

2



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

P.C.T.
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 EXPEDIENTE No. 06-508

54 TÍTULO Antagonista de receptores muscarínicos de la acetilcolina

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 31/46, C07D451/02, A61M/0
A61K9/14

71 SOLICITANTE Glaxo Group Limited

DOMICILIO Glaxo Wellcome House, Beckley Avenue,
Greenford, Huddersley UB6 0NW, Inglaterra

74 APODERADO Carlos E. Ojeda

22 BOGOTÁ, D. C., Enero 4- de 2006

55

OLARTERAISBECK


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Indicación: DESCUPO 00000000 Folios: 42
Fecha (IMP): 2006-01-04 09:28:16
Frente: 011 PCT-PATENT 379 (ASE NAC) 411 PRESENTAC
Dependencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

2006-02-17 ✓

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☒

Capítulo II. Ver folio #45

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: GLAXO GROUP LIMITED

Dirección: Glaxo Wellcome House, Berkeley
Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

Lugar de Constitución: INGLATERRA

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747 Bta
TP 74.295

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/023042

Fecha Julio 16, 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/009440

Fecha Febrero 3, 2005

6

**Título (54) ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DE LA
ACETILCOLINA**

7

Clasificación Internacional (51) A61K 31/46, C07D 451/02, A61P 11/00, AG1 K9/L4

8

Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Julio 17, 2003

(31) Número de Solicitud

60/488,061

9

Comprobante de pago No. 06-511

Fecha

Enero 4, 2006

29

10

ANEX S

- ☒ 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. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Bta T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES PCT/US2004/023042**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
Radicación : 0500500 00000000 Folios: 42
Fecha (AMD): 2006-01-04 09:28:16
Tramite : 011 PLI-PATENT 379 FASE NNCI 411 PRESENCIAL
Dependencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2



RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 511
FECHA : ENERO 4 DE 2006

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	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

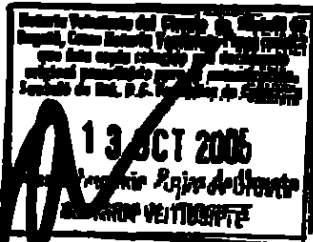
APOSTILLA

(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.

Marlén Neira C

Marlén 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,

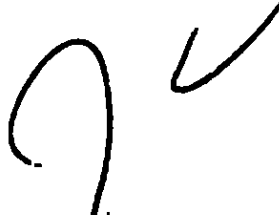
CERTIFICO:

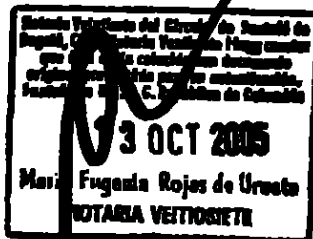
QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada "**GLAXO GROUP LIMITED**", Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, 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 suficientemente 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 trece de agosto del año dos mil tres.


JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



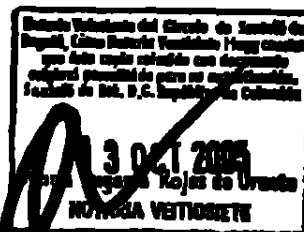
APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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/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/num No **G229474**

9. Stamp:
timbre:
10. Signature: J. Garbrah



[Handwritten signature]

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,

Glaxo Group Limited

domiciliado en

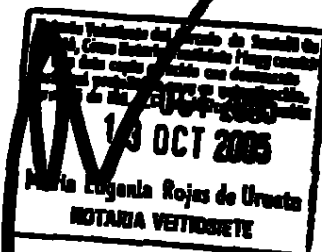
por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, 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, desistír 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 2005/009440 A1

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

(21) International Application Number:
PCT/US2004/023042

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60488,061 17 July 2003 (17.07.2003) US

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BELMONTE, Kri-
sten, 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,
Dumaine [FR/US]; 709 Swedeland Road, King of Prussia,
PA 19406 (US). PALOVICH, Michael, R.; 709 Swede-
land Road, King of Prussia, PA 19406 (US).

(74) Agents: SIMON, Soma, G. et al.; Glaxosmithkline,
Corporate Intellectual Property, UW2220, 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): AR, AG, AL, AM,
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, SI, 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 2005/009440 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 3-substituted-8-azoniabicyclo[3.2.1]octanes ,
5 pharmaceutical compositions, and uses 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),
incorporated herein by reference.

In the lungs, mAChRs have been localized to smooth muscle in the trachea
and bronchi, the submucosal glands, and the parasympathetic ganglia. Muscarinic
25 receptor density is greatest in parasympathetic ganglia and then decreases in density
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).

30 Three subtypes of mAChRs have been identified as important in the lungs,
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,
10 neuronal M₂ mAChRs provide tight control of acetylcholine release from 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
15 function to enhance neurotransmission. These receptors have also been localized to 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
20 obstructive pulmonary disease (COPD), inflammatory conditions lead to loss of 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
25 hyperresponsiveness mediated by increased stimulation of M₃ mAChRs. Thus the 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
30 is a major cause of mortality and morbidity in the world. Smoking is the major risk 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), incorporated herein by reference.

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-
10 cholinergic marketed for the treatment of airway hyperreactive diseases. While this 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
15 the United States. Thus, there remains a need for novel compounds that are capable 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
20 apply anti-cholinergics locally and/or topically to the respiratory tract is particularly 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-
25 cholinergic use.

