcla se enfrió a alrededor de 25 °C. Se recolectó la capa acuosa y se enfrió a 5 °C. Se ajustó el pH a 2 por la adición de 4N ácido clorhídrico (750 mL), y la suspensión resultante se mantuvo a 5 - 10 °C durante 30 min. La mezcla se filtró, y los residuos de filtrado se lavaron con hexanos (1 L). Se extrajo el filtrado acuoso con cloroformo (1 L) y la capa de cloroformo se reservó. Los sólidos recolectados en el paso de filtración se re-disolvieron en cloroformo (1 L) calentando a 40 °C. La solución se filtró para eliminar los sólidos inorgánicos no disueltos. Las capas de cloroformo se combinaron y se concentraron bajo presión reducida a 50 - 55 °C para producir un sólido blancuzco (15 g). Los sólidos se combinaron y se disolvieron en acetato de etilo (350 mL) para producir una suspensión que se calentó a 55 - 60 °C durante 2h. La suspensión se filtró aún caliente y los residuos de filtrado resultantes se lavaron con acetato de etilo (2 x 150 mL) y hexanos (2 x 250 mL) para producir 83.0 g (80.1%) de **4** como un sólido blanco, el cual se utilizó en el siguiente paso sin purificación posterior. ¹H NMR (d₄-CH₃OH, 400 MHz) δ 3.60 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.29-3.32 (m, 2H), 2.72 (m, 1H), 2.09 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.45 (s, 9H).

Procedimiento B: Una solución del producto de Ejemplo 3, Procedimiento B (4.35 kg), que contenía 2.13 kg (6.47 mol) de **3**, en tetrahidrofurano (13.9 kg) se agregó una solución enfriada, agitada, de hidróxido de potasio (1.60 kg, 40.0 mol) en agua desionizada (2.00 kg) bajo una atmósfera de nitrógeno, manteniendo simultáneamente la temperatura por debajo de 35 °C. La mezcla de reacción se calentó y se mantuvo a 40 - 45 °C durante 24 h, tiempo en el cual los análisis GC y TLC indicaron que la reacción estaba completa. La mezcla se enfrió a 25 °C y se lavó con MTBE (34 kg), empleando un tiempo de 15 min de agitación y 15 min de sedimentación. Se recolectó la capa acuosa y se enfrió a 1 °C. Una mezcla de ácido clorhídrico concentrado (2.61 kg, 26.5 mol) en agua desionizada (2.18 kg) se

agregó entonces lentamente, manteniendo la temperatura de la mezcla a $<15\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min después de la adición. Se ajustó el pH de la solución a 3.7 mediante la posterior adición de ácido clorhídrico. El sólido blanco se recolectó por filtración, se lavó con agua (16 kg), y se secó a vacío a temperatura ambiente durante 6 d. El sólido seco pesó 1.04 kg. El filtrado se enfrió a $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo a esa temperatura, a medida que el pH se reducía por la adición de más ácido clorhídrico (se utilizó 1.6 L de 6 N; 9.6 mol; pH final = 2). El sólido blanco de recolectó por filtración, se lavó con agua (8 L), y se secó en vacío a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 d. El sólido seco pesó 0.25 kg. Los sólidos combinados (1.29 kg, rendimiento 73%) fueron cromatográficamente idénticos a las muestras preparadas previamente.

Ejemplo 5. Síntesis de ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)acético (5)

Procedimiento A: Una solución de ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (83 g) en 1-metil-2-pirrolidinona (0.42 L) se agitó bajo nitrógeno a $110\text{--}112\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 h. Se tomaron muestras de la solución de reacción cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la solución de reacción se enfrió a $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solución se mezcló con agua desionizada (1.00 L), y se agregó MTBE (1.00 L). Las fases se separaron, y se recolectó la capa orgánica. La fase acuosa se extrajo con MTBE (1.00 L), luego cloroformo (1.00 L). Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron bajo presión reducida a $50\text{--}55\text{ }^{\circ}\text{C}$ para producir un aceite. Este aceite se disolvió en MTBE (2.00 L) y se lavó dos veces con 0.6N ácido clorhídrico (2 x 1.00 L). La capa orgánica se recolectó y se concentró bajo presión reducida a $50\text{--}55\text{ }^{\circ}\text{C}$ para producir un semi-sólido. El semi-sólido se suspendió en 1:4 acetato de etilo/hexanos (100 mL), se calentó a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, se mantuvo durante 30 min, se enfrió a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para producir un aceite, el cual se disolvió en MTBE (250 mL) y se lavó dos veces con 0.6N ácido clorhídrico (2 x 100 mL). La capa orgánica se concentró bajo presión reducida a $50\text{--}55\text{ }^{\circ}\text{C}$ para producir un semi-sólido, el cual se suspendió en 1:4 acetato de etilo/hexanos (50 mL), se calentó a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, se mantuvo durante 30 min, se enfrió a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se filtró. Los sólidos se recolectaron, se suspendieron en hexanos (200 mL), y se recolectaron por filtración para producir 54.0 g (77.6%) de 5. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 11.00 (br s, 1H), 3.63 (m, 1H), 3.45 (M, 1H), 3.30 (M, 1H), 2.97 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 2.44 (m, 2H), 2.09

66

(m, 1H), 1.59 (M, 1H), 1.46 (s, 9H).

Procedimiento B: Una solución de ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (1.04 kg, 3.81 mol) en 1-metil-2-pirrolidinona (6.49 kg) se agitó bajo nitrógeno a 110 °C durante 5 h, tiempo en el cual los análisis TLC y HPLC indicaron que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C (4 h) y se combinó con agua (12.8 kg) y MTBE (9.44 kg). La mezcla se agitó vigorosamente durante 20 min, y se dejó que las fases se separaran (10 h). Se recolectó la fase orgánica, y la fase acuosa se combinó con MTBE (9.44 kg), se agitó durante 15 min, y se dejó sedimentar (45 min). Se recolectó la fase orgánica, y la fase acuosa se combinó con MTBE (9.44 kg), se agitó durante 15 min, y se dejó sedimentar (15 min). Las tres fases orgánicas se combinaron y se lavaron tres veces con 1N ácido clorhídrico (porciones de 8.44 kg) y una vez con agua (6.39 kg), empleando 15 min de tiempo de agitación y 15 min de sedimentación para cada lavado. La solución resultante se secó sobre sulfato de sodio anhidro (2.0 kg) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida a 31 °C (2 h) para producir un sólido. Este sólido se calentó bajo vacío durante 4 h a 39 °C y durante 16 h a 25 °C, arrojando 704 g (81%) de **5** (pureza del 99.7% mediante GC).

Procedimiento C (síntesis dinamizada de **5**, usando **2** como material de partida): Una mezcla agitada de etóxido de sodio en etanol (porcentaje en peso 21, 343 g, 1.05 mol), etanol (anhidro, 300 mL) y malonato de dietilo (168 g, 1.05 mol) se calentó a 40 °C durante 1.5 h. A esta mezcla se agregó una solución de (R)-*tert*-butil 3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato (138 g, 0.592 mol) en etanol (100 mL) y la mezcla de reacción se calentó a 78 °C durante 8 h. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con agua (2.0 L) y se acidificó a pH = 3 con 6M HCl (100 mL). La mezcla de etanol acuoso se extrajo con tolueno (1.0 L), y la fase orgánica se concentró bajo vacío para proporcionar 230 g de un aceite rojo. El aceite rojo se agregó a 85 °C a un 22.5 por ciento en peso de hidróxido de potasio acuoso (748 g, 3.01 mol). Una vez completa la adición, se dejó que la temperatura de reacción subiera lentamente a 102 °C, teniendo lugar al mismo tiempo una destilación de etanol. Cuando la temperatura de reacción había alcanzado 102 °C, y la destilación había menguado, se continuó el calentamiento durante 90 min más. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con tolueno (2 x 400 mL). A la capa acuosa se agregaron 600 mL 6M ácido clorhídrico, manteniendo simultáneamente la temperatura interna por debajo de 20 °C. Esto

67

resultó en la formación de un precipitado, iniciando con un pH de alrededor de 4-5. La suspensión se filtró, y los residuos de filtrado se lavaron con 300 mL agua. El sólido se secó a vacío para proporcionar 77 g de ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico como un sólido blancuzco (rendimiento 54% con respecto a (R)-*tert*-butil 3-(metilsulfonilo)pirrolidin-1-carboxilato). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 3.47 (m, 1H); 3.32 (m, 1H); 3.24 (m, 1H); 3.16 (m, 1H); 3.92 (m, 1H); 2.86 (m, 1H); 1.95 (m, 1H); 1.59 (m, 1H); 1.39 (s, 9H).

Una suspensión de ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico (15 g, 55 mmol) en tolueno (150 mL) y sulfóxido de dimetilo (2 mL) se calentó a reflujo durante un período de 2 h. Se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente y se diluyó con MTBE (150 mL). La solución orgánica se lavó con ácido cítrico acuoso al 10% (2 * 200 mL), y se eliminó el disolvente bajo vacío para proporcionar 11.6 g de ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)-pirrolidin-3-il)acético como un sólido blancuzco (rendimiento 92%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 12.1 (s, 1H); 3.36-3.48 (m, 1H); 3.20-3.34 (m, 1H); 3.05-3.19 (m, 1H); 2.72-2.84 (m, 1H); 2.30-2.42 (m, 1H); 2.22-2.30 (m, 2H); 1.85-2.00 (m, 1H); 1.38-1.54 (m, 1H); 1.35 (2, 9H).

Ejemplo 6. Síntesis de *tert*-butil (R)-3-(2-hidroxietil)pirrolidin-1-carboxilato (6)

Procedimiento A: Una solución de ácido (R)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)acético (49.0 g, 214 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (200 mL) se enfrió a -10 °C. Se agregaron lentamente 250 mL (250 mmol) de 1M borano en solución de THF al matraz, manteniendo simultáneamente la temperatura a menos de 0 °C. La solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se tomaron muestras de la solución cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la solución se enfrió a 0 °C, y se agregó gota a gota una solución de hidróxido de sodio al 10% (80 mL) durante un período de 30 minutos para controlar la evolución de gas. La solución se extrajo con 500 mL de una solución 1:1 hexanos/acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución de cloruro de sodio saturado y se secó con 10 g de gel de sílice. El gel de sílice se retiró mediante filtración y se lavó con 100 mL de 1:1 hexanos/acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron bajo vacío para producir **6** (42 g, 91.3 %) como un aceite anaranjado claro que se solidificó después de reposar. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 3.67 (m, 2H), 3.38-3.62 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 2.90

68

(m, 1H), 2.25 (m, 1H), 1.98-2.05 (m, 1H), 1.61-1.69 (m, 2H), 1.48-1.59 (m, 2H), 1.46 (s, 9H).

