

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 101**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/439 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.03.2016** **PCT/US2016/021512**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.09.2016** **WO16145046**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.03.2016** **E 16711088 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2023** **EP 3267983**

54 Título: **Métodos para tratar proteinopatías**

30 Prioridad:

10.03.2015 US 201562131071 P

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

18.06.2024

73 Titular/es:

GENZYME CORPORATION (100.0%)
450 Water Street
Cambridge, MA 02141, US

72 Inventor/es:

CHENG, SENG, H.;
SHIHABUDDIN, LAMYA y
SARDI, SERGIO, PABLO

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 973 101 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para tratar proteinopatías

5 Esta descripción se refiere a métodos para prevenir, reducir o revertir la pérdida de función neuronal en sujetos diagnosticados con, o en riesgo de desarrollar, proteinopatías, en las que la pérdida de función neuronal comprende pérdida de función cognitiva, y a compuestos de quinuclidina para uso en dichos métodos. La descripción se refiere particularmente a la administración oral de compuestos de quinuclidina para prevenir, reducir o revertir la pérdida de función neural en sujetos diagnosticados con, o en riesgo de desarrollar, taupatías y/o sinucleinopatías, por ejemplo enfermedad de Parkinson, en las que la pérdida de función neural comprende pérdida de función cognitiva.

SUMARIO DE LA INVENCION

15 En medicina, la proteinopatía se refiere a una clase de enfermedades en las que ciertas proteínas se vuelven estructuralmente anormales, y por lo tanto alteran la función de las células, tejidos y órganos del cuerpo. A menudo, las proteínas no logran plegarse en su configuración normal. En este estado mal plegado, las proteínas pueden volverse tóxicas de alguna manera (una ganancia de función tóxica) o pueden perder su función normal. Las proteinopatías incluyen enfermedades tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la amiloidosis, y una amplia gama de otros trastornos.

20 Las proteinopatías están muy extendidas en toda la población. Por ejemplo, casi un millón de personas en Estados Unidos de América viven con la enfermedad de Parkinson, y hasta 5,1 millones de estadounidenses padecen la enfermedad de Alzheimer. No existen actualmente curas para estas enfermedades, y se desconocen muchos de los mecanismos moleculares subyacentes a la enfermedad y su progresión.

25 Las taupatías forman una clase particular de proteinopatías. Se trata de un conjunto de trastornos neurodegenerativos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de proteína tau fosforilada, típicamente en forma de ovillos neurofibrilares o cuerpos de Pick. Estos trastornos están relacionados con la edad, y suelen ser, en mayor o menor medida, hereditarios. Por ejemplo, las mutaciones en *MAPT* (que codifica la proteína tau asociada a los microtúbulos en seres humanos, ubicada en el cromosoma 17q21) representan alrededor del 30 % de los casos hereditarios de demencia frontotemporal. Se sabe que varias isoformas de tau humana se generan mediante ajuste alternativo de *MAPT*, y las mutaciones en este gen pueden provocar niveles alterados de estas isoformas, lo que puede conducir a la agregación de proteínas y la progresión de la enfermedad.

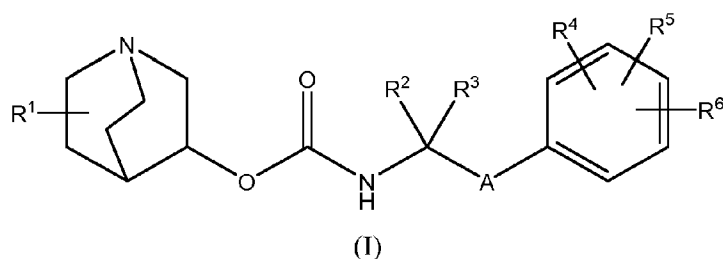
35 Otra clase de proteinopatías se caracteriza por proteínas α -sinucleína estructuralmente anormales. Estas enfermedades se conocen colectivamente como sinucleinopatías. La α -sinucleína es una proteína codificada por el gen *SNCA* en seres humanos. En particular, la α -sinucleína puede agregarse para formar fibrillas insolubles en trastornos patológicos caracterizados por cuerpos de Lewy. Estos trastornos incluyen, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson y la demencia con cuerpos de Lewy.

40 Las patologías asociadas a la tau y a la α -sinucleína se encuentran frecuentemente juntas en pacientes con enfermedad de Parkinson y en pacientes con demencia con cuerpos de Lewy. En estos casos, las enfermedades pueden caracterizarse tanto como taupatías como sinucleinopatías.

45 Aunque no existen curas para estas enfermedades devastadoras, existen varios medicamentos de tipo molécula pequeña disponibles para ayudar a aliviar los síntomas de algunas proteinopatías. En el documento WO 2012/177997 A1 se describen ejemplos de agentes activadores lisosomales que pueden ser útiles en el tratamiento de proteinopatías. Sin embargo, existe una necesidad real en la técnica de desarrollar terapias eficaces para aliviar o gestionar los síntomas asociados con las proteinopatías, especialmente proteinopatías tales como la enfermedad de Parkinson y la demencia con cuerpos de Lewy. Existe una necesidad particular de desarrollar terapias eficaces para tratar la fisiopatología subyacente de las proteinopatías.

50 Los presentes inventores han determinado que ciertos compuestos de quinuclidina pueden reducir, revertir o prevenir la agregación de proteínas en tejidos de sujetos con proteinopatías. Los inventores también han determinado que estos compuestos de quinuclidina pueden mejorar los déficits de memoria en modelos animales de proteinopatías. Estos resultados indican que los tratamientos con compuestos de quinuclidina como se describen aquí serán eficaces para tratar la fisiopatología subyacente de las proteinopatías.

55 Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para prevenir, reducir o revertir la pérdida de función neural en un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una proteinopatía,



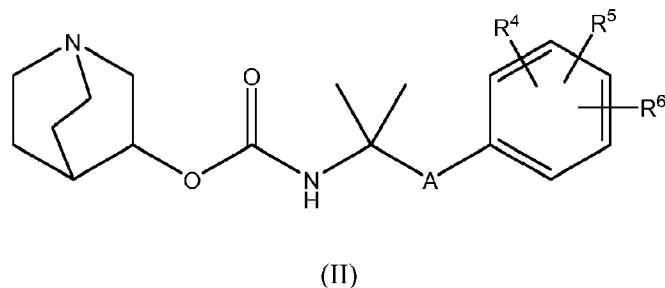
en la que:

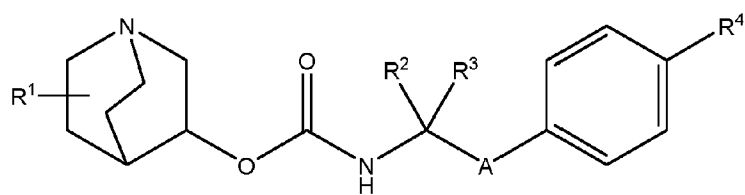
- 5 R¹ es hidrógeno;
- un halógeno o un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio o amino; o
- 10 un grupo alquilo de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, alcoxi de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆ o alquino de C₂₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio, o amino; R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de un grupo alquilo de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos; o R² y R³ forman juntos un grupo ciclopropilo o ciclobutilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos;
- 15 R⁴, R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno; un halógeno; un grupo nitro, hidroxilo, tio o amino; y un grupo alquilo de C₁₋₆ o alquilo de C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; un grupo hidroxilo o ciano; y un grupo alquilo de C₁₋₆; y
- 20 A es un grupo arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros

en el que la pérdida de función neuronal comprende pérdida de función cognitiva.

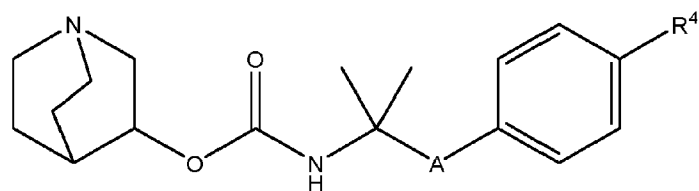
- 25 En una realización, R¹ es hidrógeno; flúor; o un grupo metilo o etilo opcionalmente sustituido con un halógeno, o un grupo hidroxilo, tio o amino.

- En realizaciones, (i) R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de grupos metilo y etilo, opcionalmente sustituidos con uno o más átomos de flúor; (ii) R⁴ se selecciona de un halógeno; y un grupo alquilo de C₁₋₃ o alquilo de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno y un grupo alquilo de C₁₋₃; y/o (iii) R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno. En realizaciones, R⁴ es flúor o un grupo 2-metoxietoxi, y R⁵ y R⁶ son hidrógeno. En realizaciones, R⁴ está en una posición en el anillo de benceno *para* con respecto al grupo A.
- 30 En realizaciones, A es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo hidroxilo, tio, amino, nitro, oxo o metilo. En una realización, los grupos -C(R²R³)- y -(C₆H₄R⁴R⁵R⁶) están unidos al grupo A en una relación 1,3 o 1,4.
- 35 En otras realizaciones, A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N y S. En una realización, los grupos -C(R²R³)- y -(C₆H₄R⁴R⁵R⁶) están unidos al grupo A en una relación 1,3.
- 40 En realizaciones, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (II), (III) o (IV),





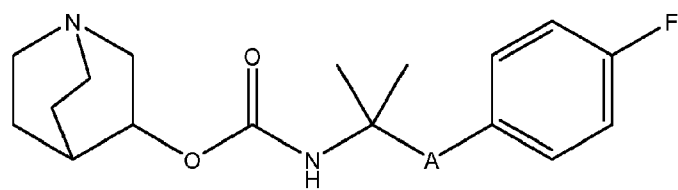
(III)



(IV)

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (V),



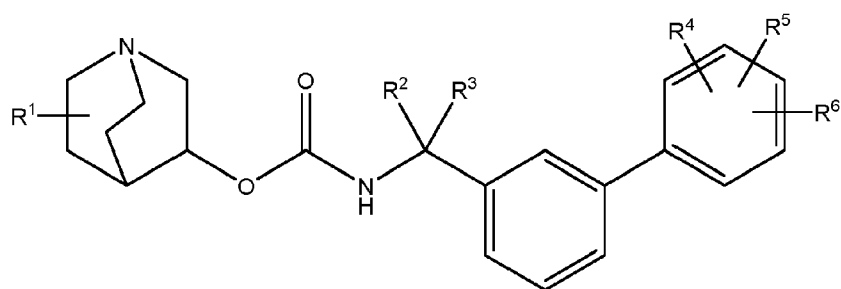
(V)

10

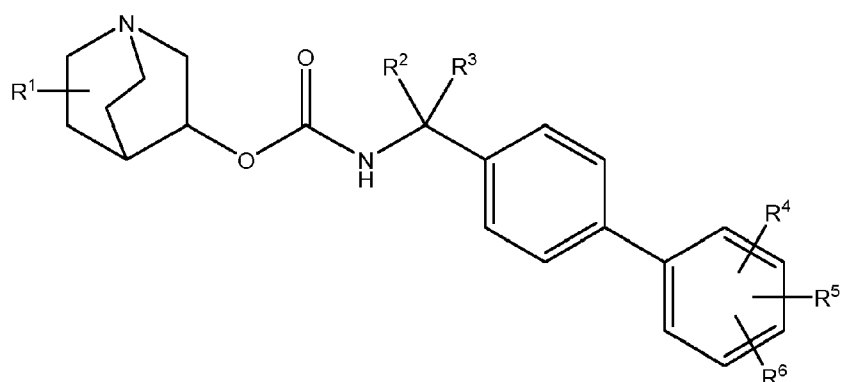
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otras realizaciones, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (VI), (VII) o (VIII),

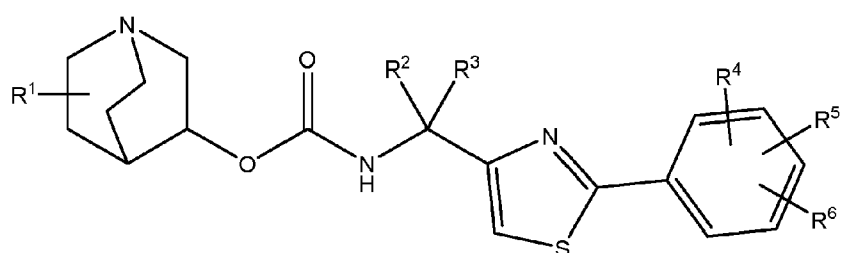
15



(VI)



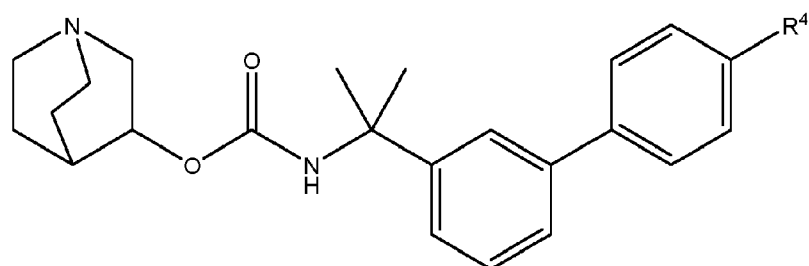
(VII)



(VIII)

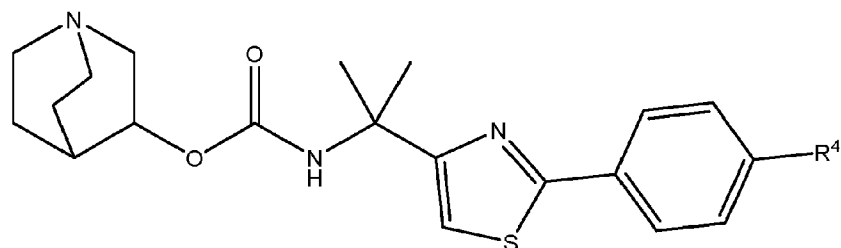
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (IX) o (XI),



(IX)

10



(XI)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, R⁴ es flúor.

15 En realizaciones particulares, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable se selecciona de: (2-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-3-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo; (S)-(2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de

quinuclidin-3-ilo; (S)-(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo; y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En realizaciones, la proteinopatía es una taupatía. En una realización, dicha taupatía se selecciona de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, demencia pugilística, parkinsonismo ligado al cromosoma 17, enfermedad de Lytico-Bodig, demencia con predominio de ovillos, enfermedad del grano argirófilo, ganglioglioma, gangliocitoma, meningioangiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, degeneración corticobasal, demencia frontotemporal, degeneración del lóbulo frontotemporal, y enfermedad de Huntington.

En realizaciones, dicho sujeto no tiene agregados proteicos que comprenden α -sinucleína en su SNC (por ejemplo, en neuronas de la sustancia negra, corteza cerebral, hipocampo, lóbulos frontales y/o lóbulos temporales).

En realizaciones, dicha taupatía es la enfermedad de Parkinson caracterizada por la presencia de proteína tau, pero no α -sinucleína, dentro de agregados proteicos en el SNC de dicho sujeto (por ejemplo, en neuronas de la sustancia negra, corteza cerebral, hipocampo, lóbulos frontales y/o lóbulos temporales).

En otras realizaciones, la proteinopatía es una sinucleinopatía. En una realización, dicha sinucleinopatía se selecciona de demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y atrofia multisistémica.

En realizaciones, dicho método previene, reduce o revierte la progresión de la demencia en el sujeto.

En realizaciones, dicho sujeto es un mamífero, por ejemplo un ser humano.

En realizaciones, dicho compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra mediante administración sistémica, por ejemplo a través de una vía no parenteral. En una realización, dicho compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía oral.

En realizaciones, el método previene, reduce o revierte el deterioro en los dominios cognitivos del sujeto. En una realización, el método previene, reduce o revierte el deterioro de la atención y la concentración, las funciones ejecutivas, la memoria (por ejemplo, la memoria de trabajo), el lenguaje, las habilidades visoconstructivas, el pensamiento conceptual, los cálculos, la orientación, la toma de decisiones y/o la resolución de problemas.

En realizaciones, la pérdida de función neuronal comprende la pérdida de función autónoma, además de la pérdida de función cognitiva, y el método previene, reduce o revierte adicionalmente la hipotensión ortostática, el estreñimiento, la disfagia, las náuseas, la hipersalivación, la hiperhidrosis, y/o la disfunción urinaria y sexual.

En realizaciones, la pérdida de función neuronal comprende la pérdida de función motora, además de la pérdida de función cognitiva, y el método previene, reduce o revierte adicionalmente el parkinsonismo. En una realización, el método previene, reduce o revierte la disfunción motora (por ejemplo, temblor), bradicinesia, rigidez, inestabilidad postural, y/o equilibrio deteriorado.

En realizaciones, el método previene, reduce o revierte los síntomas tempranos de la demencia (por ejemplo, dificultad para recordar conversaciones, nombres o eventos recientes, y/o apatía y depresión). En una realización, el método previene, reduce o revierte síntomas tardíos de demencia (por ejemplo, comunicación deficiente, falta de juicio, desorientación, confusión, cambios de comportamiento y/o dificultad para hablar, tragar y/o caminar).

Las características y ventajas adicionales de los compuestos, composiciones y métodos descritos aquí serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 muestra los resultados de una nueva prueba de reconocimiento de objetos realizada en ratones, tanto de tipo salvaje (WT) como también en un modelo de proteinopatía (*Gba1^{D409V/D409V}*). Las barras sólidas muestran investigaciones diana durante el entrenamiento, y las barras rayadas muestran investigaciones diana durante las pruebas. Las barras blancas (izquierda de la figura) muestran resultados en ratones WT, las barras de color gris oscuro (centro de la figura) muestran resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras de color gris claro (derecha de la figura) muestran resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 2 muestra los resultados de las pruebas de condicionamiento del miedo realizadas en ratones, tanto de tipo salvaje (WT) como también en un modelo de proteinopatía (*Gba1^{D409V/D409V}*). La Figura 2A muestra los resultados relacionados con la memoria contextual. La Figura 2B muestra los resultados relacionados con la memoria con claves. Las barras blancas (izquierda de las figuras) muestran resultados en ratones WT, las barras rayadas (centro de las figuras) muestran resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras

negras (derecha de las figuras) muestran resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 3 muestra los resultados de las investigaciones diana durante las pruebas en una nueva prueba de reconocimiento de objetos realizada en ratones, tanto de tipo salvaje (WT) como también en un modelo de proteinopatía que sobreexpresa la α -sinucleína A53T (no se muestran los resultados del entrenamiento). Las barras blancas (izquierda de la figura) muestran los resultados en ratones WT, las barras rayadas (centro de la figura) muestran los resultados en ratones A53T no tratados, y las barras negras (derecha de la figura) muestran los resultados en ratones A53T tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 4 muestra los resultados de las pruebas de condicionamiento del miedo realizadas en ratones, tanto de tipo salvaje (WT) como también en un modelo de proteinopatía (que sobreexpresa la α -sinucleína A53T). La Figura 4A muestra los resultados relacionados con la memoria contextual. La Figura 4B muestra los resultados relacionados con la memoria con claves. Las barras blancas (izquierda de las figuras) muestran los resultados en ratones WT, las barras sólidas (segunda izquierda de las figuras) muestran los niveles iniciales en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados a las 4 semanas, las barras rayadas (segunda derecha de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras negras (derecha de las figuras) muestran los resultados en ratones A53T tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 5 muestra la cuantificación en el hipocampo de agregados de ubiquitina tanto en ratones de tipo salvaje como en ratones *Gba1^{D409V/D409V}*. La Figura 5A muestra los resultados a las 16 semanas, y la Figura 5B muestra los resultados a las 40 semanas. Las barras blancas (extremo izquierdo de las figuras) muestran los resultados en ratones WT, las barras sólidas (segunda izquierda de las figuras) muestran los niveles iniciales en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados a las 4 semanas, las barras rayadas (segunda derecha de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras negras (extremo derecho de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 6 muestra la inmunorreactividad de la ubiquitina (verde) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad, ya sea control (Fig. 6A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 6B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La FIG. 7 muestra la cuantificación en el hipocampo de agregados de α -sinucleína resistentes a la proteinasa K en ratones tanto de tipo salvaje como *Gba1^{D409V/D409V}*. La Figura 7A muestra los resultados a las 16 semanas, y la Figura 7B muestra los resultados a las 40 semanas. Las barras rayadas (extremo izquierdo de las figuras) muestran los resultados en ratones WT, las barras blancas (segunda izquierda de las figuras) muestran los niveles iniciales en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados a las 4 semanas, las barras rayadas (segunda derecha de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras negras (extremo derecho de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 8 muestra la inmunorreactividad de la α -sinucleína resistente a la proteinasa K (rojo) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad, ya sea control (Fig. 8A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 8B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La FIG. 9 muestra la cuantificación en el hipocampo de agregados de proteína tau en ratones tanto de tipo salvaje como *Gba1^{D409V/D409V}*. La Figura 9A muestra los resultados a las 16 semanas, y la Figura 9B muestra los resultados a las 40 semanas. Las barras blancas (extremo izquierdo de las figuras) muestran los resultados en ratones WT, las barras sólidas (segunda izquierda de las figuras) muestran los niveles iniciales en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados a las 4 semanas, las barras rayadas (segunda derecha de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y las barras negras (extremo derecho de las figuras) muestran los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 10 muestra la inmunorreactividad de la proteína tau (verde) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad, ya sea control (Fig. 10A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 10B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La FIG. 11 muestra la localización subcelular de α -sinucleína en homogeneizados de tejido cortical de ratones A53T, a los 8 meses de edad. Los niveles de α -sinucleína citosólica soluble (Fig. 11A), asociada a membrana (Fig. 11B), y citosólica insoluble (Fig. 11C) se muestran en ratones sin tratar (barra negra de la izquierda) y tratados (barra gris de la derecha).

La FIG. 12 muestra la cuantificación en el hipocampo de agregados de ubiquitina tanto en ratones de tipo salvaje como en ratones A53T, a los 8 meses de edad. La barra blanca (extremo izquierdo de la figura) muestra los resultados en ratones WT, la barra sólida (segunda izquierda de la figura) muestra los niveles iniciales en ratones A53T no tratados a las 6 semanas de edad, la barra negra (segunda derecha de la figura) muestra los resultados en ratones A53T no tratados, y la barra gris (extremo derecho de la figura) muestra los resultados en ratones A53T tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 13 muestra la inmunorreactividad de la ubiquitina (verde) en los hipocampos de ratones A53T de 8 meses de edad, ya sea control (Fig. 13A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 13B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La FIG. 14 muestra la cuantificación en el hipocampo de agregados de proteína tau en ratones tanto de tipo salvaje como A53T, a los 8 meses de edad. La barra blanca (extremo izquierdo de la figura) muestra los resultados en ratones WT, la barra sólida (segunda izquierda de la figura) muestra los niveles iniciales en ratones A53T no tratados a las 6 semanas de edad, la barra negra (segunda derecha de la figura) muestra los resultados en ratones A53T no tratados, y la barra gris (extremo derecho de la figura) muestra los resultados en ratones A53T tratados con el Compuesto 1.

La FIG. 15 muestra la inmunorreactividad de la proteína tau (verde) en los hipocampos de ratones A53T de 8 meses de edad, ya sea control (Fig. 15A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 15B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La FIG. 16 muestra los resultados de las investigaciones diana durante la prueba en una nueva prueba de reconocimiento de objetos realizada en ratones, tanto de tipo salvaje (WT) como en el modelo de ratón con proteinopatía *Gba1^{D409V/D409V}* (no se muestran los resultados del entrenamiento). La barra negra (izquierda de la figura) muestra los resultados en ratones WT, la barra blanca (centro de la figura) muestra los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados, y la barra gris (derecha de la figura) muestra los resultados en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* sintomáticos tratados con el Compuesto 1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Aunque ahora se describirán realizaciones específicas de la presente descripción con referencia a las preparaciones y esquemas, debe entenderse que tales realizaciones son sólo a modo de ejemplo y meramente ilustrativas de un pequeño número de las muchas realizaciones específicas posibles que pueden representar aplicaciones de los principios de la presente descripción. La presente invención es como se define en las reclamaciones adjuntas. Varios cambios y modificaciones, en la medida en que estén cubiertos por las reivindicaciones, serán obvios para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. Cualquier referencia a métodos de tratamiento a lo largo de esta descripción debe interpretarse como referencia a los compuestos, composiciones farmacéuticas, o medicamentos de la presente invención para uso en esos métodos.

Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen los mismos significados que entiende comúnmente un experto normal en la técnica a la que pertenece esta descripción. Aunque en la práctica o pruebas de la presente invención se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos aquí, ahora se describen métodos, dispositivos y materiales ejemplares.

La práctica de la presente descripción empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de cultivo de tejidos, inmunología, biología molecular, microbiología, biología celular y ADN recombinante, que están dentro de los conocimientos de la técnica. Véanse, por ejemplo, Michael R. Green and Joseph Sambrook, Molecular Cloning (4ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press 2012); la serie de Ausubel et al. eds. (2007) Current Protocols in Molecular Biology; la serie Methods in Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); MacPherson et al. (1991) PCR 1: A Practical Approach (IRL Press at Oxford University Press); MacPherson et al. (1995) PCR 2: A Practical Approach; Harlow and Lane eds. (1999) Antibodies, A Laboratory Manual; Freshney (2005) Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 5ª edición; Gait ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; patent de EE. UU. núm. 4.683.195; Hames and Higgins eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Anderson (1999) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins eds. (1984) Transcription and Translation; Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press (1986)); Perbal (1984) A Practical Guide to Molecular Cloning; Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Cold Spring Harbor Laboratory); Makrides ed. (2003) Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells; Mayer and Walker eds. (1987) Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, Londres); Herzenberg et al. eds (1996) Weir's Handbook of Experimental Immunology; Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, 3ª edición (Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002)); Sohail (ed.) (2004) Gene Silencing by RNA Interference: Technology and Application (CRC Press).

Todas las designaciones numéricas, por ejemplo pH, temperatura, tiempo, concentración, peso molecular, etc., incluidos los intervalos, son aproximaciones que varían (+) o (-) en incrementos de 0,1 o 1,0, cuando corresponda. Debe entenderse, aunque no siempre se indica explícitamente, que los reactivos descritos aquí son meramente ejemplares, y que se conocen equivalentes de los mismos en la técnica.

Como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, la forma singular "un", "una" y "el/la" incluye referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión "una célula" incluye una pluralidad de células, incluyendo mezclas de las mismas. A menos que se indique específicamente o sea

obvio por el contexto, como se usa aquí, se entiende que el término "o" es inclusivo. El término "que incluye" se usa aquí para referirse, y se usa indistintamente, a la frase "que incluye, pero sin limitarse a".

Como se usa aquí, la expresión "que comprende" o "comprende" pretende significar que las composiciones y métodos incluyen los elementos enumerados, pero sin excluir otros. "Que consiste esencialmente en", cuando se usa para definir composiciones y métodos, significará que excluye otros elementos de cualquier importancia esencial para la combinación para el fin declarado. Por lo tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos como se define aquí no excluiría contaminantes en trazas del método de aislamiento y purificación y vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como disolución salina amortiguada con fosfato, conservantes y similares. "Que consiste en" significará que excluye más que elementos en trazas de otros ingredientes y etapas sustanciales del método para administrar las composiciones de esta invención o etapas del procedimiento para producir una composición o lograr un resultado deseado. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta invención. El uso de la expresión "que comprende" pretende abarcar aquí "que consiste esencialmente en" y "que consiste en".

El término "proteínopatía" se refiere a una enfermedad en la que ciertas proteínas se vuelven estructuralmente anormales y/o se acumulan de manera tóxica, y de ese modo alteran la función de las células, tejidos y órganos del cuerpo. A menudo, las proteínas no logran plegarse en su configuración normal. En este estado mal plegado, las proteínas pueden volverse tóxicas o perder su función normal. Ejemplos no limitativos de proteínas incluyen enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, demencia pugilística, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy (también conocida como demencia con cuerpos de Lewy), enfermedad de Pick, degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo, ganglioglioma y gangliocitoma, meningioangiomas, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, y lipofuscinosis, angiopatía cerebral por β -amiloides, degeneración de las células ganglionares de la retina en el glaucoma, enfermedades priónicas, diabetes tipo 2, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington y otros trastornos de la repetición del triplete, enfermedad de Alexander, seipinopatías, neuropatía amiloidótica, amiloidosis sistémica senil, serpinopatías, amiloidosis, miositis/miopatía por cuerpos de inclusión, cuerpos de Mallory, proteinosis alveolar pulmonar, y miopatía por enfermedad crítica (CIM).

Como se usa aquí, el término "chaperona" se refiere a una molécula, tal como una molécula pequeña, un polipéptido, un ácido nucleico, y similares, que se unen específicamente a una proteína (que es aberrante en una proteína). La chaperona puede restaurar o mejorar al menos parcialmente la función y/o actividad de tipo salvaje de la proteína (véase, por ejemplo, Patnaik et al. (2012) J. Med Chem. 55:5734-5748).

Un "sujeto", "individuo" o "paciente" se usa indistintamente aquí, y se refiere a un vertebrado, tal como un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, murinos, ratas, conejos, simios, bovinos, ovinos, porcinos, caninos, felinos, animales de granja, animales deportivos, mascotas, equinos, primates, y seres humanos. En una realización, los mamíferos incluyen caballos, perros, y gatos. En una realización, el mamífero es un ser humano.

"Administrar" se define aquí como un medio de proporcionar un agente o una composición que contiene el agente a un sujeto de una manera que da como resultado que el agente esté dentro del cuerpo del sujeto. Tal administración puede ser por cualquier vía, que incluye, sin limitación, oral, transdérmica (por ejemplo, vagina, recto, mucosa oral), por inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, parenteral, intraperitoneal, en el SNC), o por inhalación (por ejemplo, oral o nasal). Naturalmente, las preparaciones farmacéuticas se presentan en formas adecuadas para cada vía de administración.

"Tratar" o "tratamiento" de una enfermedad incluye: (1) prevenir la enfermedad, es decir, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen en un paciente que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no experimenta ni muestra síntomas de la enfermedad; (2) inhibir la enfermedad, es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o sus síntomas clínicos; y/o (3) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o sus síntomas clínicos.

El término "sufrimiento", referido al término "tratamiento", se refiere a un paciente o individuo que ha sido diagnosticado con la enfermedad o está predispuesto a ella. También se puede decir que un paciente está "en riesgo de sufrir" una enfermedad debido a antecedentes de enfermedad en su linaje familiar o debido a la presencia de mutaciones genéticas asociadas con la enfermedad. Un paciente en riesgo de padecer una enfermedad aún no ha desarrollado todas o algunas de las patologías características de la enfermedad.

Una "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad suficiente para lograr resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz se puede administrar en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones. Tal administración depende de una serie de variables, que incluyen el período de tiempo durante el cual se usará la unidad de dosificación individual, la biodisponibilidad del agente terapéutico, la vía de administración, etc. Se entiende, sin embargo, que los niveles de dosis específicos de los agentes terapéuticos de la presente descripción para cualquier sujeto en particular dependen de una variedad de factores que incluyen, por ejemplo, la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y dieta del sujeto, el momento de la administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, y la gravedad del trastorno particular.

que se está tratando y la forma de administración. Las dosis del tratamiento generalmente se pueden ajustar para optimizar la seguridad y eficacia. Normalmente, las relaciones dosis-efecto de las pruebas *in vitro* y/o *in vivo* pueden proporcionar inicialmente una guía útil sobre las dosis adecuadas para la administración al paciente. En general, se deseará administrar una cantidad del compuesto que sea eficaz para alcanzar un nivel sérico proporcional a las concentraciones que se han encontrado eficaces *in vitro*. La determinación de estos parámetros está dentro de los conocimientos de la técnica. Estas consideraciones, así como las formulaciones y procedimientos de administración eficaces, son bien conocidos en la técnica y se describen en libros de texto estándar. Según esta definición, como se usa aquí, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad suficiente para tratar (por ejemplo, mejorar) uno o más síntomas asociados con una proteinopatía o con niveles aberrantes/aumentados de α -sinucleína, tau u otros agregados proteicos *ex vivo*, *in vitro* o *in vivo*.

Como se usa aquí, la expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" abarca cualquiera de los excipientes farmacéuticos estándar, incluidos vehículos tales como una disolución salina amortiguada con fosfato, agua, y emulsiones, tales como una emulsión de aceite/agua o de agua/aceite, y diversos tipos de agentes humectantes. Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir estabilizantes y conservantes. Para ejemplos de vehículos, estabilizantes y adyuvantes, véase Remington's Pharmaceutical Sciences (20^a ed., Mack Publishing Co. 2000).

Como se usa aquí, el término "profármaco" significa un derivado farmacológico de una molécula de fármaco original que requiere biotransformación, ya sea espontánea o enzimática, dentro del organismo para liberar el fármaco activo. Por ejemplo, los profármacos son variaciones o derivados de los compuestos de quinuclidina descritos aquí que tienen grupos escindibles bajo ciertas condiciones metabólicas, que cuando se escinden se convierten en los compuestos de quinuclidina descritos aquí, por ejemplo un compuesto de Fórmula I. Tales profármacos son entonces farmacéuticamente activos *in vivo* cuando sufren solvolisis en condiciones fisiológicas o sufren degradación enzimática. Los compuestos de profármaco aquí pueden denominarse simples, dobles, triples, etc., dependiendo del número de etapas de biotransformación necesarias para liberar el fármaco activo dentro del organismo, y del número de funcionalidades presentes en una forma de tipo precursor. Las formas de profármaco a menudo ofrecen ventajas de solubilidad, compatibilidad tisular, o liberación retardada en el organismo mamífero (Bundgard, Design of Prodrugs, págs. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985, y Silverman, "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action", págs. 352-401, Academic Press, San Diego, California, 1992).