SUMMARY OF THE INVENTION

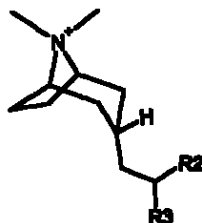
 This invention provides for a method of treating a muscarinic acetylcholine
30 receptor (mAChR) mediated disease, wherein acetylcholine binds to an M₃ mAChR and which method comprises administering an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

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 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)

wherein 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
20 having not in excess of 4 carbon atoms.

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

- 25 Illustrative examples of this invention include
(3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethyl)-8,8-dimethyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane bromide;
and

(3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane 4-methylbenzenesulfonate.

METHODS OF PREPARATION

5

The compounds of Formula (I) may be obtained by applying synthetic procedures well known in the art as described in the patent US2800478 incorporated herein in its entirety by reference.

10

SYNTHETIC EXAMPLES

The above synthetic examples in this invention are referenced to the examples described in the patent US2800478, incorporated herein in its entirety by reference.

15

BIOLOGICAL EXAMPLES

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:

20

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 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.

- 5 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.

15

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.

25

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

- Tracheae were removed from adult male Hartley 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, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0 and dextrose 11.0. which was gassed with 95% O₂:

5% CO₂ 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 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 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 μ M 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 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 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 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) 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 μ M) for the duration of the experiment. Upon reaching a sustained contraction isoproterenol (10

uM) 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 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 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 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 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 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

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.

20

FORMULATION-ADMINISTRATION

Accordingly, the present invention further provides a pharmaceutical¹ 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.

30

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
 10 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.
 15 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
 20 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,
 25 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
 30 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
5 herein).

Intranasal sprays may be formulated with aqueous or non-aqueous vehicles 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
10 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 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.
15

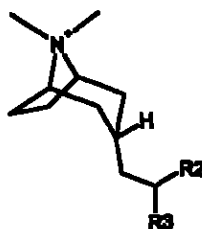
Throughout the specification and the claims which follow, unless the context requires otherwise, the word 'comprise', and variations such as 'comprises' and 'comprising', will be understood to imply the inclusion of a stated integer or step or group of integers but not to the exclusion of any other integer or step or group of
20 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 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
25 embodiments thereof. Modifications and improvements of the embodiments specifically disclosed herein are within the scope of the following claims. Without 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
30 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)

- 5 wherein R1 is selected from the group consisting of straight or branched chain lower alkyl group having from 1 to 6 carbon atoms;
R2 and R3 are, independently, selected from the group consisting of straight or branched chain lower alkyl groups(having 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
10 X⁻ represents an anion associated with the positive charge of the N atom.
- 15 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-diphenylethyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane bromide;
20 and
(3-*endo*)-3-(2,2-diphenylethyl)-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octane 4-methylbenzenesulfonate;
4. A compound according to claim 1 wherein X⁻ is selected from the group
25 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.
- 5 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,
10 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,
15 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.
20
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.
- 25 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 dose of up to 1 mg.
12. A method according to claim 11 wherein the compound has a duration of action of 24 hours or more.
30
13. A method according to claim 12 wherein the compound has a duration of action of 36 hours or more.

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS DE LA ACETILCOLINA**CAMPO DE LA INVENCION**

Esta invención se refiere a 8-azoniabicio[3.2.1]octanos sustituidos en la posición 3, a composiciones farmacéuticas, y a sus usos para tratar enfermedades del tracto respiratorio mediadas por los receptores muscarínicos de la acetilcolina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La acetilcolina liberada desde las neuronas colinérgicas en los sistemas nerviosos periférico y central afecta a muchos procesos biológicos diferentes a través de la interacción con dos clases principales de receptores de acetilcolina – los receptores nicotínicos y los receptores muscarínicos de la acetilcolina. Los receptores muscarínicos de la acetilcolina (mAChRs) pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G que tienen siete dominios transmembranales. Hay cinco subtipos de mAChRs, denominados M₁-M₅, y cada uno es el producto de un gen distinto. Cada uno de estos cinco subtipos presenta propiedades farmacológicas únicas. Los receptores muscarínicos de la acetilcolina están ampliamente distribuidos en órganos vertebrados en los que median muchas de las funciones vitales. Los receptores muscarínicos pueden mediar tanto en las acciones inhibitorias como en las excitadoras. Por ejemplo, en el músculo liso que se encuentra en las vías respiratorias, los mAChRs M₃ median en las respuestas contráctiles. Para revisión, véase por favor Caulfield (1993 *Pharmac. Ther.* 58: 319-79), incorporado aquí como referencia.

En los pulmones, se han localizado los mAChRs en el músculo liso de la tráquea y de los bronquios, en las glándulas submucosales, y en los ganglios parasimpáticos. La densidad de los receptores muscarínicos es máxima en los ganglios parasimpáticos y después disminuye en densidad desde las glándulas submucosales hasta el músculo liso traqueal y después hasta el músculo liso bronquial. Los receptores muscarínicos están casi ausentes de los alveolos. Para revisión de la expresión y función del mAChR en los pulmones, véase por favor Fryer and Jacoby (1998 *Am J Respir Crit Care Med* 158 (5, pt 3) S 154-60).

Se han identificado tres subtipos de mAChRs como importantes en los pulmones, mAChRs M₁, M₂ y M₃. Los mAChRs M₃, localizados en el músculo liso de las vías respiratorias, median en la contracción muscular. La estimulación de los mAChRs M₃ activa la enzima fosfolipasa C mediante la unión de la proteína G estimuladora Gq/11 (Gs), llevando a la liberación de inositol-4,5-bisfosfato de fosfatidilo, dando como resultado la fosforilación de las proteínas contráctiles. Se han encontrado también los mAChRs M₃ sobre las glándulas submucosales pulmonares. La estimulación de esta población de mAChRs M₃ da como resultado la secreción de mucus.