Procedimiento B: Un complejo borano-THF (3.90 kg o una porción L de 1M en THF, mol) se agregó lentamente a una solución agitada de ácido (*R*)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)acético (683 g, 3.03 mol) en THF (2.5 kg), se mantuvo bajo gas nitrógeno, y empleando un baño maría para mantener la temperatura entre 23 y 28 °C. La adición tomó 1.75 h. Se continuó la agitación a 25 °C durante 1 h, tiempo después del cual el análisis GC indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se enfrió a <10 °C y se mantuvo por debajo de 25 °C, a medida que se agregaba lentamente hidróxido de sodio acuoso al 10% (1.22 kg). La adición tomó 40 min. La mezcla se agitó 1 h a 25 °C, y luego se combinó con 1:1 (v/v) heptano/acetato de etilo (7 L). La mezcla se agitó durante 15 min y se dejó que se separara en fases (1 h). La fase orgánica se retiró, y la fase acuosa se combinó con una segunda porción 7 L de 1:1 heptano/acetato de etilo. Ésta se agitó durante 15 min y se dejó que se separara en fases (20 min). La fase orgánica se retiró nuevamente, y las fases orgánicas combinadas se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (4.16 kg), empleando un tiempo de 15 min de mezclado y 1 h de sedimentación. La fase orgánica se combinó con gel de sílice (140 g) y se agitó 1h. Se agregó el sulfato de sodio anhidro (700 g), y la mezcla se agitó durante 1.5 h. La mezcla se filtró, y los residuos de filtrado se lavaron con 1:1 heptano/acetato de etilo (2 L). El filtrado se concentró bajo vacío a <40 °C durante 6 h. El aceite resultante pesaba 670 g (rendimiento 103%) y contenía trazas de heptano, pero era por lo demás idéntico a las muestras previamente preparadas de **6**, mediante análisis NMR.

Ejemplo 7: *tert*-butil (*R*)-3-(2-(metilsulfonilo)etil)pirrolidin-1-carboxilato (7**)**

Procedimiento A: A una solución de *tert*-butil (*R*)-3-(2-hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato (41.0 g, 190 mmol) se agregó trietilamina (40 mL) en tolueno (380 mL) y se enfrió a -10 °C. Se agregó lentamente cloruro de metanosulfonilo (20.0 mL, 256 mmol) con el fin de mantener la temperatura alrededor de -5 a 0 °C. La solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se tomaron muestras de la solución cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la solución se filtró, y el filtrado se lavó con una solución de bicarbonato de sodio al 5% (250 mL). La capa orgánica se recolectó y se lavó con una solución de cloruro de sodio acuoso

69

saturado (250 mL). Se recolectó la capa orgánica, se secó sobre gel de sílice (10 g), y se concentró bajo vacío para producir **7** (53.0 g, 92.8 %) como un aceite viscoso amarillo claro. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4.26 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.41-3.63 (m, 2H), 3.27 (m, 1H), 3.02 (s, 3H), 2.92 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.83 (m, 2H), 1.50-1.63 (m, 1H), 1.46 (s, 9H).

Procedimiento B: Bajo una atmósfera de nitrógeno, se agitó y enfrió a 5 °C una solución de trietilamina (460 g, 4.55 mol) y *terc*-butil (R)-3-(2-hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato (la muestra entera de Ejemplo 7, Procedimiento B, 3.03 mol) en tolueno (5.20 kg). Se agregó lentamente cloruro de metanosulfonilo (470 g, 4.10 mol), durante 1.25 h, manteniendo la temperatura por debajo de 15 °C, usando enfriamiento en baño helado. La mezcla se calentó gradualmente (durante 1.5 h) a 35 °C, y esta temperatura se mantuvo durante 1.25 h, punto en el cual el análisis GC indicó que la reacción estaba completa. La mezcla se enfrió a 25 °C, y los sólidos se extrajeron por filtración y los residuos de filtrado se lavaron con tolueno (1.28 kg). El filtrado se agitó con bicarbonato de sodio acuoso al 10% (4.0 kg) durante 15 min, y se dejó que las fases se separaran durante 30 min. La fase orgánica se agitó entonces con cloruro de sodio acuoso saturado (3.9 kg) durante 30 min, y se dejó que las fases se separaran durante 20 min. La fase orgánica se combinó con gel de sílice (160 g) y se agitó durante 1 h. Se agregó sulfato de sodio anhidro (540 g), y la mezcla se agitó durante 40 min más. La mezcla se filtró entonces, y los residuos de filtrado se lavaron con tolueno (460 g). El filtrado se concentró bajo vacío a 50 °C durante 5 h, y el aceite resultante se mantuvo bajo vacío a 23 °C durante 8h más. Esto produjo 798 g de **7**, 93% puro mediante análisis GC.

Ejemplo 8: Síntesis de *terc*-butil (R)-3-vinilpirrolidin-1-carboxilato (9)

Procedimiento A: Una solución de *terc*-butil (R)-3-((metilsulfonilo)etil)pirrolidin-1-carboxilato (49.0 g, 167 mmol), yoduro de sodio (30.0 g, 200 mmol) y 1,2-dimetoxietano (450 mL) se agitó a 50-60 °C durante 4 h. Se tomaron muestras de la solución cada hora y se analizaron por HPLC para establecer la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la solución se enfrió a -10 °C, y se agregó *terc*-butóxido de potasio sólido (32.0 g, 288 mmol), manteniendo simultáneamente la temperatura por debajo de 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se tomaron muestras de la solución cada hora y se analizaron mediante HPLC para establecer

20

la terminación de la reacción. Una vez completa la reacción, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas (25 g base seca). Los residuos de filtrado se lavaron con 1,2-dimetoxietano (100 mL). Los filtrados combinados se concentraron bajo vacío, para producir un aceite anaranjado con sólidos suspendidos. El aceite se disolvió en hexanos (400 mL), se agitó durante 30 min y se filtró para eliminar los sólidos. La capa orgánica se secó sobre gel de sílice (10 g), y se concentró bajo vacío para producir **9** (26.4 g, 82.9 %) como un aceite incoloro. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.77 (m, 1H), 5.10 (dd, $J = 1.2$ Hz, $J = 16$ Hz, 1H), 5.03 (dd, $J = 1.2$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.41-3.59 (m, 2H), 3.29 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.62-1.73 (m, 1H), 1.46 (m, 9H).

Procedimiento B: Una solución de *tert*-butil (R)-3-(2-(metilsulfonilo)etil)pirrolidin-1-carboxilato (792 g del producto de Ejemplo 7, Procedimiento B, ~2.5 mol), yoduro de sodio (484 g, 3.27 mol) y 1,2-dimetoxietano (7.2 L) se agitó a 55 °C durante 4.5 h bajo nitrógeno, tiempo en el cual el análisis GC indicó que la reacción estaba completa. La solución se enfrió a <10 °C, y se agregó en porciones *tert*-butóxido de potasio sólido (484 g, 4.32 mol) (tiempo de adición 1.25 h), manteniendo simultáneamente la temperatura por debajo de 15 °C. La mezcla de reacción se agitó 1 h a 5 °C, se calentó lentamente (6 h) a 20 °C, y se agitó a 20 °C durante 1 h. La solución se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas (400 g base seca). Los residuos de filtrado se lavaron con 1,2-dimetoxietano (1.6 kg). Los filtrados combinados se concentraron bajo vacío, y el residuo semi-sólido se agitó con heptano (6.0 L) durante 2h. Los sólidos se eliminaron por filtración (los residuos de filtrado se lavaron con 440 mL de heptano), y el filtrado se concentró bajo vacío a 20 °C para producir 455 g de **9** (90.7% puro). Una muestra de este material (350 g) se destiló fraccionadamente a 20-23 torr para producir 296 g de **9** purificado (bp 130-133 °C) (>99% puro mediante análisis GC).

Ejemplo 9: Síntesis de 3-bromo-5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridina (12)

Una solución de 5-bromopiridin-3-ol (146 g, 834 mmol), tetrahydro-2H-piran-4-ol (128 g, 1250 mmol), y trifenilfosfina (329 g, 1250 mmol) en tolueno (2.0 L) se calentó a reflujo, y se retiraron 750 mL de destilado mediante una trampa Dean-Stark. La mezcla de reacción se enfrió a 60 °C, y durante un período de 1 hora se agregaron 547 g (1.25 mol) de una solución al 40% (p/p) de DEAD en tolueno. La adición fue exotérmica con la temperatura del reactor al final de la adición cerca de

H

95 °C. La mezcla de reacción se agitó a 115 °C durante 18 h, y se tomaron muestras de una porción de la solución de reacción y se analizaron mediante HPLC para establecer que la reacción estaba completa. Una vez completa la reacción, se retiraron 500 mL de disolvente por destilación, y el residuo del recipiente se enfrió a temperatura ambiente. Esta capa orgánica se lavó con hidróxido de sodio acuoso al 10% (2 x 0.50 L) y se concentró bajo vacío para producir un aceite viscoso, el cual se disolvió en 2N ácido clorhídrico (1.0 L). Se agregó tierra de diatomeas (100 g) agitando simultáneamente, y la suspensión resultante se filtró. La almohadilla se lavó con 2N ácido clorhídrico (1.0 L), y los filtrados se combinaron y se extrajeron con éter diisopropílico (500 mL). La capa de éter diisopropílico se descartó, y la capa acuosa se trató con negro de carbón (10 g) y se agitó a 45-50 °C durante 1 h. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas (25 g). El filtrado se recolectó, se enfrió a 5 °C, y se ajustó el pH con hidróxido de sodio acuoso al 50% (250 mL) a pH=13. La solución se extrajo dos veces con cloroformo (1.0 L, 600 mL), y los extractos de cloroformo se combinaron y se concentraron bajo vacío para producir **12** como un aceite viscoso rojo oscuro/sólido con bajo punto de fusión (187 g, 87%), el cual se usó sin purificación posterior. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.29 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 4.52 (m, 1H), 3.98 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.81 (m, 2H).