Los profármacos comúnmente conocidos en la técnica incluyen derivados de ácidos bien conocidos, tales como, por ejemplo, ésteres preparados mediante reacción de compuestos ácidos con un alcohol adecuado, amidas preparadas mediante reacción de compuestos ácidos con una amina, grupos básicos que reaccionan para formar un derivado de base acilado, etc. Otros derivados de profármaco se pueden combinar con otras características descritas aquí para mejorar la biodisponibilidad. Como tal, los expertos en la técnica apreciarán que algunos de los compuestos actualmente descritos que tienen, por ejemplo, grupos amino o hidroxil libres se pueden convertir en profármacos. Los profármacos incluyen compuestos que tienen un resto de aminoácido o una cadena polipeptídica de dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) restos de aminoácidos que están unidos covalentemente a través de enlaces peptídicos a grupos amino, hidroxil o ácido carboxílico libres de los compuestos actualmente descritos. Los restos de aminoácidos incluyen los 20 aminoácidos de origen natural comúnmente designados por símbolos de tres letras, y también incluyen 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metionina sulfona. Los profármacos también incluyen compuestos que tienen un resto carbonato, carbamato, amida o éster alquílico enlazado covalentemente a cualquiera de los sustituyentes anteriores descritos aquí.

Como se usa aquí, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable o una sal de adición de bases farmacéuticamente aceptable de un compuesto actualmente descrito que puede administrarse sin ningún efecto o efectos biológicos sustanciales indeseables resultantes o sin ninguna interacción o interacciones nocivas resultantes con cualquier otro componente de una composición farmacéutica en la que pueda estar contenido.

Como se usa aquí, la expresión "alquilo de C₁₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado saturado que consiste esencialmente en 1 a 6 átomos de carbono y un número correspondiente de átomos de hidrógeno. Los grupos alquilo de C₁₋₆ ejemplares incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, etc. Otros grupos alquilo de C₁₋₆ serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. Las expresiones "alquilo de C₁₋₃", "alquilo de C₁₋₄", etc., tienen significados equivalentes, es decir, radical libre lineal o ramificado saturado que consiste esencialmente en 1 a 3 (o 4) átomos de carbono y un número correspondiente de átomos de hidrógeno.

Como se usa aquí, la expresión "alquenilo de C₂₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado insaturado que consiste esencialmente en 2 a 6 átomos de carbono y un número correspondiente de átomos de hidrógeno, radical libre el cual comprende al menos un doble enlace carbono-carbono. Los grupos alquenilo de C₂₋₆ ejemplares incluyen etenilo, prop-1-enilo, prop-2-enilo, isopropenilo, but-1-enilo, 2-metil-prop-1-enilo, 2-metil-prop-2-enilo, etc. Otros grupos alquenilo de C₂₋₆ serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción.

Como se usa aquí, la expresión "alquinilo de C₂₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado insaturado que consiste esencialmente en 2 a 6 átomos de carbono y un número correspondiente de átomos de hidrógeno, radical libre el cual comprende al menos un triple enlace carbono-carbono. Los grupos alquinilo de C₂₋₆ ejemplares incluyen etinilo, prop-1-inilo, prop-2-inilo, but-1-inilo, 3-metil-but-1-inilo, etc. Otros grupos alquinilo de C₂₋₆ serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción.

Como se usa aquí, la expresión "alquiloxi de C₁₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado saturado que consiste esencialmente en 1 a 6 átomos de carbono (y un número correspondiente de átomos de hidrógeno) y un átomo de oxígeno. Un grupo alquiloxi de C₁₋₆ está unido a través del átomo de oxígeno. Los grupos alquiloxi de C₁₋₆ ejemplares incluyen metiloxi, etiloxi, n-propiloxi, isopropiloxi, n-butiloxi, isobutiloxi, etc. Otros grupos alquiloxi de C₁₋₆ serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. Las expresiones "alquiloxi de C₁₋₃", "alquiloxi de C₁₋₄", y similares, tienen un significado equivalente, es decir, un radical libre lineal o ramificado saturado que consiste esencialmente en 1 a 3 (o 4) átomos de carbono (y un número correspondiente de átomos de hidrógeno) y un átomo de oxígeno, en las que el grupo está unido a través del átomo de oxígeno.

Como se usa aquí, la expresión "alquenilo de C₂₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado insaturado que consiste esencialmente en 2 a 6 átomos de carbono (y un número correspondiente de átomos de hidrógeno) y un átomo de oxígeno, radical libre el cual comprende al menos un doble enlace carbono-carbono. Un grupo alquenilo de C₂₋₆ está unido a través del átomo de oxígeno. Un grupo alquenilo de C₂₋₆ ejemplar es etenilo; otros serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción.

Como se usa aquí, la expresión "alquinoxilo de C₂₋₆" significa un radical libre lineal o ramificado insaturado que consiste esencialmente en 2 a 6 átomos de carbono (y un número correspondiente de átomos de hidrógeno) y un átomo de oxígeno, radical libre el cual comprende al menos un triple enlace carbono-carbono. Un grupo alquinoxilo de C₂₋₆ está unido a través del átomo de oxígeno. Un grupo alquinoxilo de C₂₋₆ ejemplar es etinilo; otros serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción.

Como se usa aquí, el término "heteroarilo" significa un radical libre aromático que tiene 5 o 6 átomos (es decir, átomos anulares) que forman un anillo, en el que 1 a 5 de los átomos anulares son carbono y el 1 a 5 átomos anulares restantes (es decir, heteroátomos anulares) se seleccionan independientemente del grupo que consiste en nitrógeno, azufre, y oxígeno. Los grupos heteroarilo de 5 miembros ejemplares incluyen furilo, tienilo, tiazolilo (por ejemplo, tiazol-2-ilo), pirazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, triazolilo, imidazolilo, oxadiazolilo y tiadiazolilo. Los grupos heteroarilo de 6 miembros ejemplares incluyen piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, 1,2,4-tiazinilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, bencisoxazolilo, bencimidazolilo, etc. Otros grupos heteroarilo serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica dado el beneficio de la presente descripción. En general, el grupo heteroarilo normalmente está unido a la estructura principal mediante un átomo de carbono. Sin embargo, los expertos en la técnica se darán cuenta de que ciertos otros átomos, por ejemplo átomos heteroanulares, pueden unirse a la estructura principal.

Como se usa aquí, el término "arilo" significa un radical libre aromático que tiene 5 o 6 átomos (es decir, átomos anulares) que forman un anillo, en el que todos los átomos del anillo son carbono. Un grupo arilo ejemplar es bencilo.

Como se usa aquí, el término "alifático" significa un compuesto no aromático que contiene átomos de carbono e hidrógeno, por ejemplo que contiene 1 a 9 átomos de carbono. Los compuestos alifáticos pueden ser de cadena lineal o ramificada, pueden contener una o más estructuras anulares, y pueden contener uno o más dobles enlaces carbono-carbono (siempre que el compuesto no contenga una estructura anular insaturada que tenga carácter aromático). Ejemplos de compuestos alifáticos incluyen etano, propileno, ciclobutano, ciclohexadieno, etc.

Como se usan aquí, los términos "halo" y "halógeno" significan flúor, cloro, bromo, o yodo. Estos términos se usan indistintamente, y pueden referirse a un grupo de radical libre de halógeno o a un átomo de halógeno como tal. Los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente cuál es su identificación en vista del contexto en el que se usa este término en la presente descripción.

Como se usa aquí, el término "ciano" significa un radical libre que tiene un átomo de carbono unido a un átomo de nitrógeno mediante un triple enlace. El radical ciano está unido a través de su átomo de carbono.

Como se usa aquí, el término "nitro" significa un radical NO₂ que está unido a través de su átomo de nitrógeno.

Como se usan aquí, los términos "hidroxi" e "hidroxilo" significan un radical OH que está unido a través de su átomo de oxígeno. El término "tio" significa un radical SH que está unido a través de su átomo de azufre.

Como se usa aquí, el término "amino" significa un radical libre que tiene un átomo de nitrógeno y 1 o 2 átomos de hidrógeno. Como tal, el término "amino" generalmente se refiere a aminas primarias y secundarias. En ese sentido, como se usa aquí y en las reivindicaciones adjuntas, una amina terciaria está representada por la fórmula general RR'₂N-, en la que R y R' son radicales de carbono que pueden ser idénticos o no. Sin embargo, el término "amino" generalmente se puede usar aquí para describir una amina primaria, secundaria o terciaria, y los expertos en la técnica

podrán determinar fácilmente cuál es su identificación en vista del contexto en el que se usa este término en la presente descripción.

5 Como se usa aquí, el término y "oxo" significa un radical de oxígeno que está unido mediante un doble enlace. Cuando un átomo enlazado a este oxígeno es un átomo de carbono, el enlace es un doble enlace carbono-oxígeno, que puede denominarse $-(C=O)-$, y que puede denominarse cetona.

10 La enumeración de una lista de grupos químicos en cualquier definición de una variable aquí incluye definiciones de esa variable como cualquier grupo individual o combinación de grupos enumerados. La descripción de una realización para una variable o aspecto aquí incluye esa realización como cualquier realización individual o en combinación con cualquier otra realización o partes de la misma.

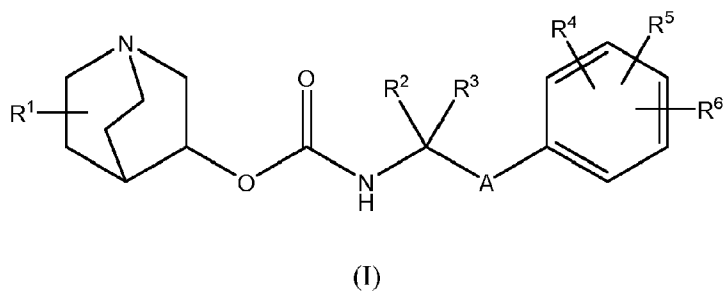
15 Cualesquiera composiciones o métodos proporcionados aquí se pueden combinar con una o más de cualquiera de las otras composiciones y métodos proporcionados aquí.

Se usan aquí las siguientes abreviaturas:

	A53T	Ratones transgénicos que expresan alfa-sinucleína humana con mutación A53T
20	ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
	AMTS	Puntuación de la prueba mental abreviada
25	ANOVA	Análisis de varianza
	br	Señal ancha
	CDI	Carbonildiimidazol
30	CIM	Miopatía por enfermedad crítica
	SNC	Sistema nervioso central
35	CS	Estimulo condicionado
	d	Doblete
	DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
40	Dd	Doblete de dobletes
	DME	Dimetoxietano
45	DMSO-d6	Dimetilsulfóxido-d6
	DMF	Dimetilformamida
	ADN	Ácido desoxirribonucleico
50	DTBZ	Carbono-11 dihidrotetabenazina
	EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
55	ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
	Et ₂ O	Éter dietílico
	EtMgBr	Bromuro de etilmagnesio
60	EtOAc	Acetato de etilo
	FC	Condicionamiento del miedo (prueba)
65	<i>GBA1</i>	Gen de la glucocerebrosidasa 1
	HPLC	Cromatografía de líquidos de alta presión/rendimiento

	HSA	Seroalbúmina humana
5	CÓDIGO IQ	Cuestionario para informantes sobre el deterioro cognitivo en las personas mayores
	IPA	Alcohol isopropílico
	ITI	Intervalo entre pruebas
10	J	Constante de acoplamiento
	LCMS	Cromatografía de líquidos - espectrometría de masas
15	m	Multiplete
	<i>MAPT</i>	Gen de la proteína tau asociada a microtúbulos
	MAO-B	Monoaminooxidasa B
20	MMSE	Mini examen del estado mental
	NOR	Reconocimiento de objeto novedoso (prueba)
25	PET	Tomografía de emisión de positrones
	PIB	Compuesto B Pittsburgh marcado con carbono-11
	ppm	Partes por millón
30	pTau	Proteína tau fosforilada
	rHA	Albúmina humana recombinante
35	s	Singlete
	<i>SNCA</i>	gen de la α -sinucleína
	SPECT	Tomografía computarizada por emisión de un solo fotón
40	SEM	Error estándar de la media
	TBME	Terc-butil metil éter
45	THF	Tetrahidrofurano
	Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
	TWEEN20	Polisorbato 20
50	TWEEN80	Polisorbato 80
	WT	Tipo salvaje
55	UPLCMS	Cromatografía de líquidos de ultra rendimiento - espectrometría de masas
	US	Estímulo incondicionado
	US-CS	Estímulo incondicionado - Estímulo condicionado
60	<u>Compuestos</u>	

La presente invención se refiere a compuestos de quinuclidina para uso en métodos terapéuticos relacionados con proteinopatías como se define en las reivindicaciones adjuntas. En un aspecto, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (I),



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

5 R¹ es hidrógeno;

un halógeno o un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio, o amino; o un grupo alquilo de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, alquilo de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆ o alquino de C₂₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos seleccionados independientemente de un halógeno, y un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio, o amino;

R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de un grupo alquilo de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) halógenos; o

R² y R³ forman juntos un grupo ciclopropilo o ciclobutilo, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1 o 2) halógenos;

R⁴, R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno; un halógeno; un grupo nitro,

hidroxi, tio, o amino; y un grupo alquilo de C₁₋₆ o alquiloxi de C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos seleccionados de un halógeno; un grupo hidroxi o ciano; y un grupo alquiloxi de C₁₋₆; y

A es un grupo arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros.

En una realización, R¹ es hidrógeno; un halógeno; o un grupo alquilo de C₁₋₄ o alquilo de C₁₋₄, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo ciano, nitro, hidroxilo o amino. En otra realización, R¹ es hidrógeno; flúor; o un grupo metilo o etilo opcionalmente sustituido con un halógeno, o un grupo hidroxilo, tio o amino. En una realización adicional, R¹ es hidrógeno; o un grupo metilo opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) halógenos. En aún otra realización, R¹ es hidrógeno. En una realización, R¹ no está unido al átomo de nitrógeno del resto de quinuclidina.

En una realización, R^2 y R^3 se seleccionan cada uno independientemente de grupos alquilo de C_{1-3} , opcionalmente sustituidos con uno o más halógenos. En otra realización, R^2 y R^3 se seleccionan cada uno independientemente de grupos metilo y etilo, opcionalmente sustituidos con uno o más átomos de flúor. En una realización adicional, R^2 y R^3 son cada uno metilo, opcionalmente sustituido con uno a tres átomos de flúor. En aún otra realización, R^2 y R^3 son ambos grupos metilo, o R^2 y R^3 forman juntos un grupo ciclopropilo. En todavía otra realización, R^2 y R^3 son ambos grupos metilo.

En una realización, R⁶ es hidrógeno. En otra realización, R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno. En otra realización, al menos uno de R⁴, R⁵ y R⁶ no es hidrógeno. En una realización adicional, R⁴ se selecciona de un halógeno; y un grupo alquilo de C₁₋₃ o alquiloxi de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; y un grupo ciano o alquiloxi de C₁₋₃. En otra realización, R⁴ se selecciona de un halógeno; y un grupo alquilo C₁₋₃ o alquiloxi de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; y un grupo alquiloxi de C₁₋₃. En aún otra realización, R⁴ se selecciona de flúor; y un grupo alquiloxi de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; y un grupo ciano o alquiloxi de C₁₋₃. En todavía otra realización, R⁴ se selecciona de flúor; y un grupo alquiloxi de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; y un grupo ciano o alquiloxi de C₁₋₃; y R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno. Por ejemplo, cuando R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno, R⁴ puede ser flúor o un grupo 2-metoxietoxi, por ejemplo flúor.

Como todos los R^4 , R^5 y R^6 son distintos de hidrógeno, estos tres grupos pueden estar unidos al anillo de benceno, por ejemplo, en las posiciones 2, 4 y 6 (con respecto al grupo A que está unido a la posición 1). Cuando sólo uno de R^4 , R^5 y R^6 es hidrógeno, los otros dos grupos pueden estar unidos al anillo de benceno, por ejemplo, en las posiciones 2 y 3, en las posiciones 3 y 4, o en las posiciones 3 y 5, por ejemplo en las posiciones 3 y 5 (con respecto al grupo A que está unido a la posición 1). Cuando dos de R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno, el otro grupo puede estar unido al anillo de

benceno en la posición 2, 3 o 4, por ejemplo en la posición 4 (es decir, en la posición *para* con respecto al grupo A). En una realización, R⁴ está en una posición en el anillo de benceno *para* con respecto al grupo A.

5 En una realización, A es un grupo arilo de 6 miembros o un grupo heteroarilo de 5 miembros. Ejemplos no limitativos de grupos arilo de 6 miembros y grupos heteroarilo de 5 miembros incluyen fenilo, furilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, triazolilo, imidazolilo, oxadiazolilo y tiadiazolilo. En una realización, el grupo arilo de 6 miembros o el grupo heteroarilo de 5 miembros se selecciona de fenilo, tienilo, tiazolilo, pirrolilo e imidazolilo. En otra realización, el grupo arilo de 6 miembros o el grupo heteroarilo de 5 miembros se selecciona de fenilo y tiazolilo.

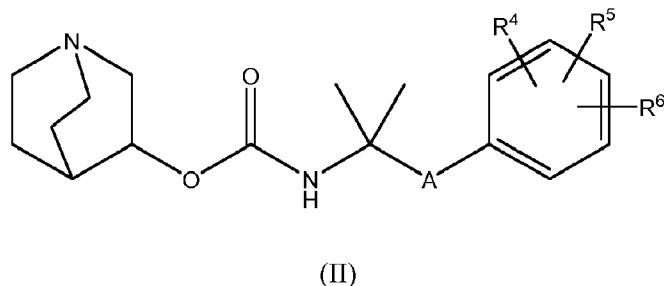
10 En una realización, A es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo hidroxilo, tio, amino, nitro, oxo o metilo. En otra realización, A es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 o 2 halógenos. En una realización adicional, A es fenilo, opcionalmente sustituido con un halógeno, por ejemplo flúor. En aún otra realización, A es un grupo fenilo no sustituido.

15 Cuando A es arilo o heteroarilo de 6 miembros, los grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) pueden estar en una relación 1,2 o 1,3 o 1,4, es decir, orto, meta o para entre sí. En una realización, los grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) están en una relación 1,3. En otra realización, los grupos unidos están en una relación 1,4.

20 En una realización, A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S. En otra realización, A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N y S. En una realización adicional, A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 2 heteroátomos seleccionados de N y S. En aún otra realización, A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 2 heteroátomos, en el que un heteroátomo es N y el otro heteroátomo es S. En todavía otra realización, A es un grupo tiazolilo.

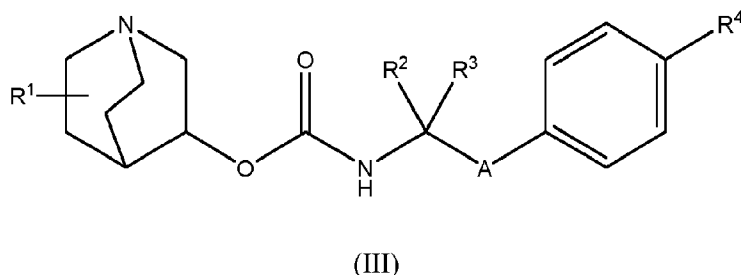
25 Cuando A es un grupo heteroarilo de 5 miembros, al menos uno de los grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) puede estar enlazado directamente a un átomo de carbono del grupo heteroarilo. En una realización, ambos grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) están enlazados directamente a un átomo de carbono del grupo heteroarilo. En una realización, los grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) están en una relación 1,3 entre sí, por ejemplo están enlazados directamente a átomos de carbono del grupo heteroarilo que están separados por un único átomo intermedio, por ejemplo heteroátomo. En la realización en la que A es un grupo tiazolilo, los grupos unidos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) pueden estar enlazados directamente en las posiciones 4 y 2, respectivamente.

35 Así, en una realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (II)



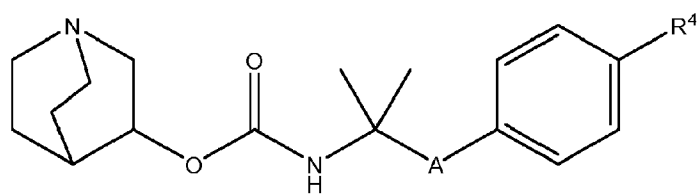
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R⁴, R⁵, R⁶ y A son como se definen aquí.

40 En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (III)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹ a R⁴ y A son como se definen aquí.

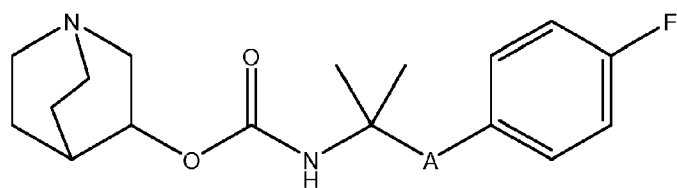
45 En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (IV)



(IV)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R^4 y A son como se definen aquí.

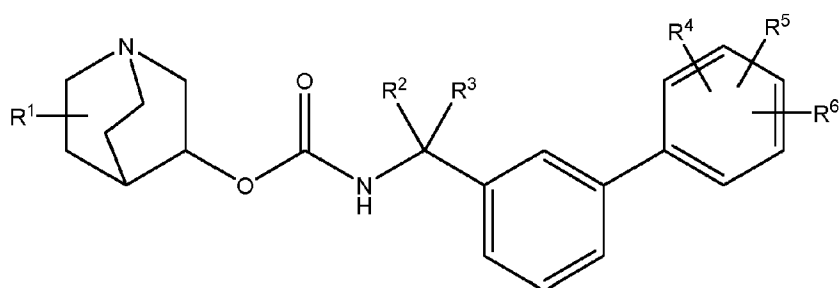
- 5 En una realización, R^4 es un halógeno, por ejemplo flúor. Por consiguiente, el compuesto de quinuclidina puede ser un compuesto de fórmula (V)



(V)

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que A es como se define aquí.

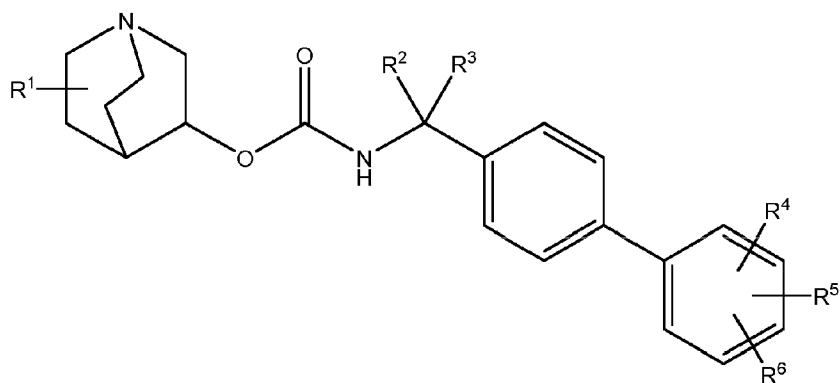
En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (VI)



(VI)

- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 a R^6 son como se definen aquí.

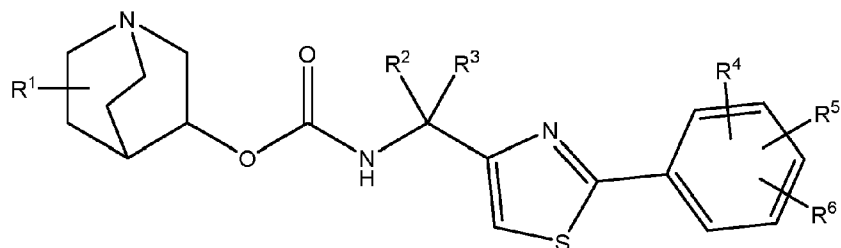
En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (VII)



(VII)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹ a R⁶ son como se definen aquí.

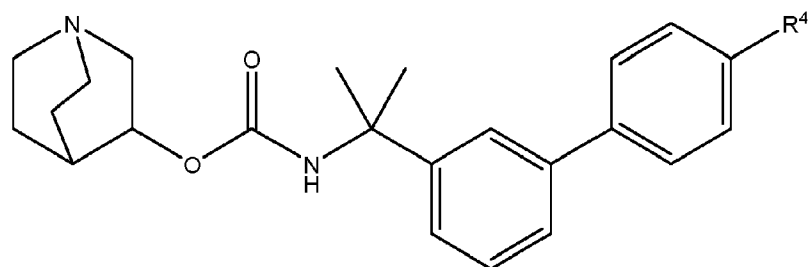
En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (VIII)



(VIII)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹ a R⁶ son como se definen aquí.

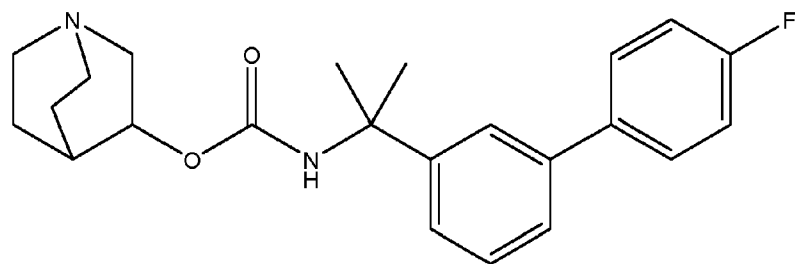
En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (IX)



(IX)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R⁴ es como se define aquí.

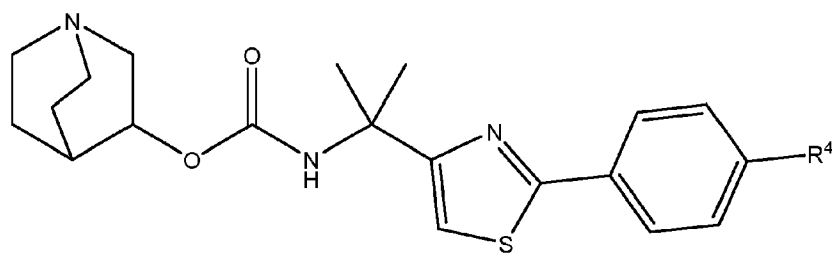
En una realización, R⁴ es un halógeno, por ejemplo flúor. Por consiguiente, el compuesto de quinuclidina puede ser un compuesto de fórmula (X)



(X)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

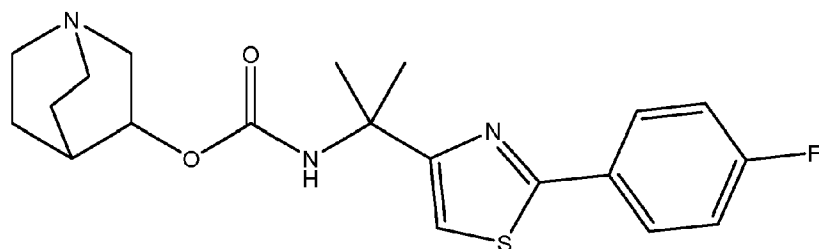
En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (XI)



(XI)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R⁴ es como se define aquí.

- 5 En una realización, R⁴ es un halógeno, por ejemplo flúor. Por consiguiente, el compuesto de quinuclidina puede ser un compuesto de fórmula (XII)



(XII)

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto de quinuclidina se selecciona del grupo que consiste en el Compuesto 1 al Compuesto 23:

Compuesto No.	Compuesto
1	(2-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-3-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
2	(S)-(2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
3	(S)-(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
4	[2-(bifenil-3-il)propan-2-il]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo
5	(S)-2-(bifenil-4-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
6	1-(bifenil-4-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
7	(S)-1-(4'-fluorobifenil-4-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
8	(S)-[1-(2',4'-difluorobifenil-4-il)ciclopropil]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo
9	[1-(4'-metoxibifenil-4-il)ciclopropil]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo
10	2-(5-(4-fluorofenil)tiofen-3-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
11	(S)-2-(3-(4-fluorofenil)isotiazol-5-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
12	(S)-2-(4-(4-fluorofenil)thiazol-2-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
13	(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
14	(S)-(2-(3'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
15	(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
16	(2-(4'-(3-metoxipropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
17	(2-(4'-(hidroximetil)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
18	(2-(4'-(2-hidroxietil)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo

Compuesto No.	Compuesto
19	(2-(2-(4-(3-metoxipropoxi)fenil)tiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
20	(2-(2-(4-(2-metoxietoxi)fenil)tiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
21	2-(5-(4-(2-metoxietoxi)fenil)piridin-2-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo
22	(2-(4'-(3-cianopropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo
23	(2-(4'-(cianometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización, el compuesto de quinuclidina se selecciona del Compuesto 1, el Compuesto 2 y el Compuesto 3, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otra realización, el compuesto de quinuclidina se selecciona del Compuesto 1 y el Compuesto 3, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto de quinuclidina se selecciona del Compuesto 1, el Compuesto 2 y el Compuesto 3. En una realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 1. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 2. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es el Compuesto 3.

Sales

Los compuestos actualmente descritos que son de naturaleza básica son generalmente capaces de formar una amplia variedad de sales diferentes con diversos ácidos inorgánicos y/u orgánicos. Aunque tales sales son generalmente farmacéuticamente aceptables para administración a animales y seres humanos, a menudo es deseable en la práctica aislar inicialmente un compuesto de la mezcla de reacción como una sal farmacéuticamente inaceptable y después simplemente convertir este último nuevamente en el compuesto de base libre mediante tratamiento con un reactivo alcalino, y posteriormente convertir la base libre en una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácidos de los compuestos de base se pueden preparar fácilmente usando técnicas convencionales, por ejemplo tratando el compuesto de base con una cantidad sustancialmente equivalente del ácido mineral u orgánico escogido en un medio disolvente acuoso o en un disolvente orgánico adecuado tal como, por ejemplo, metanol o etanol. Tras una evaporación cuidadosa del disolvente, se obtiene la sal sólida deseada. Los compuestos actualmente descritos que están cargados positivamente, por ejemplo que contienen amonio cuaternario, también pueden formar sales con el componente aniónico de diversos ácidos inorgánicos y/u orgánicos.

Los ácidos que pueden usarse para preparar sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de quinuclidina son aquellos que pueden formar sales de adición de ácidos no tóxicas, por ejemplo sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como sales de cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato o bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, citrato o citrato ácido, tartrato o bitartrato, succinato, malato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, metanosulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)].

Los compuestos actualmente descritos que son de naturaleza ácida, por ejemplo compuestos que contienen un resto de tetrazol, son generalmente capaces de formar una amplia variedad de sales diferentes con diversas bases inorgánicas y/u orgánicas. Aunque tales sales son generalmente farmacéuticamente aceptables para administración a animales y seres humanos, a menudo es deseable en la práctica aislar inicialmente un compuesto de la mezcla de reacción como una sal farmacéuticamente inaceptable y después simplemente convertir este último nuevamente en el compuesto de ácido libre mediante tratamiento con un reactivo ácido, y posteriormente convertir el ácido libre en una sal de adición de bases farmacéuticamente aceptable. Estas sales de adición de bases se pueden preparar fácilmente usando técnicas convencionales, por ejemplo tratando los compuestos ácidos correspondientes con una disolución acuosa que contiene los cationes farmacológicamente aceptables deseados, y después evaporando la disolución resultante hasta sequedad, por ejemplo a presión reducida. Alternativamente, también se pueden preparar mezclando disoluciones alcohólicas inferiores de los compuestos ácidos y el alcóxido de metal alcalino deseado, y evaporando después la disolución resultante hasta sequedad de la misma manera que antes. En cualquier caso, se pueden emplear cantidades estequiométricas de reactivos para asegurar la integridad de la reacción y rendimientos máximos del producto de la sal sólida deseada.

Las bases que pueden usarse para preparar las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de compuestos de quinuclidina son aquellas que pueden formar sales de adición de bases no tóxicas, por ejemplo sales que contienen cationes farmacológicamente aceptables, tales como cationes de metales alcalinos (por ejemplo, potasio y sodio), cationes de metales alcalino-térreos (por ejemplo, calcio y magnesio), amonio u otras sales de adición de aminas solubles en agua tales como *N*-metilglucamina (meglumina), alcanolamonio inferior, y otras bases similares de aminas orgánicas.

En una realización, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de succinato. En otra realización, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de 2-hidroxisuccinato, por ejemplo una sal de (S)-2-hidroxisuccinato. En otra realización, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrocloreto (es decir, una sal con HCl). En otra realización, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de malato.

Profármacos

Los profármacos farmacéuticamente aceptables descritos aquí son derivados de compuestos de quinuclidina que pueden convertirse *in vivo* en los compuestos de quinuclidina descritos aquí. Los profármacos, que pueden tener por sí mismos alguna actividad, se vuelven farmacéuticamente activos *in vivo* cuando se someten, por ejemplo, a solvólisis en condiciones fisiológicas o degradación enzimática. Los métodos para preparar profármacos de compuestos como se describen aquí serían evidentes para un experto en la técnica basándose en la presente descripción.