Los mAChRs M_2 representan aproximadamente hasta 50-80 % de la población de receptores colinérgicos sobre los músculos lisos de las vías respiratorias. Aunque la función precisa es todavía desconocida, inhiben la relajación catecolaminérgica del músculo liso de las vías respiratorias mediante la inhibición de la generación de cAMP.

- 5 Los mAChRs M_2 neuronales están localizados sobre los nervios parasimpáticos postgangliónicos. En condiciones fisiológicas normales, los mAChRs M_2 neuronales proporcionan un estrecho control de la liberación de acetilcolina desde los nervios parasimpáticos. Los mAChRs M_2 inhibidores han sido demostrados también sobre los nervios simpáticos en los pulmones de algunas especies. Estos receptores inhiben la liberación de noradrenalina, reduciendo de este modo el aporte simpático a los pulmones.

Los mAChRs M_1 se encuentran en los ganglios parasimpáticos pulmonares en los que funcionan para mejorar la neurotransmisión. Estos receptores han sido localizados también en el parénquima pulmonar periférico, pero su función en el parénquima es desconocida.

- 15 La disfunción de los receptores muscarínicos de la acetilcolina en los pulmones ha sido observada en una variedad de diferentes estados patofisiológicos. En particular, en el asma y en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), las condiciones inflamatorias llevan a la pérdida de la función inhibitoria del autorreceptor muscarínico M_2 de la acetilcolina sobre los nervios parasimpáticos que abastecen al músculo
- 20 liso pulmonar, causando un aumento de la liberación de acetilcolina que sigue a la estimulación del nervio vago (Fryer *et al.* 1999 *Life Sci* 64 (6-7) 449-55). Esta disfunción del mAChR da como resultado la hiperreactividad e hipersensibilidad de las vías respiratorias mediadas por el aumento de la estimulación de los mAChRs M_3 . Por tanto la identificación de antagonistas potentes de mAChR debería ser útil para usarlos como
- 25 agentes terapéuticos en estas enfermedades mediadas por el mAChR.

- COPD es un término impreciso que engloba una variedad de problemas progresivos de salud que incluyen la bronquitis crónica, la bronquiolitis crónica y el enfisema, y es una causa importante de mortalidad y morbilidad en el mundo. Fumar es el principal factor de riesgo para el desarrollo de COPD; casi 50 millones de personas,
- 30 sólo en los Estados Unidos, fuman cigarrillos, y un estimado de 3.000 personas adquieren el hábito diariamente. Como resultado, se espera que la COPD ocupe un puesto entre los cinco primeros problemas de salud en todo el mundo hacia el año 2020. La terapia anti-colinérgica inhalada se considera actualmente el "estándar de oro" como terapia de primera línea para la COPD (Pauwels *et al.* 2001 *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163:1256-1276), incorporada aquí como referencia.
- 35

A pesar de los grandes indicios que apoyan el uso de la terapia anti-colinérgica para el tratamiento de las enfermedades hiperreactivas de las vías respiratorias, hay relativamente pocos compuestos anti-colinérgicos disponibles para uso en la clínica para las indicaciones pulmonares. Más específicamente, en Estados Unidos, el bromuro de ipratropio (Atrovent[®] y Combivent[®], en combinación con albuterol) es actualmente el único anti-colinérgico inhalado comercializado para el tratamiento de las enfermedades hiperreactivas de las vías respiratorias. Aunque este compuesto es un potente agente anti-muscarínico, es de acción corta, y por tanto debe ser administrado tantas como cuatro veces al día para proporcionar alivio al paciente de COPD. En Europa y Asia, el anti-colinérgico de acción prolongada bromuro de tiotropio (Spiriva[®]) ha sido aprobado recientemente, pero este producto no está actualmente disponible en los Estados Unidos. Por tanto, sigue existiendo la necesidad de nuevos compuestos que sean capaces de causar el bloqueo en los mAChRs, que sean de acción prolongada y puedan ser administrados una vez al día, para el tratamiento de las enfermedades hiperreactivas de las vías respiratorias tales como el asma y la COPD.

Puesto que los mAChRs están ampliamente distribuidos por el cuerpo, la capacidad de aplicar anti-colinérgicos localmente y/o tópicamente al tracto respiratorio es particularmente ventajosa, ya que podría permitir que se utilizaran dosis más bajas del fármaco. Además, la capacidad de diseñar fármacos activos tópicamente que tengan una duración de acción prolongada, y en particular, que sean retenidos ya sea en el receptor o por el pulmón, permitiría evitar los efectos secundarios indeseados que se pueden ver con el uso sistémico de los anti-colinérgicos.

SUMARIO DE LA INVENCION

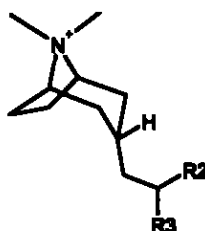
Esta invención proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por un receptor muscarínico de la acetilcolina (mAChR), en el que la acetilcolina se une a un mAChR M₃ y cuyo método comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Esta invención se refiere también a un método para inhibir la unión de la acetilcolina a sus receptores en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I).

La presente invención proporciona también los compuestos de la fórmula (I), y composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I), y un vehículo o diluyente farmacéutico.

Los compuestos según esta invención tienen la estructura mostrada por la fórmula (I):

- 4 -



(I)

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

- 5 R2 y R3 se seleccionan, independientemente, del grupo constituido por grupos alquilo inferiores de cadena lineal o 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 tiene 6 a 10 átomos de carbono, 2-tienilo, 2-piridilo, fenilo, fenilo sustituido con un grupo alquilo que no tiene más de 4 átomos de carbono y fenilo susti-
- 10 tuido con un grupo alcoxi que no tiene más de 4 átomos de carbono.

