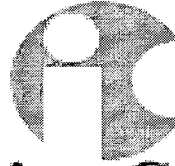




No. 14-117694- -00000-0000

Fecha: 2014-05-30 16:28:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

TM TAMAYO
PATENTS · TRADEMARKS



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE:

PATENTE DE INVENCION

PCT FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO: **MODULADORES NO COMPETITIVOS DE RECEPTORES NICOTÍNICOS**

71. SOLICITANTE : **TARGACEPT, INC.**

DOMICILIO: **Winston-Salem, Carolina del Norte, USA**

74.- APODERADO: **JOHAN SEBASTIAN GOMEZ VILLA**

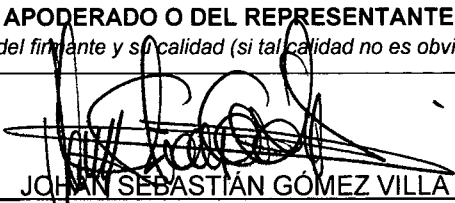
22.- **Bogotá, MAYO 30 DE 2014**

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 14-117694- -00000-0000 Fecha: 2014-05-30 16:28:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 7	ción
--	--	------

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/062940	Fecha 2012/11/01
Publicación Internacional No.		WO 2013/067105 A2	Fecha 2013/05/10
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
MODULADORES NO COMPETITIVOS DE RECEPTORES NICOTÍNICOS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
1. TARGACEPT, INC		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN EXTRANJERAS
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		100 North Main Street, Suite 1510, Winston-Salem, NC 27101-4072	No. TELÉFONO
CIUDAD		Winston-Salem	CORREO ELECTRÓNICO
DEPARTAMENTO/ESTADO		CALIFORNIA DEL NORTE	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN
PAÍS DE RESIDENCIA		USA	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
1. AKIREDDY		Srinivasa Rao	US
2. SPEAKE		Jason	US
3. BHATTI		Bahwinder Singh	US
4. YOHANNES		Daniel	US
5. GENUS		John	US
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
1. USA		Carolina del Norte	Winston-Salem
2. USA		Carolina del Norte	Winston-Salem
3. USA		Carolina del Norte	Winston-Salem
4. USA		Carolina del Norte	Winston-Salem
5. USA		Carolina del Norte	Winston-Salem
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☒ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
GÓMEZ VILLA		Johan Sebastian	C.C. 9868640 T.P. 202.892
DIRECCIÓN		Cra. 13 A No. 28-38 Ofc. 230 MZ 2 PARQUE BAVARIA	No. TELÉFONO 3 419841
CIUDAD		BOGOTÁ D.C.	CORREO ELECTRÓNICO consultas@tmtamayo.net
PAÍS		COLOMBIA	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL

HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PCT				
1	(12) TIPO DE SOLICITUD		NUMERO DE RADICACIÓN	
☒ Patente de invención			FECHA DE PRESENTACIÓN	
☐ Patente de Modelo de Utilidad				
4	(71) SOLICITANTE (S)			
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2.				
3.				
4.				
5	DATOS DEL SOLICITANTE			
PAÍS DE RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2.				
3.				
4.				
TELÉFONO		FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
2.				
3.				
4.				
6	(72) INVENTOR (ES)			
APELLIDOS		NOMBRE	NACIONALIDAD	
6. XIAO		Yunde	US	
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
7	DATOS INVENTOR (ES)			
DIRECCIÓN		CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6. 2079 WATERFORD VILLAGE DRIVE, CLEMMONS, NC 27012		Clemmons	Carolina del Norte	USA
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
9	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD			
PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA (AAAA/MM/DD)
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. USA		US	61/554,998	2011/11/03
2.				
3.				
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐				
Universidades públicas o privadas ☐				
Entidades sin ánimo de lucro ☐				
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO		N° 14-0055078	Fecha 26-05-2014
	COMPROBANTE POR REIVINDICACIÓN ADICIONAL A 10		No 14-0055079	Fecha 26-05-2014
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
				
JOHAN SEBASTIÁN GÓMEZ VILLA (Apoderado)				
17	ANEXOS			
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica		
1. ☒ Descripción N° de folios: 100		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 13		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 00		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas		
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas		
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		
8. ☒ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.		
		Universidades públicas o privadas		
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación		
		Entidades sin ánimo de lucro		
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.		
		☐ Hoja de información complementaria.		
		☐ Otros, especificar		
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0055078

Bogotá D.C., Mayo 26 de 2014 - 12:49:33

RECIBIDO DE : TM TAMAYO Y ASOCIADOS LTDA

NI 830.091.650

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	610540265	26/05/2014	737.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			<u>\$515.000.00</u>

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-117694-00000-0000

Fecha: 2014-05-30 16:28:09

Tra. 11 PATENTE I/II

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR. NUEVAS CR

Eve: 378 FASE NACIONAL I

Folios: 7

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

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

Mayo 26 de 2014 - 12:49:33

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0055079

Bogotá D.C., Mayo 26 de 2014 - 12:49:33

RECIBIDO DE : TM TAMAYO Y ASOCIADOS LTDA

NI 830.091.650

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	610540265	26/05/2014	737.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
3 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	93.000.00
			\$93.000.00

SON: **NOVENTA Y TRES MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-117694- -00000-0000

Fecha: 2014-05-30 16:28:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

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

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

Mayo 26 de 2014 - 12:49:33

Folio 6, el cd anexo contiene 7 archivos en formato PDF/TIFF, los cuales fueron procesados correctamente.



No. 14-117694-00000-0000

Fecha: 2014-05-30 16:28:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO ☐

Art 33 Decisión 486/00

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

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

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

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

FIX, Amy H.
P.O. Box 7037
Atlanta, Georgia 30357
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 08 April 2014 (08.04.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference T1032940WO	
International application No. PCT/US2012/062940	International filing date (day/month/year) 01 November 2012 (01.11.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☒ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☒ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address YOHANNES, Daniel 1211 W. 4th Street Winston-Salem, NC 27101 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 has been added as applicant and inventor for all designated States.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Carrié Christine e-mail pt04.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 04
---	---

Facsimile No. +41 22 338 89 95

Form PCT/IB/306 (January 2009)

1/G2VLXF9S2ASSU0

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

FIX AMY H.

P.O. BOX 7037 ATLANTA GA 30357 USA

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year) 12 MARCH 2013 (12.03.2013)

Applicant's or agent's file reference

T1032940WO

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/US2012/062940

International filing date
(day/month/year)

01 NOVEMBER 2012 (01.11.2012)

Applicant

TARGACEPT, INC. et al

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: +41 22 338 82 70

For more detailed instructions, see *PCT Applicant's Guide*, International Phase, paragraphs 9.004 . 9.011.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ **With regard to any protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:**
☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with any request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. Following the expiration of 30 months from the priority date, these comments will also be made available to the public.

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau before the completion of the technical preparations for international publication (Rules 90bis.1 and 90bis.3).

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

For details about the applicable time limits, Office by Office, see www.wipo.int/pct/en/texts/time_limits.html and the PCT Applicant's Guide, National Chapters.

Name and mailing address of the ISA/KR



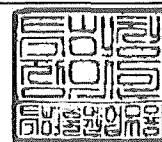
Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan
City, 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

COMMISSIONER

Telephone No. 82-42-481-8755



* Attention

Copies of the documents cited in the international search report can be searched in the following Korean Intellectual Property Office English website for three months from the date of mailing of the international search report.

<http://www.kipo.go.kr/en/> => PCT Services => PCT Services

ID : PCT international application number

PW : **FZ8YT9VX**

Inquiries related to PCT International Search Report or Written Opinion prepared by KIPO as an International Searching Authority can be answered not only by KIPO but also through IPKC (Intellectual Property Korea Center), located in Vienna, VA, which functions as a PCT Help Desk for PCT applicants.

Homepage: <http://www.ipkcenter.com>

Email: ipkc@ipkcenter.com

Phone: +1 703 388 1066

Fax: +1 703 388 1084

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference T1032940WO	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2012/062940	International filing date (<i>day/month/year</i>) 01 NOVEMBER 2012 (01.11.2012)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 03 NOVEMBER 2011 (03.11.2011)
Applicant TARGACEPT, INC. et al		

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

This international search report consists of a total of 4 sheets.

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

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

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

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

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

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

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

6. With regard to the drawings,

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

☐ as suggested by the applicant.

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

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/062940

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

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

1. ☒ Claims Nos.: 7-8
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 7-8 pertain to methods for treatment of the human by therapy, as well as diagnostic method, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☒ Claims Nos.: 8, 10
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 8, 10 are unsearchable because they are worded in reference to multiple dependent claims.
3. ☒ Claims Nos.: 4-7, 9, 11-13
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/062940**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER***C07C 211/16(2006.01)i, A61K 31/13(2006.01)i, A61P 25/24(2006.01)i, A61P 9/12(2006.01)i*

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)

C07C 211/16; A61K 31/13; C07C 211/41; A61K 31/40; C07D 209/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models

Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: nicotinic receptor, 4,7-methano-1H-inden-3a-amine

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 3290215 A (GEORGE LEVITT et al.) 06 December 1966 See claim 1; and example 3.	1-2
X	US 3317387 A (WILLIAM W. PRICHARD et al.) 02 May 1967 See claims 1, 7; and example XI.	1-2
X	WO 03-080046 A1 (MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA et al.) 02 October 2003 See claims 1-8; and examples.	1-3
PX	WO 2011-149862 A1 (TARGACEPT, INC. et al.) 01 December 2011 See the abstract; and calims 1-4.	1-3



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 MARCH 2013 (11.03.2013)

Date of mailing of the international search report

12 MARCH 2013 (12.03.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan
City, 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

KIM, Jong Ho

Telephone No. 042 481 8657



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2012/062940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3290215 A	06.12.1966	None	
US 3317387 A	02.05.1967	None	
WO 03-080046 A1	02.10.2003	AR 039008 A1	02.02.2005
		AU 2003-216855 B2	18.08.2005
		CA 2474637 A1	02.10.2003
		CN 1638762 A	13.07.2005
		CN 1638762 C0	13.07.2005
		CO 5611104 A1	28.02.2006
		CO 5611104 A2	28.02.2006
		EP 1485086 A1	15.12.2004
		GE P20063954 B	25.10.2006
		IL 164041 D0	18.12.2005
		JP 04262606 B2	13.05.2009
		JP 2005-525385 A	25.08.2005
		JP 2005-525385 T	25.08.2005
		KR 10-0741257 B1	19.07.2007
		MX PA04007755 A	15.10.2004
		NO 20044481 A	20.10.2004
		PL 372701 A1	25.07.2005
		UA 77778 C2	15.12.2004
		WO 03-080046 A1	02.10.2003
		ZA 200406940 A	22.09.2005
WO 2011-149862 A1	01.12.2011	WO 2011-149859 A1	01.12.2011

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
FIX AMY H.

P.O. BOX 7037 ATLANTA GA 30357 USA

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) **12 MARCH 2013 (12.03.2013)**

Applicant's or agent's file reference
T1032940WO

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/US2012/062940

International filing date (day/month/year)

01 NOVEMBER 2012 (01.11.2012)

Priority date(day/month/year)

03 NOVEMBER 2011 (03.11.2011)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

C07C 211/16(2006.01)i, A61K 31/13(2006.01)i, A61P 25/24(2006.01)i, A61P 9/12(2006.01)i

Applicant

TARGACEPT, INC. et al

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☒ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.
For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon
Metropolitan City, 302-701,
Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140



Date of completion of this opinion

11 MARCH 2013 (11.03.2013)

Authorized officer

KIM, Jong Ho

Telephone No.042 481 8657



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2012/062940

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of :
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43*bis*.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of:
 - a. a sequence listing filed or furnished
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. time of filing or furnishing
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US2012/062940

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 4-13

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 7-8

relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

The subject-matter of claims 7-8 does not require an opinion with respect to industrial applicability as it is directed to a method of treatment (Rules 43 bis.1(b), Rule 67.1 (iv)).

☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 8, 10
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

Claims 8, 10 are unsearchable because they are worded in reference to multiple dependent claims.

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 4-13

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

☐ See Supplemental Box for further details.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US2012/062940

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	3	YES
	Claims	1-2	NO
Inventive step (IS)	Claims	NONE	YES
	Claims	1-3	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-3	YES
	Claims	NONE	NO

2. Citations and explanations :

Reference is made to the following documents:

D1: US 3290215 A (GEORGE LEVITT et al.) 06 December 1966

D2: US 3317387 A (WILLIAM W. PRICHARD et al.) 02 May 1967

D3: WO 03-080046 A1 (MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA et al.) 02 October 2003

The present invention relates to compounds that modulate nicotinic receptors as non-competitive antagonists, their use and pharmaceutical compositions.

1. Novelty and Inventive Step

1.1. Novelty

Document D1 and D2 disclose individual compounds which are prejudicial to the novelty of present claims 1, 2 (see D1, claim 1 and example 3; D2, claim 7 and example XI). The claims neither contribute any new element to the technical teaching according to D1 or D2, nor there exists a reasoned statement in the prior art document dissuading the person skilled in the art from practising the technical teaching of D1 or D2 in the range of overlap.

Thus claims 1, 2 in the present invention do not meet the requirements of PCT Article 33(2).

1.2. Inventive Step

Document D3, which is considered to represent the closest state of the art, discloses azabicyclic, azatricyclic, azaspirocyclic aminocyclohexane derivatives of formula I which act as neuronal nicotinic receptor antagonists (see D3, claims 1-8 and examples). The difference between the present compounds of claims 1-3 and the compounds disclosed by D3 is the fact that the present compounds have 4,7-methano-1H-inden-3amine directly undisclosed by D3.

The problem to be solved by the present invention in view of the cited prior art is to provide alternative nicotinic receptor antagonist. Moreover, the replacement of the substituents is commonly made in the field of pharmaceutical chemistry or treatment for a disease mediated by
<Continued on Supplemental Box>

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2012/062940

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 43bis.1 and 70.10)

<u>Application No. Patent No.</u>	<u>Publication date (day/month/year)</u>	<u>Filing date (day/month/year)</u>	<u>Priority date (valid claim) (day/month/year)</u>
P,X PCT/US2011/037634	01/12/2011	24/05/2011	27/05/2010

Application No. PCT/US2011/037634(publication No. WO 2011/149862 A1) does not constitute prior art within the meaning of PCT Rule 64.3, but appears to disclose all the features of claims 1-3.

2. Non-written disclosures (Rule 43bis.1 and 70.9)

<u>Kind of non-written disclosure</u>	<u>Date of non-written disclosure (day/month/year)</u>	<u>Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)</u>

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US2012/062940

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Claims 4-7, 9, 11-13 do not comply with PCT Rule 6.4 (a), because multiple dependent claims should not serve as a basis for any other multiple dependent claims.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US2012/062940

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.
Continuation of:

Box V

a neuronal nicotinic receptor, and the skilled person would be motivated to contemplate modifying the azabicyclic, azatricyclic, azaspirocyclic aminocyclohexane derivatives of D3 in the claimed manner with a reasonable expectation to thereby arrive at further nicotinic receptor antagonists.

To show the inventive step of the novel subject matter, the applicant needs to prove a significantly improved effect of the novel compounds based on the comparative test. However, the present application does not show that the claimed compounds have any unexpected and beneficial effects compared with those of D3.

Therefore, the subject matter of claims 1-3 does not meet the requirements of inventive step under PCT Article 33(3).

2. Industrial Applicability

The subject matter of claims 1-3 of the present application appears to be industrially applicable under PCT Article 33(4).

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 May 2013 (10.05.2013)

(10) International Publication Number
WO 2013/067105 A2

- (51) International Patent Classification: Not classified
- (21) International Application Number:
PCT/US2012/062940
- (22) International Filing Date:
1 November 2012 (01.11.2012)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61/554,998 3 November 2011 (03.11.2011) US
- (71) Applicant: TARGACEPT, INC. [US/US]; 200 East First Street, Suite 300, Winston-Salem, North Carolina 27707 (US).
- (72) Inventor; and
- (71) Applicant : AKIREDDY, Srinivasa Rao [US/US]; 5829 Fox Point Circle, Winston-Salem, North Carolina 27104 (US).
- (74) Agent: FIX, Amy H.; P.O. Box 7037, Atlanta, Georgia 30357 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

Declarations under Rule 4.17:

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

Published:

- without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

(54) Title: NICOTINIC RECEPTOR NON-COMPETITIVE MODULATORS

(57) Abstract: The present invention relates to compounds that modulate nicotinic receptors as non-competitive antagonists, methods for their synthesis, methods for use, and their pharmaceutical compositions.



WO 2013/067105 A2

NICOTINIC RECEPTOR NON-COMPETITIVE MODULATORS

Field of the Invention

The present invention relates to compounds that modulate nicotinic receptors as non-competitive modulators (e.g., non-competitive antagonists),
5 methods for their synthesis, methods for use, and their pharmaceutical compositions.

Background of the Invention

Nicotinic receptors are targets for a great number of exogenous and endogenous compounds that allosterically modulate their function. See,
10 Arias, H. R., Binding sites for exogenous and endogenous non-competitive inhibitors of the nicotinic acetylcholine receptor, *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Biomembranes* 1376: 173–220 (1998) and Arias, H. R., Bhumireddy, P., Anesthetics as chemical tools to study the structure and function of nicotinic acetylcholine receptors, *Current Protein & Peptide*
15 *Science* 6: 451–472 (2005). The function of nicotinic receptors can be decreased or blocked by structurally different compounds called non-competitive modulators, including non-competitive antagonists (reviewed by Arias, H.R., Bhumireddy, P., Bouzat, C., Molecular mechanisms and binding site locations for noncompetitive antagonists of nicotinic acetylcholine
20 receptors. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38: 1254–1276 (2006)).

Non-competitive modulators comprise a wide range of structurally different compounds that inhibit receptor function by acting at a site or sites different from the orthosteric binding site. Receptor modulation has proved to
25 be highly complex. The mechanisms of action and binding affinities of non-competitive modulators differ among nicotinic receptor subtypes (Arias et al., 2006). Non-competitive modulators may act by at least two different mechanisms: an allosteric and/or a steric mechanism.

An allosteric antagonist mechanism involves the binding of a non-competitive antagonist to the receptor and stabilization of a non-conducting conformational state, namely, a resting or desensitized state, and/or an increase in the receptor desensitization rate.

In contrast, a straightforward representation of a steric mechanism is that an antagonist molecule physically blocks the ion channel. Such
35 antagonists may be termed non-competitive channel modulators (NCMs). Some inhibit the receptors by binding within the pore when the receptor is in the open state, thereby physically blocking ion permeation. While some act

only as pure open-channel blockers, others block both open and closed channels. Such antagonists inhibit ion flux through a mechanism that does not involve binding at the orthosteric sites.

Barbiturates, dissociative anesthetics, antidepressants, and certain
5 steroids have been shown to inhibit nicotinic receptors by allosteric mechanisms, including open and closed channel blockade. Studies of barbiturates support a model whereby binding occurs to both open and closed states of the receptors, resulting in blockade of the flow of ions. See, Dilger, J. P., Boguslavsky, R., Barann, M., Katz, T., Vidal, A. M., Mechanisms of
10 barbiturate inhibition of acetylcholine receptor channels, *Journal General Physiology* 109: 401–414 (1997). Although the inhibitory action of local anesthetics on nerve conduction is primarily mediated by blocking voltage-gated sodium channels, nicotinic receptors are also targets of local anesthetics. See, Arias, H. R., Role of local anesthetics on both cholinergic
15 and serotonergic ionotropic receptors, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23: 817–843 (1999) and Arias, H. R. & Blanton, M. P., Molecular and physicochemical aspects of local anesthetics acting on nicotinic acetylcholine receptor-containing membranes, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 2: 385–410 (2002).

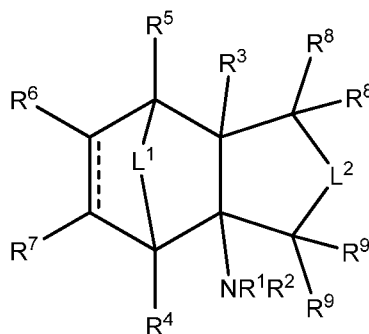
For example, tetracaine binds to the receptor channels preferentially
20 in the resting state. Dissociative anesthetics inhibit several neuronal-type nicotinic receptors in clinical concentration ranges, with examples such as phencyclidine (PCP) (Connolly, J., Boulter, J., & Heinemann, S. F., Alpha 4-beta 2 and other nicotinic acetylcholine receptor subtypes as targets of
25 psychoactive and addictive drugs, *British Journal of Pharmacology* 105: 657–666 (1992)), ketamine (Flood, P. & Krasowski M. D., Intravenous anesthetics differentially modulate ligand-gated ion channels, *Anesthesiology* 92: 1418–1425 (2000); and Ho, K. K. & Flood, P., Single amino acid residue in the extracellular portion of transmembrane segment 2 in the nicotinic $\alpha 7$
30 acetylcholine receptor modulates sensitivity to ketamine, *Anesthesiology* 100: 657–662 (2004)), and dizocilpine (Krasowski, M. D., & Harrison, N. L., General anaesthetic actions on ligand-gated ion channels, *Cellular and Molecular Life Sciences* 55: 1278–1303 (1999)). Studies indicate that the dissociative anesthetics bind to a single or overlapping sites in the resting ion
35 channel, and suggest that the ketamine/PCP locus partially overlaps the tetracaine binding site in the receptor channel. Dizocilpine, also known as MK-801, is a dissociative anesthetic and anticonvulsant which also acts as a

non-competitive antagonist at different nicotinic receptors. Dizocilpine is reported to be an open-channel blocker of $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic receptors. See, Buisson, B., & Bertrand, D., Open-channel blockers at the human $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor, *Molecular Pharmacology* 53: 555–563 (1998).

In addition to their well-known actions on monoamine and serotonin reuptake systems, antidepressants have also been shown to modulate nicotinic receptors. Early studies showed that tricyclic antidepressants act as non-competitive antagonists. See, Gumilar, F., Arias, H.R., Spitzmaul, G., Bouzat, C., Molecular mechanisms of inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by tricyclic antidepressants. *Neuropharmacology* 45: 964-76 (2003). García-Colunga et al., report that fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), inhibits membrane currents elicited by activation of muscle or neuronal nicotinic receptors in a non-competitive manner; either by increasing the rate of desensitization and/or by inducing channel blockade. See, García-Colunga, J., Awad, J. N., & Miledi, R., Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac), *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 2041–2044 (1997); and García-Colunga, J., Vazquez-Gomez, E., & Miledi, R., Combined actions of zinc and fluoxetine on nicotinic acetylcholine receptors, *The Pharmacogenomics Journal* 4: 388–393 (2004). Mecamylamine, previously approved for the treatment of hypertension, is a classical non-competitive nicotinic receptor antagonist, and is also well known to inhibit receptor function by blocking the ion channel. See, Giniatullin, R.A., Sokolova, E.M., Di Angelantonio, S., Skorinkin, A., Talantova, M.V., Nistri, A. Rapid Relief of Block by Mecamylamine of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors of Rat Chromaffin Cells In Vitro: An Electrophysiological and Modeling Study. *Molecular Pharmacology* 58: **778-787** (2000).

Summary of the Invention

The present invention includes compounds of Formula I:



Formula I

wherein

each of R^1 and R^2 individually is H, C_{1-6} alkyl, or aryl-substituted C_{1-6} alkyl, or R^1 and R^2 combine with the nitrogen atom to which they are attached to form a 3- to 8-membered ring, which ring may be optionally substituted with C_{1-6} alkyl, aryl, C_{1-6} alkoxy, or aryloxy substituents;

R^3 is H, C_{1-6} alkyl, hydroxyl-substituted C_{1-6} alkyl, or C_{1-6} alkoxy-substituted C_{1-6} alkyl;

each of R^4 , R^5 , R^6 , and R^7 individually is H, C_{1-6} alkyl, or C_{1-6} alkoxy;
 each R^8 individually is H, C_{1-6} alkyl, or C_{1-6} alkoxy;
 each R^9 individually is H, C_{1-6} alkyl, or C_{1-6} alkoxy;
 each L^1 and L^2 individually is a linker species selected from the group consisting of $CR^{10}R^{11}$, $CR^{10}R^{11}CR^{12}R^{13}$, and O;
 each of R^{10} , R^{11} , R^{12} , and R^{13} individually is hydrogen or C_{1-6} alkyl;
 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present invention includes pharmaceutical compositions comprising a compound of the present invention or a pharmaceutically acceptable salt thereof. The pharmaceutical compositions of the present invention can be used for treating or preventing a wide variety of conditions or disorders, and particularly those disorders characterized by dysfunction of nicotinic cholinergic neurotransmission or the degeneration of the nicotinic cholinergic neurons.

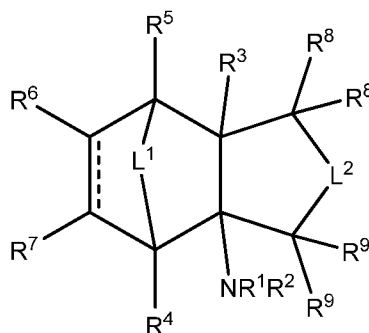
The present invention includes a method for treating or preventing disorders and dysfunctions, such as CNS disorders and dysfunctions, and also for treating or preventing certain conditions, for example, alleviating pain, hypertension, and inflammation, in mammals in need of such treatment. The methods involve administering to a subject a therapeutically effective amount

of a compound of the present invention, including a salt thereof, or a pharmaceutical composition that includes such compounds.

Detailed Description of the Invention

I. Compounds

- 5 One embodiment of the present invention includes compounds of Formula I:



Formula I

wherein

- 10 each of R¹ and R² individually is H, C₁₋₆ alkyl, or aryl-substituted C₁₋₆ alkyl, or R¹ and R² combine with the nitrogen atom to which they are attached to form a 3- to 8-membered ring, which ring may be optionally substituted with C₁₋₆ alkyl, aryl, C₁₋₆ alkoxy, or aryloxy substituents;
- R³ is H, C₁₋₆ alkyl, hydroxyl-substituted C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy-
- 15 substituted C₁₋₆ alkyl;
- each of R⁴, R⁵, R⁶, and R⁷ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;
- each R⁸ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;
- each R⁹ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;
- each L¹ and L² individually is a linker species selected from the group
- 20 consisting of CR¹⁰R¹¹, CR¹⁰R¹¹CR¹²R¹³, and O;
- each of R¹⁰, R¹¹, R¹², and R¹³ individually is hydrogen or C₁₋₆ alkyl;
- or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

- In one embodiment, a compound is selected from the group consisting of N,7a-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine and
- 25 stereoisomers thereof, or a pharmaceutical acceptable salt thereof.

In one embodiment, the compound is (3aS,4S,7R,7aS)-N,7a-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In one embodiment, the compound is (3aR,4R,7S,7aR)-N,7a-

dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

One aspect of the present invention includes a pharmaceutical composition comprising a compound of the present invention and a
5 pharmaceutically acceptable carrier.

One aspect of the present invention includes a method for the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic receptor, specifically through the use of non-competitive modulators (e.g., non-competitive antagonists), including but not limited channel blockers,
10 comprising the administration of a compound of the present invention. In one embodiment, the disease or condition is a CNS disorder. In another embodiment, the disease or condition is inflammation or an inflammatory response. In another embodiment, the disease or condition is pain. In another embodiment, the disease or condition is neovascularization. In
15 another embodiment, the disease or condition is hypertension. In another embodiment, the disease or condition is another disorder described herein.

One aspect of the present invention includes use of a compound of the present invention for the preparation of a medicament for the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic
20 receptor, specifically through the use of non-competitive antagonists, such as channel blockers. In one embodiment, the disease or condition is a CNS disorder. In another embodiment, the disease or condition is inflammation or an inflammatory response. In another embodiment, the disease or condition is pain. In another embodiment, the disease or condition is
25 neovascularization. In another embodiment, the disease or condition is hypertension. In another embodiment, the disease or condition is another disorder described herein.

One aspect of the present invention includes a compound of the present invention for use as an active therapeutic substance. One aspect,
30 thus, includes a compound of the present invention for use in the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic receptor, specifically through the use of non-competitive antagonists, such as channel blockers. In one embodiment, the disease or condition is a CNS disorder. In another embodiment, the disease or condition is inflammation or
35 an inflammatory response. In another embodiment, the disease or condition is pain. In another embodiment, the disease or condition is neovascularization. In another embodiment, the disease or condition is

hypertension. In another embodiment, the disease or condition is another disorder described herein.

Particular diseases or conditions include depression, including major depressive disorder, hypertension, irritable bowel syndrome (IBS), including
5 IBS-D (diarrhea predominant), over active bladder (OAB), and addiction, including smoking cessation.

The scope of the present invention includes all combinations of aspects and embodiments.

The following definitions are meant to clarify, but not limit, the terms
10 defined. If a particular term used herein is not specifically defined, such term should not be considered indefinite. Rather, terms are used within their accepted meanings.

As used throughout this specification, the preferred number of atoms, such as carbon atoms, will be represented by, for example, the phrase " C_{x-y}
15 alkyl," which refers to an alkyl group, as herein defined, containing the specified number of carbon atoms. Similar terminology will apply for other preferred terms and ranges as well. Thus, for example, C_{1-6} alkyl represents a straight or branched chain hydrocarbon containing one to six carbon atoms.

As used herein the term "alkyl" refers to a straight or branched chain
20 hydrocarbon, which may be optionally substituted, with multiple degrees of substitution being allowed. Examples of "alkyl" as used herein include, but are not limited to, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, isobutyl, n-butyl, tert-butyl, isopentyl, and n-pentyl.

As used herein, the terms "methylene," "ethylene," and "ethenylene,"
25 refer to divalent forms $-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-$, and $-CH=CH-$.

As used herein, the term "aryl" refers to a single benzene ring or fused benzene ring system which may be optionally substituted, with multiple degrees of substitution being allowed. Examples of "aryl" groups as used
include, but are not limited to, phenyl, 2-naphthyl, 1-naphthyl, anthracene,
30 and phenanthrene. Preferable aryl rings have five- to ten-members.

As used herein, a fused benzene ring system encompassed within the term "aryl" includes fused polycyclic hydrocarbons, namely where a cyclic hydrocarbon with less than maximum number of noncumulative double bonds, for example where a saturated hydrocarbon ring (cycloalkyl, such as a
35 cyclopentyl ring) is fused with an aromatic ring (aryl, such as a benzene ring) to form, for example, groups such as indanyl and acenaphthalenyl, and also

includes such groups as, for non-limiting examples, dihydronaphthalene and tetrahydronaphthalene.

As used herein the term "alkoxy" refers to a group $-OR^a$, where R^a is alkyl as herein defined.

5 As used herein the term "aryloxy" refers to a group $-OR^a$, where R^a is aryl as herein defined.

As used herein "amino" refers to a group $-NR^aR^b$, where each of R^a and R^b is hydrogen. Additionally, "substituted amino" refers to a group $-NR^aR^b$ wherein each of R^a and R^b individually is alkyl, arylalkyl or aryl.

10 As used herein, when either R^a or R^b is other than hydrogen, such a group may be referred to as a "substituted amino" or, for example if R^a is H and R^b is alkyl, as an "alkylamino."

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable" refers to carrier(s), diluent(s), excipient(s) or salt forms of the compounds of the present invention that are compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient of the pharmaceutical composition.

15

As used herein, the term "pharmaceutical composition" refers to a compound of the present invention optionally admixed with one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents, or excipients. Pharmaceutical compositions preferably exhibit a degree of stability to environmental conditions so as to make them suitable for manufacturing and commercialization purposes.

20

As used herein, the terms "effective amount", "therapeutic amount", and "effective dose" refer to an amount of the compound of the present invention sufficient to elicit the desired pharmacological or therapeutic effects, thus resulting in an effective treatment of a disorder. Treatment of a disorder may be manifested by delaying or preventing the onset or progression of the disorder, as well as the onset or progression of symptoms associated with the disorder, as well as the onset or progression of symptoms associated with the disorder. Treatment of a disorder may also be manifested by a decrease or elimination of symptoms, reversal of the progression of the disorder, as well as any other contribution to the well being of the patient.

25

30

The effective dose can vary, depending upon factors such as the condition of the patient, the severity of the symptoms of the disorder, and the manner in which the pharmaceutical composition is administered. Typically, to be administered in an effective dose, compounds may be administered in an amount of less than 5 mg/kg of patient weight. The compounds may be

35

administered in an amount from less than about 1 mg/kg patient weight to less than about 100 µg/kg of patient weight, and further between about 1 µg/kg to less than 100 µg/kg of patient weight. The foregoing effective doses typically represent that amount that may be administered as a single dose, or
5 as one or more doses that may be administered over a 24 hours period.

The compounds of this invention may be made by a variety of methods, including well-established synthetic methods. Illustrative general synthetic methods are set out below and then specific compounds of the invention are prepared in the working Examples.

10 In the examples described below, protecting groups for sensitive or reactive groups are employed where necessary in accordance with general principles of synthetic chemistry. Protecting groups are manipulated according to standard methods of organic synthesis (T. W. Green and P. G. M. Wuts (1999) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John
15 Wiley & Sons, herein incorporated by reference with regard to protecting groups). These groups are removed at a convenient stage of the compound synthesis using methods that are readily apparent to those skilled in the art. The selection of processes as well as the reaction conditions and order of their execution shall be consistent with the preparation of compounds of the
20 present invention.

The present invention also provides a method for the synthesis of compounds useful as intermediates in the preparation of compounds of the present invention along with methods for their preparation.

The compounds can be prepared according to the methods described
25 below using readily available starting materials and reagents. In these reactions, variants may be employed which are themselves known to those of ordinary skill in this art but are not described in detail here.

Unless otherwise stated, structures depicted herein are also meant to include compounds which differ only in the presence of one or more
30 isotopically enriched atoms. Compounds having the present structure except for the replacement of a hydrogen atom by a deuterium or tritium, or the replacement of a carbon atom by a ¹³C- or ¹⁴C-enriched carbon are within the scope of the invention. For example, deuterium has been widely used to examine the pharmacokinetics and metabolism of biologically active
35 compounds. Although deuterium behaves similarly to hydrogen from a chemical perspective, there are significant differences in bond energies and bond lengths between a deuterium-carbon bond and a hydrogen-carbon

bond. Consequently, replacement of hydrogen by deuterium in a biologically active compound may result in a compound that generally retains its biochemical potency and selectivity but manifests significantly different absorption, distribution, metabolism, and/or excretion (ADME) properties compared to its isotope-free counterpart. Thus, deuterium substitution may result in improved drug efficacy, safety, and/or tolerability for some biologically active compounds.