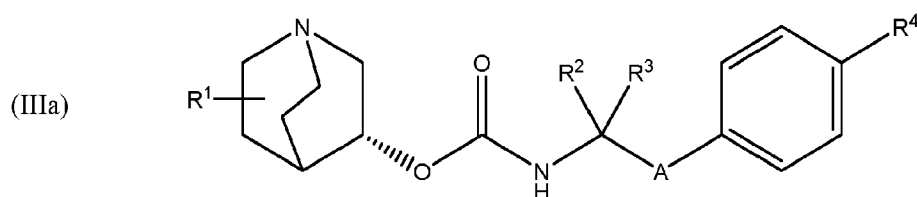
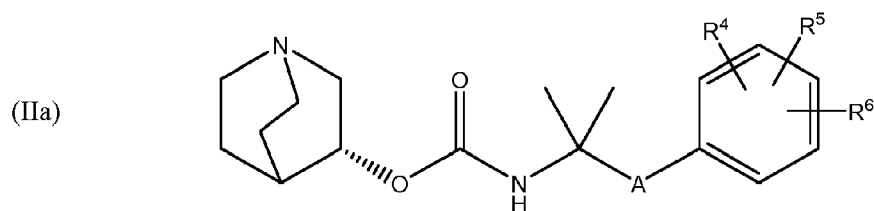
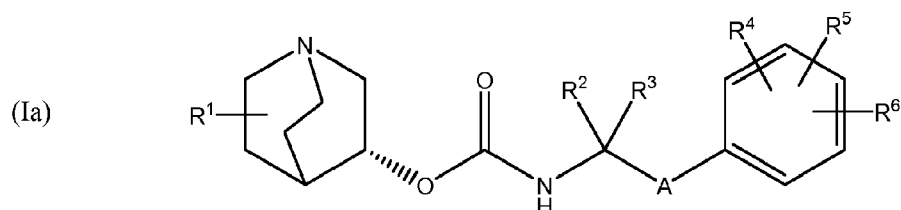
En una realización, se modifica el resto de carbamato del compuesto de quinuclidina. Por ejemplo, el resto de carbamato del compuesto de quinuclidina se puede modificar mediante la adición de agua y/o uno o dos alcoholes alifáticos. En este caso, el doble enlace carbono-oxígeno del resto de carbamato adopta lo que podría considerarse una funcionalidad hemiacetalica o acetálica. En una realización, el resto de carbamato del compuesto de quinuclidina se puede modificar mediante la adición de un diol alifático tal como 1,2-etanodiol.

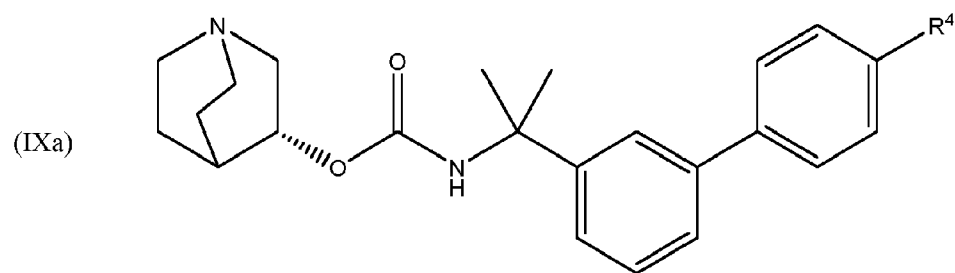
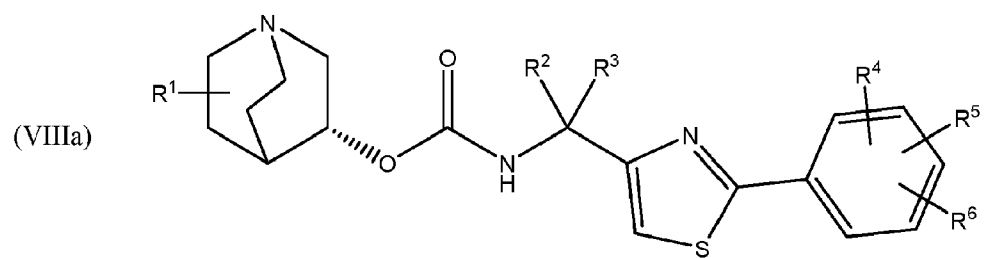
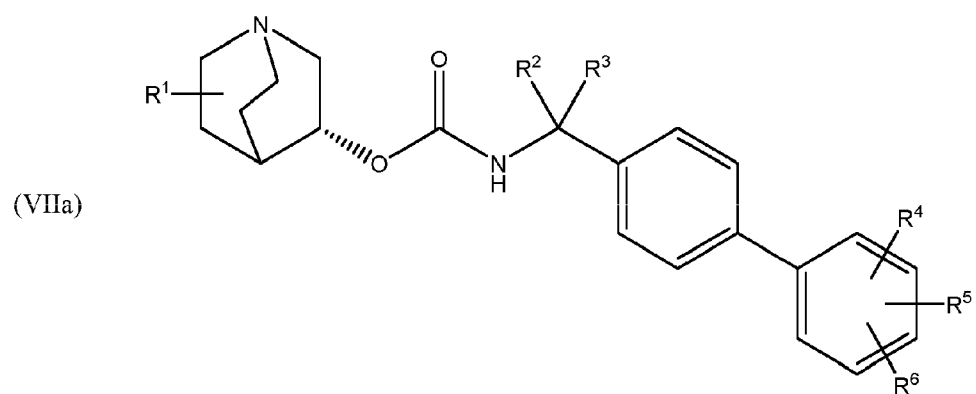
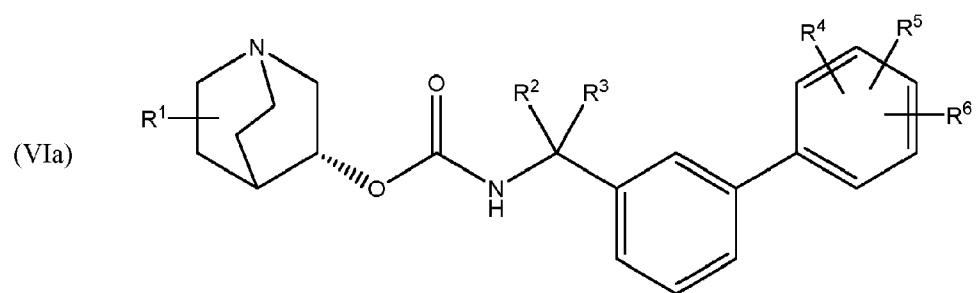
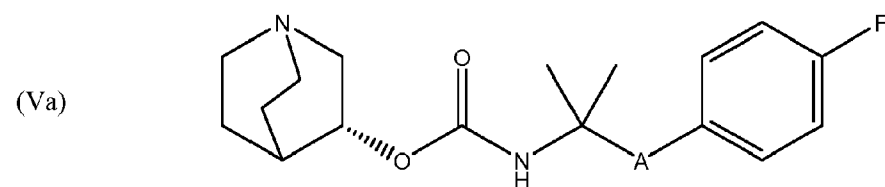
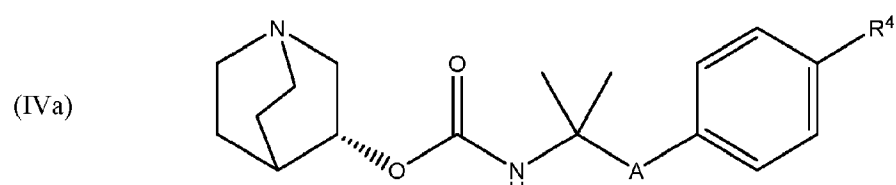
En una realización, se modifican uno o más de los grupos hidroxilo, tio o amino del compuesto de quinuclidina. Por ejemplo, uno o más de los grupos hidroxilo, tio y/o amino del compuesto de quinuclidina pueden modificarse para formar derivados de ácidos, por ejemplo ésteres, tioésteres (o tioésteres) y/o amidas. Los derivados de ácidos pueden formarse, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de quinuclidina que comprende uno o más grupos hidroxilo, tio o amino con un agente acetilante. Ejemplos de agentes acetilantes incluyen anhídridos tales como anhídrido acético, cloruros de ácido tales como cloruro de bencilo, y dicarbonatos tales como dicarbonato de di-*tert*-butilo.

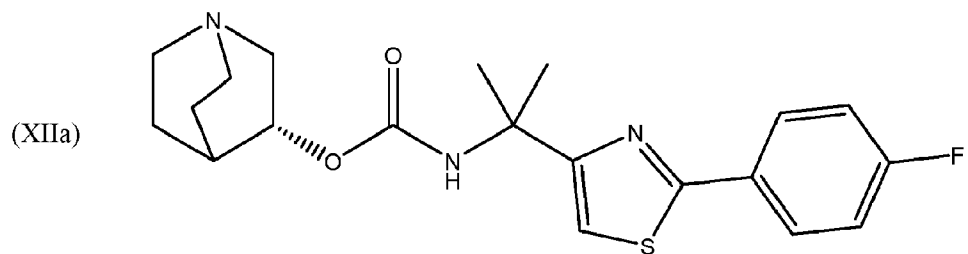
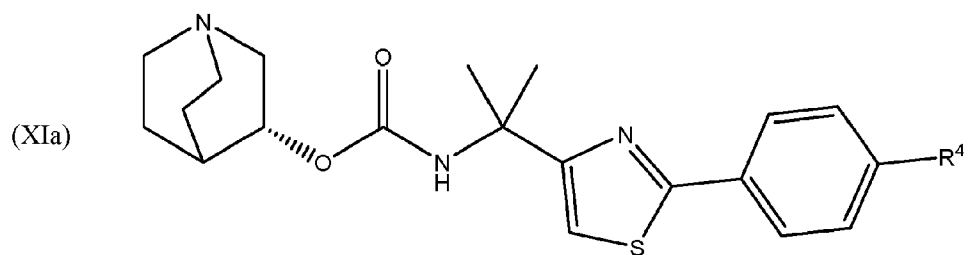
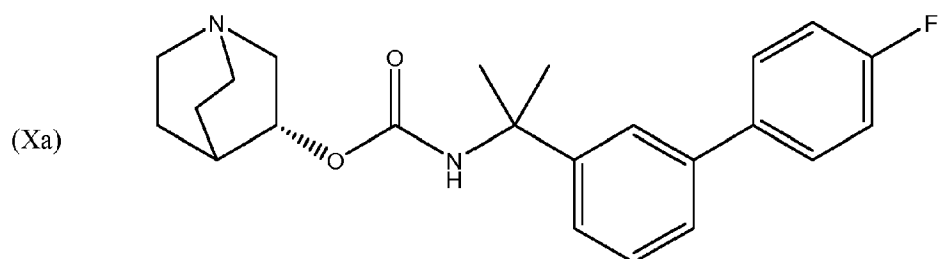
Estereoquímica

Los estereoisómeros (por ejemplo, isómeros *cis* y *trans*) y todos los isómeros ópticos de un compuesto descrito en la presente (por ejemplo, enantiómeros *R* y *S*), así como mezclas racémicas, diastereoméricas y otras mezclas de tales isómeros, están dentro del alcance de la presente descripción.

En una realización, el grupo quinuclidin-3-ilo de un compuesto de quinuclidina como se define aquí tiene la configuración *R*. Por consiguiente, el compuesto de quinuclidina se puede seleccionar del grupo que consiste en compuestos de fórmulas (Ia) a (XIIa):





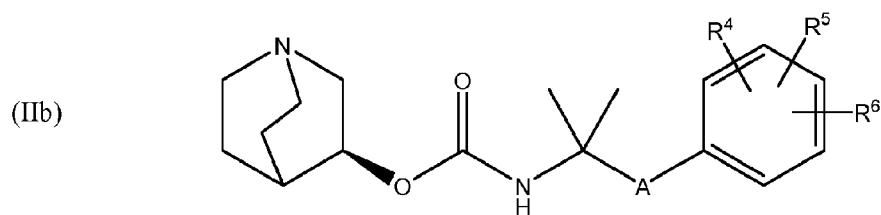
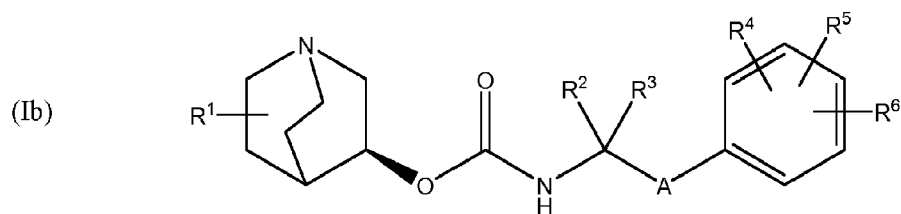


5

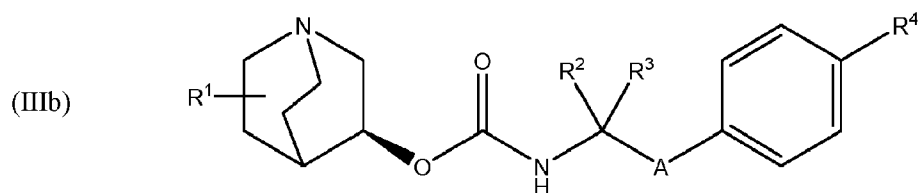
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

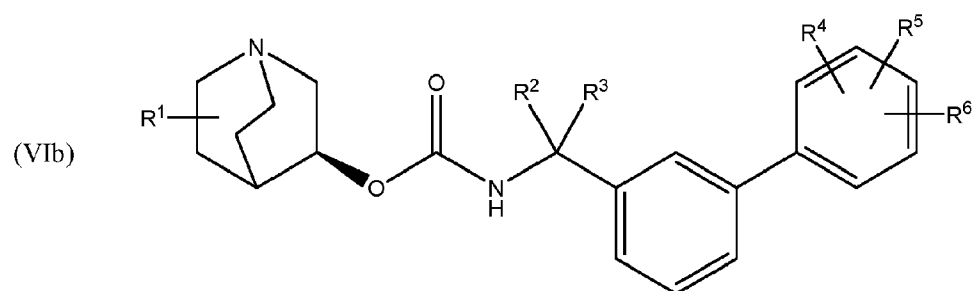
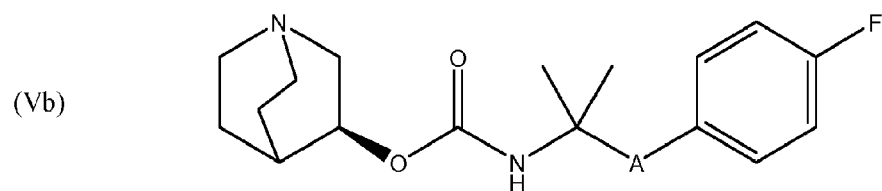
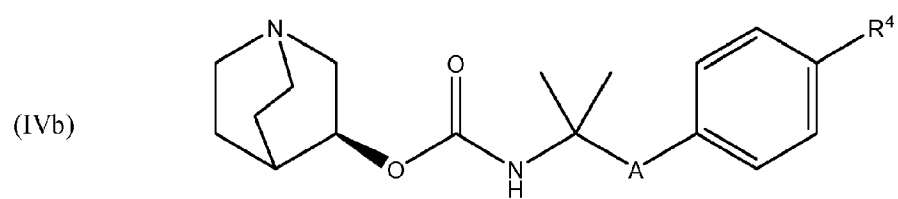
En otra realización, el grupo quinuclidin-3-ilo del compuesto de quinuclidina como se define aquí tiene la configuración S. Por consiguiente, el compuesto de quinuclidina se puede seleccionar del grupo que consiste en compuestos de fórmulas (Ib) a (XIIb):

10

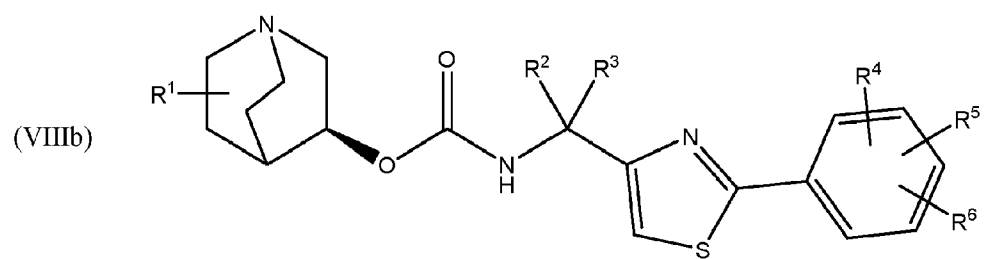
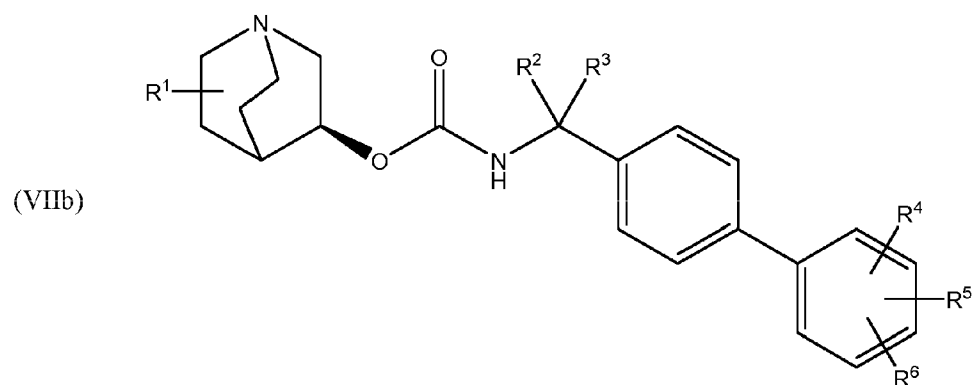


15

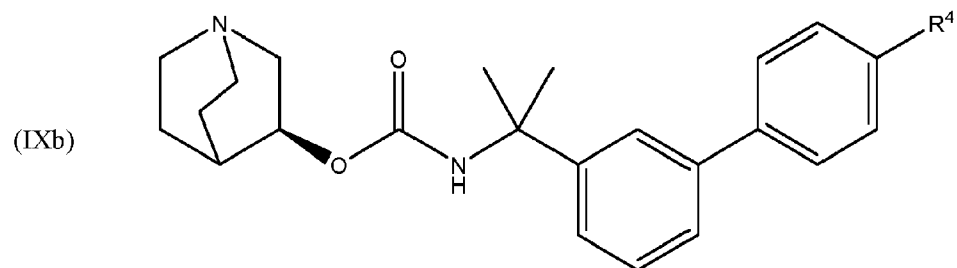


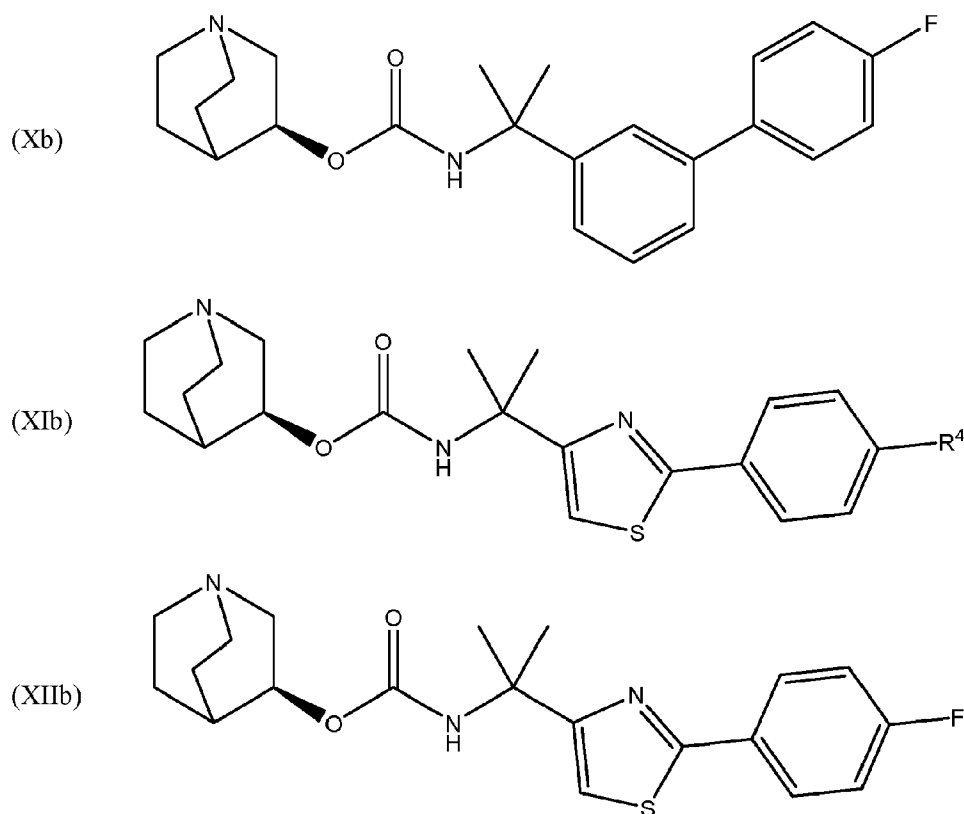


5



10





5

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10

En una realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (Xb) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, el compuesto de quinuclidina es un compuesto de fórmula (XIb) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

20

En una realización, el grupo quinuclidin-3-ilo del compuesto de quinuclidina como se define aquí existe en una mezcla de isómeros que tienen las configuraciones *R* y *S*. Por ejemplo, el compuesto de quinuclidina puede ser una mezcla de compuestos seleccionados del grupo que consiste en compuestos de fórmulas (Ia) y (Ib), (IIa) y (IIb), (IIIa) y (IIIb), (IVa) y (IVb), (Va) y (Vb), (VIa) y (VIb), (VIIa) y (VIIb), (VIIIa) y (VIIIb), (IXa) y (IXb), (Xa) y (Xb), (XIa) y (XIb), y (XIIa) y (XIIb), y sus sales farmacéuticamente aceptables. En una realización, el compuesto de quinuclidina está presente como una mezcla racémica, por ejemplo los isómeros *R* y *S* del grupo quinuclidin-3-ilo están presentes en cantidades aproximadamente iguales. En otra realización, el compuesto de quinuclidina está presente como una mezcla de isómeros que tienen las configuraciones *R* y *S*, en la que los isómeros *R* y *S* están presentes en diferentes cantidades. En una realización, el isómero *S* está presente en un exceso enantiomérico de al menos alrededor de 5 %, 10 %, 25 %, 40 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 %, por ejemplo alrededor de 100 %. En otra realización, el isómero *R* está presente en un exceso enantiomérico de al menos alrededor de 5 %, 10 %, 25 %, 40 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 %, por ejemplo alrededor de 100 %.

25

Los métodos para preparar compuestos de quinuclidina enantioenriquecidos y/o enantiopuros serían evidentes para el experto en la técnica basándose en la presente descripción.

30

Los compuestos actualmente descritos pueden existir en varias formas tautoméricas, incluyendo la forma enol e imina, y la forma ceto y enamina, e isómeros geométricos y mezclas de los mismos. Los tautómeros existen como mezclas de un conjunto tautomérico en disolución. En forma sólida, suele predominar un tautómero. Incluso aunque se puede describir un tautómero, todos los tautómeros están dentro del alcance de la presente descripción.

35

Los atropisómeros también están dentro del alcance de la presente descripción. Los atropisómeros se refieren a compuestos que se pueden separar en isómeros rotacionalmente restringidos.

Otras formas

40

Los hidratos, solvatos, polimorfos, etc., farmacéuticamente aceptables de los compuestos de quinuclidina descritos aquí están dentro del alcance de la presente descripción. Los compuestos de quinuclidina como se describen aquí pueden estar en forma amorfa y/o en una o más formas cristalinas.

Los compuestos marcados isotópicamente también están dentro del alcance de la presente descripción. Como se usa aquí, un "compuesto marcado isotópicamente" se refiere a un compuesto actualmente descrito que incluye sales farmacéuticas y profármacos del mismo, cada uno como se describe aquí, en los que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra habitualmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos actualmente descritos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente.

Indicaciones medicas

Los compuestos de quinuclidina, y las composiciones farmacéuticas que los contienen, descritos aquí, son útiles en terapia, en particular en un método para prevenir, reducir o revertir la pérdida de la función neural en un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una proteinopatía, en la que la pérdida de función neural comprende la pérdida de función cognitiva. Los sujetos a tratar según los métodos descritos aquí, que incluyen los métodos citados en las presentes reivindicaciones, incluyen vertebrados, tales como mamíferos. En realizaciones particulares, el mamífero es un paciente humano.

En un caso, la proteinopatía citada en los métodos descritos aquí es una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, parkinsonismo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Lytico-Bodig, demencia con cuerpos de Lewy, demencia con predominio de ovillos, demencia pugilística, enfermedad de Pick, degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo, ganglioglioma y gangliocitoma, meningioangiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, y lipofuscinosis. En un caso, la proteinopatía es la enfermedad de Alzheimer. En otro caso, la proteinopatía es la demencia con cuerpos de Lewy. En otro caso, la proteinopatía es la enfermedad de Parkinson.

En un caso, la proteinopatía es una taupatía. Las taupatías son trastornos neurodegenerativos caracterizados por la acumulación de tau. Las taupatías ejemplares incluyen, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, la parálisis supranuclear progresiva, la demencia pugilística, la enfermedad de Parkinson, el parkinsonismo ligado al cromosoma 17, la enfermedad de Lytico-Bodig, la demencia con predominio de ovillos, la enfermedad del grano argirófilo, el ganglioglioma, el gangliocitoma, la meningioangiomatosis, la panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, la esclerosis tuberosa, la enfermedad de Hallervorden-Spatz, la lipofuscinosis, la demencia con cuerpos de Lewy, la enfermedad de Pick, la degeneración corticobasal, la demencia frontotemporal, la degeneración del lóbulo frontotemporal, y la enfermedad de Huntington. En un caso, la proteinopatía es una sinucleinopatía. Ejemplos de sinucleinopatías incluyen, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson, la atrofia multisistémica, y la demencia con cuerpos de Lewy. Algunas enfermedades clasificadas como sinucleinopatías también pueden tener acumulación de la proteína tau, y algunas enfermedades clasificadas como taupatías también pueden tener acumulación de la proteína α -sinucleína. Por consiguiente, en un caso, la proteinopatía se caracteriza por la acumulación de α -sinucleína y tau.

Los métodos descritos aquí son útiles para tratar sujetos (por ejemplo, mamíferos tales como seres humanos) con una proteinopatía. En ciertos casos, la proteinopatía implica agregados de proteínas. La "agregación" de proteínas se refiere al fenómeno biológico en el que las proteínas mal plegadas se agregan intra- o extracelularmente. Estos agregados de proteínas pueden ser tóxicos. En ciertos casos, los agregados de proteínas comprenden una proteína seleccionada del grupo que consiste en ubiquitina, tau, y α -sinucleína.

La ubiquitina es una pequeña proteína que se encuentra en casi todos los tejidos de los organismos eucariotas. Es una proteína de 76 aminoácidos que se puede unir a una proteína sustrato. La adición de ubiquitina puede dar como resultado degradación de proteínas; modulación de la transcripción, traducción, y localización de proteínas; o modulación de la actividad/interacciones de proteínas. Las proteínas tau funcionan para estabilizar los microtúbulos, y la proteína tau se puede encontrar en diferentes partes de la célula, tales como en la membrana, soluble en el citosol, e insoluble en el citosol. Son abundantes en las neuronas del sistema nervioso central, y en los astrocitos y oligodendrocitos. La hiperfosforilación de la proteína tau (inclusiones de tau, "pTau") puede dar como resultado el autoensamblaje de ovillos de filamentos helicoidales pareados y filamentos rectos, que están implicados en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer y otras taupatías. Las seis isoformas de tau están presentes en un estado a menudo hiperfosforilado en filamentos helicoidales pareados del cerebro con enfermedad de Alzheimer. En otras enfermedades neurodegenerativas, se ha dado a conocer el depósito de agregados enriquecidos en ciertas isoformas de tau. Cuando está mal plegada, esta proteína, que de otro modo sería muy soluble, puede formar agregados extremadamente insolubles que contribuyen a una serie de enfermedades neurodegenerativas. La α -sinucleína es una proteína que, en seres humanos, está codificada por el gen *SNCA*. La α -sinucleína se puede encontrar en diferentes partes de la célula, tales como en la membrana, soluble en el citosol, e insoluble en el citosol. La proteína se encuentra principalmente en el tejido neural, y se expresa predominantemente en la neocorteza, el hipocampo, la sustancia negra, el tálamo y el cerebelo. Además de en las neuronas, la proteína también se puede encontrar en las células neurogliales y en las células melanocíticas; la α -sinucleína puede agregarse para formar fibrillas insolubles en condiciones patológicas que, en algunos casos, se caracterizan por cuerpos de Lewy.

Los métodos de la presente descripción también pueden reducir, revertir o prevenir la acumulación de agregados de proteínas en el tejido de un sujeto diagnosticado con una proteinopatía, o diagnosticado con riesgo de desarrollar una proteinopatía.

5 En un caso, los agregados de proteínas comprenden ubiquitina, proteína tau y/o α -sinucleína, por ejemplo proteína tau y/o α -sinucleína. En otro caso, los agregados de proteínas comprenden proteína tau o α -sinucleína. En un caso, los agregados de proteínas comprenden agregados de proteína tau y agregados de α -sinucleína. En un caso, el sujeto no tiene agregados de proteínas que comprendan α -sinucleína en dicho tejido. En un caso, los agregados de proteínas son agregados de proteína tau, y el sujeto no tiene agregados de proteínas que comprendan α -sinucleína en dicho
10 tejido. En un caso particular, los agregados de proteínas son agregados de α -sinucleína, y la proteinopatía es una sinucleinopatía. En otro caso, los agregados de proteínas son agregados de proteína tau, y la proteinopatía es una taupatía, por ejemplo enfermedad de Parkinson.

15 En un caso, el tejido es una neurona en el sistema nervioso central del sujeto, por ejemplo una neurona en la sustancia negra, la corteza cerebral, el hipocampo, los lóbulos frontales y/o los lóbulos temporales del sujeto. En otro caso, el sujeto no tiene agregados de proteínas que comprendan α -sinucleína en su sistema nervioso central (SNC), por ejemplo en neuronas de la sustancia negra, la corteza cerebral, el hipocampo, los lóbulos frontales y/o los lóbulos temporales. En otro caso, la proteinopatía es la enfermedad de Parkinson caracterizada por la presencia de proteína tau, pero no α -sinucleína, dentro de agregados de proteínas en el sistema nervioso central del sujeto, por ejemplo en
20 neuronas de la sustancia negra, la corteza cerebral, el hipocampo, los lóbulos frontales y/o los lóbulos temporales del sujeto.

En ciertos casos, los métodos descritos aquí son eficaces para reducir una fracción específica de α -sinucleína. En un caso, se reduce la α -sinucleína citosólica insoluble. En otro caso, se reduce la α -sinucleína asociada a la membrana.
25 En otro caso, se reduce la α -sinucleína extracelular. En algunos casos, la α -sinucleína agregada se reduce en al menos alrededor de 5 %, al menos alrededor de 10 %, al menos alrededor de 15 %, al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 25 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 35 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 45 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 55 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 65 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 75 %, al menos alrededor de 80 %, al
30 menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 %, o alrededor de 100 %. En un caso, la α -sinucleína agregada se reduce hasta un nivel no significativamente diferente al de un sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) sin una proteinopatía caracterizada por un aumento de α -sinucleína.

La administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí a un sujeto puede alterar el procesamiento y la localización de α -sinucleína dentro del SNC del sujeto, por ejemplo dentro del tejido cortical del cerebro. En un caso de los métodos descritos aquí, se reducen los niveles de α -sinucleína asociada a la membrana y/o α -sinucleína
35 citoplasmática insoluble. En ciertos casos, se reducen los niveles de α -sinucleína asociada a la membrana y/o α -sinucleína citoplasmática insoluble, pero no se reducen los niveles de α -sinucleína citosólica soluble (por ejemplo, no se alteran significativamente). En casos particulares, el sujeto es un sujeto humano al que se le diagnostica una sinucleinopatía, o se le diagnostica que está en riesgo de desarrollar una sinucleinopatía, especialmente enfermedad de Parkinson o demencia con cuerpos de Lewy.
40

En ciertos casos, los métodos descritos aquí son eficaces para reducir una fracción específica de tau. En un caso, se reduce la tau insoluble citosólica. En otro caso, se reduce la tau asociada a la membrana. En otro caso, se reduce la
45 tau extracelular. En casos, la tau agregada se reduce en al menos alrededor de 5 %, al menos alrededor de 10 %, al menos alrededor de 15 %, al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 25 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 35 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 45 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 55 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 65 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 75 %, al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al
50 menos alrededor de 95 %, o alrededor de 100 %. En un caso, la tau agregada se reduce hasta un nivel no significativamente diferente al de un sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) sin una proteinopatía caracterizada por un aumento de tau.

Las proteinopatías, especialmente cuando están presentes en el sistema nervioso central, pueden dar como resultado un deterioro de la función neural, por ejemplo la función cognitiva, la función autónoma y/o la función motora. La administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí puede dar como resultado la mejora de la función neural en sujetos, por ejemplo en sujetos que presentan deterioro cognitivo debido a una proteinopatía. Por
55 consiguiente, un compuesto de quinuclidina como se describe aquí se puede administrar a un sujeto que tenga una función neural (por ejemplo, neurológica) deteriorada. En particular, la administración del compuesto de quinuclidina puede iniciarse después de que al sujeto se le haya diagnosticado una función neural (por ejemplo, neurológica) deteriorada. El diagnóstico de un deterioro cognitivo está dentro de la habilidad habitual de un médico. Las pruebas cognitivas son conocidas en la técnica, y pueden incluir pruebas tales como la puntuación de la prueba mental abreviada (AMTS), el mini examen del estado mental (MMSE), el cuestionario para informantes sobre el deterioro cognitivo en las personas mayores (IQCODE), y la Evaluación de Cognición del Médico General que evalúa el deterioro
60 cognitivo. Estas pruebas pueden evaluar deterioros, por ejemplo, en la memoria, las habilidades de razonamiento, las habilidades para resolver problemas, las habilidades para tomar decisiones, la capacidad de atención, y las habilidades
65

lingüísticas. También se encuentran disponibles métodos de formación de imágenes para diagnosticar el deterioro cognitivo. Por ejemplo, las modalidades de formación de neuroimágenes funcionales de la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) y la tomografía por emisión de positrones (PET) son útiles para evaluar la disfunción cognitiva. En algunos aspectos, la mejora de la función neural se mide evaluando la función cognitiva del paciente. El deterioro cognitivo, por ejemplo asociado con un deterioro cognitivo leve, también puede evaluarse mediante la monitorización de diferentes dominios cognitivos. Los dominios cognitivos incluyen, por ejemplo, atención y concentración, funciones ejecutivas, memoria, lenguaje, habilidades visoconstructivas, pensamiento conceptual, cálculos y orientación. El diagnóstico de otros deterioros asociados con proteinopatías también está dentro de la habilidad normal de un médico. Por ejemplo, los criterios clínicos para un diagnóstico de la enfermedad de Parkinson implican evaluar deterioros en las funciones motoras y/o autónomas, por ejemplo lentitud de movimiento (bradicinesia), además de rigidez, temblor en reposo, o inestabilidad postural. La capacidad de respuesta a la dopamina (tratamiento sintomático) y la actividad dopaminérgica reducida en los ganglios basales también pueden ayudar en el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson.