Ejemplo 10: Síntesis de *tert*-butil (R)-(E)-3-(2-(5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato(13)

Una mezcla de *tert*-butil (R)-3-vinilpirrolidin-1-carboxilato **9** (7.00 g, 35.5 mmol), 3-bromo-5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridina **12** (10.0 g, 38.8 mmol), acetato de paladio (0.40 g, 1.8 mmol), triciclohexilfosfina (1.0 g, 3.57 mmol) y diisopropiletilamina (15 mL) en 1-metil-2-pirrolidinona (130 mL) se agitó a 130 °C durante 17 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (800 mL) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron, y se purificaron mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando 60-100% acetato de etilo en hexanos. Este producto se purificó posteriormente en HPLC de fase inversa usando ácido trifluoroacético al 0.05% en acetonitrilo y ácido trifluoroacético al 0.05% en agua para obtener *tert*-butil (R)-(E)-3-(2-(5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato (11.0 g) como una goma. ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.41 (s, 1 H), 8.37 (d, J = 2.3 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H),

72

6.48 (d, J = 16.1 Hz, 1 H), 6.43 (dd, J = 16.0, 6.4 Hz, 1 H), 4.71-4.66 (m, 1 H), 4.02-3.96 (m, 2 H), 3.68-3.52 (m, 4 H), 3.44-3.34 (m, 1 H), 3.28-3.15 (m, 1 H), 3.09-2.98 (m, 1 H), 2.18-2.04 (m, 3 H), 1.90-1.78 (m, 3 H), 1.48 (s, 9 H)

Ejemplo 11: Síntesis de hemigalactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (14)

Una solución de *tert*-butil (R)-(E)-3-(2-(5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridin-3-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato (18 g, 48.13 mmol) en diclorometano (40 mL) y ácido trifluoroacético (40 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se concentró en un evaporador rotatorio, y el residuo se repartió en porciones entre cloruro de sodio saturado (50 mL) y cloroformo (100 mL). La mezcla se basificó a pH 9 con una solución de hidróxido de sodio al 10%. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con cloroformo (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron en un evaporador rotatorio para producir (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina (8.0 g) como una goma. Ésta se disolvió en metanol (100 mL) y se agregó ácido galactárico (3.0 g, 14.6 mmol), y la mezcla se calentó a reflujo. Esta solución caliente se filtró, y se dejó enfriar el filtrado a temperatura ambiente. El producto cristalizado se filtró, y el sólido se suspendió en 10% de agua en etanol (180 mL). La suspensión se calentó a reflujo y la solución caliente se filtró. Se dejó enfriar el filtrado a temperatura ambiente. El producto cristalizado se filtró y se secó en una bomba de alto vacío para producir hemigalactarato de (R)-3-((E)-2-pirrolidin-3-ilvinil)-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina (4.5 g). MP: 179 °C. ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.04 (s, 1 H), 8.01 (d, J = 2.2 Hz, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 6.46 (d, J = 16.0 Hz, 1 H), 6.21 (dd, J = 16.0, 7.5 Hz, 1 H), 4.65-4.454 (m, 1 H), 4.12 (s, 1 H), 3.89-3.83 (m, 2 H), 4.80 (s, 1 H), 3.56-3.33 (m, 4 H), 3.27-3.18 (m, 1 H), 3.12-2.96 (m, 2 H), 2.23-2.14 (m, 1 H), 1.98-1.91 (m, 2 H), 1.88-1.78 (m, 1 H), 1.68-1.58 (m, 2 H); MS (m/z): 275 (M+1).

Ejemplo 12: Síntesis a gran escala de mono-L-malato de(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (14)

Bajo una atmósfera de nitrógeno, una mezcla de 3-bromo-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina (125 g de 85% de pureza, 410 mmol), (R)-*tert*-butil-3-vinilpirrolidin-1-carboxilato (67.4 g, 340 mmol), acetato de paladio(II) (8.1 g, 36 mmol), tri-*n*-butilfosfina (15 g, 74 mmol), carbonato de potasio (74.0 g, 530 mmol),

73

y DMAC (0.85 L) se agitó y se calentó a 130 °C, monitoreando la conclusión de la reacción mediante LCMS. Una vez completa la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas (50 g base seca), lavando la almohadilla con éter diisopropílico (0.60 L). El filtrado se combinó con éter diisopropílico (0.60 L) y agua desionizada (0.50 L) y se mezcló durante 15 min. Se dejó que se separaran las fases (15 min), y se recolectó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con una segunda porción de éter diisopropílico (0.60 L), empleando 15 min de tiempo de mezclado y 15 min de sedimentación. Las capas combinadas de éter diisopropílico se lavaron con agua desionizada (2 x 0.50 L) y se concentraron bajo presión reducida para producir un aceite viscoso rojo oscuro (136 g). Este aceite se disolvió en éter diisopropílico (1.40 L) y se enfrió a alrededor de 10 °C con un baño helado antes de cargar 6N ácido clorhídrico (0.40 L) mediante un embudo de adición por goteo durante un período de 15 min, manteniendo la temperatura por debajo de 20 °C. La mezcla bifásica se calentó a temperatura ambiente (ocurrió desprendimiento de gases a medida que se calentaba) y se agitó hasta que cromatografía líquida con espectrometría de masas (LCMS – *Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) indicó que la reacción estaba completa. Una vez completa la reacción, se dejó que se separaran las fases, y se descartó la capa orgánica. Se ajustó el pH de la capa acuosa a pH 5-6 usando hidróxido de sodio acuoso al 10% (0.485 L) y se extrajo con cloroformo (0.25 L). Se descartó la capa de cloroformo. La capa acuosa se ajustó entonces a pH >13 usando hidróxido de sodio acuoso al 10% (0.075 L) y se extrajo nuevamente con cloroformo (0.50 L). El extracto de cloroformo se concentró bajo presión reducida para proporcionar un aceite viscoso rojo (55.0 g). Este material era una mezcla de la (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina deseada (~75%) y los correspondientes isómeros Z (~5%) y "exo" (~20%) mediante análisis NMR. Este resultado fue reproducible durante múltiples ciclos de procesamiento.

Las impurezas Z y "exo" se retiraron de la (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina deseada por conversión en la sal oxalato. Una solución de ácido oxálico (53.2 g, 591 mmol) en una mezcla de 2-propanol (0.20 L) y agua desionizada (0.09 L) se preparó agitando y calentando a 50-55 °C (15 min). Esta solución se agregó, durante un período de 5 min, a una solución agitada de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina (82.0 g, 76% puros mediante HPLC, 299 mmol) en 2-propanol (1.0 L) mantenida a 70-75 °C. La adición de ácido oxálico produjo una exoterma (4-5°C) que se controló ajustando

74

la velocidad de adición. La fuente de calentamiento se retiró y la solución se enfrió lentamente a 45-50 °C durante 45 min. Rápidamente se formó un precipitado, comenzando alrededor de 65-70 °C y haciéndose más pesado a medida que la suspensión resultante se enfriaba. Se recolectaron los sólidos por filtración a 45-50°C y se lavaron sucesivamente con 2-propanol (2 x 0.25 L) y hexanos (2 x 0.20 L). El sólido color marrón claro se secó con aire durante 2 h, luego de lo cual se pesó (95 g). El análisis NMR indicó que el contenido de las impurezas Z y "exo" se había reducido cada uno a <1%. Este resultado fue reproducible durante múltiples ciclos de procesamiento. Se obtuvo material de pureza aún mayor mediante recrystalización de etanol/agua. La estequiometría de la sal fue 2.3:1 ácido/base (véase Ejemplo 15).

Una solución de oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidinium-3-il)vinil)-5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridinium (380 g) en agua desionizada (2.6 L) se agitó y enfrió a alrededor de 10 °C con un baño helado. Hidróxido de sodio acuoso (0.40 L de 25%) se agregó durante un período de 15 min, manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C. Se agregó entonces cloroformo (1.6 L), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 20 min y se filtró para eliminar el oxalato de sodio insoluble. Se dejó que las fases se separaran, y la capa de cloroformo se combinó con Silicycle Si-Thiol ® (21.6 g). La mezcla se agitó y se calentó a 50-55 °C durante 3-4 h, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para producir un aceite viscoso rojo claro (221 g). Una porción de esta base libre (216 g) se disolvió en 2-propanol (1.2 L), se calentó a 70-75 °C y se trató con ácido L-málico sólido (106 g), usando un enjuague de 2-propanol (100 mL) para contribuir a la transferencia. La disolución del sólido produjo una exoterma de 5-7 °C durante 3-5 min. La mezcla se mantuvo a 75-78 °C durante 10 min, para asegurar la completa disolución de los sólidos, y luego se enfrió lentamente a temperatura ambiente (90 min). A medida que la temperatura se aproximaba a 65 °C, la solución se sembró con unos pocos cristales de sal mono-L-malato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)piridina. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la suspensión se filtró. Los sólidos recolectados se lavaron con 2-propanol (2 x 0.80 L), se secaron con aire durante 30 minutos, y se secaron a vacío a 78 °C durante 8 h. El material blancuzco resultante pesó 297 g y era >99% puro mediante HPLC.

Ejemplo 13: Procedimiento para detectar sistemáticamente formas de sales de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina

75

Tubos de ensayo (4 mL), provistos con barras magnéticas de agitación, se cargaron con cantidades equi-milimolares de base (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina y el ácido de interés (puro) y se disolvió con 500 µL de 2-propanol o acetonitrilo con la ayuda de calor. Si no ocurría precipitación luego de enfriar, se agregó acetato de isopropilo (100 µL) como un anti-disolvente.

Si no ocurría precipitación, el disolvente se evaporaba bajo una corriente de nitrógeno con calentamiento moderado y se ensayaba un disolvente alternativo. Los disolventes alternativos incluían acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, etanol absoluto, acetonitrilo, hexano, *terc*-butanol, *terc*-butil acetato, y mezclas de los anteriores.

El uso de alcoholes se evitó en el caso de ácidos sulfónicos. El acetato de Isopropilo se utilizó con precaución, mientras que se descontinuaba el uso de acetona y acetato de etilo debido a la reactividad demostrada de la función amina secundaria de (R)-3-((E)-2-pirrolidin-3-ilvinil)-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina con estos disolventes.

Los resultados de estos experimentos se resumen en Tabla 1.

Tabla 1. Ácidos usados en la detección sistemática preliminar de sales

Ácido	Resultado
4-Acetamidobenzoico	Aceite
Adípico	Aceite
(1 R,3S)-(+)-Canfórico	Aceite
(1 S)-(+)-1 O-Canforsulfónico	Aceite
Cítrico	Goma Pegajosa
Fumárico	Aceite
D-glucurónico	Goma Color Café
Clorhídrico	Aceite Rojo
4-Hidroxibenzoico	Goma Pegajosa
1-Hidroxi-2-naftoico (Xinafoico)	Goma Color Café
Maleico	Aceite
L-Málico	Cristales
Malónico	Aceite
(R)-Mandélico	Aceite

76

(S)-Mandélico	Aceite
Metanosulfónico	Aceite
4-Metoxibenzoico	Aceite
Fosfórico	Goma
Succínico	Aceite Rojo
L-Tartárico	Aceite
p-Toluenosulfónico. H2O	Aceite

Como se demostró en Tabla 1, encontrar formas de sales sólidas para (R)-3-((E)-2-pirrolidin-3-ilvinil)-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina constituyó un reto. A continuación se relacionan ejemplos de sales sólidas y sus síntesis.