The compounds of the present invention may crystallize in more than one form, a characteristic known as polymorphism, and such polymorphic forms ("polymorphs") are within the scope of the present invention. Polymorphism generally can occur as a response to changes in temperature, pressure, or both. Polymorphism can also result from variations in the crystallization process. Polymorphs can be distinguished by various physical characteristics known in the art such as x-ray diffraction patterns, solubility, and melting point.

Certain of the compounds described herein contain one or more chiral centers, or may otherwise be capable of existing as multiple stereoisomers. The scope of the present invention includes mixtures of stereoisomers as well as purified enantiomers or enantiomerically/diastereomerically enriched mixtures. Also included within the scope of the invention are the individual isomers of the compounds represented by the formulae of the present invention, as well as any wholly or partially equilibrated mixtures thereof. The present invention also includes the individual isomers of the compounds represented by the formulas above as mixtures with isomers thereof in which one or more chiral centers are inverted.

When a compound is desired as a single enantiomer, such may be obtained by stereospecific synthesis, by resolution of the final product or any convenient intermediate, or by chiral chromatographic methods as are known in the art. Resolution of the final product, an intermediate, or a starting material may be effected by any suitable method known in the art. See, for example, *Stereochemistry of Organic Compounds* (Wiley-Interscience, 1994).

The stereochemical designations are assigned herein in accordance with the order of elution of the compounds as disclosed in PCT/US2011/037634, herein incorporated by reference.

The present invention includes a salt or solvate of the compounds herein described, including combinations thereof such as a solvate of a salt. The compounds of the present invention may exist in solvated, for example

hydrated, as well as unsolvated forms, and the present invention encompasses all such forms.

Typically, but not absolutely, the salts of the present invention are pharmaceutically acceptable salts. Salts encompassed within the term

5 "pharmaceutically acceptable salts" refer to non-toxic salts of the compounds of this invention.

Examples of suitable pharmaceutically acceptable salts include inorganic acid addition salts such as chloride, bromide, sulfate, phosphate, and nitrate; organic acid addition salts such as acetate, galactarate,
10 propionate, succinate, lactate, glycolate, malate, tartrate, citrate, maleate, fumarate, methanesulfonate, p-toluenesulfonate, and ascorbate; salts with acidic amino acid such as aspartate and glutamate; alkali metal salts such as sodium salt and potassium salt; alkaline earth metal salts such as magnesium salt and calcium salt; ammonium salt; organic basic salts such as
15 trimethylamine salt, triethylamine salt, pyridine salt, picoline salt, dicyclohexylamine salt, and N,N'-dibenzylethylenediamine salt; and salts with basic amino acid such as lysine salt and arginine salt. The salts may be in some cases hydrates or ethanol solvates.

Those of skill in the art of organic chemistry will appreciate that more
20 than one systematic name can be given to many organic compounds. Thus, Compound VII, representative of the present invention and shown in Scheme 1, can be named N,7a-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine. Compound VII can also be named 3,7a-dimethylhexahydro-4,7-methanoindan-3a-amine or N,6-dimethyltricyclo[5.2.1.0^{2,6}]decan-2-amine.
25 The scope of the present invention should not be considered as lacking clarity due to the several potential naming conventions possible for the compounds.

II. General Synthetic Methods

Those skilled in the art of organic synthesis will appreciate that there exist multiple means of producing compounds of the present invention, as
30 well as means for producing compounds of the present invention which are labeled with a radioisotope appropriate to various uses.

One means of producing compounds of the present invention is outlined in Scheme 1. Thus, norcamphor (2-norbornanone) can be alkylated adjacent to the carbonyl functionality, using techniques well known to those of
35 skill in the art of organic synthesis. Typically, treatment of the ketone with strong base (e.g., sodium hydride, sodium alkoxide, sodium amide) to form an enolate intermediate, followed by treatment with an alkyl halide or sulfonate,

is used for such transformations. Under certain conditions, the alkylation can be performed with an α,ω -dihaloalkane (such as 1,3-dibromopropane), such that a spiro linkage is formed. While Scheme 1 shows the formation of a spirocyclobutane (Compound **II**), other ring sizes (e.g., spirocyclopentane) are also accessible in this manner, by using other α,ω -dihaloalkanes. The carbonyl functionality can subsequently be converted into an exocyclic methylene (Compound **III**), using Wittig (or equivalent) chemistry. Treatment of exo-methylene compounds with hydrogen cyanide (or similar reagents, such as thiocyanates), in the presence of strong acid, can provide the corresponding tertiary formamido compounds (as in Compound **IV**), in a process known as the Ritter reaction. We have discovered that, under certain reaction conditions, both Compounds **IV** and **V** are formed, and that, under certain other reaction conditions, Compound **V** is the predominant product. Compound **V** presumably arises from a carbocation rearrangement process. Reduction of the formamido compounds, as a mixture (spiro and fused) or individually, using a hydride reducing agent, such as lithium aluminum hydride or sodium bis(methoxyethoxy)aluminum hydride, gives the corresponding secondary amines, Compounds **VI** and **VII**, respectively.

Another method for making compounds of the present invention utilizes Diels-Alder chemistry. Thus, as shown in Scheme 2, reaction of cyclopentadiene with cyclopentenyl dieneophiles (e.g., alkyl cyclopentene-1-carboxylates) will provide Diels-Alder adducts (Compounds **X** and **VIII**, respectively) that are readily transformed into compounds of the present invention. Such Diels-Alder chemistry is reported in the literature; see, for example, Deleens et al., *Tetrahedron Lett.* 43: 4963-4968 (2002) and US Patent 5,811,610. Conversion of Compound **VIII** into Compound **IX** can be accomplished by sequential reduction of the alkene (using catalytic hydrogenation conditions) and hydrolysis of the ester (using aqueous base). Similarly, conversion of Compound **X** into Compound **XI** can be accomplished by sequential reduction of the alkene (using catalytic hydrogenation conditions) and the nitro group (using tin or iron metal in aqueous hydrochloric acid). Alternately, both reductions could be accomplished simultaneously via catalytic hydrogenation. Compound **IX** can also be converted into Compound **XI**, as described by Koch and Haaf, *Liebigs Ann. Chem.* 638: 111-121 (1960). This reference also describes a synthesis of Compound **IX** from dicyclopentadiene. An alternate synthesis of Compound **XI**, through the intermediacy of the corresponding azide, is described by

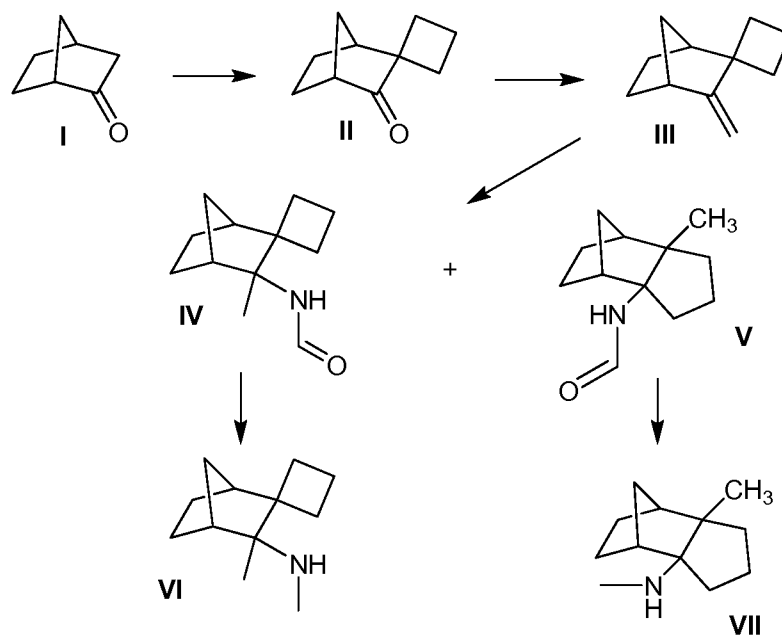
Zhdankin et al., J. Amer. Chem. Soc. 118: 5192-5197 (1996).

It will be appreciated by those of skill in the art of organic synthesis that the reactions described immediately above and in Scheme 2 are amenable to the inclusion of certain substituents. Thus, through the
5 intermediacy of substituted versions of Compounds **VIII**, **IX** and **X**, substituted versions of Compound **XI** can be made. The most appropriate substituents are those which are compatible with both Diels-Alder chemistry and the subsequent chemistry leading to Compound **XI**. Those of skill in the art will appreciate the importance of the number and placement of such substituents,
10 as the reactivity of the Diels-Alder reaction components (diene and dieneophile) can be greatly affected (positively or negatively) by the presence of such substituents. Thus, depending on where they are placed on either the diene component or the dieneophile component, such substituents include alkyl, alkoxy, aryloxy, alkoxycarbonyl (carboalkoxy), nitro and nitrile
15 groups.

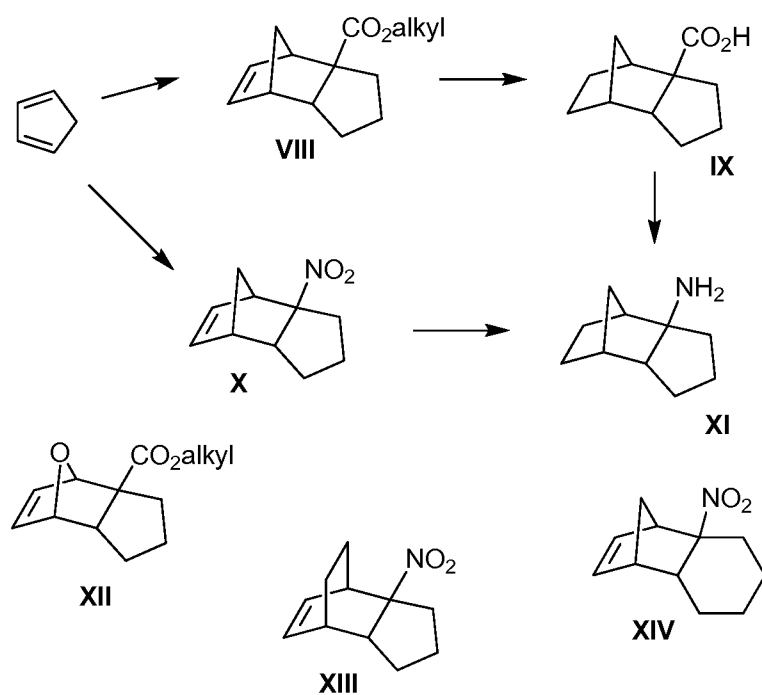
The Diels-Alder reaction is also amenable to the use of a variety of cyclic dienes and cyclic dieneophiles. Thus, the Diels-Alder adduct Compound **XII** (Scheme 2) can be made by reacting furan with an alkyl cyclopentene-1-carboxylate (similar to chemistry reported by Butler et al.,
20 Synlett 1: 98-100 (2000)). Compound **XIII** can be made by reaction of 1,3-cyclohexadiene with 1-nitrocyclopentene or derivative thereof (similar to chemistry reported by Fuji et al., Tetrahedron: Asymmetry 3: 609-612 (1992)), and Compound **XIV** can be made by reacting cyclopentadiene with 1-nitrocyclohexene or derivative thereof (similar to chemistry reported by
25 Deleens et al., Tetrahedron Lett. 43: 4963-4968 (2002)). Compounds **XII**, **XIII** and **XIV** can then be further transformed into compounds of the present invention, using chemistry described above or other similar chemistry.

Primary amines, such as Compound **XI**, can be converted into secondary amines through the intermediacy of amides and carbamates.
30 Thus, sequential treatment of Compound **XI** with di-tert-butyl dicarbonate and lithium aluminum hydride will produce the corresponding N-methyl derivative. Such processes can also be use to convert secondary amines to tertiary amines. The present invention includes primary, secondary and tertiary amine compounds.

Scheme 1



Scheme 2



The incorporation of specific radioisotopes is also possible. For example, reductions of amides and carbamates with lithium aluminum deuteride or lithium aluminum tritide reducing agents can produce N-

trideuteromethyl or N-tritritiomethyl amines. Alternatively, generation of an amide or carbamate, in which the carbonyl carbon is a ^{11}C , ^{13}C , or ^{14}C atom, followed by reduction with lithium aluminum hydride, will produce an amine with the ^{11}C , ^{13}C , or ^{14}C atom, respectively, incorporated. The incorporation of
5 specific radioisotopes is often desirable in the preparation of compounds that are to be used in a diagnostic setting (e.g., as imaging agents) or in functional and metabolic studies.

III. Pharmaceutical Compositions

Although it is possible to administer the compound of the present
10 invention in the form of a bulk active chemical, it is preferred to administer the compound in the form of a pharmaceutical composition or formulation. Thus, one aspect the present invention includes pharmaceutical compositions comprising one or more compounds of Formula I and/or pharmaceutically acceptable salts thereof and one or more pharmaceutically acceptable
15 carriers, diluents, or excipients. Another aspect of the invention provides a process for the preparation of a pharmaceutical composition including admixing one or more compounds of Formula I and/or pharmaceutically acceptable salts thereof with one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents or excipients.

20 The manner in which the compound of the present invention is administered can vary. The compound of the present invention is preferably administered orally. Preferred pharmaceutical compositions for oral administration include tablets, capsules, caplets, syrups, solutions, and suspensions. The pharmaceutical compositions of the present invention may
25 be provided in modified release dosage forms such as time-release tablet and capsule formulations.

The pharmaceutical compositions can also be administered via injection, namely, intravenously, intramuscularly, subcutaneously, intraperitoneally, intraarterially, intrathecally, and intracerebroventricularly.
30 Intravenous administration is a preferred method of injection. Suitable carriers for injection are well known to those of skill in the art and include 5% dextrose solutions, saline, and phosphate buffered saline.

The formulations may also be administered using other means, for example, rectal administration. Formulations useful for rectal administration,
35 such as suppositories, are well known to those of skill in the art. The compounds can also be administered by inhalation, for example, in the form of an aerosol; topically, such as, in lotion form; transdermally, such as, using

a transdermal patch (for example, by using technology that is commercially available from Novartis and Alza Corporation), by powder injection, or by buccal, sublingual, or intranasal absorption.

Pharmaceutical compositions may be formulated in unit dose form, or
5 in multiple or subunit doses

The administration of the pharmaceutical compositions described herein can be intermittent, or at a gradual, continuous, constant or controlled rate. The pharmaceutical compositions may be administered to a warm-blooded animal, for example, a mammal such as a mouse, rat, cat, rabbit,
10 dog, pig, cow, or monkey; but advantageously is administered to a human being. In addition, the time of day and the number of times per day that the pharmaceutical composition is administered can vary.

The compounds of the present invention may be used in the treatment of a variety of disorders and conditions and, as such, may be used in
15 combination with a variety of other suitable therapeutic agents useful in the treatment or prophylaxis of those disorders or conditions. Thus, one embodiment of the present invention includes the administration of the compound of the present invention in combination with other therapeutic compounds. For example, the compound of the present invention can be
20 used in combination with other NNR ligands (such as varenicline), allosteric modulators of NNRs, antioxidants (such as free radical scavenging agents), antibacterial agents (such as penicillin antibiotics), antiviral agents (such as nucleoside analogs, like zidovudine and acyclovir), anticoagulants (such as warfarin), anti-inflammatory agents (such as NSAIDs), anti-pyretics,
25 analgesics, anesthetics (such as used in surgery), acetylcholinesterase inhibitors (such as donepezil and galantamine), antipsychotics (such as haloperidol, clozapine, olanzapine, and quetiapine), immuno-suppressants (such as cyclosporin and methotrexate), neuroprotective agents, steroids (such as steroid hormones), corticosteroids (such as dexamethasone,
30 prednisone, and hydrocortisone), vitamins, minerals, nutraceuticals, anti-depressants (such as imipramine, fluoxetine, paroxetine, escitalopram, sertraline, venlafaxine, and duloxetine), anxiolytics (such as alprazolam and buspirone), anticonvulsants (such as phenytoin and gabapentin), vasodilators (such as prazosin and sildenafil), mood stabilizers (such as valproate and
35 aripiprazole), anti-cancer drugs (such as anti-proliferatives), antihypertensive agents (such as atenolol, clonidine, amlodipine, verapamil, and olmesartan), laxatives, stool softeners, diuretics (such as furosemide), anti-spasmodics

(such as dicyclomine), anti-dyskinetic agents, and anti-ulcer medications (such as esomeprazole). Such a combination of pharmaceutically active agents may be administered together or separately and, when administered separately, administration may occur simultaneously or sequentially, in any order. The amounts of the compounds or agents and the relative timings of administration will be selected in order to achieve the desired therapeutic effect. The administration in combination of a compound of the present invention with other treatment agents may be in combination by administration concomitantly in: (1) a unitary pharmaceutical composition including both compounds; or (2) separate pharmaceutical compositions each including one of the compounds. Alternatively, the combination may be administered separately in a sequential manner wherein one treatment agent is administered first and the other second. Such sequential administration may be close in time or remote in time.

Another aspect of the present invention includes combination therapy comprising administering to the subject a therapeutically or prophylactically effective amount of the compound of the present invention and one or more other therapy including chemotherapy, radiation therapy, gene therapy, or immunotherapy.

IV. Method of Using Pharmaceutical Compositions

The compounds of the present invention can be used for the prevention or treatment of various conditions or disorders for which other types of nicotinic compounds have been proposed or are shown to be useful as therapeutics, such as CNS disorders, inflammation, inflammatory response associated with bacterial and/or viral infection, pain, metabolic syndrome, autoimmune disorders, addictions, obesity or other disorders described in further detail herein. This compound can also be used as a diagnostic agent (in vitro and in vivo). Such therapeutic and other teachings are described, for example, in references previously listed herein, including Williams et al., *Drug News Perspec.* **7(4)**: 205 (1994), Arneric et al., *CNS Drug Rev.* **1(1)**: 1-26 (1995), Arneric et al., *Exp. Opin. Invest. Drugs* **5(1)**: 79-100 (1996), Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **279**: 1413 (1996), Lippiello et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **279**: 1422 (1996), Damaj et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **291**: 390 (1999); Chiari et al., *Anesthesiology* **91**: 1447 (1999), Lavand'homme and Eisenbach, *Anesthesiology* **91**: 1455 (1999), Holladay et al., *J. Med. Chem.* **40(28)**: 4169-94 (1997), Bannon et al., *Science* **279**: 77 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, and U.S.

Patent Nos. 5,583,140 to Bencherif et al., 5,597,919 to Dull et al., 5,604,231 to Smith et al. and 5,852,041 to Cosford et al.

CNS Disorders

The compounds and their pharmaceutical compositions are useful in the treatment or prevention of a variety of CNS disorders, including neurodegenerative disorders, neuropsychiatric disorders, neurologic disorders, and addictions. The compounds and their pharmaceutical compositions can be used to treat or prevent cognitive deficits and dysfunctions, age-related and otherwise; attentional disorders and dementias, including those due to infectious agents or metabolic disturbances; to provide neuroprotection; to treat convulsions and multiple cerebral infarcts; to treat mood disorders, compulsions and addictive behaviors; to provide analgesia; to control inflammation, such as mediated by cytokines and nuclear factor kappa B; to treat inflammatory disorders; to provide pain relief; and to treat infections, as anti-infectious agents for treating bacterial, fungal, and viral infections. Among the disorders, diseases and conditions that the compounds and pharmaceutical compositions of the present invention can be used to treat or prevent are: age-associated memory impairment (AAMI), mild cognitive impairment (MCI), age-related cognitive decline (ARCD), pre-senile dementia, early onset Alzheimer's disease, senile dementia, dementia of the Alzheimer's type, Alzheimer's disease, cognitive impairment no dementia (CIND), Lewy body dementia, HIV-dementia, AIDS dementia complex, vascular dementia, Down syndrome, head trauma, traumatic brain injury (TBI), dementia pugilistica, Creutzfeld-Jacob Disease and prion diseases, stroke, central ischemia, peripheral ischemia, attention deficit disorder, attention deficit hyperactivity disorder, dyslexia, schizophrenia, schizophreniform disorder, schizoaffective disorder, cognitive dysfunction in schizophrenia, cognitive deficits in schizophrenia, Parkinsonism including Parkinson's disease, postencephalitic parkinsonism, parkinsonism-dementia of Gaum, frontotemporal dementia Parkinson's Type (FTDP), Pick's disease, Niemann-Pick's Disease, Huntington's Disease, Huntington's chorea, dyskinesia, tardive dyskinesia, spastic dystonia, hyperkinesia, progressive supranuclear palsy, progressive supranuclear paresis, restless leg syndrome, Creutzfeld-Jakob disease, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), motor neuron diseases (MND), multiple system atrophy (MSA), corticobasal degeneration, Guillain-Barré Syndrome (GBS), and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP), epilepsy, autosomal

dominant nocturnal frontal lobe epilepsy, mania, anxiety, depression, including major depressive disorder (MDD), premenstrual dysphoria, panic disorders, bulimia, anorexia, narcolepsy, excessive daytime sleepiness, bipolar disorders, generalized anxiety disorder, obsessive compulsive disorder, rage outbursts, conduct disorder, oppositional defiant disorder, 5 Tourette's syndrome, autism, drug and alcohol addiction, tobacco addiction and, thus, useful as an agent for smoking cessation, compulsive overeating and sexual dysfunction.

Cognitive impairments or dysfunctions may be associated with 10 psychiatric disorders or conditions, such as schizophrenia and other psychotic disorders, including but not limited to psychotic disorder, schizophreniform disorder, schizoaffective disorder, delusional disorder, brief psychotic disorder, shared psychotic disorder, and psychotic disorders due to a general medical conditions, dementias and other cognitive disorders, including but not 15 limited to mild cognitive impairment, pre-senile dementia, Alzheimer's disease, senile dementia, dementia of the Alzheimer's type, age-related memory impairment, Lewy body dementia, vascular dementia, AIDS dementia complex, dyslexia, Parkinsonism including Parkinson's disease, cognitive impairment and dementia of Parkinson's Disease, cognitive 20 impairment of multiple sclerosis, cognitive impairment caused by traumatic brain injury, dementias due to other general medical conditions, anxiety disorders, including but not limited to panic disorder without agoraphobia, panic disorder with agoraphobia, agoraphobia without history of panic disorder, specific phobia, social phobia, obsessive-compulsive disorder, post- 25 traumatic stress disorder, acute stress disorder, generalized anxiety disorder and generalized anxiety disorder due to a general medical condition, mood disorders, including but not limited to major depressive disorder, dysthymic disorder, bipolar depression, bipolar mania, bipolar I disorder, depression associated with manic, depressive or mixed episodes, bipolar II disorder, 30 cyclothymic disorder, and mood disorders due to general medical conditions, sleep disorders, including but not limited to dyssomnia disorders, primary insomnia, primary hypersomnia, narcolepsy, parasomnia disorders, nightmare disorder, sleep terror disorder and sleepwalking disorder, mental retardation, learning disorders, motor skills disorders, communication disorders, pervasive 35 developmental disorders, attention-deficit and disruptive behavior disorders, attention deficit disorder, attention deficit hyperactivity disorder, feeding and eating disorders of infancy, childhood, or adults, tic disorders, elimination

disorders, substance-related disorders, including but not limited to substance dependence, substance abuse, substance intoxication, substance withdrawal, alcohol-related disorders, amphetamine or amphetamine-like-related disorders, caffeine-related disorders, cannabis-related disorders, cocaine-related disorders, hallucinogen-related disorders, inhalant-related disorders, nicotine-related disorders, opioid-related disorders, phencyclidine or phencyclidine-like-related disorders, and sedative-, hypnotic- or anxiolytic-related disorders, personality disorders, including but not limited to obsessive-compulsive personality disorder and impulse-control disorders.

10 Cognitive performance may be assessed with a validated cognitive scale, such as, for example, the cognitive subscale of the Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS-cog). One measure of the effectiveness of the compounds of the present invention in improving cognition may include measuring a patient's degree of change according to such a scale.

15 Regarding compulsions and addictive behaviors, the compounds of the present invention may be used as a therapy for nicotine addiction, including as an agent for smoking cessation, and for other brain-reward disorders, such as substance abuse including alcohol addiction, illicit and prescription drug addiction, eating disorders, including obesity, and behavioral
20 addictions, such as gambling, or other similar behavioral manifestations of addiction.

The above conditions and disorders are discussed in further detail, for example, in the American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000. This Manual may also be referred to
25 for greater detail on the symptoms and diagnostic features associated with substance use, abuse, and dependence.

Inflammation

The nervous system, primarily through the vagus nerve, is known to
30 regulate the magnitude of the innate immune response by inhibiting the release of macrophage tumor necrosis factor (TNF). This physiological mechanism is known as the "cholinergic anti-inflammatory pathway" (see, for example, Tracey, "The Inflammatory Reflex," *Nature* 420: 853-9 (2002)). Excessive inflammation and tumor necrosis factor synthesis cause morbidity
35 and even mortality in a variety of diseases. These diseases include, but are not limited to, endotoxemia, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, psoriasis,

asthma, atherosclerosis, idiopathic pulmonary fibrosis, and inflammatory bowel disease.

Inflammatory conditions that can be treated or prevented by administering the compounds described herein include, but are not limited to, chronic and acute inflammation, psoriasis, endotoxemia, gout, acute pseudogout, acute gouty arthritis, arthritis, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, allograft rejection, chronic transplant rejection, asthma, atherosclerosis, mononuclear-phagocyte dependent lung injury, idiopathic pulmonary fibrosis, atopic dermatitis, chronic obstructive pulmonary disease, adult respiratory distress syndrome, acute chest syndrome in sickle cell disease, inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, including diarrhea predominant IBS, Crohn's disease, ulcers, ulcerative colitis, acute cholangitis, aphthous stomatitis, cachexia, pouchitis, glomerulonephritis, lupus nephritis, thrombosis, and graft vs. host reaction.

Inflammatory Response Associated with Bacterial and/or Viral Infection

Many bacterial and/or viral infections are associated with side effects brought on by the formation of toxins, and the body's natural response to the bacteria or virus and/or the toxins. As discussed above, the body's response to infection often involves generating a significant amount of TNF and/or other cytokines. The over-expression of these cytokines can result in significant injury, such as septic shock (when the bacteria is sepsis), endotoxic shock, urosepsis, viral pneumonitis and toxic shock syndrome.

Cytokine expression is mediated by NNRs, and can be inhibited by administering agonists or partial agonists of these receptors. Those compounds described herein that are agonists or partial agonists of these receptors can therefore be used to minimize the inflammatory response associated with bacterial infection, as well as viral and fungal infections. Examples of such bacterial infections include anthrax, botulism, and sepsis. Some of these compounds may also have antimicrobial properties. Furthermore, the compounds can be used in the treatment of Raynaud's disease, namely viral-induced painful peripheral vasoconstriction.

These compounds can also be used as adjunct therapy in combination with existing therapies to manage bacterial, viral and fungal infections, such as antibiotics, antivirals and antifungals. Antitoxins can also be used to bind to toxins produced by the infectious agents and allow the bound toxins to pass through the body without generating an inflammatory response. Examples of antitoxins are disclosed, for example, in U.S. Patent

No. 6,310,043 to Bundle *et al.* Other agents effective against bacterial and other toxins can be effective and their therapeutic effect can be complemented by co-administration with the compounds described herein.

Pain

5 The compounds can be administered to treat and/or prevent pain, including acute, neurologic, inflammatory, neuropathic and chronic pain. The compounds can be used in conjunction with opiates to minimize the likelihood of opiate addiction (e.g., morphine sparing therapy). The analgesic activity of compounds described herein can be demonstrated in models of persistent
10 inflammatory pain and of neuropathic pain, performed as described in U.S. Published Patent Application No. 20010056084 A1 (Allgeier *et al.*) (e.g., mechanical hyperalgesia in the complete Freund's adjuvant rat model of inflammatory pain and mechanical hyperalgesia in the mouse partial sciatic nerve ligation model of neuropathic pain).

15 The analgesic effect is suitable for treating pain of various genesis or etiology, in particular in treating inflammatory pain and associated hyperalgesia, neuropathic pain and associated hyperalgesia, chronic pain (e.g., severe chronic pain, post-operative pain and pain associated with various conditions including cancer, angina, renal or biliary colic,
20 menstruation, migraine, and gout). Inflammatory pain may be of diverse genesis, including arthritis and rheumatoid disease, teno-synovitis and vasculitis. Neuropathic pain includes trigeminal or herpetic neuralgia, neuropathies such as diabetic neuropathy pain, causalgia, low back pain and deafferentation syndromes such as brachial plexus avulsion.

25 Neovascularization

 Inhibition of neovascularization, for example, by administering antagonists (or at certain dosages, partial agonists) of nicotinic receptors can treat or prevent conditions characterized by undesirable neovascularization or angiogenesis. Such conditions can include those characterized by
30 inflammatory angiogenesis and/or ischemia-induced angiogenesis. Neovascularization associated with tumor growth can also be inhibited by administering those compounds described herein that function as antagonists or partial agonists of nicotinic receptors.

 Specific antagonism of nicotinic receptors reduces the angiogenic
35 response to inflammation, ischemia, and neoplasia. Guidance regarding appropriate animal model systems for evaluating the compounds described herein can be found, for example, in Heeschen, C. *et al.*, "A novel angiogenic

pathway mediated by non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors," *J. Clin. Invest.* 110(4):527-36 (2002).

Representative tumor types that can be treated using the compounds described herein include SCLC, NSCLC, ovarian cancer, pancreatic cancer, breast carcinoma, colon carcinoma, rectum carcinoma, lung carcinoma, oropharynx carcinoma, hypopharynx carcinoma, esophagus carcinoma, stomach carcinoma, pancreas carcinoma, liver carcinoma, gallbladder carcinoma, bile duct carcinoma, small intestine carcinoma, urinary tract carcinoma, kidney carcinoma, bladder carcinoma, urothelium carcinoma, female genital tract carcinoma, cervix carcinoma, uterus carcinoma, ovarian carcinoma, choriocarcinoma, gestational trophoblastic disease, male genital tract carcinoma, prostate carcinoma, seminal vesicles carcinoma, testes carcinoma, germ cell tumors, endocrine gland carcinoma, thyroid carcinoma, adrenal carcinoma, pituitary gland carcinoma, skin carcinoma, hemangiomas, melanomas, sarcomas, bone and soft tissue sarcoma, Kaposi's sarcoma, tumors of the brain, tumors of the nerves, tumors of the eyes, tumors of the meninges, astrocytomas, gliomas, glioblastomas, retinoblastomas, neuromas, neuroblastomas, Schwannomas, meningiomas, solid tumors arising from hematopoietic malignancies (such as leukemias, chloromas, plasmacytomas and the plaques and tumors of mycosis fungoides and cutaneous T-cell lymphoma/leukemia), and solid tumors arising from lymphomas.

The compounds can also be administered in conjunction with other forms of anti-cancer treatment, including co-administration with antineoplastic antitumor agents such as cis-platin, adriamycin, daunomycin, and the like, and/or anti-VEGF (vascular endothelial growth factor) agents, as such are known in the art.

The compounds can be administered in such a manner that they are targeted to the tumor site. For example, the compounds can be administered in microspheres, microparticles or liposomes conjugated to various antibodies that direct the microparticles to the tumor. Additionally, the compounds can be present in microspheres, microparticles or liposomes that are appropriately sized to pass through the arteries and veins, but lodge in capillary beds surrounding tumors and administer the compounds locally to the tumor. Such drug delivery devices are known in the art.

Other Disorders

In addition to treating CNS disorders, inflammation, and neovascularization, and pain, the compounds of the present invention can be

also used to prevent or treat certain other conditions, diseases, and disorders in which NNRs play a role. Examples include autoimmune disorders such as lupus, disorders associated with cytokine release, cachexia secondary to infection (e.g., as occurs in AIDS, AIDS related complex and neoplasia), obesity, pemphitis, urinary incontinence, overactive bladder (OAB), diarrhea, constipation, retinal diseases, infectious diseases, myasthenia, Eaton-Lambert syndrome, hypertension, preeclampsia, osteoporosis, vasoconstriction, vasodilatation, cardiac arrhythmias, type I diabetes, type II diabetes, bulimia, anorexia and sexual dysfunction, as well as those indications set forth in published PCT application WO 98/25619. The compounds of this invention can also be administered to treat convulsions such as those that are symptomatic of epilepsy, and to treat conditions such as syphilis and Creutzfeld-Jakob disease.

Compounds of the present invention may be used to treat bacterial infections and dermatologic conditions, such as pemphigus foliaceus, pemphigus vulgaris, and other disorders, such as acantholysis, where autoimmune responses with high ganglionic NNR antibody titer is present. In these disorders, and in other autoimmune diseases, such as Myasthenia Gravis, the Fab fragment of the antibody binds to the NNR receptor (crosslinking 2 receptors), which induces internalization and degradation.

Diagnostic Uses

The compounds can be used in diagnostic compositions, such as probes, particularly when they are modified to include appropriate labels. For this purpose the compounds of the present invention most preferably are labeled with the radioactive isotopic moiety ^{11}C .

The administered compounds can be detected using position emission topography (PET). A high specific activity is desired to visualize the selected receptor subtypes at non-saturating concentrations. The administered doses typically are below the toxic range and provide high contrast images. The compounds are expected to be capable of administration in non-toxic levels. Determination of dose is carried out in a manner known to one skilled in the art of radiolabel imaging. See, for example, U.S. Patent No. 5,969,144 to London *et al.*

The compounds can be administered using known techniques. See, for example, U.S. Patent No. 5,969,144 to London *et al.*, as noted. The compounds can be administered in formulation compositions that incorporate other ingredients, such as those types of ingredients that are useful in

formulating a diagnostic composition. Compounds useful in accordance with carrying out the present invention most preferably are employed in forms of high purity. See, U.S. Patent No. 5,853,696 to Elmalch *et al.*

After the compounds are administered to a subject (e.g., a human subject), the presence of that compound within the subject can be imaged and quantified by appropriate techniques in order to indicate the presence, quantity, and functionality. In addition to humans, the compounds can also be administered to animals, such as mice, rats, dogs, and monkeys. SPECT and PET imaging can be carried out using any appropriate technique and apparatus. See Villemagne *et al.*, In: Amneric *et al.* (Eds.) *Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*, 235-250 (1998) and U.S. Patent No. 5,853,696 to Elmalch *et al.*, each herein incorporated by reference, for a disclosure of representative imaging techniques.