Con respecto a los métodos para prevenir el deterioro cognitivo, tal como la pérdida de memoria, la formación de imágenes por PET que usa el compuesto B de Pittsburgh marcado con carbono-11 como radiotrazador (PIB-PET) ha resultado útil en el diagnóstico predictivo de diversos tipos de proteinopatías. Por ejemplo, los estudios han encontrado que PIB-PET tiene una precisión del 86 % para predecir qué pacientes con deterioro cognitivo leve desarrollarían la enfermedad de Alzheimer en dos años. En otro estudio, el uso de PIB u otro radiotrazador, la dihidrotetrabenazina marcada con carbono-11 (DTBZ), condujo a un diagnóstico más preciso para más de una cuarta parte de los pacientes con deterioro cognitivo leve o demencia leve.

Los métodos descritos aquí pueden prevenir, reducir o revertir la pérdida de la función neural en un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una proteinopatía. Visto desde este aspecto, la invención proporciona un compuesto de quinuclidina como se define en las reivindicaciones adjuntas para uso en un método para prevenir, reducir o revertir la pérdida de función neural en un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una proteinopatía, en el que la pérdida de función neural comprende la pérdida de función cognitiva.

Los métodos descritos aquí también pueden prevenir, reducir o revertir la progresión de la demencia. Los síntomas de la demencia que pueden prevenirse, reducirse o revertirse incluyen los síntomas tempranos de la demencia, tales como dificultad para recordar conversaciones, nombres o eventos recientes, y apatía y depresión, así como síntomas posteriores, tales como problemas de comunicación, falta de juicio, desorientación, confusión, cambios de comportamiento, y dificultad para hablar, tragar y/o caminar.

Los métodos descritos aquí también se pueden usar para prevenir o tratar el deterioro cognitivo, por ejemplo el deterioro cognitivo leve. El deterioro cognitivo leve es una etapa intermedia entre el deterioro cognitivo esperado del envejecimiento normal y el deterioro más grave de la demencia. Los métodos descritos aquí pueden prevenir, reducir o revertir la pérdida de la función cognitiva, y opcionalmente también la función autónoma y/o la función motora. En ciertas realizaciones, el método previene, reduce o revierte el deterioro en los dominios cognitivos en un sujeto; por ejemplo, el método previene, reduce o revierte el deterioro en la atención y la concentración, funciones ejecutivas, memoria (por ejemplo, memoria de trabajo), lenguaje, habilidades visoconstructivas, pensamiento conceptual, cálculos, orientación, toma de decisiones, resolución de problemas, y similares. La pérdida de función neural puede comprender pérdida de función autónoma, además de pérdida de función cognitiva, de modo que el método previene, reduce o revierte adicionalmente la hipotensión ortostática, el estreñimiento, la disfagia, las náuseas, la hipersalivación, la hiperhidrosis, la disfunción urinaria, la disfunción sexual, y similares. La pérdida de función neural puede comprender pérdida de función motora, además de pérdida de función cognitiva, de modo que el método previene, reduce o revierte adicionalmente el parkinsonismo. El parkinsonismo es una definición clínica de una variedad de patologías subyacentes que pueden dar como resultado síntomas similares al parkinson; estas patologías son causadas por una serie de trastornos, incluida la enfermedad de Parkinson. Los síntomas del parkinsonismo que pueden prevenirse, reducirse o revertirse adicionalmente mediante los métodos aquí descritos incluyen, por ejemplo, disfunciones motoras tales como temblor, bradicinesia, rigidez, inestabilidad postural, alteración del equilibrio, y similares.

En una realización, el sujeto no tiene agregados de proteínas que comprendan α -sinucleína en su sistema nervioso central, por ejemplo en neuronas de la sustancia negra, la corteza cerebral, el hipocampo, los lóbulos frontales y/o los lóbulos temporales. En una realización, la proteinopatía es la enfermedad de Parkinson caracterizada por la presencia de proteína tau, pero no α -sinucleína, dentro de agregados de proteínas en el sistema nervioso central del sujeto, por ejemplo en neuronas de la sustancia negra, la corteza cerebral, el hipocampo, los lóbulos frontales y/o los lóbulos temporales del sujeto.

Los métodos descritos aquí pueden ser beneficiosos para sujetos a los que se les ha diagnosticado una proteinopatía pero que aún no experimentan los síntomas típicos asociados con el estado de la enfermedad, por ejemplo signos de deterioro cognitivo. Dichos métodos también pueden ser beneficiosos para sujetos que tienen riesgo de desarrollar una proteinopatía debido, por ejemplo, a una mutación en el sujeto o en el linaje familiar del sujeto que se sabe que causa una proteinopatía. En una realización de los métodos descritos aquí, se ha diagnosticado que el sujeto tiene riesgo de desarrollar dicha proteinopatía, y el método previene o retrasa la aparición y/o el desarrollo de la proteinopatía en el sujeto.

Por ejemplo, se sabe que las mutaciones en el gen de la glucocerebrosidasa 1 (*GBA1*), que puede causar una enfermedad de almacenamiento lisosomal, llamada Gaucher, están asociadas con un mayor riesgo de desarrollar ciertas proteinopatías. Las mutaciones en *GBA1* son conocidas en la técnica, e incluyen, por ejemplo, las mutaciones L444P, D409H, D409V, E235A, y E340A. Por consiguiente, en una realización, el sujeto a tratar tiene una o más mutaciones en *GBA1*. En una realización, el sujeto padece una enfermedad de almacenamiento lisosomal tal como, por ejemplo, Gaucher, Fabry, gangliosidosis GM_1 , deficiencia del activador GM_2 , Tay-Sachs, o Sandhoff. En una realización, el sujeto padece Gaucher. En una realización alternativa, el sujeto a tratar mediante un método de la invención no padece una enfermedad de almacenamiento lisosomal tal como, por ejemplo, Gaucher, Fabry, gangliosidosis GM_1 , deficiencia del activador GM_2 , Tay-Sachs, o Sandhoff. En una realización, el sujeto no padece Gaucher. En una realización relacionada, el sujeto tiene una (o más de una) mutación en *GBA1* pero no padece una enfermedad de almacenamiento lisosomal (por ejemplo, Gaucher). Por ejemplo, el sujeto puede ser un portador heterocigoto de una mutación en *GBA1*. En otra realización, el sujeto no tiene una mutación perjudicial en *GBA1*, por ejemplo el gen funciona sustancialmente de manera normal por cuanto codifica una proteína con esencialmente la misma estructura, actividad y/o niveles y distribución tisular que la proteína codificada por el gen de tipo salvaje. Las secuencias de *GBA1* de tipo salvaje se conocen en la técnica, e incluyen el número de acceso de GenBank NM_000157.3 (ARNm). En una realización, el sujeto no tiene una mutación D409V en *GBA1*.

Composiciones farmacéuticas

La presente descripción también describe composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de quinuclidina como se describe aquí y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable para uso según los métodos descritos aquí y citados en las reivindicaciones adjuntas. El excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier excipiente conocido en la técnica, incluidos los descritos, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (AR Gennaro edit. 1985). Las composiciones farmacéuticas de los compuestos actualmente descritos se pueden preparar por medios convencionales conocidos en la técnica, que incluyen, por ejemplo, mezclar al menos un compuesto actualmente descrito con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Por lo tanto, una forma de dosificación farmacéutica puede comprender un compuesto de quinuclidina como se describe aquí y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma de dosificación se formula para proporcionar, cuando se administra (por ejemplo, cuando se administra por vía oral), una cantidad de dicho compuesto suficiente para prevenir, reducir o revertir la acumulación de agregados de proteínas en el tejido de un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una proteinopatía. El tejido del sujeto puede ser una neurona de la sustancia negra, corteza cerebral, hipocampo, lóbulos frontales y/o lóbulos temporales.

La forma de dosificación puede formularse para proporcionar una cantidad de dicho compuesto de quinuclidina suficiente para prevenir, reducir o revertir la acumulación de agregados que contienen proteína tau en el tejido de un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, enfermedad de Parkinson. Alternativamente, la forma de dosificación puede formularse para proporcionar una cantidad de dicho compuesto de quinuclidina suficiente para prevenir, reducir o revertir la acumulación de agregados que contienen α -sinucleína en el tejido de un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, o enfermedad de Alzheimer, por ejemplo demencia con cuerpos de Lewy.

Una composición farmacéutica o forma de dosificación puede incluir un agente y otro vehículo, por ejemplo compuesto o composición, inerte o activo, tal como un agente detectable, marcador, adyuvante, diluyente, aglutinante, estabilizante, amortiguadores, sales, disolventes lipófilos, conservante, adyuvante, o similares. Los vehículos también incluyen excipientes y aditivos farmacéuticos, por ejemplo proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, e hidratos de carbono (por ejemplo, azúcares, incluidos monosacáridos, di-, tri-, tetra- y oligosacáridos; azúcares derivatizados tales como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados, y similares; y polisacáridos o polímeros de azúcar), que pueden estar presentes solos o en combinación, que comprenden solos o en combinación 1 a 99,99 % en peso o volumen. Los excipientes proteicos ejemplares incluyen seroalbúmina tal como seroalbúmina humana (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína, y similares. Los componentes representativos de aminoácidos/anticuerpos, que también pueden funcionar con capacidad amortiguadora, incluyen alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartamo, y similares. Los excipientes de hidratos de carbono también están previstos dentro del alcance de esta descripción, cuyos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa, y similares; disacáridos, tales como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa, y similares; polisacáridos, tales como rafinosa, melecitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones, y similares; y alditoles, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol) y mioinositol.

Los vehículos que se pueden usar incluyen un amortiguador o un agente de ajuste del pH; normalmente, el amortiguador es una sal preparada a partir de un ácido o base orgánico. Los amortiguadores representativos incluyen sales de ácidos orgánicos tales como sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, o ácido ftálico; Tris, hidrócloruro de trometamina, o amortiguadores de fosfato. Los vehículos adicionales incluyen excipientes/aditivos poliméricos tales como polivinilpirrolidonas, ficolos (un azúcar polimérico), dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas, tal como 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina), polietilenglicoles, agentes

saborizantes, agentes antimicrobianos, edulcorantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), lípidos (por ejemplo, fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (por ejemplo, colesterol), y agentes quelantes (por ejemplo, EDTA).

La presente descripción también describe composiciones farmacéuticas, y kits que comprenden dichas composiciones, que contienen al menos un compuesto de quinuclidina como se describe aquí y al menos un agente farmacéuticamente activo adicional. Estas composiciones y kits farmacéuticos pueden adaptarse para permitir la administración simultánea, subsiguiente y/o separada del compuesto de quinuclidina y el agente activo adicional. Por ejemplo, el compuesto de quinuclidina y el agente activo adicional pueden formularse en formas de dosificación separadas, por ejemplo en comprimidos, cápsulas, liofilizados o líquidos separados, o pueden formularse en la misma forma de dosificación, por ejemplo en el mismo comprimido, cápsula, liofilizado o líquido. Cuando el compuesto de quinuclidina y el agente activo adicional se formulan en la misma forma de dosificación, el compuesto de quinuclidina y el agente activo adicional pueden estar presentes sustancialmente en mezcla, por ejemplo dentro del núcleo de un comprimido, o pueden estar presentes sustancialmente en regiones discretas de la forma de dosificación, por ejemplo en capas separadas del mismo comprimido. La forma de dosificación farmacéutica puede comprender un agente adicional que sea capaz de tratar o prevenir una proteinopatía, por ejemplo una proteinopatía como se describe aquí.

Así, una composición farmacéutica puede comprender: (i) un compuesto de quinuclidina como se describe aquí; (ii) otro agente activo; y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. El agente activo adicional puede ser un agente que sea capaz de tratar o prevenir una proteinopatía, por ejemplo una proteinopatía como se describe aquí. El agente activo adicional puede ser capaz de tratar o prevenir una proteinopatía cuando se administra por vía oral a un sujeto.

Ejemplos de agentes adicionales capaces de tratar proteinopatías tales como la enfermedad de Parkinson incluyen, por ejemplo, precursores de dopamina (por ejemplo, L-DOPA), agonistas de dopamina (por ejemplo, bromocriptina, cabergolina, pergolida, pramipexol y apomorfina), inhibidores de la MAO-B (por ejemplo, rasagilina y selegilina), anticolinérgicos (por ejemplo, orfenadrina, prociclidina y trihexifenidilo), potenciadores de la actividad de la β -glucocerebrosidasa (por ejemplo, amroxol y afegostat) y amantadina. Ejemplos de agentes capaces de tratar el Alzheimer incluyen, por ejemplo, inhibidores de la acetilcolinesterasa tales como tacrina, rivastigmina, galantamina, donepezilo, y memantina.

El agente activo adicional puede ser una chaperona. En un caso, la chaperona es capaz de: restaurar o mejorar al menos parcialmente la función y/o actividad de tipo salvaje de la proteína (que es aberrante en la proteinopatía); potenciar la formación de una conformación molecular estable de la proteína; inducir el tráfico de la proteína desde el RE a otra localización celular, por ejemplo una localización celular nativa, previniendo de este modo la degradación de la proteína asociada al RE; y/o prevenir la agregación de proteínas mal plegadas. En un caso relacionado, la chaperona restaura o mejora al menos parcialmente la función y/o actividad de tipo salvaje de la proteína. En otros casos, la chaperona aumenta la actividad residual de una célula (por ejemplo, una célula de un mamífero que padece una proteinopatía, sinucleinopatía, taupatía, o similar).

El agente activo adicional puede contener, por ejemplo, un resto detectable. Los restos detectables son bien conocidos en la técnica, y pueden detectarse por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, físicos, o químicos. Los restos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, enzimas, moléculas fluorescentes, marcadores de partículas, reactivos densos en electrones, radiomarcadores, biotina, digoxigenina, o un hapteno o una proteína que se ha hecho detectable. El agente activo adicional puede contener, por ejemplo, un resto químico y/o biológico adicional que normalmente no forma parte del agente. Esos restos derivatizados pueden mejorar la administración, la solubilidad, la vida media biológica, la absorción del agente, y similares. Los restos también pueden reducir o eliminar cualquier efecto secundario deseable del agente y similares. Se puede encontrar una descripción general de esos restos en Remington's Pharmaceutical Sciences (20^a ed., Mack Publishing Co. 2000) (véase también Pathan et al. (2009) Recent Patents on Drug Delivery & Formulation 3:71-89). El agente puede estar unido de forma covalente o no covalente a un resto. En algunos casos, el agente está unido covalentemente al resto. En casos relacionados, la unión covalente del resto es N-terminal a un polinucleótido/polipéptido. En casos relacionados, la unión covalente del resto es C-terminal a un polinucleótido/polipéptido.

Otras terapias para proteinopatías que pueden combinarse con los métodos descritos aquí incluyen intervenciones psicosociales, intervenciones conductuales, terapia de reminiscencia, terapia de validación, psicoterapia de apoyo, integración sensorial, reentrenamiento cognitivo, rehabilitación, terapia del habla, y similares. Otras intervenciones incluyen cirugía, rehabilitación, y control de la dieta.

Los compuestos de quinuclidina y las composiciones farmacéuticas actualmente descritos se pueden usar en un animal o en un ser humano. Por tanto, un compuesto actualmente descrito puede formularse como una composición farmacéutica para administración oral, bucal, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea), tópica, rectal o intranasal, o en una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación. En realizaciones particulares, el compuesto de quinuclidina o la composición farmacéutica se formula para administración sistémica, por ejemplo mediante una vía no parenteral. En una realización, el compuesto de quinuclidina o la composición farmacéutica se formula para administración oral, por ejemplo en forma sólida. Tales modos de administración, y los

métodos para preparar composiciones farmacéuticas apropiadas, se describen, por ejemplo, en Drug Delivery Systems in Pharmaceutical Care de Gibaldi (1ª ed., American Society of Health-System Pharmacists 2007).

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para proporcionar una liberación lenta, prolongada o controlada del ingrediente activo que contienen usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y pueden ser de una composición que libere el o los ingredientes activos sólo, o preferentemente, en una determinada porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada, por ejemplo mediante el uso de un revestimiento entérico. Ejemplos de composiciones de inclusión incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington). Los compuestos actualmente descritos pueden formularse para administración sostenida según métodos bien conocidos por los expertos normales en la técnica. Se pueden encontrar ejemplos de tales formulaciones en las patentes de Estados Unidos 3.119.742; 3.492.397; 3.538.214; 4.060.598; y 4.173.626.

En formas de dosificación sólidas para administración oral (por ejemplo, cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, celulosa microcristalina, fosfato cálcico, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa, y/o goma arábiga; (3) humectantes, tal como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, glicolato de almidón sódico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato sódico; (5) agentes retardadores de la disolución, tal como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, laurilsulfato de sodio, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, sílice, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden contener agentes amortiguadores. También se pueden preparar composiciones sólidas de un tipo similar usando cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras, y excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Un comprimido se puede preparar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos prensados se pueden preparar usando aglutinantes (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricantes, diluyentes inertes, conservantes, disgregantes (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivos, y/o agentes dispersantes. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del ingrediente activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden opcionalmente ranurarse o prepararse con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por vía oral en forma líquida. Las formas de dosificación líquidas para administración oral de un ingrediente activo incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden presentarse como un producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (por ejemplo, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones farmacéuticas líquidas pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes y conservantes, y similares. Las suspensiones, además de ingrediente o ingredientes activos, pueden contener agentes de suspensión tales como, pero sin limitarse a, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos. Las preparaciones líquidas adecuadas se pueden preparar por medios convencionales con un aditivo o aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como un agente de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, metilcelulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agente emulsionante (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículo no acuoso (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos o alcohol etílico); y/o conservante (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). El o los ingredientes activos también se pueden administrar en forma de bolo, electuario, o pasta.

Para administración bucal, la composición puede tomar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por medios no orales, tales como mediante aplicación tópica, aplicación transdérmica, inyección, y similares. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por vía parenteral mediante inyección, infusión, o implantación (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarterial, subcutánea, y similares).

Los compuestos actualmente descritos pueden formularse para administración parenteral mediante inyección, incluyendo el uso de técnicas de cateterismo convencionales o infusión. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener un agente de formulación tal como un agente de suspensión, estabilizante y/o dispersante reconocido por los expertos en la técnica. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes del uso.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse directamente al sistema nervioso central. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, las composiciones se administran directamente al sistema nervioso central para evitar la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, la composición se puede administrar mediante inyección directa en la médula espinal. En realizaciones, la composición se administra mediante inyección intratecal. En algunas realizaciones, la composición se administra mediante inyección intracerebroventricular. En realizaciones, la composición se administra en un ventrículo lateral cerebral. En realizaciones, la composición se administra en ambos ventrículos laterales cerebrales. En realizaciones adicionales, la composición se administra mediante inyección intrahipocampal. Las composiciones pueden administrarse en una inyección o en múltiples inyecciones. En otras realizaciones, la composición se administra en más de una ubicación (por ejemplo, en dos sitios del sistema nervioso central).

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en forma de inyecciones estériles. Las composiciones farmacéuticas se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Para preparar tal composición, el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo líquido parenteralmente aceptable. Los vehículos y disolventes ejemplares incluyen, pero no se limitan a, agua, agua ajustada a un pH adecuado mediante adición de una cantidad adecuada de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio o un amortiguador adecuado, 1,3-butanodiol, disolución de Ringer, y disolución de cloruro de sodio isotónica. La composición farmacéutica también puede contener uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo, etilo o n-propilo. Para mejorar la solubilidad, se puede añadir un agente solubilizante o que mejore la disolución, o el disolvente puede contener 10-60 % p/p de propilenglicol o similar.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles, que pueden reconstituirse en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes del uso. Tales composiciones farmacéuticas pueden contener antioxidantes; amortiguadores; bacteriostáticos; solutos, que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario previsto; agentes de suspensión; agentes espesantes; conservantes; y similares.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tal como oleato de etilo. Una fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partículas requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos. Para prolongar el efecto de un ingrediente activo, puede ser deseable ralentizar la absorción del compuesto mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tenga poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del ingrediente activo depende entonces de su velocidad de disolución, que a su vez puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de un ingrediente activo administrado por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Además, se puede lograr una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tal como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

Las composiciones parenterales de liberación controlada pueden estar en forma de suspensiones acuosas, microesferas, microcápsulas, microesferas magnéticas, disoluciones oleosas, suspensiones oleosas, emulsiones, o el ingrediente activo puede incorporarse en vehículo o vehículos, liposomas, nanopartículas, implantes o dispositivos de infusión biocompatibles. Los materiales para uso en la preparación de microesferas y/o microcápsulas incluyen, pero no se limitan a, polímeros biodegradables/bioerosionables tales como poliglactina, poli-(cianoacrilato de isobutilo), poli(2-hidroxietil-L-glutamina) y poli(ácido láctico). Los vehículos biocompatibles que pueden usarse al formular una formulación parenteral de liberación controlada incluyen hidratos de carbono tales como dextranos, proteínas tales como albúmina, lipoproteínas, o anticuerpos. Los materiales para uso en implantes pueden ser no biodegradables,

por ejemplo polidimetilsiloxano, o biodegradables, tales como, por ejemplo, poli(caprolactona), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) o poli(ortoésteres).

5 Para administración tópica, un compuesto actualmente descrito puede formularse como una pomada o crema. Los compuestos actualmente descritos también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, que contienen, por ejemplo, bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

10 Para administración intranasal o administración por inhalación, los compuestos actualmente descritos pueden administrarse convenientemente en forma de una disolución o suspensión desde un recipiente pulverizador con bomba que es exprimido o bombeado por el paciente, o como una presentación en aerosol desde un recipiente presurizado o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. El recipiente presurizado o nebulizador puede contener una disolución o suspensión del compuesto actualmente descrito. Se pueden formular cápsulas y cartuchos (hechos, por ejemplo, de gelatina) para uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla en polvo de un compuesto actualmente descrito y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

20 Generalmente, los agentes y composiciones descritos aquí se administran en una cantidad eficaz o en cantidad suficiente para tratar o prevenir una proteinopatía en un sujeto. Normalmente, la dosis se puede ajustar dentro de este intervalo basándose, por ejemplo, en la edad, la condición física, el peso corporal, el sexo, la dieta, el momento de la administración, y otros factores clínicos. La determinación de una cantidad eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica.

25 Una dosis propuesta de un compuesto de quinuclidina como se describe aquí para administración oral, parenteral o bucal al ser humano adulto promedio para el tratamiento o prevención de una proteinopatía es 0,1 mg a 2000 mg. Por ejemplo, la dosis propuesta puede ser de 0,2 mg a 1000 mg del ingrediente activo por dosis unitaria. Independientemente de la cantidad de dosis propuesta, la administración del compuesto puede realizarse, por ejemplo, 30 1 a 4 veces al día. La dosis para administración oral puede ser, por ejemplo, 0,5 a 2000 mg, por ejemplo 1 a 750 mg. La dosis para administración directa en el sistema nervioso central puede ser, por ejemplo, 1 µg a 1 mg, por ejemplo 5 µg a 0,5 mg, o 10 µg a 0,1 mg. Las formulaciones en aerosol para el tratamiento o prevención de las afecciones mencionadas anteriormente en el ser humano adulto promedio pueden disponerse de manera que cada dosis medida o "bocanada" de aerosol contenga 1 mg a 10 g, por ejemplo 2 mg a 1 g de un compuesto actualmente descrito. La 35 administración puede ser varias veces al día, por ejemplo 2, 3, 4 u 8 veces, administrando por ejemplo 1, 2 o 3 dosis cada vez.

Habiendo sido descrita de manera general aquí, los siguientes ejemplos no limitativos se proporcionan para ilustrar mejor esta invención.

40 EJEMPLOS

Procedimientos generales para la síntesis química

45 *Procedimiento General A: Formación de carbamato con trifosgeno*

A una suspensión de hidrocloreto de amina (1 equivalente) y trietilamina (3-4 equivalentes) en THF (concentración - 0,2 M) a temperatura ambiente se añadió trifosgeno (0,35 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 10 min, y se añadió una pequeña cantidad de éter (1-2 ml). La sal de trietilamonio se separó por filtración para dar una 50 disolución transparente de isocianato en THF/éter.

A una disolución de alcohol (1,5 equivalentes) en THF (concentración - 0,2 M) a temperatura ambiente se añadió NaH [60%, aceite] (1,5 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min, y se añadió gota a gota la disolución anterior (isocianato en THF/éter). En un tratamiento estándar, la reacción se paralizó con salmuera. La disolución se extrajo con EtOAc, y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó en 55 combiflash (cartucho de SiO₂, CHCl₃ y NH₃ 2 N en MeOH) para proporcionar el carbamato correspondiente.

Procedimiento General B: Alquilación con organocerio

60 Una suspensión de CeCl₃ (4 equivalentes) en THF (concentración - 0,2 M) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La suspensión se enfrió hasta -78°C, y se añadió gota a gota MeLi/éter [1,6 M] (4 equivalentes). Se dejó que se formara el complejo de organocerio durante un período de 1 h, y se añadió gota a gota una disolución de nitrilo (1 equivalente) en THF (concentración 2,0 M). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La disolución se enfrió hasta 0°C y se paralizó con agua (~ 1 ml), seguido de la adición de una disolución 65 acuosa al 50 % de hidróxido de amonio (-3 ml) hasta que se formó un precipitado y se depositó en el fondo del matraz. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite, y se concentró. El material bruto se trató con una disolución

de HCl/dioxano [4,0 M]. El hidrocloreuro de arilpropan-2-amina intermedio se trituró en éter y se usó tal cual para la siguiente etapa. Alternativamente, la amina de base libre bruta se purificó en combiflash (cartucho de SiO₂, CHCl₃ y NH₃ 2 N en MeOH) para proporcionar la arilpropilamina correspondiente.

5 **Procedimiento General C: Acoplamiento de Suzuki**

A una disolución de haluro de arilo (1 equivalente) en una mezcla de DME/agua [4:1] (concentración - 0,2 M) se añadió ácido borónico (2 equivalentes), catalizador de paladio (0,1-0,25 equivalentes) y carbonato de sodio (2 equivalentes). La mezcla de reacción se calentó en microondas durante 25 min a 150°C. Después de filtrar a través de un tapón de celite y concentrar, el producto bruto se purificó en combiflash (cartucho de SiO₂, CHCl₃ y NH₃ 2 N en MeOH) para proporcionar el aducto de acoplamiento correspondiente.

Alternativamente: A una disolución de haluro de arilo (1 equivalente) en una mezcla de tolueno/agua [20:1] (concentración - 0,2 M) se añadió ácido borónico (1,3-2,5 equivalentes), catalizador de paladio (0,05-0,15 equivalentes), triciclohexilfosfina (0,15-0,45 equivalentes) y fosfato potásico (5 equivalentes). La mezcla de reacción se calentó en microondas durante 25 min a 150°C. Después de filtrar a través de un tapón de celite y concentrar, el producto bruto se purificó en combiflash (cartucho de SiO₂, CHCl₃ y NH₃ 2 N en MeOH) para proporcionar el aducto de acoplamiento correspondiente.

20 **Procedimiento General D: Ciclopropanación**

A una mezcla de arilnitrilo (1 equivalente) y Ti(Oi-Pr)₄ (1,7 equivalentes), agitando a -70°C, se añadió gota a gota EtMgBr [3,0 M en éter] (1,1 equivalentes). La mezcla de reacción se dejó calentar a 25°C, y se agitó durante 1 h. A la mezcla anterior se añadió gota a gota BF₃·Et₂O (3 equivalentes) a 25°C. Después de la adición, la mezcla se agitó durante otras 2 h, y entonces se paralizó con HCl acuoso [2 M]. La solución resultante se basificó entonces añadiendo NaOH acuoso [2 M]. El material orgánico se extrajo con éter etílico. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyendo con éter de petróleo/EtOAc: 10/1 hasta 1/1) para dar la correspondiente 1-aril-ciclopropanamina.

30 **Procedimiento General E: Acoplamiento biarílico en condiciones de Suzuki**

A una disolución agitada del componente de haluro de arilo (1 equivalente) en dioxano/agua 5:1 (v/v) (~0,15 M) o N,N-dimetilformamida 5:1 (v/v) (~0,15 M), se añadió el componente de arilboronato o ácido arilborónico (1-1,5 equivalentes), carbonato de sodio (2-3 equivalentes) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,05 equivalentes). La mezcla se calentó (90°C) durante la noche, y después se filtró a través de un tapón de Celite. La Celite se lavó con acetato de etilo, y el filtrado combinado se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice.

40 **Procedimiento General F: Formación de carbamato usando un isocianato generado mediante una ruta de anhídrido mixto/reordenamiento de Curtius**

A una disolución agitada del componente de ácido carboxílico (1 equivalente) en tetrahidrofurano (~0,1 M) se le añadió trietilamina (2 equivalentes). La reacción se enfrió (0°C) y se trató con cloroformato de isobutilo (1,5 equivalentes). Después de 1 hora a 0°C, se añadió una disolución de azida sódica (2 equivalentes) en agua (~1 M), y la reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de agitar durante la noche, la reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con disolución acuosa de bicarbonato de sodio y salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. La azida de acilo bruta se secó adicionalmente mediante coevaporación con tolueno, y después se recogió en tolueno (~0,1 M). La disolución agitada se sometió a reflujo durante 2-2,5 horas, se enfrió, y se trató con un componente alcohólico (1,25-2 equivalentes). La reacción se calentó a reflujo durante la noche, y después se concentró. El residuo se recogió en acetato de etilo o cloroformo, y se lavó con carbonato sódico acuoso (Na₂SO₄) y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando gradientes de disolvente de cloroformo/metanol (carbamatos menos polares) o cloroformo/metanol/amoníaco (carbamatos más polares).

55 **Ejemplo 1: [2-(4'-fluorobifenil-3-il)propan-2-il]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (Compuesto 1)**

Usando el Procedimiento General C, el [2-(3-bromofenil)propan-2-il]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (600 mg, 1,63 mmol), el ácido 4-fluorofenilborónico (457 mg, 3,27 mmol) y el acetato de paladio (II) dieron el compuesto del título como un sólido blanco (373 mg; 60 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,56 (s, 1H), 7,52 (dd, J = 5,4, 8,4 Hz, 2H), 7,42-7,38 (m, 3H), 7,12 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 4,62 (s, 1H), 2,66 (m, 6H), 1,72 (s, 6H), 2,01-0,83 (m, 5H) ppm ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 125,0, 124,0, 123,8, 116,0, 116,0, 71,3, 55,9, 55,5, 47,6, 46,7, 29,6, 25,6, 24,8, 19,8 ppm. Pureza: 98,0 % UPLCMS (210 nm); tiempo de retención 0,95 min; (M+1) 382,9. Anal. Calc. para C₂₃H₂₇FN₂O₂·0,37(CHCl₃): C, 65,86; H, 6,47; N, 6,57. Encontrado: C, 65,85; H, 6,69; N, 6,49.

65 **Ejemplo 2: (S)-2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 2)**

A una disolución agitada de 4-fluorotiobenzamida (8,94 g, 57,6 mmol) en etanol (70 ml) se añadió 4-cloroacetoacetato de etilo (7,8 ml, 58 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante 4 horas, se trató con una alícuota adicional de 4-cloroacetoacetato de etilo (1,0 ml, 7,4 mmol), y se mantuvo a reflujo durante 3,5 horas más. Después, la reacción se concentró, y el residuo se repartió entre acetato de etilo (200 ml) y NaHCO₃ acuoso (200 ml). La capa orgánica se combinó con un retroextracto de la capa acuosa (acetato de etilo, 1 x 75 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El aceite de color ámbar resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)acetato de etilo como un sólido casi incoloro y de bajo punto de fusión (13,58 g, 89 %).

A una disolución agitada de 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)acetato de etilo (6,28 g, 23,7 mmol) en DMF (50 ml) se añadió hidruro de sodio [dispersión al 60% en aceite mineral] (2,84 g, 71,0 mmol). La mezcla espumosa se agitó durante 15 minutos antes de enfriar en un baño de hielo y añadir yodometano (4,4 ml, 71 mmol). La reacción se agitó durante la noche, dejando que el baño de enfriamiento se calentara lentamente hasta temperatura ambiente. Después, la mezcla se concentró, y el residuo se repartió entre acetato de etilo (80 ml) y agua (200 ml). La capa orgánica se lavó con una segunda porción de agua (1 x 200 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El aceite de color ámbar resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de etilo como un aceite incoloro (4,57 g, 66 %).

