



Libertad y Orden

REPÚBLICA DE COLOMBIA
DIVISIÓN DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

PCT
PATENTE DE INVENCION



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

06-505

TITULO: ANTAGONISTAS DE RECEPTORES MUSCARINICOS DE LA ACETIL-
COLINA

CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL: A61K31/46, C07D 451/02, A61P31/00

SOLICITANTE: GLAXO GROUP LIMITED

DIRECCIÓN Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex
UB6 ONN, Inglaterra

APODERADO CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ, Enero 4 de 2006

P2005/000178

Nota:
P2005/000178

(SS)

OLARTE RAISBECK



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 06/006505 00000000 Folios: 4/
Fecha (RMD): 2006-01-04 09:26:05
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS OPERACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 2006-02-17

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☒ Capítulo I. ☒ Capítulo II. → ver folio #50...

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: <u>GLAXO GROUP LIMITED</u>	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
	Dirección: <u>Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN</u> Nacionalidad o Domicilio: <u>BRITANICA</u> Lugar de Constitución: <u>INGLATERRA</u> Teléfono: _____ Fax: _____ E-mail: _____	

3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: <u>CARLOS R. OLARTE</u>	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>79.782.747 Btá TP 74.295</u>
	Dirección: <u>World Trade Center Torre A, Calle 100 No. 8A-37 Piso 10</u> Teléfono: <u>601-7700</u> Fax: <u>601-7799</u> E-mail: <u>office@olarteraisbeck.com</u>	

4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: <u>VER PAGINA ADJUNTA</u>
	Dirección: <u>VER PAGINA ADJUNTA</u>
	Nacionalidad o Domicilio: <u>VER PAGINA ADJUNTA</u>

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/022947 Fecha Julio 16, 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/009439 Fecha Febrero 3, 2005

6 Título (54) ANTAGONISTAS DE RECEPTORES MUSCARINICOS DE LA ACETILCOLINA.

7 Clasificación Internacional (51) A61K 31/46, C07D 451/02, A61P 11/00.

8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>US</u>	(32) Fecha <u>Julio 17, 2003</u>	(31) Número de Solicitud <u>60/487,981</u>

9 Comprobante de pago No. _____ Fecha Enero 3, 2006

10

ANEXOS☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

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 internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar Internacional 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 12 x 12.

☐

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.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTEFIRMA: C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES PCT/US2004/022947

KRISTEN E. BELMONTE
709 Swedeland Road,
King of Prussia, PA 19406
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

JAKOB BUSCH-PETERSEN
709 Swedeland Road,
King of Prussia, PA 19406
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Dinamarca

DRAMANE I. LAINE
709 Swedeland Road,
King of Prussia, PA 19406
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Francesa

MICHAEL R. PALOVICH
709 Swedeland Road,
King of Prussia, PA 19406
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense



4

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 060000005 000000000 folios: 47
Fecha (AMU): 2006-01-04 09:26:05
Tramite : 011 PCY-PAIENT 379 FASE NACL 411 PRESENTAC
Dependencia: 2006 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

 RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 509
FECHA : ENERO 4 DE 2006

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEGR	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	36765275	03/01/2006	2,945,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
	TOTAL :	\$ 463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

**APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE
GLAXO GROUP LIMITED**

PODER DE REPRESENTACION

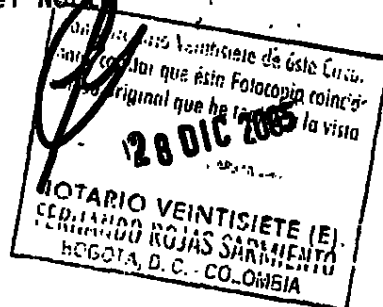
Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español firmado por James Kerr Milligan

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
 2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
 3. Quien ejerce funciones de Notario público
 4. Lleva el sello del Notario público
- CERTIFICADO
5. En Londres
 6. El 14 agosto 2003
 7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
 8. No. G229474
 9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
 10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado



Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlen Neira C

Marlen Neira C
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Ofi.
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 O.

Yo, el infrascrito **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

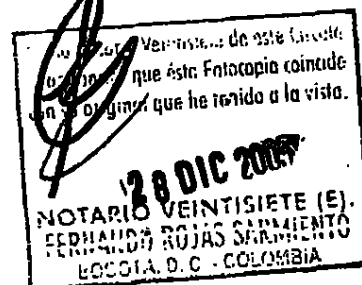
CERTIFICO:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada "**GLAXO GROUP LIMITED**", Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número **305979**, con domicilio social en Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN, Inglaterra;

QUE el citado Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS** está debidamente autorizado para firmar documentos de esta clase en nombre y representación de dicha Sociedad en virtud de un Poder otorgado por la referida Sociedad fechado 3 de julio de 2002.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy vece de agosto del año dos mil tres.



JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **James Kerr Milligan**
a été signé par

3. Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de

4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/à Londres
6. the/le **14 August 2003**

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G229474**

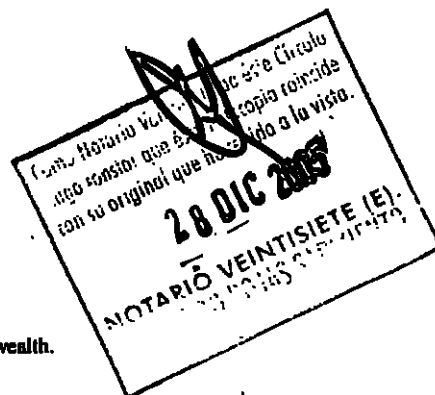
9. Stamp:
timbre:

10. Signature: **J. Garbrah**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTÁ, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, GB
by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

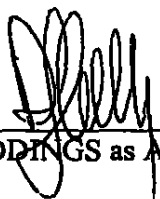
Poder

El suscrito,

domiciliado en

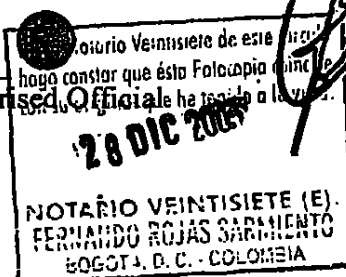
Glaxo Group Limited
por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:


Peter John GIDDINGS as Attorney and Authorised Official

- Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad, País: Brentford, Middlesex, England



(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 February 2005 (03.02.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/009439 A1

(51) International Patent Classification⁷: A61K 31/46,
C07D 451/02

(21) International Application Number:
PCT/US2004/022947

(22) International Filing Date: 16 July 2004 (16.07.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/487,981 17 July 2003 (17.07.2003) US

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO
GROUP LIMITED [GB/GB]; Glaxo Wellcome House,
Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BELMONTE, Kris-
ten, E. [US/US]; 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA
19406 (US). BUSCH-PETERSEN, Jakob [DK/US]; 709
Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406 (US). LAINE,
Dramane [FR/US]; 709 Swedeland Road, King of Prussia,
PA 19406 (US). PALOVICH, Michael, R. [US/US]; 709
Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406 (US).

(74) Agents: SIMON, Soma, G. et al.; GlaxoSmithKline,
Corporate Intellectual Property, UW 2220, 709 Swedeland
Road, P.O. Box 1539, King of Prussia, PA 19406-0939
(US).

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

(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, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2005/009439 A1

(54) Title: MUSCARINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR ANTAGONISTS

(57) Abstract: Muscarinic Acetylcholine Receptor Antagonists and methods of using them are provided.

MUSCARINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR ANTAGONISTS**FIELD OF THE INVENTION**

This invention relates to the olefinic derivatives of 8-azoniabicyclo[3.2.1]
5 octanes, pharmaceutical compositions, and use thereof in treating muscarinic
acetylcholine receptor mediated diseases of the respiratory tract.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 Acetylcholine released from cholinergic neurons in the peripheral and central
nervous systems affects many different biological processes through interaction with
two major classes of acetylcholine receptors – the nicotinic and the muscarinic
acetylcholine receptors. Muscarinic acetylcholine receptors (mAChRs) belong to
the superfamily of G-protein coupled receptors that have seven transmembrane
15 domains. There are five subtypes of mAChRs, termed M₁-M₅, and each is the
product of a distinct gene. Each of these five subtypes displays unique
pharmacological properties. Muscarinic acetylcholine receptors are widely
distributed in vertebrate organs where they mediate many of the vital functions.
Muscarinic receptors can mediate both inhibitory and excitatory actions. For
20 example, in smooth muscle found in the airways, M₃ mAChRs mediate contractile
responses. For review, please see Caulfield (1993 *Pharmac. Ther.* 58:319-79).

In the lungs, mAChRs have been localized to smooth muscle in the trachea
and bronchi, the submucosal glands, and the parasympathetic ganglia. Muscarinic
receptor density is greatest in parasympathetic ganglia and then decreases in density
25 from the submucosal glands to tracheal and then bronchial smooth muscle.
Muscarinic receptors are nearly absent from the alveoli. For review of mAChR
expression and function in the lungs, please see Fryer and Jacoby (1998 *Am J Respir
Crit Care Med* 158(5, pt 3) S 154-60).

Three subtypes of mAChRs have been identified as important in the lungs,
30 M₁, M₂ and M₃ mAChRs. The M₃ mAChRs, located on airway smooth muscle,
mediate muscle contraction. Stimulation of M₃ mAChRs activates the enzyme
phospholipase C via binding of the stimulatory G protein Gq/11 (Gs), leading to

liberation of phosphatidyl inositol-4,5-bisphosphate, resulting in phosphorylation of contractile proteins. M₃ mAChRs are also found on pulmonary submucosal glands. Stimulation of this population of M₃ mAChRs results in mucus secretion.

