



(12) **Oversettelse av  
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2182949 B1**

**NORGE**

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C07D 453/02 (2006.01)**  
**A61K 31/444 (2006.01)**  
**A61P 25/00 (2006.01)**  
**A61P 25/02 (2006.01)**  
**A61P 25/14 (2006.01)**  
**A61P 25/16 (2006.01)**  
**A61P 25/18 (2006.01)**  
**A61P 25/22 (2006.01)**  
**A61P 25/24 (2006.01)**  
**A61P 25/28 (2006.01)**  
**Med flere.**

**Patentstyret**

---

(21)	Oversettelse publisert	2013.05.27
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.01.02
(86)	Europeisk søknadsnr	08782584.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.08.01
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.05.12
(30)	Prioritet	2007.08.02, US, 953610 P 2007.08.02, US, 953613 P 2007.08.02, US, 953614 P 2007.09.12, US, 971654 P
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
	Utpekte samarbeidende stater	AL BA MK RS
(73)	Innehaver	Targacept, Inc., , 100 North Main StreetSuite 1510Winston-Salem, NC 27101, USA
(72)	Oppfinner	BENCHERIF, Merouane, 104 Brampton Court, Winston-Salem, North Carolina 27106, USA BENSON, Lisa, 688 Pecan Ridge Circle, Kernersville, North Carolina 27284, USA DULL, Gary Maurice, 6025 Shallowford Road, Lewisville, North Carolina 27023, USA FEDOROV, Nikolai, 3950 Tonbridge Lane, Winston-salem, North Carolina 27106, USA GATTO, Gregory J., 1148 S. Hawthorne Road, Winston-salem, North Carolina 27103, USA GENUS, John, 313 Tollesbury Court, Winston-salem, North Carolina 27127, USA JORDAN, Kristen G., 1869 Curraghmore Road, Clemmons, North Carolina 27012, USA MATHEW, Jacob, 3830 Stillmere Drive, Winston-salem, North Carolina 27101, USA MAZUROV, Anatoly A., 3704 Timberoak Drive, Greensboro, North Carolina 27410, USA MIAO, Lan, 226 March Ferry Road, Advance, North Carolina 27006, USA MUNOZ, Julio A., 214 Lakeside Drive, Walnut Cove, North Carolina 27052, USA PFEIFFER, Inigo, 2616 Antler Trail, Kernersville, North Carolina 27284, USA PFEIFFER, Sondra, 2616 Antler Trail, Kernersville, North Carolina 27284, USA PHILLIPS, Teresa Y., 4713 Whitby Place, Greensboro, North Carolina 27406, USA

(74) Fullmektig

Curo AS, Industriveien 53, 7080 HEIMDAL, Norge

- 
- (54) Benevnelse **(2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, nye saltformer og framgangsmåte for anvendelse av samme**
- (56) Anførte publikasjoner US-B2- 6 953 855  
WO-A-2004/076449

## Beskrivelse

### Oppfinnelsens område

**[0001]** Den foreliggende oppfinnelsen er relatert til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorider og hydrater og oppløsninger av samme. Den foreliggende oppfinnelsen er også relatert til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid monoklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme. Den foreliggende oppfinnelsen er også relatert til framgangsmåter for fremstilling av disse forbindelsene. Disse forbindelsene kan brukes i framgangsmåter for behandling av en lang rekke tilstander og forstyrrelser, inkludert de som er forbundet med mangler i sentralnervesystemet og det autonome nervesystemet.