A una disolución agitada de 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de etilo (4,56 g, 15,5 mmol) en TBF/etanol/agua 1:1:1 (45 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (2,93 g, 69,8 mmol). La reacción se agitó durante la noche, se concentró, y se redisolvió en agua (175 ml). La disolución se lavó con éter (1 x 100 ml), se acidificó mediante adición de HCl 1,0 N (80 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 70 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron para dar ácido 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido blanco (4,04 g, 98 %). Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación.

A una disolución agitada y enfriada (0°C) de ácido 2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoico (4,02 g, 15,2 mmol) en THF (100 ml) se añadió trimetilamina (4,2 ml, 30 mmol), seguido de cloroformiato de isobutilo (3,0 ml, 23 mmol). La reacción se agitó en frío durante 1 hora más antes de añadir una disolución de azida sódica (1,98 g, 30,5 mmol) en agua (20 ml). La reacción se agitó durante la noche, dejando que el baño de enfriamiento se calentara lentamente hasta temperatura ambiente. La mezcla se diluyó entonces con agua (100 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 60 ml). Los extractos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso (1 x 150 ml) y salmuera (1 x 100 ml), se secaron (Na₂SO₄), y se concentraron. Después de coevaporar con tolueno (2 x 50 ml), el sólido blanco resultante se recogió en tolueno (100 ml), y se puso a reflujo durante 4 horas. Entonces se añadió (S)-3-quinuclidinol (3,87 g, 30,4 mmol), y se continuó el reflujo durante la noche. La reacción se concentró, y el residuo se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y NaHCO₃ acuoso (150 ml). La capa orgánica se lavó con agua (1 x 150 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El sólido blanquecino resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de cloroformio/metanol/amoníaco para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (4,34 g, 73 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,96-7,88 (m, 2H), 7,16-7,04 (m, 3H), 5,55 (s, 1H), 4,69-4,62 (m, 1H), 3,24-3,11 (m, 1H), 3,00-2,50 (m, 5H), 2,01-1,26 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 166,4, 165,1, 163,8 (d, J=250,3 Hz), 162,9, 155,0, 130,1 (d, J=3,3 Hz), 128,4 (d, J= 8,5 Hz), 115,9 (d, J= 22,3 Hz), 112,5, 71,2, 55,7, 54,2, 47,5, 46,5, 28,0, 25,5, 24,7, 19,6 ppm Pureza: 100 % UPLCMS (210 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,83 min; (M+1) 390.

Ejemplo 3: (S)-(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 3)

Usando el Procedimiento General E y las entradas de reacción 2-(4-bromofenil)-2-metilpropanoato de etilo y ácido 4-(2-metoxietoxi)fenilborónico, se preparó 2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoato de etilo como un sólido blanquecino. A una disolución agitada de este compuesto (3,01 g, 8,78 mmol) en tetrahydrofurano/etanol/agua 1:1:1 (v/v/v) (45 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (1,47 g, 61,4 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, y después se concentró. El residuo se disolvió en agua, se trató con ácido clorhídrico 1 N (65 ml), y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), y se concentraron para proporcionar ácido 2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido blanco (2,75 g, 100 %). Este intermedio y (S)-quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido vítreo incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,62-7,29 (m, 7H), 7,01 (d, J= 8,9 Hz, 2H), 4,47-4,37 (m, 1H), 4,17-4,08 (m, 2H), 3,72-3,62 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,09-2,25 (m, 6H), 2,05-1,18 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157,9, 154,5, 146,7, 137,4, 132,5, 127,5, 125,7, 125,2, 114,8, 70,4, 70,0, 66,9, 58,2, 55,4, 54,2, 46,9, 45,9, 29,4, 25,3, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,87 min; (M+H⁺) 439,5.

Ejemplo 4: [2-(bifenil-3-il)propan-2-il]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (Compuesto 4)

Usando el Procedimiento General C, el [2-(3-bromofenil)propan-2-il]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (600 mg, 1,63 mmol), el ácido fenilborónico (398 mg, 3,27 mmol) y el acetato de paladio (II) dieron el compuesto del título como un sólido blanco (379 mg, 64 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,61 (s, 1H), 7,56 (d, J= 7,4 Hz, 2H), 7,50-7,38 (m, 4H), 7,34 (m, 2H), 5,16 (s, 1H), 4,63 (s, 1H), 3,39-2,09 (m, 6H), 1,72 (s, 6H), 2,02-0,73 (m, 5H) ppm. ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 154,8, 147,8, 141,6, 129,0, 129,0, 128,6, 127,5, 125,8, 125,0, 124,0, 71,6, 71,3, 55,9, 55,5, 47,6, 46,8, 31,5,

30,2, 30,0, 29,5, 25,6, 24,8, 19,8 ppm. Pureza: 99 % UPLCMS (210 nm); tiempo de retención 0,84 min; (M+1) 365,0. Anal. Calc. para $C_{23}H_{28}N_2O_2 \cdot 0,29(CHCl_3)$: C, 70,02; H, 7,14; N, 7,01. Encontrado: C, 70,02; H, 7,37; N, 6,84.

Ejemplo 5: (S)-2-(bifenil-4-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 5)

Usando el Procedimiento General B, el bromobenzonitrilo (2,00 g, 11,0 mmol) se convirtió en la 2-(4-bromofenil)propan-2-amina correspondiente (1,20 g, 51 %) como un aceite marrón.

Usando el Procedimiento General A, la 2-(4-bromofenil)propan-2-amina (1,0 g, 4,7 mmol) y el (S)-quinuclidin-3-ol dieron (S)-2-(4-bromofenil)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (1,0 g, 58 %) como un aceite marrón.

Usando el Procedimiento General C, el bromuro anterior (200 mg, 0,540 mmol), ácido fenilborónico (133 mg, 1,10 mmol) y $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ dieron el compuesto del título como un sólido blanco (70 mg, 35 %). ^1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,60-7,53 (m, 4H), 7,47 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,42 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 5,26 (s a, 1H), 4,64 (m, 1H), 3,33-3,15 (m, 1H), 3,10-2,45 (m, 5H), 2,40-1,80 (m, 2H), 1,78-1,58 (m, 7H), 1,55-1,33 (m, 2H) ppm. ^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$) δ 154,5, 146,1, 140,8, 139,5, 128,7, 127,2, 127,1, 127,1, 125,2, 70,9, 55,5, 55,1, 47,4, 46,4, 31,1, 29,5, 25,3, 24,5, 19,5 ppm. Pureza: 100 % LCMS (214 nm y 254 nm); tiempo de retención 1,56 min; (M+1) 365.

Ejemplo 6: 1-(bifenil-4-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 6)

Usando el Procedimiento General D, el bromobenzonitrilo (3,00 g, 16,5 mmol) se convirtió en la 1-(4-bromofenil)ciclopropanamina correspondiente (1,80 g, 51 %) como un sólido amarillo.

Usando el Procedimiento General A, la 1-(4-bromofenil)ciclopropanamina (1,0 g, 4,7 mmol) y el quinuclidin-3-ol dieron 1-(4-bromofenil)ciclopropil-carbamato de quinuclidin-3-ilo (1,3 g, 75 %) como un semisólido blanco.

Usando el Procedimiento General C, el carbamato anterior (400 mg, 1,12 mmol), el ácido fenilborónico (267 mg, 2,22 mmol) y $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ dieron el compuesto del título como un aceite viscoso (100 mg, 25 %). ^1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,47 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,43 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,26-7,15 (m, 3H), 5,93 (s a, 0,6H), 5,89 (s a, 0,4H), 4,67 (m, 1H), 3,20-3,06 (m, 1H), 2,88-2,42 (m, 5H), 1,98-1,08 (m, 9H) ppm. ^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$) δ 155,0, 141,0, 139,7, 138,2, 127,7, 126,1, 126,0, 124,8, 124,1, 70,0, 54,5, 46,3, 45,4, 34,1, 24,3, 23,2, 18,3, 17,0 ppm. Pureza: 100 % LCMC (214 nm y 254 nm); tiempo de retención 1,52 min; (M+1) 363.

Ejemplo 7: (S)-1-(4'-fluorobifenil-4-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 7)

Usando el Procedimiento General C, el (S)-1-(4-bromofenil)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo, el ácido 4-F-fenilborónico y $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ dieron el compuesto del título como un sólido blanco (45 %). ^1H RMN (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8,06-7,83 (d, 1H), 7,69-7,66 (m, 2H), 7,59-7,55 (m, 2H), 7,29-7,22 (m, 4H), 4,56-4,54 (m, 1H), 3,13-2,32 (m, 6H), 1,91-1,19 (m, 9H) ppm. ^{13}C RMN (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ 163,2, 161,2, 156,4, 143,7, 136,9, 128,9, 128,8, 126,8, 125,6, 116,2, 116,0, 70,7, 55,8, 47,4, 46,4, 34,8, 25,7, 24,6, 19,6, 18,7, 18,6 ppm. Pureza: > 97 % LCMS (214 nm y 254 nm); tiempo de retención 1,96 min; (M+1) 381,2.

Ejemplo 8: (S)-[1-(2',4'-difluorobifenil-4-il)ciclopropil]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (Compuesto 8)

Usando el Procedimiento General C, el (S)-1-(4-bromofenil)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (0,446 g, 1,22 mmol), el ácido 2,4-difluorofenilborónico (0,386 g, 2,44 mmol) y $Pd(OAc)_2$ (0,015 g, 0,067 mmol) dieron el compuesto del título como un sólido bronceado (0,111 g, 23 %). ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 7,43 (dd, J = 8,4, 1,6 Hz, 2H), 7,40-7,33 (m, 1H), 7,31 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 6,99-6,81 (m, 2H), 5,54 (d, J = 48,0 Hz, 1H), 4,82-4,65 (m, 1H), 3,30-3,07 (m, 1H), 2,98-2,44 (m, 5H), 1,97 (d, J = 32,7 Hz, 1H), 1,83 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 1,64 (s, 1H), 1,52 (s, 1H), 1,39 (s, 1H), 1,31 (d, J = 6,8 Hz, 4H) ppm. ^{13}C RMN rotómero principal ($CDCl_3$) δ 162,2 (dd, J = 12,8, 249,1 Hz), 159,8 (dd, J = 11,8, 251,0 Hz), 156,9, 156,0, 142,6, 133,1, 131,3 (m), 128,9, 125,6, 124,9, 111,5 (dd, J = 3,9, 21,2 Hz) 104,4 (dd, J = 25,2, 29,4 Hz), 72,1, 71,6, 55,7, 47,4, 46,5, 35,7, 35,3, 25,5, 24,6, 24,4, 19,5, 18,1 ppm. Pureza: LCMS > 99,3 % (214 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,90 min; (M+1) 399,0.

Ejemplo 9: [1-(4'-metoxibifenil-4-il)ciclopropil]carbamato de 1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo (Compuesto 9)

Usando el Procedimiento General C, el 1-(4-bromofenil)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (0,485 g, 1,33 mmol), el ácido 4-metoxifenilborónico (0,404 g, 2,66 mmol) y $Pd(OAc)_2$ (0,016 g, 0,071 mmol) dieron el compuesto del título como un sólido gris (0,337 mg, 65 %). ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 7,48 (dd, J = 8,6, 5,5 Hz, 4H), 7,29 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,96 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,58 (d, J = 48,7 Hz, 1H), 4,83-4,63 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,20 (dd, J = 24,0, 15,5 Hz, 1H), 2,97-2,42 (m, 5H), 1,97 (d, J = 30,9 Hz, 1H), 1,81 (s, 1H), 1,75-1,33 (m, 3H), 1,28 (d, J = 6,8 Hz, 4H) ppm. ^{13}C RMN rotómero principal ($CDCl_3$) δ 159,1, 156,0, 141,4, 139,0, 133,4, 128,0, 126,7, 125,9, 114,2, 71,5, 55,7, 55,3, 47,4, 46,5, 35,3, 25,5, 24,6, 19,6, 17,8 ppm. Pureza: LCMS > 97,1 % (214 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,88 min; (M+1) 393,4.

Ejemplo 10: 2-(5-(4-fluorofenil)tiofen-3-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 10)

A una disolución agitada y enfriada (0°C) de 5-bromotiofen-3-carboxilato de etilo (13,30 g, 56,57 mmol) en THF (100 ml) se añadió una disolución de bromuro de metilmagnesio en éter dietílico [3,0 M] (55,0 ml, 165 mmol), gota a gota durante 20 minutos. Después de 2 horas, la disolución de reacción se concentró. El residuo se recogió en NH₄Cl acuoso (200 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El aceite de color ámbar resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(5-bromotiofen-3-il)propan-2-ol como un aceite de color ámbar pálido (8,05 g, 64 %).

A una disolución agitada de 2-(5-bromotiofen-3-il)propan-2-ol (8,03 g, 36,3 mmol) en cloruro de metileno (80 ml) se añadió azida sódica (7,08 g, 109 mmol), seguido de ácido trifluoroacético (8,0 ml; gota a gota durante 5-6 minutos). La suspensión espesante se agitó durante 1,5 horas antes de diluir con agua (350 ml) y extraer con acetato de etilo (1 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso (1 x 250 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró para proporcionar el producto de azida en bruto. A una disolución agitada de este material en THF (160 ml) se añadió agua (11 ml), seguido de trifenilfosfina (23,8 g, 90,7 mmol). La reacción se agitó durante 2 días antes de concentrar. El residuo resultante se disolvió en acetato de etilo (250 ml), y se extrajo con HCl acuoso 1 N (4 x 75 ml). Los extractos combinados se basificaron con NH₄OH concentrado, y se extrajeron con acetato de etilo (2 x 100 ml). Estos extractos, a su vez, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El aceite de color ámbar resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de cloruro de metileno/metanol/amoníaco para proporcionar una mezcla de 2-(5-bromotiofen-3-il)propan-2-amina y óxido de trifenilfosfina (relación ~70/30) como un aceite ámbar viscoso (1,32 g, 17 %).

A una disolución agitada de 3-quinuclidinol (3,00 g, 23,6 mmol) en THF (100 ml) se añadió cloroformiato de 4-nitrofenilo (5,94 g, 29,5). Después de agitar durante 4 horas, el precipitado se separó por filtración, se lavó con THF, y se secó al aire sobre la frita a vacío de manguera. La torta del filtro se disolvió en acetato de etilo (150 ml), y se lavó con NaHCO₃ acuoso (1 x 150 ml) y agua (2 x 150 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró para dar el producto bruto de carbonato de 4-nitrofenilquinuclidin-3-ilo, que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

A una disolución agitada de 2-(5-bromotiofen-3-il)propan-2-amina (0,366 g, 1,66 mmol) en THF (10 ml) se añadió carbonato de 4-nitrofenilquinuclidin-3-ilo (0,571 g, 1,95 mmol) y algunos gránulos de 4-(dimetilamino)piridina. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche, se concentró, y se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y NaHCO₃ acuoso (50 ml). La capa orgánica se lavó nuevamente con NaHCO₃ acuoso (1 x 50 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró. La goma amarilla sucia resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de cloroformo/metanol/amoníaco para proporcionar 1-(5-bromotiofen-3-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo como un sólido blanquecino (0,305 g, 49 %).

Usando el Procedimiento General C, el 1-(5-bromotiofen-3-il)ciclopropilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (0,227 g, 0,742 mmol), el ácido 4-fluorofenilborónico (0,208 g, 1,49 mmol), la triciclohexilfosfina (0,021 g, 0,075 mmol), el fosfato potásico (0,866 g, 4,08 mmol) y el acetato de paladio (8,0 mg, 36 µmol) dieron el compuesto del título como un sólido gris (0,142 g, 49 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,60-7,45 (m, 2H), 7,24-7,19 (m, 1H), 7,10-6,97 (m, 3H), 5,23 (s a, 1H), 4,72-4,61 (m, 1H), 3,30-3,04 (m, 1H), 3,03-2,25 (m, 5H), 2,09-1,02 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 162,3 (d, J = 247,1 Hz), 154,5, 149,8, 143,6, 130,7, 127,4 (d, J = 8,1 Hz), 121,8, 118,9, 115,8 (d, J = 21,6 Hz), 70,8, 55,5, 53,4, 47,3, 46,4, 29,0, 25,4, 24,4, 19,4 ppm. Pureza: 95,8 % UPLCMS (210 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,90 min; (M+1) 389.

Ejemplo 11: (S)-2-(3-(4-fluorofenil)isotiazol-5-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 11)

A una disolución agitada de 2-(3-(4-fluorofenil)isotiazol-5-il)propan-2-amina (1,21 g, 5,12 mmol) en tolueno se añadió una disolución de fosgeno en tolueno [-1,9 M] (10,8 ml, 20,5 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante dos horas, y después se concentró. El residuo se coevaporó con tolueno (2 x 15 ml) para producir el intermedio de isocianato bruto como un aceite dorado. Este material se recogió en tolueno (10 ml) y se trató con (S)-3-quinuclidinol (0,749 g, 5,89 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante la noche y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de cloroformo/metanol/amoníaco para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (0,971 g, 49 %). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,09-8,00 (m, 2H), 7,87 (s a, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,35-7,25 (m, 2H), 4,54-4,45 (m, 1H), 3,14-2,92 (m, 1H), 2,87-2,17 (m, 5H), 1,98-0,98 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 180,1, 165,6, 162,6 (d, J = 246,4 Hz), 154,7, 131,2 (d, J = 3,0 Hz), 128,7 (d, J = 8,4 Hz), 118,2, 115,7 (d, J = 21,8 Hz), 70,6, 55,3, 52,8, 46,9, 45,9, 29,9, 25,2, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 100 % UPLCMS (210 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,82 min; (M+1) 390.

Ejemplo 12: (S)-2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 12)

A una disolución agitada de 3-amino-3-tioxopropanoato de etilo (20,00 g, 135,9 mmol) en etanol (120 ml) se añadió 2-bromo-4'-fluoroacetofenona (29,49 g, 135,9 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora, se concentró, y se repartió entre acetato de etilo (300 ml) y NaHCO₃ acuoso (400 ml). La capa orgánica se combinó con un retroextracto de la capa acuosa (acetato de etilo, 1 x 100 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El sólido marrón claro resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)acetato de etilo como un sólido blanquecino (29,92 g, 83 %).

A una disolución agitada y enfriada (-78°C) de 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)acetato de etilo (10,00 g, 37,69 mmol) en THF (250 ml) se añadió una disolución de t-butoxido de potasio en THF [1,0 M] (136 ml, 136 mmol), gota a gota durante 15 minutos, seguido de 18-corona-6 (1,6 ml, 7,5 mmol). Después de 30 minutos adicionales a -78°C, se añadió yodometano (8,5 ml), gota a gota durante 5 minutos. La reacción se agitó en frío durante otras 2 horas antes de verterla en agua (450 ml) y extraer con acetato de etilo (2 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (1 x 200 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El aceite marrón resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)-2-metilpropanoato de etilo como un aceite de color ámbar pálido (8,64 g, 78 %).

A una disolución agitada de 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)-2-metilpropanoato de etilo (0,900 g, 3,07 mmol) en THF/etanol/agua 1:1:1 (15 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (0,451 g, 10,7 mmol). Después de agitar durante la noche, la reacción se concentró y se redisolvió en agua (80 ml). La disolución se lavó con éter (1 x 50 ml), se acidificó con la adición de HCl 1 N (15 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron para dar ácido 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)-2-metilpropanoico como un sólido dorado pálido (0,808 g, 99 %).

A una disolución agitada y enfriada (0°C) de ácido 2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)-2-metilpropanoico (0,784 g, 2,96 mmol) en THF (25 ml) se añadió trietilamina (0,82 ml, 5,9 mmol), seguido de cloroformiato de isobutilo (0,58 ml, 4,4 mmol). La reacción se agitó en frío durante 1 hora más antes de añadir una disolución de azida sódica (0,385 g, 5,92 mmol) en agua (7 ml). La reacción se agitó durante la noche, dejando que el baño de enfriamiento se calentara lentamente hasta temperatura ambiente. Después, la mezcla se diluyó con agua (100 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 60 ml). Los extractos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso (1 x 150 ml) y salmuera (1 x 100 ml), se secaron (Na₂SO₄), y se concentraron. Después de coevaporar con tolueno (2 x 30 ml), el sólido blanquecino resultante se recogió en tolueno (25 ml) y se sometió a reflujo durante 4 horas. Después, se añadió (S)-3-quinuclidinol (0,753 g, 5,92 mmol), y el reflujo se continuó durante 3 horas. La reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de cloroformio/metanol/amoníaco para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (0,793 g, 69 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,90-7,81 (m, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,14-7,05 (m, 2H), 5,76 (s a, 1H), 4,72-4,65 (m, 1H), 3,26-3,10 (m, 1H), 3,03-2,37 (m, 5H), 2,05-1,23 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 177,6, 162,6 (d, J = 248,4 Hz), 154,8, 153,6, 130,8 (d, J = 3,2 Hz), 128,1 (d, J = 8,1 Hz), 115,9 (d, J = 21,7 Hz), 112,2, 71,6, 55,7, 47,4, 46,5, 29,1, 25,4, 24,7, 19,6 ppm. Pureza: 100 % UPLCMS (210 nm y 254 nm); tiempo de retención 0,82 min; (M+1) 390.

Ejemplo 13: (2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 13)

Usando el Procedimiento General F y las entradas de reacción ácido 2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoico (preparado como se describe en el Ejemplo 3) y quinuclidin-3-ol, el compuesto del título se generó como un sólido vítreo incoloro (23 %). Los datos de RMN coincidieron con los del Ejemplo 3. Pureza: 100 %, 99,1 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,87 min; (M+H⁺) 439,0.

Ejemplo 14: (S)-(2-(3'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 14)

Intercambiando ácido 4-(2-metoxietoxi)fenilborónico por ácido 3-(2-metoxietoxi)fenilborónico, se usó la secuencia de reacción descrita en el Ejemplo 3 para preparar ácido 2-(3'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoico. Este intermedio y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido incoloro, vítreo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,63-7,31 (m, 6H), 7,24-7,10 (m, 2H), 6,92 (dd, J = 8,2, 1,9 Hz, 1H), 4,51-4,34 (m, 1H), 4,21-4,08 (m, 2H), 3,72-3,64 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,09-2,26 (m, 5H), 2,04-1,22 (m, 9H) ppm. ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158,9, 154,6, 147,6, 141,5, 137,6, 129,9, 126,3, 125,2, 118,9, 113,2, 112,5, 70,4, 70,0, 66,9, 58,2, 55,4, 54,2, 46,9, 45,9, 29,4, 25,3, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,91 min; 15 (M+H⁺) 439,4.

Ejemplo 15: (2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 15)

Intercambiando 2-(4-bromofenil)-2-metilpropanoato de etilo por 2-(3-bromofenil)-2-metilpropanoato de etilo, se usó la secuencia de reacción descrita en el Ejemplo 3 para preparar ácido 2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)-2-metilpropanoico. Este intermedio y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,62-7,20 (m, 7H), 7,03 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,48-4,35 (m, 2H), 4,18-4,08 (m, 2H), 3,72-3,62 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,10-2,19 (m, 6H), 2,10-1,10 (m, 11H) ppm. ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158,0, 154,6, 148,8, 139,5, 133,1, 128,5, 127,7, 123,8, 123,2, 122,7, 114,8, 70,4, 69,9, 67,0, 58,2, 55,3, 54,5, 47,0, 45,9, 29,4, 25,3, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 97,4 %, 94,6 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,88 min; (M+H⁺) 439,3.

Ejemplo 16: (2-(4'-(3-metoxipropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 16)

A una disolución agitada de 4-yodofenol (10,05 g, 45,68 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se añadió carbonato de potasio (6,95 g, 50,2 mmol) y 1-cloro-3-metoxipropano (6,4 ml, 57,1 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, y después se concentró. El residuo se recogió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con una disolución acuosa de bicarbonato de sodio, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un eluyente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 1-yodo-4-(3-metoxipropoxi)benceno como un aceite incoloro (4,39 g, 33 %). Este intermedio y 2-metil-2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato de etilo se hicieron reaccionar según el Procedimiento General E para generar 2-(4'-(3-metoxipropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoato de etilo. A una disolución agitada de este compuesto (0,693 g, 1,94 mmol) en tetrahidrofurano/etanol/agua 1:1:1 (v/v/v) (10 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (0,326 g, 7,77 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, y después se concentró. El residuo se disolvió en agua, se trató con ácido clorhídrico 1 N (10 ml), y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron para proporcionar ácido 2-(4'-(3-metoxipropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido ceroso, blanquecino (0,630 g, 99 %). Este intermedio y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido incoloro, vítreo (62 %). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,61-7,29 (m, 7H), 7,00 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 4,47-4,36 (m, 1H), 4,05 (t, $J=6,4$ Hz, 2H), 3,48 (t, $J=6,3$ Hz, 2H), 3,26 (s, 3H), 3,10-2,25 (m, 6H), 2,04-1,74 (m, 4H), 1,65-1,23 (m, 9H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 158,0, 154,5, 146,7, 137,4, 132,4, 127,5, 125,7, 125,2, 114,8, 69,9, 68,5, 64,6, 57,9, 55,4, 54,2, 46,9, 46,0, 29,4, 29,0, 25,2, 24,1, 19,2 ppm Pureza: 97,7 %, 98,2 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,96 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 453,5.

Ejemplo 17: (2-(4'-(hidroximetil)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 17)

Usando el Procedimiento General E y las entradas de reacción 2-(4-bromofenil)-2-metilpropanoato de etilo y ácido 4-formilfenilborónico, se preparó 2-(4'-formil-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoato de etilo como un sólido de color ámbar pálido. Este intermedio y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar (2-(4'-formil-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo como un sólido espumoso de color amarillo. A una disolución agitada de este material (0,755 g, 1,92 mmol) en tetrahidrofurano/etanol 2:1 (v/v) (15 ml) se añadió borohidruro de sodio (0,073 g, 1,93 mmol). Después de 45 minutos, la reacción se diluyó con agua y se extrajo con cloroformo. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron sobre sílice. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un eluyente de cloroformo/metanol/amoniaco proporcionó el compuesto del título como un sólido blanco (0,323 g, 43 %). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,66-7,29 (m, 9H), 5,18 (t, $J=5,7$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J=5,7$ Hz, 2H), 4,46-4,37 (m, 1H), 3,11-2,19 (m, 6H), 2,11-1,10 (m, 11H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 154,7, 147,3, 141,5, 138,4, 137,7, 127,0, 126,2, 126,1, 125,3, 70,0, 62,6, 55,4, 54,2, 46,9, 45,9, 29,4, 25,3, 24,2, 19,2 ppm Pureza: 97,5 %, 99,1 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,73 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 395.

Ejemplo 18: (2-(4'-(2-hidroxietil)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 18)

Usando el Procedimiento General E y las entradas de reacción 1-(2-(benciloxi)etil)-4-bromobenceno y 2-metil-2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato de etilo, se preparó 2-(4'-(2-(benciloxi)etil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoato de etilo como una goma incolora. A una disolución agitada de este compuesto (1,34 g, 3,33 mmol) en tetrahidrofurano/etanol/agua 1:1:1 (v/v/v) (18 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (0,698 g, 16,6 mmol). Después de calentar a reflujo durante la noche, la reacción se concentró y se repartió entre agua y éter dietílico. La emulsión resultante se extrajo repetidamente con una disolución acuosa de hidróxido de sodio 0,2 N (5 x 50 ml). La porción transparente de la capa acuosa se eliminó cada vez. Después, las capas acuosas combinadas se trataron con ácido clorhídrico 1,0 N (80 ml), y la suspensión resultante de sólido blanco se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para proporcionar ácido 2-(4'-(2-(benciloxi)etil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido blanco (1,20 g, 96 %). Este compuesto y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar (2-(4'-(2-benciloxietil)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo. A una disolución agitada de este material (0,435 g, 0,806 mmol) en metanol se añadió ácido clorhídrico 1,0 N (1 ml) y paladio al 10 % sobre carbono (50 % agua; 0,087 g). La mezcla se sometió a ciclos entre vacío y purga de nitrógeno varias veces, rellenando con hidrógeno después de la última evacuación. Después de 1,25 horas, la reacción se filtró a través de Celite y se concentró. El residuo se recogió en una disolución acuosa de carbonato sódico, y se extrajo con 4: 1 (v/v) cloroformo/isopropanol. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron sobre sílice. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un gradiente de cloroformo/metanol/amoniaco proporcionó el compuesto del título purificado como un sólido incoloro. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,85-7,63 (m, 1H), 7,63-7,19 (m, 8H), 4,78-4,62 (m, 2H), 3,71-2,78 (m, 8H), 2,76 (t, $J=6,8$ Hz, 2H), 2,26-1,96 (m, 2H), 1,96-1,40 (m, 9H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 153,8, 146,8, 138,7, 137,9, 137,6, 129,4, 126,3, 126,1, 125,3, 66,2, 62,1, 54,4, 52,8, 45,4, 44,5, 38,6, 29,5, 29,2, 24,0, 19,9, 16,6 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,75 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 409.

Ejemplo 19: (2-(2-(4-(3-metoxipropoxi)fenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 19)

A una suspensión agitada de 4-metoxitiobenzamida (9,99 g, 59,7 mmol) en etanol (75 ml) se añadió 4-cloroacetoacetato de etilo (8,1 ml, 60 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas antes de enfriar, añadiendo más 4-cloroacetoacetato de etilo (0,81 ml, 6,0 mmol) y volviendo a reflujo. Después de 4 horas más de calentamiento,

la reacción se concentró y se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa de bicarbonato sódico. La capa orgánica se combinó con extractos adicionales de acetato de etilo, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-metoxifenil)tiazol-4-il)acetato de etilo como un aceite de color ámbar pálido (14,51 g, 87 %). A una disolución agitada de este compuesto (14,48 g, 52,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (125 ml) se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral; 6,27 g, 157 mmol), en porciones durante 15 minutos. La suspensión roja resultante se enfrió (0°C) y se trató, gota a gota durante 10 minutos, con yodometano (9,80 ml, 157 mmol). Se retiró el baño de enfriamiento, y la reacción se dejó agitar durante 4 horas antes de concentrar y repartir el residuo entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se lavó dos veces más con agua, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-metoxifenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de etilo como un aceite de color ámbar pálido (14,12 g, 89 %). A una disolución agitada de este intermedio (14,12 g, 46,24 mmol) en cloruro de metileno (250 ml) se añadió tribromuro de boro (11,0 ml, 116 mmol), gota a gota durante 5 minutos. Después de agitar durante la noche, la reacción se detuvo mediante adición lenta de metanol (~20 ml), y después se concentró. El residuo se recogió en metanol (250 ml) y ácido sulfúrico concentrado (7,0 ml). La disolución agitada se calentó a reflujo durante 2 horas, se concentró, y se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa de bicarbonato sódico. La capa orgánica se combinó con un segundo extracto en acetato de etilo de la capa acuosa, se secó (Na_2SO_4), y se concentró para proporcionar 2-(2-(4-hidroxifenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de metilo como un sólido blanco (12,56 g, 98 %). A una disolución agitada de 1-bromo-3-metoxipropano (1,66 g, 10,8 mmol) en acetona (30 ml) se añadió el intermedio fenólico (2,00 g, 7,21 mmol) y carbonato potásico (1,25 g, 9,04 mmol). La mezcla se calentó durante la noche a reflujo, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-(3-metoxipropoxi)fenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de metilo como una goma de color ámbar tenue (2,47 g, 98 %). A una disolución agitada de este compuesto (2,45 g, 7,01 mmol) en tetrahidrofurano/etanol/agua 1:1:1 (v/v/v) (45 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (1,47 g, 35,0 mmol). Después de agitar durante la noche, la reacción se concentró y se repartió entre agua y éter dietílico. La capa acuosa se trató con ácido clorhídrico 1,0 N (40 ml), y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para dar ácido 2-(2-(4-(3-metoxipropoxi)fenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido blanco (2,19 g, 40 93 %). Este compuesto y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido de color ámbar tenue y blando. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,82 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 7,36 (s a, 1H), 7,24 (s a, 1H), 7,03 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,49-4,41 (m, 1H), 4,07 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,48 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,26 (s, 3H), 3,09-2,26 (m, 6H), 2,02-1,91 (m, 2H), 1,91-1,03 (m, 11H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 165,8, 162,4, 160,0, 154,6, 127,5, 126,1, 114,9, 112,1, 70,1, 68,4, 64,8, 57,9, 55,4, 53,5, 46,9, 45,9, 28,9, 28,3, 25,2, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,87 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 460.