V. Synthetic Examples

Example 1: 3-Ethylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol and spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol

To a solution of 2-norbornanone (norcamphor) (74.0 g, 0.673 mol) and 1,3-dibromopropane (190 g, 0.942 mol) in diethyl ether (2.2 L) was added sodium amide (65.6 g, 1.68 mol), and the mixture was stirred at reflux for 24 h. The reaction was incomplete, by GCMS analysis. An additional 0.1 equivalent (13.6 g, 67.3 mmol) of 1,3-dibromopropane and 0.5 equivalent (13.0 g, 0.336 mol) of sodium amide were added, and the mixture was stirred at reflux for another 24 h period. The reaction was still not complete, so the cycle of additional of reagents, stirring at reflux and GCMS analysis was repeated three more times, resulting in the addition of another 0.15 equivalents of 1,3-dibromopropane and another 3.5 equivalents of sodium amide over a period of ~40 h at reflux. Finally, GCMS analysis indicated that starting material had disappeared. The reaction was cooled to -10°C and slowly quenched (stirring) with water (600 mL). The stirring was stopped, and the layers separated. The organic layer was washed successively with 1 M aqueous hydrochloric acid (100 mL), water (50 mL) and saturated aqueous sodium chloride (50 mL). The organic layer was then combined with water (1500 mL) and stirred vigorously as solid potassium permanganate (341 g) was added, in portions, over an 8 h period. The mixture was then stirred for 2 days at ambient temperature and filtered through diatomaceous earth. The organic layer was separated, and the aqueous layer was extracted with ether (2 x 500 mL). The organic layers were combined, washed with saturated aqueous

sodium chloride (50 mL), and dried over anhydrous sodium sulfate. The solvent was evaporated, and the crude product (85 g) was purified on a silica gel column. Selected fractions were concentrated to give

5 spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-one (29 g, 29% yield). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.55-2.49 (m, 2 H), 2.18-2.08 (m, 2 H), 2.00-1.58 (m, 7 H), 1.49-1.36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 151 (M+1).

A solution of spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-one (27.5 g, 0.183 mol) in tetrahydrofuran (THF) (500 mL) was cooled to 0°C and a solution of 3 M ethylmagnesium bromide in ether (122 mL, 0.366 mol) was added drop-
10 wise, at such a rate that the internal temperature of the reaction mixture was maintained below 5°C (20 min addition time). The resulting solution was stirred at 2-5°C for 30 min and then stirred at ambient temperature for 20 h. The reaction was cooled to -10°C and water (100 mL) was added to quench the reaction. Additional water (300 mL) and ethyl acetate (300 mL) were then
15 added, and the mixture was stirred. The stirring was stopped, and the organic layer was separated and concentrated. The residue from the organic layer was combined with the aqueous layer and extracted with ethyl acetate (3 x 400 mL). The ethyl acetate extracts were combined and washed with saturated aqueous sodium chloride (50 mL) and dried over anhydrous sodium
20 sulfate. The solvent was evaporated, and crude material was purified on a silica gel column, eluting with 0-10% ethyl acetate in hexanes, to afford 3-ethylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (16.2 g, 47%) and spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (13.2 g, 46%), as colorless oils. These materials were used without further purification in subsequent
25 syntheses.

Example 2: (3aS,4S,7R,7aS)-7a-Ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride and (3aR,4R,7S,7aR)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

A 500 mL one-neck flask was charged with 3-
30 ethylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (15.3 g, 85.0 mmol) and sodium cyanide (8.33 g, 0.170 mol) and sealed with a rubber septum. A needle, with a balloon attached, was inserted into the septum. Acetic acid (28.2 mL, 0.493 mol) was added by syringe, and the mixture was stirred for 5 min at ambient temperature. The mixture was then cooled to 0°C, and
35 concentrated sulfuric acid (28.6 mL, 0.536 mol) was added drop-wise by syringe, over a 40 min period. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min and then at ambient temperature for 16 h. The reaction was cooled to -

10°C and water (50 mL) was added to quench the reaction. Chloroform (50 mL) was then added, followed by 10 M aqueous sodium hydroxide (200 mL, 2.0 mol). The resulting mixture had a pH of 12. The mixture was transferred to a separatory funnel, combined with water (600 mL), and extracted with
5 chloroform (3 x 500 mL). The organic layers were combined, washed with saturated aqueous sodium chloride (50 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate. The solvent was evaporated, and the crude product was purified on a silica gel column, eluting with 10-50% ethyl acetate in hexanes, to afford N-(7a-ethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide as white solid
10 (10.2 g, 56% yield).

To a flask containing of anhydrous THF (140 mL) was added a solution of 1 M lithium aluminum hydride in THF (138 mL, 0.138 mol). The lithium aluminum hydride solution was heated to reflux, and solid N-(7a-ethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide (9.5 g, 45.9 mmol) was added in portions
15 over a 15 min period. The resulting mixture was refluxed for 21 h, cooled to -10°C and quenched by slow addition of 5 M aqueous sodium hydroxide (18 mL). The resulting mixture was filtered through diatomaceous earth and washed with THF (3 x 150 mL). The filtrate was concentrated, and the residue was purified on two silica gel columns. The first was eluted with 10-
20 50% ethyl acetate in hexanes. Selected fractions were concentrated, and the residue was then applied to the second column, which was eluted with dichloromethane / methanol / aqueous ammonia (from 9 : 1 : 0.1 to 8 : 2 : 0.2) (v/v). Concentration of selected fractions gave 7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (8.2 g, 93% yield). ¹H NMR (CD₃OD, 400
25 MHz): δ 2.81 (s, 3 H), 2.52 (d, J = 3.2 Hz, 1 H), 2.27 (brs, 1 H), 2.23-2.16 (m, 1 H), 2.06-2.02 (m, 1 H), 1.88-1.52 (m, 9 H), 1.44-1.22 (m, 3 H), 1.07 (t, J = 7.0 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Racemic 7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (2.0 g) was dissolved in acetonitrile (10 mL) and was separated by chiral HPLC,
30 using a ChiralPak AD-H, 5 micron, 250 x 20 cm column and eluting with 0.2% diethylamine, 5% isopropanol in acetonitrile (0.25 mL injections), with a flow rate of 10 mL/min. Selected fractions for each of the two peaks were concentrated and dissolved in 2 mL of methanol. Each of the two methanol solutions was treated with 10 mL of 1 M aqueous hydrochloric acid at ambient
35 temperature. The resulting reaction mixtures were concentrated in a vacuum centrifuge, providing (3aS,4S,7R,7aS)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride as the early eluting enantiomer

(0.845 g, 35% recovery) and (3aR,4R,7S,7aR)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride as late eluting enantiomer (0.630 g, 26% recovery), as white powders.

(3aS,4S,7R,7aS)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride: ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.80 (s, 3 H), 2.51 (d, J = 3.2 Hz, 1 H), 2.26 (brs, 1 H), 2.23-2.16 (m, 1 H), 2.06-2.02 (m, 1 H), 1.88-1.52 (m, 9 H), 1.44-1.22 (m, 3 H), 1.06 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

(3aR,4R,7S,7aR)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride: ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.81 (s, 3 H), 2.52 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 2.27 (brs, 1 H), 2.23-2.16 (m, 1 H), 2.06-2.02 (m, 1 H), 1.88-1.52 (m, 9 H), 1.44-1.22 (m, 3 H), 1.06 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Example 3: (3aS,4S,7R,7aS)-N-Methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride and (3aR,4R,7S,7aR)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

A 500 mL one-neck flask was charged with spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (12.3 g, 80.9 mmol) and sodium cyanide (6.70 g, 0.137 mol) and sealed with a rubber septum. A needle, with a balloon attached, was inserted into the septum. Acetic acid (22.7 mL, 0.396 mol) was added by syringe, and the mixture was stirred for 5 min at ambient temperature. The mixture was then cooled to 0°C, and concentrated sulfuric acid (23.0 mL, 0.430 mol) was added drop-wise by syringe, over a 30 min period. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min and then at ambient temperature for 16 h. The reaction was cooled to -10°C and water (50 mL) was added to quench the reaction. Chloroform (50 mL) was then added, followed by 10 M aqueous sodium hydroxide (170 mL, 1.7 mol). The resulting mixture had a pH of 12. The mixture was transferred to a separatory funnel, combined with water (400 mL), and extracted with chloroform (3 x 400 mL). The organic layers were combined, washed with saturated aqueous sodium chloride (50 mL) and dried over anhydrous sodium sulfate. The solvent was evaporated, and the crude product was purified on a silica gel column, eluting with 10-50% ethyl acetate in hexanes, to afford N-(octahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide as white solid (10.7 g, 74% yield).

To a flask containing of anhydrous THF (170 mL) was added a solution of 1 M lithium aluminum hydride in THF (168 mL, 0.168 mol). The lithium aluminum hydride solution was heated to reflux, and solid N-(octahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide (10.0 g, 55.9 mmol) was added in portions over a 15 min period. The resulting mixture was refluxed for 22 h, cooled to -10°C and quenched by slow addition of 5 M aqueous sodium hydroxide (20 mL). The resulting mixture was filtered through diatomaceous earth and washed with THF (3 x 300 mL). The filtrate was concentrated, and the residue was purified on two silica gel columns. The first was eluted with 10-50% ethyl acetate in hexanes. Selected fractions were concentrated, and the residue was then applied to the second column, which was eluted with dichloromethane / methanol / aqueous ammonia (from 9 : 1 : 0.1 to 8 : 2 : 0.2) (v/v).

Concentration of selected fractions gave N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (8.1 g, 88% yield). ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.80 (s, 3 H), 2.54 (brs, 1 H), 2.27-2.16 (m, 3 H), 1.95-1.56 (m, 7 H), 1.49-1.32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1).

Racemic N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (1.5 g) was dissolved in acetonitrile (15 mL) and was separated by chiral HPLC, using a ChiralPak AD, 5 micron, 250 x 20 cm column and eluting with 0.2% diethylamine, 5% isopropanol in acetonitrile (0.25 mL injections), with a flow rate of 10 mL/min. Selected fractions for each of the two peaks were concentrated and dissolved in 2 mL of methanol. Each of the two methanol solutions was treated with 2 mL of 2 M aqueous hydrochloric acid at ambient temperature. The resulting reaction mixtures were concentrated in a vacuum centrifuge, providing (3aS,4S,7R,7aS)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (0.460 g, 26% recovery) as early eluting enantiomer and (3aR,4R,7S,7aR)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (0.480 g, 27% recovery) as late eluting enantiomer, as white powders.

(3aS,4S,7R,7aS)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride: ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.81 (s, 3 H), 2.55 (brs, 1 H), 2.27-2.16 (m, 3 H), 1.95-1.56 (m, 7 H), 1.49-1.32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1). (3aR,4R,7S,7aR)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride: ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.81 (s, 3 H), 2.55 (brs, 1 H), 2.27-2.16 (m, 3 H), 1.95-1.56 (m, 7 H), 1.49-1.32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1).

Example 4: (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,N-Trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-ammonium formate

A mixture of (3aS,4S,7R,7aS)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (30 mg, 0.18 mmol), iodomethane (2.0 mL, 32 mmol) and potassium carbonate (1.0 g, 7.2 mmol) in THF (2 mL) was placed in pressure tube and stirred at 100°C for 48 h. The reaction mixture was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was purified by HPLC, eluting with mixtures of 0.05% aqueous formic acid and 0.05% formic acid in acetonitrile. Selected fractions were combined and concentrated to obtain (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,N-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-ammonium formate (20 mg).
¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 8.52 (brs, 1 H), 3.18 (s, 9 H), 2.67 (s, 1 H), 2.58-2.45 (m, 2 H), 2.35-2.24 (m, 1 H), 2.17-2.12 (m, 1 H), 1.98-1.62 (m, 7 H), 1.58-1.36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M).

Example 5: (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,N-Trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-ammonium formate

A mixture of (3aR,4R,7S,7aR)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (30 mg, 0.18 mmol), iodomethane (2.0 mL, 32 mmol) and potassium carbonate (1.0 g, 7.2 mmol) in THF (2 mL) was placed in pressure tube and stirred at 100°C for 48 h. The reaction mixture was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was purified by HPLC, eluting with mixtures of 0.05% aqueous formic acid and 0.05% formic acid in acetonitrile. Selected fractions were combined and concentrated to obtain (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,N-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-ammonium formate (20 mg).
¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 8.51 (brs, 1 H), 3.18 (s, 9 H), 2.67 (s, 1 H), 2.58-2.45 (m, 2 H), 2.35-2.24 (m, 1 H), 2.17-2.12 (m, 1 H), 1.98-1.62 (m, 7 H), 1.58-1.36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M).

Example 6: (3aS,4S,7R,7aS)-N,N-Dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydroiodide

Iodomethane (1.0 mL, 16 mmol) was added to a solution of (3aS,4S,7R,7aS)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (0.11 g, 0.67 mmol) in acetonitrile (3 mL), and the mixture was stirred at ambient temperature for 18 h. Anhydrous ether (30 mL) was added to the reaction, and the mixture was centrifuged. The supernatant was decanted, and the remaining solid was dried to obtain (3aS,4S,7R,7aS)-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydroiodide (0.19 g, 93% yield) as off-white solid. ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.92 (s, 3 H), 2.88 (s, 3 H), 2.53 (brs, 1 H), 2.45-2.25

(m, 2 H), 2.15 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 2.10-2.06 (m, 1 H), 1.96-1.65 (m, 6 H), 1.55-1.38 (m, 4 H); LCMS (m/z): 180 (M+1).

Example 7: (3aR,4R,7S,7aR)-N,N-Dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydroiodide

- 5 Iodomethane (1.0 mL, 16 mmol) was added to a solution of (3aR,4R,7S,7aR)-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (0.11 g, 0.67 mmol) in acetonitrile (3 mL), and the mixture was stirred at ambient temperature for 18 h. Anhydrous ether (30 mL) was added to the reaction, and the mixture was centrifuged. The supernatant was decanted, and the remaining solid was
- 10 dried to obtain (3aR,4R,7S,7aR)-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydroiodide (0.185 g, 90% yield) as off-white solid. ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.92 (s, 3 H), 2.88 (s, 3 H), 2.53 (brs, 1 H), 2.45-2.25 (m, 2 H), 2.15 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 2.10-2.06 (m, 1 H), 1.96-1.65 (m, 6 H), 1.55-1.38 (m, 4 H); LCMS (m/z): 180 (M+1).

15 **Example 8: (3aS,4S,7R,7aS)-7a-Ethyl-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine trifluoroacetate salt**

- Iodomethane (1.0 mL, 16 mmol) was added to a solution of (3aS,4S,7R,7aS)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (0.10 g, 0.52 mmol) in acetonitrile (3 mL), and the mixture was stirred at ambient
- 20 temperature for 18 h. The reaction was concentrated and purified by HPLC, eluting with mixtures of 0.05% TFA in water and 0.05% TFA in acetonitrile. Selected fractions were concentrated to obtain (3aS,4S,7R,7aS)-7a-ethyl-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine trifluoroacetate salt (20 mg). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.93 (s, 3 H), 2.91 (s, 3 H), 2.48-2.40
- 25 (m, 2 H), 2.19 (brs, 1 H), 2.05-1.95 (m, 1 H), 1.88-1.81 (m, 2 H), 1.76-1.52 (m, 7 H), 1.49-1.42 (m, 1 H), 1.38-1.32 (m, 2 H), 1.06 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 (M+1).

Example 9: (3aR,4R,7S,7aR)-7a-Ethyl-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine trifluoroacetate

- 30 Iodomethane (1.0 mL, 16 mmol) was added to a solution of (3aR,4R,7S,7aR)-7a-ethyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (0.10 g, 0.52 mmol) in acetonitrile (3 mL), and the mixture was stirred at ambient temperature for 18 h. The reaction was concentrated and purified by HPLC, eluting with mixtures of 0.05% TFA in water and 0.05% TFA in acetonitrile.
- 35 Selected fractions were concentrated to obtain (3aR,4R,7S,7aR)-7a-ethyl-N,N-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine trifluoroacetate salt (16 mg). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.93 (s, 3 H), 2.91 (s, 3 H), 2.48-2.40

(m, 2 H), 2.19 (brs, 1 H), 2.05-1.95 (m, 1 H), 1.88-1.81 (m, 2 H), 1.76-1.52 (m, 7 H), 1.49-1.42 (m, 1 H), 1.38-1.32 (m, 2 H), 1.06 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 (M+1).

Example 10: N-Methyl-7a-propyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

5 A solution of spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-one (500 mg, 3.33 mmol) in THF (10 mL) was cooled to 0°C and a solution of 2.0 M n-propylmagnesium chloride in ether (5.0 mL, 10 mmol) was added drop-wise. The resulting solution was warmed slowly to ambient temperature and then
10 stirred at ambient temperature for 20 h. The reaction was quenched by addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL), concentrated. The residue was partitioned between water (30 mL) and dichloromethane (20 mL). The organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated to obtain 500 mg of 3-propylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol
15 (~60% pure by GCMS analysis). The 3-propylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol was dissolved in acetic acid (1.0 mL, 17 mmol) combined with sodium cyanide (185 mg, 3.62 mmol), and cooled in an ice bath. Sulfuric acid (1.0 mL, 19 mmol) was slowly added drop-wise, and then the reaction mixture was slowly warmed to
20 ambient temperature, at which temperature it was stirred for 18 h. The reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with dichloromethane (30 mL). The organic layer was washed with 10% aqueous sodium hydroxide (20 mL), dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated. The residue was dissolved in THF (30 mL), cooled in an ice
25 bath, and 1.0 M lithium aluminum hydride in THF (3.1 mL, 3.1 mmol) was slowly added. The reaction was then heated at reflux for 17 h, cooled in an ice bath, and slowly quenched with solid sodium sulfate decahydrate (5 g). The mixture was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was purified by HPLC, eluting with mixtures of 0.05% formic acid in water and
30 0.05% formic acid in acetonitrile. Product containing fractions were combined, made basic (to pH 9) by addition of 3 M aqueous sodium hydroxide and extracted with dichloromethane (30 mL). Aqueous hydrochloric acid (2 mL of 2.0 M) was added to the dichloromethane extract, and the mixture was concentrated and vacuum dried, leaving N-methyl-7a-propyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (120 mg) as white solid. ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.81 (s, 3 H), 2.51 (d, J = 2.8 Hz, 1 H), 2.27-2.16 (m, 2 H),
35

2.06-2.01 (m, 1 H), 1.86-1.32 (m, 13 H), 1.23-1.15 (m, 1 H), 1.04 (t, J = 7.0 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 (M+1).

Example 11: 7a-Butyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

- 5 To a solution of spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-one (4.0 g, 27 mmol) in THF (50 mL) at -78°C was slowly added n-butyllithium (16 mL of 2.5 M in hexanes, 40 mmol). The reaction was slowly warmed to ambient temperature (over a period of 4 h), slowly quenched with saturated aqueous ammonium chloride (20 mL), and concentrated. The residue was partitioned
- 10 between dichloromethane (100 mL) and water (50 mL). The organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated to obtain 3-butylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (5.5 g) as oil. To a solution of 3-butylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol (5.5 g, 26 mmol) in acetic acid (11.0 mL, 192 mmol) was added sodium cyanide
- 15 (2.02 g, 39.6 mmol), and the mixture was cooled in an ice bath. Sulfuric acid (12.0 mL, 225 mmol) was slowly added drop-wise, and then the reaction was slowly warmed to ambient temperature, at which temperature it was stirred for 18 h. The reaction was diluted with water (200 mL) and extracted with dichloromethane (100 mL). The organic layer was washed with 10% aqueous
- 20 sodium hydroxide (50 mL), dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated. The residue was dissolved in THF (60 mL), cooled in an ice bath, and treated drop-wise with 1.0 M lithium aluminum hydride in THF (53 mL, 53 mmol). The reaction was then refluxed for 17 h, cooled in an ice bath, and slowly quenched with solid sodium sulfate decahydrate (20 g). This
- 25 mixture was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was purified on a silica gel column, eluting with mixtures of chloroform / methanol / aqueous ammonia (9:1.0:0.1) in chloroform, to obtain 7a-butyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (4.74 g, 79% yield) as oil. To a solution of 7a-butyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine
- 30 (0.12 g, 0.54 mmol) in dichloromethane (2 mL) at 0°C was added concentrated hydrochloric acid (0.1 mL). The mixture was concentrated and vacuum dried to obtain 7a-butyl-N-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (0.11 g) as white solid.
- 35 ¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 2.80 (s, 3 H), 2.50 (d, J = 3.1 Hz, 1 H), 2.26-2.16 (m, 2 H), 2.07-2.00 (m, 1 H), 1.86-1.30 (m, 15 H), 1.24-1.16 (m, 1 H), 1.01 (t, J = 7.0 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 222 (M+1).

Example 12: N-d₂-methyl-7a-d₃-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

- A solution of spiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-one (5.20 g, 34.7 mmol) in THF (250 mL), in a 500 mL flask, was stirred at 25°C while d₃-methylmagnesium iodide (60 mL of 1.0 M in diethyl ether, 60.0 mmol) was added via syringe over a period of 5 min. The reaction was aged overnight at ambient temperature. Since LCMS analysis indicated that a small amount of starting material remained, an additional 5 mL (5.0 mmol) of the Grignard reagent was added and the solution stirred an additional 24 h. The THF was then removed under reduced pressure, and saturated aqueous ammonium chloride (200 mL) and dichloromethane (200 mL) were added to the residue. After thorough mixing and subsequent separation of the phases, the water layer was extracted with dichloromethane (2 x 150 mL). The combined organic layers were concentrated under reduced pressure, to give 3-d₃-methylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol, as a light yellow oil (6.0 g). This crude oil was carried on to the next step without further purification. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.20-2.08 (m, 2 H), 2.02-1.90 (m, 2 H), 1.80-1.56 (m, 5 H), 1.52-1.32 (m, 3 H), 1.32-1.20 (m, 2 H); GCMS (m/z): 170 (M+1).
- The 3-d₃-methylspiro[bicyclo[2.2.1]heptane-2,1'-cyclobutan]-3-ol was placed in a 500 mL flask and combined with acetic acid (15 mL) and sodium cyanide (3.10 g, 63.3 mmol). The flask was sealed with a rubber septum. The mixture was stirred at ambient temperature for 15 min and then was cooled to 0°C in an ice bath. Sulfuric acid (12 mL, 225 mmol) was added via a syringe over a 20 min period. The mixture was warmed slowly to ambient temperature and stirred overnight. The mixture was then diluted with water (250 mL) and extracted with dichloromethane (250 mL). The dichloromethane layer was washed with 2.0 M aqueous sodium hydroxide (200 mL) and then water (200 mL). Concentration of the organic layer gave a tan solid (7.10 g). The solid was purified on a silica gel column, eluting with mixtures of ethyl acetate in hexanes (25% - 100% ethyl acetate). Concentration of selected fractions gave N-(7a-d₃-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide (5.50 g, 84.2% yield). GCMS (m/z): 197 (M+1).
- The N-(7a-d₃-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-yl)formamide (5.50 g, 28.1 mmol) was dissolved in THF (50 mL) and was added to a 500 mL

flask containing a stirred mixture of lithium aluminum deuteride (4.00 g, 95.2 mmol) in THF (200 mL) at 0°C. The addition took 15 min. The mixture was refluxed for 9 h and then cooled to ambient temperature, where it was stirred overnight. The reaction was quenched with 2.0 M aqueous sodium hydroxide (15 mL), and the resulting mixture was filtered through diatomaceous earth. Separation and concentration of the THF layer gave N-d2-methyl-7a-d3-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine, as a colorless oil (4.70 g, 91.0% yield). GCMS (m/z): 185 (M+1).

To a solution of the N-d2-methyl-7a-d3-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine (4.70 g, 25.5 mmol) in methanol (100 mL) was added concentrated hydrochloric acid (5.0 mL, 60 mmol). After stirring for 10 min at ambient temperature, the solution was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in methanol (200 mL) and concentrated three successive times, leaving a tan solid. The solid was dried in a vacuum oven at 60°C for 6 h, providing N-d2-methyl-7a-d3-methyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (4.80 g, 85.5% yield). ¹H NMR (D₂O) δ 2.54 (s, 1 H), 2.25 (s, 1 H), 2.00-1.85 (m, 2 H), 1.70-1.30 (m, 9 H), 1.20-1.00 (m, 2 H); GCMS (m/z): 185 (M+1).

Example 13: 7a-(hydroxymethyl)octahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

To a solution of 1-cyclopentene-1,2-dicarboxylic anhydride (3.0 g, 22 mmol) in dry THF (10 mL) cooled to 0°C, was added freshly distilled cyclopentadiene (10 mL) and aluminum trichloride (80 mg, 0.60 mmol). The reaction was stirred for 30 min at 0°C and then placed in a freezer at 0°C - 5°C for 14 h. The reaction was then diluted with diethyl ether (50 mL) and washed with saturated aqueous sodium chloride (10 mL). The organic layer was separated, dried over anhydrous sodium sulfate, and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give a solid. The solid was washed with hexanes and filtered, to give hexahydro-1H-4,7-methano-3a,7a-(methanooxymethano)indene-8,10-dione (3.8 g, 86% yield).

To a solution of hexahydro-1H-4,7-methano-3a,7a-(methanooxymethano)indene-8,10-dione (2.5 g, 12 mmol) in methanol (20 mL) was added 0.2 g 10% Pd/C (wet). This mixture was shaken under a hydrogen atmosphere (50 psi) for 16 h at ambient temperature. The mixture was then filtered through a pad of diatomaceous earth, and the filter cake was washed with methanol. The filtrate was then concentrated, and the residue vacuum dried to yield a lightly colored solid. The solid was dissolved in dry

methanol (50 mL) and cooled in an ice bath. Sodium methoxide in methanol (13 mL of 25%, 48 mmol) was added to the reaction. The reaction was warmed to ambient temperature and stirred for 16 h. The mixture was concentrated by rotary evaporation, and the residue was partitioned between
5 6.0 M hydrochloric acid (20mL) and dichloromethane (50 mL). The dichloromethane layer was separated, and the aqueous layer washed with dichloromethane (2 x 20 mL). The combined dichloromethane layers were passed through a phase separator and concentrated, to yield 7a-(methoxycarbonyl)octahydro-4,7-methano-1H-indene-3a-carboxylic acid as a
10 light brown solid (2.9 g, ~100% yield).

To a stirred solution of 7a-(methoxycarbonyl)octahydro-4,7-methano-1H-indene-3a-carboxylic acid (2.9 g, 12 mmol) and triethylamine (1.5 g, 15 mmol) in dry toluene (40 mL) cooled in an ice bath, was added diphenyl phosphoryl azide (3.5 g, 13 mmol). The reaction was warmed to 90°C and stirred for 4 h.
15 The reaction was then cooled and concentrated by rotary evaporation. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with a 0-20% ethyl acetate in hexanes gradient over 12 column volumes. Selected fractions were combined and concentrated to dryness, yielding methyl 7a-isocyanatooctahydro-4,7-methano-1H-indene-3a-carboxylate as a white solid
20 (1.5 g, 52% yield).

A solution of methyl 7a-isocyanatooctahydro-4,7-methano-1H-indene-3a-carboxylate (1.0 g, 4.3 mmol) in THF (10 mL) was added to an ice-bath cooled mixture of lithium aluminum hydride (8.5 mL of 2 M in THF, 17 mmol) and THF (10mL). After addition, the reaction was warmed to 50°C and kept
25 there for 16h. The reaction was then cooled in an ice-bath and quenched with careful addition of water until a white slurry formed. The slurry was stirred in an ice-bath for 4 h before being filtered through a bed of diatomaceous earth. The filter cake was washed with ethyl acetate. The combined filtrates were washed with 6 M aqueous hydrochloric acid (3 x 15
30 mL), and the aqueous washes were combined and concentrated on a rotary evaporator to dryness. The resulting solid was dissolved with heating in 2-propanol, and diethyl ether was added until a precipitate was observed. The slurry was cooled in an ice-bath for 2 h, and the solids were collected by filtration and washed with ether. A second crop of material was isolated from
35 the mother liquors after reducing volume and standing at ambient temperature for 24 h. The isolated solids were dried to yield 7a-(hydroxymethyl)octahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

(0.64 g, 64% yield). ¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 3.60 (d, J=1 Hz, 1 H), 3.48 (d, J=1 Hz, 1 H), 2.55 (s, 3 H), 2.31 (d, J = 3 Hz, 1 H), 1.97 (bs, 2 H), 1.87 (d, J = 6 Hz, 1 H), 1.65 – 1.34 (m, 8 H), 1.19-1.07 (m, 2 H); LCMS (m/z): 196 (M+1).

Example 14: (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,7a-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

To a mixture of (3aS,4S,7R,7aS)-N,7a-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (0.13 g, 0.60 mmol) and potassium carbonate (0.42 g, 3.0 mmol) in acetonitrile (5 mL) was added iodomethane (0.86 g, 6.0 mmol). The reaction was capped tightly and stirred at 40°C for 3 h. The reaction was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was partitioned between dichloromethane (30 mL) and water (50 mL). The organic layer was separated, dried over sodium sulfate and filtered. To filtered organic layer was added concentrated hydrochloric acid (0.3 mL), and the mixture was concentrated to dryness, leaving (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,7a-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (104 mg), as a white solid. ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.88 (s, 3 H), 2.86 (s, 3 H), 2.45-2.38 (m, 2 H), 1.97 (brs, 1 H), 1.87-1.46 (m, 10 H), 1.34-1.26 (m, 4 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Example 15: (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,7a-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride

To a mixture of (3aR,4R,7S,7aR)-N,7a-dimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (0.18 g, 0.83 mmol) and potassium carbonate (0.58 g, 4.2 mmol) in acetonitrile (5 mL) was added iodomethane (1.2 g, 8.4 mmol). The reaction was capped tightly and stirred at 40°C for 3 h. The reaction was filtered, and the filtrate was concentrated. The residue was partitioned between dichloromethane (40 mL) and water (50 mL). The organic layer was separated, dried over sodium sulfate and filtered. To filtered organic layer was added concentrated hydrochloric acid (0.5 mL), and the mixture was concentrated to dryness, leaving (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,7a-trimethyloctahydro-4,7-methano-1H-inden-3a-amine hydrochloride (181 mg), as a white solid. ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2.88 (s, 3 H), 2.86 (s, 3 H), 2.45-2.38 (m, 2 H), 1.97 (brs, 1 H), 1.87-1.46 (m, 10 H), 1.34-1.26 (m, 4 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

VI. Biological Assays

35 Characterization of Interactions at Nicotinic Acetylcholine Receptors
Materials and methods

Cell lines. SH-EP1-human $\alpha 4\beta 2$ (Eaton et al., 2003), cell lines were obtained from Dr. Ron Lukas (Barrow Neurological Institute). Cells were maintained in proliferative growth phase in Dulbecco's modified Eagle's medium (Invitrogen, Carlsbad, California) with 10% horse serum (Invitrogen),
5 5% fetal bovine serum (HyClone, Logan UT), 1 mM sodium pyruvate, 4 mM L-glutamine. For maintenance of stable transfectants, the $\alpha 4\beta 2$ cell media was supplemented with 0.25 mg/mL zeocin and 0.13 mg/mL hygromycin B.

CHO-human $\alpha 7$ cells (obtained from ChanTest, Cleveland, OH, catalog #CT6201) were maintained in proliferative growth phase in Ham's
10 F12 (VWR) with 10% fetal bovine serum (Invitrogen), 0.25 mg/mL geneticin; 0.4 mg/ml zeocin. The amino acid sequences encoded by the transfected cDNA constructs used to generate the CHO-human $\alpha 7$ cells are identical to the translated sequences for GenBank accession numbers NM_000746.4 ($\alpha 7$) and NM_024557.4 (hRIC3).

15 CHO-human $\alpha 3\beta 4$ cells (obtained from ChanTest, Cleveland, OH, catalog #CT6021) were maintained in proliferative growth phase in Ham's F12 (VWR) with 10% fetal bovine serum (Invitrogen), 0.25 mg/mL geneticin; 0.4 mg/ml zeocin. The amino acid sequences encoded by the transfected cDNA constructs used to generate the CHO-human $\alpha 3\beta 4$ cells are identical to
20 the translated sequences for GenBank accession numbers NM_000743.2 and NM_000750.3, respectively.

Receptor Binding Assays

Preparation of membranes from clonal cell lines. Cells were harvested in ice-cold PBS, pH 7.4, then homogenized with a Polytron
25 (Kinematica GmbH, Switzerland). Homogenates were centrifuged at 40,000 g for 20 minutes (4°C). The pellet was re-suspended in PBS and protein concentration determined using the Pierce BCA Protein Assay kit (Pierce Biotechnology, Rockford, IL).

Competition binding to receptors in membrane preparations.

30 Binding to nicotinic receptors was assayed on membranes using standard methods adapted from published procedures (Lippiello and Fernandes 1986; Davies et al., 1999). In brief, membranes were reconstituted from frozen stocks and incubated for 2 h on ice in 150 μ l assay buffer (50mM Tris, 154mM NaCl, pH 7.4) in the presence of competitor compound (0.001 nM to 100 μ M)
35 and radioligand. [3 H]-nicotine (L-(-)-[N-methyl- 3 H]-nicotine, 69.5 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences, Waltham, MA) was used for human $\alpha 4\beta 2$ binding

studies. [³H]-epibatidine (52 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences) was used for binding studies at the other nicotinic receptor subtypes. Membrane source, radioligand, and radioligand concentration for each receptor target are listed in Table 3. Incubation was terminated by rapid filtration on a multimanifold tissue harvester (Brandel, Gaithersburg, MD) using GF/B filters presoaked in 0.33% polyethyleneimine (w/v) to reduce non-specific binding. Filters were washed 3 times with ice-cold assay buffer and the retained radioactivity was determined by liquid scintillation counting.

Table 1. Binding Parameters

Binding target	Membrane Source	Radioligand	Radioligand concentration (nM)
Nicotinic, human $\alpha 4\beta 2$	SH-EP1-Human $\alpha 4\beta 2$ cells	[³ H]nicotine	2
Nicotinic, human $\alpha 7$	CHO Human $\alpha 7$	[³ H]TC-12018	0.5
Nicotinic, human $\alpha 3\beta 4\alpha 5$	SH-SY5Y cells	[³ H]epibatidine	1
Nicotinic, human $\alpha 3\beta 4$	CHO Human $\alpha 3\beta 4$	[³ H]epibatidine	1

10

Binding data analysis. Binding data were expressed as percent total control binding. Replicates for each point were averaged and plotted against the log of drug concentration. The IC₅₀ (concentration of the compound that produces 50% inhibition of binding) was determined by least squares non-linear regression using GraphPad Prism software (GraphPAD, San Diego, CA). Ki was calculated using the Cheng-Prusoff equation (Cheng and Prusoff, 1973).