Ejemplo 14: Preparación de mono-L-malato de(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina

A una solución agitada de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (900 mg; 3.28 mmol) en 2-propanol (5 mL), calentada a un punto cercano a ebullición, se agregó ácido L-málico (439.8 mg; 3.28 mmol, puro) en tres porciones. La solución se agitó cerca del punto de ebullición durante 10 min. Se agregó acetato de isopropilo (1 mL), se discontinuó el calentamiento, y la solución se ensemilló mientras estaba aún caliente. Se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente (22 °C) agitando simultáneamente, luego de lo cual la sal se precipitó como un sólido granular blanco. La sal se re-disolvió por calentamiento, se re-sembró aún caliente, se enfrió y se dejó reposar a temperatura ambiente sin agitar durante 24 h. Los cristales resultantes en forma de placas se recolectaron mediante filtración de succión, se lavaron con acetato de isopropilo (5 mL), y se secaron bajo nitrógeno durante 10 min. Un secamiento posterior en un horno de vacío a 70 °C durante 1.5 h proporcionó 1.267 g (94.6 %) de cristales amarillo claro (m.p. = 118-119 °C). ¹H-NMR (D₂O o d₆-DMSO) es consistente con una estequiometria 1:1 ácido:base. DSC exhibe una sola endoterma con máximos en 119.62 °C. DVS muestra una mínima absorción de agua hasta 80% de humedad relativa (R.H). ¹H-NMR (D₂O, 400 MHz): δ 8.15 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 6.52 (d, 1 H), 6.28 (dd, 1 H), 4.63 (m, 1 H, enmascarado parcialmente por resonancia H₂O residual), 4.22 (dd, 1 H), 3.88 (m, 2 H), 3.55 (m, 2 H), 3.46 (dd, 1 H), 3.38 (m, 1 H), 3.25 (m, 1 H), 3.11 (m, 1 H), 3.02 (m, 1 H), 2.65 (dd, 1 H), 2.42 (dd, 1 H), 2.20 (m, 1 H), 1.96 (m, 2 H), 1.85 (m, 1 H), 1.68 (m, 2 H). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 8.20 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 7.52 (s, 1 H), 6.55 (d, 1 H), 6.46

77

(dd, 1 H), 4.68 (m, 1 H), 3.87 (m, 3 H), 3.49 (m, 2 H), 3.40 (dd, 1 H), 3.32 (m, 1 H), 3.18 (m, 1 H), 3.05 (m, 1 H), 2.93 (m, 1 H), 2.51 (dd, 1 H, enmascarado parcialmente por DMSO residual), 2.31 (dd, 1 H), 2.14 (m, 1 H), 1.98 (m, 2 H), 1.80 (m, 1 H), 1.58 (m, 2 H).

Ejemplo 15: Preparación de oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina

Una solución caliente de (1.137 g de 85%, 3.52 mmol, corregida en cuanto a pureza) en 2-propanol (8.5 mL) y agua (0.4 mL) se trató con ácido oxálico (0.373 g, 4.14 mmol), como un sólido, en una porción. La mezcla resultante se agitó y se calentó a un punto cercano a reflujo. Unos pocos sólidos empezaron a precipitarse de la solución caliente. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los sólidos blancuzcos se filtraron (Buchner), se lavaron con 2-propanol (10 mL, 8 mL) y se secaron bajo vacío (con una sangría de aire) a 50° C durante 3 h para proporcionar 0.861 g (rendimiento 50.8% basado en una estequiometría de 2.3 oxalato, corregido en cuanto a pureza del material de partida) de un polvo blancuzco. Una muestra de 0.765 g de este material se recrystalizó de una mezcla de 2-propanol (8 mL) y agua (1.3 mL), calentada a reflujo. Luego de enfriar a temperatura ambiente, los sólidos resultantes se filtraron (Buchner), se lavaron con 2-propanol (10 mL), se secaron bajo vacío (con una sangría de aire) a 50° C durante 4 h y luego se secaron otra vez bajo vacío con una sangría de aire) a 70° C durante 24 h para proporcionar 0.441 g (recuperación 57.6%) de un sólido entre blanco y blancuzco, mp 180-181° C.

Calculado para $C_{16}H_{22}N_2O_2 \cdot 2.3C_2H_2O_4$: C, 51.39; H, 5.57; N, 5.82. Hallado: C, 51.09, 51.24; H, 5.67, 5.66; N, 5.84, 5.92.

^1H -NMR (D_2O , 400 MHz) δ 8.23 (s, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 6.54 (d, 1 H), 6.40 (dd, 1 H), 4.73 (m, 1 H), 3.84 (m, 2 H), 3.54 (m, 2 H), 3.45 (dd, 1 H), 3.35 (m, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 3.12 (m, 1 H), 3.02 (m, 1 H), 2.16 (m, 1 H), 1.96 (m, 2 H), 1.83 (m, 1 H), 1.68 (m, 2 H).

Ejemplo 16: Preparación de di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina

A una solución agitada de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (4.0 g, 15 mmol) en solución de etanol (12.5 mL), calentada a 60 °C, se agregó ácido di-p-toluoil-D-tartárico sólido (5.3 g, 14 mmol). La solución se

mantuvo a 60 °C durante 2-3 min para asegurar la completa disolución de los sólidos, luego se retiró la fuente de calor y la solución se enfrió a 25-30 °C durante 60 min. La suspensión resultante se mantuvo a 25-30 °C durante 30 min, y luego se filtró para recolectar los sólidos. Los sólidos se lavaron con etanol (2 X 20 mL), se secaron con aire durante 30 min, luego se secaron en un horno de vacío bajo presión reducida a 50 °C, hasta que se estableció un peso constante, para producir di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina como un sólido blancuzco (6.7 g, 72%). El análisis NMR indicó una estequiometría 1:1 de la sal. ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8.18 (s, 1 H), 8.15 (s, 1H), 7.86 (d, 4 H), 7.47 (s, 1 H), 7.32 (d, 4 H), 6.43 (d, 1 H), 6.36 (m, 1 H), 5.67 (s, 2 H), 4.69 (m, 1 H), 3.85 (m, 2 H), 3.49 (m, 2 H), 3.25 (m, 2 H), 3.10 (m, 1 H), 2.88 (m, 2 H), 2.39 (s, 6 H), 1.98 (m, 3 H), 1.60 (m, 3 H).

Ensayos Biológicos

Ejemplo 17: Unión de Radioligando en nAChRs CNS: Subtipo α4β2 NNR

Preparación de membranas de una corteza cerebral de rata: Ratas (hembra, Sprague-Dawley), que pesaban 150-250 g, se mantuvieron en un ciclo de 12 h luz/oscuridad y se les permitió libre acceso a agua y alimento suministrado por PMI Nutrition International, Inc. Los animales se anestesiaron con 70% CO₂, y luego se decapitaron. Se extrajeron los cerebros y se pusieron en una plataforma helada. Se retiró la corteza cerebral y se puso en 20 volúmenes (peso:volumen) de amortiguador preparativo helado (137 mM NaCl, 10.7 mM KCl, 5.8 mM KH₂PO₄, 8 mM Na₂HPO₄, 20 mM HEPES (ácido libre), 5 mM yodoacetamida, 1.6 mM EDTA, pH 7.4); se agregó PMSF, disuelto en metanol a una concentración final de 100 μM, y la suspensión se homogenizó por Polytron. El homogenado se centrifugó a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C, y el sedimento celular resultante se resuspendió en 20 volúmenes de agua helada. Luego de 60 min de incubación en hielo, se recolectó un nuevo sedimento celular mediante centrifugación a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C. El sedimento celular final se re-suspendió en 10 volúmenes de una disolución de amortiguador y se almacenó a -20 °C.

Preparación de membranas de células clonales de SH-EP1/α4β2 humano:

Se agruparon sedimentos celulares de 40 placas de cultivo de 150 mm, y se homogenizaron por Polytron (Kinematica GmbH, Suiza) en 20 mililitros de amortiguador preparativo helado. El homogenado se centrifugó a 48.000 g durante 20 min a 4 °C. El sedimento celular resultante se re-suspendió en 20 mL de

79

amortiguador preparativo helado y se almacenó a -20 °C.

Ensayo. El día del ensayo, las membranas congeladas se descongelaron y se centrifugaron a 48.000 x g durante 20 min. Se decantó el sobrenadante y se descartó. El sedimento celular se resuspendió en solución salina amortiguada con fosfato Dulbecco's (PBS, Life Technologies) pH 7.4 y se homogenizó con el Polytron durante 6 segundos. Se determinaron las concentraciones de proteína usando un Pierce BCA Protein Assay Kit, con albúmina sérica bovina como el estándar (Pierce Chemical Company, Rockford, IL).

Preparaciones de membrana (aproximadamente 50 µg para α4β2 humano y 200-300 µg proteína para α4β2 de rata) se incubaron en PBS (50 µL y 100 µL respectivamente) en la presencia de un compuesto competidor (0.01 nM a 100 µM) y 5 nM [³H]nicotina durante 2-3 h en hielo. La incubación se terminó por filtración rápida en un cosechador de tejido multi-manifold (Brandel, Gaithersburg, MD) usando filtros GF/B pre-empapados en polietilenimina al 0.33% (p/v) para reducir la unión no específica. El tejido se enjuagó 3 veces en PBS, pH 7.4. Se agregó fluido de centelleo a los filtros que contenían el tejido lavado y se dejaron equilibrar. A continuación los filtros se contaron para determinar la radioactividad unida a las membranas por conteo de centelleo de líquido (2200CA Tri-Carb LSC, Packard Instruments, eficiencia 50% o Wallac Trilux 1450 MicroBeta, eficiencia 40%, Perkin Elmer).

Los datos se expresaron como desintegraciones por minutos (DPMs). En cada ensayo, cada punto tenía 2-3 réplicas. La réplicas para cada punto se promediaron y graficaron contra el log de la concentración del fármaco. IC₅₀, que es la concentración del compuesto que produce una inhibición del 50% de la unión, se determinó por regresión no lineal de mínimos cuadrados. Los valores K_i se calcularon empleando la ecuación de Cheng-Prusoff (1973):

$$K_i = IC_{50} / (1 + N/K_d)$$

donde N es la concentración de [³H]nicotina y K_d es la afinidad de la nicotina (3 nM, determinada en un experimento separado).

Ejemplo 18: Unión de Radioligando a nAChRs CNS: Subtipo α7 NNR

80

Ratas (hembra, Sprague-Dawley), que pesaban 150-250 g, se mantuvieron en un ciclo de 12 h luz/oscuridad y se les permitió libre acceso a agua y alimento suministrado por PMI Nutrition International, Inc. Los animales se anestesiaron con 70% CO₂, y luego se decapitaron. Se extrajeron los cerebros y se pusieron en una plataforma helada. Se retiró el hipocampo y se puso en 10 volúmenes (peso:volumen) de amortiguador preparativo helado (137 mM NaCl, 10.7 mM KCl, 5.8 mM KH₂PO₄, 8 mM Na₂HPO₄, 20 mM HEPES (ácido libre), 5 mM yodoacetamida, 1.6 mM EDTA, pH 7.4); se agregó PMSF, disuelto en metanol a una concentración final de 100 µM, y la suspensión de tejido se homogenizó por Polytron. El homogenado se centrifugó a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C y el sedimento celular resultante se resuspendió en 10 volúmenes de agua helada. Luego de 60 min de incubación en hielo, se recolectó un nuevo sedimento celular mediante centrifugación a 18.000 x g durante 20 min a 4 °C. El sedimento celular final se re-suspendió en 10 volúmenes de un amortiguador y se almacenó a -20 °C. El día del ensayo, se descongeló el tejido, se centrifugó a 18.000 x g durante 20 min, y luego se re-suspendió en PBS helada (solución salina amortiguada con fosfato Dulbecco's, 138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH₂PO₄, 8.1 mM Na₂HPO₄, 0.9 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂, Invitrogen/Gibco, pH 7.4) a una concentración final de aproximadamente 2 mg proteína/mL. La proteína se determinó por el método de Lowry et al., *J. Biol. Chem.* **193**: 265 (1951), usando albúmina sérica bovina como el estándar.