### Bakgrunn

**[0002]** De neuronale nikotinreseptorene (NNR) sin karakteristikk i sentralnervesystemet (CNS) har vist seg å opptre i flere undertyper, hvorav de vanligste er undertypene  $\alpha 4\beta 2$  og  $\alpha 7$ . Se for eksempel Schmitt, *Current Med. Chem.* 78:749 (2000). Ligander som samvirker med  $\alpha 7$  NNR undertypen har vært foreslått som egnet i behandlingen av en rekke tilstander og forstyrrelser. Se Mazurov et al., *Curr. Med. Chem.* 13: 1567-1584 (2006) og viser der til bakgrunn for forståelse av den neuronale nikotinreseptor NNR-undertypen  $\alpha 7$ . De dominerende tilstandene og forstyrrelsene blant disse er kognitiv svekkelse, schizofreni, betennelser, angiogenese, nevropatisk smerte og fibromyalgi.

**[0003]** Det finnes et redusert antall hippocampus NNR i dødt hjernevev fra schizofrene pasienter. Det foreligger også forbedret psykologisk effekt hos schizofrene pasienter som henholdsvis røyker versus ikke røyker. Nikotin fremmer sansesignalsvekkelser hos dyr og schizofrene. Blokkering av  $\alpha 7$  NNR-undertype induserer en signalsvekkelse tilsvarende det som observeres hos schizofrene. Se for eksempel Leonard et al., *Schizophrenia Bulletin* 22(3): 431 (1996). Biokjemiske, molekylære og genetiske studier av sensorisk prosessering hos pasienter med P50 hørselsutløste potensiell signalsvekkelse foreslår at  $\alpha 7$  NNR-undertypen kan virke i en hemmende nervebane. Se for eksempel Freedman et al., *Biological Psychiatry* 38(1): 22 (1995).

**[0004]** I den senere tid har  $\alpha 7$  NNR blitt foreslått som mediator for angiogenese, som beskrevet av Heeschen et al., *J. Clin. Invest.* 100: 527 (2002). I disse studiene viste det seg at inhibering av  $\alpha 7$ -undertypen reduserte inflammatorisk angiogenese. Dessuten har  $\alpha 7$  NNR blitt foreslått som mål for regulering av neurogenese og tumorvekst (Utsugisawa et al., *Molecular Brain Research* 106(1-2): 88 (2002) og US patentsøknad 2002/0016371. Til slutt har en i den senere tid funnet  $\alpha 7$  NNR-undertypens rolle i gjenkjenning (cognition) (Levin og Rezvani, *Current Drug Targets: CNS og Neurological forstyrrelser* 1(4): 423 (2002)), nevrobeskyttelse (O'Neill et al., *Current Drug Targets: CNS og Neurological forstyrrelser* 1(4): 399 (2002) og Jeyarasasingam et al., *Neuroscience* 109(2): 275 (2002)), og nevropatisk smerte (Xiao et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. (US)* 99(12): 8360 (2002)).

**[0005]** Det har blitt rapportert om ulike forbindelser som samvirker med  $\alpha 7$  NNR som terapi på dette grunnlaget. Se for eksempel PCT WO 99/62505, PCT WO 99/03859, PCT WO 97/30998, PCT WO 01/36417, PCT WO 02/15662, PCT WO 02/16355, PCT WO 02/16356, PCT WO 02/16357, PCT WO 02/16358, PCT WO 02/17358, Stevens et al., *Psychopharm.* 136: 320 (1998), Dolle et al., *J. Labelled Comp. Radiopharm.* 44: 785 (2001) og Macor et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11: 319 (2001) og referansehenvisninger i samme, med hensyn til bakgrunnsinformasjon om  $\alpha 7$ -NNR og foreslått terapi. Blant disse forbindelsene finner en et felles strukturmessig tema som det for det substituerte tertiære bisykliske aminet (f.eks. quinuclidin). Det har også blitt rapportert at liknende substituerte quinuclidinforbindelser bindes ved muskarinreseptorer. Se for eksempel US patentskrift 5,712,270 til Sabb og PCT, WO 02/00652 og WO 02/051841.