Ejemplo 20: (2-(2-(4-(2-metoxietoxi)fenil)tiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 20)

A una disolución agitada de 2-bromoetil metil éter (1,88 g, 13,5 mmol) en acetona se añadió 2-(2-(4-hidroxifenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de metilo (preparado como se describe en el Ejemplo 19, 2,00 g, 7,21 mmol) y carbonato de potasio (1,56 g, 11,3 mmol). Después de calentar a reflujo durante la noche, la mezcla se trató con 2-bromoetil metil éter adicional (1,88 g, 13,5 mmol) y carbonato potásico (1,56 g, 11,3 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante una segunda noche, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un gradiente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 2-(2-(4-(2-metoxietoxi)fenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoato de metilo como un sólido blanco (2,71 g, 90 %). A una disolución agitada de este compuesto (2,71 g, 8,08 mmol) en tetrahidrofurano/etanol/agua 1:1:1 (v/v/v) (50 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (1,70 g, 40,5 mmol). Después de agitar durante la noche, la reacción se concentró y se repartió entre agua y éter dietílico. La capa acuosa se trató con ácido clorhídrico 1,0 N (41 ml), y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para dar ácido 2-(2-(4-(2-metoxietoxi)fenil)tiazol-4-il)-2-metilpropanoico como un sólido blanco (2,57 g, 99 %). Este compuesto y quinuclidin-3-ol se hicieron reaccionar según el Procedimiento General F para generar el compuesto del título como un sólido de color ámbar pálido. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,36 (s a, 1H), 7,24 (s a, 1H), 7,04 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,49-4,41 (m, 1H), 4,19-4,12 (m, 2H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,11-2,87 (m, 1H), 2,86-2,19 (m, 5H), 1,92-1,16 (m, 11H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 165,7, 162,9, 159,9, 154,6, 127,5, 126,2, 114,9, 112,2, 70,3, 70,1, 67,1, 58,2, 55,4, 53,5, 46,9, 45,9, 28,3, 25,2, 24,3, 19,2 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,85 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 446.

Ejemplo 21: 2-(5-(4-(2-metoxietoxi)fenil)piridin-2-il)propan-2-ilcarbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 21)

Usando el Procedimiento General E y las entradas de reacción 5-bromopicolinonitrilo y 2-(4-(2-metoxietoxi)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano, se preparó 5-(4-(2-metoxietoxi)fenil)picolinonitrilo. Se cargó tricloruro de calcio (8,05 g, 21,6 mmol) en un matraz, y se secó calentando (170°C) a vacío durante 3 horas. El sólido se recogió en tetrahidrofurano (20 ml), y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. La suspensión se enfrió hasta -78°C y se trató, gota a gota, con una disolución 3,0 M de metillitio en éter dietílico (7,2 ml, 21,6 mmol). Después de la adición, la reacción se agitó a -78°C durante 1 hora antes de añadir una disolución del arilborato anterior (1,83 g, 7,20 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml). La mezcla se mantuvo a -78°C durante 2 horas, y después se dejó calentar hasta temperatura ambiente. En este momento, la reacción se paralizó mediante adición de hidróxido de amonio acuoso (10 ml), y se filtró a través de un tapón de Celite. El filtrado se extrajo con acetato de etilo, y los extractos combinados se lavaron

con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando eluyente de acetato de etilo para proporcionar 2-(5-(4-(2-metoxietoxi)fenil)piridin-2-il)propan-2-amina como un sólido amarillo (0,800 g, 39 %). A una suspensión agitada de este intermedio (0,500 g, 1,75 mmol) en agua (10 ml) y ácido clorhídrico concentrado (0,44 ml) se añadió tolueno (10 ml). La mezcla se enfrió (0°C) y se trató, simultáneamente durante 1 hora, con disoluciones de trifosgeno (0,776 g, 2,62 mmol) en tolueno (10 ml) y bicarbonato de sodio (2,2 g, 26 mmol) en agua (20 ml). Después de las adiciones, la reacción se agitó durante 30 minutos más antes de eliminar la capa superior de tolueno y secarla (Na_2SO_4). Al mismo tiempo, una disolución agitada de quinuclidin-3-ol (0,445 g, 3,64 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se trató con hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral; 0,154 g, 3,85 mmol). Esta mezcla se agitó durante 5 minutos, y después se añadió a la disolución de isocianato bruto en tolueno. La reacción se agitó durante 10 minutos, se paralizó con la adición de salmuera (5 ml), y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice de fase reversa para dar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (0,100 g, 13 %). ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 8,70-8,70 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,83-7,81 (m, 1H), 7,49-7,47 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,45-7,43 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,03-7,01 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,63 (s a, 1H), 4,68-4,66 (m, 1H), 4,16 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 3,77 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,19-2,70 (m, 6H), 2,15-1,89 (m, 2H), 1,76 (s, 6H), 1,73-1,36 (m, 3H) ppm ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) δ 162,7, 158,9, 154,9, 145,9, 134,8, 134,3, 130,1, 128,1, 11,9, 11,2, 11,0, 70,8, 67,4, 59,2, 55,9, 55,7, 47,4, 46,5, 46,4, 27,9, 25,4, 24,6, 19,5 ppm Pureza: >99 % (214 y 254 nm) LCMS; tiempo de retención: 1,32 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 440,2.

Ejemplo 22: (2-(4'-(3-cianopropoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 22)

A una disolución agitada de 4-bromofenol (17,1 g, 98,8 mmol) en acetonitrilo (150 ml) se añadió 1-bromobutílnitrilo (12,3 ml, 124 mmol) y carbonato potásico (15,0 g, 109 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, se enfrió y se concentró. El residuo se recogió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron, y el material bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un eluyente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 4-(4-bromofenoxi)butanonitrilo como un sólido blanco (20,8 g, 88 %). A una disolución agitada de este producto en *N,N*-dimetilformamida (100 ml), se añadió bis(pinacolato)diboro (4,60 g, 18,1 mmol), acetato de potasio (7,41 g, 75,5 mmol) y complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaldio(II) con diclorometano (0,616 g, 1,04 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, y después se concentró. El residuo se recogió en acetato de etilo, y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4) y se concentró, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice usando un eluyente de hexano/acetato de etilo para proporcionar 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenoxi)butanonitrilo como un sólido blanco (3,43 g, 79 %). Este producto y (2-(4-bromofenil)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (preparado haciendo reaccionar quinuclidin-3-ol y 2-(4-bromofenil)propan-2-amina usando el Procedimiento General F) se hicieron reaccionar según el Procedimiento General E para generar el compuesto del título como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,67-7,26 (m, 7H), 7,02 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,50-4,33 (m, 1H), 4,08 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,14-2,18 (m, 8H), 2,04 (quin, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,94-1,70 (m, 11H) ppm ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 157,7, 154,5, 146,8, 137,4, 132,7, 127,6, 125,7, 125,2, 120,2, 114,9, 70,0, 65,8, 55,4, 54,2, 46,9, 45,9, 29,4, 25,3, 24,7, 24,2, 19,2, 13,4 ppm Pureza: 100 %, 98,9 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,88 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 448,6.

Ejemplo 23: (2-(4'-(cianometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (Compuesto 23)

Usando el Procedimiento General E y las entradas de reacción (2-(4-bromofenil)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (preparado haciendo reaccionar quinuclidin-3-ol y 2-(4-bromofenil)propan-2-amina usando el Procedimiento General F) y ácido 4-(cianometoxi)fenilborónico, el compuesto del título se preparó como un sólido de color ámbar pálido. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,65 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,60-7,31 (m, 5H), 7,15 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 5,21 (s, 2H), 4,53-4,30 (m, 1H), 3,18-2,19 (m, 6H), 2,05-1,18 (m, 11H) ppm ^{13}C RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 155,8, 154,6, 147,2, 137,2, 134,4, 127,8, 126,0, 125,3, 116,7, 115,3, 70,0, 55,4, 54,2, 53,5, 46,9, 45,9, 29,4, 25,2, 24,2, 19,2 ppm. Pureza: 100 %, 100 % (210 y 254 nm) UPLCMS; tiempo de retención: 0,85 min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 420,3.

Ejemplo 24: Distribución tisular del Compuesto 1 en un modelo de proteinopatías en ratón

Se ha descrito un modelo de ratón (*Gba1*^{D409V/D409V}) que muestra una acumulación progresiva de agregados de α -sinucleína, ubiquitina y tau resistentes a la proteinasa K en el sistema nervioso central. Esto recuerda a los depósitos de proteínas observados, por ejemplo, en las neuritas de Lewy en pacientes con enfermedad de Parkinson y demencia con cuerpos de Lewy. Estos ratones también muestran un déficit demostrable de memoria en el hipocampo. Se investigó la distribución en el tejido cerebral y hepático de estos ratones después de la administración oral del Compuesto 1.

Métodos

Ratones *Gba1*^{D409V/D409V} (que portan una mutación puntual en el resto 409 en el gen *Gba1* murino) se criaron según un protocolo aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales. Los tratamientos se administraron como se describe, y los animales se sacrificaron humanamente en puntos de tiempo predeterminados o al alcanzar un punto final humanitario.

Un subconjunto de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* recibió el Compuesto 1, administrado en alimentos usando una formulación calculada para proporcionar 60 mg/kg/día. La administración del fármaco se inició cuando los crías se destetaron a las 4 semanas de edad, y continuó hasta la eutanasia a los 4 o 10 meses de edad. La concentración del Compuesto 1 en los tejidos del cerebro y del hígado se determinó mediante espectrometría de masas (véase, por ejemplo, Ramanathan et al. "The emergence of high-resolution MS as the premier analytical tool in the pharmaceutical bioanalysis arena" *Bioanalysis*. marzo de 2012;4(5):467-469).

Resultados

Los ratones alimentados con una dieta que contenía el Compuesto 1 demostraron una exposición tisular de 217 ± 12 ng/g de tejido en la corteza; y 10512 ± 603 ng/g de tejido en el hígado, es decir, la concentración del Compuesto 1 en el cerebro fue aproximadamente el 2 % de la concentración en el hígado. Estos resultados demuestran que el Compuesto 1 cruza la barrera hematoencefálica.

Ejemplo 25: La administración del Compuesto 1 mejora el déficit de memoria en ratones *Gba1^{D409V/D409V}*

El alcance del déficit de memoria en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* se evaluó mediante pruebas de reconocimiento de objeto novedoso (NOR) y de condicionamiento del miedo (FC).

Métodos

Ratones *Gba1^{D409V/D409V}* se criaron y trataron según el Ejemplo 24.

Los ratones se alimentaron con la dieta de control o la dieta del Compuesto 1 como se describe en el Ejemplo 24.

En la prueba de NOR, a ratones de tipo salvaje (WT) y *Gba1^{D409V/D409V}* de cuatro meses de edad se les administró el Compuesto 1 a partir de las 4 semanas de edad, y se sometieron a la prueba de NOR a los 3 meses (2 meses después del tratamiento).

Los ratones se habituaron individualmente a explorar una caja de campo abierto durante 5 minutos. Durante la primera sesión de entrenamiento (T1), dos objetos idénticos se colocaron simétricamente en campo abierto a 14 pulgadas uno del otro. Se permitió a los animales explorar durante 5 minutos. El número de investigaciones se registró por un investigador desconocedor del experimento. Después de un período de retención de 24 horas, se sometió a prueba a los animales (T2) para determinar si reconocían un objeto novedoso. Los ratones se volvieron a colocar en la caja de campo abierto durante 5 minutos, y se registró el tiempo dedicado a investigar los objetos familiares y los nuevos.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante la prueba de la t de Student o el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba post-hoc de Newman-Keuls. La preferencia por la novedad se definió como la investigación del objeto novedoso más del 50 % del tiempo mediante una prueba de la t de una muestra. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con GraphPad Prism v4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

Se sometieron a pruebas de memoria de FC a ratones de tipo salvaje (WT) y *Gba1^{D409V/D409V}* de diez meses de edad. Para las pruebas de FC, se entrenaron ratones en cuatro de las cámaras del sistema de condicionamiento del miedo en el infrarrojo cercano de Med Associates® (St. Albans, VT). Los ratones se colocaron en la cámara contextual del miedo en el "Contexto A", que consiste en iluminación, un fondo neutro y un suelo de rejilla de acero inoxidable. Los ratones se entrenaron con un protocolo de clave retardada de 3 ensayos como se define a continuación. Primero, a los ratones se les dieron 2 minutos para explorar la cámara en el Contexto A antes de que se les aplicara un estímulo condicionado (CS) de una señal de 2000 Hz. Treinta segundos más tarde, se aplicó un estímulo no condicionado (US) de un segundo de descarga en el pie de 0,6 mA. Con un intervalo entre pruebas (ITI) de 30 segundos, esta respuesta US-CS se repitió tres veces. Después de un período de retención de 24 horas, los ratones se devolvieron a la sala de pruebas y se habituaron a ella durante 1 hora. Los ratones se colocaron nuevamente en el Contexto A durante 5 minutos, y se registró la congelación en el contexto. La congelación (definida como la falta de movimiento, excepto la respiración) se registró usando un sistema de cámara de infrarrojo cercano. Los ratones se retiraron entonces de la cámara y se volvieron a colocar en sus respectivas jaulas. Después de 1 hora, los ratones se colocaron nuevamente en la cámara en un contexto novedoso, Contexto B. A los ratones se les permitió explorar la jaula durante 3 minutos en el ambiente novedoso, seguido de 3 minutos de la señal auditiva de 3 tonos con el mismo ITI como protocolo de entrenamiento. Nuevamente, la congelación en el entorno novedoso y la señal se evaluaron con el sistema de cámara de infrarrojo cercano. La memoria contextual se define como la congelación del contexto de entrenamiento menos la congelación en el contexto novedoso. La memoria con claves se define como la congelación a la señal en el contexto novedoso.

Resultados

Los resultados de la prueba de NOR se muestran en la Figura 1. Los resultados se expresan como porcentajes de investigaciones diana durante el entrenamiento (T1) o las pruebas (T2).

En detalle, la prueba 1 (entrenamiento, barras sólidas) no reveló preferencia por objetos cuando se expuso a dos objetos similares. Después de un período de retención de 24 horas, a los ratones se les presentó un objeto novedoso. En el ensayo 2 (prueba, barras rayadas), los ratones WT investigaron el nuevo objeto con una frecuencia significativamente mayor ($p < 0,05$). Por el contrario, los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados (barra rayada central) no mostraron preferencia por el nuevo objeto, lo que indica un deterioro cognitivo. Los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* tratados con el Compuesto 1 (barra rayada a la derecha) mostraron una tendencia a revertir su déficit de memoria cuando se les presentó el nuevo objeto durante la prueba. Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. La línea horizontal demarca el 50 % de las investigaciones diana, lo que representa ausencia de preferencia por ninguno de los objetos.

Los resultados de las pruebas de FC se muestran en la Figura 2. La Figura 2A muestra los resultados relacionados con la memoria contextual. La Figura 2B muestra los resultados relacionados con la memoria con claves.

Los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de control (barras rayadas, centro) mostraron respuestas de congelación disminuidas en las pruebas de FC contextuales y con claves, lo que confirma el deterioro de la memoria. El tratamiento con el Compuesto 1 (barras sólidas de la derecha) mejoró las respuestas de congelación en el paradigma contextual (Fig. 2A), lo que indica una memoria del hipocampo mejorada. Por otro lado, la administración del Compuesto 1 no tuvo efecto sobre los recuerdos con claves (Fig. 2B), lo que sugiere que las respuestas de miedo de la amígdala no se ven afectadas por los compuestos de quinuclidina como se describe aquí.

Ejemplo 26: La administración del Compuesto 1 mejora el déficit de memoria en ratones que sobreexpresan la A53T α -sinucleína

El alcance del déficit de memoria se evaluó en ratones que sobreexpresaban la A53T α -sinucleína usando pruebas de reconocimiento de objeto novedoso (NOR) y de condicionamiento del miedo (FC). Estos ratones desarrollan inclusiones de α -sinucleína, similares a las observadas en seres humanos que padecen α -sinucleinopatías, y presentes con neurodegeneración y deterioro motor grave.

Métodos

Los ratones transgénicos *PrP-A53T-SNCA* (ratones "A53T") expresan la A53T- α -sinucleína humana (línea M83) bajo el control transcripcional del promotor PrP murino (Giasson et al., "Neuronal alpha-synucleinopathy with severe movement disorder in mice expressing A53T human alpha-synuclein" *Neuron* (2002) 34(4):521-533). Los ratones A53T se criaron y trataron sustancialmente como se describe en el Ejemplo 24.

Los ratones se alimentaron con la dieta de control o la dieta del Compuesto 1 como se describe en el Ejemplo 24.

La prueba de NOR se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 25, excepto que a los ratones se les dosificó el Compuesto 1 a las 6 semanas de edad y se sometieron a la prueba de NOR a los 4,5 meses.

La prueba de FC también se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 25, excepto que los ratones se sometieron a la prueba a los ocho meses de edad.

Resultados

Los resultados de la prueba de NOR se muestran en la Figura 3. Los resultados se expresan como porcentajes de las investigaciones diana durante las pruebas (T2). Durante el entrenamiento, los animales no revelaron preferencia por ningún objeto cuando se expusieron a dos objetos similares (datos no mostrados).

Los ratones WT investigaron el nuevo objeto con mucha más frecuencia (barra izquierda, $p < 0,05$). Por el contrario, los ratones A53T no mostraron preferencia por el nuevo objeto, lo que indica un deterioro cognitivo (barra rayada, centro). Los ratones A53T tratados con el Compuesto 1 mostraron una tendencia a revertir su déficit de memoria cuando se les presentó el nuevo objeto durante la prueba (barra sólida a la derecha). Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. La línea horizontal demarca el 50 % de las investigaciones diana, lo que representa ausencia de preferencia por ninguno de los objetos.

Los resultados de las pruebas de FC se muestran en la Figura 4. La Figura 4A muestra los resultados relacionados con la memoria contextual. La Figura 4B muestra los resultados relacionados con la memoria con claves.

Los ratones A53T de control (barras rayadas, centro) mostraron respuestas de congelación disminuidas en las pruebas de FC contextuales y con claves, lo que confirma el deterioro de la memoria. El tratamiento con el Compuesto 1 mejoró las respuestas de congelación en el paradigma contextual (Fig. 4A, derecha, barra sólida), lo que indica una mejora de la memoria del hipocampo. La administración del Compuesto 1 tuvo sólo un efecto marginal sobre las memorias

con claves (Fig. 4B, derecha, barra sólida), lo que sugiere que las respuestas de miedo de la amígdala no se ven afectadas por la administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí. Sin desear estar atados por la teoría, los inventores postulan que los efectos sobre la memoria que se observan en estos modelos de ratón pueden deberse a una reducción de los agregados de proteínas dentro del tejido neural de los ratones, concomitante con una reducción de los niveles de sustratos tóxicos dentro de esas células (los compuestos de quinuclidina como se describen aquí son capaces de, por ejemplo, reducir los niveles intracelulares de esfingolípidos, que pueden tener un impacto adverso en el tejido neural).

Ejemplo 27: La administración del Compuesto 1 reduce la agregación de proteínas en el cerebro

Se evaluó la capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para reducir y/o revertir la agregación de proteínas en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}*.

Métodos

Se alimentaron ratones de tipo salvaje (WT) y *Gba1^{D409V/D409V}* con la dieta de control o la dieta del Compuesto 1 como se describe en el Ejemplo 24. La acumulación de proteínas (ubiquitina, α -sinucleína y proteína tau) se determinó mediante cuantificación del hipocampo e inmunorreactividad de proteínas, tanto con como sin tratamiento con el Compuesto 1. Como niveles iniciales, se usaron los niveles de proteína a las 4 semanas de edad en ratones *Gba1^{D409V/D409V}*; los niveles de proteína se midieron a las 16 y 40 semanas de edad.

Para el análisis histológico, se perfundió a los ratones con PBS frío. Los cerebros se extrajeron y se fijaron posteriormente en formalina amortiguada neutra al 10% (v/v) durante 48 horas. Los tejidos se colocaron entonces en sacarosa al 30%, se embebieron y se seccionaron a 20 μ m en un criostato. Algunos tejidos se trataron previamente con proteinasa K (dilución 1:4; DAKO, Carpintería, CA) durante 7 minutos a temperatura ambiente para exponer la α -sinucleína y otras proteínas agregadas. Secciones de cerebro se bloquearon con suero al 10 % (v/v) durante 1 hora a temperatura ambiente, y se incubaron con los siguientes anticuerpos: antiubiquitina de ratón (1:500; Millipore, Billerica, MA), anti- α -sinucleína de conejo (1:300; Sigma, St. Louis, MO) y anti-tau de ratón (1:500, Tau-5, Millipore, Billerica, MA). Las secciones de cerebro se incubaron entonces durante 1 hora con un anticuerpo secundario de burro anti-ratón conjugado con AlexaFluor-488 o de burro anti-conejo conjugado con AlexaFluor-555 (dilución 1:250; Invitrogen, Carlsbad, CA). Para la cuantificación de los agregados de α -sinucleína, se usó un kit de amplificación de señal de cianina 3-tiramida (PerkinElmer, Waltham, MA). Los núcleos se tiñeron con DAPI (Sigma, St. Louis, MO). Las secciones se cubrieron con aqua poly/mount (Polysciences, Warrington, PA).

Para el análisis morfométrico, se tomaron imágenes de las secciones con una cámara SPOT (Diagnostic Instruments, Sterling Heights, MI) combinada con un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse E800 equipado con una lente objetivo de 20X. Se tomaron imágenes del estrato radiado, externo a la capa de células del hipocampo CA1, para cada animal. Se tomaron imágenes de dos o tres secciones por animal. Todas las imágenes coincidieron con la exposición para el análisis Metamorph (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Para la cuantificación de ubiquitina y tau, se usó el mismo umbral para todas las imágenes de modo que los agregados se contaron positivamente, y el área umbral se registró para cada imagen en píxeles. Para la cuantificación de α -sinucleína, cada imagen se analizó individualmente usando un intervalo de valores umbral para cuantificar con precisión el área de los agregados y eliminar señales de fondo variables. Estos procedimientos se llevaron a cabo sin que se conociera el genotipo o el tratamiento. El área umbral porcentual se calculó y expresó como media $\pm$ SEM.

Resultados

La cuantificación del hipocampo de los agregados de ubiquitina se muestra en las Figuras 5A (16 semanas de edad, $n \geq 5$ por grupo) y 5B (40 semanas de edad, $n \geq 8$ por grupo). Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí ($p < 0,05$). Las imágenes de la Figura 6 muestran la inmunorreactividad de la ubiquitina (verde) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad de control (Fig. 6A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 6B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

La cuantificación del hipocampo de los agregados de α -sinucleína resistentes a la proteinasa K se muestra en las Figuras 7A (16 semanas de edad, $n \geq 5$ por grupo) y 7B (40 semanas de edad, $n \geq 8$ por grupo). Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí ($p < 0,05$). Las imágenes de la Figura 8 muestran la inmunorreactividad de la α -sinucleína resistente a la proteinasa K (rojo) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad de control (Fig. 8A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 8B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

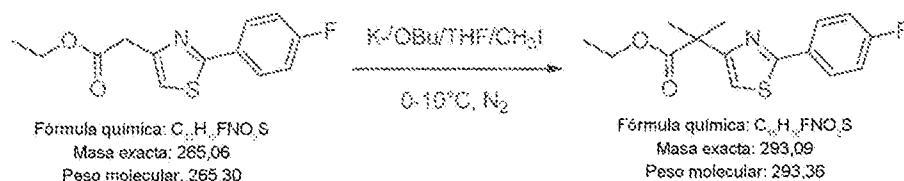
La cuantificación del hipocampo de los agregados de proteína tau se muestra en las Figuras 9A (16 semanas de edad, $n \geq 5$ por grupo) y 9B (40 semanas de edad, $n \geq 8$ por grupo). Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí ($p < 0,05$). Las imágenes de la Figura 10 muestran la inmunorreactividad de tau (verde) en los hipocampos de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* de 40 semanas de edad de control (Fig. 10A) o tratados con el Compuesto 1 (Fig. 10B). La tinción nuclear con DAPI se muestra en azul.

Los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* acumulan agregados de ubiquitina, α -sinucleína y proteína tau entre las 4 y 40 semanas de edad. El tratamiento con compuestos de quinuclidina como se describe aquí, (i) bloqueó la acumulación de agregados de ubiquitina a las 40 semanas de edad, reduciendo sus niveles hasta los controles de tipo salvaje; (ii) redujo la acumulación de agregados de α -sinucleína a las 40 semanas de edad; y (iii) bloqueó la acumulación de agregados de tau a las 40 semanas de edad. También se observaron tendencias hacia estos resultados a las 16 semanas de edad.

Los resultados presentados aquí muestran los efectos de los compuestos de quinuclidina como se describen aquí sobre el procesamiento neuronal de la α -sinucleína y la proteína tau *in vivo*, y demuestran el potencial terapéutico de la administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí para el tratamiento de proteinopatías.

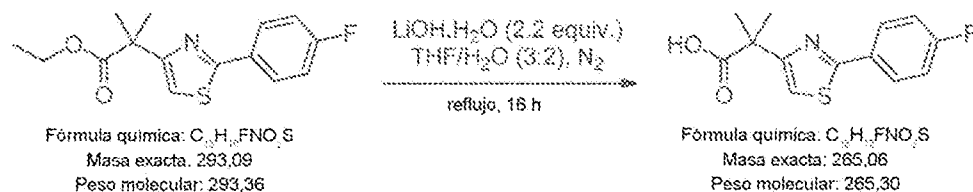
Ejemplo 28: Preparación de la base libre de (S)-(2-(2-(4-fluorofenil)tiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo

Etapas 1: Dimetilación con yoduro de metilo



Un matraz RB 3 N se equipó con un termómetro, un embudo de adición y una entrada de nitrógeno. El matraz se lavó con nitrógeno, y se pesó terc-butoxido de potasio (PM 112,21, 75,4 mmol, 8,46 g, 4,0 equiv., polvo blanco) y se añadió al matraz mediante un embudo para polvo, seguido de la adición de THF (60 ml). La mayor parte del terc-butoxido de potasio se disolvió para dar una disolución turbia. Esta mezcla se enfrió en un baño de agua con hielo hasta 0-2°C (temperatura interna). En un matraz aparte, el éster de partida (PM 265,3, 18,85 mmol, 5,0 g, 1,0 equiv.) se disolvió en THF (18 ml + 2 ml como enjuague) y se transfirió al embudo de adición. Esta disolución se añadió gota a gota a la mezcla enfriada durante un período de 25 a 30 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 5°C durante la adición. La mezcla de reacción se enfrió nuevamente hasta 0-2°C. En un matraz aparte, se preparó una disolución de yoduro de metilo (PM 141,94, 47,13 mmol, 6,7 g, 2,5 equiv.) en THF (6 ml) y se transfirió al embudo de adición. El matraz que contenía la disolución de yoduro de metilo se enjuagó entonces con THF (1,5 ml), que después se transfirió al embudo de adición que ya contenía la disolución transparente e incolora de yoduro de metilo en THF. Esta disolución se añadió cuidadosamente gota a gota a la mezcla de reacción de color marrón oscuro durante un período de 30-40 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 10°C en todo momento durante la adición. Una vez completada la adición, la mezcla ligeramente turbia se agitó durante 1 h más, tiempo durante el cual la temperatura interna cayó hasta 0-5°C. Después de agitar durante una hora a 0-5°C, la mezcla de reacción se paralizó con la adición lenta gota a gota de HCl acuoso 5,0 M (8 ml) durante un período de 5-7 min. La temperatura interna se mantuvo por debajo de 20°C durante esta adición. Después de la adición, se añadió agua (14 ml), y la mezcla se agitó durante 2-3 min. Se detuvo la agitación, y se dejó que las dos capas se separaran. Las dos capas se transfirieron entonces a un matraz RB 1N de 250 ml, y el THF se evaporó *a vacío* tanto como fue posible para obtener una capa bifásica de THF/producto y agua. Se dejó que las dos capas se separaran. En la siguiente reacción se usó una disolución en THF del producto de la Etapa 1.

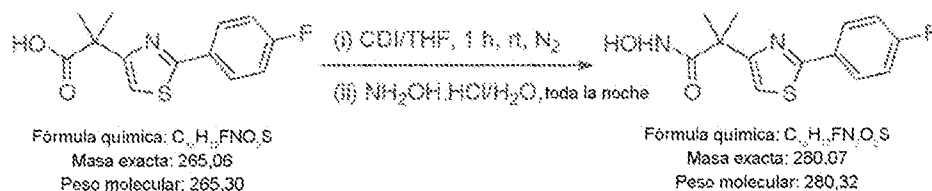
Etapas 2: Hidrólisis del éster etílico con LiOH monohidratado



El éster bruto en THF se añadió al matraz de reacción. Por separado, se pesó LiOH.H₂O (PM 41,96, 75,0 mmol, 3,15 gramos, 2,2 equiv.) en un vaso de precipitados de 100 ml, al que se añadió una barra agitadora. Se añadió agua (40 ml), y la mezcla se agitó hasta que todo el sólido se disolvió para dar una disolución transparente e incolora. Esta disolución acuosa se añadió entonces al matraz RB de 250 ml que contenía la disolución del éster en tetrahidrofurano (THF). Se conectó un condensador al cuello del matraz, y se conectó una entrada de nitrógeno en la parte superior del condensador. La mezcla se calentó a reflujo durante 16 horas. Después de 16 horas, el calentamiento se detuvo, y la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. El THF se evaporó *a vacío* para obtener una disolución marrón. Se analizó una alícuota de la disolución acuosa marrón mediante HPLC y LC/MS para determinar la hidrólisis completa del éster etílico. Se añadió agua (15 ml), y esta disolución básica acuosa se extrajo con TBME (2 x 40 ml) para eliminar

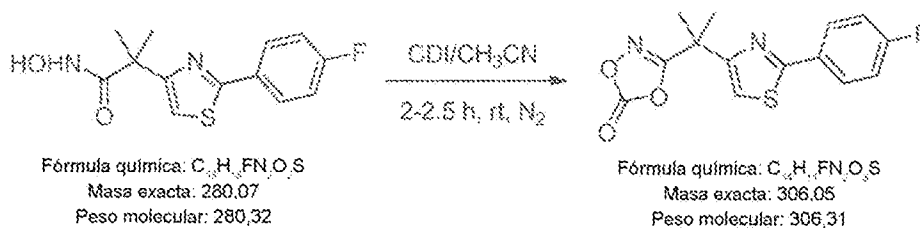
el éster t-butilico. La capa básica acuosa se enfrió en un baño de agua con hielo hasta 0-10°C, y se acidificó con adición gota a gota de HCl concentrado hasta pH -1 con agitación. A este sólido gomoso en la disolución ácida acuosa se añadió TBME (60 ml), y la mezcla se agitó, y después se agitó vigorosamente para disolver todo el ácido en la capa de TBME. Las dos capas se transfirieron a un embudo de decantación, y la capa de TBME se separó. La disolución ácida acuosa de color amarillo pálido se volvió a extraer con TBME (40 ml), y la capa de TBME se separó y se combinó con la capa de TBME anterior. La capa acuosa ácida se descartó. Las capas de TBME combinadas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtran, y se evaporan a vacío para eliminar el TBME y obtener el ácido bruto como un aceite naranja/amarillo oscuro que solidificó a alto vacío hasta dar un sólido de color amarillo sucio. El ácido bruto se pesó y se cristalizó calentándolo en heptano/TBME (3:1, 5 ml/g de bruto) para dar el ácido como un sólido amarillo.

Etapas 3: Formación de ácido hidroxámico con NH₂OH.HCl



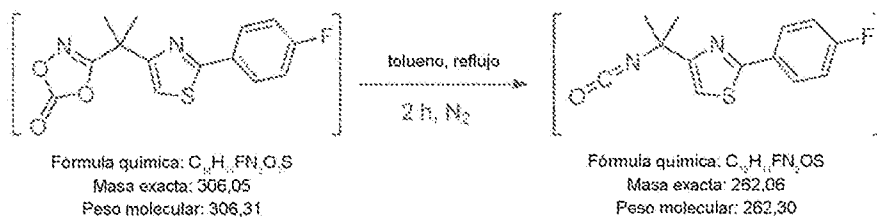
El ácido carboxílico (PM 265,3, 18,85 mmol, 5,0 g, 1,0 equiv.) se pesó y se transfirió a un matraz RB 1N de 25 ml en atmósfera de nitrógeno. Se añadió THF (5,0 ml), y el ácido se disolvió fácilmente para dar una disolución transparente de color amarillo oscuro a marrón. La disolución se enfrió hasta 0-2°C (temperatura del baño) en un baño de hielo, y se añadió N,N'-carbonyldiimidazol (CDI; PM 162,15, 20,74 mmol, 3,36 g, 1,1 equiv.) lentamente en pequeñas porciones durante un período de 10-15 minutos. El baño de hielo se retiró, y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de 1 h de agitación, la disolución se enfrió nuevamente en un baño de agua con hielo hasta 0-2°C (temperatura del baño). Se añadió lentamente hidrocloruro de hidroxilamina (NH₂OH.HCl; PM 69,49, 37,7 mmol, 2,62 g, 2,0 equiv.) en pequeñas porciones como un sólido durante un período de 3-5 minutos, ya que esta adición era exotérmica. Una vez completada la adición, se añadió gota a gota agua (1,0 ml) a la mezcla heterogénea durante un período de 2 minutos, y la mezcla de reacción se agitó a 0-10°C en el baño de agua con hielo durante 5 minutos. El baño de enfriamiento se retiró, y la mezcla de reacción se agitó en nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche durante 20-22 h. La disolución se volvió transparente a medida que todo el NH₂OH.HCl se disolvió. Después de 20-22 h, se analizó una alícuota de la mezcla de reacción mediante cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC). El THF se evaporó entonces a vacío, y el residuo se recogió en diclorometano (120 ml) y agua (60 ml). La mezcla se transfirió a un embudo de decantación, en el que se agitó, y se dejó que las dos capas se separaran. La capa de agua se descartó, y la capa de diclorometano se lavó con hidrocloruro 1 N (HCl; 60 ml). La capa ácida se descartó. La capa de diclorometano se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y el disolvente se evaporó a vacío para obtener el ácido hidroxámico bruto como un sólido amarillo pálido, que se secó a alto vacío durante la noche.