X⁻ representa un anión asociado con la carga positiva del átomo de N. X⁻ puede ser, pero sin limitarse a ellos, cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bencenosulfonato, toluenosulfonato.

Ejemplos ilustrativos de esta invención incluyen

- 15 bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano; y
- 4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

- 20 Los compuestos de la fórmula (I) se pueden obtener aplicando procedimientos sintéticos bien conocidos en la técnica como se describe en la patente US2800478 incorporada aquí en su totalidad como referencia.

EJEMPLOS SINTÉTICOS

- 25 Los anteriores ejemplos sintéticos de esta invención hacen referencia a los ejemplos descritos en la patente US2800478, incorporada aquí en su totalidad como referencia.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Los efectos inhibidores de los compuestos en el mAChR M₃ de la presente invención se determinan por los siguientes ensayos funcionales *in vitro* e *in vivo*:

- 30 Análisis de la Inhibición de la activación del receptor mediante la movilización del calcio:

Se analizó la estimulación de los mAChRs expresados en células CHO haciendo seguimiento de la movilización del calcio activada por el receptor como se ha des-

crítico previamente (H. M. Sarau *et al*, 1999. *Mol. Pharmacol.* 56, 657-663). Las células CHO que expresan establemente los mAChRs M₃ se colocaron en placas de paredes negras y fondo claro de 96 pocillos. Después de 18 a 24 horas, se aspiró el medio y se reemplazó con 100 µl de medio de carga (EMEM con sales de Earl, seroalbúmina bovina (BSA) de grado RIA al 0,1% (Sigma, St. Louis MO), y el colorante indicador fluorescente éster de Fluo-3-acetoximetilo 4 µM (Fluo-3 AM, Molecular Probes, Eugene, OR) y se incubó 1 hora a 37 °C. Se aspiró entonces el medio que contiene el colorante, se reemplazó con medio fresco (sin Fluo-3 AM), y se incubaron las células durante 10 minutos a 37 °C. Se lavaron después las células 3 veces y se incubaron durante 10 minutos a 37 °C en 100 µl de tampón de ensayo (gelatina al 0,1 % (Sigma), 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 20 mM (pH 7,4)). Se añadieron 50 µl de compuesto (concentración final en el ensayo 1x10⁻¹¹ – 1x10⁻⁵ M) y se incubaron las placas durante 10 minutos a 37 °C. Se colocaron después las placas en un lector de intensidad de luz fluorescente en placas (FLIPR, Molecular Probes) en el que las células cargadas con colorante se expusieron a la luz de excitación (488 nm) desde un láser de argón de 6 vatios. Se activaron las células añadiendo 50 µl de acetilcolina (final 0,1-10 nM), preparada en tampón que contiene BSA al 0,1%, a una velocidad de 50 µl/segundo. La movilización del calcio, monitorizada como el cambio en la concentración del calcio citosólico, se midió como el cambio en la intensidad de emisión a 566 nm. El cambio en la intensidad de emisión está directamente relacionado con los niveles del calcio citosólico. La fluorescencia emitida desde los 96 pocillos se mide simultáneamente usando una cámara CCD enfriada. Se recogen puntos de datos cada segundo. Estos datos se representan después gráficamente y se analizan usando el software Graph-Pad PRISM.

Ensayos de unión del receptor muscarínico a un radioligando

Los estudios de unión a un radioligando empleando [³H]-N-metil-escopolamina (NMS) 0,5 nM en un formato SPA (ensayo de centelleo por proximidad) se usan para evaluar la unión de los antagonistas muscarínicos de los receptores muscarínicos M₁, M₂, M₃, M₄ y M₅ de la acetilcolina. En una placa de 96 pocillos, las perlas SPA se preincubaban con la membrana que contiene el receptor durante 30 minutos a 4 °C. Después se añaden HEPES 50 mM y el compuesto de ensayo y se incubaba a temperatura ambiente (con agitación) durante 2 horas. Las perlas se separan por movimiento giratorio y se cuentan usando un contador de centelleo.

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

Se separaron las tráqueas de cobayas machos adultos Hartely (Charles River, Raleigh, NC; 400-600 gramos) y se colocaron en una solución de Krebs-Henseleit modificada. La composición de la solución fue (mM): NaCl 113,0, KCl 4,8, CaCl₂ 2,5, KH₂PO₄ 1,2, MgSO₄ 1,2, NaHCO₃ 25,0 y dextrosa 11,0, la cual se gasificó con O₂ al 95 %:CO₂ al 5 % y se mantuvo a 37 °C. Se limpió cada tráquea de tejido adherente y se abrió longitudinalmente. Se separó el epitelio frotando suavemente la superficie luminal con un aplicador con la punta de algodón. Se cortaron tiras individuales, aproximadamente de 2 anillos de cartilago de ancho, y se suspendieron mediante una sutura de seda en baños de órganos de 10 ml con camisa de agua, que contenían solución de Krebs-Henseleit y se conectaron a los transductores de desplazamiento de fuerza Grass FT03C. Se registraron las respuestas mecánicas isométricamente mediante el sistema de adquisición de datos MP100WS/Acknowledge (BIOPAC Systems, Goleta, CA, www.biopac.com) puesto en marcha en ordenadores Apple G4. Se equilibraron los tejidos a una tensión de reposo de 1,5 g, que se determinó que era óptima mediante la evaluación de la tensión longitudinal, y se lavaron con solución de Krebs-Henseleit cada 15 minutos durante una hora. Después del periodo de equilibrio, se contrajeron los tejidos pulmonares con carbacol 10 uM hasta alcanzar una meseta, que sirvió como la contracción de referencia para el análisis de los datos. Se enjuagaron entonces los tejidos cada 15 minutos a lo largo de 1 hora hasta alcanzar el tono de la línea base. Se dejaron entonces las preparaciones durante al menos 30 minutos antes del comienzo del experimento.