**[0006]** En begrensning ved noen nikotinformbindelser er at de er forbundet med ulike uønskede bieffekter, slik som ved stimulering av muskel- og nerveknuterreseptorer. Det fortsetter å foreligge et behov for forbindelser, blandinger og framgangsmåter for å hindre eller behandle ulike tilstander eller forstyrrelser, slik som CNS-forstyrrelser, inkludert lindring av symptomer for disse forstyrrelsene, der forbindelsene oppviser nikotinfarmakologi med en fordelaktig effekt, det vil si ved CNS sin virkemåte, men uten signifikante tilhørende bivirkninger. Det foreligger et behov for forbindelser, blandinger og framgangsmåter som påvirker CNS-funksjonen uten å medføre noen signifikant påvirkning av disse nikotinreseptor-undertypene som har potensialet med at de kan indusere uønskede bivirkninger, slik som passende aktivitet ved kardiovaskulære posisjoner og skjelett/muskel-posisjoner. Den foreliggende oppfinnelsen framskaffer slike forbindelser, blandinger og framgangsmåter.

### Sammendrag av oppfinnelsen

**[0007]** Det er her beskrevet (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. Det er også beskrevet 2S,3R)N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, i hovedsakelig ren form eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. Det er også beskrevet (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, hovedsakelig fri for (2S,3S), (2R,3S), eller (2R,3R) isomerer, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme.

**[0008]** Det er dessuten her beskrevet stereoisomenkalt anriket (2S,3R)- N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd 90 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd 95 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd 98 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd 99 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd 99,5 % eller mer.

**[0009]** Et annet aspekt som er beskrevet her er et syresalt av (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid, der syra er valgt fra svovelsyre, fosforsyre, maleinsyre, p-toluensulfonsyre, melkesyre, D-mandelsyre, D-vinsyre, metansulfonsyre, R- og S-10-kamfersulfonsyrer, ketoglutarsyre eller hipposyre. I en utførelsesform er støkiometrien for (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mot syra 2:1, 1:1, eller 1:2. I en utførelsesform er støkiometrien lik 1:1. Et aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen er (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme, inkludert partielle hydrater eller oppløsninger. Nok en utførelsesform er (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme, inkludert partielle hydrater eller oppløsninger.

**[0010]** Det er her også beskrevet en skalerbar syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid og nye mellomprodukter.

**[0011]** Omfanget av den foreliggende oppfinnelsen inkluderer alle kombinasjoner av aspekter, utførelsesformer og preferanser beskrevet her.

### Kort beskrivelse av figurene

Figur 1A1 - 1A4 illustrerer responser på rotte  $\alpha 7$ -reseptorer uttrykt i GH4C1 pattedyrceller til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid;

racematet, det vil si en blanding av (2S,3R), (2R,3S), (2R,3R) og (2S,3S); de individuelle stereoisomerene; og acetylcholin (ACh).

Figur 1B illustrerer en sammenlikning av de funksjonelle responsene fra rotte  $\alpha 7$ -reseptorer uttrykt i GH4C1-pattedyrcells til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid; racematet, det vil si en blanding av (2S,3R), (2R,3S), (2R,3R) og (2S,3S); og de individuelle stereoisomerene innenfor det effektive plasmakonsentrasjonsområdet.

Figur 2A illustrerer responser på humane  $\alpha 7$ -reseptorer uttrykt i Xenopus-oocytter til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl) metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid.

Figur 2B illustrerer kontrollresponser på humane  $\alpha 7$ -reseptorer etter anvendelse av forbindelsen ved de indikerte konsentrasjonene. Data ble normalisert til netto mengde av kontroll 300 mM ACh responser oppnådd 5 min før de eksperimentelle agonist-framkalte responsene. Hvert punkt representerer midlere 6 SEM for de normaliserte responsene for i det minste 4 oocytter.

Figur 3 illustrerer vurdering av kognitive effekter i en objekt-gjenkjenning (OR)-paradigme, som viser at (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid har positive effekter ved 0,3 og 1 mg/kg administrert i.p., \* $p < 0.5$ .