5 M₂ mAChRs make up approximately 50-80% of the cholinergic receptor population on airway smooth muscles. Although the precise function is still unknown, they inhibit catecholaminergic relaxation of airway smooth muscle via inhibition of cAMP generation. Neuronal M₂ mAChRs are located on postganglionic parasympathetic nerves. Under normal physiologic conditions, neuronal M₂ mAChRs provide tight control of acetylcholine release from
10 parasympathetic nerves. Inhibitory M₂ mAChRs have also been demonstrated on sympathetic nerves in the lungs of some species. These receptors inhibit release of noradrenaline, thus decreasing sympathetic input to the lungs.

M₁ mAChRs are found in the pulmonary parasympathetic ganglia where they function to enhance neurotransmission. These receptors have also been localized to
15 the peripheral lung parenchyma, however their function in the parenchyma is unknown.

Muscarinic acetylcholine receptor dysfunction in the lungs has been noted in a variety of different pathophysiological states. In particular, in asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), inflammatory conditions lead to loss of
20 inhibitory M₂ muscarinic acetylcholine autoreceptor function on parasympathetic nerves supplying the pulmonary smooth muscle, causing increased acetylcholine release following vagal nerve stimulation (Fryer et al. 1999 *Life Sci* 64 (6-7) 449-55). This mAChR dysfunction results in airway hyperreactivity and hyperresponsiveness mediated by increased stimulation of M₃ mAChRs. Thus the
25 identification of potent mAChR antagonists would be useful as therapeutics in these mAChR-mediated disease states.

COPD is an imprecise term that encompasses a variety of progressive health problems including chronic bronchitis, chronic bronchiolitis and emphysema, and it is a major cause of mortality and morbidity in the world. Smoking is the major risk
30 factor for the development of COPD; nearly 50 million people in the U.S. alone smoke cigarettes, and an estimated 3,000 people take up the habit daily. As a result, COPD is expected to rank among the top five as a world-wide health burden by the

year 2020. Inhaled anti-cholinergic therapy is currently considered the "gold standard" as first line therapy for COPD (Pauwels et al. 2001 *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163:1256-1276).

5 Despite the large body of evidence supporting the use of anti-cholinergic therapy for the treatment of airway hyperreactive diseases, relatively few anti-cholinergic compounds are available for use in the clinic for pulmonary indications. More specifically, in United States, Ipratropium Bromide (Atrovent®; and Combivent®, in combination with albuterol) is currently the only inhaled anti-cholinergic marketed for the treatment of airway hyperreactive diseases. While this
10 compound is a potent anti-muscarinic agent, it is short acting, and thus must be administered as many as four times daily in order to provide relief for the COPD patient. In Europe and Asia, the long-acting anti-cholinergic Tiotropium Bromide (Spiriva®) was recently approved, however this product is currently not available in the United States. Thus, there remains a need for novel compounds that are capable
15 of causing blockade at mAChRs which are long acting and can be administered once-daily for the treatment of airway hyperreactive diseases such as asthma and COPD.

Since mAChRs are widely distributed throughout the body, the ability to apply anti-cholinergics locally and/or topically to the respiratory tract is particularly
20 advantageous, as it would allow for lower doses of the drug to be utilized. Furthermore, the ability to design topically active drugs that have long duration of action, and in particular, are retained either at the receptor or by the lung, would allow the avoidance of unwanted side effects that may be seen with systemic anti-cholinergic use.

25

SUMMARY OF THE INVENTION

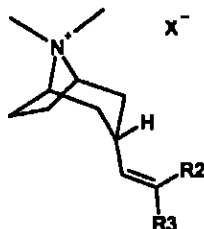
This invention provides for a method of treating a muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) mediated disease, wherein acetylcholine binds to an mAChR and
30 which method comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

This invention also relates to a method of inhibiting the binding of acetylcholine to its receptors in a mammal in need thereof which comprises administering to aforementioned mammal an effective amount of a compound of Formula (I).

- 5 The present invention also provides for the novel compounds of Formula (I), and pharmaceutical compositions comprising a compound of Formula (I), and a pharmaceutical carrier or diluent.

The compounds according to this invention have the structure shown by Formula (I):

10



(I)

in which the preferred orientation of the alkyl chain attached to the tropane ring is endo.

- 15 R₂ and R₃ are, independently, selected from the group consisting of straight or branched chain lower alkyl groups having preferably from 1 to 6 carbon atoms, cycloalkyl groups having from 5 to 6 carbon atoms, cycloalkyl-alkyl having 6 to 10 carbon atoms, 2-thienyl, 2-pyridyl, phenyl, phenyl substituted with an alkyl group having not in excess of 4 carbon atoms and phenyl substituted with an alkoxy group having not in excess of 4 carbon atoms.
- 20

X⁻ represents an anion associated with the positive charge of the N atom. X⁻ may be but is not limited to chloride, bromide, iodide, sulfate, benzene sulfonate, and toluene sulfonate.

Illustrative examples of this invention include

- 25 (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-thienylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide;
(3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide;

- (3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane 4-methylbenzenesulfonate;
 (3-*endo*)-8,8-dimethyl-3-[2-phenyl-2-(2-thienyl)ethenyl]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide; and
 5 (3-*endo*)-8,8-dimethyl-3-[2-phenyl-2-(2-pyridinyl)ethenyl]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide.

METHODS OF PREPARATION

- 10 The compounds of Formula (I) may be obtained by applying synthetic procedures well known in the art as described in the patent US2800482, incorporated herein in its entirety by reference.

SYNTHETIC EXAMPLES

- 15 The above synthetic examples in this invention are referenced to the examples described in the patent US2800482, incorporated herein in its entirety by reference.

BIOLOGICAL EXAMPLES

- 20 The inhibitory effects of compounds at the M₃ mAChR of the present invention are determined by the following *in vitro* and *in vivo* functional assays:

25 Analysis of Inhibition of Receptor Activation by Calcium Mobilization:

- Stimulation of mAChRs expressed on CHO cells were analyzed by monitoring receptor-activated calcium mobilization as previously described (H. M.Sarau *et al*, 1999. *Mol. Pharmacol.* 56, 657-663). CHO cells stably expressing M₃ mAChRs were plated in 96 well black wall/clear bottom plates. After 18 to 24
 30 hours, media was aspirated and replaced with 100 µl of load media (EMEM with Earl's salts, 0.1% RIA-grade BSA (Sigma, St. Louis MO), and 4 µM Fluo-3-acetoxymethyl ester fluorescent indicator dye (Fluo-3 AM, Molecular Probes,

Eugene, OR) and incubated 1 hr at 37° C. The dye-containing media was then aspirated, replaced with fresh media (without Fluo-3 AM), and cells were incubated for 10 minutes at 37° C. Cells were then washed 3 times and incubated for 10 minutes at 37° C in 100 µl of assay buffer (0.1% gelatin (Sigma), 120 mM NaCl, 4.6 mM KCl, 1 mM KH₂ PO₄, 25 mM NaH CO₃, 1.0 mM CaCl₂, 1.1 mM MgCl₂, 11 mM glucose, 20mM HEPES (pH 7.4)). 50 µl of compound (1x10⁻¹¹ – 1x10⁻⁵ M final in the assay) was added and the plates were incubated for 10 min. at 37° C. Plates were then placed into a fluorescent light intensity plate reader (FLIPR, Molecular Probes) where the dye loaded cells were exposed to excitation light (488 nm) from a 6 watt argon laser. Cells were activated by adding 50 µl of acetylcholine (0.1-10 nM final), prepared in buffer containing 0.1% BSA, at a rate of 50 µl/sec. Calcium mobilization, monitored as change in cytosolic calcium concentration, was measured as change in 566 nm emission intensity. The change in emission intensity is directly related to cytosolic calcium levels. The emitted fluorescence from all 96 wells is measured simultaneously using a cooled CCD camera. Data points are collected every second. This data was then plotting and analyzed using GraphPad PRISM software.

Muscarinic Receptor Radioligand Binding Assays

Radioligand binding studies using 0.5 nM [³H]-N-methyl scopolamine (NMS) in a SPA format is used to assess binding of muscarinic antagonists to M₁, M₂, M₃, M₄ and M₅ muscarinic acetylcholine receptors. In a 96-well plate, the SPA beads are pre-incubated with receptor-containing membrane for 30 min at 4°C. Then 50 mM HEPES and the test compound are added and incubated at room temperature (shaking) for 2 hours. The beads are then spun down and counted using a scintillation counter.

Evaluation of potency and duration of action in isolated guinea pig trachea

Tracheae were removed from adult male Hartely guinea pigs (Charles River, Raleigh, NC; 400-600 grams) and placed into modified Krebs-Henseleit solution. Composition of the solution was (mM): NaCl 113.0, KCl 4.8, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄

1.2, MgSO_4 1.2, NaHCO_3 25.0 and dextrose 11.0. which was gassed with 95% O_2 :
5% CO_2 and maintained at 37°C. Each trachea was cleaned of adherent tissue and
opened lengthwise. Epithelium was removed by gently rubbing the luminal surface
with a cotton-tipped applicator. Individual strips were cut, approximately 2 cartilage
5 rings in width, and suspended via silk suture in 10-ml water-jacketed organ baths
containing Krebs-Henseleit solution and connected to Grass FT03C force-
displacement transducers. Mechanical responses were recorded isometrically by
MP100WS/Acknowledge data acquisition system (BIOPAC Systems, Goleta, CA,
www.biopac.com) run on Apple G4 computers. The tissues were equilibrated under
10 a resting tension of 1.5 g, determined to be optimal by length-tension evaluation, and
washed with Krebs-Henseleit solution every 15 minutes for one hour. After the
equilibration period pulmonary tissues were contracted with 10 μM carbachol until
reaching plateau, which served as a reference contraction for data analysis. Tissues
were then rinsed every 15 minutes over 1 hour until reaching baseline tone. The
15 preparations were then left for at least 30 minutes before the start of the experiment.