Se obtuvieron las curvas concentración-respuesta mediante la adición acumulativa de carbacol en incrementos semi-logarítmicos (Van Rossum, 1963, Arch. Int. Pharmacodyn., 143: 299), iniciados a 1 nM. Se dejó cada concentración en contacto con la preparación hasta la respuesta de la meseta antes de la adición de la siguiente concentración de carbacol. Los tejidos se expusieron por parejas a los compuestos antagonistas de mAChR o al vehículo durante 30 minutos antes de que se generaran las curvas acumulativas concentración-respuesta del carbacol. Todos los datos se dan como la media $\pm$ error estándar de la media (s.e.m.) siendo *n* el número de los diferentes animales.

Para los estudios de superfusión (duración de acción), se superfundieron continuamente los tejidos con solución de Krebs-Henseleit a 2 ml/min durante la duración del experimento. Las soluciones stock del agonista y antagonista se perfundieron (0,02 ml/min) mediante una aguja de calibre 22 insertada en el tubo de superfusión. Las respuestas mecánicas se registraron isométricamente usando un sistema de adquisición de datos comercialmente disponible (MP100WS/Acknowledge; BIOPAC Systems, Go-

leta, CA, www.biopac.com) en interfase con un ordenador Macintosh G4 (Apple, Cupertino, CA www.apple.com). Se suspendieron los tejidos bajo una tensión óptima de reposo de 1,5 g. Después de un periodo de equilibrio de 60 min, se contrajeron los tejidos con carbacol (1 μ M) durante la duración del experimento. Después de alcanzar una contracción sostenida se administró isoproterenol (10 μ M) para relajar al máximo el tejido, y este cambio sirvió como referencia. Se interrumpió la exposición a isoproterenol y se dejó que se recuperara la tensión inducida por el carbacol. Se perfundieron los antagonistas de los receptores muscarínicos a una única concentración por tejido hasta que se alcanzó un nivel sostenido de inhibición. Se separó entonces el compuesto, y una vez más, se dejó que se recuperara la tensión inducida por el carbacol.

Se determinaron los siguientes parámetros 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 porcentaje de la respuesta de referencia (isoproterenol) y se midió el tiempo requerido para alcanzar la mitad de esta relajación (comienzo de la respuesta). Se determinó la recuperación de la tensión después de la separación del compuesto que fue el tiempo requerido para alcanzar la mitad de la recuperación de la tensión máxima (cese de la respuesta). A los 60 y 180 minutos después de la separación del antagonista se determinó el nivel restante de inhibición y se expresó como porcentaje del isoproterenol de referencia.

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

Los semitiempos para el comienzo y final de la respuesta se representaron gráficamente frente a la correspondiente concentración y se ajustaron los datos con regresión no lineal. Estos valores se extrapolaron a la IC_{50} (determinada a partir de la curva de inhibición concentración-respuesta) y se designaron Ot_{50} (tiempo requerido, a la concentración IC_{50} , para alcanzar la mitad del comienzo de la respuesta) y Rt_{50} (tiempo requerido, a la concentración IC_{50} , para alcanzar la mitad de la recuperación de la respuesta).

Broncoconstricción Inducida por metacolina – potencia y duración de acción

Se determinó la capacidad de respuesta de las vías respiratorias a la metacolina en ratones Balb C despiertos, libres ($n = 6$ cada grupo). Se usó la pletismografía barométrica para medir el aumento de la pausa (Penh), una medida sin unidades que

se ha demostrado que se correlaciona con los cambios en la resistencia de las vías respiratorias que tienen lugar durante el enfrentamiento bronquial con metacolina(2). Se pre-trataron los ratones con 50 µl de compuesto (0,003-10 µg/ratón) en 50 µl de vehículo (DMSO al 10 %) intranasalmente (i.n.) y después se colocaron en la cámara de pletismografía durante un tiempo dado después de la administración del fármaco (15 min – 96 h). Para la determinación de potencia, se realizó una dosis-respuesta para un fármaco dado, y se tomaron todas las medidas 15 min después de la administración i.n. del fármaco. Durante la determinación de la duración de acción, se tomaron medidas en cualquier momento desde 15 min a 96 horas después de la administración i.n. del fármaco.

Una vez en la cámara, se dejó que los ratones se equilibraran durante 10 min antes de tomar una medida de Penh en la línea base durante 5 minutos. Se enfrentaron entonces los ratones con un aerosol de metacolina (10 mg/ml) durante 2 minutos. Se registró el Penh continuamente durante 7 min empezando en la inyección del aerosol de metacolina, y continuando durante 5 minutos después. Se analizaron los datos para cada ratón y se representaron gráficamente usando el software GraphPad PRISM. Este experimento permite la determinación de la duración de la actividad del compuesto administrado.

Los presentes compuestos son útiles para tratar una variedad de indicaciones, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, trastornos del tracto respiratorio tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, asma, obstrucción respiratoria crónica, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar, y rinitis alérgica.