La unión de [³H]MLA se midió empleando una modificación de los métodos de Davies et al., *Neuropharmacol.* **38**: 679 (1999), incorporada en esta especificación por referencia con respecto a tal método. [³H]MLA (actividad específica = 25-35 Ci/mmol) se obtuvo de Tocris. La unión de [³H]MLA se determinó usando una incubación de 2 h a 21 °C. Las incubaciones se condujeron en placas de micro-titulación de 48 pocillos que contenían alrededor de 200 µg de proteína por pocillo en un volumen de incubación final de 300 µL. El amortiguador era PBS y la concentración final de [³H]MLA era 5 nM. La reacción de unión se terminó por filtración de la proteína que contenía ligando sobre filtros de fibra de vidrio (GF/B, Brandel) empleando un cosechador de tejido Brandel a temperatura ambiente. Los filtros se impregnaron en agua desionizada que contenía polietilenimina al 0.33 % para reducir la unión no específica. Cada filtro se lavó con PBS (3 x 1 mL) a temperatura ambiente. La unión no específica se determinó mediante inclusión de 50 µM MLA no radiactivo en pocillos seleccionados.

81

La inhibición de [^3H]MLA por los compuestos de prueba se determinó incluyendo siete concentraciones diferentes del compuesto de prueba en pocillos seleccionados. Cada concentración se replicó en triplicado. Los valores IC_{50} se calcularon como la concentración de compuesto que inhibió el 50 por ciento de la unión [^3H]MLA específica. Las constantes de inhibición (valores K_i), relacionadas en nM, se calcularon de los valores IC_{50} utilizando el método de Cheng et al., *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099-3108 (1973).

Selectividad vs. nAChRs Periféricos

Ejemplo 19: Interacción en el Subtipo nAChR Muscular Humano

La activación de nAChRs tipo musculares se estableció en la línea clonal humana TE671/RD, que se deriva de un rhabdomyosarcoma embrionario (Stratton et al., *Carcinogen* 10: 899 (1989)). Estas células expresan receptores que poseen perfiles biológicos farmacológicos (Lukas, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **251**: 175 (1989)), electrofisiológicos (Oswald et al., *Neurosci. Lett.* **96**: 207 (1989)), y moleculares (Luther et al., *J. Neurosci.* 9: 1082 (1989)) similares al nAChR tipo muscular.

Células TE671/RD se mantuvieron en fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con protocolos de rutina (Bencherif et al., *Mol. Cell. Neurosci.* **2**: 52 (1991) y Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **257**: 946 (1991)). Las células se cultivaron en Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco/BRL) con suero equino al 10% (Gibco/BRL), suero fetal bovino al 5% (HyClone, Logan UT), 1mM piruvato de sodio, 4 mM L-Glutamina, y 50.000 unidades de penicilina-estreptomicina (Irvine Scientific). Cuando las células fueron 80% confluentes, se esparcieron en placas de poliestireno de 12 pocillos (Costar). Los experimentos se condujeron cuando las células alcanzaron 100% de confluencia.

Se analizó la función del receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR) usando la salida de $^{86}\text{Rb}^+$ (" $^{86}\text{Rb}^+$ efflux") de acuerdo con el método descrito por Lukas et al., *Anal. Biochem.* **175**: 212 (1988). El día del experimento, el medio de cultivo se retiró delicadamente del pocillo, y se agregó a cada pocillo medio de cultivo que contenía cloruro de ^{86}Rb ($10^6 \mu\text{Ci/mL}$). Los pocillos se incubaron a 37 °C durante un mínimo de 3 h. Luego del período de carga, se eliminó el exceso de $^{86}\text{Rb}^+$ y las células se lavaron dos veces con solución salina amortiguada con

82

fosfato Dulbecco's, libre de marca (138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH_2PO_4 , 8.1 mM Na_2HPO_4 , 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , Invitrogen/Gibco, pH. 7.4), teniendo cuidado de no alterar las células. Seguidamente, las células se expusieron a 100 μM de compuesto de prueba, 100 μM de L-nicotina (Acros Organics) o amortiguador solo durante 4 min. Luego del período de exposición, se eliminó el sobrenadante que contenía el $^{86}\text{Rb}^+$ liberado y se transfirió a viales de centelleo. Se agregó fluido de centelleo y se midió la radioactividad liberada mediante conteo de centelleo de líquido.

En cada ensayo, cada punto tenía 2 réplicas, las cuales se promediaron. La cantidad de liberación de $^{86}\text{Rb}^+$ se comparó tanto con el control positivo (100 μM L-nicotina) como con un control negativo (amortiguador solo) para determinar la liberación porcentual relativa a la de L-nicotina.

Cuando se consideró apropiado, se determinaron las curvas de respuesta a la dosis del compuesto de prueba. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por L-nicotina. Se determinó asimismo la concentración del compuesto que resultó en la activación máxima media (EC_{50}) del flujo de iones específicos.

Ejemplo 20: Interacción del Subtipo nAChR Ganglionar Humano

La línea celular SH-SY5Y es una línea continua derivada de la subclonación secuencial de la línea celular progenitora, SK-N-SH, que se obtuvo originalmente de un neuroblastoma periférico humano. Las células SH-SY5Y expresan un nAChR tipo ganglionar (Lukas et al., *Mol. Cell. Neurosci.* **4**: 1 (1993)).

Células SH-SY5Y humanas se mantuvieron en fase de crecimiento proliferativo de acuerdo con protocolos de rutina (Bencherif et al., *Mol. Cell. Neurosci.* **2**: 52 (1991) and Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **257**: 946 (1991)). Las células se cultivaron en Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco/BRL) con suero equino al 10% (Gibco/BRL), suero fetal bovino al 5% (HyClone, Logan UT), 1mM piruvato de sodio, 4 mM L-Glutamina, y 50.000 unidades de penicilina-estreptomicina (Irvine Scientific). Cuando las células fueron 80% confluyentes, se esparcieron en places de poliestireno de 12 pocillos (Costar). Se condujeron experimentos, cuando las células alcanzaron 100% de confluencia.

83

Se analizó la función del receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR) usando la salida de $^{86}\text{Rb}^+$ de acuerdo con el método descrito por Lukas et al., *Anal. Biochem.* **175**: 212 (1988). El día del experimento, se eliminó delicadamente el medio de cultivo del pocillo y se agregó a cada pocillo medio de cultivo que contenía cloruro de $^{86}\text{Rubidio}$ ($10^6 \mu\text{Ci /mL}$). Las células se incubaron a 37°C durante un mínimo de 3 h. Luego del período de carga, se eliminó el exceso de $^{86}\text{Rb}^+$ y las células se lavaron dos veces con solución salina amortiguada con fosfato Dulbecco's, libre de marca (138 mM NaCl, 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH_2PO_4 , 8.1 mM Na_2HPO_4 , 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , Invitrogen/Gibco, pH 7.4), teniendo cuidado de no alterar las células. Seguidamente, las células se expusieron a 100 μM de compuesto de prueba, 100 μM de L-nicotina o amortiguador solo durante 4 min. Luego del período de exposición, se eliminó el sobrenadante que contenía el $^{86}\text{Rb}^+$ liberado y se transfirió a viales de centelleo. Se agregó fluido de centelleo y se midió la radioactividad liberada mediante conteo de centelleo de líquido.

En cada ensayo, cada punto tenía 2 réplicas, las cuales se promediaron. La cantidad de liberación de $^{86}\text{Rb}^+$ se comparó tanto con el control positivo (100 μM nicotina) como con un control negativo (amortiguador solo) para determinar la liberación porcentual relativa a la de L-nicotina.

Cuando se consideró apropiado, se determinaron las curvas de respuesta a la dosis del compuesto de prueba. La activación máxima para compuestos individuales (E_{max}) se determinó como un porcentaje de la activación máxima inducida por L-nicotina. Se determinó asimismo la concentración del compuesto que resultó en la activación máxima media (EC_{50}) del flujo de iones específicos.

Ejemplo 21: Reconocimiento de Nuevos Objetos

La memoria se evaluó usando una prueba de reconocimiento de nuevos objetos de tres ensayos clínicos (Luine et al., *Pharm. Biochem. Behav.* **74**, 213-220 (2002)). El primer día (estudio exploratorio), se permitió a las ratas explorar un escenario abierto (44.5 x 44.5 x 30.5 cm) durante 6 min. El segundo día (estudio de adquisición), se permitió a las ratas explorar el mismo escenario en la presencia de dos objetos idénticos (ambos objeto A) durante 3 min. El tercer día (estudio de retención o recordación), se evaluó el comportamiento permitiendo que

el mismo animal volviera a explorar el escenario durante 3 min en la presencia de dos objetos diferentes: el objeto familiar A y un objeto nuevo B. Se impuso un intervalo de 24 h entre los tres ensayos clínicos NOR. Se evaluó la memoria de reconocimiento comparando el tiempo invertido explorando un objeto nuevo (objeto B) versus un objeto familiar (objeto A) durante el estudio de recordación. Se evaluó el índice de reconocimiento para cada animal y se expresó como una relación $((\text{tiempo B} / \text{tiempo A} + \text{tiempo B}) \times 100)$.

Ejemplo 22: Laberinto de Brazos Radiales

Se evaluó la memoria de trabajo en una tarea de laberinto de brazos radiales (RAM - *radial arm maze*). La tarea RAM se condujo usando un laberinto automatizado de ocho brazos (Med Associates, Inc.) El laberinto se localizó en una mesa circular aproximadamente 88 cm encima del piso con iluminación desde arriba en un ambiente experimental dedicado y formas geométricas grandes, de alto contraste, en la pared. Además, indicios visuales adicionales se localizaron a la entrada central a cada brazo, encima de cada tolva de alimentación y en el techo. La plataforma central media 30.5 cm de diámetro con ocho brazos (9 cm W x 45.7 cm L x 16.8 cm H) que irradiaban de ella. Puertas automáticas tipo guillotina se localizaron a la entrada de cada pasarela con un receptáculo de gránulos en el extremo distal de cada brazo. El ruido de fondo será audible durante todos los procedimientos de entrenamiento y experimentación. Se monitoreó la actividad en el laberinto siguiendo la actividad cuantitativa (generada por rupturas del rayo infrarrojo) en la interfase del computador y la pantalla del monitor.