Concentration-response curves were obtained by a cumulative addition of
carbachol in half-log increments (Van Rossum, 1963, Arch. Int. Pharmacodyn.,
143:299), initiated at 1 nM. Each concentration was left in contact with the
preparation until the response plateaued before the addition of the subsequent
20 carbachol concentration. Paired tissues were exposed to mAChR antagonist
compounds or vehicle for 30 min before carbachol cumulative concentration-
response curves were generated. All data is given as mean $\pm$ standard error of the
mean (s.e.m.) with n being the number of different animals.

For superfusion (duration of action) studies, the tissues were continuously
25 superfused with Krebs-Henseleit solution at 2 ml/min for the duration of the
experiment. Stock solutions of agonist and antagonist were infused (0.02 ml/min)
via 22-gauge needle inserted into the superfusion tubing. Mechanical responses
were recorded isometrically using a commercially-available data acquisition system
(MP100WS/Acknowledge; BIOPAC Systems, Goleta, CA, www.biopac.com)
30 interfaced with a Macintosh G4 computer (Apple, Cupertino, CA www.apple.com).
The tissues were suspended under an optimal resting tension of 1.5 g. After a 60
min equilibration period, the tissues were contracted with carbachol (1 μM) for the

duration of the experiment. Upon reaching a sustained contraction isoproterenol (10 μ M) was administered to maximally relax the tissue, and this change served as a reference. Isoproterenol exposure was halted and the carbachol-induced tension allowed to recover. Muscarinic receptor antagonists infused at a single
5 concentration per tissue until a sustained level of inhibition was attained. The compound was then removed and, once again, the carbachol-induced tension was allowed to recover.

The following parameters were determined for each concentration of antagonist, and expressed as the mean $\pm$ S.E.M. for n individual animals. Inhibition
10 of the carbachol-induced contraction was expressed as a percent of the reference response (isoproterenol) and the time required to reach one-half of this relaxation was measured (onset of response). The tension recovery following removal of the compound was determined as was the time required to reach one-half of the maximum tension recovery (offset of response). At 60 and 180 minutes after
15 removal of the antagonist the remaining level of inhibition was determined and expressed as a percent of the isoproterenol reference.

Antagonist concentration-response curves were obtained by plotting the maximal relaxation data at 0, 60 and 180-min following antagonist withdrawal. Recovery, termed shift, was calculated from the ratio of the 0-min inhibition curve
20 IC_{50} and the concentration of compound yielding a similar tension recovery at 60 and 180 minutes.

Halftimes for onset and offset of response were plotted vs. corresponding concentration and the data were fit with non-linear regression. These values were extrapolated at the IC_{50} (determined from the inhibition concentration-response
25 curve) and designated Ot_{50} (time required, at the IC_{50} concentration, to reach half of the onset response) and Rt_{50} (time required, at the IC_{50} concentration, to reach half of the recovery response).

Methacholine-induced bronchoconstriction – potency and duration of action

30 Airway responsiveness to methacholine was determined in awake, unrestrained Balb C mice ($n = 6$ each group). Barometric plethysmography was used to measure enhanced pause (Penh), a unitless measure that has been shown to

correlate with the changes in airway resistance that occur during bronchial challenge with methacholine(2). Mice were pre-treated with 50 µl of compound (0.003-10 µg/mouse) in 50 µl of vehicle (10% DMSO) intranasally (i.n.) and were then placed in the plethysmography chamber a given amount of time following drug administration (15 min – 96 h). For potency determination, a dose response to a given drug was performed, and all measurements were taken 15 min following i.n. drug administration. For duration of action determination, measurements were taken anywhere from 15 min to 96 hours following i.n. drug administration.

Once in the chamber, the mice were allowed to equilibrate for 10 min before taking a baseline Penh measurement for 5 minutes. Mice were then challenged with an aerosol of methacholine (10 mg/ml) for 2 minutes. Penh was recorded continuously for 7 min starting at the inception of the methacholine aerosol, and continuing for 5 minutes afterward. Data for each mouse were analyzed and plotted by using GraphPad PRISM software. This experiment allows the determination of duration of activity of the administered compound.

The present compounds are useful for treating a variety of indications, including but not limited to respiratory-tract disorders such as chronic obstructive lung disease, chronic bronchitis, asthma, chronic respiratory obstruction, pulmonary fibrosis, pulmonary emphysema, and allergic rhinitis.

FORMULATION-ADMINISTRATION

Accordingly, the present invention further provides a pharmaceutical formulation comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or physiologically functional derivative (e.g., salts and esters) thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier or excipient, and optionally one or more other therapeutic ingredients.

Hereinafter, the term “active ingredient” means a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or physiologically functional derivative thereof.

Compounds of formula (I) will be administered via inhalation via the mouth or nose.

Dry powder compositions for topical delivery to the lung by inhalation may, for example, be presented in capsules and cartridges of for example gelatine, or blisters of for example laminated aluminium foil, for use in an inhaler or insufflator. Powder blend formulations generally contain a powder mix for inhalation of the compound of the invention and a suitable powder base (carrier/diluent/excipient substance) such as mono-, di- or poly-saccharides (e.g., lactose or starch), organic or inorganic salts (e.g., calcium chloride, calcium phosphate or sodium chloride), polyalcohols (e.g., mannitol), or mixtures thereof, alternatively with one or more additional materials, such additives included in the blend formulation to improve chemical and/or physical stability or performance of the formulation, as discussed below, or mixtures thereof. Use of lactose is preferred. Each capsule or cartridge may generally contain between 20µg-10mg of the compound of formula (I) optionally in combination with another therapeutically active ingredient. Alternatively, the compound of the invention may be presented without excipients, or may be formed into particles comprising the compound, optionally other therapeutically active materials, and excipient materials, such as by co-precipitation or coating.

Suitably, the medicament dispenser is of a type selected from the group consisting of a reservoir dry powder inhaler (RDPI), a multi-dose dry powder inhaler (MDPI), and a metered dose inhaler (MDI).

By reservoir dry powder inhaler (RDPI) it is meant as an inhaler having a reservoir form pack suitable for comprising multiple (un-metered doses) of medicament in dry powder form and including means for metering medicament dose from the reservoir to a delivery position. The metering means may for example comprise a metering cup or perforated plate, which is movable from a first position where the cup may be filled with medicament from the reservoir to a second position where the metered medicament dose is made available to the patient for inhalation.

By multi-dose dry powder inhaler (MDPI) is meant an inhaler suitable for dispensing medicament in dry powder form, wherein the medicament is comprised within a multi-dose pack containing (or otherwise carrying) multiple, define doses (or parts thereof) of medicament. In a preferred aspect, the carrier has a blister pack form, but it could also, for example, comprise a capsule-based pack form or a carrier

onto which medicament has been applied by any suitable process including printing, painting and vacuum occlusion.

The formulation can be pre-metered (eg as in Diskus, see GB 2242134 or Diskhaler, see GB 2178965, 2129691 and 2169265) or metered in use (eg as in
5 Turbuhaler, see EP 69715). An example of a unit-dose device is Rotahaler (see GB 2064336). The Diskus inhalation device comprises an elongate strip formed from a base sheet having a plurality of recesses spaced along its length and a lid sheet hermetically but peelably sealed thereto to define a plurality of containers, each container having therein an inhalable formulation containing a compound of formula
10 (I) preferably combined with lactose. Preferably, the strip is sufficiently flexible to be wound into a roll. The lid sheet and base sheet will preferably have leading end portions which are not sealed to one another and at least one of the said leading end portions is constructed to be attached to a winding means. Also, preferably the hermetic seal between the base and lid sheets extends over their whole width. The
15 lid sheet may preferably be peeled from the base sheet in a longitudinal direction from a first end of the said base sheet.

In one aspect, the multi-dose pack is a blister pack comprising multiple blisters for containment of medicament in dry powder form. The blisters are typically arranged in regular fashion for ease of release of medicament therefrom.

20 In one aspect, the multi-dose blister pack comprises plural blisters arranged in generally circular fashion on a disk-form blister pack. In another aspect, the multi-dose blister pack is elongate in form, for example comprising a strip or a tape.

Preferably, the multi-dose blister pack is defined between two members peelably secured to one another. US Patents Nos. 5,860,419, 5,873,360 and
25 5,590,645 describe medicament packs of this general type. In this aspect, the device is usually provided with an opening station comprising peeling means for peeling the members apart to access each medicament dose. Suitably, the device is adapted for use where the peelable members are elongate sheets which define a plurality of medicament containers spaced along the length thereof, the device being provided
30 with indexing means for indexing each container in turn. More preferably, the device is adapted for use where one of the sheets is a base sheet having a plurality of pockets therein, and the other of the sheets is a lid sheet, each pocket and the

adjacent part of the lid sheet defining a respective one of the containers, the device comprising driving means for pulling the lid sheet and base sheet apart at the opening station.

By metered dose inhaler (MDI) it is meant a medicament dispenser suitable for dispensing medicament in aerosol form, wherein the medicament is comprised in an aerosol container suitable for containing a propellant-based aerosol medicament formulation. The aerosol container is typically provided with a metering valve, for example a slide valve, for release of the aerosol form medicament formulation to the patient. The aerosol container is generally designed to deliver a predetermined dose of medicament upon each actuation by means of the valve, which can be opened either by depressing the valve while the container is held stationary or by depressing the container while the valve is held stationary.