Figur 4 illustrerer en vurdering av kognitive effekter i en OR-paradigme, som viser at (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid administrert p.o. har positive effekter over et bredt doseringsintervall (0.3 -10 mg/kg), \* $p < 0.5$ .

Figur 5 illustrerer effekter av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid administrert i.p. i å forhindre kognitive mangler induisert av MK-801, også kjent som dizocilpin, en kommersielt tilgjengelig ikke-konkurrerende antagonist for NMDA-reseptoren, i OR-oppgaven.

Figur 6 illustrerer at en midlere varighet brukt på objekt A versus objekt B, in OR-oppgave, av den bærerbehandlede gruppen ved 30 min, 6 timer, eller 24 timer etter forsøket med den siste sub-akutte administreringen (p.o.) ikke var særlig forskjellig ( $p = 0,17$ ,  $p = 0,35$  og  $p = 0,12$ , henholdsvis). Alternativt hadde subjektene ved 30 min, 2 timer, 6 timer, og 18 timer etter den siste sub-akutte administreringen av 0,3 mg/kg (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid, brukt vesentlig lengre ( $P < 0,05$ ) tid ved å undersøke objekt B (ny) enn objekt A (familiær). Ved 2 timer (75 %) og 6 timer (71 %) var dessuten gjenkjenningsindeksen vesentlig forbedret hos dyr behandlet med 0,3 mg/kg (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid sammenliknet med gjenkjenningsindeksen (54 %) for den bærerbehandlede gruppen ved 30 minutter etter den siste administreringen.

Figur 7 illustrerer en evaluering av kognitive effekter i en radial arm maze (RAM) paradigme. (2S,3R)-N-(2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid (0.1, 0.3 og 1.0 mg/kg) ble administrert p.o. 30 minutter før den daglige sesjonen. En forbedring i ytelsen i oppgaven var åpenbar i gruppen som ble behandlet med 0.3 mg/kg (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid i løpet av den andre uken med administrering.

Figur 8 illustrerer en studie av antipsykotiske effekter, målt som hyperaktiv oppførsel induisert av dopamin-overstimulering, som viser at (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid (0.3 og 1.0 mg/kg; s.c.) svekker locomotor-hyperaktivitet induisert av apomorfin (1.0 mg/kg) etter subkutan administrering i rotter.

Figur 9 illustrerer an antipsykotisk evaluering, undersvingnings-inhibering, som indikerer at apomorfin-induserte svekkelser reverseres ved forbehandling med (2S,3R)-N-(2-((3-

pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid etter subkutan administrering.

5 Figur 10A illustrerer resultatene fra røntgen-krystallografisk analyse av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid, som etablerer den absolutte stereokjemi for dette materialet. Den skisserte forbindelsen er det delvis hydratiserte hydrokloridsaltet, som viset ved det fullstendig orienterte kloridanionet delvis okkuperte vannmolekylet i den asymmetriske enheten.

10 Figur 10B illustrerer resultatene fra røntgen-krystallografisk analyse av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid, som etablerer den absolutte stereokjemi for dette materialet, angitt med et nummerskjema for henvisning. Skisse ser ned på den krystallografiske b-aksen av enhetscellen. De intermolekylære hydrogenbindingene er vist som stiplede linjer.

15 Figur 11A illustrerer resultatene fra røntgen-krystallografisk analyse av (2R,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid p-klorbenzoat, som etablerer den absolutte stereokjemi for dette materialet.

Figur 11B illustrerer resultatene fra røntgen-krystallografisk analyse av (2R,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid p-klorbenzoat, som etablerer den absolutte stereokjemi for dette materialet, skissert med et nummerskjema for referanse.