Etapas 3 continuación: Conversión de ácido hidroxámico en intermedio cíclico (no aislado)

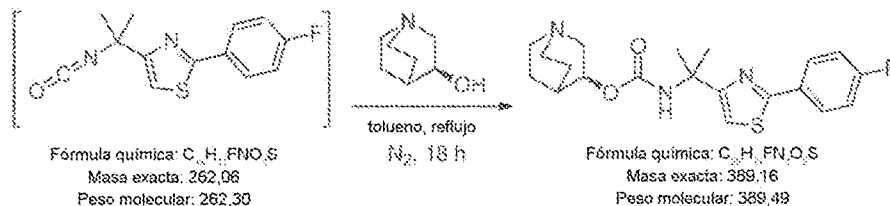


El ácido hidroxámico bruto (PM 280,32, 5,1 g) se transfirió a un matraz RB 1N de 250 ml con una entrada de nitrógeno. Se añadió una barra agitadora, seguido de la adición de acetonitrilo (50 ml). El sólido era insoluble en acetonitrilo. La mezcla heterogénea amarilla se agitó durante 2-3 minutos en nitrógeno, y se añadió CDI (PM 162,15, 20,74 mmol, 3,36 g, 1,1 equiv.) en una única porción a temperatura ambiente. No se observó exotermia. El sólido se disolvió inmediatamente, y la disolución amarilla transparente se agitó a temperatura ambiente durante 2-2,5 h. Después de 2-2,5 h, se analizó una alícuota mediante HPLC y LC/MS, que mostró la conversión del ácido hidroxámico al intermedio cíclico deseado.

El acetonitrilo se evaporó entonces a vacío para dar el intermedio cíclico bruto como un aceite espeso de color rojizo. El aceite se recogió en tolueno (60 ml), y la mezcla rojiza se calentó a reflujo durante 2 horas, tiempo durante el cual el intermedio cíclico liberó CO₂ y se traspuso al isocianato (véase más abajo).



Etapla 3 continuación: Conversión del isocianato a la base libre



5

La mezcla de reacción se enfrió hasta 50-60°C, y se añadió (S)-(+)-quinuclidinol (PM 127,18, 28,28 mmol, 3,6 g, 1,5 equiv.) a la mezcla como un sólido en una sola porción. La mezcla se volvió a calentar a reflujo durante 18 h. Después de 18 h, se analizó una alícuota mediante HPLC y LC/MS, que mostró una conversión completa del isocianato al producto deseado. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación, y se añadió tolueno (25 ml). La mezcla se lavó con agua (2 x 40 ml), y las capas acuosas se separaron. Las capas de agua combinadas se volvieron a extraer con tolueno (30 ml), y la capa de agua se descartó. Las capas de tolueno combinadas se extrajeron con HCl 1N (2 x 60 ml), y la capa de tolueno (que contenía la impureza O-ácilica) se descartó. Las capas de HCl combinadas se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 500 ml equipado con una barra agitadora. Esta disolución transparente en agitación de color amarillo/naranja rojizo se basificó hasta pH 10-12 mediante adición gota a gota de NaOH acuoso al 50 % p/p. La base libre deseada precipitó de la disolución como un sólido gomoso de color amarillo sucio que podría atrapar la barra agitadora. A esta mezcla se añadió acetato de isopropilo (100 ml), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 5 minutos cuando el sólido gomoso pasó a acetato de isopropilo. La agitación se detuvo, y se dejó que las dos capas se separaran. La capa amarilla de acetato de isopropilo se separó, y la capa acuosa básica se volvió a extraer con acetato de isopropilo (30 ml). La capa acuosa básica se descartó, y las capas de acetato de isopropilo combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron en un matraz RB previamente pesado, y el disolvente se evaporó a vacío para obtener la base libre bruta como un sólido de color beige a tostado, que se secó a alto vacío durante la noche.

Etapla 3 continuación: Recristalización de la base libre bruta

La base libre bruta de color beige a tostado se pesó y se recristalizó en heptano/acetato de isopropilo (3:1, 9,0 ml de disolvente/g de base libre bruta). Se añadió la cantidad apropiada de heptano/acetato de isopropilo a la base libre bruta, junto con una barra agitadora, y la mezcla se calentó a reflujo durante 10 minutos (la base libre era inicialmente parcialmente soluble pero se disolvió para dar una disolución transparente de color naranja rojizo cuando se calentó a reflujo). La fuente de calor se retiró, y se dejó que la mezcla se enfriara hasta temperatura ambiente con agitación cuando se formó un precipitado blanco. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3-4 h, el precipitado se separó por filtración con vacío de manguera usando un embudo Buchner, se lavó con heptano (20 ml), y se secó con vacío de manguera en el embudo Buchner usando la noche. El precipitado se transfirió a un plato de cristalización, y se secó a 55°C durante la noche en una estufa de vacío. ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04 - 7,83 (m, 2H), 7,20 - 6,99 (m, 3H), 5,53 (s, 1H), 4,73 - 4,55 (m, 1H), 3,18 (dd, J = 14,5, 8,4 Hz, 1H), 3,05 - 2,19 (m, 5H), 2,0 - 1,76 (m, 11H) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 166,38, 165,02, 162,54, 162,8-155,0 (d, C-F), 130,06, 128,43, 128,34, 116,01, 115,79, 112,46, 71,18, 55,70, 54,13, 47,42, 46,52, 27,94, 25,41, 24,67, 19,58 ppm.

Ejemplo 29: Preparación de formas cristalinas de sales de (S)-2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo

Se pueden formar sales cristalinas de (S)-2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo a partir de la base libre preparada como se describe en el Ejemplo 28.

Por ejemplo, la base libre de (S)-2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo (alrededor de 50 mmol) se disuelve en IPA (140 ml) a temperatura ambiente y se filtra. El filtrado se añade a un matraz de fondo redondo (r.b.) de 1 l que está equipado con un agitador de cabeza y una entrada/salida de nitrógeno. Se disuelve ácido L-málico (alrededor de 50 mmol) en IPA (100 + 30 ml) a temperatura ambiente y se filtra. El filtrado se añade al matraz de 1 litro anterior. La disolución resultante se agita a temperatura ambiente (con o sin siembra) en nitrógeno durante 4 a 24 horas. Durante este período de tiempo se forman cristales. El producto se recoge por filtración, y se lava con

una pequeña cantidad de IPA (30 ml). El sólido cristalino se seca en una estufa de vacío a 55°C durante 72 horas para producir la sal de malato deseada.

De manera análoga se pueden preparar formas cristalinas de otras sales, por ejemplo sales de adición de ácidos con ácido succínico o HCl.

Ejemplo 30: La administración del Compuesto 1 afecta la localización subcelular de α -sinucleína en el cerebro de ratones A53T

Se evaluó la capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para afectar la localización subcelular de α -sinucleína en los cerebros de ratones A53T.

Métodos

Ratones transgénicos *PrP-A53T-SNCA* (ratones "A53T") se criaron y trataron como se describe en el Ejemplo 26, administrándoles el Compuesto 1 comenzando a las 6 semanas de edad hasta la eutanasia a los 8 meses de edad.

Los ratones se alimentaron con la dieta de control o la dieta del Compuesto 1 como se describe en el Ejemplo 24.

Los homogeneizados de tejido cortical de ratones A53T control y tratados se sometieron a fraccionamiento en serie para separar la α -sinucleína citosólica soluble (soluble en Tris), asociada a membrana (soluble en Triton), y citosólica insoluble (soluble en SDS). La concentración de α -sinucleína en cada fracción se cuantificó usando el kit de ELISA de α -sinucleína humana (Biolegend, San Diego, CA). Las concentraciones de proteínas se determinaron mediante el ensayo microBCA (Thermo Scientific Pierce, Waltham, MA).

Resultados

La cuantificación de α -sinucleína en las diferentes fracciones se muestra en la Figura 11.

Se observó un pequeño aumento en el nivel promedio de α -sinucleína soluble citosólica en ratones tratados con el Compuesto 1 (Fig. 11A: la barra de la izquierda muestra ratones de control no tratados, la barra de la derecha muestra ratones tratados que tienen 114 ± 8 % del valor del control; $n = 14$, $P = 0,17$). El nivel de α -sinucleína asociada a la membrana disminuyó significativamente en respuesta al tratamiento con el Compuesto 1 (Fig. 11B: la barra de la izquierda muestra ratones de control no tratados, la barra de la derecha muestra ratones tratados que tienen 75 ± 8 % del valor del control, $n = 14$, $P < 0,05$). El nivel de α -sinucleína insoluble también disminuyó significativamente en respuesta al tratamiento con el Compuesto 1 (Fig. 11C: la barra de la izquierda muestra ratones de control no tratados, la barra de la derecha muestra ratones tratados que tienen 81 ± 3 % del valor del control, $n = 14$, $P < 0,01$).

Estos resultados demuestran que la administración de un compuesto de quinuclidina como se describe aquí puede afectar el procesamiento y la localización de la α -sinucleína neuronal *in vivo*, e ilustran el potencial terapéutico de los compuestos de quinuclidina descritos aquí para tratar proteinopatías.

Ejemplo 31: La administración del Compuesto 1 reduce la agregación de proteínas en los cerebros de ratones A53T

Se evaluó el efecto de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí sobre la agregación de proteínas en los cerebros de ratones A53T.

Métodos

Ratones A53T se criaron, trataron y alimentaron como se describe en el Ejemplo 30. La acumulación de proteínas (ubiquitina y proteína tau) se determinó como se describe en el Ejemplo 27, excepto que los niveles de proteína se midieron a las 6 semanas de edad y a los 8 meses de edad.

Resultados

La cuantificación del hipocampo de los agregados de ubiquitina se muestra en la Figura 12. Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí ($p < 0,05$). La barra blanca del extremo izquierdo muestra el nivel de agregados de ubiquitina en los cerebros de ratones de tipo salvaje de 8 meses de edad. El valor "inicial" muestra el nivel de proteína a las 6 semanas de edad en los ratones A53T. La barra negra, segunda desde la derecha, muestra el nivel de agregados de ubiquitina en los cerebros de ratones A53T no tratados de 8 meses de edad (control). La barra gris de la derecha muestra el nivel de agregados de ubiquitina en los cerebros de ratones A53T de 8 meses de edad tratados con el Compuesto 1.

Las imágenes de la Figura 13 muestran la inmunorreactividad de la ubiquitina en los hipocampos de ratones A53T de 8 meses de edad, ya sean ratones de control no tratados (Fig. 13A) o ratones tratados con el Compuesto 1 (Fig. 13B).

La cuantificación del hipocampo de los agregados de proteína tau se muestra en la Figura 14. Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes entre sí ($p < 0,05$). La barra blanca del extremo izquierdo muestra el nivel de agregados de proteína tau en los cerebros de ratones de tipo salvaje de 8 meses de edad. El valor "inicial" muestra el nivel de proteína a las 6 semanas de edad en los ratones A53T. La barra negra, segunda desde la derecha, muestra el nivel de agregados de proteína tau en los cerebros de ratones A53T no tratados de 8 meses de edad (control). La barra gris de la derecha muestra el nivel de agregados de proteína tau en los cerebros de ratones A53T de 8 meses de edad tratados con el Compuesto 1.

Las imágenes de la Figura 15 muestran la inmunorreactividad de tau en los hipocampos de ratones A53T de 8 meses de edad, ya sean ratones de control no tratados (Fig. 15A) o ratones tratados con el Compuesto 1 (Fig. 15B).

Por tanto, el tratamiento con compuestos de quinuclidina como se describe aquí puede reducir la acumulación de agregados de proteínas en los cerebros de ratones A53T. En particular, se observa una reducción significativa en el nivel de agregados de proteína tau en ratones tratados con

Compuesto 1. Estos resultados demuestran los efectos de un compuesto de quinuclidina descrito aquí sobre el procesamiento de proteínas neuronales *in vivo*, y sugieren que los compuestos de quinuclidina descritos aquí pueden alterar el ciclo patológico de agregación aberrante de proteínas y déficits funcionales asociados con proteinopatías. Estos resultados ilustran el potencial terapéutico de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para el tratamiento de proteinopatías.

Ejemplo 32: La administración del Compuesto 1 revierte las aberraciones de la memoria de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* postsintomáticos

Se evaluó la capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para corregir las aberraciones bioquímicas y los déficits de memoria de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* sintomáticos.

Métodos

Se criaron y trataron ratones *Gba1^{D409V/D409V}* según el Ejemplo 24. Los ratones se alimentaron con la dieta de control o la dieta del Compuesto 1 como se describe en el Ejemplo 24, excepto que la administración del fármaco se inició cuando los animales tenían aproximadamente 6 meses de edad, y continuó hasta la eutanasia a los 13 meses de edad.

La memoria del hipocampo se evaluó con la prueba de NOR según el Ejemplo 25, excepto que los ratones se probaron a los 6 meses de edad (antes del tratamiento) y nuevamente 5 meses después, a los 12 meses de edad (después del tratamiento).

Resultados

Las pruebas realizadas a los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* antes del tratamiento confirmaron que presentaban deficiencias en el recuerdo de objetos novedosos (no mostrado).

Los resultados de la prueba de NOR a los 12 meses (después del tratamiento) se muestran en la Figura 16. Los resultados se representan como la media $\pm$ SEM. La línea horizontal demarca el 50 % de las investigaciones diarias, lo que representa ausencia de preferencia por ninguno de los objetos.

Los ratones de tipo salvaje de la misma edad (barra negra de la izquierda) investigaron el nuevo objeto con una frecuencia significativamente mayor ($n=13$, $p < 0,01$). Por el contrario, los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* no tratados (barra blanca central) no mostraron preferencia por el nuevo objeto, lo que indica un deterioro cognitivo. Los ratones *Gba1^{D409V/D409V}* sintomáticos tratados con el Compuesto 1 (barra gris de la derecha) recuperaron la capacidad de investigar el objeto desconocido durante el ensayo de la prueba ($n=13$, $p < 0,05$).

Estos resultados demuestran que la administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí puede revertir las aberraciones de la memoria asociadas con las proteinopatías, incluso cuando la administración se inicia después de que se observan los síntomas de la proteinopatía.

Ejemplo 33: La administración del Compuesto 1 reduce la agregación de proteínas en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* postsintomáticos

Se evalúa la capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para reducir y/o revertir la agregación de proteínas en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}* sintomáticos.

Métodos

Ratones de tipo salvaje (WT) y *Gba1^{D409V/D409V}* se crían y se tratan sustancialmente como se describe en el Ejemplo 27, excepto que la administración del fármaco se inicia cuando los animales presentan síntomas de deterioro cognitivo, por ejemplo a aproximadamente los 6 meses de edad.

- 5 La acumulación de proteínas (ubiquitina, α -sinucleína y proteína tau) se determina mediante cuantificación del hipocampo e inmunorreactividad de proteínas, sustancialmente como se describe en el Ejemplo 27.

Resultados

- 10 Se espera que la administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí, por ejemplo el Compuesto 1, conduzca a una reducción mensurable en la acumulación de agregados de proteínas (ubiquitina, α -sinucleína y/o proteína tau) en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}*, incluso cuando la administración del fármaco se inicia después de que se observan síntomas de deterioro cognitivo.

15 Ejemplo 34: La administración del Compuesto 2 mejora el déficit de memoria en ratones *Gba1^{D409V/D409V}*

La capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para mejorar el déficit de memoria en ratones *Gba1^{D409V/D409V}* se evalúa usando pruebas de reconocimiento de objeto novedoso (NOR) y de condicionamiento del miedo (FC).

20 Métodos

- 25 Ratones *Gba1^{D409V/D409V}* se crían y se tratan sustancialmente como se describe en el Ejemplo 24. Los ratones se alimentan con una dieta de control o una dieta que contiene un compuesto de quinuclidina sustancialmente como se describe en el Ejemplo 25, excepto que el compuesto administrado es el Compuesto 2.

La prueba NOR y la prueba FC se realizan sustancialmente como se describe en el Ejemplo 25.

30 Resultados

Se espera que la administración del Compuesto 2 mejore el déficit de memoria en ratones *Gba1^{D409V/D409V}*.

Ejemplo 35: La administración del Compuesto 2 reduce la agregación de proteínas en el cerebro

- 35 Se evalúa la capacidad de los compuestos de quinuclidina como se describe aquí para reducir y/o revertir la agregación de proteínas en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}*.

Métodos

- 40 Se alimentan ratones de tipo salvaje (WT) y *Gba1^{D409V/D409V}* con la dieta de control o con una dieta que contiene un compuesto de quinuclidina, sustancialmente como se describe en el Ejemplo 27, excepto que el compuesto administrado es el Compuesto 2.

- 45 La acumulación de proteínas (ubiquitina, α -sinucleína y proteína tau) se determina mediante cuantificación del hipocampo e inmunorreactividad de proteínas, como se describe en el Ejemplo 27.

Resultados

- 50 Se espera que la administración de compuestos de quinuclidina como se describe aquí, por ejemplo el Compuesto 2, conduzca a una reducción mensurable en la acumulación de agregados de proteínas (ubiquitina, α -sinucleína y/o proteína tau) en los cerebros de ratones *Gba1^{D409V/D409V}*.

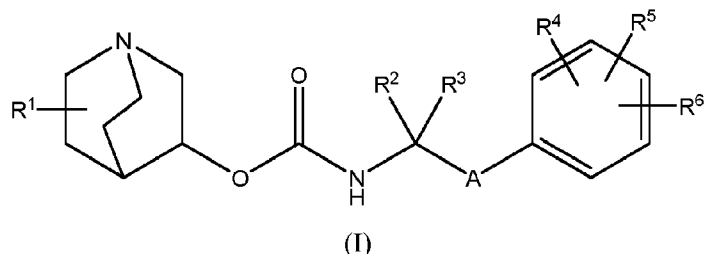
- 55 Debe entenderse que, si bien la invención se ha descrito junto con las realizaciones anteriores, la descripción y los ejemplos anteriores pretenden ilustrar y no limitar el alcance de la invención. Otros aspectos, ventajas y modificaciones dentro del alcance de la invención, en la medida en que estén cubiertos por las reivindicaciones, serán evidentes para los expertos en la técnica a la que pertenece la invención.

- 60 Además, cuando las características o aspectos de la invención se describen en términos de grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la invención también se describe en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush.

En caso de conflicto con publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas aquí, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para prevenir, reducir o revertir la pérdida de función neural en un sujeto diagnosticado con, o en riesgo de desarrollar, una



en la que:

R¹ es hidrógeno; un halógeno o un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio o amino; o un grupo alquilo de C₁₋₆, alquenoilo de C₂₋₆, alquinoilo de C₂₋₆, alquiloilo de C₁₋₆, alquenoilo de C₂₋₆ o alquinoilo de C₂₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo ciano, nitro, hidroxilo, tio o amino; cada uno de R² y R³ se selecciona independientemente de un grupo alquilo de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos; o R² y R³, juntos, forman un grupo ciclopropilo o ciclobutilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos; R⁴, R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno; un halógeno; un grupo nitro, hidroxilo, tio o amino; y un grupo alquilo de C₁₋₆ o alquiloilo de C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno; un grupo hidroxilo o ciano; y un grupo alquiloilo de C₁₋₆; y A es un grupo arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros, en el que la pérdida de función neuronal comprende la pérdida de función cognitiva.

2. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 1, en el que R¹ es hidrógeno; flúor; o un grupo metilo o etilo opcionalmente sustituido con un halógeno, o un grupo hidroxilo, tio o amino.

3. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 1 o 2, en el que:

- (i) R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de grupos metilo y etilo, opcionalmente sustituidos con uno o más átomos de flúor;
- (ii) R⁴ se selecciona de un halógeno; y un grupo alquilo C₁₋₃ o alquiloilo de C₁₋₃, opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de un halógeno y un grupo alquiloilo de C₁₋₃; y/o
- (iii) R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno.

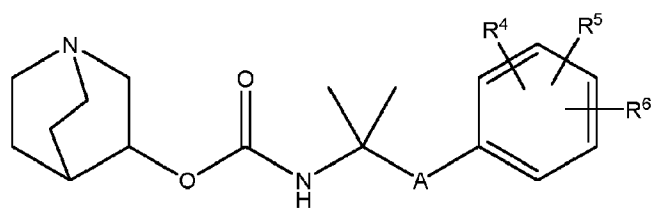
4. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R⁴ es flúor o un grupo 2-metoxietoxi, y R⁵ y R⁶ son hidrógeno.

5. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R⁴ está en una posición en para en el anillo de benceno con respecto al grupo A.

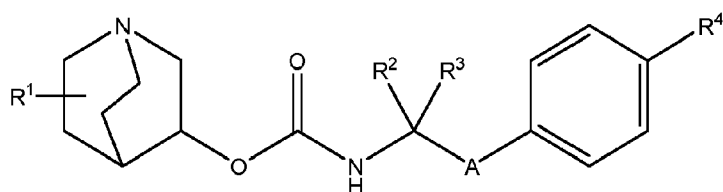
6. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que A es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos seleccionados independientemente de un halógeno; y un grupo hidroxilo, tio, amino, nitro, oxo o metilo, opcionalmente en el que los grupos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) están unidos al grupo A en una relación 1,3 o 1,4.

7. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que A es un grupo heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N y S, opcionalmente en el que los grupos -C(R²R³)- y -(C₆H₂R⁴R⁵R⁶) están unidos al grupo A en una relación 1,3.

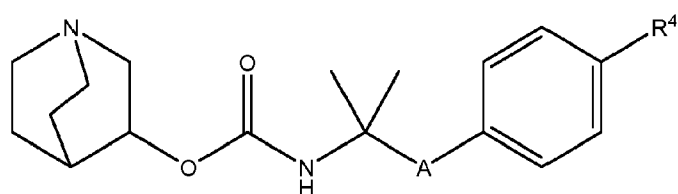
8. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (II), (III) o (IV).



(II)



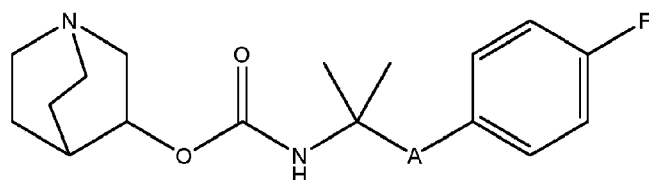
(III)



(IV)

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente en el que dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (V),



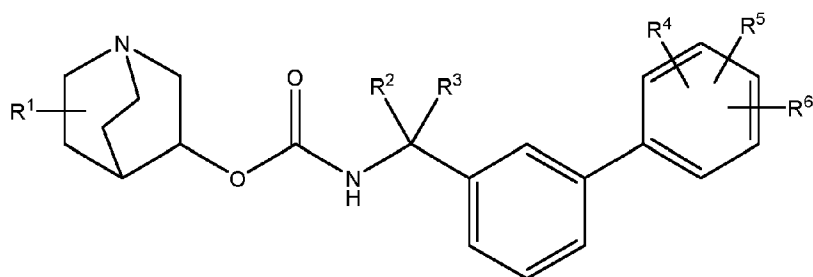
(V)

10

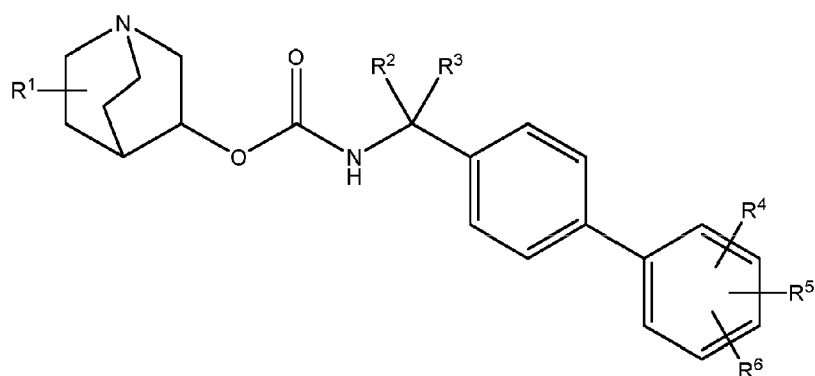
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

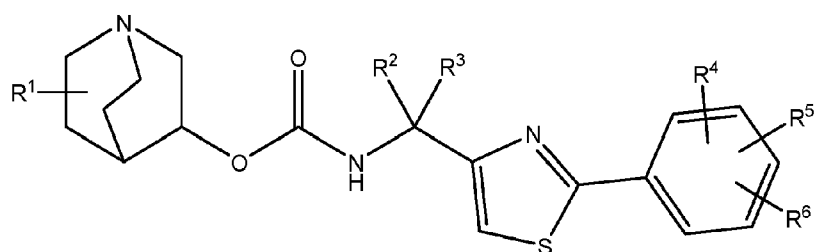
9. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es un compuesto de fórmula (VI), (VII) o (VIII).



(VI)



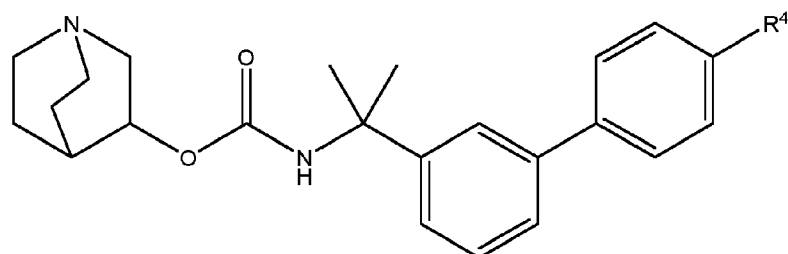
(VII)



(VIII)

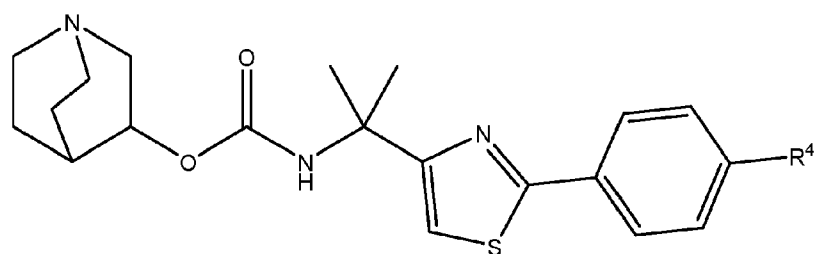
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 9, en el que dicho compuesto, sal farmacéuticamente aceptable, es un compuesto de fórmula (IX) o (XI),



(IX)

10



(XI)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

11. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 10, en el que R⁴ es flúor.

12. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable se selecciona de: (2-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-3-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo; (S)-(2-(2-(4-fluorofenil)thiazol-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo; (S)-(2-(4'-(2-metoxietoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)propan-2-il)carbamato de quinuclidin-3-ilo; y sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 5 13. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicha proteinopatía es una taupatía.
- 10 14. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 13, en el que dicha taupatía se selecciona de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, demencia pugilística, parkinsonismo ligado al cromosoma 17, enfermedad de Lytico-Bodig, demencia con predominio en ovillos, enfermedad del grano argirófilo, ganglioglioma, gangliocitoma, meningioangiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, degeneración corticobasal, demencia frontotemporal,
- 15 degeneración del lóbulo frontotemporal, y enfermedad de Huntington.
15. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicha proteinopatía es una sinucleinopatía.
- 20 16. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 15, en el que dicha sinucleinopatía se selecciona de demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson, y atrofia multisistémica.

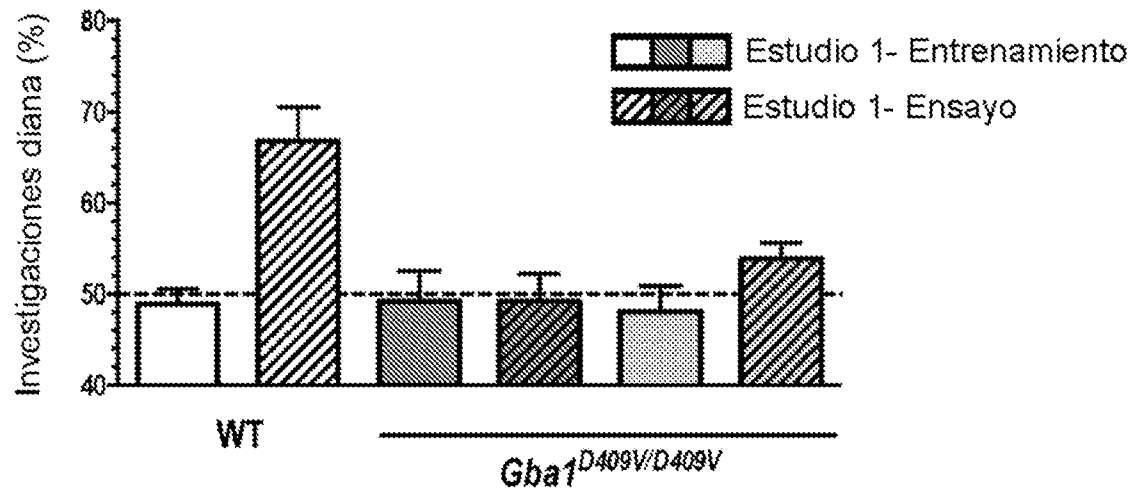
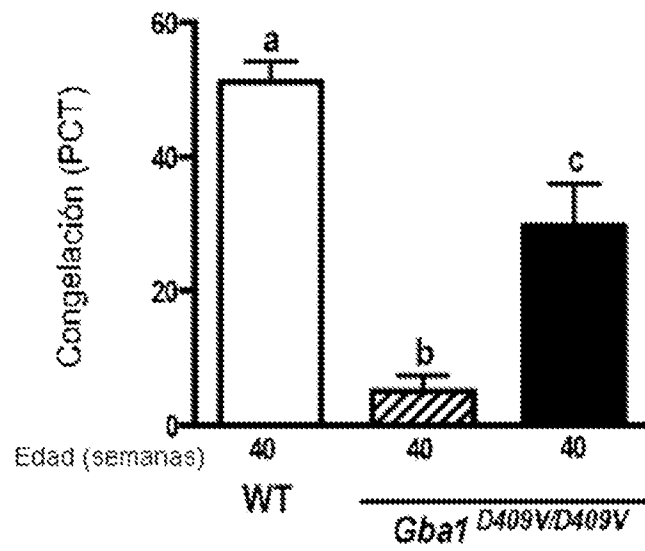


FIG. 1

A)



B)

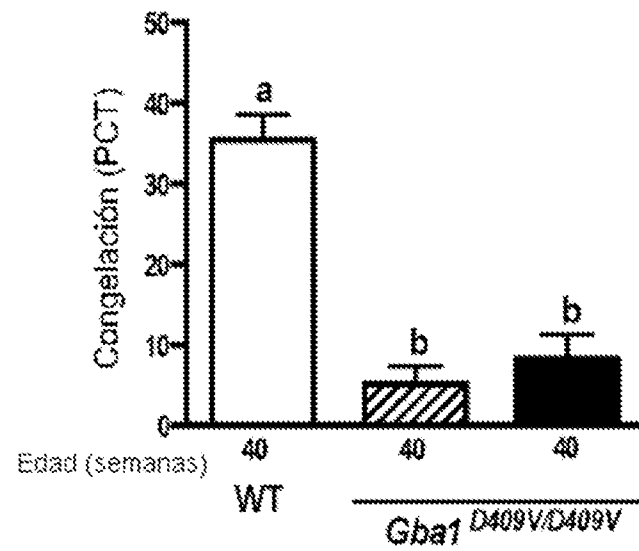


FIG. 2

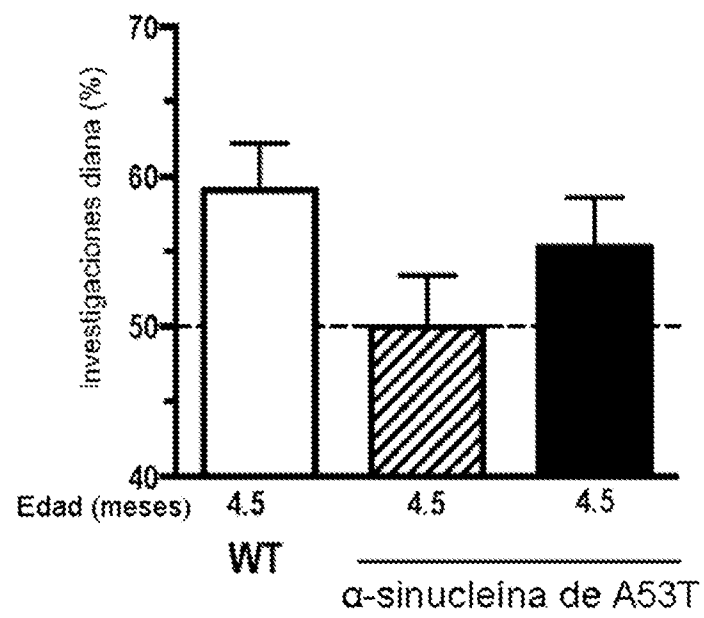
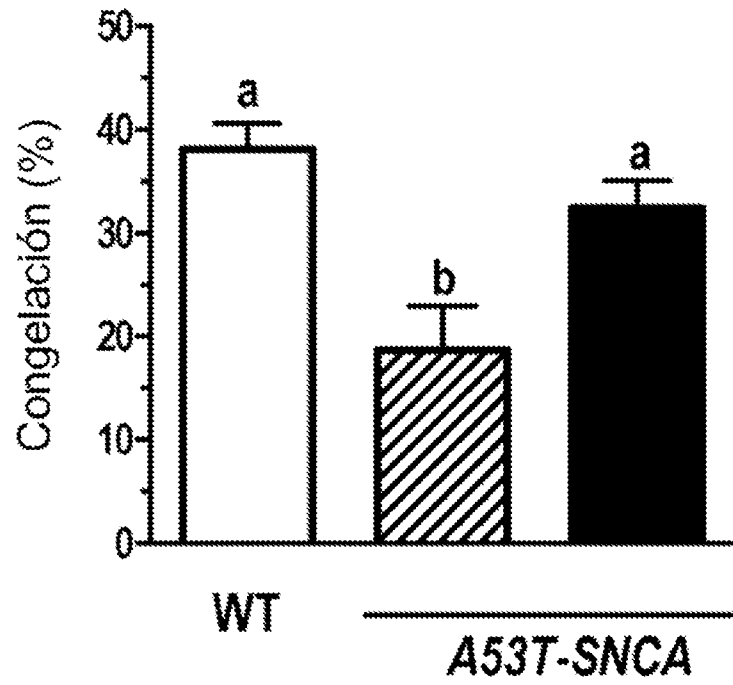