Spray compositions for topical delivery to the lung by inhalation may for example be formulated as aqueous solutions or suspensions or as aerosols delivered from pressurised packs, such as a metered dose inhaler, with the use of a suitable liquefied propellant. Aerosol compositions suitable for inhalation can be either a suspension or a solution and generally contain the compound of formula (I) optionally in combination with another therapeutically active ingredient and a suitable propellant such as a fluorocarbon or hydrogen-containing chlorofluorocarbon or mixtures thereof, particularly hydrofluoroalkanes, e.g. dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetra-fluoroethane, especially 1,1,1,2-tetrafluoroethane, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propane or a mixture thereof. Carbon dioxide or other suitable gas may also be used as propellant. The aerosol composition may be excipient free or may optionally contain additional formulation excipients well known in the art such as surfactants eg oleic acid or lecithin and cosolvents eg ethanol. Pressurised formulations will generally be retained in a canister (eg an aluminium canister) closed with a valve (eg a metering valve) and fitted into an actuator provided with a mouthpiece.

Medicaments for administration by inhalation desirably have a controlled particle size. The optimum aerodynamic particle size for inhalation into the bronchial system for localized delivery to the lung is usually 1-10 μ m, preferably 2-

5 μm . The optimum aerodynamic particle size for inhalation into the alveolar region for achieving systemic delivery to the lung is approximately .5-3 μm , preferably 1-3 μm . Particles having an aerodynamic size above 20 μm are generally too large when inhaled to reach the small airways. Average aerodynamic particle size of a formulation may be measured by, for example cascade impaction. Average geometric particle size may be measured, for example by laser diffraction, optical means.

To achieve a desired particle size, the particles of the active ingredient as produced may be size reduced by conventional means eg by controlled crystallization, micronisation or nanomilling. The desired fraction may be separated out by air classification. Alternatively, particles of the desired size may be directly produced, for example by spray drying, controlling the spray drying parameters to generate particles of the desired size range. Preferably, the particles will be crystalline, although amorphous material may also be employed where desirable. When an excipient such as lactose is employed, generally, the particle size of the excipient will be much greater than the inhaled medicament within the present invention, such that the "coarse" carrier is non-respirable. When the excipient is lactose it will typically be present as milled lactose, wherein not more than 85% of lactose particles will have a MMD of 60-90 μm and not less than 15% will have a MMD of less than 15 μm . Additive materials in a dry powder blend in addition to the carrier may be either respirable, i.e., aerodynamically less than 10 microns, or non-respirable, i.e., aerodynamically greater than 10 microns.

Suitable additive materials which may be employed include amino acids, such as leucine; water soluble or water insoluble, natural or synthetic surfactants, such as lecithin (e.g., soya lecithin) and solid state fatty acids (e.g., lauric, palmitic, and stearic acids) and derivatives thereof (such as salts and esters); phosphatidylcholines; sugar esters. Additive materials may also include colorants, taste masking agents (e.g., saccharine), anti-static-agents, lubricants (see, for example, Published PCT Patent Appl. No. WO 87/905213, the teachings of which are incorporated by reference herein), chemical stabilizers, buffers, preservatives, absorption enhancers, and other materials known to those of ordinary skill.

Sustained release coating materials (e.g., stearic acid or polymers, e.g. polyvinyl pyrrolidone, polylactic acid) may also be employed on active material or

active material containing particles (see, for example, Patent Nos. US 3,634,582, GB 1,230,087, GB 1,381,872, the teachings of which are incorporated by reference herein).

Intranasal sprays may be formulated with aqueous or non-aqueous vehicles
5 with the addition of agents such as thickening agents, buffer salts or acid or alkali to adjust the pH, isotonicity adjusting agents or anti-oxidants.

Solutions for inhalation by nebulation may be formulated with an aqueous vehicle with the addition of agents such as acid or alkali, buffer salts, isotonicity adjusting agents or antimicrobials. They may be sterilised by filtration or heating in
10 an autoclave, or presented as a non-sterile product.

Preferred unit dosage formulations are those containing an effective dose, as herein before recited, or an appropriate fraction thereof, of the active ingredient.

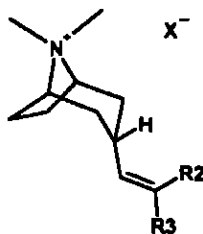
Throughout the specification and the claims which follow, unless the context requires otherwise, the word 'comprise', and variations such as 'comprises' and
15 'comprising', will be understood to imply the inclusion of a stated integer or step or group of integers but not to the exclusion of any other integer or step or group of integers or steps.

All publications, including but not limited to patents and patent applications, cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual
20 publication were specifically and individually indicated to be incorporated by reference herein as though fully set forth.

The above description fully discloses the invention including preferred embodiments thereof. Modifications and improvements of the embodiments specifically disclosed herein are within the scope of the following claims. Without
25 further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent. Therefore the Examples herein are to be construed as merely illustrative and not a limitation of the scope of the present invention in any way. The embodiments of the invention in which an exclusive property or privilege is claimed are defined as follows.

What is claimed is:

1. A compound according to Formula (I) hereinbelow:



(I)

wherein:

- R2 and R3 are, independently, selected from the group consisting of straight or branched chain lower alkyl groups (having preferably from 1 to 6 carbon atoms), cycloalkyl groups (having from 5 to 6 carbon atoms), cycloalkyl-alkyl (having 6 to 10 carbon atoms), 2-thienyl, 2-pyridyl, phenyl, phenyl substituted with an alkyl group having not in excess of 4 carbon atoms, and phenyl substituted with an alkoxy group having not in excess of 4 carbon atoms; and X⁻ represents an anion associated with the positive charge of the N atom; such that the compound is in quaternary salt form.

2. A compound according to claim 1 wherein the orientation of the alkyl chain attached to the tropane ring is endo.

3. A compound according to claim 2 selected from the group consisting of:

- (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-thienylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide;
 (3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide;
 (3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethenyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane 4-methylbenzenesulfonate;
 (3-*endo*)-8,8-dimethyl-3-[2-phenyl-2-(2-thienyl)ethenyl]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide; and

(3-*endo*)-8,8-dimethyl-3-[2-phenyl-2-(2-pyridinyl)ethenyl]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide.

4. A compound according to claim 3 wherein X⁻ is selected from the group consisting of chloride, bromide, iodide, sulfate, benzene sulfonate and toluene sulfonate.
5. A pharmaceutical composition for the treatment of muscarinic acetylcholine receptor mediated diseases comprising a compound according to claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier thereof.
6. A method of inhibiting the binding of acetylcholine to its receptors in a mammal in need thereof comprising administering a safe and effective amount of a compound according to claim 1.
7. A method of treating a muscarinic acetylcholine receptor mediated disease, wherein acetylcholine binds to said receptor, comprising administering a safe and effective amount of a compound according to claim 1.
8. A method according to claim 7 wherein the disease is selected from the group consisting of chronic obstructive lung disease, chronic bronchitis, asthma, chronic respiratory obstruction, pulmonary fibrosis, pulmonary emphysema and allergic rhinitis.
9. A method according to claim 7 wherein administration is via inhalation via the mouth or nose.
10. A method according to claim 7 wherein administration is via a medicament dispenser selected from a reservoir dry powder inhaler, a multi-dose dry powder inhaler or a metered dose inhaler.
11. A method according to claim 7 wherein the compound is administered to a human and has a duration of action of 12 hours or more for a 1 mg dose.

12. A method according to claim 11 wherein the compound has a duration of action of 24 hours or more.
- 5 13. A method according to claim 12 wherein the compound has a duration of action of 36 hours or more.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/22947

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 31/46; C07D 451/02

US CL : 514/304; 546/124, 125

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)

U.S. : 514/304; 546/124, 125

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 practicable, search terms used)
CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Database CAOLD on STN(Columbus, OH, USA), No. CA58:4510b, '3-substituted tropane derivatives-(III) 3-substituted tropane carbinol, alkenes, and alkanes', abstract, Zirkle et al., Vol. 58, 1963.	1-13
X	US 2,800,478 A (Zirkle) 23 July 1957, lines 19-28, column 2.	1-13

☐ 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	* "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
* "E" earlier application or patent published on or after the international filing date	* "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
* "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)	* "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
* "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	* "&" document member of the same patent family
* "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

08 December 2004 (08.12.2004)

Date of mailing of the international search report

27 DEC 2004

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Ba K. Trinh

Telephone No. (571)272-0600

DEBORAH A. THOMAS
PARALEGAL SPECIALIST

GROUP 1000

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

ANTAGONISTAS DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS DE LA ACETILCOLINA

CAMPO DE LA INVENCION

5

Esta invención se refiere a los derivados olefinicos de 8-azoniabicyclo-[3.2.1]octanos, a composiciones farmacéuticas y a su uso para el tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio .que cursan con mediación de receptores muscarínicos de la acetilcolina

10

FUNDAMENTO DE LA INVENCION

La acetilcolina liberada desde neuronas colinérgicas en el sistema nervioso periférico y en el sistema nervioso central afecta a muchos procesos biológicos diferentes por interacción con dos clases principales de receptores de la acetilcolina -los receptores de la acetilcolina nicotínicos y muscarínicos. Los receptores muscarínicos de la acetilcolina (mAChRs) pertenecen a la superfamilia de receptores copulados a protelna G que tienen siete dominios transmembranales. Existen cinco subtipos de mAChRs, denominados M₁ – M₅, y cada uno de ellos es el producto de un gen diferente. Cada uno de estos cinco subtipos pone de manifiesto propiedades farmacológicas únicas. Los receptores muscarínicos de la acetilcolina están ampliamente distribuidos en los órganos de los vertebrados, donde median muchas de las funciones vitales. Los receptores muscarínicos pueden mediar tanto acciones inhibitorias como excitativas. Por ejemplo, en la musculatura lisa que se encuentra en las vías respiratorias, los mAChRs M₃ median las respuestas contráctiles. Para una revisión véase el trabajo de Caulfield (1993 *Pharmac. Ther* 58:319-79).