15

Calcium Flux Functional Assays

Forty-eight hours prior to each experiment, cells were plated in 96 well black-walled, clear bottom plates (Corning, Corning, NY) at 60 - 100,000 cells/well. On the day of the experiment, growth medium was gently removed, 200 μ L 1X FLIPR Calcium 4 Assay reagent (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) in assay buffer (20mM HEPES, 7 mM TRIS base, 4 mM CaCl₂, 5 mM D-glucose, 0.8 mM MgSO₄, 5 mM KCl, 0.8 mM MgCl₂, 120 mM N-methyl D-glucamine, 20 mM NaCl, pH 7.4 for SH-EP1-human $\alpha 4\beta 2$ cells or 10 mM HEPES, 2.5 mM CaCl₂, 5.6 mM D-glucose, 0.8 mM MgSO₄, 5.3 mM KCl, 138 mM NaCl, pH 7.4 with TRIS-base for all other cell lines) was added to each well and plates were incubated at 37°C for 1 hour (29°C for the 29°C-treated SH-EP1-human $\alpha 4\beta 2$ cells). For inhibition studies, competitor

25

compound (10 pM – 10 μ M) was added at the time of dye addition. The plates were removed from the incubator and allowed to equilibrate to room temperature. Plates were transferred to a FLIPR Tetra fluorometric imaging plate reader (Molecular Devices) for addition of compound and monitoring of fluorescence (excitation 485 nm, emission 525 nm). The amount of calcium flux was compared to both a positive (nicotine) and negative control (buffer alone). The positive control was defined as 100% response and the results of the test compounds were expressed as a percentage of the positive control. For inhibition studies, the agonist nicotine was used at concentrations of 1 μ M for SH-EP1-human α 4 β 2 treated at 29°C (HS), 10 μ M for SH-EP1-human α 4 β 2 maintained at 37°C (LS), and 20 μ M for SH-SY5Y cells or CHO_human α 3 β 4.

Patch Clamp Electrophysiology

Cell Handling. After removal of GH4C1-rat T6'S α 7 cells from the incubator, medium was aspirated, cells trypsinized for 3 minutes, gently triturated to detach them from the plate, washed twice with recording medium, and re-suspended in 2 ml of external solution (see below for composition). Cells were placed in the Dynaflo chip mount on the stage of an inverted Zeiss microscope (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY). On average, 5 minutes was necessary before the whole-cell recording configuration was established. To avoid modification of the cell conditions, a single cell was recorded per single load. To evoke short responses, compounds were applied for 0.5 s using a Dynaflo system (Celletricon, Inc., Gaithersburg, MD), where each channel delivered pressure-driven solutions at either 50 or 150 psi.

Electrophysiology. Conventional whole-cell current recordings were used. Glass microelectrodes (5-10 M Ω resistance) were used to form tight seals (>1 G Ω) on the cell surface until suction was applied to convert to conventional whole-cell recording. The cells were then voltage-clamped at holding potentials of -60 mV, and ion currents in response to application of ligands were measured. Whole-cell currents recorded with an Axon 700A amplifier were filtered at 1 kHz and sampled at 5 kHz by an ADC board 1440 (Molecular Devices). Whole-cell access resistance was less than 20 M Ω . Data acquisition of whole-cell currents was done using a Clampex 10 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA), and the results were plotted using Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). The experimental data are presented as the mean $\pm$ S.E.M., and comparisons of different conditions

were analyzed for statistical significance using Student's *t* and Two Way ANOVA tests. All experiments were performed at room temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Concentration-response profiles were fit to the Hill equation and analyzed using Prism 5.0.

5 **Solutions and Drug Application.** The standard external solution contained: 120 mM NaCl, 3 mM KCl, 2 mM MgCl_2 , 2 mM CaCl_2 , 25 mM D-glucose, and 10 mM HEPES and was adjusted to pH 7.4 with Tris base. Internal solution for whole-cell recordings consisted of: 110 mM Tris phosphate dibasic, 28 mM Tris base, 11 mM EGTA, 2 mM MgCl_2 , 0.1 mM
10 CaCl_2 , and 4 mM Mg-ATP, pH 7.3. (Liu et al., 2008). To initiate whole-cell current responses, compounds were delivered by moving cells from the control solution to agonist-containing solution and back so that solution exchange occurred within ~50 ms (based on 10–90% peak current rise times). Intervals between compound applications (0.5–1 min) were adjusted
15 specifically to ensure the stability of receptor responsiveness (without functional rundown), and the selection of pipette solutions used in most of the studies described here was made with the same objective. (-)-Nicotine and acetylcholine (ACh), were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). All drugs were prepared daily from stock solutions.

20 To determine the inhibition of ACh induced currents by compounds of the present invention, we established a stable baseline recording applying 70 μM ACh (usually stable 5-10 consecutive applications). Then ACh (70 μM) was co-applied with test compound in a concentration range of 1 nM to 10 μM . Since tail of the current (current measured at the end of 0.5 s ACh
25 application) underwent the most profound changes, inhibition and recovery plots represent amplitude of tail current.

Cross-comparisons, electrophysiology

Subclonal Human Epithelial- $\alpha 4\beta 2$ Cells. Established techniques were used to introduce human $\alpha 4$ (S452) and $\beta 2$ subunits (kindly provided by
30 Dr. Ortrud Steinlein, Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany) and subcloned into pcDNA3.1-zeocin and pcDNA3.1-hygromycin vectors, respectively, into native NNR-null SHEP1 cells to create the stably transfected, monoclonal subclonal human epithelial (SH-EP1)- $\alpha 4\beta 2$ cell line heterologously expressing human $\alpha 4\beta 2$
35 receptors. Cell cultures were maintained at low passage numbers (1–26 from frozen stocks to ensure the stable expression of the phenotype) in complete

medium augmented with 0.5 mg/ml zeocin and 0.4 mg/ml hygromycin (to provide a positive selection of transfectants) and passaged once weekly by splitting the just-confluent cultures 1:20 to maintain cells in proliferative growth. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction,

- 5 immunofluorescence, radioligand-binding assays, and isotopic ion flux assays were conducted recurrently to confirm the stable expression of $\alpha 4\beta 2$ NNRs as message, protein, ligand-binding sites, and functional receptors.

Cell Handling. Similar to that presented hereinabove, after removal from the incubator, the medium was aspirated, and cells were trypsinized for
10 3 min, washed thoroughly twice with recording medium, and resuspended in 2 ml of external solution (see below for composition). Cells were gently triturated to detach them from the plate and transferred into 4-ml test tubes from which cells were placed in the Dynaflo chip mount on the stage of an inverted Zeiss microscope (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY). On average, 5
15 min was necessary before the whole-cell recording configuration was established. To avoid modification of the cell conditions, a single cell was recorded per single load. To evoke short responses, agonists were applied using a Dynaflo system (Celletricon, Inc., Gaithersburg, MD), where each channel delivered pressure-driven solutions at either 50 or 150 psi.

20 **Electrophysiology.** Similar to that present hereinabove, conventional whole-cell current recordings, together with a computer-controlled Dynaflo system (Celletricon, Inc.) for fast application and removal of agonists, were used in these studies. In brief, the cells were placed in a silicon chip bath mount on an inverted microscope (Carl Zeiss Inc.). Cells chosen for analysis
25 were continuously perfused with standard external solution (60 μ l/ min). Glass microelectrodes (3–5 M Ω resistance between the pipette and extracellular solutions) were used to form tight seals (1 G Ω) on the cell surface until suction was applied to convert to conventional whole-cell recording. The cells were then voltage-clamped at holding potentials of -60 mV, and ion currents
30 in response to application of ligands were measured. Whole-cell currents recorded with an Axon 700A amplifier were filtered at 1 kHz and sampled at 5 kHz by an ADC board 1440 (Molecular Devices) and stored on the hard disk of a PC computer. Whole-cell access resistance was less than 20 M Ω . Data acquisition of whole-cell currents was done using a Clampex 10 (Molecular
35 Devices, Sunnyvale, CA), and the results were plotted using Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). The experimental data are presented as the mean $\pm$ S.E.M., and comparisons of different conditions

were analyzed for statistical significance using Student's *t* tests. All experiments were performed at room temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Concentration-response profiles were fit to the Hill equation and analyzed using Prism 5.0. No differences in the fraction of responsive cells could be detected among
 5 experimental conditions. More than 90% of the cells responded to acetylcholine (ACh), and every cell presenting a measurable current was taken into account. Cells were held at -60 mV throughout the experiment. All drugs were prepared daily from stock solutions.

Neuronal $\alpha 4\beta 2$ receptor dose-response curves could be described by
 10 the sum of two empirical Hill equations comparable with methods described previously (Covernton and Connolly, 2000):

$$y = I_{\max} \cdot \left\{ \alpha / (1 + (EC_{50H}/x)^{nH}) + (1 - \alpha) / (1 + (EC_{50L}/x)^{nH}) \right\} \quad (1)$$

where $I_{\max}$ is the maximal current amplitude, and x is the agonist concentration. EC_{50H} , $nH1$, and $\alpha 1$ are the half-effective concentration, the
 15 Hill coefficient, and the percentage of receptors in the HS state. EC_{50L} and $nH2$ are the half-effective concentration and the Hill coefficient in the LS state. In some cases, a single Hill equation,

$$y = I_{\max} \times \{1 / (1 + (EC_{50}/x)^{nH})\}$$

was used for comparison of the fit with eq. 1. $I_{\max}$, EC_{50} , and nH have the
 20 same meanings.

The time course of open-channel block of responses to $\alpha 4\beta 2$ agonists was analyzed using a monoexponential equation of the form:

$$Y = A \cdot \exp(-t/\tau) + B \quad (2)$$

where y is the current (in picoamperes), A is the control maximum peak
 25 current (in picoamperes), τ is the time constant (in milliseconds), B is the current at equilibrium (in picoamperes), and t is the time (in milliseconds).

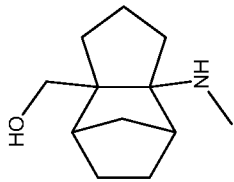
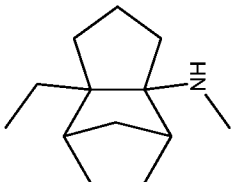
Solutions and Drug Application. The standard external solution contained: 120 mM NaCl, 3 mM KCl, 2 mM MgCl_2 , 2 mM CaCl_2 , 25 mM D-glucose, and 10 mM HEPES and was adjusted to pH 7.4 with Tris base. In
 30 the experiments, ACh was applied as an agonist without atropine because our experimental data showed that 1 μM atropine sulfate did not affect ACh-induced currents (not shown) and because atropine itself has been reported to lock nicotinic receptors (Liu et al., 2008). For all conventional whole-cell recordings, Tris electrodes were used and filled with solution containing: 110
 35 mM Tris phosphate dibasic, 28 mM Tris base, 11 mM EGTA, 2 mM MgCl_2 ,

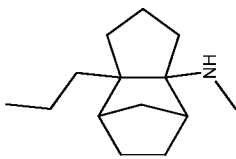
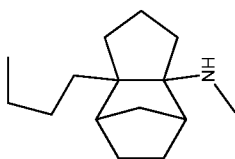
0.1 mM CaCl_2 , and 4 mM Mg-ATP, pH 7.3. To initiate whole-cell current responses, nicotinic agonists were delivered by moving cells from the control solution to agonist-containing solution and back so that solution exchange occurred within ~50 ms (based on 10–90% peak current rise times). Intervals
5 between drug applications (0.5–1 min) were adjusted specifically to ensure the stability of receptor responsiveness (without functional rundown), and the selection of pipette solutions used in most of the studies described here was made with the same objective. The drugs used in the present studies, including (-)-nicotine and ACh, were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis,
10 MO).

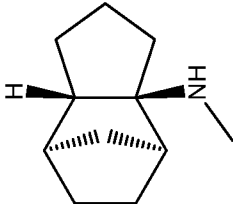
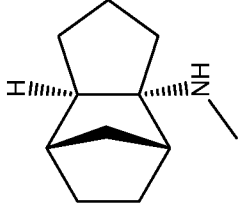
Tabulated Summary

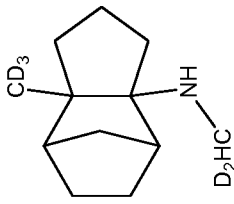
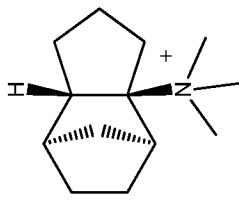
As shown in Table 2, compounds representative of the present invention typically exhibit inhibition constants (K_i values) for human $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, and ganglionic receptor subtypes in the 1–100 mM range, indicating a low affinity for
15 the orthosteric binding sites (i.e. the binding site of the competitive agonist) of these receptor subtypes. The data in Table 4, however, also illustrates that compounds representative of the present invention effectively inhibit ion flux for these receptor subtypes, with typical IC_{50} values of less than about 2 mM and typical I_{max} values of >95%. Taken together, this data demonstrates that
20 the compounds representative of this invention are effective at inhibiting ion flux mediated by these receptor subtypes through a mechanism that does not involve binding at the orthosteric sites.

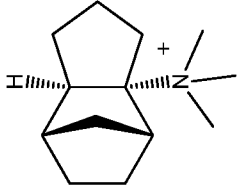
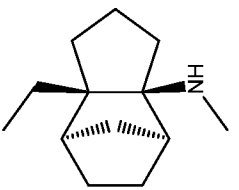
Table 2

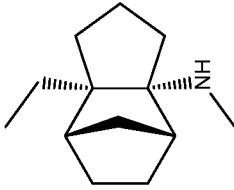
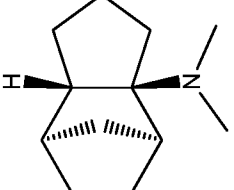
Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)	91	98
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)	200	20
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)		97
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)		220
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	90	97
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	380	170
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	99	100
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	370	430
Human Ganglion K _i (nM)	89000	100000
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)		75000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)		
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	31000	34000
Structure		

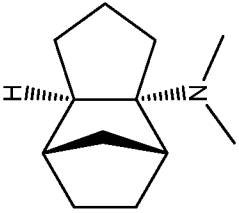
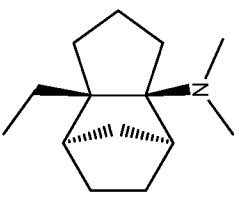
Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)	98	93
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)	30	24
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	96	96
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	130	300
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	96	96
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	170	140
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	100	99
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	210	460
Human Ganglion Ki (nM)	52000	100000
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ki (nM)	73000	74000
Human CHO $\alpha 7$ Ki (nM)		
Human $\alpha 4\beta 2$ Ki (nM)	29000	73000
Structure		

Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)	95	95
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)	380	490
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	97	97
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	490	660
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	96	96
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	340	380
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	96	97
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	550	380
Human Ganglion K _i (nM)	100000	70000
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)		80000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)		
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	33000	51000
Structure		

Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)	99	97
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)	83	1800
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)		
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	95	100
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	76	380
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)		
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)		
Human Ganglion K _i (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)	100000	13000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)	100000	
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	26000	8600
Structure	 Chemical structure of a bicyclic compound. It features a CD₃ group and a D₂HC group attached to the bicyclic system.	 Chemical structure of a bicyclic compound. It features a quaternary ammonium group (N⁺) attached to the bicyclic system.

Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)		
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	94	97
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	940	170
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	98	93
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	260	5000
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)		98
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)		600
Human Ganglion K _i (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)		56000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)		79000
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	6900	26000
Structure		

Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)		
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	97	97
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	120	230
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	94	98
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	6900	410
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	100	99
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	510	410
Human Ganglion K _i (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)	53000	16000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)	100000	
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	32000	47000
Structure		

Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)		
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	96	95
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	190	240
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	98	98
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	500	710
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	96	
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	510	
Human Ganglion K _i (nM)		
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ K _i (nM)	13000	91000
Human CHO $\alpha 7$ K _i (nM)		
Human $\alpha 4\beta 2$ K _i (nM)	20000	33000
Structure		

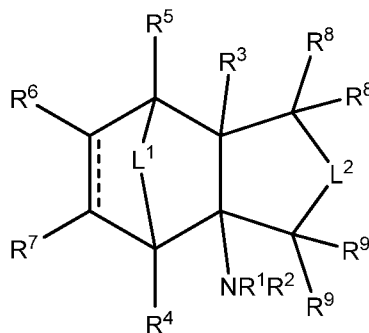
Human Ganglion Ca Flux I _{max} (% inh)	
Human Ganglion Ca Flux IC ₅₀ (nM)	
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux I _{max} (% inh)	96
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ca Flux IC ₅₀ (nM)	200
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [37C/LS] (% inh)	99
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [37C/LS] (nM)	370
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux I _{max} [29C/HS] (% inh)	
Human $\alpha 4\beta 2$ Ca Flux IC ₅₀ [29C/HS] (nM)	
Human Ganglion Ki (nM)	
Human CHO $\alpha 3\beta 4$ Ki (nM)	70000
Human CHO $\alpha 7$ Ki (nM)	
Human $\alpha 4\beta 2$ Ki (nM)	64000
Structure	

The specific pharmacological responses observed may vary according to and depending on the particular active compound selected or whether there are present pharmaceutical carriers, as well as the type of formulation and mode of administration employed, and such expected variations or differences in the results are contemplated in accordance with practice of the present invention.

Although specific embodiments of the present invention are herein illustrated and described in detail, the invention is not limited thereto. The above detailed descriptions are provided as exemplary of the present invention and should not be construed as constituting any limitation of the invention. Modifications will be obvious to those skilled in the art, and all modifications that do not depart from the spirit of the invention are intended to be included with the scope of the appended claims.

What is claimed is:

1. A compound of Formula I:



Formula I

wherein

- each of R¹ and R² individually is H, C₁₋₆ alkyl, or aryl-substituted C₁₋₆ alkyl, or R¹ and R² combine with the nitrogen atom to which they are attached to form a 3- to 8-membered ring, which ring may be optionally substituted with C₁₋₆ alkyl, aryl, C₁₋₆ alkoxy, or aryloxy substituents;

R³ is H, C₁₋₆ alkyl, hydroxyl-substituted C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy-substituted C₁₋₆ alkyl;

each of R⁴, R⁵, R⁶, and R⁷ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;

each R⁸ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;

each R⁹ individually is H, C₁₋₆ alkyl, or C₁₋₆ alkoxy;

each L¹ and L² individually is a linker species selected from the group consisting of CR¹⁰R¹¹, CR¹⁰R¹¹CR¹²R¹³, and O;

each of R¹⁰, R¹¹, R¹², and R¹³ individually is hydrogen or C₁₋₆ alkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. The compound of claim 1, wherein R¹ is H and R² is C₁₋₆ alkyl.

3. The compound of claims 1 or 2, wherein R³ is C₁₋₆ alkyl or hydroxyl-substituted C₁₋₆ alkyl.

4. The compound of any one of claims 1 – 3, wherein each of R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, and R⁹ is H.

5. The compound of any one of claims 1 – 4, wherein each of L^1 and L^2 is $CR^{10}R^{11}$, and each of R^{10} and R^{11} is hydrogen.
6. A pharmaceutical composition comprising a compound as claimed in
5 any one of claims 1 – 5 and a pharmaceutically acceptable carrier.
7. A method for the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic receptor comprising the administration of a compound as claimed in any one of claims 1 – 5.
10
8. The method of claim 7, wherein the disease or condition is IBS-D, OAB, nicotine addiction, smoking cessation, depression, major depressive disorder, or hypertension.
9. Use of a compound as claimed in any one of claims 1 – 5, for the preparation of a medicament for the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic receptor.
15
10. The use of claim 9, wherein the disease or condition is IBS-D, OAB,
20 nicotine addiction, smoking cessation, depression, major depressive disorder, or hypertension..
11. A compound as claimed in any one of claims 1 – 5, for use as an active therapeutic substance.
25
12. A compound as claimed in any one of claims 1 – 5, for use in the treatment or prevention of a disease or condition mediated by a neuronal nicotinic receptor.
13. The compound of claim 11 or 12, wherein the disease or condition is IBS-D, OAB, nicotine addiction, smoking cessation, depression, major depressive disorder, or hypertension.
30

(51) Clasificación Internacional de Patentes: No clasificada

(21) Solicitud de Patente Internacional Número:
PCT/US2012/062940

(22) Fecha de Presentación Internacional:
1 de noviembre de 2012 (1-11-2012)

(25) Idioma de presentación: Inglés

(26) Idioma de publicación: Inglés

(30) Datos de la Prioridad:
61/554.998 3 de noviembre de 2011 (3/11/2011) US

(71) Solicitante: **TARGACEPT, INC.** [US/US]; 200 East First Street, Suite 300, Winston-Salem, North Carolina 27101-4165 (US).

(72) Inventor; y

(75) Solicitante: **AKIREDDY, Srinivasa Rao.** [US/US]; 5829 Fox Point Circle, Winston-Salem, North Carolina 27104 (US).

(74) Agente: **FIX, Amy H.**, Womble Carlyle Sandridge & Rice, PLLC, Atención: Legajos de Patentes, P.O. Box 7037, Atlanta, Georgia 30357 (US).

(81) Estados Designados (salvo que se indique de otro modo, para todos los tipos de protección nacional existentes): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (excepto que se indique de otro modo, para todos los tipos de protección regional existentes): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasia (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europeo (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones Juradas conforme a la Norma 4.17:

-- en cuanto al derecho del solicitante de presentar una solicitud de patente y a que la misma le sea concedida. (Norma 4.17(ii))

-- en cuanto al derecho del solicitante de reivindicar prioridad de la solicitud de patente anterior (Norma 4.17(iii))

Publicada:

-- sin informe de búsqueda internacional y se publicará nuevamente cuando se reciba ese informe (Norma 48.2(g)).

(56) **Título:** MODULADORES NO COMPETITIVOS DE RECEPTORES NICOTÍNICOS

(57) **Resumen de la invención:** La presente invención se relaciona con compuestos que modulan receptores nicotínicos como antagonistas no competitivos, con métodos para su síntesis, con métodos para su uso, y con sus composiciones farmacéuticas.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De la AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Para: FIX, AMY H. P.O. BOX 7037 ATLANTA, GA 30357 ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	PCT NOTIFICACIÓN DE REMISIÓN DEL INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL Y DE LA OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL, O LA DECLARACIÓN (Norma 44.1 del PCT) Fecha de remisión (día/mes/año) 12 de marzo de 2013 (12-03-2013)
Referencia de archivo del Solicitante o Agente T1032940WO	PARA OTROS TRAMITES Véanse los párrafo 1 y 4 a continuación
Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2012/062940	Fecha de presentación internacional (día/mes/año): 1 de noviembre de 2012 (1-11- 2012)
Solicitante: TARGACEPT, INC. et al 1. [x] Por la presente se notifica al solicitante que el informe de búsqueda internacional y la opinión escrita de la Autoridad de Búsqueda Internacional se han establecido y se transmiten con la presente: Presentación de modificaciones y testimonio conforme al Artículo 19.	

El solicitante tiene derecho, si lo desea, de modificar las reivindicaciones de la solicitud de patente internacional (véase la Norma 46):

¿Cuándo? El plazo para presentar dichas modificaciones es normalmente de 2 meses desde la fecha de transmisión del Informe de Búsqueda Internacional.

¿Dónde? Directamente a la Oficina Internacional de la WIPO, 34, chemin de Colombettes, 1211 Ginebra 20, Suiza, Fax: (41-22)338-8270

Para obtener instrucciones más detalladas, véanse las notas en la página adjunta.

2. [] Por la presente se notifica al solicitante que no se establecerá informe de búsqueda internacional y que la declaración conforme al Artículo 17(2)(a) a tal efecto y la opinión escrita de la Autoridad de Búsqueda Internacional se transmiten con la presente.

3. [] Con respecto la protesta contra el pago de (un) arancel(es) adicionales conforme a la Norma 40.2, se notifica al solicitante que:

[] la protesta así como la resolución sobre ella ha sido transmitida a la Oficina Internacional junto con el pedido del solicitante de remitir los textos de la

protesta y de la resolución sobre ella a las Oficinas designadas.

[] aún no ha habido resolución sobre la protesta; el solicitante será notificado en cuanto haya una resolución.

4. Recordatorios:

Poco después de los **18 meses** desde la fecha de prioridad, la Oficina Internacional publicará la solicitud de patente internacional. Si el solicitante desea impedir o postergar la publicación, un escrito de retiro de la solicitud de patente internacional, o de la reivindicación de prioridad, deberán ser presentados ante la Oficina Internacional según lo previsto en las Normas 90bis.1 y 90bis.3, respectivamente, antes de la finalización de los preparativos técnicos para la publicación internacional.

El solicitante podrá presentar ante la Oficina Internacional observaciones en forma informal acerca de la opinión escrita de la Autoridad de Búsqueda Internacional. La Oficina Internacional remitirá una copia de esas observaciones a todas las oficinas designadas a menos que se haya establecido o se deba establecer un informe del examen preliminar internacional. Estas observaciones también estarían disponibles para el público pero no con anterioridad al vencimiento del plazo de 30 meses des de la fecha de

prioridad.

Dentro de los **19 meses** desde la fecha de prioridad, deberá presentarse un pedido de examen preliminar internacional si el solicitante desea postergar el ingreso en la fase nacional hasta los 30 meses desde la fecha de prioridad (en algunas Oficinas más); de lo contrario el solicitante deberá, dentro de los 20 meses, realizar los trámites previstos para el ingreso en la fase nacional ante aquellas Oficinas designadas. Con respecto a las demás Oficinas designadas, el plazo de 30 meses (o con posterioridad) será aplicable aún cuando no se presente ningún pedido dentro de los 19 meses.

Véase el Anexo al Formulario PCT/IB/301 y, para detalles acerca de los plazos aplicables, Oficina por Oficina, véase la Guía del Solicitante de PCT, Volumen II, Sedes Nacionales y el sitio de Internet de la WIPO.

Nombre y domicilio para correspondencia de la Autoridad de Búsqueda Internacional/KR Oficina de Propiedad Intelectual Coreana 189 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City 302-701, República de Corea Tel. 82-42-472-7140	Funcionario Autorizado: COMISARIO Número Telefónico: 82-42-481-8755
--	---

*Atención:

Las copias de los documentos citados en el informe de búsqueda internacional se podrán buscar en el siguiente sitio web en inglés de la Oficina de la Propiedad Intelectual de Corea durante tres meses desde la fecha de remisión del informe de búsqueda internacional.

<http://www.kipo.go.kr/en/> → PCT Services → PCT Services

ID: número de la solicitud de patente internacional PCT

Contraseña (PW): FZ8YT9VX

Las preguntas relacionadas con el Informe de Búsqueda Internacional PCT o la Opinión Escrita preparada por la Oficina de la Propiedad Intelectual de Corea (KIPO) como Autoridad de Búsqueda Internacional podrán ser respondidas no solamente por la KIPO sino también a través del IPKC (Centro Corea de la Propiedad Intelectual), sito en Vienna, VA, que funciona como Escritorio de Ayuda de PCT para solicitantes de PCT.

Página principal: <http://www.ipkcenter.com>

Correo electrónico: ipkc@ipkcenter.com

Número telefónico: +1 703 388 1066

Fax: +1 703 388 1084

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(Artículo 18 y Normas 43 y 44 del PCT)

Referencia de Archivo del Solicitante o agente: T1032940WO	PARA REALIZAR Véase Notificación de OTROS Transmisión de Informe de TRAMITES Búsqueda Internacional (Formulario PCT/ISA/220) y, si fuere aplicable, del punto 5 más abajo.	
Solicitud de Patente Internacional No: PCT/US2012/062940	Fecha de Presentación Internacional (día/mes/año): 1 de noviembre de 2012 (1- 11-2012)	Fecha de Prioridad (Más antigua) (día/mes/año): 3 de noviembre de 2011 (3- 11-2012)
Solicitante: TARGACEPT, INC. et al		
Este informe de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante conforme al Artículo 18. Se transmite una copia del mismo a la Oficina Internacional. Este informe de búsqueda internacional consta de <u>4</u> páginas. [] Está acompañado asimismo de una copia de cada documento de arte previo citado en el informe.		

1. Fundamento de Informe

a. Con respecto al **idioma**, la búsqueda internacional se llevó a cabo basada en:

☒ la solicitud de patente internacional en el idioma en que ésta se presentó.

☐ una traducción de la solicitud de patente internacional al _____, que es el idioma de la traducción provista para los fines de la búsqueda internacional (Normas 12.3(a) y 23.1(b)).

b. ☐ Este informe de búsqueda internacional se ha establecido tomando en cuenta la **rectificación de un error evidente** autorizada o notificada por a esta Autoridad conforme a la Norma 91 (Norma 43.6bis(a)).

c. ☐ Con respecto a cualquier **secuencia de nucleótidos y/o de aminoácidos** revelada en la solicitud de patente internacional, véase el Casillero N° I

2. ☒ **Ciertas reivindicaciones se consideraron no buscables** (Véase el Casillero N° II)

3. ☐ **Falta Unidad de Invención** (Véase el Casillero N° III).

4. Con respecto al **título**:

☒ el texto se aprueba tal como lo presentó el solicitante

☐ el texto ha sido establecido por esta Autoridad como sigue:

5. Con respecto al **resumen**:

☒ el texto es aprobado como lo presentó el solicitante

☐ el texto ha sido establecido, conforme a la Norma 38.2(b), por esta Autoridad como aparece en el Casillero N° IV. El Solicitante puede, dentro de un mes desde la fecha de remisión de este informe de búsqueda internacional, presentar comentarios ante esta Autoridad.

6. Con respecto a los **dibujos**,

a. La Lámina de **dibujos** que se publicará con el resumen es:

Figura No. ____.

☐ sugerida por el Solicitante

☐ seleccionada por esta Autoridad, debido a que el Solicitante no sugirió una Figura.

☐ seleccionada por esta Autoridad, debido a que ésta es la figura que mejor caracteriza a la invención

b. ☐ No se debe publicar ninguna de las figuras con el resumen.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL	Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2012/062940
-----------------------------------	---

Casillero N° II. Observaciones cuando ciertas reivindicaciones se consideraron no buscables (Continuación del punto 2 de la página 1).

El presente informe de búsqueda internacional no se ha establecido con respecto a ciertas reivindicaciones conforme a al Artículo 17(2)(a) por los siguientes motivos:

1. [x] Reivindicaciones N°: 7-8

porque se relacionan con un objeto que no se requiere que busque esta Autoridad, a saber:

Las reivindicaciones 7-8 se refieren a métodos de tratamiento del cuerpo humano mediante terapia y por lo tanto se relacionan con un objeto que esta Autoridad de Búsqueda Internacional no exige que se busquen, conforme al Artículo 17(2)(a)(1) y a la Norma 39.1(iv) de las Reglamentaciones del PCT.

2. [x] Reivindicaciones N°: 8, 10

porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos en tal magnitud que no se puede realizar una búsqueda significativa, específicamente:

Las reivindicaciones 8, 10 no se pueden buscar porque están

redactadas con referencia a varias reivindicaciones dependientes.

3. ☒ Reivindicaciones N°: 4-7, 9, 11-13

porque son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de acuerdo con la segunda y tercera oraciones de la Norma 6.4(a).

Casillero N° III. Observaciones cuando falta unidad de invención (Continuación del punto 3 de la página 1)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró varias invenciones en esta solicitud de patente internacional, a saber:

1. ☐ Como todos los aranceles de búsqueda adicionales se pagaron oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional abarca todas las reivindicaciones buscables.

2. ☐ Como las reivindicaciones buscables pudieron buscarse sin esfuerzo que justifique un arancel adicional, esta Autoridad no intima al pago de ningún arancel adicional.

3. ☐ Como ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales requeridos se pagaron oportunamente por el solicitante, este

informe de búsqueda internacional abarca solamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron aranceles, específicamente las reivindicaciones N°:

4. [] El solicitante no pagó ninguno de los aranceles de búsqueda adicionales. En consecuencia, este informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer lugar en las reivindicaciones; está abarcada por las reivindicaciones N°:

Observación Bajo Protesta:

[] Los aranceles de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante y cuando correspondía por el arancel de protesta

[] Los aranceles de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante pero el arancel de protesta aplicable no se pagó dentro del plazo especificado en la invención.

[] Ninguna protesta acompañó el pago de los aranceles de búsqueda adicionales.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL	Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2012/062940
A. Clasificación de la Materia: C07C 211/16 (2006.01)i, A61K 31/13 (2006.01)i, A61P 25/24 (2006.01)i, A61P 9/12 (2006.01)i De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o con la clasificación nacional e IPC.	
B. CAMPOS DE BÚSQUEDA	
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido por símbolos de clasificación) C07C 211/16; A61K 31/13; C07C 211/41; A61K 31/40; C07D 209/02	
Documentación buscada además de la documentación mínima en la medida en que tales documentos están incluidos en los campos de búsqueda: Modelos de utilidad y solicitudes de registros de modelos de utilidad coreanos Modelos de utilidad y solicitudes de registros de modelos de utilidad japoneses	
Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda usados): eKOMPASS(KIPO interna) y Palabras claves: receptor nicotínico, 4,7-metano-1H-inden-3a-amina	

C. Documentos Considerados Relevantes		
Categoría*	Cita de documento, indicando, si corresponde, los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación N°
X	US 3290215 A (GEORGE LEVITT et al.) 6 de diciembre de 1966. Véase la reivindicación 1; y el ejemplo 3.	1-2
X	US 3317387 A (WILLIAM W, PRICHARD et al.) 2 de mayo de 1967. Véanse las reivindicaciones 1, 7; y el ejemplo XI.	1-2
X	US 3290215 A (GEORGE LEVITT et al.) 06 December 1966 See claim 1; and example 3.	1-3
PX	WO 2011-149862 A1 (TARGACEPT, INC. et al.) 1 de diciembre de 2011. Véanse el resumen; y las reivindicaciones 1-4.	1-3
☐ Se mencionan otros documentos en la continuación del Casillero C. ☒ Véase el anexo de familia de patentes		

* Categorías especiales de "T": documento posterior documentos citados: publicado con posterioridad a

"A": documento que define el la fecha de presentación estado general del arte que no internacional o a la fecha de se considera de particular prioridad y que no está en relevancia conflicto con la solicitud

"E": documento anterior pero pero citado para comprender un publicado en la fecha de principio o teoría que presentación internacional o sustenta la invención.

con posterioridad a ella. "X": documento de particular

"L": documento que puede relevancia: la invención arrojar dudas sobre la reivindicada no puede reivindicación de prioridad o considerarse nueva o no puede que se cita para establecer la considerarse que implica una fecha de publicación de otra actividad inventiva cuando el cita o por otra razón especial documento se toma solo.