FIG. 3

A)



B)

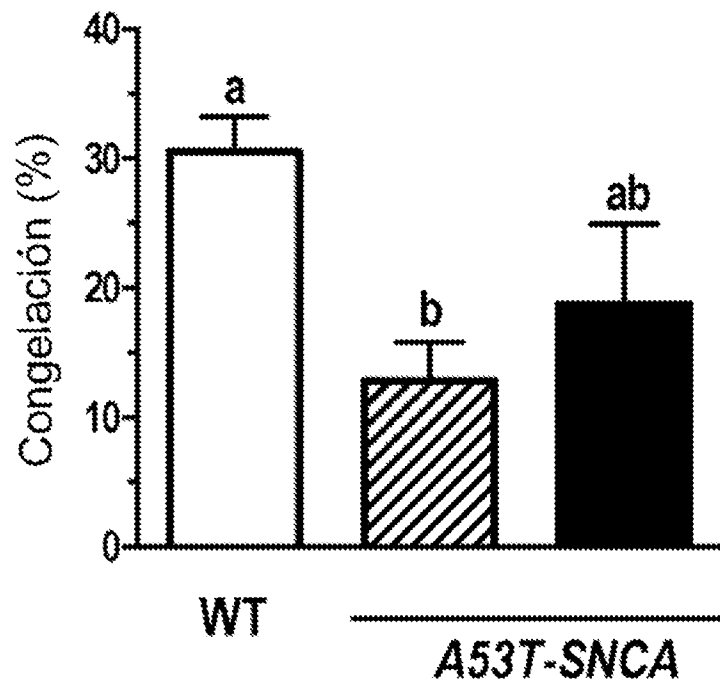


FIG. 4

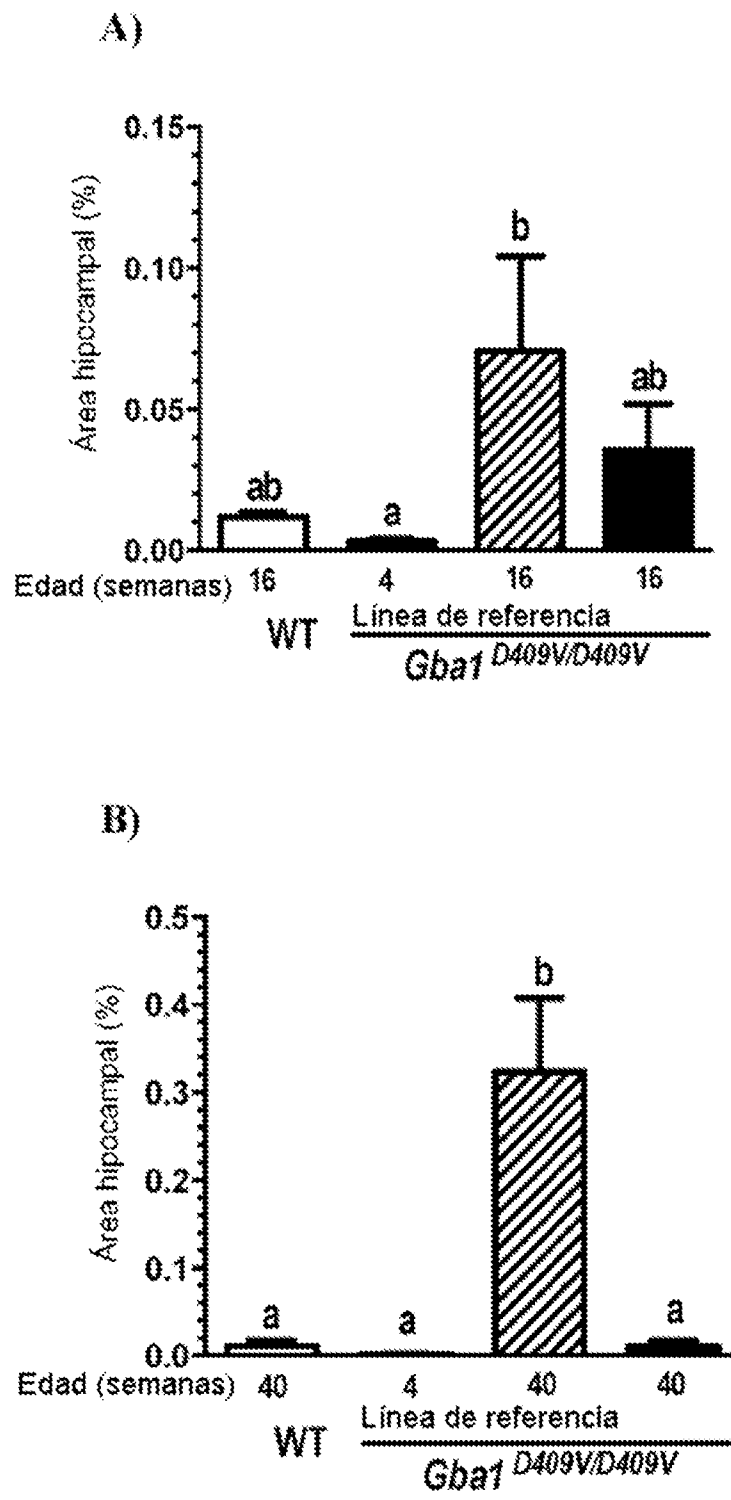
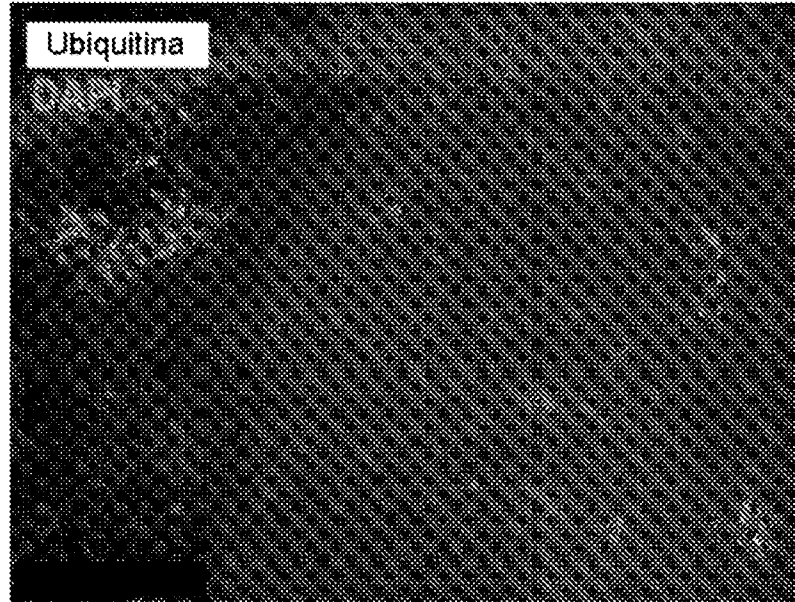


FIG. 5

A)



B)

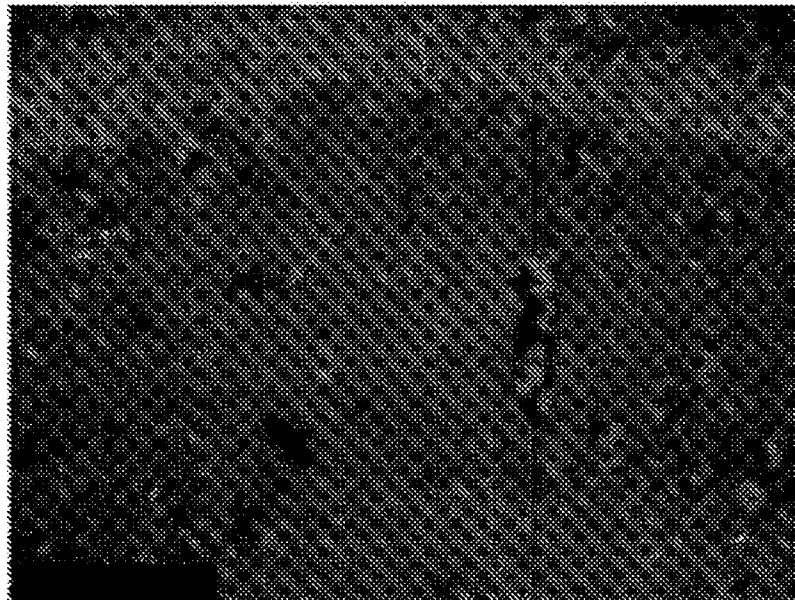


FIG. 6

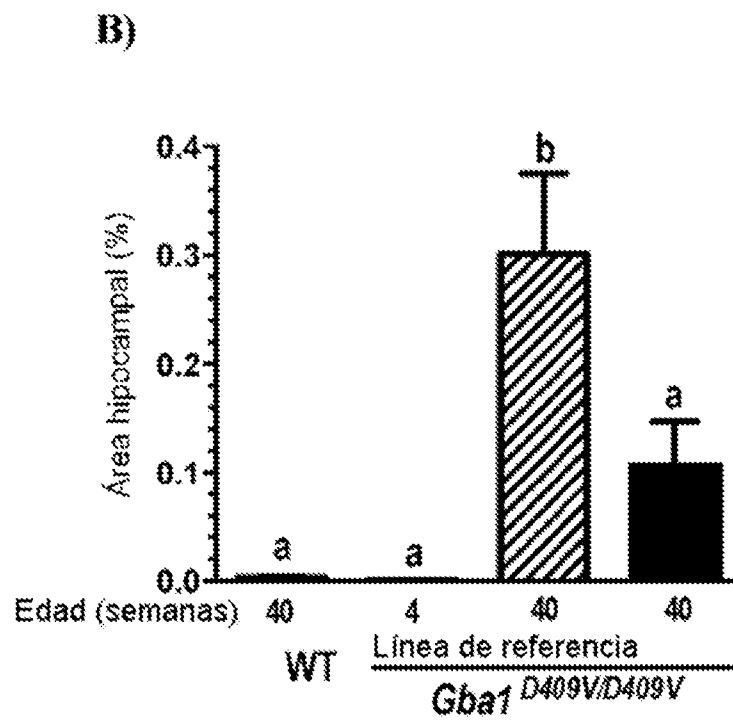
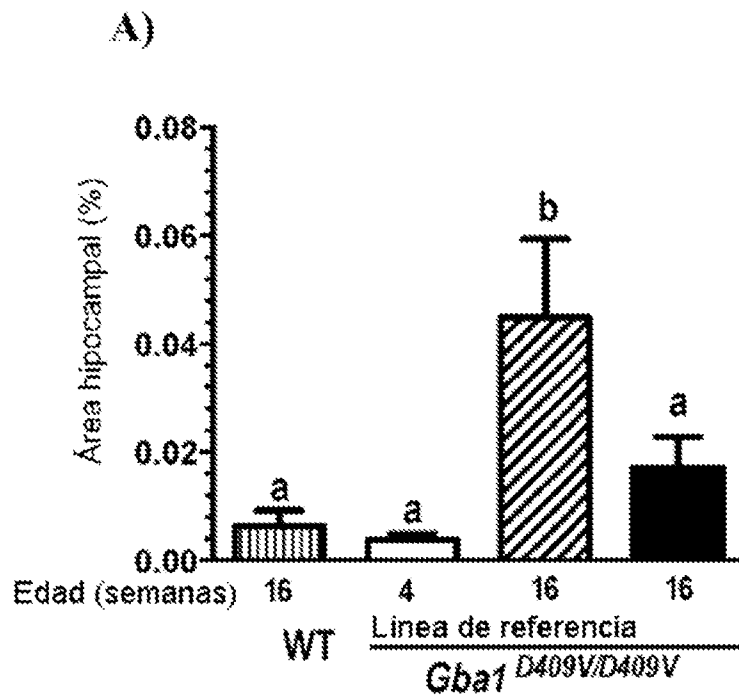
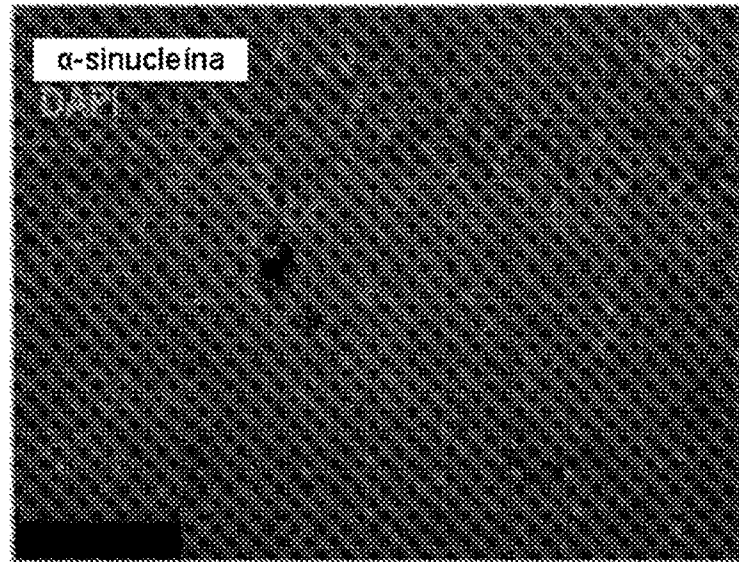


FIG. 7

A)



B)

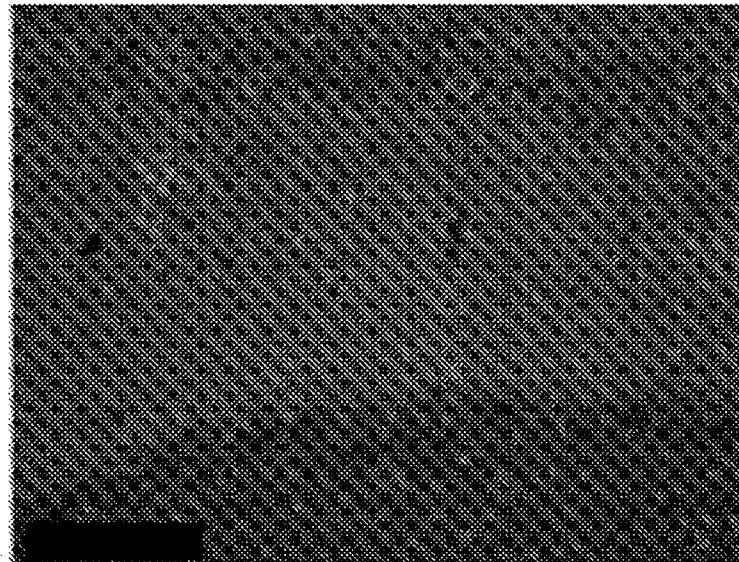


FIG. 8

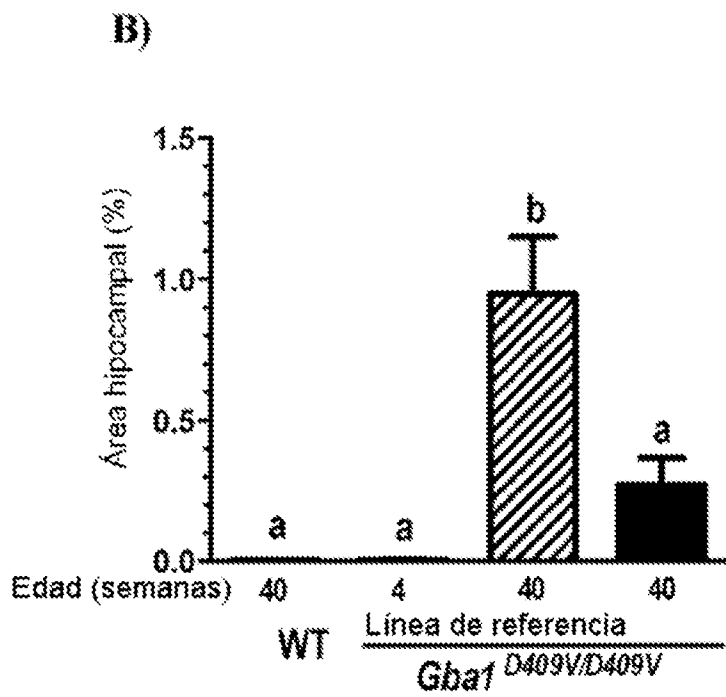
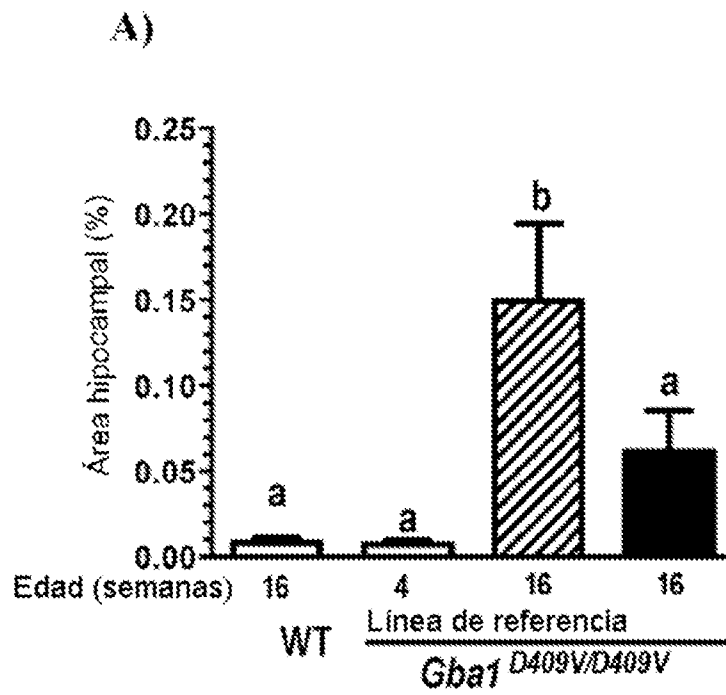
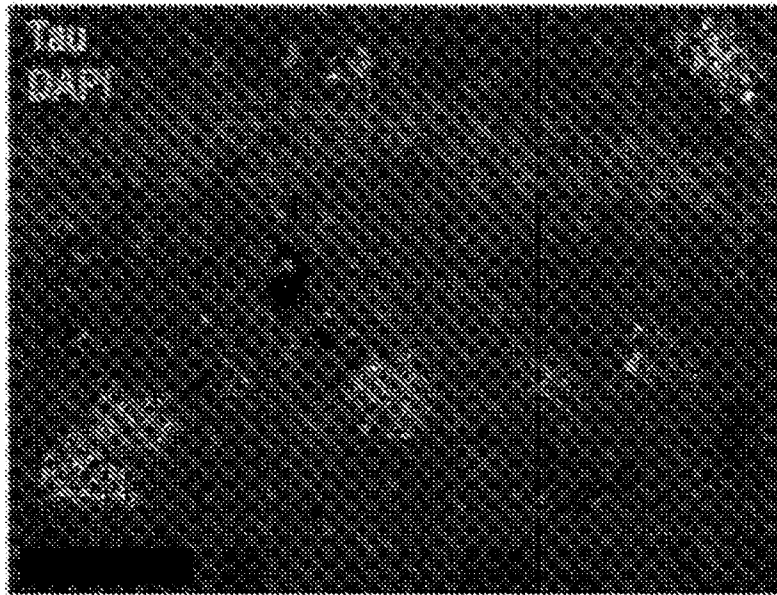


FIG. 9

A)



B)

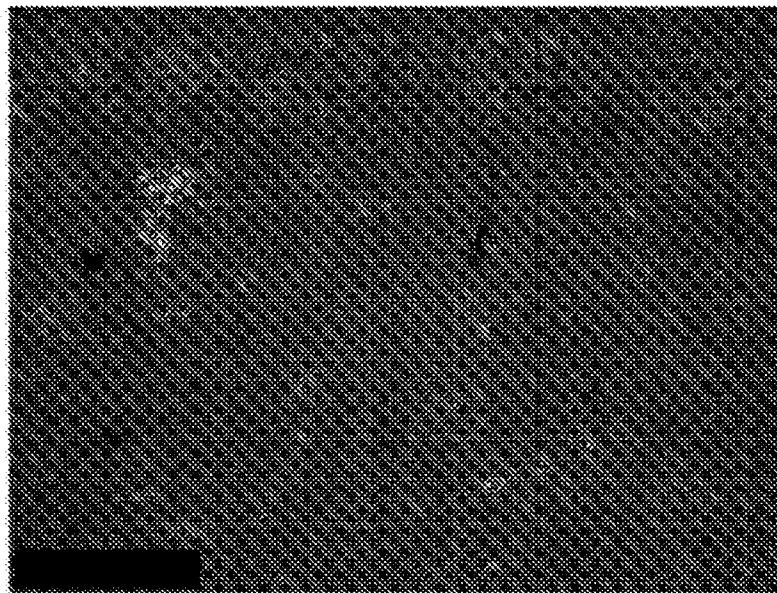


FIG. 10

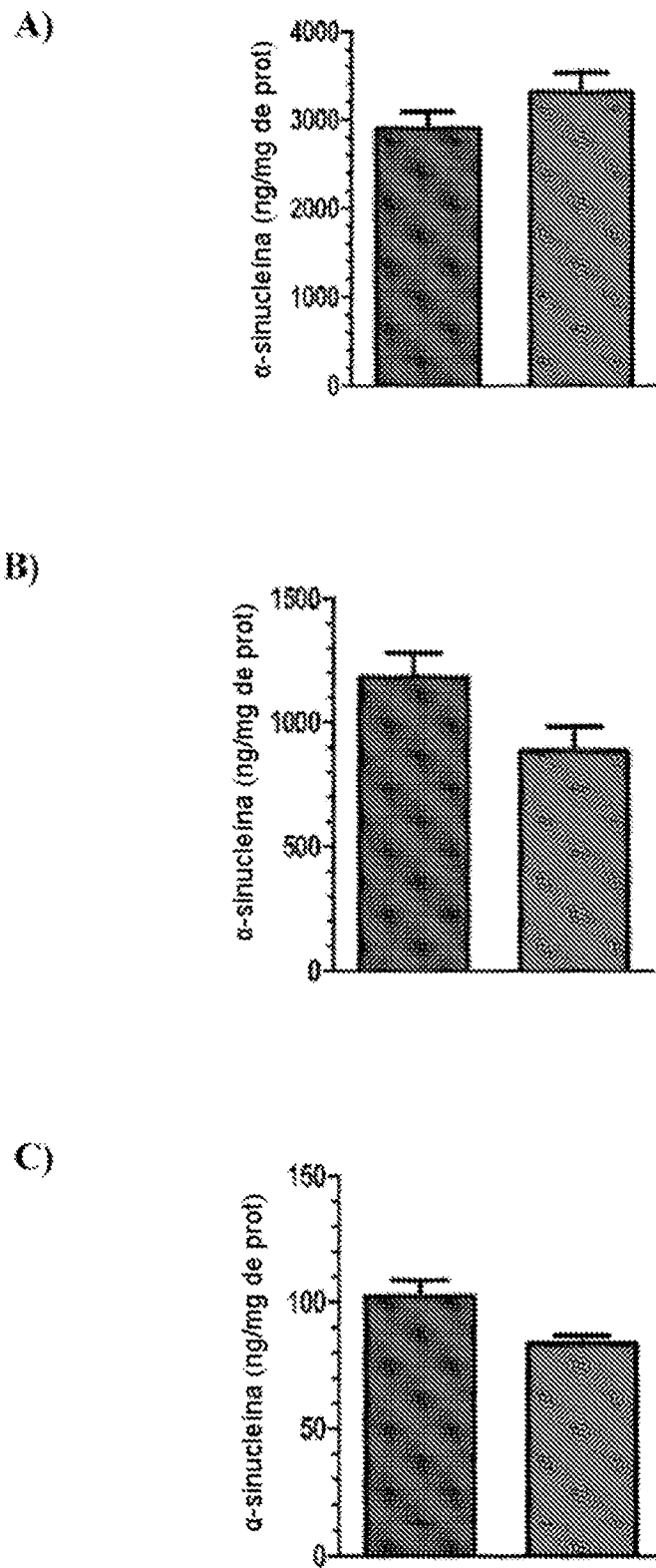


FIG. 11

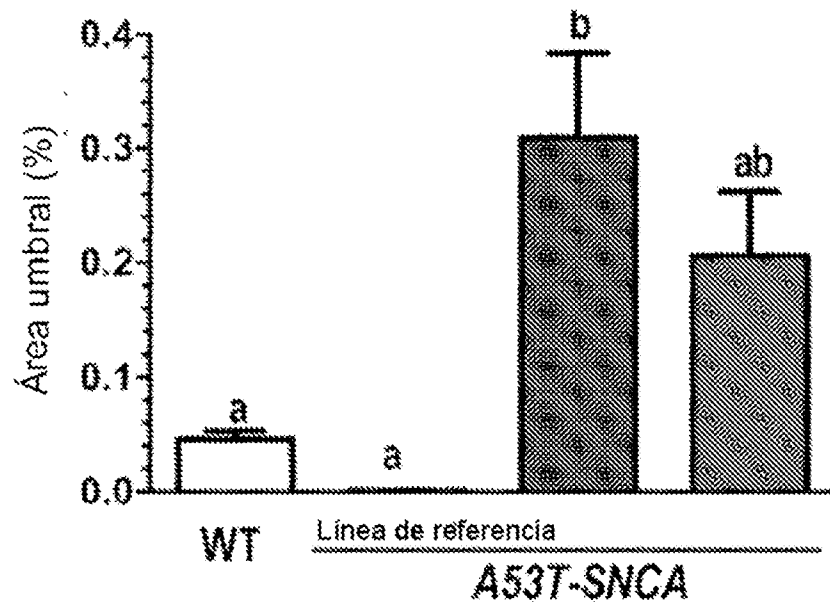
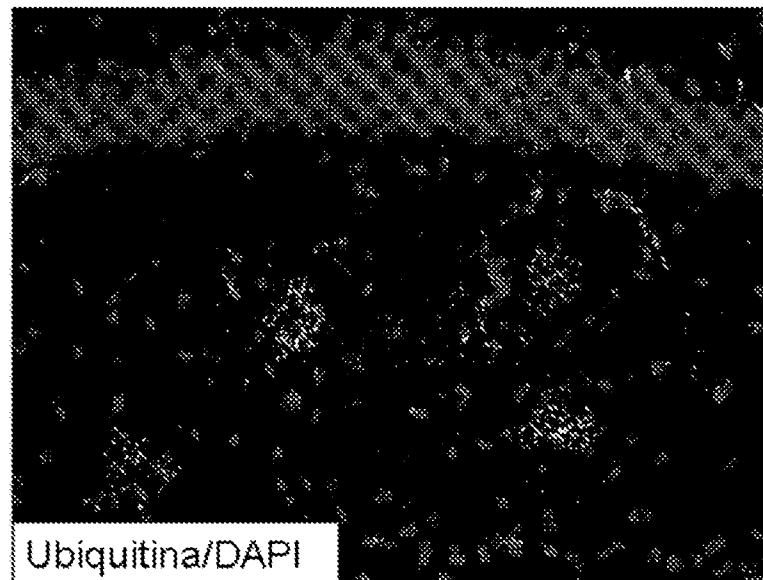


FIG. 12

A)



B)

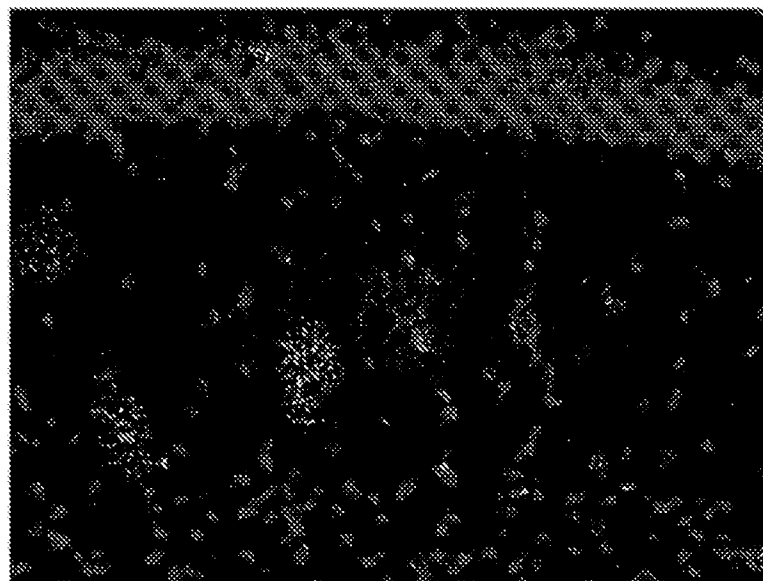


FIG. 13

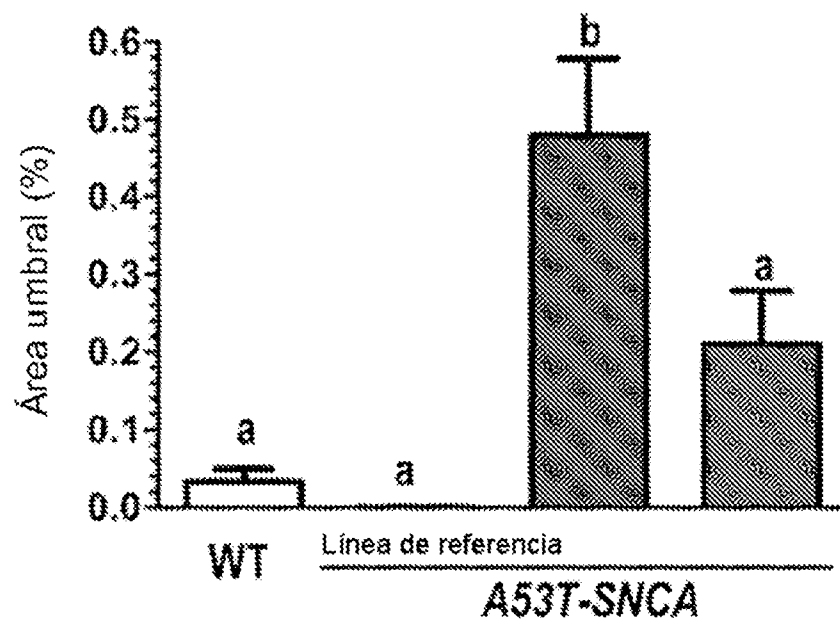


FIG. 14

A)



B)

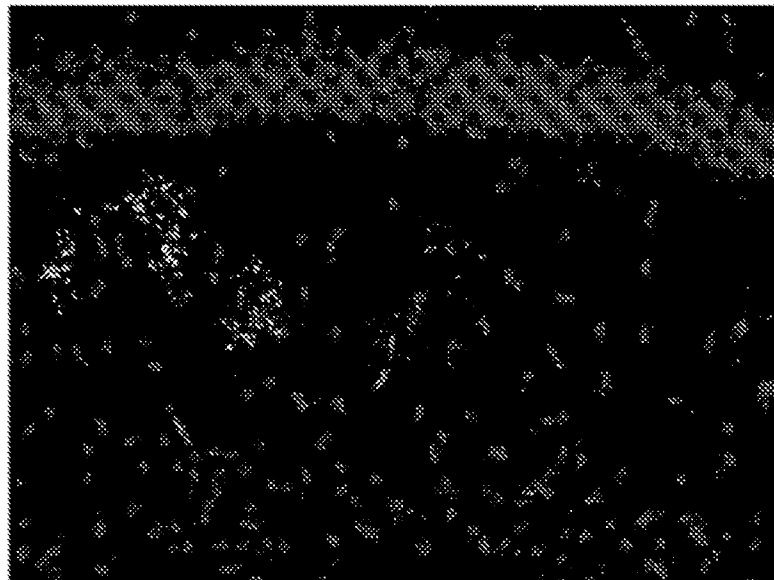


FIG. 15

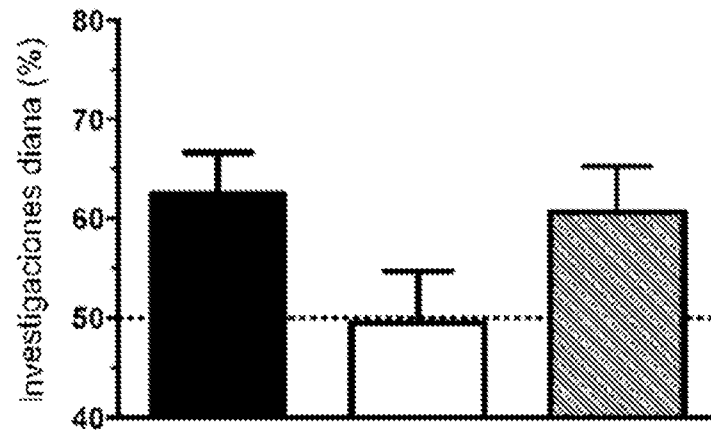


FIG. 16