20 Figur 12 illustrerer et fullstendig kromatogram som karakteriserer fire stereoisomerer av N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo [2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, der 2S,3R demonstrerer en topp ved retensjonstid lik 5,3 minutter, 2R,3S viser en topp ved retensjonstid lik 7,3 minutter, 2R,3R viser en topp ved retensjonstid på 8,2 minutter og 2S,3S viser en retensjonstid på 12,4 minutter. Som beskrevet her, krevde den mobile fasen analyse for å etablere tilstrekkelig  
25 oppløsning, som resulterte i en sammensetning på 60:40:0,2 av heksan:etanol:di-nbutylamin ved 1,0 ml/min, med en kolonnetemperatur på 20 °C og UV-detektering ved 270 nm.

Figur 13 er en XRPD av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid som illustrerer både observerte (lysere) og beregnede (mørkere) mønstre. Begge mønstrene er hver i overensstemmelse med 20 verdier og mindre forskjellig intensitet og toppbredder kan tilegnes instrumentoppløsning og foretrukne orienteringseffekter. Som beskrevet her kan ytterligere mindre forskjeller tilegnes et temperaturskifte på grunn av at de observerte data samles ved romtemperatur og beregnede data fra en struktur ved 120K.

Figur 14 er en XRPD av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monotosylat.

### 35 **Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen**

**[0013]** Den foreliggende oppfinnelsen framskaffer et (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller en oppløsning av samme. Den foreliggende oppfinnelsen framskaffer også (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid eller et  
40 hydrat eller en oppløsning av samme.

**[0014]** Her er også beskrevet et (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, som med en affinitet ( $K_i$ -verdi  $\leq 1$  nM) og selektiv for  $\alpha 7$  NNR-subtypen som oppviser effekt i dyremodeller på kognitivitet (kognitiv forbedring) og psykose (anti-psykiske effekter).

**[0015]** Her er også beskrevet (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. Her er også beskrevet (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, i hovedsakelig ren form, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. Her er også beskrevet (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, hovedsakelig fri for (2S,3S), (2R,3S), eller (2R,3R) -isomerer, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme.

**[0016]** Det er i tillegg beskrevet stereoisomerisk anrikt (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd lik 90 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd lik 95 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd lik 98 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd lik 99 % eller mer. I en utførelsesform er det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskudd lik 99,5 % eller mer.

**[0017]** Her er også beskrevet et syresalt av (2S,3R) N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, der syra er valgt fra saltsyre, svovelsyre, fosforsyre, maleinsyre, p-toluensulfonsyre, melkesyre, D-mandelsyre, D-vinsyre, metansulfonsyre, R- og S-10-kamfesulfonsyrer, ketoglutarsyre, eller hipposyre. Stereokjemien ved (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid overfor syra kan være 2:1:1, eller 1:2. Støkiometrien kan være 1:1

**[0018]** Her er også beskrevet (2S,3R)-(2-((3-pyridinyl)metyl)-3-amino-1-azabisyklo[2.2.2]oktan.

**[0019]** Et annet aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen er en farmasøytisk blanding som omfatter en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen og en eller flere farmasøytisk akseptable bærere.

**[0020]** Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan brukes i en framgangsmåte for behandling eller forebygging av en sentralnervesystem-forstyrrelse, inflammasjon, smerte, eller neovaskularisering som omfatter administrering av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse kjennetegnet ved en endring i normal neurotransmitter-frigjøring. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse valgt fra mild kognitiv svekkelse, aldersrelatert minnesvekkelse, pre-senil demens, tidlig inntreden av Alzheimer's sykdom, senil demens, demens av typen Alzheimer's, Alzheimer's sykdom, Lewy Body demens, mikro-infarktdemens, AIDS-relatert demens, HIV-demens, multippel cerebrale infarkt, Parkinsonisme, Parkinson's sykdom, Pick's sykdom, progressiv supranukleær lammelse, Huntington's sanktveisdans, tardiv dyskinesi, hyperkinesi, mani, svekkelse av oppmerksomhet, svekkelse av hyperaktivitet, angst, depresjon, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse i schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse valgt fra Alzheimer's sykdom, mani, svekket oppmerksomhet, svekket oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse i schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom.