En los pulmones, los mAChRs han sido localizados en la musculatura lisa de la tráquea y los bronquios, las glándulas submucosales y los ganglios parasimpáticos. La densidad de los receptores muscarínicos es máxima en los ganglios parasimpáticos y disminuye luego de densidad desde las glándulas submucosales hasta la tráquea y luego hasta la musculatura lisa de los bronquios. Los receptores muscarínicos están casi ausentes de los alveolos. Para una revisión de la expresión de los mAChRs y su función en los pulmones, véase el trabajo de Fryer y Jacoby (1998, *Am J Respir Crit Care Med* 158 (5, pt 3) S 154-60).

Tres subtipos de mAChRs han sido identificados como importantes en los pulmones: los mAChRs M₁, M₂ y M₃. Los mAChRs M₃, localizados sobre la musculatura lisa de las vías respiratorias median la contracción muscular. La estimulación de mAChRs M₃ activa la enzima fosfolipasa C mediante la unión de la proteína G estimuladora Gq/11 (Gs) que conduce a la liberación de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato, dando como resultado la fosforilación de proteínas contráctiles. mAChRs M₃ se encuentran también en las glándulas submucosales pulmonares. La estimulación de esta población de mAChRs M₃ da por resultado la secreción de moco.

Los mAChRs M₂ constituyen, aproximadamente, el 50-80% de la población de receptores colinérgicos de la musculatura lisa de las vías respiratorias. Aun cuando la función precisa es desconocida todavía, estos receptores inhiben la relajación catecolaminérgica de la musculatura lisa de las vías respiratorias al inhibir la generación de cAMP. Los mAChRs M₂ neuronales están situados sobre los nervios parasimpáticos posganglionares. En condiciones fisiológicas normales, los mAChRs M₂ proporcionan un control estricto de la liberación de acetilcolina desde los nervios parasimpáticos. mAChRs M₂ inhibidores han sido demostrados también en nervios simpáticos de los pulmones de algunas especies. Estos receptores inhiben la liberación de noradrenalina, haciendo disminuir por tanto la entrada de simpáticos en los pulmones.

mAChRs M₁ se encuentran en los ganglios parasimpáticos pulmonares donde actúan mejorando la neurotransmisión. Estos receptores han sido localizados también en el parénquima pulmonar periférico; no obstante, su función en el parénquima es desconocida.

Disfunción en los pulmones de los receptores muscarínicos de la acetilcolina, ha sido observada en una diversidad de diferentes estados patofisiológicos. En particular, en el asma y en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (chronic obstructive pulmonary disease) (COPD), estados inflamatorios conducen a pérdida de función inhibidora de los auto-receptores muscarínicos M₂ de la acetilcolina sobre los nervios parasimpáticos de innervación de la musculatura lisa pulmonar, ocasionando una liberación aumentada de acetilcolina que sigue a la estimulación nerviosa vagal (Fryer et al., 1999 *Life Sci* 64 (6-7) 449-55). Esta disfunción de mAChR da como resultado una hiperreactividad de las vías respiratorias e hipersensibilidad mediada por una estimulación aumentada de los mAChRs M₃. Así pues, la

identificación de antagonistas potentes de mAChRs sería útil como compuestos terapéuticos en estos estados de enfermedad que cursan con mediación de mAChRs.

COPD es un término impreciso que engloba una diversidad de problemas progresivos de la salud con inclusión de bronquitis crónica, bronquiolitis crónica y enfisema, y es una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en el mundo. El fumar es el principal factor de riesgo para el desarrollo de COPD; cerca de 50 millones de personas en los Estados Unidos solos fuman cigarrillos, y una cifra estimada de 3.000 personas adquieren diariamente el hábito. Como resultado de ello, es de esperar que la COPD figure entre los cinco problemas más altas para la salud en todo el mundo en el año 2020. La terapia anticolinérgica por inhalación está considerada actualmente la "norma de oro" como la primera línea terapéutica para el tratamiento de la COPD (Pauwels et al., 2001, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163: 1256-1276).

A pesar del gran cuerpo de evidencia que apoya el uso de terapia anticolinérgica para el tratamiento de enfermedades hiperreactivas de las vías respiratorias, relativamente pocos compuestos anticolinérgicos se encuentran disponibles para usar en la clínica para indicaciones pulmonares. Más específicamente, en los Estados Unidos, el Bromuro de Ipratropio (Atrovent® y Combivent®, en combinación con albuterol) es en la actualidad el único anticolinérgico por inhalación comercializado para el tratamiento de enfermedades hiperreactivas de las vías respiratorias. Si bien este compuesto es un agente antimuscarínico potente, es de corta actividad, y por tanto debe ser administrado tanto como cuatro veces al día con objeto de proporcionar alivio al paciente afectado de COPD. En Europa y en Asia se ha aprobado recientemente el anticolinérgico de acción prolongada Bromuro de Tiotropio (Spiriva®); sin embargo, este producto no puede adquirirse en la actualidad en los Estados Unidos. Por tanto, permanece la necesidad de nuevos compuestos que sean capaces de causar bloqueo en los mAChRs, que sean de acción prolongada y que puedan ser administrados una vez al día para el tratamiento de enfermedades de hiperreactividad de las vías respiratorias tales como el asma y la COPD.

Dado que mAChRs están ampliamente distribuidos por todo el cuerpo, la posibilidad de aplicar anticolinérgicos local y/o tópicamente al tracto respiratorio es especialmente ventajosa, ya que podría permitir utilizar dosis

más bajas del fármaco. Además, la aptitud de diseñar fármacos activos por vía tópica que tengan larga duración de acción y, en particular, que sean retenidos o bien en el receptor o bien por los pulmones, permitiría evitar los efectos secundarios indeseados que pueden apreciarse con el uso sistémico de compuestos anticolinérgicos.

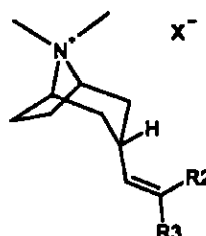
SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Esta invención proporciona un método de tratamiento de enfermedades que cursa con mediación de receptores muscarínicos de la acetilcolina (mAChR), en el que la acetilcolina se une a un mAChR y cuyo método comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable

Esta invención se refiere también a un método de inhibición de la unión de acetilcolina a los receptores, en un mamífero necesitado de ello, que comprende administrar al citado mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

La presente invención proporciona también nuevos compuestos de Fórmula (I) y composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) y un excipiente o diluyente farmacéutico.

Los compuestos según esta invención poseen la estructura indicada por la Fórmula (I):



(I)

en la que la orientación preferida de la cadena de alquilo unida al anillo de tropano es endo.

R₂ y R₃ se seleccionan, independientemente, del grupo que consta de grupos alquilo inferior de cadena lineal o de cadena ramificada, que tienen, preferiblemente, de 1 a 6 átomos de carbono, grupos cicloalquilo que tienen de 5 a 6 átomos de carbono, cicloalquil-alquilo de 6 a 10 átomos de carbono, 2-tienilo, 2-piridilo, fenilo, fenilo sustituido con un grupo alquilo que tiene no más

de 4 átomos de carbono y fenilo sustituido con un grupo alcoxi que tiene no más de 4 átomos de carbono.

X^- representa un anión asociado con la carga positiva del átomo de N. X^- puede ser, aun cuando no se limita a ellos, cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bencenosulfonato y toluenosulfonato.

Ejemplos ilustrativos de esta invención incluyen:

- Bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tienileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 10 4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
 bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano; y
 bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabicyclo-
 15 [3.2.1]octano.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

Los compuestos de Fórmula (I) pueden ser obtenidos empleando procedimientos de síntesis bien conocidos en la técnica, según se describe en la patente US2800482, que se incorpora en su totalidad en esta memoria por referencia.

EJEMPLOS DE SÍNTESIS

Los ejemplos de síntesis anteriores de esta invención están referenciados a los ejemplos descritos en la patente US2800482, incorporada en su totalidad en esta memoria por referencia.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Los efectos inhibitorios de compuestos en el mAChR M_3 de la presente invención, se determinan mediante los ensayos funcionales *in vitro* e *in vivo* que figuran a continuación:

32

Análisis de inhibición de activación del receptor por movilización del calcio:

La estimulación de mAChRs expresada en células CHO, se analizó monitorizando la movilización del calcio activada por el receptor, según se ha descrito con anterioridad (H. M. Sarau et al., 1999. *Mol. Pharmacol.* 56, 657-663). Células CHO que expresan de modo estable los mAChRs M₃ fueron depositadas en placas de fondo claro y pared negra, de 96 pocillo. Al cabo de 18 a 24 horas, se aspiró el medio y se reemplazó con 100 µl de medio de carga (EMEM con sales de Earl, BSA de grado RIA al 0,1% (Sigma, St. Louis MO), y colorante como indicador fluorescente éster Fluo-3-acetoximetílico, 4 µM (Fluo-3 AM, Molecular Probes, Eugene, OR) y se incubó 1 hora a 37°C. El medio, que contenía el colorante, fue aspirado después, reemplazado con media de nueva aportación (sin Fluo-3 AM) y las células fueron incubadas durante 10 minutos a 37°C. Después las células fueron lavadas 3 veces e incubadas durante 10 minutos a 37°C en 100 µl de solución tampón de ensayo, (gelatina (Sigma) al 0,1%, NaCl 120 mM, KCl 4,6 mM, KH₂PO₄ 1 mM, NaHCO₃ 25 mM, CaCl₂ 1,0 mM, MgCl₂ 1,1 mM, glucosa 11 mM, HEPES (pH 7,4) 20 mM, Se añadió 50 µl de compuesto (concentración final en el ensayo 1×10^{-11} – 1×10^{-5} M) y las placas fueron incubadas durante 10 minutos a 37°C. Las placas fueron colocadas luego en un lector de placas de intensidad de luz fluorescente (FLIPR, Molecular Probes) en el que las células cargadas con colorante fueron expuestas a luz de excitación (488 nm) procedente de un láser de argón de 6 vatios. Las células fueron activadas por adición de 50 µl de acetilcolina (concentración final 0,1-10 nM), preparada en solución tampón que contenía BSA al 0,1%, a una velocidad de 50 µl/segundo.