(especificada). "Y": documento de particular

"O": documento que refiere a relevancia: la invención una revelación oral, uso, reivindicada no puede exhibición u otro medio. considerarse que implica una

"P": documento publicado antes actividad inventiva cuando el de la fecha de presentación documento se combina con otro internacional pero con u otros documentos, siendo posterioridad a la fecha de dicha combinación obvia para

prioridad reivindicada.	un experto en el arte. "&": documento miembro de la misma familia de patentes.
Fecha de la finalización efectiva de la búsqueda internacional 11 de marzo de 2013 (11-03-2013)	Fecha de envío del informe de búsqueda internacional 12 de marzo de 2013 (12-11-2013)
Nombre y domicilio para correspondencia de la ISA/KR Oficina de Propiedad Intelectual Coreana 189 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City 302-701, República de Corea Tel. 82-42-472-7140	Funcionario Autorizado KIM, Jong Ho Nº Telefónico: 042-481-8657

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL Información sobre miembros de familia de patentes		Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2012/062940	
Documento de patente citado en informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de familia de patentes	Fecha de publicación
US 3290215 A	6-12-1966	Ninguno	
US 3317387 A	2-05-1967	Ninguno	
WO 03-080046 A1	2-10-2003	AR039008 A1	2-02-2005
		AU2003-216855 B2	18-08-2005
		CA 2474637 A1	2-10-2003
		CN 1638762 A	13-07-2005
		CN 1638762 CO	13-07-2005
		CO 5611104 A1	28-02-2006
		CO 5611104 A2	28-02-2006
		EP 1485086 A1	15-12-2004
		GE P20063954 B	25-10-2006
		IL 164041 DO	18-12-2005
		JP 04262606 B2	13-05-2009
		JP 2005-525385 A	25-08-2005
		JP 2005-525385 T	25-08-2005

		KR 10-0741257 B1	19-07-2007
		MX PA04007755 A	15-10-2004
		NO 20044481 A	20-10-2004
		PL 372701 A1	25-07-2005
		UA 77778 C2	15-12-2004
		WO 03-080046 A1	2-10-2003
		ZA 200406940 A	22-09-2005
WO 2011-149862 A1	1-12-2011	WO 2011-149859 ^a 1	1-12-2011

Formulario PCT/ISA/210 (anexo de familia de patentes) (julio de 2009)

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De la

AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Para: FIX, AMY H. P.O. BOX 7037 ATLANTA, GA 30357 ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA		PCT OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL (Norma 43bis.1 del PCT)	
		Fecha de remisión (día/mes/año) 12 de marzo de 2013 (12-03- 2013)	
Referencia de archivo del Solicitante o Agente T1032940WO		PARA OTROS TRAMITES Véase el párrafo 2 más abajo	
Solicitud de Patente Internacional No. PCT/US2012/062940	Fecha de Presentación internacional (día, mes, año) 1 de noviembre de 2012 (1-11-2012)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 3 de noviembre de 2011 (3-11-2011)	
Clasificación Internacional de Patente (IPC) o tanto clasificación nacional como IPC C07C 211/16 (2006.01)i, A61K31/13 (2006.01)i, A61P 25/24 (2006.01)i, A61P 9/12 (2006.01)i			
Solicitante TARGACEPT, INC. et al			
1. Esta opinión escrita contiene indicaciones relacionadas con			

los siguientes puntos:

☒ Casillero N° I. Fundamento del informe

☐ Casillero N° II. Prioridad

☒ Casillero N° III. No establecimiento de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial

☐ Casillero N° IV. Falta de unidad de invención

☒ Casillero N° V. Declaración fundamentada conforme al Artículo 35(2) sobre la novedad, la actividad inventiva o la aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que fundamentan dicha declaración.

☒ Casillero N° VI. Ciertos documentos citados

☒ Casillero N° VII. Ciertos defectos en la solicitud de patente internacional

☐ Casillero N° VIII. Ciertas Observaciones sobre la solicitud de patente internacional

2. OTRAS MEDIDAS

Si se presenta un pedido de informe preliminar internacional, esta opinión se considerará como la opinión escrita de la Autoridad de Examen de Búsqueda Internacional ("IPEA") excepto que ésta no corresponda cuando el solicitante elige una Autoridad diferente de ésta para que sea la IPEA y la IPEA elegida ha notificado a la Oficina Internacional conforme a la Norma 66.1bis(b) que la opinión escrita de esta Autoridad de Búsqueda Internacional no se considerará así.

Si esta opinión, proporcionada anteriormente, se considera la opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una contestación escrita junto con, cuando corresponda, enmiendas, con anterioridad al vencimiento de tres meses desde la fecha de la remisión del Formulario PCT/ISA/220 o con anterioridad al vencimiento de 22 meses desde la fecha de la prioridad, la que sea posterior.

Para más opciones, véase el Formulario PCT/ISA/220.

3. Para más detalles, véase las notas al Formulario PCT/ISA/220

Nombre y domicilio para correspondencia de la ISA//KR Oficina de la Propiedad Intelectual de Corea 189 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, República de Corea N° de Fax 82-42-472-7140	Fecha de finalización de esta opinión 11 de marzo de 2013 (11-03-2013)	Funcionario autorizado KIM, Jong Ho N° Telefónico: 042-481-8657
--	---	--

Formulario PCT/ISA/237 (Carátula) (Julio de 2011)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE
BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud de Patente
Internacional N°
PCT/US2012/062940

Casillero N° I. Fundamento de esta opinión.

1. Con respecto al **idioma**, esta opinión se ha establecido basada en:

☒ la solicitud de patente internacional en el idioma en que se presentó.

☐ una traducción de la solicitud de patente internacional al _____, que es el idioma de la traducción provista para los propósitos de la búsqueda internacional (Normas 12.3 y 23.1(b)).

2. ☐ Esta opinión se ha establecido tomando en cuenta la **rectificación de un error evidente** autorizada o notificada por esta autoridad conforme a la Norma 91 (Norma 43bis.1(a)).

3. Con respecto a todas **las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos** que se revelan en la solicitud de patente internacional, esta opinión se ha establecido basado en:

a. un listado de secuencias presentado o provisto

☐ en papel

☐ una forma electrónica

b. fecha de presentación o provisión

☐ contenido en la solicitud de patente internacional presentada

☐ presentado junto con la solicitud de patente internacional en forma electrónica

☐ provisto con posterioridad ante esta Autoridad con propósitos de búsqueda.

4. ☐ Además, en caso de que se haya presentado o provisto más de una versión o copia de un listado de secuencias, se prestaron las declaraciones requeridas de que la información de las copias posteriores o adicionales es idéntica a aquella de la solicitud de patente presentada o no va más allá de la solicitud de patente presentada, según corresponda.

5. Comentarios adicionales

OPINIÓN ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BÚSQUEDA
INTERNACIONAL

Solicitud de Patente Internacional N°
PCT/US 2012/062940

**Casillero N° III. No establecimiento de opinión sobre la
novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial**

Las cuestiones sobre si la invención reivindicada parece
novedosa, involucra un paso inventivo (no es obvia) o tiene
aplicabilidad industrial no se han examinado con respecto a:

☐ la solicitud de patente internacional completa

☒ las reivindicaciones N° 4-13

porque:

☒ la solicitud de patente internacional mencionada, o las
reivindicaciones mencionadas N° 7-8 se relacionan con el
siguiente objeto que no requiere una búsqueda internacional
(especifique):

El objeto de las reivindicaciones 7-8 no necesita una opinión
con respecto a la aplicabilidad industrial ya que se refiere a
un método de tratamiento (Normas 43 bis.1(b), Norma 67.1(iv)).

☒ la memoria descriptiva, las reivindicaciones o los dibujos

(indique los elementos particulares a continuación) o las reivindicaciones mencionadas N° 8, 10 son tan poco claras que no se pudo formar ninguna opinión sensata (especifique):

Las reivindicaciones 8, 10 son reivindicaciones que no se pueden buscar porque están redactadas con referencia a varias reivindicaciones dependientes.

☐ las reivindicaciones, o las reivindicaciones mencionadas N° _____ están tan insuficientemente respaldadas por la memoria descriptiva que no se pudo formar ninguna opinión sensata (especifique):

☒ no se ha establecido ningún informe de búsqueda internacional para la solicitud de patente internacional completa ni para las reivindicaciones mencionadas N° 4-13

☐ no se pudo formar ninguna opinión sensata sin el listado de secuencias, el solicitante, dentro del plazo establecido, no:

☐ proporcionó un listado de secuencias en papel que cumpla con la norma provista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estaba disponible para la Autoridad de Búsqueda Internacional en una forma y manera aceptable para ella.

☐ proporcionó un listado de secuencias en forma

electrónica que cumpla con la norma provista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad de Búsqueda Internacional en una forma y manera aceptable para ella.

[] pagó el arancel de presentación tardía establecido para la presentación de un listado de secuencias en respuesta a una invitación conforme a las Normas 13ter.1(a) o (b).

[] Véase el Casillero Suplementario para ver más detalles.

Solicitud de Patente
Internacional N°
PCT/US2010/041848

1. Declaración

Novedad (N) Reivindicaciones 3 Sí

Reivindicaciones 1-2 No

Actividad Inventiva (IS) Reivindicaciones NINGUNA Sí

Reivindicaciones 1-3 No

Aplicabilidad industrial (IA) Reivindicaciones 1-3 Sí

Reivindicaciones NINGUNA No

2. Citas y Explicaciones:

Se hace referencia en la presente opinión a los siguientes documentos:

D1: US 3290215 A (GEORGE LEVITT et al.) 6 de diciembre de 1966

D2: US 3317387 A (WILLIAM W. PRICHARD et al.) 2 de mayo de 1967

D3: WO 03-080046 A1 (MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA et al.) 2 de
octubre de 2003

La presente invención se relaciona con compuestos que modulan receptores nicotínicos como antagonistas no competitivos, con su uso y con sus composiciones farmacéuticas.

1. Novedad y Actividad Inventiva

1.1. Novedad

Los documentos D1 y D2 revelan compuestos individuales que son perjudiciales para la novedad de las presentes reivindicaciones 1, 2 (véanse D1, reivindicación 1 y ejemplo 3; D2, reivindicación 6 y ejemplo XI). Las reivindicaciones no aportan ningún elemento nuevo a la enseñanza técnica de acuerdo con D1 o D2, ni hay una declaración fundamentada en el documento del arte previo que disuada al experto en el arte de practicar la enseñanza técnica de D1 o D2 en la gama de superposición.

Por lo tanto, las reivindicaciones 1, 2 de la presente invención no cumplen con los requisitos del Artículo 33(2) del PCT.

1.2. Actividad Inventiva

El documento D3, que se considera que representa el estado del arte más cercano, revela derivados de aminociclohexano azabicíclico, azatricíclico, azaespirocíclico de la fórmula I

que actúan como antagonistas de receptores nicotínicos neuronales (véanse D3, reivindicaciones 1-8 y ejemplos). La diferencia entre los presentes compuestos de las reivindicaciones 1-3 y los compuestos revelados en D3 es el hecho de que los presentes compuestos tienen 4,7-metano-1H-inden-3-amina directamente no revelada por D3.

El problema que debe resolver la presente invención en vista del arte previo citado es proporcionar un antagonista de receptor nicotínico alternativo. Además, el reemplazo de los sustituyentes se hace comúnmente en el campo de la química farmacéutica o del tratamiento para una enfermedad mediada por

<Continúa en el Casillero Complementario>

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE
BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud de Patente
Internacional N°
PCT/US2010/041848

Casillero N° VI. Ciertos documentos citados

1. Ciertos documentos publicados (Norma 43.bis.1 y 70.10)

Solicitud de Patente N° Patente N°	Fecha de Publicación (día/mes/año)	Fecha de presentación (día/mes/año)	Fecha de prioridad (reivindicación válida) (día/mes/año)
P,X PCT/US2011/037634	1/12/2011	24/05/2011	27/05/2011

La solicitud de patente N° PCT/US2011/037634 (publicación N° WO 2011/149862 A1) no constituye arte previo dentro de la definición de la Norma 64.3 del PCT, pero parece revelar todas las características de las reivindicaciones 1-3.

2. Divulgaciones no escritas (Normas 43.bis.1 y 70.9)

Tipo de divulgación no escrita	Fecha de la divulgación no escrita (día/mes/año)	Fecha de divulgación escrita que se refiere a la divulgación no escrita (día/mes/año)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE
BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud de Patente
Internacional N°
PCT/US2010/062940

Casillero N° VII. Ciertos defectos en la solicitud de patente internacional

Se han observado los siguientes defectos en la forma o en el contenido de la solicitud de patente internacional:

Las reivindicaciones 4-7, 9, 11-13 no cumplen con la Norma 6.4(a) del PCT, porque varias reivindicaciones dependientes no deben servir como fundamento para ninguna otra reivindicación dependiente.

Formulario PCT/ISA/237 (Casillero N° VII) (julio de 2011)

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL	Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2010/041848
Casillero Complementario En caso de que el espacio en cualquiera de los casilleros precedentes sea insuficiente. Continuación de: Casillero V un receptor nicotínico neuronal, y el experto en el arte se vería motivado a contemplar la modificación de los derivados de aminociclohexano azabicíclico, azatricíclico, azaespirocíclico de D3 en la forma reivindicada con una expectativa razonable para llegar de ese modo a otros antagonistas de receptores nicotínicos. Para demostrar la actividad inventiva del objeto novedoso, el solicitante necesita probar un efecto muy mejorado de los compuestos novedosos basado en el ensayo comparativo. Sin embargo la presente solicitud de patente no demuestra que los compuestos reivindicados tienen algún efecto beneficioso inesperado comparados con aquellos de D3.	

En consecuencia, el objeto de las reivindicaciones 1-3 no cumple con los requisitos de la actividad inventiva conforme al Artículo 33(3) del PCT.

2. Aplicabilidad Industrial

El objeto de las reivindicaciones 1-3 de la presente solicitud de patente parece ser industrialmente aplicable de acuerdo con el Artículo 33(4) del PCT.

MODULADORES NO COMPETITIVOS DE RECEPTORES NICOTÍNICOS

Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

Los receptores nicotínicos son blancos para una gran cantidad de compuestos exógenos y endógenos que modulan en forma alostérica su función. Véase Arias, H. R., Sitios de unión para inhibidores no competitivos exógenos y endógenos del receptor nicotínico de acetilcolina, *Biochimica et Biophysica Acta - Revistas sobre Biomembranas* 1376: 173-220 (1998) y Arias, H. R., Bhumireddy, P., Anestésicos como herramientas químicas para estudiar la estructura y la función de los receptores nicotínicos de acetilcolina, *Ciencia Svyisñ de Proteínas y Péptidos* 6: 451-472 (2005). La función de los receptores nicotínicos se puede reducir o bloquear mediante compuestos estructuralmente diferentes denominados moduladores no

competitivos, que incluyen los antagonistas no competitivos (revisado por Arias, H.R., Bhumireddy, P., Bouzat, C., Mecanismos moleculares y ubicaciones de sitios de unión para antagonistas no competitivos de los receptores nicotínicos de acetilcolina. *El Diario Internacional de Bioquímica y Biología Celular* 38: 1254-1276 (2006)).

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

Un mecanismo de antagonista alostérico consiste en la unión de un antagonista no competitivo al receptor y la estabilización de un estado de conformación no conductor, a saber un estado latente o desensibilizado y/o un aumento en la velocidad de desensibilización del receptor.

En cambio, una representación directa de un mecanismo estérico es que una molécula de antagonista bloquea físicamente el canal de ion. Dichos antagonistas se pueden denominar moduladores de canales no competitivos (NCM). Algunos inhiben los receptores mediante la unión dentro del poro cuando el receptor está en estado abierto, bloqueando físicamente de ese modo la penetración de ion. Si bien algunos actúan como bloqueadores del canal abierto puro, otros bloquean los canales abiertos así como los cerrados. Dichos antagonistas inhiben el flujo de iones a través de un mecanismo que no consiste en la unión en los sitios ortoestéricos.

Se ha mostrado que los barbituratos, los anestésicos disociativos y determinados esteroides inhiben los receptores nicotínicos mediante mecanismos alostéricos, que incluyen el bloqueo de los canales abierto y cerrado. Los estudios de barbituratos respaldan un modelo mediante el cual la unión ocurre hacia estados abierto y cerrado de los receptores, que deriva en el bloqueo del flujo de iones. Véase, Dilger, J. P., Boguslavsky, R., Barann, M., Katz, T., Vidal, A. M., Mecanismos de inhibición de barbituratos de los canales de receptores de acetilcolina, *Diario de Fisiología General* 109: 401-414 (1997). Aunque la acción inhibidora de los anestésicos locales sobre la conducción del nervio está mediada por el bloqueo de los

canales de sodio controlados por tensión, los receptores nicotínicos también son blancos de los anestésicos locales. Véase Arias, H. R., Función de los anestésicos locales sobre los receptores ionotrópicos colinérgicos así como serotoninérgicos, *Revistas de Neurociencia y Conducta* 23: 817-843 (1999) y Arias, H. R y Blanton, M. P., Aspectos moleculares y fisicoquímicos de los anestésicos locales que actúan sobre las membranas que contienen receptores nicotínicos de acetilcolina, *Mini Revistas en Química Medica* 2: 385-410 (2002).

Por ejemplo, la tetraciclina se une a los canales de receptores en forma preferencial en el estado latente. Los anestésicos disociativos inhiben varios receptores nicotínicos de tipo neuronal en gamas de concentración clínicas, con ejemplos tales como fenciclidina (PCP) (Connolly, J., Boulter, J. y Heinemann, S. F., Alfa 4-beta 2 y otros subtipos de receptor nicotínico de acetilcolina como blancos de fármacos psicoactivos y adictivos, *Diario Británico de Farmacología* 105, 657-666 (1992)), ketamina (Flood, P. y Krasowski M. D., Anestésicos intravenosos modulan en forma diferencial los canales de iones controlados por tensión, *Anesthesiología* 92: 1418-1425 (2000); y Ho, K. K. y Flood, P., Residuo de aminoácido único en la parte extracelular del segmento transmembrana 2 en el receptor nicotínico de acetilcolina $\alpha 7$ modula la sensibilidad a ketamina,

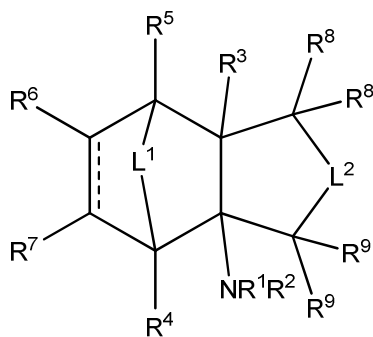
Anestesiología 100: 657-662 (2004)) y dizocilpina (Krasowski, M. D., & Harrison, N. L., Acciones de anestésicos generales sobre canales de iones controlados por ligandos, *Ciencias de la Vida Celular y Molecular* 55: 1278-1303 (1999)). Los estudios indican que los anestésicos disociativos se unen a un solo sitio o a sitios superpuestos en el canal de ion latente y sugieren que el lugar de ketamina/PCP se superpone parcialmente con el sitio de unión a tetraciclina en el canal del receptor. Dizocilpina, también denominada MK-801, es un anestésico disociativo y anticonvulsivo que también actúa como un antagonista no competitivo en receptores nicotínicos diferentes. Se informa que dizocilpina es un bloqueador de canal abierto de receptores nicotínicos neuronales $\alpha 4\beta 2$. Véase, Buisson, B., y Bertrand, D., Bloqueadores de canal abierto en el receptor nicotínico neuronal humano de acetilcolina $\alpha 4\beta 2$, *Farmacología Molecular* 53: 555-563 (1998).

Además de sus acciones conocidas sobre los sistemas de recaptación de monoamina y serotonina, también se ha mostrado que los antidepresivos modulan los receptores nicotínicos. Los primeros estudios mostraron que los antidepresivos tricíclicos actúan como antagonistas no competitivos. Véase, Gumilar, F., Arias, H.R., Spitzmaul, G., Bouzat, C., Mecanismos moleculares de inhibición de receptores nicotínicos de acetilcolina por

antidepresivos tricíclicos. *Neurofarmacología* 45: 964-76 (2003). García-Colunga et al., informan que la fluoxetina, un inhibidor de la recaptación selectiva de serotonina (SSRI), inhibe las corrientes de membrana producidas por la activación de los receptores nicotínicos musculares o neuronales en una forma no competitiva; aumentando la velocidad de desensibilización y/o induciendo el bloqueo de los canales. Véase García-Colunga, J., Awad, J. N., y Miledi, R., Bloqueo de receptores nicotínicos musculares y neuronales de acetilcolina por fluoxetina (Prozac), *Actas de la Reunión de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos* 94: 2041-2044 (1997); y García-Colunga, J., Vázquez-Gómez, E., y Miledi, R., Acciones combinadas del zinc y la fluoxetina sobre los receptores nicotínicos de acetilcolina, *El Diario de la Farmcogenómica* 4: 388-393 (2004). Mecamilamina, previamente aprobada para el tratamiento de la hipertensión, es un antagonista de receptor nicotínico no competitivo clásico y también se sabe que inhibe la función del receptor bloqueando el canal de ion. Véase Giniatullin, R.A., Sokolova, E.M., Di Angelantonio, S., Skorinkin, A., Talantova, M.V., Nistri, A. Alivio Rápido del Bloqueo por Mecamilamina de Receptores Nicotínicos Neuronales de Acetilcolina de Células de Cromafina de Rata In Vitro: Un Estudio Electrofisiológico y de Modelado. *Farmacología Molecular* 58: **778-787** (2000).

Resumen de la Invención

La presente invención incluye compuestos de la Fórmula I:



Fórmula I

en donde

cada uno de R¹ y R² es individualmente H, alquilo de C₁₋₆, o alquilo de C₁₋₆ sustituido con arilo, o R¹ y R² se combinan con el átomo de nitrógeno al cual están unidos para formar un anillo de 3 a 8 miembros, cuyo anillo se puede sustituir opcionalmente con sustituyentes de alquilo de C₁₋₆, arilo, alcoxi de C₁₋₆, o ariloxi;

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

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

cada R⁸ es individualmente H, alquilo de C₁₋₆, o alcoxi de C₁₋₆;

caa R^9 es individualmente H, alquilo de C_{1-6} , o alcoxi de C_{1-6} ;

cada L^1 y L^2 es individualmente una especie de conector seleccionada del grupo formado por $CR^{10}R^{11}$, $CR^{10}R^{11}CR^{12}R^{13}$, y O;

cada uno de R^{10} , R^{11} , R^{12} , y R^{13} es individualmente hidrógeno o alquilo de C_{1-6} ; y

o una sal farmacéuticamente aceptable de él.

La presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de él. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para tratar o prevenir una amplia gama de condiciones o trastornos y particularmente aquellos trastornos caracterizados por la disfunción de la neurotransmisión colinérgica nicotínica o la degeneración de las neuronas colinérgicas nicotínicas.

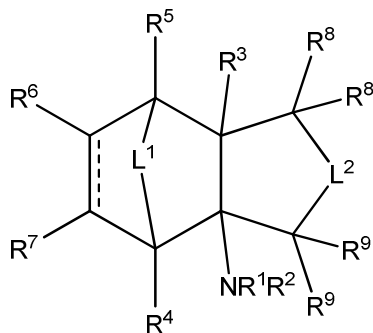
La presente invención incluye un método para tratar o prevenir trastornos o disfunciones, tales como trastornos y disfunciones del sistema nervioso central, y también para tratar o prevenir determinadas condiciones, por ejemplo, el alivio del dolor, hipertensión, e inflamación en mamíferos que necesitan dicho tratamiento. Los métodos consisten en la administración a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de

la presente invención, que incluye una sal de él o una composición farmacéutica que incluye dichos compuestos.

Descripción Detallada de la Invención

I. Compuestos

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



Fórmula I

en donde

cada uno de R¹ y R² es individualmente H, alquilo de C₁₋₆, o alquilo de C₁₋₆ sustituido con arilo, o R¹ y R² se combinan con el átomo de nitrógeno al cual están unidos para formar un anillo de 3 a 8 miembros, cuyo anillo se puede sustituir opcionalmente con sustituyentes de alquilo de C₁₋₆, arilo,

alcoxi de C₁₋₆, o ariloxi;

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

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

cada R⁸ es individualmente H, alquilo de C₁₋₆, o alcoxi de C₁₋₆;

caa R⁹ es individualmente H, alquilo de C₁₋₆, o alcoxi de C₁₋₆;

cada L¹ y L² es individualmente una especie de conector seleccionada del grupo formado por CR¹⁰R¹¹, CR¹⁰R¹¹CR¹²R¹³, y O;

cada uno de R¹⁰, R¹¹, R¹², y R¹³ es individualmente hidrógeno o alquilo de C₁₋₆; y

o una sal farmacéuticamente aceptable de él.

En una realización, un compuesto se selecciona del grupo formado por N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina y estereoisómeros de ella, o una sal farmacéuticamente aceptable de ellos.

En una realización, el compuesto es (3aS,4S,7R,7aS)-N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina o una sal farmacéuticamente aceptable de ella.

En una realización, el compuesto es (3aR,4R,7S,7aR)-N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina o una sal farmacéuticamente aceptable de ella.

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

Un aspecto de la presente invención incluye un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente a través del uso de moduladores no competitivos (por ejemplo, antagonistas no competitivos), que incluyen en forma no taxativa, bloqueadores de canales, que comprende la administración de un compuesto de la presente invención. En una realización, la enfermedad o condición es un trastorno del sistema nervioso central. En otra realización, la enfermedad o condición es inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o condición es el dolor. En otra realización, la enfermedad o condición es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o condición es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o condición es otro trastorno descrito en la presente.

Un aspecto de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente a través del uso de antagonistas no competitivos, tales como los bloqueadores de canales. En una realización, la enfermedad o condición es un trastorno del sistema nervioso central. En otra realización, la enfermedad o condición es inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o condición es el dolor. En otra realización, la enfermedad o condición es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o condición es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o condición es otro trastorno descrito en la presente.

Un aspecto de la presente invención incluye un compuesto de la presente invención para su uso como una sustancia terapéutica activa. Un aspecto, entonces, incluye un compuesto de la presente invención para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal, específicamente a través del uso de antagonistas no competitivos, tales como bloqueadores de canales. En una realización, la enfermedad o condición es un

trastorno del sistema nervioso central. En otra realización, la enfermedad o condición es la inflamación o una respuesta inflamatoria. En otra realización, la enfermedad o condición es el dolor. En otra realización, la enfermedad o condición es la neovascularización. En otra realización, la enfermedad o condición es la hipertensión. En otra realización, la enfermedad o condición es otro trastorno descrito en la presente.

Las enfermedades o condiciones particulares incluyen depresión que incluye trastorno depresivo mayor, hipertensión, síndrome de intestino irritable (IBS), que incluye IBS-D (diarrea predominante), vejiga sobrerreactiva (OAB), y adicción, que incluye dejar de fumar.

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

Las siguientes definiciones aclaran, en forma no taxativa, los términos definidos. Si un término particular usado en la presente no está definido específicamente, dicho término deberá considerarse indefinido. En cambio, los términos se usan dentro de sus definiciones aceptadas.

Como se usa en la presente, el número preferido de átomos, tales como átomos de carbono, está representado, por ejemplo, por la frase "alquilo de C_{x-y} ", que se refiere a un grupo alquilo, como se define en la presente, que contiene el número especificado de átomos de carbono. Una terminología similar es aplicable también para otros términos y gamas preferidas. Por lo tanto, por ejemplo, alquilo de C_{1-6} representa un hidrocarburo de cadena recta o ramificada que contiene de uno a seis átomos de carbono.

Como se usa en la presente, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo de cadena recta o ramificada, que opcionalmente se puede sustituir, con varios niveles de sustitución permitidos. Ejemplos de "alquilo" como se usa en la presente incluyen en forma no taxativa metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, n-butilo, terc-butilo, isopentilo y n-pentilo.

Como se usan en la presente, los términos "metileno", "etileno", y "etenileno" se refieren a las formas divalentes - CH_2 -, $-CH_2-CH_2-$, y $-CH=CH-$.

Como se usa en la presente, el término "arilo" se refiere a un anillo de benceno único o un sistema de anillo de benceno

fusionado que se puede sustituir opcionalmente, con varios niveles de sustitución permitidos. Ejemplos de grupos "arilo" como se usan incluyen, en forma no taxativa, fenilo, 2-naftilo, 1-naftilo, antraceno y fenantreno. Los anillos de arilo preferibles tienen de cinco a diez miembros.

Como se usa en la presente, un sistema de anillo de benceno fusionado comprendido dentro del término "arilo" incluye hidrocarburos policíclicos fusionados, a saber donde un hidrocarburo cíclico con menos de un número máximo de enlaces dobles no acumulados, por ejemplo donde un anillo de hidrocarburo saturado (cicloalquilo, tal como un anillo de ciclopentilo) se fusiona con un anillo aromático (arilo, tal como un anillo de benceno) para formar, por ejemplo, grupos tales como indanilo y acenaftalenilo y también incluye grupos tales como, como ejemplos no taxativos, dihidronaftaleno y tetrahidronaftaleno.

Como se usa en la presente el término "alcoxi" se refiere a un grupo $-OR^a$, en donde R^a es alquilo como se define en la presente.

Como se usa en la presente el término "ariloxi" se refiere a un grupo $-OR^a$, donde R^a es arilo como se define en la presente.

Como se usa en la presente, "amino" se refiere a un grupo $-NR^aR^b$, donde cada uno de R^a y R^b es hidrógeno. Además, "amino sustituido" se refiere a un grupo $-NR^aR^b$ en donde cada uno de R^a y R^b es individualmente alquilo, arilalquilo o arilo. Como se usa en la presente, cuando R^a o R^b es diferente de hidrógeno, dicho grupo se puede denominar "amino sustituido" o por ejemplo, si R^a es H y R^b es alquilo, un "alquilamino".

Como se usa en la presente, el término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a portador(es), diluyente(s), excipiente(s) o formas de sales de los compuestos de la presente invención que son compatibles con los demás ingredientes de la formulación y no son perjudiciales para el destinatario de la composición farmacéutica.

Como se usa en la presente, el término "composición farmacéutica" se refiere a un compuesto de la presente invención opcionalmente mezclado con uno o más portadores, diluyentes, excipientes o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas preferentemente presentan un nivel de estabilidad a las condiciones ambientales como para hacerlas adecuadas para fines de fabricación y comercialización.

Como se usan en la presente, los términos "cantidad eficaz", "cantidad terapéutica", o "dosis eficaz" se refieren a una cantidad del compuesto de la presente invención suficiente para producir los efectos farmacológicos o terapéuticos deseados, que por lo tanto derivan en el tratamiento eficaz de un trastorno. El tratamiento de un trastorno se puede manifestar retardando o impidiendo el inicio o el progreso del trastorno, así como el inicio o el progreso de los síntomas asociados al trastorno. El tratamiento de un trastorno se puede manifestar por una reducción o eliminación de síntomas, la inversión del progreso del trastorno, así como cualquier otro aporte al bienestar del paciente.

La dosis eficaz puede variar, según factores tales como la condición del paciente, la gravedad de los síntomas del trastorno, y la forma en la cual se administra la composición farmacéutica. Normalmente, para administrarlos en una dosis eficaz, los compuestos se pueden administrar en una cantidad menor de 5 mg/kg del peso del paciente. Los compuestos se pueden administrar en una cantidad desde menos de 1 mg/kg del peso del paciente hasta menos de 100 μ g/kg del peso del paciente y también entre 1 μ g/kg hasta menos de 100 μ g/kg del peso del paciente. Las dosis eficaces precedentes normalmente representan la cantidad que se puede administrar como una dosis

única, o como una o más dosis que se pueden administrar durante un período de 24 horas.

Los compuestos de esta invención se pueden fabricar mediante una variedad de métodos, que incluyen métodos sintéticos bien establecidos. Los métodos sintéticos generales ilustrativos se exponen a continuación y luego los compuestos específicos de la invención se preparan en los Ejemplos de elaboración.

En los ejemplos descritos a continuación, los grupos protectores para grupos sensibles o reactivos se emplean cuando es necesario de acuerdo con los principios generales de la química sintética. Los grupos protectores se manipulan de acuerdo con métodos estándar de síntesis orgánicas (T. W. Green y P. G. M. Wuts (1999), *Grupos Protectores en Síntesis Orgánicas*, 3^a Edición, John Wiley & Sons, que se incorpora como referencia con respecto a los grupos protectores). Estos grupos se eliminan en una etapa conveniente de la síntesis del compuesto usando métodos que son fácilmente evidentes para los expertos en el arte. La selección de procesos así como las condiciones de reacción y el orden de su ejecución coinciden con la preparación de compuestos de la presente invención.

La presente invención también provee un método para la síntesis de compuestos útiles como compuestos intermedios en la preparación de compuestos de la presente invención junto con métodos para su preparación.

Los compuestos se pueden preparar de acuerdo con los métodos descritos a continuación usando materiales de partida y reactivos fácilmente disponibles. En estas reacciones, se pueden emplear variantes que son ellas mismas conocidas para los expertos en el arte pero no se describen detalladamente en la presente.

A menos que se diga de otro modo, también se desea que las estructuras ilustradas en la presente incluyan compuestos que difieren solamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos en forma isotópica. Los compuestos que tienen la presente estructura excepto por el reemplazo de un átomo de hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo de un átomo de carbono por un átomo de carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C , están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, el deuterio se ha usado ampliamente para examinar la farmacocinética y el metabolismo de compuestos biológicamente activos. Aunque el deuterio se comporta en forma similar al hidrógeno desde una perspectiva química, existen diferencias importantes en las

energías de los enlaces y las longitudes de los enlaces entre un enlace de deuterio-carbono y un enlace de hidrógeno-carbono. En consecuencia, el reemplazo de hidrógeno por deuterio en un compuesto biológicamente activo puede derivar en un compuesto que generalmente retiene la potencia bioquímica y la selectividad pero manifiesta propiedades de absorción, distribución, metabolismo, y/o excreción (ADME) muy diferentes comparadas con su par libre de isótopos. Por lo tanto, la sustitución de deuterio puede derivar en una eficacia, seguridad, y/o tolerabilidad mejorada del fármaco para algunos compuestos biológicamente activos.