FORMULACIÓN-ADMINISTRACIÓN

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

De aquí en adelante, el término "ingrediente activo" significa un compuesto de la fórmula (I), o una de sus sales, solvatos, o derivados fisiológicamente funcionales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la fórmula (I) se administrarán por inhalación por vía bucal o nasal.

Las composiciones de polvo seco para administración tópica al pulmón por inhalación se pueden presentar, por ejemplo, en cápsulas y cartuchos, por ejemplo de gelatina, o en blisters por ejemplo de láminas de aluminio, para uso en un inhalador o

insuflador. Las formulaciones de mezcla de polvos, generalmente contienen una mezcla de polvos para inhalación del compuesto de la invención y una base de polvo adecuada (sustancia vehículo/diluyente/excipiente) tal como mono-, di- o poli-sacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón), sales orgánicas o inorgánicas (por ejemplo, cloruro de calcio, fosfato de calcio o cloruro de sodio), polialcoholes (por ejemplo, manitol), o sus mezclas, alternativamente con uno o más materiales adicionales, siendo incluidos tales aditivos en la formulación de la mezcla para mejorar la estabilidad química y/o física o las características de la formulación, como se discute más adelante, o sus mezclas. Se prefiere el uso de la lactosa. Cada cápsula o cartucho puede contener generalmente entre 20 µg-10 mg del compuesto de la fórmula (I) opcionalmente en combinación con otro ingrediente terapéuticamente activo. Alternativamente, el compuesto de la invención puede estar presente sin excipientes, o puede estar en forma de partículas que comprenden el compuesto, opcionalmente otros materiales terapéuticamente activos, y materiales excipientes, tal como por co-precipitación o recubrimiento.

De manera adecuada, el dispensador del medicamento es de un tipo seleccionado del grupo constituido por un inhalador de polvo seco con reservorio (RDPI), un inhalador de polvo seco multi-dosis (MDPI), y un inhalador de dosis medida (MDI).

Por inhalador de polvo seco con reservorio (RDPI) se quiere decir un inhalador que tiene un envase en forma de reservorio adecuado para comprender múltiples dosis (dosis no-medidas) de medicamento en forma de polvo seco y que incluye medios para medir la dosis del medicamento desde el reservorio hasta una posición de dispensación. Los medios de medida de la dosis pueden comprender, por ejemplo, una copa o placa perforada de dosificación, que es movable desde una primera posición en la que la copa se puede llenar con medicamento desde el reservorio hasta una segunda posición en la que la dosis del medicamento medida se hace disponible para el paciente para inhalación.

Por inhalador de polvo seco multi-dosis (MDPI) se quiere decir un inhalador adecuado para dispensar un medicamento en forma de polvo seco, en el que el medicamento está comprendido dentro de un envase multi-dosis que contiene (o que lleva de otra manera) dosis (o partes de ellas) múltiples, definidas, de medicamento. En un aspecto preferido, el portador tiene una forma de envase en blíster, pero podría también, por ejemplo, comprender una forma de envase basado en una cápsula o un portador sobre el que se ha aplicado el medicamento por cualquier procedimiento adecuado incluyendo impresión, pintura y oclusión al vacío.

La formulación puede ser pre-dosificada (como, por ejemplo, en Diskus, véase GB 2242134 o Diskhaler, véanse GB 2178985, 2129891 y 2189285) o dosificada en uso (como, por ejemplo, en Turbuhaler, véase EP 69715). Un ejemplo de un dispositivo de dosis unitaria es Rotahaler (véase GB 2084338). El dispositivo de inhalación

5 Diskus comprende una tira alargada formada a partir de una hoja base que tiene una pluralidad de huecos espaciados por toda su longitud y una hoja tapa sellada herméticamente pero despegable para definir una pluralidad de receptáculos, teniendo cada receptáculo una formulación inhalable que contiene un compuesto de la fórmula (I) preferiblemente combinado con lactosa. Preferiblemente, la tira es suficientemente

10 flexible para poder ser enrollada. La hoja tapa y la hoja base tendrán preferiblemente porciones finales conductoras que no se sellan una a la otra y al menos una de las dichas porciones finales conductoras está hecha para ser unida a un medio de rebobinado. También, preferiblemente el sellado hermético entre las hojas base y tapa se extiende sobre su anchura total. La hoja tapa puede ser despegada preferiblemente de

15 la hoja base en una dirección longitudinal desde un primer extremo de dicha hoja base.

En un aspecto, el envase multi-dosis es un envase blíster que comprende múltiples blísters para contener el medicamento en forma de polvo seco. Los blísters se ordenan típicamente de forma regular para facilitar la liberación del medicamento desde ellos.

20

En un aspecto, el envase blíster multi-dosis comprende blísters plurales ordenados en forma generalmente circular en un envase blíster en forma de disco. En otro aspecto, el envase blíster multi-dosis es de forma alargada, por ejemplo comprendiendo una tira o cinta.

25 Preferiblemente, el envase blíster multi-dosis está delimitado entre dos miembros despegables asegurados uno a otro. Las patentes de Estados Unidos Nos. 5.880.419, 5.873.380 y 5.590.645 describen envases de medicamentos de este tipo general. En este aspecto, el dispositivo se proporciona usualmente con una estación de abertura que comprende medios para despegar y separar los miembros para acceder a cada dosis de medicamento. De forma adecuada, el dispositivo se adapta para

30 uso en el que los miembros despegables son hojas alargadas que definen una pluralidad de receptáculos de medicamentos espaciados por toda su longitud, siendo proporcionado el dispositivo con medios para indexar cada receptáculo por orden. Más preferiblemente, el dispositivo se adapta para uso en el que una de las hojas es una

35 hoja base que tiene una pluralidad de bolsas en ella, y la otra hoja es una hoja tapa, definiendo cada bolsa y la parte adyacente de la hoja tapa un receptáculo particular,

comprendiendo el dispositivo medios conductores para tirar de la hoja tapa y separar la hoja base en la estación de abertura.