La movilización del calcio, monitorizada como cambio en la concentración de calcio citosólico, se midió como cambio en la intensidad de emisión a 566 nm. El cambio en la intensidad de emisión está relacionado directamente con los niveles de calcio citosólico. La fluorescencia emitida procedente de los 96 pocillos se mide simultáneamente usando una cámara CCD enfriada. Los puntos de los resultados se recogen cada segundo. Estos resultados fueron representados gráficamente luego y analizados usando el soporte lógico (software) GraphPad PRISM.

Ensayos de unión de radioligandos, de receptores muscarínicos

Se usan estudios de unión de radioligandos empleando [^3H]-N-metilescopolamina (NMS), 0,5 nM, en un formato SPA., para determinar la unión de antagonistas muscarínicos a los receptores muscarínicos de la acetilcolina M_1 , M_2 , M_3 , M_4 y M_5 . En una placa de 96 pocillos los glóbulos de SPA son pre-incubados con la membrana que contiene el receptor, durante 30 minutos, a 4°C. Después se añaden HEPES, 50 mM y el compuesto en ensayo, y se incuban a temperatura ambiente (agitación) durante 2 horas. Los glóbulos son centrifugados luego y sometidos a recuento usando un contador de centelleo.

Evaluación de la potencia y duración de acción en tráquea de cobaya aislada

Se separaron tráqueas desde cobayas machos, adultas, Hartely (Charles River, Raleigh, NC; 400-600 gramos) y se colocaron en solución de Krebs-Henseleit modificada. La composición de la solución era (mM): NaCl 113,0, KCl 4,8, CaCl_2 2,5, KH_2PO_4 1,2, MgSO_4 1,2, NaHCO_3 25,0 y dextrosa 11,0, que fue gasificada con O_2 , 95% y CO_2 , 5%, y mantenida a 37°C. Cada una de las tráqueas fue limpiada del tejido adherente y abierta en sentido longitudinal. Se separó el epitelio frotando suavemente la superficie luminal con un aplicador con punta de algodón. Se cortaron tiras individuales de aproximadamente una anchura de 2 cartílagos y se suspendieron por medio de sutura de seda en baños de órganos con camisa de agua, de 10 ml, que contenían solución de Krebs-Henseleit y se conectaron a transductores de desplazamiento de fuerza Grass FT03C. Se registraron isométricamente las respuestas mecánicas mediante el sistema de adquisición de datos MP100WS/Acknowledge (BIOPAC Systems, Goleta, CA, www.biopac.com), sobre ordenadores Apple G4. Los tejidos fueron equilibrados bajo una tensión de reposo de 1,5 g, que se determinó era la óptima por evaluación de la tensión- longitud, y se lavó con solución de Krebs-Henseleit cada 15 minutos durante una hora. Después del período de equilibración los tejidos pulmonares fueron contraídos con carbachol 10 μM hasta alcanzar el valor meseta, que sirvió como contracción de referencia para el análisis de los resultados obtenidos. Los tejidos fueron lavados luego cada 15 minutos a lo largo de 1 hora hasta alcanzar el tono de la

línea de base Las preparaciones fueron dejadas entonces durante 30 minutos por lo menos antes del comienzo del experimento.

Se obtuvieron curvas de concentración-respuesta mediante una adición acumulativa de carbacol en incrementos semi-logarítmicos (Van Rossum, 1963, Arch. Int. Pharmacodyn., 143:299) iniciada en 1 nM. Cada una de las concentraciones se dejó en contacto con la preparación hasta que la respuesta alcanzó el valor de la meseta antes de añadir la concentración de carbacol subsiguiente. Tejidos emparejados fueron expuestos a compuestos antagonistas de mAChR o vehículo durante 30 minutos antes de que fueran generadas las curvas acumulativas de concentración-respuesta. Todos los resultados se proporcionan como media $\pm$ error típico de la media (s.e.m) siendo n el número de animales diferentes.

Para estudios de superfusión (duración de acción), los tejidos fueron sometidos a superfusión continuamente con solución de Krebs-Henseleit, a 2 ml/minuto, durante la duración del experimento. Soluciones de reserva de agonista y antagonista fueron infundidas (0,02 ml/min) a través de una aguja de calibre 22 insertada en el tubo de superfusión. Las respuestas mecánicas fueron registradas isométricamente utilizando un sistema de adquisición de datos del que se dispone en el comercio (MP100WS/Acknowledge; BIOPAC Systems, Goleta, CA, www.biopac.com) acoplado a un ordenador G4 Macintosh (Apple, Cupertino, CA www.apple.com). Los tejidos fueron suspendidos bajo una tensión de reposo óptima de 1,5 g. Al cabo de un período de equilibración de 60 min, los tejidos fueron contraídos con carbacol (1 μ M) durante la duración del experimento. Al alcanzar una contracción sostenida se administró isoproterenol (10 μ M) para relajar máximamente el tejido, y este cambio sirvió como referencia. La exposición al isoproterenol fue detenida y se dejó recuperar la tensión inducida por el carbacol. Los antagonistas del receptor muscarínico fueron infundidos a una concentración única por tejido hasta alcanzar un nivel de inhibición sostenido. El compuesto fue retirado entonces y de nuevo se dejó recuperar la tensión inducida por el carbacol.

Se determinaron los parámetros siguientes para cada concentración de antagonista, y se expresaron como la media $\pm$ S.E.M. para n animales individuales. La inhibición de la contracción inducida por el carbacol se expresó como un porcentaje de la respuesta de la referencia (isoproterenol) y se midió el tiempo requerido para alcanzar la mitad de esta relajación (comienzo de la respuesta). La recuperación de la tensión que sigue a la separación del

compuesto se determinó como que era el tiempo requerido para alcanzar la mitad de la recuperación de la tensión máxima (neutralización de la respuesta). A los 60 y 180 minutos después de la separación del antagonista se determinó el nivel de inhibición restante y se expresó como tanto por ciento de la referencia de isoproterenol.

Se obtuvieron curvas de concentración de antagonista-respuesta representando gráficamente los resultados de la relajación máxima a los 0, 60 y 180 min siguientes a la retirada del antagonista. La recuperación, denominada desplazamiento, se calculó a partir de la relación de la IC_{50} de la curva de inhibición a 0 min y la concentración de compuesto que produce una recuperación similar de la tensión a 60 y 180 minutos.

Los tiempos medios para el comienzo y la neutralización de la respuesta fueron representados frente a la concentración correspondiente y los datos obtenidos fueron ajustados con regresión no lineal. Estos valores fueron extrapolados a la IC_{50} (determinada de la curva de concentración de inhibición-respuesta) y designados Ot_{50} (el tiempo requerido, a la concentración de IC_{50} , para alcanzar la mitad de la respuesta del comienzo) y Rt_{50} (el tiempo requerido, a la concentración de IC_{50} , para alcanzar la mitad de la respuesta de recuperación).

20

Broncoconstricción inducida por metacolina – potencia y duración de acción

La sensibilidad de las vías respiratorias a la metacolina se determinó en ratones Balb C sin restricción alguna, despiertos ($n = 6$ cada grupo). Se utilizó pletismografía barométrica para medir la pausa mejorada (Penh), una medida sin unidad que ha sido indicada para correlacionarse con los cambios de resistencia de las vías respiratorias que tienen lugar durante el enfrentamiento bronquial con metacolina (2). Los ratones fueron tratados previamente con 50 μ l de compuesto (0,003-10 μ g/ratón) en 50 μ l de vehículo (DMSO al 10%), por vía intranasal (i.n.), y luego fueron colocados en la cámara del pletismógrafo un período de tiempo dado después de la administración del fármaco (15 min – 96 horas). Para la determinación de la potencia, se llevó a cabo una respuesta de dosis a un fármaco dado, y todas las medidas fueron tomadas 15 minutos después de la administración del fármaco por vía i.n.. Para determinar la duración de acción, se efectuaron medidas en todo momento desde 15 minutos a 96 horas después de la administración del fármaco por vía i.n.

36

Una vez en la cámara, se dejaron equilibrar los ratones durante 10 minutos antes de tomar una medida de Penh de la línea de base durante 5 minutos. Los ratones fueron enfrentados luego con un aerosol de metacolina (10 mg/ml) durante 2 minutos. Se registró continuamente la Penh durante 7 minutos a partir del comienzo del aerosol de metacolina y continuando durante 5 minutos más tarde. Los resultados obtenidos para cada ratón fueron analizados y registrados gráficamente usando el soporte lógico PRISM de GraphPad. Este experimento permite determinar la duración de actividad del compuesto administrado.

10 Los compuestos presentes son útiles para tratar una diversidad de indicaciones, que incluyen, aun cuando no se limitan a ellas, afecciones del tracto respiratorio tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, asma, obstrucción respiratoria crónica, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar y rinitis alérgica.

15

FORMULACIÓN-ADMINISTRACIÓN

Por consiguiente, la presente invención proporciona además una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvato o derivado fisiológicamente funcional (por ejemplo, sales y ésteres), farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, uno o más de otros ingredientes terapéuticos..