Los compuestos de la presente invención pueden cristalizarse en más de una forma, una característica denominada polimorfismo y dichas formas polimórficas ("polimorfos") están dentro del alcance de la presente invención. El polimorfismo generalmente puede ocurrir como una respuesta a cambios en la temperatura, la presión o ambas. El polimorfismo también puede derivar de variaciones en el proceso de cristalización. Los polimorfos se pueden distinguir por diferentes características físicas conocidas en el arte tales como los patrones de difracción de rayos X, la solubilidad, y el punto de fusión.

Ciertos compuestos descritos en la presente contienen uno o más centros quirales, o pueden de otro modo ser capaces de existir como estereoisómeros múltiples. El alcance de la presente invención incluye mezclas de estereoisómeros así como enantiómeros purificados o mezclas enriquecidas enantiomérica/diastereoméricamente. También están incluidos dentro del alcance de la invención los isómeros individuales de los compuestos representados por las fórmulas de la presente invención, así como mezclas total o parcialmente equilibradas de ellos. La presente invención también incluye los isómeros individuales de los compuestos representados por las fórmulas precedentes como mezclas con isómeros de ellos en donde uno o más centros quirales están invertidos.

Cunado se desea un compuesto como un enantiómero único, el mismo se puede obtener mediante síntesis estereoespecífica, mediante resolución del producto final o cualquier compuesto intermedio conveniente, o mediante métodos cromatográficos quirales que son conocidos en el arte. La resolución del producto final, un compuesto intermedio, o un material de partida se puede efectuar mediante cualquier método adecuado conocido en el arte. Véase, por ejemplo, *Estereoquímica de Compuestos Orgánicos* (Wiley-Interscience, 1994).

Las designaciones estereoquímicas se asignan en la presente de acuerdo con el centro de elución de los compuestos que se revelan en PCT/US2011/037634, que se incorpora en la presente como referencia.

La presente invención incluye una sal o un solvato de los compuestos descritos en la presente, que incluyen combinaciones de ellos tales como un solvato de una sal. Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas solvatadas, por ejemplo, hidratadas, así como formas no solvatadas, y la presente invención comprende todas esas formas.

Normalmente, pero no en forma absoluta, las sales de la presente invención son sales farmacéuticamente aceptables. Las sales comprendidas dentro del término "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a sales no tóxicas de los compuestos de la invención.

Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen sales de adición de ácidos inorgánicos tales como cloruro, bromuro, sulfato, fosfato, y nitrato, sales de adición de ácidos orgánicos tales como acetato, galactarato, propionato, succinato, lactato, glicolato, malato, tartrato, citrato, maleato, fumarato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato

y ascorbato, sales con aminoácido ácido tales como aspartato y glutamato, sales de metales alcalinos tales como sal de sodio y sal de potasio; sales de metales alcalinotérreos tales como sal de magnesio y sal de calcio; sal de amonio; sales básicas orgánicas tales como sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de dicitclohexilamina, y sal de N,N'-dibenciletilendiamina y sales con aminoácido básico tales como sal de lisina y sal de arginina. Las sales pueden ser en algunos casos hidratos o solvatos de etanol.

Los expertos en el arte de la química orgánica apreciarán que se puede dar más de un nombre sistemático a muchos compuestos orgánicos. Por lo tanto, el Compuesto VII, representativo de la presente invención y mostrado en el Esquema 1, se puede denominar N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina. El Compuesto VII también se puede denominar 3,7a-dimetilhexahidro-4,7-metanoindan-3a-amina o N,6-dimetiltriciclo[5.2.1.0^{2,6}]decan-2-amina. El alcance de la presente invención no se deberá considerar que carezca de claridad debido a varias convenciones de denominación potenciales posibles para los compuestos.

II. Métodos de Síntesis Generales

Los expertos en el arte de la síntesis orgánica apreciarán que existen muchos medios para producir compuestos de la presente invención, así como medios para producir compuestos de la presente invención que se marcan con un radioisótopo apropiado para diferentes usos.

Un medio para producir compuestos de la presente invención se describe en el Esquema 1. Por lo tanto, el noralcanfor (2-norbornanona) se puede alquilar adyacente a la funcionalidad de carbonilo, usando técnicas conocidas para los expertos en el arte de la síntesis orgánica. Normalmente, el tratamiento de la cetona con una base fuerte (por ejemplo, hidruro de sodio, alcóxido de sodio, amida de sodio) para formar un compuesto intermedio enolato, seguido por el tratamiento con un haluro o sulfonato de alquilo, se usa para dichas transformaciones. En ciertas condiciones, la alquilación se puede realizar con un α,ω -dihaloalcano (tal como 1,3-dibromopropano), de manera tal que se forme una ligadura de espiro. Si bien el Esquema 1 muestra la formación de un espirociclobutano (Compuesto II), otros tamaños de anillos (por ejemplo, espirociclopentano) también son accesibles de esta manera, usando otros α,ω -dihaloalcanos. La funcionalidad de carbonilo posteriormente se puede convertir en un metileno exocíclico (Compuesto III), usando la química de Wittig (o equivalente). El tratamiento de

compuestos exo-metileno con cianuro de hidrógeno (o reactivos similares, tales como tiocianatos) en la presencia de un ácido fuerte, puede proveer compuestos formamido terciario correspondientes (como en el Compuesto IV), en un proceso denominado reacción de Ritter. Hemos descubierto que, en ciertas condiciones de reacción, se forman los Compuestos IV y V y que, en otras condiciones de la reacción, el Compuesto V es el producto predominante. El Compuesto V presumiblemente surge de un proceso de reordenamiento. La reducción de los compuestos formamido, como una mezcla (espiro y fusionado) o individualmente, usando un agente reductor de hidruro, tal como hidruro de litio y aluminio o hidruro de sodio y bis(metoxietoxi)aluminio, da las aminas secundarias correspondientes. Los compuestos VI y VII, respectivamente.

Otro método para elaborar compuestos de la presente invención utiliza la química de Diels-Alder. Por lo tanto, como se muestra en el Esquema 2, la reacción de ciclopentadieno con ciclopentenil dienófilos (por ejemplo, alquil ciclopenteno-1-carboxilatos) provee aductos de Diels-Alder (Compuestos **X** y **VIII**, respectivamente) que se transforman fácilmente en compuestos de la presente invención. Dicha química de Diels-Alder se informa en la bibliografía; véanse, por ejemplo, Deleens et al., Tetrahedron Lett. 43: 4963-4968 (2002) y la

Patente Estadounidense N° 5.811.610. La conversión del Compuesto **VIII** en el Compuesto **IX** se puede realizar mediante la reducción secuencial del alqueno (usando condiciones de hidrogenación catalítica) y la hidrólisis del éster (usando una base acuosa). En forma similar, la conversión del Compuesto **X** en el Compuesto **XI** se puede lograr mediante la reducción secuencial del alqueno (usando condiciones de hidrogenación catalítica) y el grupo nitro (usando metal de estaño o hierro en ácido clorhídrico acuoso). Alternativamente, ambas reducciones se podrían lograr simultáneamente a través de la hidrogenación catalítica. El Compuesto **IX** también se puede convertir en el Compuesto **XI**, como lo describen Koch y Haaf, Liebigs Ann. Chem. 638: 111-121 (1960). Esta referencia también describe una síntesis del Compuesto **IX** desde dicitlopentadieno. Una síntesis alternativa del Compuesto **XI**, a través de la intermediación de la azida correspondiente, se describe en Zhdankin et al., J. Amer. Chem. Soc. 118: 5192-5197 (1996).

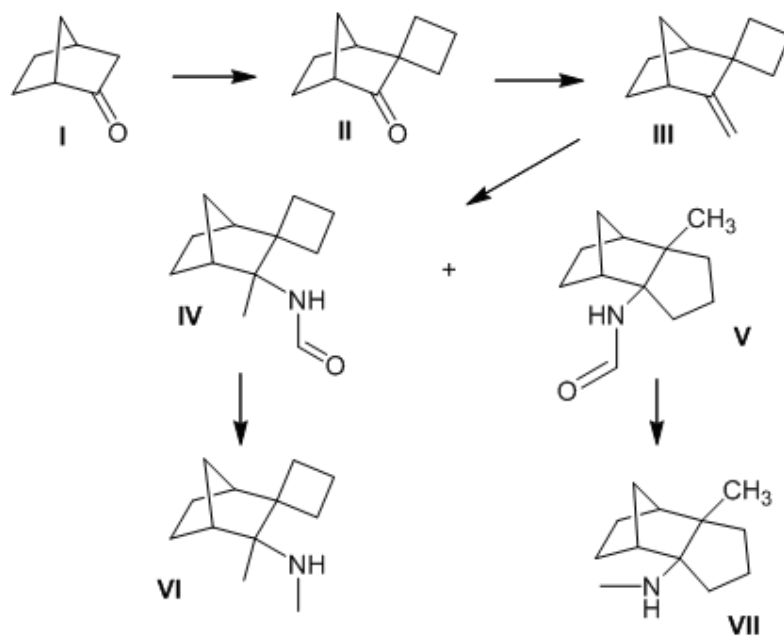
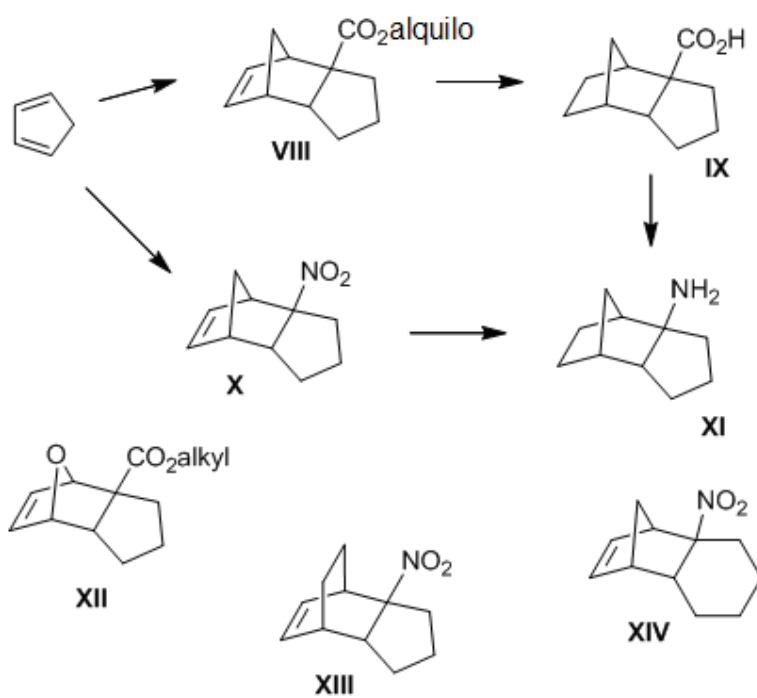
Los expertos en el arte de la síntesis orgánica apreciarán que las reacciones descritas inmediatamente antes y en el Esquema 2, son dóciles a la inclusión de ciertos sustituyentes. Por lo tanto, a través de la intermediación de versiones sustituidas de los Compuestos **VIII**, **IX** y **X**, se pueden elaborar versiones sustituidas del Compuesto **XI**. Los sustituyentes más apropiados

son aquellos que son compatibles con la química de Diels-Alder y la química posterior que deriva en el Compuesto XI. Los expertos en el arte apreciarán la importancia del número y la ubicación de los sustituyentes, ya que la reactividad de los componentes de la reacción de Diels-Alder (dieno y dienófilo) se puede ver muy afectada (positiva o negativamente) por la presencia de dichos sustituyentes. Por lo tanto, según dónde estén ubicados sobre el componente dieno o el componente dienófilo, dichos sustituyentes incluyen grupos alquilo, alcoxi, ariloxi, alcoxycarbonilo (carboalcoxi), nitro y nitrilo.

La reacción de Diels-Alder también es dócil al uso de una variedad de dienos cíclicos y dienófilos cíclicos. Por lo tanto, el aducto de Diels-Alder Compuesto XII (Esquema 2) se puede hacer mediante la reacción de furano con un alquil ciclopentadieno-1-carboxilato (similar a la química informada por Butler et al. Synlett 1:98-100 (2000)). El compuesto XIII se puede elaborar mediante la reacción de 1,3-ciclohexadieno con 1-nitrociclopenteno o un derivado de él (similar a la química informada por Fuji et al., Tetraedro: Asimetría 3: 609-612 (1992)), y el Compuesto XIV se puede elaborar mediante la reacción de ciclopentadieno con 1-nitrociclohexeno o un derivado de él (similar a la química informada por Deleens et

al, Tetrahedron Lett. 43: 4963-4968 (2002)). Los compuestos XII, XIII y XIV pueden luego transformarse nuevamente en compuestos de la presente invención, usando la química descrita anteriormente u otra química similar.

Las aminas primarias, tales como el compuesto XI, se pueden convertir en aminas secundarias a través de la intermediación de amidas y carbamatos. Por lo tanto, el tratamiento secuencial del compuesto XI con bicarbonato de di-terc-butilo e hidruro de litio y aluminio produce el derivado de N-metilo correspondiente. Dichos procesos también se pueden usar para convertir aminas secundarias en aminas terciarias. La presente invención incluye compuestos amina primaria, secundaria y terciaria.

Esquema 1**Esquema 2**

También es posible la incorporación de radioisótopos específicos. Por ejemplo, las reducciones de amidas y carbamidas, con agentes reductores de deuteruro de litio y aluminio o trituro de litio y aluminio pueden producir N-trideuterometil y N-tritritiometil aminas Alternativamente, la generación de una amida o carbamato, en donde el carbono de carbonilo es un átomo de ^{11}C , ^{13}C , o ^{14}C , seguido por la reducción con hidruro de litio y aluminio, produce una amina con el átomo de ^{11}C , ^{13}C , o ^{14}C , respectivamente, incorporado. La incorporación de radioisótopos específicos suele ser deseable en la preparación de compuestos que se deben usar en un escenario de diagnóstico (por ejemplo, como agentes de imágenes) o en estudios funcionales y metabólicos.

III. Composiciones Farmacéuticas

Aunque es posible administrar el compuesto de la presente invención en la forma de un compuesto químico activo global, se prefiere administrar el compuesto en la forma de una composición o formulación farmacéutica. Por lo tanto, un aspecto de la presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la Fórmula I y/o sales farmacéuticamente aceptables de ellos y uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente

aceptables. Otro aspecto de la invención provee un proceso para la preparación de una composición farmacéutica, que incluye mezclar uno o más compuestos de la Fórmula I y/o sales farmacéuticamente aceptables de ellos con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La manera en la cual se administra el compuesto de la presente invención puede variar. El compuesto de la presente invención preferentemente se administra oralmente. Las composiciones farmacéuticas preferidas para la administración oral incluyen tabletas, cápsulas, jarabes, soluciones y suspensiones. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden proveer en formas de dosificación de liberación modificada tales como formulaciones de tabletas y cápsulas de liberación en el tiempo.

Las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar a través de inyecciones, a saber en forma intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intraarterial, intratecal e intracerebroventricular. La administración intravenosa es un método preferido de inyección. Los portadores adecuados para la inyección son conocidos para los expertos en el arte e incluyen un 5% de soluciones de dextrosa, solución salina y solución salina con tampón de fosfato.

Las formulaciones también se pueden administrar usando otros medios, por ejemplo, la administración rectal. Las formulaciones útiles para la administración rectal, tales como supositorios, también son conocidas para los expertos en el arte. Los compuestos también pueden administrarse mediante inhalación, por ejemplo, en la forma de un aerosol; en forma tópica, por ejemplo en forma de loción; en forma transdérmica tal como usando un parche transdérmico (por ejemplo, usando la tecnología que está comercialmente disponible en Novartis y Alza Corporation), mediante inyección de polvo, o mediante absorción bucal, sublingual o intranasal.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular en forma de dosis unitaria, o en dosis múltiples o inferiores a la unitaria.

La administración de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente puede ser intermitente, o a una velocidad gradual, continua, constante o controlada. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un animal de sangre caliente, por ejemplo, un mamífero tal como un ratón, rata, gato, conejo, perro, cerdo, vaca, o mono, pero se administra ventajosamente a un ser humano. Además, el horario del día y la

cantidad de veces por día que se administra la composición farmacéutica pueden variar.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar en el tratamiento de una variedad de trastornos y condiciones y, como tal, se pueden usar en combinación con una variedad de otros agentes terapéuticos adecuados útiles en el tratamiento o la profilaxis de esos trastornos o condiciones. Por lo tanto, una realización de la presente invención incluye la administración del compuesto de la presente invención en combinación con otros compuestos terapéuticos. Por ejemplo, el compuesto de la presente invención se puede usar en combinación con otros ligandos de NNR (tales como vareniclina), moduladores alostéricos de NNR, antioxidantes (tales como agentes depuradores de radicales libres), agentes antibacterianos (tales como antibióticos de penicilina), agentes antivirales (tales como análogos de nucleósido, como zidovudina y aciclovir), anticoagulantes (tales como warfarina), agentes antiinflamatorios (tales como NSAID), antipiréticos, analgésicos, anestésicos (tales como los que se usan en cirugía), inhibidores de acetilcolinesterasa (tales como donepezil y galantamina), antipsicóticos (tales como haloperidol, clozapina, olanzapina, y quetiapina), inmunosupresores (tales como ciclosporina y metotrexato), agentes neuroprotectores, esteroides (tales como hormonas

esteroides), corticosteroides (tales como dexametasona, predisona, e hidrocortisona), vitaminas, minerales, nutracéuticos, antidepresivos (tales como imipramina, fluoxetina, paroxetina, escitalopram, sertralina, venlafaxina, y duloxetina), ansiolíticos (tales como alprazolam y buspirona), anticonvulsivos (tales como fenitoína y gabapentina), vasodilatadores (tales como prazosina y sildenafil), estabilizadores del humor (tales como valproato y aripiprazol), fármacos anticáncer (tales como antiproliferativos), agentes antihipertensivos (tales como atenolol, clonidina, amlopidina, verapamil, y olmesartán), laxantes, ablandadores de heces, diuréticos (tales como furosemida), antiespasmódicos (tales como diciclomina), agentes antidiscinésicos, y medicaciones antiúlceras (tales como esomeprazol). Tal combinación de agentes farmacéuticamente activos se pueden administrar juntos o por separado y, cuando se administran por separado, la administración puede ocurrir en forma simultánea o secuencial, en cualquier orden. Las cantidades de los compuestos o agentes y los tiempos relativos de administración se seleccionarán para obtener el efecto terapéutico deseado. La administración en combinación de un compuesto de la presente invención con otros agentes de tratamiento puede ser en combinación mediante la administración en forma concomitante con: (1) una composición farmacéutica

unitaria que incluye ambos compuestos, o (2) composiciones farmacéuticas por separado cada una de las cuales incluye uno de los compuestos. Alternativamente, la combinación se puede administrar por separado en una forma secuencial en donde un agente de tratamiento se administra en primer lugar y el otro en segundo lugar. Dicha administración secuencial puede ser cercana en el tiempo o remota en el tiempo.

Otro aspecto de la presente invención incluye la terapia de combinación que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del compuesto de la presente invención y una o más terapias adicionales que incluyen quimioterapia, terapia de radiación, terapia génica, o inmunoterapia.

IV. Método de Uso de las Composiciones Farmacéuticas

Los compuestos de la presente invención se pueden usar para la prevención o el tratamiento de diferentes condiciones o trastornos para los cuales se han propuesto otros tipos de compuestos nicotínicos o se muestra que son útiles como agentes terapéuticos, tales como trastornos del sistema nervioso central, inflamación, respuesta inflamatoria asociada a una infección bacteriana y/o viral, dolor, síndrome metabólico,

trastornos autoinmunes, adicciones, obesidad u otros trastornos descritos más detalladamente en la presente. Este compuesto también se puede usar como un agente de diagnóstico (in Vitro e in vivo). Dichos agentes terapéuticos y otras enseñanzas se describen, por ejemplo, en las referencias enumeradas previamente en la presente, que incluyen Williams et al., *Drug News Perspec.* **7(4)**: 205 (1994), Arneric et al., *CNS Drug Rev.* **1(1)**: 1-26 (1995), Arneric et al., *Exp. Opin. Invest. Drugs* **5(1)**: 79-100 (1996), Bencherif et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **279**: 1413 (1996), Lippiello et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **279**: 1422 (1996), Damaj et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **291**: 390 (1999); Chiari et al., *Anestesiología* **91**: 1447 (1999), Lavand'homme y Eisenbach, *Anestesiología* **91**: 1455 (1999), Holladay et al., *J. Med. Chem.* **40(28)**: 4169-94 (1997), Bannon et al., *Ciencia* **279**: 77 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, y las Patentes Estadounidenses N° 5.583.140 de Bencherif et al., 5.597.919 de Dull et al., 5.604.231 de Smith et al. y 5.852.041 de Cosford et al.

Trastornos del Sistema Nervioso Central

Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas son útiles en el tratamiento o la prevención de una variedad de trastornos del sistema nervioso central, que incluyen trastornos

neurodegenerativos, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos neurológicos, y adicciones. Los compuestos y sus composiciones farmacéuticas se pueden usar para tratar o prevenir déficits y disfunciones cognitivas, relacionadas con la edad y de otro modo, trastornos de la atención y demencias, que incluyen aquellas provocadas por agentes infecciosos o perturbaciones metabólicas; proveer neuroprotección; tratar convulsiones e infartos cerebrales múltiples; tratar trastornos del humor, compulsiones y conductas adictivas; proveer analgesia; controlar la inflamación, tal como la mediada por citoquinas y factor nuclear kappa B; tratar trastornos inflamatorios; proveer alivio del dolor; y tratar infecciones, como agentes antiinfecciosos para tratar infecciones bacterianas, fúngicas y virales. Entre los trastornos, las enfermedades y las condiciones para cuyo tratamiento o prevención se pueden usar los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención están: deterioro de la memoria asociado a la edad (AAMI), deterioro cognitivo leve (MCI), decadencia cognitiva relacionada con la edad (ARCD), demencia presenil, enfermedad de Alzheimer de inicio temprano, demencia senil, demencia del tipo de Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo que no es demencia (CIND), demencia de los cuerpos de Lewy, demencia relacionada con el VIH, complejo de SIDA y demencia, demencia vascular, síndrome de Down, trauma de la cabeza,

lesión cerebral traumática (TBI), demencia pugilística, Enfermedad de Creutzfeld-Jacob y enfermedades priónicas, ataque, isquemia central, isquemia periférica, trastorno de déficit de atención, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, dislexia, esquizofrenia, trastorno esquizofeniforme, trastorno esquizoafectivo, disfunción cognitiva en la esquizofrenia, déficits cognitivos en la esquizofrenia, Parkinsonismo que incluye la enfermedad de Parkinson, parkinsonismo postencefalítico, parkinsonismo y demencia de Guam, Tipo de Parkinson de demencia frontotemporal (PTDP), enfermedad de Pick, Enfermedad de Niemann-Pick, Enfermedad de Huntington, corea de Huntington, discinesia tardía, distonía espástica, hipercinesia, parálisis supranuclear progresiva, paresia supranuclear progresiva, síndrome de pierna inquieta, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de las neuronas motoras (MND), atrofia de sistemas múltiples, degeneración corticobasal, Síndrome de Guillain-Barré (GBS), y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), epilepsia, epilepsia del lóbulo frontal nocturna dominante autosómica, manías, ansiedad, depresión que incluye trastorno depresivo mayor (MDD), disforia premenstrual, trastornos de pánico, bulimia, anorexia, narcolepsia, somnolencia diurna excesiva, trastornos bipolares, trastorno de

ansiedad generalizada, trastorno obsesivo compulsivo, ataques de rabia, trastorno de conducta, trastorno de oposición desafiante, síndrome de Tourette, autismo, adicción a las drogas y al alcohol, adicción al tabaco, y por lo tanto es útil como un agente para dejar de fumar, sobrerreacción compulsiva y disfunción sexual.

Los deterioros o las disfunciones cognitivas pueden estar asociadas a trastornos o condiciones sicóticas, tales como esquizofrenia y otros trastornos sicóticos, que incluyen en forma no taxativa el trastorno sicótico, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno delirante, trastorno sicótico breve, trastorno sicótico compartido, y trastornos sicóticos debido a condiciones médicas generales, demencias y otros trastornos cognitivos, que incluyen en forma no taxativa deterioro cognitivo leve, demencia presenil, enfermedad de Alzheimer, demencia senil, demencia del tipo de Alzheimer, deterioro de la memoria relacionado con la edad, demencia de los cuerpos de Lewy, demencia vascular, complejo de SIDA y demencia, dislexia, Parkinsonismo que incluye la enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo y demencia de la Enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo de la esclerosis múltiple, deterioro cognitivo provocado por una lesión cerebral traumática, demencias debido

a otras condiciones médicas generales, trastornos de ansiedad, que incluyen en forma no taxativa trastorno de pánico sin agorafobia, trastorno de pánico con agorafobia, agorafobia sin antecedentes de trastorno de pánico, fobias específicas, fobias sociales, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de estrés agudo, trastorno de ansiedad generalizada y trastorno de ansiedad generalizada debido a una condición médica general, trastornos del humor, que incluyen en forma no taxativa trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión bipolar, manía bipolar, trastorno bipolar I, depresión asociada a episodios maníacos, depresivos o mixtos, trastorno bipolar II, trastorno ciclotímico, y trastornos del humor debido a condiciones médicas generales, trastornos del sueño, que incluyen en forma no taxativa trastornos de disomnio, insomnio primario, hipersomnio primario, narcolepsia, trastornos de parasomnio, trastornos de pesadillas, trastorno de terror del sueño y trastorno de sonambulismo, retardo mental, trastornos del aprendizaje, trastornos de habilidades motoras, trastornos de la comunicación, trastornos penetrantes del desarrollo, trastornos de déficit de atención y de conducta perturbadora, trastorno de déficit de atención, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, trastornos de la alimentación de la infancia, la niñez o de la adultez, trastornos de tics, trastornos de

eliminación, trastornos relacionados con drogas, que incluyen en forma no taxativa dependencia de las drogas, abuso de drogas, intoxicación con drogas, abstinencia de drogas, trastornos relacionados con el alcohol, trastornos relacionados con anfetaminas o similares a anfetaminas, trastornos relacionados con la cafeína, trastornos relacionados con la marihuana, trastornos relacionados con la cocaína, trastornos relacionados con alucinógenos, trastornos relacionados con inhaladores, trastornos relacionados con la nicotina, trastornos relacionados con opioides, trastornos relacionados con fenciclidina o similares a fenciclidina, y trastornos relacionados con sedantes hipnóticos o ansiolíticos, trastornos de personalidad, que incluyen en forma no taxativa trastorno de personalidad obsesivo compulsivo y trastornos de control de los impulsos.

El desempeño cognitivo se puede evaluar con una escala cognitiva validada, tal como, por ejemplo, la subescala cognitiva de la Escala para la Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer (ADAS-cog). Una medida de la eficacia de los compuestos de la presente invención en la mejora de la cognición puede incluir medir el nivel de cambio de un paciente de acuerdo a dicha escala.

Con respecto a las compulsiones y conductas adictivas, los compuestos de la presente invención se pueden usar como una terapia para la adicción a la nicotina, que incluye como un agente para dejar de fumar, y para otros trastornos de recompensa cerebral, tales como el abuso de drogas que incluye la adicción al alcohol, la adicción a drogas ilícitas y de expendio con receta, trastornos de la alimentación, que incluyen obesidad, y adicciones a conductas, tales como el juego, u otras manifestaciones de adicciones a conducta similares.

Las condiciones y trastornos precedentes se discuten más detalladamente, por ejemplo, en el Manual de Diagnóstico y Estadísticas de Trastornos Mentales de la Asociación Psiquiátrica Americana, Cuarta Edición, Revisión del Texto, Washington, DC, Asociación Psiquiátrica Americana, 2000. También se puede recurrir a este manual para más detalles sobre los síntomas y características de diagnóstico asociados al uso, abuso y dependencia de drogas.

Inflamación

Se sabe que el sistema nervioso, principalmente a través del nervio vago regula la magnitud de la respuesta inmune innata inhibiendo la liberación del factor de necrosis tumoral de

macrófagos (TNF). Este mecanismo fisiológico se denomina "vía antiinflamatoria colinérgica" (véase, por ejemplo, Tracey, "El reflejo inflamatorio", *Naturaleza* **420**: 853-9 (2002). La inflamación excesiva y la síntesis del factor de necrosis tumoral provocan morbilidad y aún mortalidad en una variedad de enfermedades. Estas enfermedades incluyen, en forma no taxativa, endotoxemia, artritis reumatoide, osteoartritis, soriasis, asma, aterosclerosis, fibrosis pulmonar idiopática, y enfermedad intestinal inflamatoria.

Las condiciones inflamatorias que se pueden tratar o prevenir administrando los compuestos descritos en la presente incluyen, en forma no taxativa, inflamación crónica y aguda, soriasis, endotoxemia, gota, pseudogota aguda, artritis gotosa aguda, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, rechazo de aloinjerto, rechazo de transplante crónico, asma, aterosclerosis, lesión pulmonar dependiente de fagocito mononuclear, fibrosis pulmonar idiopática, dermatitis atópica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de insuficiencia respiratoria adulta, síndrome de pecho agudo en la enfermedad de las células falciformes, enfermedad intestinal inflamatoria, síndrome de intestino irritable que incluye IBS con diarrea predominante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colangitis aguda, estomatitis aftosa, caquexia.

pouchitis, glomerulonefritis, nefritis de lupus, trombosis, rechazo del huésped al injerto.

Respuesta Inflamatoria Asociada a una Infección Bacteriana y/o Viral

Muchas infecciones bacterianas y/o virales están asociadas a efectos colaterales provocados por la formación de toxinas, y la respuesta natural del cuerpo a las bacterias o virus y/o las toxinas. Como se discutió anteriormente, la respuesta del cuerpo a la infección frecuentemente consiste en la generación de una cantidad importante de TNF y/u otras citoquinas. La sobreexpresión de estas citoquinas puede derivar en una lesión importante, tal como choque séptico (cuando la bacteria es sepsis), choque endotóxico, urosepsis, neumonitis viral, y síndrome de choque tóxico.

La expresión de citoquinas está mediada por NNR y se puede inhibir administrando agonistas o agonistas parciales de estos receptores. Los compuestos descritos en la presente que son agonistas o agonistas parciales de estos receptores en consecuencia se pueden usar para minimizar la respuesta inflamatoria asociada a la infección bacteriana, así como infecciones virales y fúngicas. Ejemplos de dichas infecciones

bacterianas incluyen ántrax, botulismo, y sepsis. Algunos de estos compuestos también pueden tener propiedades antimicrobianas. Además, los compuestos se pueden usar en el tratamiento de la enfermedad de Raynaud, a saber la vasoconstricción periférica dolorosa inducida por virus.

Estos compuestos también se pueden usar como terapia agregada en combinación con las terapias existentes para manejar infecciones bacterianas, virales y fúngicas, tales como antibióticos, antivirales y antifúngicos. Las antitoxinas también se pueden usar para unirse a toxinas producidas por los agentes infecciosos y permitir que las toxinas unidas pasen a través del cuerpo sin generar una respuesta inflamatoria. Ejemplos de antitoxinas se revelan, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 6.310.043 de Bundle et al. Otros agentes eficaces contra toxinas bacterianas y otras toxinas pueden ser eficaces y su efecto terapéutico se puede complementar mediante la administración conjunta con los compuestos descritos en la presente.

Dolor

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar para el tratamiento y la prevención del dolor, que incluye el

dolor agudo, neurológico, inflamatorio, neuropático y crónico. Los compuestos se pueden usar en conjunto con opiatos para minimizar la posibilidad de la adicción al opiato (por ejemplo, la terapia de rescate de morfina). La actividad analgésica de los compuestos descritos en la presente se puede demostrar en modelos de dolor persistente o inflamatorio y de dolor neuropático, realizados como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Estadounidense N° 20010056084 A1 (Allgeier et al) (por ejemplo, la hiperalgesia mecánica en el modelo de rata de coadyuvante de Freund de dolor inflamatorio y la hiperalgesia mecánica en el modelo de ligación parcial del nervio ciático de ratón de dolor neuropático).

El efecto analgésico es adecuado para tratar el dolor de diferentes orígenes y etiología, en particular en el tratamiento del dolor inflamatorio y la hiperalgesia asociada, el dolor neuropático y la hiperalgesia asociada, el dolor crónico (por ejemplo, dolor crónico grave, dolor postoperatorio y dolor asociado a diferentes condiciones que incluyen cáncer, angina, cólico renal o biliar, menstruación, migraña y gota). El dolor inflamatorio puede ser de diversos orígenes, que incluyen artritis y enfermedad reumatoide, tenosinovitis y vasculitis. El dolor neuropático incluye neuralgia trigeminal o herpética, neuropatías tales como dolor de neuropatía

diabética, causalgia, dolor de espalda inferior y síndrome de desaferenciación tal como avulsión del plexo braquial.

Neovascularización

La inhibición de la neovascularización, por ejemplo, administrando antagonistas (o en ciertas dosificaciones, agonistas parciales) de receptores nicotínicos puede tratar o prevenir condiciones caracterizadas por la neovascularización o angiogénesis indeseable. Dichas condiciones pueden incluir aquellas caracterizadas por angiogénesis inflamatoria y/o angiogénesis inducida por isquemia. La neovascularización asociada al crecimiento tumoral también se puede inhibir administrando los compuestos descritos en la presente que funcionan como antagonistas o agonistas parciales de receptores nicotínicos.

El antagonismo específico de receptores nicotínicos reduce la respuesta angiogénica a la inflamación, isquemia y neoplasia. Se puede hallar una guía con respecto a los sistemas de modelos animales apropiados para evaluar los compuestos descritos en la presente, por ejemplo, en Heeschen, C. *et al.*, "Una vía angiogénica novedosa mediada por receptores nicotínicos no

neuronales de acetilcolina," *J. Clin. Invest.* 110(4):527-36 (2002).