Por inhalador de dosis medida (MDI), se quiere decir un dispensador de un medicamento adecuado para dispensar un medicamento en forma de aerosol, en el que el medicamento está comprendido en un recipiente de aerosol adecuado para contener una formulación de un medicamento en aerosol basado en un propelente. El recipiente de aerosol se proporciona típicamente con una válvula de dosificación, por ejemplo una válvula deslizante, para la liberación de la formulación del medicamento en forma de aerosol al paciente. El recipiente de aerosol generalmente está diseñado para dispensar una dosis predeterminada de medicamento después de cada actuación por medio de la válvula, que se puede abrir o bien deprimiendo la válvula mientras que se mantiene fijo el recipiente o bien deprimiendo el recipiente mientras que se mantiene fija la válvula.

Las composiciones en pulverización para administración tópica al pulmón por inhalación pueden ser formuladas, por ejemplo, como soluciones o suspensiones acuosas o como aerosoles dispensados desde envases presurizados, tales como un inhalador de dosis medidas, con el uso de un adecuado propelente licuado. Las composiciones en aerosol adecuadas para inhalación pueden ser o bien una suspensión o bien una solución y generalmente contienen el compuesto de la fórmula (I) opcionalmente en combinación con otro ingrediente terapéuticamente activo y un propelente adecuado tal como un fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o sus mezclas, particularmente hidrofluoroalcanos, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetra-fluoroetano, especialmente 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o una de sus mezclas. También se puede usar como propelente dióxido de carbono u otro gas adecuado. La composición en aerosol puede estar libre de excipientes o puede contener opcionalmente excipientes de formulación adicionales bien conocidos en la técnica tales como tensioactivos, por ejemplo ácido oleico o lecitina y codisolventes por ejemplo etanol. Las formulaciones presurizadas generalmente serán mantenidas en un bote (por ejemplo un bote de aluminio) cerrado con una válvula (por ejemplo una válvula de dosificación) y ajustado dentro de un impulsor provisto con una boquilla.

Los medicamentos para administración por inhalación tienen deseablemente un tamaño de partícula controlado. El tamaño de partícula aerodinámico óptimo para inhalación dentro del sistema bronquial para la dispensación localizada al pulmón es usualmente 1-10 μm , preferiblemente 2-5 μm . El tamaño de partícula aerodinámico óptimo para inhalación dentro de la región alveolar para alcanzar la dispensación sis-

témica al pulmón es aproximadamente 5-3 μm , preferiblemente 1-3 μm . Las partículas que tienen un tamaño aerodinámico por encima de 20 μm generalmente son demasiado grandes cuando se inhalan para alcanzar las vías respiratorias pequeñas. El tamaño de partícula aerodinámico medio de una formulación se puede medir, por ejemplo por impacto en cascada. El tamaño de partícula geométrico medio se puede medir, por ejemplo por difracción de láser, medios ópticos.

Para conseguir un tamaño de partícula deseado, las partículas del ingrediente activo cuando se producen se pueden reducir de tamaño por medios convencionales por ejemplo por cristalización controlada, micronización o nanomolienda. La fracción deseada se puede separar por clasificación aérea. Alternativamente, las partículas del tamaño deseado se pueden producir directamente, por ejemplo secando con pulverización, controlando los parámetros del secado con pulverización para generar partículas del intervalo de tamaño deseado. Preferiblemente, las partículas serán cristalinas, aunque también se puede emplear material amorfo cuando sea deseable. Cuando se emplea un excipiente tal como lactosa, generalmente, el tamaño de partícula del excipiente será mucho más grande que el medicamento inhalado dentro de la presente invención, de tal modo que el vehículo "grueso" no es respirable. Cuando el excipiente es lactosa estará típicamente presente como lactosa molida, en la que no más del 85 % de las partículas de lactosa tendrán un MMD de 60-90 μm y no menos del 15 % tendrán un MMD menor que 15 μm . Los materiales aditivos en una mezcla de polvo seco en adición al vehículo pueden ser o bien respirables, esto es, aerodinámicamente menores que 10 micras, o bien no-respirables, esto es, aerodinámicamente mayores que 10 micras.

Los materiales aditivos adecuados que se pueden emplear 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, ácidos láurico, palmítico, y esteárico) y sus derivados (tales como sales y ésteres); fosfatidilcolinas; ésteres de azúcar. Los materiales aditivos pueden incluir también colorantes, agentes enmascaradores del sabor (por ejemplo, sacarina), agentes anti-estáticos, lubricantes (véase, por ejemplo, la solicitud de patente PCT publicada No. WO 87/905213, cuyos hallazgos se incorporan aquí como referencia), estabilizantes químicos, tampones, conservantes, mejoradores de la absorción, y otros materiales conocidos por las personas con experiencia normal.

Los materiales de recubrimiento para liberación sostenida (por ejemplo, ácido esteárico o polímeros, por ejemplo polivinilpirrolidona, poli(ácido láctico)) se pueden emplear también sobre material activo o partículas que contienen el material activo

(véanse, por ejemplo, las patentes Nos. US 3.634.582, GB 1.230.087, GB 1.381.872, cuyos hallazgos se incorporan aquí como referencia).