Luego de la evaluación de la situación inicial y después la re-obtención del criterio de la sesión de prueba, los animales se valoraron con respecto a su sensibilidad al deterioro cognitivo inducido químicamente usando la escopolamina de antagonista muscarínico (0.2-0.4 mg/kg; s.c). Se determinó una dosis de escopolamina para cada animal, basándose en la dosis mínima que produjo un deterioro cognitivo confiable y significativo. Se administró escopolamina 0.5 h antes del estudio de la fase de adquisición, mientras que el hemi-galactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (0.03 mg/kg; p.o.) se administró 0.5 h antes del inicio del estudio (o prueba) de recordación. En el estudio de adquisición, se bloqueó un brazo seleccionado aleatoriamente con una barrera de plexiglás situada justo dentro del brazo, detrás de la puerta central. El animal fue puesto en el cubo central del laberinto con las puertas bajadas. Luego

de aproximadamente 10 segundos, se levantaban las puertas a los 7 brazos disponibles. La primera entrada a cada brazo abierto se reforzó con un gránulo alimenticio de sacarosa. La sesión terminaba después de que todos los 7 brazos disponibles se habían visitado o habían transcurrido 5 min. Se registraron el orden de los brazos visitados, los refuerzos recibidos, los errores (re-entradas), el tiempo para completar la tarea, el número de entradas y el tiempo requerido para ingresar a los 7 brazos disponibles y el consumo de refuerzo alimenticio consumido. En el estudio de recordación, todos los 8 brazos estaban disponibles; no obstante, solo se reforzó la primera visita al brazo previamente bloqueado (es decir, el brazo que se bloqueó durante el estudio de adquisición). La sesión terminaba una vez se visitaba el brazo previamente bloqueado y el refuerzo se había consumido o habían transcurrido 5 min. Para el estudio de recordación, se registraron los errores de re-entrada, el número de brazos (incorrectos) a los que se ingresó antes de elegir el brazo que estaba bloqueado durante el estudio de adquisición y el tiempo tomado para completar el estudio. La demora entre los ensayos clínicos de adquisición y de fase de prueba fue de 24 h.

Ejemplo 23: Estudios de Inhibición de CYP

La inhibición de la actividad catalítica CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 por (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal se evaluó usando un ensayo CYP fluorógeno. Sustratos sonda que emiten fluorescencia a la oxidación catalizada por CYP se utilizaron para evaluar el grado de inhibición del sustrato de prueba. Una concentración única de cada sustrato sonda (a aproximadamente el valor aparente K_m) y dos diferentes concentraciones de hemigalactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina (2 y 20 μM) se probaron en duplicado. Se empleó la intensidad de la fluorescencia en longitudes de onda seleccionadas como una medida de la actividad enzimática. La fluorescencia disminuida en la presencia de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal fue una indicación de inhibición. Controles positivos (inhibidores conocidos) se corrieron concurrentemente para demostrar el control del método y la actividad CYP. Se corrieron muestras duplicadas a lo largo de los controles positivos y negativos. Se realizó la incubación de las muestras de prueba a 37 °C. Los parámetros experimentales se describen en la Tabla 2.

Tabla 2: Condiciones experimentales para los ensayos de inhibición CYP

86

con fluorescencia

	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Enzima					
Cantidad (pmol/pocillo)	1	2	2	3	1
Sustrato					
Sonda	3µM CEC	75µM MFC	100µM MFC	20µM MAMC	15µM BFC
KPO4 pH 7.4	0.1 M	0.05 M	0.05 M	0.1 M	0.1 M
NADPH conc.	1 mM	1 mM	1 mM	0.06 mM	1 mM
Tiempo	20 min	50 min	40 min	35 min	30 min
Incubación					
Ex/Em λ (nm)	405/460	405/530	405/530	390/460	405/530
Ganancia	20	40	30	10	50
Inhibidor de Referencia	Furafilina	Sulfafenazol	Tranilcipromina	Quinidina	Ketoconazol
Señal esperada/ruido IC ₅₀ (µM) para inhibidor de referencia	15 ~ 25 ~ 1	3 ~ 5 ~ 1	3 ~ 5 ~ 6	3 ~ 6 ~ 0.01	4 ~ 15 ~ 0.06

CEC = 3-Ciano-7-etoxi-cumarina
MFC = 7-metoxi-4-trifluorometil-cumarina
MAMC = 7-metoxi-4-(aminometil)-cumarina
BFC = 7-benciloxi-4-trifluorometil-cumarina

Resumen de Datos Biológicos

Farmacología In vitro

Un resumen de los datos de farmacología primaria *in vitro* para (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal se presenta en la Tabla 3 y se discute con detalle más adelante.

Farmacología primaria y selectividad: La capacidad de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal, de unirse a receptores α4β2 se determinó con ensayos de inhibición de unión a receptor usando receptores α4β2 recombinantes humanos, expresados en membranas celulares SH-EP1, y receptores α4β2 nativos de rata en membranas corticales de rata.

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal, inhibió la unión de [³H]-nicotina a receptores nicotínicos α4β2 recombinantes humanos con un K_i de 2 nM y [³H]epibatidina a receptores α4β2 nativos de rata

87

con un K_i de 4 nM.

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal, inhibió la unión de [^{3} H]metilcaconitina (MLA) a receptores $\alpha 7$ nativos de rata en membranas del hipocampo de rata con un K_i de >10000 nM. (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal, desplegó igualmente una afinidad reducida para receptores nicotínicos tipo ganglionar nativos humanos (probablemente $\alpha 3\beta 4$), inhibiendo la unión de [^{3} H]epibatidina a receptores en las membranas SH-SY5Y con un K_i de 3400 nM, y afinidad reducida para los receptores nicotínicos tipo muscular nativos humanos (probablemente $\alpha 1\beta 1\gamma \delta$), inhibiendo la unión de [^{3} H]epibatidina a receptores en membranas TE-671 con un K_i de 25000 nM.

Tabla 3. Resumen de la farmacología *in vitro* de la (R)-3-(2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-((tetrahidro-2H-piran-4 il)oxi)piridina, o su sal

Afinidad y activación de interés	
Unión a corteza cerebral de rata K_i	4 nM
Unión a $\alpha 4\beta 2$ (SH-EP 1) recombinante humano K_i ,	2 nM
Afinidad y activación de interés	
Hipocampo de rata ($\alpha 7$, K_i)	> 10000 nM
(SH-SY5Y) ganglionar humano, K_i	3400 nM
Muscular (TE671/RD) humano, K_i	25 μ M
(SH-EP 1) $\alpha 4\beta 2$ recombinante humano EC_{50} , E_{max} (flujo Ca)	0.1 μ M, 76%
(SH-SY5Y) ganglionar humano, EC_{50} , E_{max} (flujo Ca)	11 μ M, 13%
Muscular (TE671/RD) humano, EC_{50} , E_{max} (flujo Ca)	13 μ M, 37%
Ensayo de detección sistemática de receptor múltiple	Únicamente nicotínico

Eficacia celular: La meta de estos estudios era determinar la actividad funcional de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal en receptores $\alpha 4\beta 2$ recombinantes humanos. (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal es un agonista nicotínico $\alpha 4\beta 2$ que activa el receptor con una EC_{50} de 0.1 μ M y una E_{max} de 76% en relación con 10 μ M nicotina en un ensayo de flujo de calcio con células SH-EP1/ $\alpha 4\beta 2$ humanas, luego de una incubación de 24h a 29 °C.

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal se analizó en ensayos de flujo de iones de receptor nicotínico tipo ganglionar y muscular para examinar la selectividad funcional. En ensayos de salida de Ca^{++} , (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal tiene una EC_{50} de 11 μM y una E_{max} de 13% en receptores ganglionares nativos humanos en células SH-SY5Y, una EC_{50} de 13 μM y una E_{max} de 37% en receptores musculares nativos humanos en células TE-671.

Farmacología secundaria in vitro: Análisis de detección sistemática de receptores múltiples

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal se analizó con respecto a su selectividad contra un panel de 65 receptores. Con una concentración única de 10 μM , (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal inhibió la unión del ligando marcado únicamente a los receptores nicotínicos neuronales (α -BnTx insensible) con una inhibición del 99%.

Inhibición de hERG

Se determinó que la IC_{50} para la inhibición de hERG (células HEK-239 humanas) por la (R)-3-((E)-2-pirrolidin-3-ilvinil)-5-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)piridina o su sal fue de 84 μM .

Farmacología in vivo

(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal mejoró la memoria declarativa/episódica visual a largo plazo, como se evaluó por la tarea de reconocimiento de nuevos objetos (NOR), luego de una dosificación oral en ratas normales. Los resultados de estos estudios se presentan en Figura 1. El índice de reconocimiento del grupo tratado con vehículo 24 h después del estudio de adquisición fue de $50 \pm 0.5\%$, demostrando la incapacidad de este grupo de reconocer el objeto familiar luego de este retraso (panel izquierdo). Por contraste, los animales tratados con (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal exhibieron índices de reconocimiento de $71 \pm 2\%$ con el nivel de dosis de 0.04 $\mu\text{mol/kg}$ y $61 \pm 3\%$ y el nivel de dosis de 1.1 $\mu\text{mol/kg}$ (panel izquierdo). En un estudio NOR de seguimiento (los procedimientos experimentales fueron idénticos a los empleados en el primer estudio NOR), se determinó que el nivel de dosis de efecto mínimo (MED - *minimum effect dose*) para (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal era

89

de 0.004 $\mu\text{mol/kg}$ (panel derecho), sugiriendo que las ratas son capaces de reconocer el objeto familiar con todos los niveles de dosis analizados. En las dos sesiones de "recordación únicamente"; a un subconjunto de animales se les administró oralmente una dosis de agua el día 1 (es decir, sesión exploratoria) y el día 2 (es decir, sesión de adquisición) y luego una dosis de 1.1 $\mu\text{mol/kg}$ (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal (panel izquierdo) o 0.04 $\mu\text{mol/kg}$ (panel derecho) el día 3 (es decir, sesión de recordación). Incluso luego de una sola administración oral, (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal demostró efectos pro-cognitivos con estos dos niveles de dosis. Con estos dos niveles de dosis, (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal exhibieron índices de reconocimiento significativamente por encima de los controles, indicando el reconocimiento del objeto familiar luego de una dosificación intensa. En la Figura, la línea con marcas entrecortadas en 65% denota criterios subjetivos para la actividad biológica potenciadora de los efectos cognitivos. * $P < 0.05$.

(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal se evaluó con respecto a la duración de su efecto en la tarea NOR en ratas normales. Los resultados de estos estudios se presentan en Figura 2. El índice de reconocimiento del grupo tratado con vehículo 0.5 h luego de la dosificación en el estudio de recordación fue $52 \pm 0.8\%$ demostrando la incapacidad de este grupo de reconocer el objeto familiar después de este retraso. En contraste, los animales tratados con (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal (0.004 $\mu\text{mol/kg}$: oral) exhibieron índices de reconocimiento de $72 \pm 2\%$ en 0.5h, $70 \pm 3\%$ en 6h y $70 \pm 4\%$ en 8h, sugiriendo que las ratas son capaces de reconocer el objeto familiar hasta 8h después de la dosificación. En la Figura, la línea con marcas entrecortadas en 65% denota criterios subjetivos para la actividad biológica potenciadora de los efectos cognitivos (* $P < 0.05$).