Los tipos de tumores representativos que se pueden tratar usando los compuestos descritos en la presente incluyen SCLC, NSCLC, cáncer de ovarios, cáncer pancreático, carcinoma de mamas, carcinoma de colon, carcinoma de recto, carcinoma de pulmón, carcinoma de orofaringe, carcinoma de hipofaringe, carcinoma de esófago, carcinoma de estómago, carcinoma de páncreas, carcinoma de hígado, carcinoma de vesícula biliar, carcinoma de las vías biliares, carcinoma de intestino delgado, carcinoma de tracto urinario, carcinoma de riñón, carcinoma de vejiga, carcinoma de urotelio, carcinoma de vías genitales femeninas, carcinoma de cuello de útero, carcinoma de útero, carcinoma de ovarios, coriocarcinoma, enfermedad trofoblástica gestacional, carcinoma de vías genitales masculinas, carcinoma de próstata, carcinoma de vesículas seminales, carcinoma de testículos, tumores de células germinales, carcinoma de glándulas endocrinas, carcinoma de tiroides, carcinoma adrenal, carcinoma de glándulas pituitarias, carcinoma de piel, hemangiomas, melanomas, sacotas, sarcoma de huesos y de tejidos blandos, sarcoma Kaposi, tumores de cerebro, tumores de los nervios, tumores de los ojos, tumores de las meninges, astrocitomas, gliomas, glioblastomas, retinoblastomas,

neuromas, neuroblastomas, Schwannomas, meningiomas, tumores sólidos que surgen de tumores hematopoyéticos (tales como leucemias, cloromas, plasmocitomas, y las placas y tumores de micosis fungoides y linfoma/leucemia de las células T) y tumores sólidos que surgen de linfomas.

Los compuestos también se pueden administrar en conjunto con otras formas de tratamiento anticáncer, que incluyen la administración conjunta con agentes antitumor antineoplásicos tales como cisplatino, adriamicina, daunomicina y similares, y/o agentes anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), como se los conoce en el arte.

Los compuestos se pueden administrar de manera tal que se dirijan al sitio del tumor. Por ejemplo, los compuestos se pueden administrar en microesferas, micropartículas o liposomas conjugados a diferentes anticuerpos que dirigen las micropartículas al tumor. Además, los compuestos pueden estar presentes en microesferas, micropartículas o liposomas que están dimensionados apropiadamente para pasar a través de las arterias y las venas, pero se alojan en lechos capilares que rodean a los tumores y administran los compuestos localmente al tumor. Dichos dispositivos de suministro de fármacos son conocidos en el arte.

Otros trastornos

Además de tratar trastornos del sistema nervioso central, inflamación, y neovascularización, y dolor, los compuestos de la presente invención también se pueden usar para prevenir o tratar ciertas condiciones, enfermedades y trastornos en los cuales cumplen una función los NNR. Ejemplos de ellos incluyen trastornos autoinmunes tales como lupus, trastornos asociados a la liberación de citoquinas, caquexia secundaria a una infección (por ejemplo, como ocurre en el SIDA, el complejo relacionado con el SIDA y la neoplasia), obesidad, penfitis, incontinencia urinaria, vejiga sobrerreactiva (OAB), diarrea, constipación, enfermedades retinales, enfermedades infecciosas, miastenia, síndrome de Eaton-Lambert, hipertensión, preclampsia, osteoporosis, vasoconstricción, vasodilatación, arritmias cardíacas, diabetes tipo I, diabetes tipo II, bulimia, anorexia y disfunción sexual, así como aquellas indicaciones expuestas en la solicitud de patente PCT publicada WO 98/25619. Los compuestos de esta invención también se pueden administrar para tratar convulsiones tales como aquellas que son sintomáticas de la epilepsia, y para tratar condiciones tales como sífilis y enfermedad de Creutzfeld-Jakob.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar infecciones bacterianas y condiciones dermatológicas, tales como pénfigo foliáceo, pénfigo vulgar, y otros trastornos, tales como acantólisis, donde están presentes las respuestas autoinmunes con título de anticuerpo de NNR ganglionar alto. En estos trastornos, y en otras enfermedades autoinmunes, tales como miastenia grave, el fragmento fab del anticuerpo se une al receptor NNR (reticulación de 2 receptores), que induce la internalización y la degradación.

Usos de Diagnóstico

Los compuestos se pueden usar en composiciones de diagnóstico, tales como sondas, particularmente cuando se modifican para incluir marcadores apropiados. Con este fin los compuestos de la presente invención más preferentemente se marcan con el grupo isotópico radioactivo ^{11}C .

Los compuestos administrados se pueden detectar usando la tomografía por emisión de positrones (PET). Se desea una actividad específica alta para visualizar los subtipos de receptores seleccionados a concentraciones no saturantes. Las dosis administradas normalmente están por debajo de la gama tóxica y proveen imágenes de alto contraste. Se espera que los

compuestos sean capaces de administración en niveles no tóxicos. La determinación de la dosis se realiza en una forma conocida para un experto en el arte de las imágenes de radiomarcadores. Véase, por ejemplo, la Patente Estadounidense N° 5.969.144 de London et al.

Los compuestos se pueden administrar usando técnicas conocidas. Véase, por ejemplo, la Patente Estadounidense N° 5.969.144 de London et al, como se indicó. Los compuestos se pueden administrar en composiciones de formulaciones que incorporan otros ingredientes, tales como aquellos tipos de ingredientes que son útiles en la formulación de una composición de diagnóstico. Los compuestos útiles de acuerdo con la realización de la presente invención se emplean más preferentemente en formas de alta pureza. Véase la Patente Estadounidense N° 5.853.696 de Elmach et al.

Después de que los compuestos se administran a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano), se pueden producir imágenes y cuantificar la presencia de ese compuesto dentro del sujeto mediante técnicas apropiadas para indicar la presencia, la cantidad y la funcionalidad. Además de los humanos, los compuestos se pueden administrar también a animales, tales como ratones, ratas, perros, y monos. Las imágenes de SPECT y PET se

pueden realizar usando cualquier técnica y aparato apropiados. Véase Villemagne *et al.*, en: Arneric *et al.* (Eds.) *Receptores Nicotínicos Neuronales: Farmacología y Oportunidades Terapéuticas*, 235-250 (1998) y la Patente Estadounidense N° 5.853.696 de Elmalch *et al.*, cada uno de los cuales se incorpora en la presente como referencia, para la invención de técnicas de imágenes representativas.

V. Ejemplos Sintéticos

Ejemplo 1. 3-Etilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol y espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol

A una solución de 2-norbornanona (norcalcanfor) (74,0 g, 0,673 mol) y 1,3-dibromopropano (190 g, 0,942 mol) en éter dietílico (2,2 L) se agregó amida de sodio (65,6 g, 1,68 mol), y la mezcla se agitó a reflujo durante 24 horas. La reacción fue incompleta, mediante análisis de GCMS. Se agregó otro 0,1 equivalente (13,6 g, 67,3 mmol) de 1,3-dibromopropano y 0,5 equivalente (13,0 g, 0,336 mol) de amida de sodio, y la mezcla se agitó a reflujo durante otro período de 24 horas. La reacción aún no era completa, de manera tal que el ciclo de agregado de reactivos, la agitación a reflujo y el análisis de GCMS se repitió otras tres veces, y derivó en el agregado de otro 0,15 equivalente de 1,3-dibromopropano y otros 3.5

equivalentes de amida de sodio durante un período de 40 horas a reflujo. Finalmente, el análisis de GCMS indicó que el material de partida había desaparecido. La reacción se enfrió a -10°C y se enfrió lentamente (agitando) con agua (600 mL). La agitación se detuvo y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 M ácido clorhídrico acuoso (100 mL), agua (50 mL) y cloruro de sodio acuoso saturado (50 mL). La capa orgánica luego se combinó con agua (1500 mL) y se agitó vigorosamente mientras se agregaba permanganato de potasio sólido (341 g), en porciones, durante un período de 8 horas. La mezcla se agitó luego durante 2 días a temperatura ambiente y se filtró a través de diatomita. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con éter (2 x 500 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (50 mL), y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El solvente se evaporó y el producto crudo (85 g) se purificó sobre una columna de gel de sílice. Las fracciones seleccionadas se concentraron y dieron espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (29 g, 29% de rendimiento). ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2,55–2,49 (m, 2 H), 2,18–2,08 (m, 2 H), 2,00–1,58 (m, 7 H), 1,49–1,36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 151 (M+1).

Una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (27,5 g, 0,183 mol) en tetrahidrofurano (THF) (500 mL) se enfrió a 0°C y se agregó una solución de 3M bromuro de etilmagnesio 3 M en éter (122 mL, 0,366 mol) a una velocidad tal que la temperatura interna de la mezcla de la reacción se mantuviera por debajo de 5°C (20 minutos de tiempo de agregado). La solución resultante se agitó a 2-5°C durante 30 minutos y luego se agitó a temperatura ambiente durante 30 horas. La reacción se enfrió a -10°C y se agregó agua (100 mL) para enfriar la reacción. Luego se agregaron agua adicional (300 mL) y acetato de etilo (300 mL) y se agitó la mezcla. La agitación se detuvo y la capa orgánica se separó y se concentró. El residuo de la capa orgánica se combinó con la capa acuosa y se extrajo con acetato de etilo (3 x 400 mL). Los extractos de acetato de etilo se combinaron y se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (50 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El solvente se evaporó y el material crudo se purificó sobre una columna de gel de sílice, eluyendo con 0-10% de acetato de etilo en hexanos, que dio 3-etilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (16,2 g, 47%) y espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (13,2 g, 46%), como aceites incoloros. Estos materiales se usaron sin nueva purificación en síntesis posteriores.

Ejemplo 2: Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-Etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina y clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Un matraz de un cuello de 500 mL se cargó con 3-etilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (15,3 g, 85,0mmol) y cianuro de sodio (8,33 g, 0,170 mol) y se selló con un tabique de goma. Una aguja, con un balón montado a ella, se insertó en el tabique. Se agregó ácido acético (28,2 mL, 0,493 mol) con la jeringa y la mezcla se agitó durante 5 minutos a temperatura ambiente. La mezcla luego se enfrió a 0°C, y se agregó ácido sulfúrico concentrado (28,6 mL, 0,536 mol) gota a gota con la jeringa, durante un período de 40 minutos. La solución resultante se agitó a 0°C durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se enfrió a -10°C y se agregó agua (50 mL) para enfriar la reacción. Luego se agregó cloroformo (50 mL) seguido por 10 M hidróxido de sodio acuoso (200 mL, 2,0 moles). La mezcla resultante tenía un pH de 12. La mezcla se transfirió a un embudo separador, se combinó con agua (600 mL), y se extrajo con cloroformo (3 x 500 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (50 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El solvente se evaporó y el producto crudo se

purificó sobre una columna de gel de sílice, eluyendo con 10-50% acetato de etilo en hexanos, que dio N-(7a-etiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida como un sólido blanco (10,2 g, 56% de rendimiento).

A un matraz que contiene THF anhidro (140 mL) se agregó una solución de 1M hidruro de litio y aluminio en THF (138 mL, 0,138 mol). La solución de hidruro de litio y aluminio se agitó a reflujo y se agregó N-(7a-etiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida sólida (9,5 g, 45,9 mmol) en porciones durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se reflujo durante 21 horas, se enfrió a -10°C y se enfrió agregando lentamente 5 M hidróxido de sodio acuoso (18 mL). La mezcla resultante se filtró a través de diatomita y se lavó con THF (3 x 150 mL). El producto filtrado se concentró y la solución se purificó sobre dos columnas de gel de sílice. La primera se eluyó con 10-50% acetato de etilo en hexanos. Fracciones seleccionadas se concentraron y el residuo se aplicó luego a la segunda columna, que se eluyó con diclorometano / metanol / amoníaco acuoso (de 9 : 1 : 0,1 a 8 : 2 : 0.2) (v/v). La concentración de fracciones seleccionadas dio 7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (8,2 g, 93% de rendimiento). ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,81 (s, 3 H), 2,52 (d, $J = 3,2$ Hz, 1 H), 2,27 (brs, 1 H), 2,23-2,16 (m, 1 H), 2,06-

2,02 (m, 1 H), 1,88-1,52 (m, 9 H), 1,44-1,22 (m, 3 H), 1,07 (t, J = 7,0 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

7a-Etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (2,0 g) se disolvió en acetonitrilo (10 mL) y se separó mediante HPLC quirral, usando una columna ChiralPak AD-H, de 5 micrones, de 250 x 20 cm y eluyendo con 0,2% dietilamina, 5% isopropanol en acetonitrilo (inyecciones de 0,25 mL), con una velocidad de flujo de 10 mL/minuto. Las fracciones seleccionadas para cada uno de los dos picos se concentraron y se disolvieron en 2 mL de metanol. Cada una de las dos soluciones se trató con 10 mL de 1 M ácido clorhídrico acuoso a temperatura ambiente. Las mezclas de la reacción resultantes se concentraron en una centrífuga de vacío, que proporciona clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina como el enantiómero de elución temprana (0,845 g, 35% de recuperación) y clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina como el enantiómero de elución tardía (0,630 g, 26% de recuperación), como polvos blancos.

Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,80 (s, 3 H), 2,51 (d, J = 3,2 Hz, 1 H), 2,26 (brs, 1 H), 2,23-2,16 (m, 1

H), 2,06-2,02 (m, 1 H), 1,88-1,52 (m, 9 H), 1,44-1,22 (m, 3 H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,81 (s, 3 H), 2,52 (d, J = 3,5 Hz, 1 H), 2,27 (brs, 1 H), 2,23-2,16 (m, 1 H), 2,06-2,02 (m, 1 H), 1,88-1,52 (m, 9 H), 1,44-1,22 (m, 3 H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Ejemplo 3: Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N-Metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amin y

Clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Un matraz de un cuello de 500 mL se cargó con espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (12,3 g, 80,9 mmol) y cianuro de sodio (6,70 g, 0,137 mol) y se selló con un tabique de goma. Una aguja con un balón montado a ella, se insert en el tabique. Se agregó ácido acético (22,7 mL, 0,396 mol) con una jeringa y la mezcla se agitó durante 5 minutos a 0°C, y se agregó ácido sulfúrico concentrado (23,0 mL, 0,430 mol) gota a gota con una jeringa, durante un período de 30 minutos. La solución resultante se agitó a 0°C durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante 16 horas. La

reacción se enfrió a -10°C y se agregó agua (50 mL) para enfriar la reacción. Luego se agregó cloroformo (50 mL), seguido por 10 M hidróxido de sodio acuoso (170 mL, 1,7 mol). La mezcla resultante tenía un pH de 12. La mezcla se transfirió a un embudo separador, se combinó con agua (400 mL), y se extrajo con cloroformo (3 x 400 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (50 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El solvente se evaporó, y el producto crudo se purificó sobre una columna de gel de sílice, eluyendo con 10-50% acetato de etilo en hexanos, que dio N-(octahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida como un sólido blanco (10,7 g, 74% de rendimiento).

A un matraz que contiene THF anhidro (170 mL) se agregó un solución de 1 M hidruro de litio y aluminio en THF (168 mL, 0,168 mol). La solución de hidruro de litio y aluminio se calentó a reflujo y N-(octahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida (10,0 g, 55,9 mmol) se agregó en porciones durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se refluyó durante 22 horas, se enfrió a -10°C y se enfrió agregando lentamente 5 M hidróxido de sodio acuoso (20 mL). La mezcla resultante se filtró a través de diatomita y se lavó con THF (3 x 300 mL). El producto filtrado se concentró y el residuo se purificó sobre dos columnas de gel de sílice. La primera se

eluyó con 10-50% acetato de etilo en hexanos. Las fracciones seleccionadas se concentraron y el residuo luego se aplicó a la segunda columna, que se eluyó con diclorometano / metanol / amoníaco acuoso (desde 9 : 1 : 0,1 hasta 8 : 2 : 0,2) (v/v).

La concentración de fracciones seleccionadas dio N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (8,1 g, 88% d rendimiento). ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,80 (s, 3 H), 2,54 (brs, 1 H), 2,27-2,16 (m, 3 H), 1,95-1,56 (m, 7 H), 1,49-1,32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1).

N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina racémica (1,5 g) se disolvió en acetonitrilo (15 mL) y se separó mediante HPLC quiral, usando una columna de ChiralPak AD, 5 micrones, de 250 x 20 cm y eluyendo con 0,2% dietilamina, 5% isopropanol en acetonitrilo (inyecciones de 0,25 mL), con una velocidad de flujo de 10 mL/min. Las fracciones seleccionadas para cada uno de los dos picos se concentraron y se disolvieron en 2 mL de metanol. Cada una de las dos soluciones de metanol se trató con 2 mL de 2M ácido clorhídrico acuoso a temperatura ambiente. Las mezclas de la reacción resultantes se concentraron en una centrífuga de vacío, que proporciona clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,460 g, 26% de recuperación) como el enantiómero de elución

temprana y clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,480 g, 27% de recuperación) como el enantiómero de elución tardío, como polvos blancos.

Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,81 (s, 3 H), 2,55 (brs, 1 H), 2,27-2,16 (m, 3 H), 1,95-1,56 (m, 7 H), 1,49-1,32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1).

Clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina: ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,81 (s, 3 H), 2,55 (brs, 1 H), 2,27-2,16 (m, 3 H), 1,95-1,56 (m, 7 H), 1,49-1,32 (m, 4 H); LCMS (m/z): 166 (M+1).

Ejemplo 4: Formato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,N-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amonio

Una mezcla de (3aS,4S,7R,7aS)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (30 mg, 0,18 mmol), yodometano (2,0 mL, 32 mmol) y carbonato de potasio (1,0 g, 7,2 mmol) en THF (2 mL) se colocó en un tubo de presión y se agitó a 100°C durante 48 horas. La mezcla de la reacción se filtró y el producto filtrado se concentró. La mezcla se purificó mediante HPLC, eluyendo con mezclas de 0,05% de ácido fórmico acuoso y 0,05%

de ácido fórmico en acetonitrilo. Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron y se obtuvo formato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,N-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amonio (20 mg). ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 8,52 (brs, 1 H), 3,18 (s, 9 H), 2,67 (s, 1 H), 2,58-2,45 (m, 2 H), 2,35-2,24 (m, 1 H), 2,17-2,12 (m, 1 H), 1,98-1,62 (m, 7 H), 1,58-1,36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M).

Ejemplo 5: Formato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,N-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amonio

Una mezcla de (3aR,4R,7S,7aR)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (30 mg, 0,18 mmol), yodometano (2,0 mL, 32 mmol) y carbonato de potasio (1,0 g, 7,2 mmol) en THF (2 mL) se colocó en un tubo de presión y se agitó a 100°C durante 48 horas. La mezcla de la reacción se filtró y el producto filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC, eluyendo con mezclas de 0,05% de ácido fórmico acuoso y 0,05% de ácido fórmico en acetonitrilo. Fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron y se obtuvo formato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,N-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amonio (20 mg). ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 8.51 (brs, 1 H), 3.18 (s, 9 H), 2.67 (s, 1 H), 2.58-2.45 (m, 2 H), 2.35-2.24 (m,

1 H), 2.17–2.12 (m, 1 H), 1.98–1.62 (m, 7 H), 1.58–1.36 (m, 3 H); LCMS (m/z): 194 (M).

Ejemplo 6: Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Yodometano (1,0 mL, 16 mmol) se agregó a una solución de (3aS,4S,7R,7aS)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,11 g, 0,67 mmol) en acetonitrilo (3 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se agregó éter anhidro (30 mL) a la reacción y la mezcla se centrifugó. El sobrenadante se decantó y el sólido remanente se secó y se obtuvo clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,19 g, 93% de rendimiento) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,92 (s, 3 H), 2,88 (s, 3 H), 2,53 (brs, 1 H), 2,45–2,25 (m, 2 H), 2,15 (d, J = 3,5 Hz, 1 H), 2,10–2,06 (m, 1 H), 1,96–1,65 (m, 6 H), 1,55–1,38 (m, 4 H); LCMS (m/z): 180 (M+1).

Ejemplo 7: Clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Yodometano (1,0 mL, 16 mmol) se agregó a una solución de (3aR,4R,7S,7aR)-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,11 g, 0,67 mmol) en acetonitrilo (3 mL), y la mezcla se se

agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se agregó éter acuoso (30 mL) a la reacción y la mezcla se centrifugó. El sobrenadante se decantó y el sólido remanente se secó y se obtuvo yodhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,185 g, 90% de rendimiento) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,92 (s, 3 H), 2,88 (s, 3 H), 2,53 (brs, 1 H), 2,45-2,25 (m, 2 H), 2,15 (d, J = 3,5 Hz, 1 H), 2,10-2,06 (m, 1 H), 1,96-1,65 (m, 6 H), 1,55-1,38 (m, 4 H); LCMS (m/z): 180 ($M+1$).

Ejemplo 8: Sal de trifluoroacetato de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-etil-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Yodometano (1,0 mL, 16 mmol) se agregó a una solución de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,10 g, 0,52 mmol) en acetonitrilo (3 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se concentró y se purificó mediante HPLC, eluyendo con mezclas de 0,05% TFA en agua y 0,05% de TFA en acetonitrilo. Las fracciones seleccionadas se concentraron y se obtuvo sal de trifluoroacetato de (3aS,4S,7R,7aS)-7a-etil-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amino (20 mg). ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,93 (s, 3 H), 2,91 (s, 3 H), 2,48-2,40 (m, 2 H), 2,19 (brs, 1 H), 2,05-1,95 (m, 1 H), 1,88-1,81 (m, 2 H),

1,76-1,52 (m, 7 H), 1,49-1,42 (m, 1 H), 1,38-1,32 (m, 2 H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 (M+1).

Ejemplo 9: Trifluoroacetato de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Yodometano (1,0 mL, 16 mmol) se agregó a una solución de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,10 g, 0,52 mmol) en acetonitrilo (3 mL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se concentró y se purificó mediante HPLC, eluyendo con mezclas de 0,05% de TFA en agua y 0,05% de TFA en acetonitrilo. Se concentraron fracciones seleccionadas y se obtuvo sal de trifluoroacetato de (3aR,4R,7S,7aR)-7a-etil-N,N-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (16 mg). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 2,93 (s, 3 H), 2,91 (s, 3 H), 2,48-2,40 (m, 2 H), 2,19 (brs, 1 H), 2,05-1,95 (m, 1 H), 1,88-1,81 (m, 2 H), 1,76-1,52 (m, 7 H), 1,49-1,42 (m, 1 H), 1,38-1,32 (m, 2 H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 (M+1).

Ejemplo 10: Clorhidrato de N-metil-7a-propiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (500 mg, 3,33 mmol) en THF (10 mL) se enfrió a 0°C y se agregó gota a gota una solución de 2,0 M cloruro de n-propilmagnesio en éter (5,0 mL, 10 mmol). La solución resultante se calentó lentamente a temperatura ambiente y luego se secó a temperatura ambiente durante 20 horas. La reacción se enfrió agregando cloruro de amonio acuoso saturado (5 mL), se concentró. El residuo se repartió entre agua (30 mL) y diclorometano (20 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró y se obtuvieron 500 mg de 3-propulespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (60% puro mediante análisis de GCMS).

El 3-propilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol se disolvió en ácido acético (1,0 mL, 17 mmol) combinado con cianuro de sodio (185 mg, 3,62 mmol), y se enfrió en un baño de hielo. Se agregó gota a gota lentamente ácido sulfúrico (1,0 mL, 19 mmol) y luego la mezcla de la reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente, a cuya temperatura se agitó durante 18 horas. La mezcla de la reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con diclorometano (30 mL). La capa orgánica se lavó con 10% de hidróxido sodio acuoso (20 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se disolvió en THF (30 mL), se enfrió en un baño de hielo y se

agregó lentamente 1,0 M hidruro de litio y aluminio en THF (3,1 mL, 3,1 mmol). La reacción luego se calentó a reflujo durante 17 horas, se enfrió en un baño de hielo y se enfrió lentamente con decahidrato de sulfato de sodio sólido (5 g). La mezcla se filtró y el producto filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC eluyendo con 0,05% ácido fórmico en agua y 0,05% ácido fórmico en acetonitrilo. Las fracciones que contienen el producto se combinaron, se hicieron básicas (a pH 9) agregando 3 M hidróxido de sodio acuoso y se extrajeron con diclorometano (30 mL). Se agregó ácido clorhídrico acuoso (2 mL de 2,0 M) al extracto de diclorometano y la mezcla se concentró y se secó al vacío y dejó clorhidrato de N-metil-7a-propiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (120 mg) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,81 (s, 3 H), 2,51 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 2,27-2,16 (m, 2 H), 2,06-2,01 (m, 1 H), 1,86-1,32 (m, 13 H), 1,23-1,15 (m, 1 H), 1,04 (t, $J = 7,0$ Hz, 3 H); LCMS (m/z): 208 ($M+1$).

Ejemplo 11: Clorhidrato de 7a-butil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

A una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (4,0 g, 27 mmol) en THF (50 mL) a -78°C se agregó lentamente n-butil litio (16 mL de 2,5 M en hexanos, 40

mmol). La reacción se calentó lentamente (durante un período de 4 horas), se enfrió lentamente con cloruro de amonio acuoso saturado (20 mL) y se concentró. El residuo se repartió entre diclorometano (100 mL) y agua (50 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró y se obtuvo 3-butilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (5,5 g) como aceite.

A una solución de 3-butoilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol (5,5 g, 26 mmol) en ácido acético (11,0 mL, 192 mmol) se agregó cianuro de sodio (2,02 g, 39,6 mmol), y la mezcla se enfrió en un baño de agua. Se agregó gota a gota lentamente ácido sulfúrico (12,0 mL, 225 mmol) y luego se la reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente, a cuya temperatura se agitó durante 18 horas. La reacción se diluyó con agua (200 mL) y se concentró con diclorometano (100 mL). La capa orgánica se lavó con 10% de hidróxido de sodio acuoso (50 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se disolvió en THF (60 mL), se enfrió en un baño de hielo y se trató gota a gota con 1,0 M hidruro de litio y aluminio en THF (53 mL, 53 mmol). La reacción luego se reflujo durante 17 horas, se enfrió en un baño de hielo y se enfrió lentamente con decahidrato de sulfato de sodio (20 g). Esta mezcla se filtró y el producto filtrado se concentró. El residuo se purificó sobre una columna de gel de sílice con

mezclas de cloroformo / metanol / amoníaco acuoso (9:1,0:0,1) en cloroformo, para obtener 7a-butil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (4,74 g, 79% de rendimiento) como aceite.

A una solución de 7a-butil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,12 g, 0,54 mmol) en diclorometano (2 mL) a 0°C se agregó ácido clorhídrico concentrado (0,1 mL). La mezcla se concentró y se secó al vacío y se obtuvo clorhidrato de 7a-butil-N-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,11 g) como un sólido blanco.

^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 2,80 (s, 3 H), 2,50 (d, $J = 3,1$ Hz, 1 H), 2,26-2,16 (m, 2 H), 2,07-2,00 (m, 1 H), 1,86-1,30 (m, 15 H), 1,24-1,16 (m, 1 H), 1,01 (t, $J = 7,0$ Hz, 3 H); LCMS (m/z): 222 ($M+1$).

Ejemplo 12: Clorhidrato de N-d₂-metil-7a-d₃-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

Una solución de espiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ona (5,20 g, 34,7 mmol) en THF (250 mL), en un matraz de 500 mL, se agitó a 25°C mientras se agregaba yoduro de d₃-metilmagnesio (60 mL de 1,0M en éter dietílico, 60,0 mmol) a través de una jeringa durante un período de 5 minutos. La

mezcla de la reacción se maduró toda la noche a temperatura ambiente. Dado que el análisis de LCMS indicó que una cantidad pequeña del material de partida se mantuvo, se agregaron otros 5 mL (5,0 mmol) del reactivo de Grignard y la solución se agitó durante otras 24 horas. El THF luego se retiró bajo presión reducida y se agregó cloruro de amonio saturado (200 mL) y diclorometano (200 mL) al residuo. Después de la mezcla total y de la separación posterior de las fases, la capa de agua se extrajo con diclorometano (2x150 mL). Las capas orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida y dio 3-d₃-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol, como un aceite amarillo (6,0 g). Este aceite crudo se transportó al paso siguiente sin nueva purificación. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,20-2,08 (m, 2H), 2,02-1,90 (m, 2H), 1,80-1,56 (m, 5H), 1,52-1,32 (m, 3H), 1,32-1,20 (m, 2H); GCMS (m/z): 170 (M+1).

El 3-d₃-metilespiro[biciclo[2.2.1]heptano-2,1'-ciclobutan]-3-ol se colocó en un matraz de 500 mL y se combinó con ácido acético (15 mL) y cianuro de sodio (3,10 g, 63,3 mmol). El matraz se selló con un tabique de goma. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0°C en un baño de hielo. Se agregó ácido sulfúrico (12 mL, 225 mmol) a través de una jeringa durante un período de 20 minutos. La mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó toda la noche. La mezcla luego

se diluyó con agua (250 mL) y se extrajo con diclorometano (250 mL). La capa de diclorometano se lavó con 2,0 M hidróxido de sodio acuoso (200 mL) y luego con agua (200 mL). La concentración de la capa orgánica dio un sólido tostado (7,10 g). El sólido se purificó sobre una columna de gel de sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo en hexanos (25% - 100% de acetato de etilo). La concentración de las fracciones seleccionadas dio N-(7a-d₃-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida (5,50 g, 84,2% de rendimiento). GCMS (m/z): 197 (M+1).

La N-(7a-d₃-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-il)formamida (5,50 g, 28,1 mmol) se disolvió en THF (50 mL) y se agregó a un matraz de 500 mL que contiene una mezcla de deuteruro de litio y aluminio (4,00 g, 95,2 mmol) en THF (200 mL) a 0°C. El agregado tomó 15 minutos. La mezcla se refluó durante 9 horas y luego se enfrió a temperatura ambiente, donde se agitó toda la noche. La reacción se enfrió con 2,0 M hidróxido de sodio acuoso (15 mL), y la mezcla resultante se filtró a través de diatomita. La separación y la concentración de la capa de THF dieron N-d₂-metil-7a-d₃-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina, como un aceite incoloro (4,70 g, 91,0% de rendimiento). GCMS (m/z): 185 (M+1).

A una solución de la N-d2-metil-7a-d3-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (4,70 g, 25,5 mmol) en metanol (100 mL) se agregó ácido clorhídrico concentrado (5,0 mL, 60 mmol). Después de agitar durante 10 minutos a temperatura ambiente, la solución se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (200 mL) y se concentró en tres ocasiones consecutivas, dejando un sólido. El sólido se secó en un horno de vacío a 60°C durante 6 horas, que proporciona clorhidrato N-d2-metil-7a-d3-metiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (4,80g, 85,5% de rendimiento). ^1H NMR (D_2O) δ 2,54 (s, 1H), 2,25 (s, 1H), 2,00-1,85 (m, 2H), 1,70-1,30 (m, 9H), 1,20-1,00 (m, 2H); GCMS(m/z): 185 (M+1).

Ejemplo 13: Clorhidrato de 7a-(hidroximetil)octahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

A una solución de anhídrido 1-ciclopenteno-1,2-dicarboxílico (3,0 g, 22 mmol) en THF seco (10 mL) enfriado a 0°C, se agregó ciclopentadieno recién destilado (10 mL) y tricloruro de aluminio (80 mg, 0,60 mmol). La reacción se agitó durante 30 minutos a 0°C y luego se colocó en un congelador a 0°C - 5°C durante 14 horas. La reacción luego se diluyó con éter dietílico (50 mL) y se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado (10 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre

sulfato de sodio anhidro y se filtró. El producto filtrado se concentró bajo presión reducida y dio un sólido. El sólido se lavó con hexanos y se filtró, que dio hexahidro-1H-4,7-metano-3a,7a-(metanooximetano)indeno-8,10-diona (3,8 g, 86% de rendimiento).

A una solución de hexahidro-1H-4,7-metano-3a,7a-(metanooximetano)indeno-8,10-diona (2,5 g, 12 mmol) en metanol (20 mL) se agregó 0,2 g de 10% Pd/C (húmedo). Esta mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (50 psi) durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró luego a través de un tampón de diatomita y la torta de filtro se lavó con metanol. El producto filtrado luego se concentró y el residuo se secó al vacío y dio un sólido de color claro. El sólido se disolvió en metanol seco (50 mL) y se enfrió en un baño de hielo. Se agregó metóxido de sodio en in metanol (13 mL de 25%, 48 mmol) a la reacción. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla se concentró mediante evaporación giratoria y el residuo se repartió entre 6,0 M ácido clorhídrico (20 mL) y diclorometano (50 mL). La capa de diclorometano se separó y la capa acuosa se lavó con diclorometano (2x20mL). Las capas de diclorometano combinadas se pasaron a través de un separador de fases y se concentraron y dieron ácido 7a-(metoxicarbonil)octahidro-4,7-metano-1H-

indene-3a-carboxílico como un sólido de color marrón claro (2,9 g, 100% de rendimiento).

A una solución agitada de ácido 7a-(metoxycarbonil)octahidro-4,7-metano-1H-indeno-3a-carboxílico (2,9 g, 12 mmol) y trietilamina (1,5 g, 15 mmol) en tolueno seco (40 mL) enfriada en un baño de hielo, se agregó difenilfosforil azida (3,5 g, 13 mmol). La reacción se calentó a 90°C y se agitó durante 4 horas. La reacción luego se enfrió y se concentró mediante evaporación giratoria. La reacción se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice, eluyendo con 0-20% acetato de etilo en hexanos sobre volúmenes de 12 columnas. Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron hasta secarse y dieron 7a-isocianatooctahidro-4,7-metano-1H-indeno-3a-carboxilato de metilo como un sólido blanco (1,5 g, 52% de rendimiento).

Una solución de 7a-isocianatooctahidro-4,7-metano-1H-indeno-3a-carboxilato de metilo (1,0g, 4,3 mmol) en THF (10mL) se agregó a una mezcla enfriada con un baño de hielo de hidruro de litio y aluminio (8,5 mL de 2M en THF, 17 mmol) y THF (10 mL). Después del agregado, la reacción se calentó a 50°C y se mantuvo allí durante 16 horas. La reacción luego se enfrió en un baño de hielo y se enfrió agregando cuidadosamente agua

hasta que se formó una suspensión blanca. La suspensión se agitó en un baño de hielo durante 4 horas antes de que se filtrara a través de un lecho de diatomita. La torta de filtro se lavó con acetato de etilo. Los productos filtrados combinados se lavaron con 6M ácido clorhídrico acuoso (3 x 15 mL), y los lavados acuosos se combinaron y se concentraron sobre un evaporador giratorio hasta que se secaron. El sólido resultante se disolvió calentando en 2-propanol, y se agregó éter dietílico hasta que se observó un precipitado. La suspensión se enfrió en un baño de hielo durante 2 horas y los sólidos se recogieron mediante filtración y se lavaron con éter. Una segunda cosecha del material se aisló de los líquidos madre después de la reducción del volumen y del reposo a temperatura ambiente durante 24 horas. Los sólidos aislados se secaron y dieron clorhidrato de 7a-(hidroximetil)octahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,64 g, 64% de rendimiento). ^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 3,60 (d, $J=1\text{Hz}$, 1 H), 3,48 (d, $J=1\text{Hz}$, 1 H), 2,55 (s, 3 H), 2,31 (d, $J = 3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,97 (bs, 2 H), 1,87 (d, $J = 6 \text{ Hz}$, 1 H), 1,65 - 1,34 (m, 8 H), 1,19-1,07 (m, 2 H); LCMS (m/z): 196 (M+1).