20 En lo sucesivo, en esta memoria, la expresión "ingrediente activo" significa un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvato o derivado fisiológicamente funcional, farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de fórmula (I) pueden ser administrados por inhalación a través de la boca o la nariz. Las composiciones de polvo seco para administración tópica al pulmón por inhalación, pueden presentarse, por ejemplo, en cápsulas y cartuchos de gelatina, por ejemplo, o blisters de, por ejemplo, hoja de aluminio laminado, para usar en un inhalador o insuflador. Las formulaciones de mezclas de polvos contienen, generalmente, una mezcla de polvos para inhalar el compuesto de la invención y una base de polvo adecuada (sustancia. vehículo/diluyente/excipiente) tal como mono-, di- o polisacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón), sales orgánicas o inorgánicas (por ejemplo, 30 cloruro de calcio, fosfato de calcio o cloruro de sodio), polialcoholes (por

ejemplo, manitol), o sus mezclas, alternativamente con uno o más materiales adicionales, incluyéndose tales aditivos en la formulación de la mezcla para mejorar la estabilidad química y/o física o el comportamiento de la formulación, según se discute más adelante, o sus mezclas. Se prefiere el uso de lactosa.

- 5 Cada cápsula o cartucho puede contener, generalmente, entre 20 μg – 10 mg del compuesto de fórmula (I), opcionalmente en mezcla con otro ingrediente terapéuticamente activo. Alternativamente, el compuesto de la invención puede presentarse sin excipientes, o puede configurarse en partículas que comprenden el compuesto, opcionalmente otros materiales terapéuticamente
- 10 activos y materiales que sirven de excipiente, tales como por precipitación conjunta o revestimiento.

- Adecuadamente, el distribuidor del medicamento es de un tipo seleccionado entre el grupo que consta de un inhalador de polvo seco de depósito, (reservoir dry powder inhaler) (RDPI), un inhalador de polvo seco
- 15 multidosis (multi-dose dry powder inhaler (MDPI) y un inhalador de dosis medidas (metered dose inhaler) (MDI).

- Por inhalador de polvo seco de depósito (RDPI) se entiende un inhalador que tiene un envase de forma de depósito adecuado para contener múltiples (dosis sin medir) de medicamento en forma de polvo seco y que incluye medios
- 20 para medir dosis de medicamento desde el depósito a una posición de distribución. Los medios de medida pueden comprender, por ejemplo, una copa medidora o una placa perforada, que puede moverse desde una primera posición donde la copa puede llenarse con medicamento procedente del depósito hasta una segunda posición en la que la dosis de medicamento
- 25 medida se hace disponible para inhalar por el paciente.

- Por inhalador de polvo seco multidosis (MDPI) se entiende un inhalador adecuado para dispensar medicamento en forma de polvo seco, en el que el medicamento está comprendido dentro de un envase multidosis que contiene (o transporta de otro modo) múltiples dosis definidas (o partes de las mismas) de
- 30 medicamento. En un aspecto preferido, el vehículo tiene la forma de un "blister pack", pero también podría comprender, por ejemplo, la forma de un envase a base de cápsulas o de un vehículo sobre el que haya sido aplicado el medicamento por cualquier procedimiento adecuado, incluyendo impresión, pintura y oclusión en vacío.

- 35 La formulación puede haber sido medida previamente (por ejemplo, como en Diskus, véase el documento GB 2242134 o Diskhaler, véanse los

documentos GB 2178965, 2129691 y 2169265) o medida al usar (por ejemplo como en el caso del Turbuhaler, véase el documento EP 69715). Un ejemplo de un dispositivo monodosis es el Rotahaler (véase el documento GB 2064336). El dispositivo de inhalación Diskus comprende una tira alargada formada a partir de una lámina de base que tiene una pluralidad de cavidades espaciadas a lo largo de su longitud y una lámina de tapa herméticamente cerrada adosada a ella pero desprendible, definiendo de este modo una pluralidad de recipientes, cada uno de los cuales contiene una formulación inhalable que comprende un compuesto de fórmula (I) preferiblemente mezclado con lactosa.

5

10 Preferiblemente, la tira es suficientemente flexible para ser arrollada en una bobina. La lámina de tapa y la lámina de base tienen, preferiblemente, partes finales de borde que no están herméticamente cerradas una con otra y al menos una de dichas partes finales de borde está construida para ser fijada a medios de arrollamiento. También, preferiblemente, el cierre hermético entre las

15 láminas de base y de tapa se extiende a lo largo de su anchura total. La lámina de tapa puede desprenderse preferiblemente de la lámina de base en una dirección longitudinal desde un primer extremo de dicha lámina de base.

En un aspecto, el envase multidosis es un "blister pack" que comprende múltiples blisters para contener el medicamento en forma de polvo seco. Los

20 blisters están dispuestos típicamente de un modo regular para facilitar la liberación de medicamento desde ellos.

En un aspecto, el "blister pack" multidosis comprende varios blisters dispuestos de modo generalmente circular sobre un "blister pack" de forma de disco. En otro aspecto, el "blister pack" multidosis tiene forma alargada,

25 comprendiendo, por ejemplo, una tira o una cinta.

Preferiblemente, el "blister pack" multidosis está definido entre dos miembros desprendibles asegurados uno a otro. Las patentes de EE.UU. Nos. 5.860.419, 5.873.360 y 5.590.645 describen envases de medicamentos de este tipo general. En este aspecto, el dispositivo de provee habitualmente de una

30 estación de apertura que comprende medios de desprendimiento para separar los miembros y tener acceso a cada dosis de medicamento. Adecuadamente, el dispositivo está adaptado para usar cuando los miembros desprendibles son láminas alargadas que definen una pluralidad de recipientes de medicamento espaciados a lo largo de su longitud, estando provisto el dispositivo de medios

35 de indización para indizar cada recipiente por turno. Más preferiblemente, el dispositivo está adaptado para usar cuando una de las láminas es una lámina

de base que tiene una pluralidad de cavidades en ella, y la otra de las láminas es una lámina de tapa, definiendo cada cavidad y la parte adyacente de la lámina de tapa uno de los recipientes respectivos, comprendiendo el dispositivo medios de conducción para separar la lámina de tapa y la lámina de base en la
5 estación de apertura.

Por inhalador de dosis medidas (MDI) se entiende un distribuidor de medicamento adecuado para dispensar medicamento en forma de aerosol, en el que el medicamento está incluido en un recipiente de aerosol adecuado para contener una formulación de medicamento en aerosol a base de un propulsor.
10 El recipiente de aerosol está provisto, típicamente, de una válvula dosificadora por ejemplo, una válvula deslizante, para liberar la formulación de medicamento en forma de aerosol haciéndola llegar al paciente. El recipiente de aerosol está diseñado, en general, para suministrar una dosis de medicamento previamente determinada en cada actuación por medio de la válvula, que puede abrirse o
15 bien presionando la válvula mientras el recipiente se mantiene estacionario o presionando el recipiente mientras la válvula se mantiene en estado estacionario.

Las composiciones de pulverización para hacer llegar tópicamente a los pulmones mediante inhalación pueden formularse, por ejemplo, como
20 soluciones o suspensiones acuosas o como aerosoles dispensados a partir de envases presurizados, tales como un inhalador de dosis medidas, con el uso un propulsor licuado adecuado. Las composiciones de aerosol adecuadas para inhalación, pueden ser o bien una suspensión o una solución y contienen, en general, el compuesto de fórmula (I), opcionalmente en mezcla con otro
25 ingrediente terapéuticamente activo y un propulsor adecuado tal como un fluorocarburo o un clorofluorocarburo que contiene hidrógeno, o sus mezclas, en particular hidrofluoroalcanos, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, en especial 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o una de sus mezclas.
30 También puede usarse como propulsor dióxido de carbono u otro gas adecuado. La composición de aerosol puede estar desprovista de excipientes o puede contener opcionalmente excipientes de la formulación adicionales bien conocidos en la técnica, tales como tensioactivos, por ejemplo ácido oleico o lecitina, y disolventes complementarios, por ejemplo, etanol. Las formulaciones
35 presurizadas están retenidas generalmente en un bote (por ejemplo, un bote de

aluminio) cerrado con una válvula (por ejemplo, una válvula dosificadora) ajustada a un accionador provisto de una boquilla.

Los medicamentos para administrar por inhalación poseen, deseablemente, un tamaño de partícula regulado. El tamaño de partícula aerodinámico óptimo para inhalación en el sistema bronquial para distribución localizada a los pulmones, es, habitualmente, 1 – 10 μm , preferiblemente 2 – 5 μm . El tamaño de partícula aerodinámico óptimo para inhalación en la región alveolar para conseguir una distribución sistémica a los pulmones es, aproximadamente, 0.5 – 3 μm , preferiblemente 1 – 3 μm . Las partículas que tienen un tamaño aerodinámico por encima de 20 μm son, por lo general, demasiado grandes cuando se inhalan para alcanzar las vías respiratorias pequeñas. El tamaño medio aerodinámico de las partículas de una formulación puede medirse, por ejemplo, por impacto en cascada. El tamaño medio geométrico de las partículas puede medirse, por ejemplo, por medios ópticos, por difracción de láser.

Para conseguir un tamaño de partícula deseado, las partículas del ingrediente activo tal como son producidas pueden hacerse disminuir de tamaño por medios convencionales, por ejemplo por cristalización controlada, micronización o nanomoladura. La fracción deseada puede ser separada por clasificación por aire. Alternativamente, partículas del tamaño deseado pueden ser producidas directamente, por ejemplo, mediante secado por pulverización, regulando los parámetros del secado por pulverización para generar partículas comprendidas dentro del intervalo de tamaños deseado. Preferiblemente, las partículas son cristalinas, aun cuando también puede emplearse material amorfo cuando sea deseable. Cuando se emplea un excipiente tal como lactosa, en general, el tamaño de partícula del excipiente es mucho mayor que el del medicamento inhalado, dentro de la presente invención, de modo que el excipiente "grueso" no es respirable. Cuando el excipiente es lactosa típicamente se encuentra presente como lactosa molida, en la que no más del 85% de las partículas de lactosa tienen un MMD de 60 – 90 μm y no menos del 15% tienen un MMD menor que 15 μm . Los materiales aditivos en una mezcla de polvos secos, además del excipiente, pueden ser o bien respirables, es decir, aerodinámicamente menores de 10 micrómetros, o bien no respirables, es decir, aerodinámicamente mayores de 10 micrómetros.