Con base en estos estudios, es posible un efecto probablemente farmacológico cuando se administra (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal sobre un amplio rango, incluyendo niveles de dosis relativamente bajos. Una incorporación de la presente invención se refiere a administrar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable en dosis orales tan bajas como alrededor de 0.004 $\mu\text{mol/kg}$. Una incorporación de la presente invención se refiere a una dosis oral de menos de 100 mg, preferiblemente menos de 50 mg, más

90

preferiblemente menos de 10 mg, y muy preferiblemente menos de 1mg. Estas dosis efectivas representan normalmente la cantidad administrada como una dosis única, o como una o más dosis administradas en un período de 24 h.

Estudios con Laberinto de Brazos Radiales (RAM)

En un segundo estudio cognitivo, (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal atenuó los déficits cognitivos, inducidos por la escopolamina, en un modelo con animales de memoria de trabajo. Los resultados de estos experimentos se ilustran en Figura 3. Durante el estudio de adquisición, se les permitió a las ratas el acceso a 7 de los ocho brazos mientras que, en el estudio de prueba, estaban disponibles 8 brazos; no obstante, únicamente la primera visita al brazo previamente bloqueado (es decir, se reforzó el brazo que se bloqueó durante el estudio de adquisición). Se administró escopolamina (0.3+0.1 mg/kg; s.c.) 0.5 h antes del ensayo de adquisición, y se administró (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal (0.03 mg/kg o 0.1 µmol/kg; p.o.) 0.5 h antes del estudio de prueba. (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal fue capaz de revertir los déficits cognitivos inducidos por la escopolamina (*P < 0.05).

Inhibición, inducción, transporte y potencial de interacción fármaco-fármaco del citocromo (CYP) P450 humano

Un ensayo de inhibición de CYP450 usando sustratos fluorescentes y enzimas recombinantes no mostró evidencia de inhibición por (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal de los 5 principales CYPs (IC₅₀ >20 µM, Tabla 4). Además, no se observó evidencia de inhibición, dependiente del tiempo, de CYP3A4, CYP2D6, CYP2B6, CYP2C9, o CYP1A2. No se observó activación del PXR (receptor X de pregnano) por (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina hasta 10 µM; por consiguiente, se considera que el riesgo relacionado con la inducción de P450s es desdeñable.

Tabla 4

IC ₅₀ de inhibición de CYP (µM)	
Metabolismo mediado por CYP	
1A2	>20

91

3A4	>20
2C9	>20
2C19	>20
2D6	>20

(R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal exhibe una tasa baja de recambio hepático en microsomas de hígado humano o hepatocitos. Datos preliminares de fenotipado sugirieron que tanto CYP2D6 como FMO3 contribuyeron al metabolismo de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal. Además, se esperaba que la depuración renal fuera la principal ruta de eliminación, aportando más del 50% de la depuración total en humano. Por lo tanto, se espera que cualquier variación del metabolismo de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal en humano, debida a polimorfismo CYP, sea menor que 2 veces, debido a la depuración renal significativa y a la baja depuración hepática.

Los compuestos de prueba para los experimentos descritos en esta especificación se emplearon en forma libre o en forma de sal y, si no se manifiesta lo contrario, el compuesto de prueba es hemigalactarato de(R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

Las respuestas farmacológicas específicas observadas pueden variar de acuerdo con y dependiendo del compuesto activo particular seleccionado, o de si están presentes vehículos farmacéuticos, así como del tipo de composición farmacéutica y el modo de administración empleados, y tales variaciones esperadas o diferencias en los resultados se contemplan de acuerdo con la práctica de la presente invención.

Aunque en esta especificación se han ilustrado y descrito en detalle incorporaciones específicas de la presente invención, la invención no se limita a ellas. Las descripciones detalladas más arriba se proveen como ejemplares de la presente invención y no deben interpretarse como constituyendo alguna limitación. Modificaciones serán obvias a las personas expertas en el arte, y se pretende que todas las modificaciones que no se aparten del espíritu de la invención se incluyan en el ámbito de las reivindicaciones anexas.

Reivindicaciones

Lo que se reivindica es:

1. Mono-L-malato de (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

2. Hemi-galactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

3. Oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

4. di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.

5. (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable sustancialmente libre de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y uno o más coadyuvantes, vehículos, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6 que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

8. Un compuesto mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina para uso como medicamento en tratar un trastorno mediado por NNR.

9. Un método para el tratamiento o prevención de un trastorno mediado por NNR, método que comprende administrar a un mamífero, necesitado de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable.

10. Uso de un compuesto (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-

93

(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por NNR.

11. El compuesto, método, o uso de las reivindicaciones 8-10, en donde el trastorno se selecciona del grupo conformado por trastornos del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o virosis, dolor, síndrome metabólico, trastornos autoinmunitarios.

12. El compuesto, método, o uso de la reivindicación 11, en donde el trastorno CNS se selecciona de disfunción cognitiva en esquizofrenia (CDS, por sus siglas en inglés), Enfermedad de Alzheimer (ED), trastorno de déficit de atención (ADD, por sus siglas en inglés), demencia pre-senil (síntomas iniciales de la Enfermedad de Alzheimer), demencia del tipo de Alzheimer, deterioro cognitivo ligero, deterioro de la memoria asociado con la edad, y trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD, por sus siglas en inglés).

13. Un régimen de administración de una composición farmacéutica que comprende administrar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable en cantidades de entre 7 a 2200 µg/kg.

14. El compuesto, método, uso, o régimen de las reivindicaciones 8-13, en donde (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina se provee como su sal mono-L-malato, hemi-galactarato, oxalato, o di-p-toluoil-D-tartrato.

15. Un método de purificar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, con respecto a (R)-3-((Z)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina isomérica y (R)-3-(1-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, por conversión en la sal oxalato y regeneración de la base libre.

16. Un método de elaborar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina por mediación de uno o más de dietil (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato, ácido (R)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico, *terc*-butil (R)-3-(2-hidroxietyl)pirrolidin-1-carboxilato, y *terc*-butil (R)-3-(2-yodoetyl)pirrolidin-1-carboxilato.

94

RESUMEN

La presente invención se refiere a (R)-3-(E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, sus formas de sales, y a procesos para la producción a escala comercial de estos compuestos en pureza y calidad suficientes para uso en composiciones farmacéuticas. Además, la presente invención concierne al uso de este compuesto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos relacionados con el sistema nervioso central (SNC).