Ejemplo 14: Clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,7a-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

A una mezcla de clorhidrato de clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,13 g, 0,60 mmol) y carbonato de potasio (0,42 g, 3,0 mmol) en acetonitrilo (5 mL) se agregó yodometano (0,86 g, 6,0 mmol). La reacción se tapó herméticamente y se agitó a 40°C durante 3 horas. La reacción se filtró, y el producto filtrado se concentró. El residuo se repartió entre diclorometano (30 mL) y agua (50 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio y se filtró. A la capa orgánica filtrada se agregó ácido clorhídrico concentrado (0,3 mL), y la mezcla se concentró hasta secarse y dejó clorhidrato de (3aS,4S,7R,7aS)-N,N,7a-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (104 mg), como un sólido blanco. ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,88 (s, 3 H), 2,86 (s, 3 H), 2,45-2,38 (m, 2 H), 1,97 (brs, 1 H), 1,87-1,46 (m, 10 H), 1,34-1,26 (m, 4 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

Ejemplo 15: Clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,7a-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina

A una mezcla de clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,7a-dimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (0,18 g, 0,83 mmol) y carbonato de potasio (0,58 g, 4,2 mmol) en acetonitrilo (5 mL) se agregó yodometano (1,2 g, 8,4 mmol). La reacción se tapó herméticamente y se agitó a 40°C durante 3 horas. La

reacción se filtró y el producto filtrado se concentró. La reacción se repartió entre diclorometano (40 mL) y agua (50 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio y se filtró. A la capa orgánica filtrada se agregó ácido clorhídrico concentrado (0,5 mL), y la mezcla se concentró hasta secarse, y dejó clorhidrato de (3aR,4R,7S,7aR)-N,N,7a-trimetiloctahidro-4,7-metano-1H-inden-3a-amina (181 mg), como un sólido blanco. ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz): δ 2,88 (s, 3 H), 2,86 (s, 3 H), 2,45-2,38 (m, 2 H), 1,97 (brs, 1 H), 1,87-1,46 (m, 10 H), 1,34-1,26 (m, 4 H); LCMS (m/z): 194 (M+1).

VII. Ensayos Biológicos

Caracterización de interacciones en los Materiales de Receptores Nicotínicos de Acetilcolina y métodos

Líneas de Células. Las líneas de células de $\alpha 4\beta 2$ humano SH-EP1 (Eaton et al., 2003) se obtuvieron del Dr. Ron Lukas (Instituto Neurológico Barrow). Las células se mantuvieron dentro de una fase de crecimiento proliferativo en el medio de Eagle modificado de Dulbecco (Invitrogen, Carlsbad, California) con 10% de suero caballo (Invitrogen), 5% de suero bovino fetal (HyClone, Logan UT), 1 mM piruvato de sodio, 4 mM L-glutamina. Para el mantenimiento de transfectantes estables, los medios de

células $\alpha 4\beta 2$ se complementaron con 0,25 mg/mL de zeocina y 0,13 mg/mL de higromicina B.

Las células $\alpha 7$ humanas CHO (obtenidas de Chan Test, Cleveland, Ohio, catálogo N° CT6201) se mantuvieron en la fase de crecimiento proliferativo en F12 de Ham (VWR) con 10% de suero bovino fetal (Invitrogen), 0,25 mg/mL de geneticina; 0,4 mg/ml de zeocina. Las secuencias de aminoácidos codificadas por constructos de cADN transfectos usados para generar las células $\alpha 7$ humanas CHO son idénticas a las secuencias traducidas para GenBank accesos números NM_000746.4 ($\alpha 7$) y NM_024557.4 (hRIC3).

Las células $\alpha 2\beta 4$ humanas CHO (obtenidas de Chan Test, Cleveland, Ohio, catálogo N° CT6021) se mantuvieron en la fase de crecimiento proliferativo en F12 de Ham (VWR) con 10% de suero bovino fetal (Invitrogen), 0,25 mg/mL de geneticina; 0,4 mg/ml de zeocina. Las secuencias de aminoácidos codificadas por los constructos de cADN transfectados usados para generar células $\alpha 3\beta 4$ humanas CHO son idénticas a las secuencias traducidas para GenBank accesos números NM_000743.2 y NM_000750.3, respectivamente.

Ensayos de Unión al Receptor

Preparación de membranas desde líneas de células clonales. Las células se cosecharon en PBS enfriado con hielo, a pH 7,4, luego se homogenizaron con Polytron (Kinematica GmbH, Suiza). Los productos homogenizados se centrifugaron a 40.000 g durante 20 minutos (4°C). La pelletilla se resuspendió en PBS y la concentración de las proteínas se determinó usando el estuche del Ensayo de Proteínas Pierce BCA (Pierce Biotechnology, Rockford, IL).

Competencia de Unión a los receptores en preparaciones de membranas. La unión a los receptores nicotínicos se ensayó sobre membranas usando métodos estándar adaptados desde procedimientos publicados (Lippiello y Fernandes 1986; Davies et al., 1999). En resumen, las membranas se reconstituyeron desde materiales congelados y se incubaron durante 2 horas sobre hielo en 150 µl de tampón para ensayo (50 mM Tris, 154 mM NaCl, pH 7,4) en la presencia del compuesto competidor (0,001 nM a 100 µM) y radioligando. [³H]-nicotina (L-(-)-[N-metil-³H]-nicotina, 69,5 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences, Waltham, MA) se usó para los estudios de unión a $\alpha 4\beta 2$ humano. [³H]-epibatidina (52 Ci/mmol, Perkin-Elmer Life Sciences) se usó para los estudios de unión en los demás subtipos de receptores nicotínicos. La fuente de las membranas, el radioligando, y la concentración de los radioligandos para cada receptor blanco se

enumeran en la Tabla 3. La incubación se terminó mediante filtración rápida sobre un cosechador de tejido de varios tubos múltiples (Brandel, Gaithersburg, MD) usando filtros GF/B remojados previamente en 0,33% de polietilenimina (p/v) para reducir la unión no específica. Los filtros se lavaron 3 veces con tampón para ensayo enfriado con hielo y la radioactividad retenida se determinó mediante cuenta de centelleo.

Tabla 3. Parámetros de la Unión

Blanco de la unión	Fuente de las memmbranas	Radioligando	Concentración de los Radioligandos (nM)
$\alpha 4\beta 2$ humano, nicotínica	Células $\alpha 4\beta 2$ humanas SH-EP1	[^3H]nicotina	2
$\alpha 7$ humano, nicotínico	$\alpha 7$ humanas CHO	[^3H]TC-12018	0,5

Blanco de la unión	Fuente de las membranas	Radioligando	Concentración de los Radioligandos (nM)
$\alpha 3\beta 4\alpha 5$ humano, nicotínico	Células SH-SY5Y	[^3H]epibatidina	1
$\alpha 3\beta 4$ de rata, nicotínico	$\alpha 3\beta 4$ humanas CHO	[^3H]epibatidina	1

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

Ensayos Funcionales de Flujo de Calcio

Cuarenta y ocho horas antes de cada experimento, las células se colocaron en placas de fondo transparente, de paredes negras de 96 receptáculos (Corning, Corning, NY) a 60 - 100.000

células/receptáculo. El día del experimento, el medio de crecimiento se eliminó suavemente, 200 μ L de reactivo de Ensayo de Calcio 4 1X FLIPR (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) en un tampón de ensayo (20 mM HEPES, 7 mM base de TRIS, 4 mM CaCl_2 , 5 mM D-glucosa, 0,8 mM MgSO_4 , 5 mM KCl, 0,8 mM MgCl_2 , 120 mM N-metil D-glucamina, 20 mM NaCl, a pH 7,4 para células $\alpha 4\beta 2$ humanas SH-EP1 o 10 mM HEPES, 2,5 mM CaCl_2 , 5,6 mM D-glucosa, 0,8 mM MgSO_4 , 5,3 mM KCl, 138 mM NaCl, a pH 7,4 con base de TRIS para todas las demás líneas de células) se agregó a cada receptáculo y las placas se incubaron a 37°C durante 1 hora (29°C para las células $\alpha 4\beta 2$ humanas SH-EP1 tratadas a 29°C). Para los estudios de inhibición, el compuesto competidor (10 pM - 10 μ M) se agregó en el momento del agregado del colorante. Las placas se eliminaron del incubador y se dejó que se equilibraran a temperatura ambiente. Las placas se transfirieron a un lector de placas de imágenes fluorométricas FLIPR Tetra (Molecular Devices) para el agregado del compuesto y el monitoreo de fluorescencia (excitación 485 nm, emisión 525 nm). La cantidad flujo de calcio se comparó con el control positivo (nicotina) y negativo (tampón solo). El control positivo se definió como 100% de respuesta y los resultados de los compuestos del ensayo se expresaron como un porcentaje del control positivo. Para los estudios de inhibición, la nicotina del agonista se usó a concentraciones de 1 μ M para las células

$\alpha 4\beta 2$ humanas SH-EP1 tratadas a 29°C (HS), 10 μM para $\alpha 4\beta 2$ humano SH-EP1 mantenido 37°C (LS) y 20 μM para células SH-SY5Y o $\alpha 3\beta 4$ humano CHO.

Electrofisiología de Abrazadera de Parche

Manipulación de Células. Después de la eliminación de células $\alpha 7$ T6 de rata GH4C1 del incubador, el medio se aspiró, las células se tripsinizaron durante 3 minutos, se trituraron suavemente para separarlas de la placa, se lavaron dos veces con un medio de registro y se resuspendieron en 2 ml de solución externa (véase a continuación para la composición). Las células se colocaron en la montura de chip Dynaflo sobre el portaobjetos de un microscopio de Zeiss invertido (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY). En promedio, fueron necesarios 5 minutos antes de que se estableciera la configuración de registro de células enteras. Para evitar la modificación de las condiciones de las células, se registró una sola célula por una sola carga. Para evocar respuestas cortas, los compuestos se aplicaron durante 0,5 segundos usando un sistema de Dynaflo (Celletricon, Inc., Gaithersburg, MD), donde cada canal suministró soluciones impulsadas por la presión a 50 o 150 psi.

Electrofisiología. Se usaron registros corrientes de células enteras convencionales. Se usaron microelectrodos de vidrio (5-10 M Ω de resistencia) para formar sellos herméticos (>1 G Ω) sobre la superficie celular hasta que se aplicó la succión para convertirlos en registros de células enteras convencionales. Las células luego se engraparon por tensión a potenciales de contención de -60 mV y se midieron las corrientes de iones en respuesta a la aplicación de ligandos. Las corrientes de células enteras registradas con un amplificador Axon 700A se filtraron a 1 kHz y se tomaron muestras a 5 kHz con un panel 1440 ADC (Molecular Devices). La resistencia al acceso de células enteras fue menor de 20 M Ω . La adquisición de datos de las corrientes de células enteras se hizo usando un Clampex 10 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA), y los resultados se graficaron usando Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Los datos experimentales se presentan como el promedio $\pm$ S.E.M., y las comparaciones de diferentes condiciones se analizaron por la importancia estadística usando los ensayos t ANOVA de Dos Vías de Student. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (22°C $\pm$ 1°C). Los perfiles de respuesta a la concentración se ajustaron a la ecuación de Hill y se analizaron usando Prism 5.0.

Soluciones y Aplicación de Fármacos. La solución externa estándar contenía: 120 mM NaCl, 3 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 25 mM D-glucosa, y 10 mM HEPES y se ajustó a pH 7,4 con base de Tris. La solución interna para los registros de células enteras consistía en: 110 mM fosfato de Tris dibásico, 28 mM base de Tris, 11 mM EGTA, 2 mM MgCl₂, 0,1 mM CaCl₂, y 4 mM Mg-ATP, a pH 7,3. (Liu et al., 2008). Para iniciar las respuestas de corrientes de células enteras, se suministraron compuestos mudando células de la solución control a la solución que contiene el agonista y de regreso a la primera de manera tal que el intercambio de las soluciones ocurriera dentro de 50 ms (basado en tiempos de elevación de corriente pico del 10-90%). Se ajustaron intervalos entre las aplicaciones de los compuestos (0,5-1 minuto) para asegurar la estabilidad de la sensibilidad al receptor (sin resumen funcional) y la selección de las soluciones de las pipetas usadas en la mayor parte de los estudios descritos en la presente se usó con el mismo objetivo. (-)-Nicotina y acetilcolina (ACh), se compraron a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Todos los fármacos se prepararon diariamente a partir de soluciones de materia prima.

Para determinar la inhibición de las corrientes inducidas por ACh por compuestos de la presente invención, establecimos un registro de línea base estable aplicando 70 μ M ACh (5-10 aplicaciones consecutivas habitualmente estables). Luego se

aplicó conjuntamente ACh (70 μM) con el compuesto de ensayo en una gama de concentraciones de 1 nM a 10 μM . Dado que la cola de la corriente (corriente medida al cabo de 0,5 s de aplicación de ACh) experimentó los cambios más profundos, los gráficos de inhibición y recuperación representan la amplitud de la corriente de cola.

Comparaciones Cruzadas, electrofisiología

Células $\text{h}\alpha 4\beta 2$ epiteliales humanas subclonales. Se usaron técnicas establecidas para introducir subunidades de $\alpha 4$ (S452) y $\beta 2$ humanas (provistas amablemente por el Dr. Ortrud Steinlein, Instituto de Genética Humana, Hospital de la Universidad, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Alemania) y se subclonaron en vectores de pcADN3.1-zeocina y pcADN3.1-higromicina, respectivamente, en células SHEP1 nulas para NNR nativas para crear la línea de células (SH-EP1)- $\text{h}\alpha 4\beta 2$ epiteliales humanas subclonales monoclonales transfectadas en forma estable que expresan en forma heteróloga los receptores de $\alpha 4\beta 2$ humano. Los cultivos de células se mantuvieron a números de pasaje bajos (1-26 desde las materias primas congeladas para asegurar la expresión estable del fenotipo) en un medio completo aumentado con 0,5 mg/ml de zeocina y 0,4 mg/ml de higromicina (para proveer una selección positiva de

transfectantes) y se pasaron una vez por semana dividiendo los cultivos inmediatamente confluentes 1:20 para mantener las células en crecimiento proliferativo. Los ensayos de reacción en cadena de transcriptasa-polimerasa invertida, inmunofluorescencia y de unión al radioligando y los ensayos de flujo de ion isotópico se realizaron recurrentemente para confirmar la expresión estable de NNR de $\alpha 4\beta 2$ como los sitios de mensaje, proteína, unión al ligando, y receptores funcionales.

Manipulación de Células. En forma similar a la presentada anteriormente, después de la eliminación del incubador, el medio se aspiró, y las células se tripsinizaron durante 3 minutos, se lavaron completamente dos veces con el medio de registro, y se resuspendieron en 2 ml de solución externa (véase a continuación para la composición). Las células se trituraron suavemente para separarlas de la placa y se transfirieron a tubos de ensayo de 4 ml desde los cuales las células se colocaron en la montura de chip Dynaflo sobre el portaobjetos de un microscopio de Zeiss invertido (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY). En promedio, fueron necesarios 5 minutos antes de que se estableciera la configuración de registro de células enteras. Para evitar la modificación de las condiciones de las células, se registró una sola célula por una sola carga.

Para evocar respuestas cortas, se aplicaron agonistas usando un sistema Dynaflo (Celletricon, Inc., Gaithersburg, MD), donde cada canal suministró soluciones impulsadas por la presión a 50 o 150 psi.

Electrofisiología. En forma similar a aquella presentada anteriormente, en estos estudios se usaron registros de corrientes de células enteras convencionales, junto con un sistema Dynaflo controlado por computadora (Celletricon, Inc.) para la aplicación y eliminación rápida de los agonistas. En resumen, las células se colocaron en una montura de baño de chip de silicio sobre un microscopio invertido (Carl Zeiss Inc.). Las células elegidas para el análisis se perfusionaron en forma continua con una solución externa estándar (60 μ l/minuto). Se usaron microelectrodos de vidrio (resistencia de 3-5 M Ω la pipeta y las soluciones extracelulares) para formar sellos herméticos (1 G Ω) sobre la superficie celular hasta que se aplicó la succión para la conversión en el registro de células enteras. Las células luego se engraparon por tensión a los potenciales de contención de -60 mV, y se midieron las corrientes de iones en respuesta a la aplicación de ligandos. Las corrientes de células enteras registradas con un amplificador Axon 700A se filtraron a 1 kHz y se tomaron muestras a 5 kHz por un panel 1440 ADC (Molecular Devices) y se

almacenaron en un disco rígido de una computadora PC. La resistencia al acceso de células enteras fue inferior a 20 MΩ. La adquisición de datos de las corrientes de células enteras se hizo usando un Clampex 10 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA), y los resultados se graficaron usando Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Los datos experimentales se presentan como el promedio $\pm$ S.E.M., y las comparaciones de diferentes condiciones se analizaron por la importancia estadística usando ensayos t de Student. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Los perfiles de respuesta a concentración se ajustaron a la ecuación de Hill y se analizaron usando Prism 5.0. No se pudo detectar ninguna diferencia en la fracción de las células sensibles entre las condiciones experimentales. Más del 90% de las células respondieron a acetilcolina (ACh), y se tomaron en cuenta todas células que presentan una corriente medible. Las células se mantuvieron a -60 mV durante todo el experimento. Todos los fármacos se prepararon diariamente desde las soluciones de materia prima.

Las curvas de respuesta a la dosis de receptor neuronal de $\alpha 4\beta 2$ se pudieron describir por la suma de dos ecuaciones de Hill empíricas comparables con métodos descritos previamente (Covernton y Connolly, 2000):

$$y = I_{\max} \cdot [\alpha 1 / (1 + (EC_{50H}/x)^{n_H1}) + (1 - \alpha) / (1 + (EC_{50L}/x)^{n_H2})] \quad (1)$$

donde $I_{\max}$ es la amplitud de corriente máxima, y x es la concentración del agonista. EC_{50H} , n_{H1} , y a_1 son la mitad de la concentración eficaz, el coeficiente de Hill, y el porcentaje de receptores en el estado de HS. EC_{50L} y n_{H2} son la mitad de la concentración eficaz y el coeficiente de Hill en el estado de LS. En algunos casos, se usó una ecuación de Hill única,

$$y = I_{\max} \times \{1 / (1 + (EC_{50}/x)^{n_H})\}$$

para la comparación del ajuste con la ecuación 1. $I_{\max}$, EC_{50} , y n_H tienen las mismas definiciones.

El transcurso del tiempo del bloqueo de canal abierto de las respuestas a los agonistas de $\alpha 4\beta 2$ se analizó usando una ecuación monoexponencial de la forma:

$$Y = A \cdot \exp(-t/\tau) - B \quad (2)$$

donde y es la corriente (en picoamperios), A es la corriente de pico máximo del control (en picoamperios), τ es la constante de tiempo (en milisegundos), B es la corriente en equilibrio (en picoamperios), y t es el tiempo (en milisegundos).

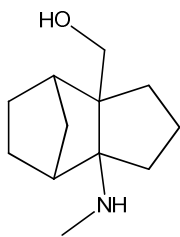
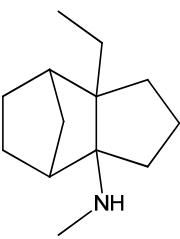
Soluciones y Aplicación de Fármacos. La solución externa contenía: 120 mM NaCl, 3 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 25 mM D-glucosa, y 10 mM HEPES y se ajustó a pH 7,4 con base de Tris. En los experimentos, ACh se aplicó como un agonista sin

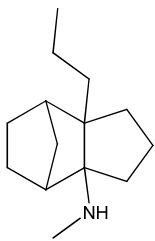
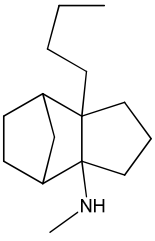
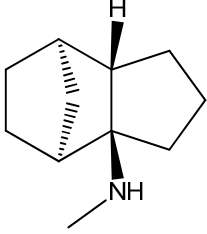
atropina porque nuestros datos experimentales mostraron que 1 μ m sulfato de atropina no afectó las corrientes inducidas por ACh (no se muestran) y porque se ha informado que la atropina sola bloqueó los receptores nicotínicos (Liu et al., 2008). Para todos los registros de células enteras convencionales, se usaron electrodos de Tris y se llenaron con un solución que contenía: 110 mM de fosfato de Tris dibásico, 28 mM de base de Tris, 11 mM EGTA, 2 mM MgCl₂, 0,1 mM CaCl₂, y 4 mM Mg-ATP, a pH 7,3. Para iniciar las respuestas a corrientes de células enteras, los agonistas nicotínicos se suministraron mudando células desde la solución de control a la solución que contiene el agonista y de regreso a la primera de manera tal que el intercambio de la solución ocurriera dentro de 50 ms (basado en 10-90% tiempos de elevación de corriente pico). Se ajustaron intervalos entre aplicaciones de fármacos (0,5-1 minuto) específicamente para asegurar la estabilidad de la sensibilidad al receptor (sin resumen funcional) y la selección de las soluciones de pipetas usadas en la mayor parte de los estudios descritos en la presente se hizo con el mismo objetivo. Los fármacos usados en los presentes estudios que incluyen (-)-nicotina y ACh, se compraron a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

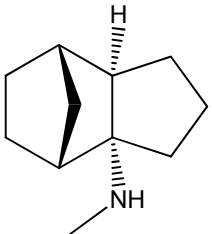
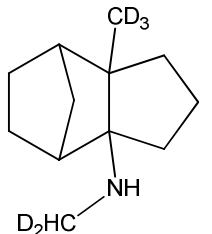
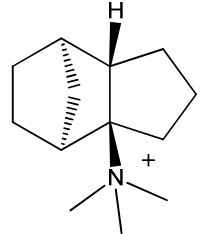
Resumen en Tablas

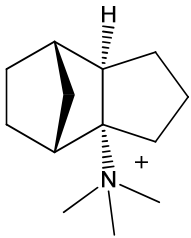
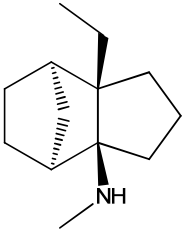
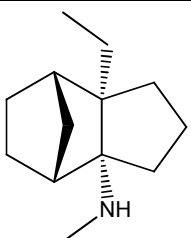
Como se muestra en la Tabla 2, los compuestos representativos de la presente invención normalmente presentan constantes de inhibición (valores de K_i) para los subtipos de receptores $\alpha 4\beta 2$ humano, $\alpha 7$, y ganglionar en la gama de 1-100 mM, lo cual indica una baja afinidad para los sitios de unión ortostéricos (es decir, el sitio de unión del agonista competitivo) de estos subtipos de receptores. Los datos de la Tabla 4, sin embargo, también ilustran que los compuestos representativos de la presente invención inhiben eficazmente el flujo de iones para estos subtipos de receptores, con valores de IC_{50} típicos inferiores a 2 mM y valores de I_{max} típicos de >95%. Tomados juntos, estos datos demuestran que los compuestos representativos de esta invención son eficaces en la inhibición del flujo de iones mediado por estos subtipos de receptores a través de un mecanismo que no consiste en la unión en los sitios ortostéricos.

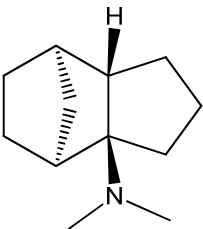
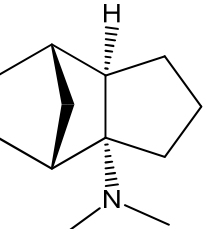
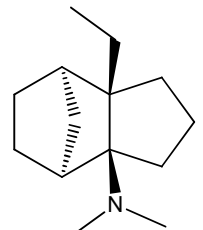
Tabla 2

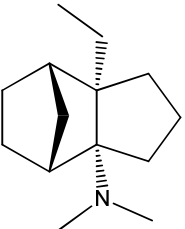
I_{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)	91	98
IC₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)	200	20
I_{max} de Ca de $\alpha 3\beta 4$ de CHO humano (% inh)		97
IC₅₀ de Flujo de Ca de $\alpha 3\beta 4$ de CHO humano (nM)		220
I_{max} de Flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humano [37C/LS] (% inh)	90	97
IC₅₀ de Flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humano [37C/LS] (nM)	380	170
I_{max} de Flujo de Ca de $\alpha 4\beta 2$ humano [29C/HS] (% inh)	99	100
IC₅₀ de Flujo de $\alpha 4\beta 2$ humano [29C/HS] (nM)	370	430
Ki Ganglionar humano (nM)	89000	100000
Ki de $\alpha 3\beta 4$ de CHO humano (nM)		75000
Ki de $\alpha 7$ de CHO humano (nM)		
Ki de $\alpha 4\beta 2$ de CHO humano (nM)	31000	34000
Estructura		

I_{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)	98	93	95
IC₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)	30	24	380
I_{max} de Ca de α3β4 de CHO humano (% inh)	96	96	97
IC₅₀ de Flujo de Ca de α3β4 de CHO humano (nM)	130	300	490
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (% inh)	96	96	96
IC₅₀ de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (nM)	170	140	340
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [29C/HS] (% inh)	100	99	96
IC₅₀ de Flujo de α4β2 humano [29C/HS] (nM)	210	460	550
Ki Ganglionar humano (nM)	52000	100000	100000
Ki de α3β4 de CHO humano (nM)	73000	74000	
Ki de α7 de CHO humano (nM)			
Ki de α4β2 de CHO humano (nM)	29000	73000	33000
Estructura			

I_{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)	95	99	97
IC₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)	490	83	1800
I_{max} de Ca de α3β4 de CHO humano (% inh)	97		
IC₅₀ de Flujo de Ca de α3β4 de CHO humano (nM)	660		
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (% inh)	96	95	100
IC₅₀ de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (nM)	380	76	380
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [29C/HS] (% inh)	97		
IC₅₀ de Flujo de α4β2 humano [29C/HS] (nM)	380		
Ki Ganglionar humano (nM)	70000		
Ki de α3β4 de CHO humano (nM)	80000	100000	13000
Ki de α7 de CHO humano (nM)		100000	
Ki de α4β2 de CHO humano (nM)	51000	26000	8600
Estructura			

I_{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)			
IC₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)			
I_{max} de Ca de α3β4 de CHO humano (% inh)	94	97	97
IC₅₀ de Flujo de Ca de α3β4 de CHO humano (nM)	940	170	120
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (% inh)	98	93	94
IC₅₀ de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (nM)	260	5000	6900
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [29C/HS] (% inh)		98	100
IC₅₀ de Flujo de α4β2 humano [29C/HS] (nM)		600	510
Ki Ganglionar humano (nM)			
Ki de α3β4 de CHO humano (nM)		56000	53000
Ki de α7 de CHO humano (nM)		79000	100000
Ki de α4β2 de CHO humano (nM)	6900	26000	32000
Estructura			

I_{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)			
IC₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)			
I_{max} de Ca de α3β4 de CHO humano (% inh)	97	96	95
IC₅₀ de Flujo de Ca de α3β4 de CHO humano (nM)	230	190	240
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (% inh)	98	98	98
IC₅₀ de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (nM)	410	500	710
I_{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [29C/HS] (% inh)	99	96	
IC₅₀ de Flujo de α4β2 humano [29C/HS] (nM)	410	510	
Ki Ganglionar humano (nM)			
Ki de α3β4 de CHO humano (nM)	16000	13000	91000
Ki de α7 de CHO humano (nM)			
Ki de α4β2 de CHO humano (nM)	47000	20000	33000
Estructura			

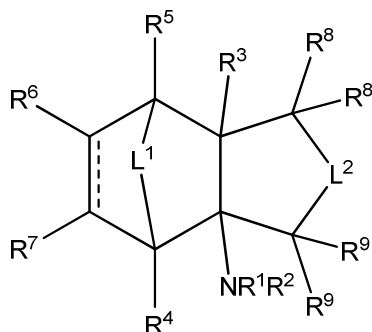
I _{max} de Flujo de Ca Ganglionar humano (% inh)	
IC ₅₀ de Flujo de Ca Ganglionar humano (nM)	
I _{max} de Ca de α3β4 de CHO humano (% inh)	96
IC ₅₀ de Flujo de Ca de α3β4 de CHO humano (nM)	200
I _{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (% inh)	99
IC ₅₀ de Flujo de Ca de α4β2 humano [37C/LS] (nM)	370
I _{max} de Flujo de Ca de α4β2 humano [29C/HS] (% inh)	
IC ₅₀ de Flujo de α4β2 humano [29C/HS] (nM)	
Ki Ganglionar humano (nM)	
Ki de α3β4 de CHO humano (nM)	70000
Ki de α7 de CHO humano (nM)	
Ki de α4β2 de CHO humano (nM)	64000
Estructura	

Las respuestas farmacológicas específicas observadas pueden variar de acuerdo con y según el compuesto activo particular seleccionado o si están presentes portadores farmacéuticos, así como el tipo de formulación y la forma de administración empleada, y dichas variaciones o diferencias esperadas en los resultados están contempladas de acuerdo con la práctica de la presente invención.

Aunque en la presente se ilustran y se describen detalladamente realizaciones específicas de la presente invención, la invención no se limita a ellas. Las descripciones detalladas precedentes se dan como ejemplos de la presente invención y no se deberá interpretar que constituyen ninguna limitación de la invención. Las modificaciones serán obvias para los expertos en el arte y todas las modificaciones que no se apartan del espíritu de la invención están incluidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I



Fórmula I

en donde

cada uno de R^1 y R^2 es individualmente H, alquilo de C_{1-6} , o alquilo de C_{1-6} sustituido con arilo, o R^1 y R^2 se combinan con el átomo de nitrógeno al cual están unidos para formar un anillo de 3 a 8 miembros, cuyo anillo se puede sustituir opcionalmente con sustituyentes de alquilo de C_{1-6} , arilo, alcoxi de C_{1-6} , o ariloxi;

R^3 es H, alquilo de C_{1-6} , alquilo de C_{1-6} sustituido con hidroxilo o alquilo de C_{1-6} sustituido con alcoxi de C_{1-6} ;

cada uno de R^4 , R^5 , R^6 , y R^7 es individualmente H, alquilo de C_{1-6} , o alcoxi de C_{1-6} ;

cada R^8 es individualmente H, alquilo de C_{1-6} , o alcoxi de C_{1-6} ;

cada R^9 es individualmente H, alquilo de C_{1-6} , o alcoxi de C_{1-6} ;

cada L^1 y L^2 es individualmente una especie de conector seleccionada del grupo formado por $CR^{10}R^{11}$, $CR^{10}R^{11}CR^{12}R^{13}$, y O;

cada uno de R^{10} , R^{11} , R^{12} , y R^{13} es individualmente hidrógeno o alquilo de C_{1-6} ; y

o una sal farmacéuticamente aceptable de él.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R^1 es H y R^2 es alquilo de C_{1-6} .

3. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde R^3 es alquilo de C_{1-6} o alquilo de C_{1-6} sustituido con hidroxilo.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde cada uno de R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , y R^9 es H.

5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde cada uno de L^1 y L^2 es $CR^{10}R^{11}$, y cada uno de R^{10} y R^{11} es hidrógeno.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un portador farmacéuticamente aceptable.

7. Un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal que comprende la administración de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la enfermedad o condición es IBS-D, OAB, adicción a la nicotina, dejar de fumar, depresión, trastorno depresivo mayor o hipertensión.
9. El uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal.
10. El uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la enfermedad o condición es IBS-D, OAB, adicción a la nicotina, dejar de fumar, depresión, trastorno depresivo mayor o hipertensión.
11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para su uso como una sustancia terapéutica activa.

12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o condición mediada por un receptor nicotínico neuronal.
13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, en donde la enfermedad o condición es IBS-D, OAB, adicción a la nicotina, dejar de fumar, depresión, trastorno depresivo mayor o hipertensión.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con compuestos que modulan receptores nicotínicos como antagonistas no competitivos, con métodos para su síntesis, con métodos para su uso, y con sus composiciones farmacéuticas.

PCT/EP2011/005118

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

Desde la OFICINA INTERNACIONAL

PCT**NOTIFICACIÓN DE REGISTRO DE UN
CAMBIO**(Norma 92bis.1 del PCT e
Instrucciones Administrativas,
Artículo 422)

Para:

FIX, Amy H.
P.O. Box 7037
Atlanta, Georgia 30357
Estados Unidos de América

Fecha de envío (día/mes/año) 28 de abril de 2014 (28-04-2014)	
Referencia de archivo del solicitante o del agente: T1032940WO	NOTIFICACIÓN IMPORTANTE
Solicitud de patente internacional N° PCT/EP2012/062940	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 1 de noviembre de 2012 (1-11-2012)

1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro con referencia a:

☒ el solicitante ☒ el inventor ☐ el agente
☐ el representante

Nombre y domicilio AKIREDDY, Srinivasa Rao SPEAKE, Jason BHATTI, Bahwinder Singh YOHANNES, Daniel GENUS, John XIAO, Yunde	Estado de Nacionalidad	Estado de Residencia
	Teléfono N°	
	Fax N°	
	Dirección de Correo Electrónico	

2. Por la presente la Oficina Internacional notifica al solicitante que se ha registrado el siguiente cambio con referencia a:

☐ la persona ☐ el nombre ☐ el domicilio ☐ la nacionalidad
☐ la residencia

Nombre y domicilio Véase el Casillero 3	Estado de Nacionalidad	Estado de Residencia
	Teléfono N°	
	Fax N°	
	Dirección de Correo electrónico [] Se autorizan notificaciones por correo electrónico	

3. Otras observaciones, si fueran necesarias:

Las personas identificadas en el Casillero 1 son ahora inventores solamente.

4. Se ha remitido copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora	☐ La Autoridad del Examen Preliminar Internacional
☐ la Autoridad de Búsqueda Internacional	☒ las Oficinas designadas referidas
☐ La Autoridad(es) especificada para la búsqueda complementaria	☐ Las Oficinas elegidas referidas
	☐ otra:

La Oficina Internacional de la WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Ginebra 20, Suiza Fax N° +41 22 338 89 95	Funcionario autorizado Birchen Mireille e-mail: pt04.pct@wipo.int Tel. N° +41 22 338 74 04
--	---

Formulario PCT/IB/306 (enero de 2009)