Las pulverizaciones intranasales se pueden formular con vehículos acuosos o no acuosos con la adición de agentes tales como agentes espesantes, sales tampón o ácidos o álcalis para ajustar el pH, agentes para ajustar la isotonicidad o anti-oxidantes.

Las soluciones para inhalación por nebulización se pueden formular con un vehículo acuoso con la adición de agentes tales como ácidos o álcalis, sales tampón, agentes para ajustar la isotonicidad o antimicrobianos. Se pueden esterilizar por filtración o por calentamiento en un autoclave, o se pueden presentar como un producto no estéril.

Las formulaciones de dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis eficaz, como se ha indicado aquí antes, o una apropiada fracción de la misma, del ingrediente activo.

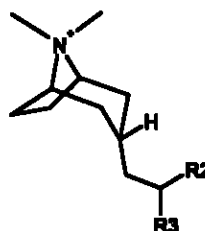
A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra 'comprenden', y variaciones tales como 'comprende' y 'comprender', se deberán entender como que implican la inclusión de un número entero o un intervalo o grupo de números enteros establecidos, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o intervalo o grupo de números enteros o intervalos.

Todas las publicaciones, incluyendo, pero sin limitarse a ellas, las patentes y solicitudes de patentes citadas en esta memoria descriptiva, se incorporan aquí como referencia, como si cada publicación individual hubiera sido específica e individualmente indicada para ser incorporada aquí como referencia, como totalmente publicada.

La descripción anterior describe completamente la invención incluyendo las realizaciones preferidas de la misma. Las modificaciones y mejoras de las realizaciones específicamente descritas aquí están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones. Sin elaboración adicional, se cree que, utilizando la precedente descripción, un experto en la técnica puede utilizar la presente invención en toda su extensión. Por tanto los ejemplos aquí deben ser considerados como meramente ilustrativos y no una limitación del alcance de la presente invención en ningún modo. Las realizaciones de la invención en las que se reivindica una propiedad o privilegio exclusivo se definen como sigue.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto según la fórmula (I) que sigue:



(I)

- 5 en la que R1 se selecciona del grupo constituido por el grupo de alquilo inferior de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;
R2 y R3 se seleccionan, independientemente, del grupo constituido por grupos alquilos inferiores de cadena lineal o ramificada (que tienen de 1 a 6 átomos de carbono), grupos cicloalquilos (que tienen de 5 a 6 átomos de carbono), cicloalquil-alquilo (que tiene
10 6 a 10 átomos de carbono), 2-tienilo, 2-piridilo, fenilo, fenilo sustituido con un grupo alquilo que no tiene más de 4 átomos de carbono y fenilo sustituido con un grupo alcoxi que no tiene más de 4 átomos de carbono; y
X⁻ representa un anión asociado con la carga positiva del átomo de N.
2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que la orientación de la cadena alquilica unida al anillo de tropano es *endo*.
- 15 3. Un compuesto según la reivindicación 2, seleccionado del grupo constituido por:
bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletíl)-8,8-dimetil-8-azoniabicciclo[3.2.1]octano; y
4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletíl)-8,8-dimetil-8-azoniabicciclo-
20 [3.2.1]octano.
4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que X⁻ se selecciona del grupo constituido por cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bencenosulfonato y toluenosulfonato.
5. Una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades mediadas por los receptores muscarínicos de la acetilcolina, que comprende un compuesto
25 según la reivindicación 1 y un vehículo del mismo farmacéuticamente aceptable.
6. Un método para inhibir la unión de la acetilcolina a sus receptores en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar una cantidad segura y eficaz de un compuesto según la reivindicación 1.
- 30 7. Un método para tratar una enfermedad mediada por un receptor muscarínico de la acetilcolina, en el 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 se selecciona del grupo constituido por la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, asma, obstrucción respiratoria crónica, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar y rinitis alérgica.

5 9. Un método según la reivindicación 7, en el que la administración es por inhalación por vía bucal o nasal.

10 10. Un método según la reivindicación 7, en el que la administración es mediante un dispensador de medicamento seleccionado entre un inhalador de polvo seco con reservorio, un inhalador de polvo seco multi-dosis o un inhalador de dosis medida.

10 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 hasta 1 mg.

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

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

41

RESUMEN

Se proporcionan antagonistas de los receptores muscarínicos de la acetilcolina y métodos para usarlos.

42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US04/23042												
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., Volume 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.														
<table><tr><td>* Special categories of cited documents.</td><td>"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.</td></tr><tr><td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td><td>"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</td></tr><tr><td>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</td><td>"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</td></tr><tr><td>"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)</td><td>"&" document member of the same patent family</td></tr><tr><td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td><td></td></tr><tr><td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td><td></td></tr></table>			* Special categories of cited documents.	"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.	"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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	"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)	"&" document member of the same patent family	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
* Special categories of cited documents.	"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.													
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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													
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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													
"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)	"&" document member of the same patent family													
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means														
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search 09 December 2004 (09.12.2004)		Date of mailing of the international search report 28 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 1300 DCT												

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

44

Bogotá,
2020

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

REFERENCIA	Radicación No.	6 508
	Solicitud internacional	PCT/US2004/023042
	Fecha inicio fase nacional	17/02/2006
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	2655

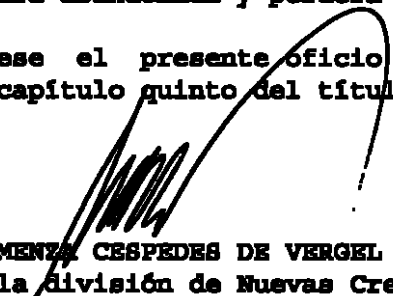
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se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