93

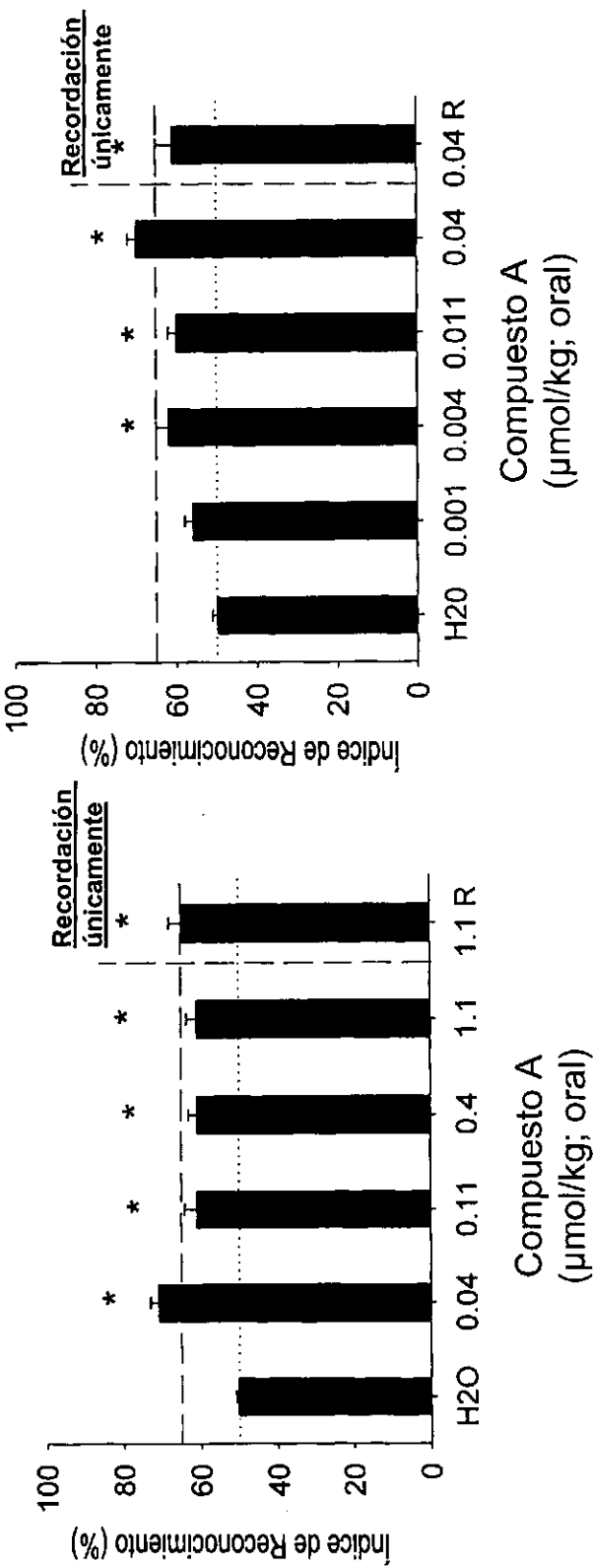


Figura 1

96

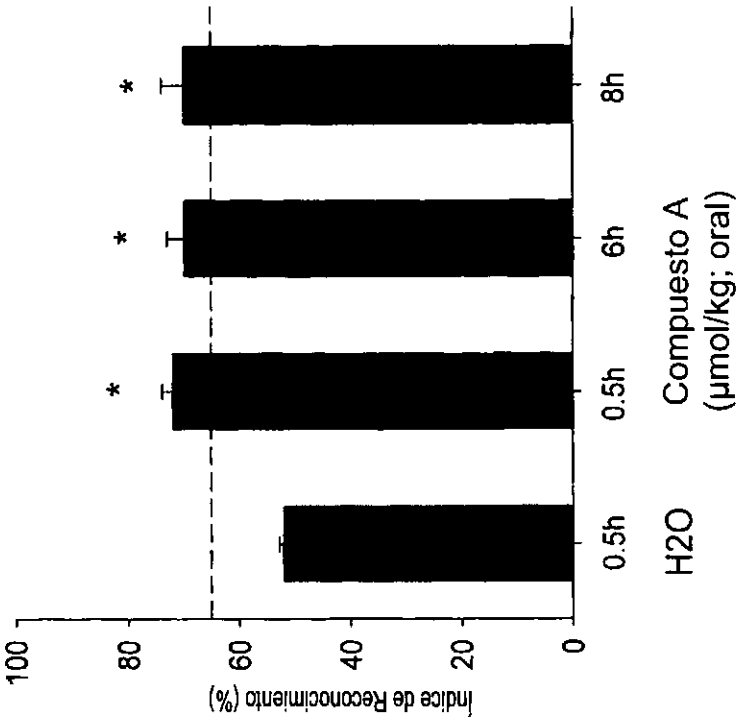


Figura 2

97

Entradas en brazos seleccionados en la Fase de Adquisición

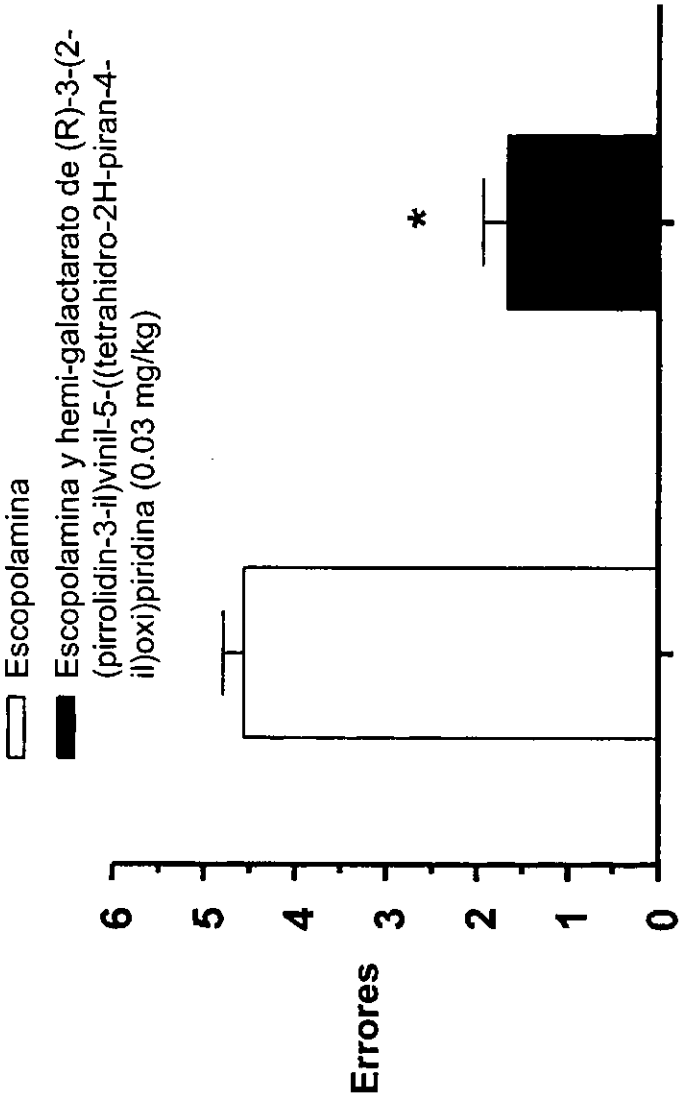


Figura 3

98

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/066092

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D405/14 A61P25/00 A61K31/4439 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data, WPI Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/078752 A1 (TARGACEPT INC [US]; SCHMITT JEFFREY DANIEL [US]; DULL GARY MAURICE [US]) 16 September 2004 (2004-09-16) cited in the application	1-14
Y	page 1, paragraph 1 page 11, line 9 page 17, lines 19-23 example 1 claims 10, 33, 34 page 8, lines 3-15 example 2 page 12, line 23 - page 17, line 16 ----- -/--	15, 16
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 April 2010		Date of mailing of the international search report 03/05/2010
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Marzi, Elena

99

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/066092

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BASTIN R J ET AL: "Salt Selection and Optimisation for Pharmaceutical New Chemical Entities" ORGANIC PROCESS RESEARCH AND DEVELOPMENT, CAMBRIDGE, GB, vol. 4, no. 5, 1 January 2000 (2000-01-01) , pages 427-435, XP002228592 the whole document	1-14
Y	WO 2007/054777 A1 (ORCHID CHEMICALS & PHARM LTD [IN]; SENTHILKUMAR UDAYAMPALAYAM PAL [IN]) 18 May 2007 (2007-05-18) the whole document	15
Y	YADAV ET AL: "A formal total synthesis of crocacin C" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL LNKD- DOI:10.1016/J.TETLET.2006.10.141, vol. 48, no. 1, 30 November 2006 (2006-11-30), pages 145-148, XP005785970 ISSN: 0040-4039 Scheme 1, pahe 146	16
Y	THOMAS C. ET AL: "A Practical Ex-Chiral-Pool Synthesis of beta-Proline and Homo-beta-Proline" SYNTHESIS, no. 10, October 1998 (1998-10), pages 1491-1496, XP002577074 DE ISSN: 0039-7881 Scheme 4, page 1492	16

100

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/066092

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

- 2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

- 1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

- 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

- 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-14

Salts of
(R)-3-((E)-2-(pyrrolidin-3-yl)vinyl)-5-(tetrahydropyran-4-yl
oxy)pyridine and the corresponding pharmaceutical
compositions and uses

2. claim: 15

A method of purification of
(R)-3-((E)-2-(pyrrolidin-3-yl)vinyl)-5-(tetrahydropyran-4-yl
oxy)pyridine

3. claim: 16

A process for the preparation of
(R)-3-((E)-2-(pyrrolidin-3-yl)vinyl)-5-(tetrahydropyran-4-yl
oxy)pyridine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2009/066092

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004078752	A1	16-09-2004	AT 394394 T 15-05-2008
		AU 2004217903 A1 16-09-2004	
		AU 2008258187 A1 15-01-2009	
		AU 2008258188 A1 15-01-2009	
		BR PI0409576 A 18-04-2006	
		CA 2516514 A1 16-09-2004	
		CL 4522004 A1 20-05-2005	
		CN 1756754 A 05-04-2006	
		CN 101255155 A 03-09-2008	
		CN 101550132 A 07-10-2009	
		DK 1601670 T3 25-08-2008	
		EA 200801764 A1 30-12-2008	
		EA 200900706 A1 30-10-2009	
		EP 1601670 A1 07-12-2005	
		EP 1947100 A1 23-07-2008	
		EP 2085395 A1 05-08-2009	
		ES 2309507 T3 16-12-2008	
		HK 1084949 A1 07-11-2008	
		JP 2006519868 T 31-08-2006	
		JP 2009292825 A 17-12-2009	
		JP 2010001296 A 07-01-2010	
		KR 20060006006 A 18-01-2006	
		KR 20090021227 A 27-02-2009	
		KR 20090021228 A 27-02-2009	
		MX PA05009386 A 04-11-2005	
		NZ 541795 A 28-03-2008	
		PA 8597201 A1 28-09-2004	
		PT 1601670 E 11-07-2008	
		SI 1601670 T1 31-10-2008	
		US 2008293778 A1 27-11-2008	
		US 2006094732 A1 04-05-2006	
		US 2010010042 A1 14-01-2010	
		US 2004176348 A1 09-09-2004	
		UY 28218 A1 30-06-2005	
		ZA 200506790 A 31-05-2006	
WO 2007054777	A1	18-05-2007	NONE

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 405/014	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) TARGACEPT, INC.	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 61/118,885	(32) Fecha 01/12/2008	(33) País US
		(72) Inventor(es) SRINIVISA RAO AKIREDDY Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional:	01/07/2011		(87) Publicación internacional
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT			Fecha: 10/06/2010
Fecha de presentación de la solicitud:	30/11/2009		N° publicación: WO 2010/065449 A1
No. de solicitud PCT/US2009/066092			
(54) Titulo: SÍNTESIS DE NOVEDOSAS FORMAS DE SALES DE (R)-3-((E)-2-(PIRROLIDIN-3-IL)VINIL)-5-(TETRAHIDROPIRAN-4-ILOXI) PIRIDINA			

Reivindicación(es):

1. Mono-L-malato de (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.
2. Hemi-galactarato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.
3. Oxalato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.
4. di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su hidrato o solvato.
5. (R)-3-((E)-2-(Pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable sustancialmente libre de (S)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina.
6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y uno o más coadyuvantes, vehículos, o excipientes farmacéuticamente aceptables.
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6 que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.
8. Un compuesto mono-L-malato o hemi-galactarato u oxalato o di-p-toluoil-D-tartrato de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina para uso como medicamento en tratar un trastorno mediado por NNR.
9. Un método para el tratamiento o prevención de un trastorno mediado por NNR, método que comprende administrar a un mamífero, necesitado de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable.
10. Uso de un compuesto (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina o su sal farmacéuticamente aceptable en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por NNR.

11. El compuesto, método, o uso de las reivindicaciones 8-10, en donde el trastorno se selecciona del grupo conformado por trastornos del SNC, inflamación, respuesta inflamatoria asociada con infección bacteriana y/o virosis, dolor, síndrome metabólico, trastornos autoinmunitarios.
12. El compuesto, método, o uso de la reivindicación 11, en donde el trastorno CNS se selecciona de disfunción cognitiva en esquizofrenia (CDS, por sus siglas en inglés), Enfermedad de Alzheimer (ED), trastorno de déficit de atención (ADD, por sus siglas en inglés), demencia pre-senil (síntomas iniciales de la Enfermedad de Alzheimer), demencia del tipo de Alzheimer, deterioro cognitivo ligero, deterioro de la memoria asociado con la edad, y trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD, por sus siglas en inglés).
13. Un régimen de administración de una composición farmacéutica que comprende administrar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, o su sal farmacéuticamente aceptable en cantidades de entre 7 a 2200 µg/kg.
14. El compuesto, método, uso, o régimen de las reivindicaciones 8-13, en donde (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina se provee como su sal mono-L-malato, hemi-galactarato, oxalato, o di-p-toluoil-D-tartrato.
15. Un método de purificar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, con respecto a (R)-3-((Z)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina isomérica y (R)-3-(1-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina, por conversión en la sal oxalato y regeneración de la base libre.
16. Un método de elaborar (R)-3-((E)-2-(pirrolidin-3-il)vinil)-5-(tetrahidropiran-4-iloxi)piridina por mediación de uno o más de dietil (R)-2-(1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malonato, ácido (R)-2-(1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-3-il)malónico, terc-butil (R)-3-(2-hidroxietil)pirrolidin-1-carboxilato, y terc-butil (R)-3-(2-yodoetil)pirrolidin-1-carboxilato.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

104

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0054763
		Bogotá D.C., Junio 07 de 2011 - 16:34:30

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411768431	07/06/2011	43.390.400.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	VR. UNIDITARIO	VR. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-075843- -00000-0000

Fecha: 2011-06-17 12:35:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 105

COLO: 15769-841-006-3

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Junio 7 de 2011 - 16:34:40

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

105



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0049298

Bogotá D.C., Mayo 24 de 2011 - 06:50:03

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629063	23/05/2011	53.714.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	82 INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN NUEVAS CREACIONES	162.000.00	162.000.00
				\$162.000.00

SON: **CIENTO SESENTA Y DOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-075843- -00000-0000

Fecha: 2011-06-17 12:35:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 105

COW: 15769-841-006-3

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 24 de 2011 - 06:50:15



No. 11-075843- -00000-0000

Fecha: 2011-06-17 12:35:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 105

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
TARGACEPT INC

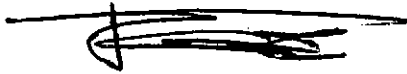
REFERENCIA	Radicación No.	11 075843
	Solicitud internacional	PCT/US2009/066092
	Fecha inicio fase nacional	01/07/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	112056

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 05 AGO. 2011
adpa11