Los materiales aditivos adecuados que pueden emplearse incluyen aminoácidos, tales como leucina, tensioactivos naturales o sintéticos, solubles

en agua o insolubles en agua, tales como lecitina (por ejemplo, lecitina de soja) y ácidos grasos en estado sólido (por ejemplo, ácido láurico, palmítico y esteárico) y sus derivados (tales como sales y ésteres); fosfatidilcolinas; y
5 agentes para enmascarar el sabor (por ejemplo, sacarina), agentes antiestáticos, lubricantes (véase, por ejemplo, la solicitud de patente PCT publicada, No. WO 87/905213, cuyas enseñanzas se incorporan por referencia en esta memoria), estabilizadores químicos, tampones, agentes conservantes, mejoradores de la absorción y otros materiales conocidos por los expertos de
10 habilidad ordinaria en la materia.

Materiales de revestimiento para cesión prolongada (por ejemplo, ácido esteárico o polímeros, por ejemplo, polivinilpirrolidona, poliácido láctico) pueden emplearse también sobre un material activo o partículas que contienen el material activo (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. No. 3.634.582, y
15 de GB No. 1.230.087 y GB 1.381.872, cuyas enseñanzas se incorporan en esta memoria por referencia.

Las pulverizaciones intranasales pueden ser formuladas con vehículos acuosos o no acuosos, con la adición de agentes tales como agentes de espesamiento, y sales o ácidos o álcalis de tamponamiento para ajustar el pH,
20 agentes para ajustar la isotonicidad o anrioxidantes.

Las soluciones para inhalación por nebulización pueden formularse con un vehículo acuoso, con la adición de agentes tales como ácidos o álcalis, sales de tamponamiento, agentes para ajustar la isotonicidad o agentes antimicrobianos. Estas soluciones pueden ser esterilizadas por filtración o
25 calentamiento en autoclave, o presentadas como productos no estériles.

Las formulaciones de dosis unitarias preferidas son aquellas que contienen una dosis efectiva, como se ha indicado anteriormente en esta memoria, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.

En toda la memoria descriptiva y las reivindicaciones que figuran a
30 continuación, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprenden" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", han de entenderse que implica la inclusión de un número entero o etapa o grupo de número enteros fijo, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

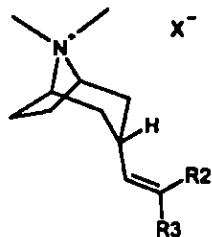
35 Todas las publicaciones, incluyendo pero no limitadas a patentes y solicitudes de patentes citadas en esta memoria descriptiva, se incorporan aquí

por referencia como si se indicara específica e individualmente que cada publicación individual era incorporada por referencia en esta memoria en su totalidad.

- La descripción anterior describe totalmente la invención incluyendo
- 5 realizaciones preferidas de la misma. Modificaciones y mejoras de las realizaciones específicamente descritas en esta memoria están dentro del alcance de las reivindicaciones siguientes. Sin otra elaboración, se piensa que los expertos en la técnica pueden, usando la descripción precedente, utilizar la presente invención en su máxima extensión. Por consiguiente, los Ejemplos que
- 10 figuran en esta memoria han de ser considerados como simplemente ilustrativos y no, en modo alguno, como una limitación del alcance de la presente invención. Las realizaciones de la invención en las que se reivindica una propiedad o privilegio exclusivos se definen como sigue.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Un compuesto según la Fórmula (I) que figura a continuación



(I)

en la que :

- R2 y R3 se seleccionan, independientemente, entre el grupo que consta de grupos alquilo inferior de cadena lineal o de cadena ramificada (que tienen preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono), grupos cicloalquilo (que tienen de 5 a 6 átomos de carbono) cicloalquil-alquilo (que tienen 6 a 10 átomos de carbono), 2-tienilo, 2-piridilo, fenilo, fenilo sustituido con un grupo alquilo que tiene no más de 4 átomos de carbono, y fenilo sustituido con un grupo alcoxi que tiene no más de 4 átomos de carbono; y
- 15 X⁻ representa un anión asociado con la carga positiva del átomo de N; de modo que el compuesto está en forma de sal cuaternaria

2.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que la orientación de la cadena de alquilo unida al anillo de tropano es endo.

- 3.- Un compuesto según la reivindicación 2 seleccionado entre el grupo que consta de:

- 20 Bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tienileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- 4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- 25 bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabicyclo - [3.2.1]octano; y
- bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabicyclo - [3.2.1]octano.

4.- Un compuesto según la reivindicación 3, en la que X^- se selecciona entre el grupo que consta de cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bencenosulfonato y toluenosulfonato.

5.- Una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades que cursan con mediación de receptores muscarínicos de la acetilcolina, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

6.- Un método de inhibición de la unión de acetilcolina a sus receptores en un mamífero necesitado de ello, que comprende administrar una cantidad segura y eficaz de un compuesto según la reivindicación 1.

7.- Un método de tratamiento de una enfermedad que cursa con mediación de receptores muscarínicos de la acetilcolina, en que la acetilcolina se une a dicho receptor, que comprende administrar una cantidad segura y eficaz de un compuesto según la reivindicación 1.

8.- Un método según la reivindicación 7, en el que la enfermedad está seleccionada entre el grupo que consta de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, asma, obstrucción respiratoria crónica, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar y rinitis alérgica.

9.- Un método según la reivindicación 7, en el que la administración es mediante inhalación a través de la boca o la nariz.

10.- Un método según la reivindicación 7, en el que la administración es mediante un dispensador seleccionado entre un inhalador de polvo seco de depósito, un inhalador de polvo seco multidosis o un inhalador de dosis medidas.

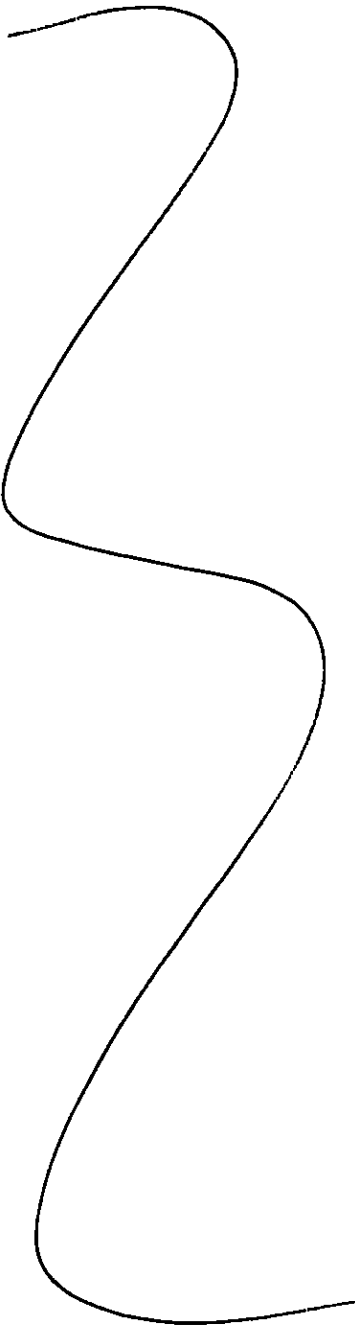
11.- Un método según la reivindicación 7, en el que el compuesto se administra a un ser humano y tiene una duración de acción de 12 horas o más para una dosis de 1 mg.

12.- Un método según la reivindicación 11, en el que el compuesto tiene una duración de acción de 24 horas o más.

13.- Un método según la reivindicación 12, en el que el compuesto tiene una duración de acción de 36 horas o más

RESUMEN

Se proporcionan antagonistas de receptores muscarínicos de la
5 acetilcolina y métodos de uso de los mismos.



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PU60398	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US04/22947	International filing date (day/month/year) 16 July 2004 (16.07.2004)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 17 July 2003 (17.07.2003)
Applicant GLAXO GROUP LIMITED		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 2 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant.



as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.



as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/22947

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 31/46; C07D 451/02

US CL : 514/304; 546/124, 125

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)

U.S. : 514/304; 546/124, 125

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 practicable, search terms used)
CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Database CAOLD on STN(Columbus, OH, USA), No. CA58:4510b, '3-substituted tropane derivatives-(III) 3-substituted tropane carbinol, alkenes, and alkanes', abstract, Zirkle et al., Vol. 58, 1963.	1-13
X	US 2,800,478 A (Zirkle) 23 July 1957, lines 19-28, column 2.	1-13

☐ 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	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to undermine the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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
"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

08 December 2004 (08.12.2004)

Date of mailing of the international search report

27 DEC 2004

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Ba K. Trinh

Telephone No. (571)272-0600

DEBORAH A. THOMAS
PARALEGAL SPECIALIST

GROUP 1800

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓ MODELO DE UTILIDAD	()	() ✓
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	() ✓
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	() ✓
- Descripción de la invención.	()	() ✓
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	() ✓
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	() ✓
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable:

Fecha:

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXO GROUP LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	6 505
	Solicitud internacional	US2004//022947
	Fecha inicio fase nacional	17/02/2006
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	2653

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. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. El solicitante debe aclarar si la solicitud corresponde al capítulo I o II del PCT por que la indicación en el petitorio no corresponde a los documentos del expediente, en caso necesario adjuntar los documentos que corresponden.

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 Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 03 MAR. 2006
jramos