**[0021]** Et annet aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen inkluderer bruk av den foreliggende oppfinnelsen i framstilling av et medikament for behandling eller forebygging av en lidelse sentralnervesystemet, inflammasjon, smerte, eller neovaskularisering. I en utførelsesform er sentralnervesystemets lidelse kjennetegnet ved en endring i normal neurotransmitter-frigjøring. I en utførelsesform er sentralnervesystemets lidelse valgt fra mild kognitiv svekkelse, aldersforbundet svekkelse av hukommelse, pre-senil demens, tidlig inntreden av Alzheimer's sykdom, senil demens, demens av typen Alzheimer, Alzheimer's sykdom, Lewy Body-demens,

mikro-infarctdemens, AIDS-relatert demens, HIV-demens, multipel cerebrale infarkt, Parkinsonisme, Parkinson's sykdom, Pick's sykdom, progressiv supranukleær lammelse, Huntington's chorea, tardiv dyskinesi, hyperkinesi, mani, svekkelse av oppmerksomhet, oppmerksomhetsvekkelse fra hyperaktivitet, angst, depresjon, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse ved schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse valgt fra Alzheimer's sykdom, mani, svekkelse av oppmerksomhet, svekkelse av oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse ved schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom.

**[0022]** Et annet aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen er en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen for bruk i behandling eller forebygging av en forstyrrelse i sentralnervesystemet, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse kjennetegnet ved en endring i frigjøring av normal neurotransmitter. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse valgt fra mild kognitiv svekkelse, aldersrelatert hukommelsestap, pre-senil demens, tidlig inntreden av Alzheimer's sykdom, senil demens, demens av typen Alzheimer's, Alzheimer's sykdom, Lewy Body-demens, mikro-infarctdemens, AIDS-relatert demens, HIV-demens, multipel cerebrale infarkt, Parkinsonisme, Parkinson's sykdom, Pick's sykdom, progressiv supranukleær lammelse, Huntington's chorea, tardiv dyskinesi, hyperkinesi, mani, svekkelse av oppmerksomhet, svekkelse av oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, depresjon, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse ved schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom. I en utførelsesform er sentralnervesystemets forstyrrelse valgt fra Alzheimer's sykdom, mani, svekkelse av oppmerksomhet, svekkelse av oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, dysleksi, schizofreni, kognitiv svekkelse ved schizofreni, depresjon, tvangslidelser eller Tourette's syndrom.

**[0023]** I de ovennevnte framgangsmåter og anvendelser er de effektive dosene ifølge oppfinnelsen mellom omlag 1 mg og 10 mg for en 24 timer lang periode.

**[0024]** Det er også beskrevet en framgangsmåte for fremstilling av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl) benzofuran-2-karboksamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme ved sekvensiell dynamisk oppløsning og stereoselektiv reduksjonsbasert aminering av (2-((3-pyridinyl)metyl-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-on.

**[0025]** Omfanget av den foreliggende oppfinnelsen inkluderer alle kombinasjoner av aspekter, utførelsesformer og preferanser beskrevet her.

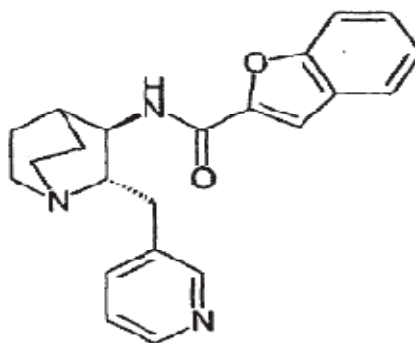
**[0026]** Den kommersielle utvikling av medikamentkandidater involverer mange trinn, inkludert oppskalering av den kjemiske syntese og rensing, identifisering av optimale saltforms og liknende. Ved formulering av medikamentblandinger er medikamentsubstansen fortrinnsvis i en form der den på en lettvinnt måte kan håndteres og prosesseres. Betragtninger inkluderer kommersiell levedyktighet samt konsistens i fremstilling. I framstillingen av medikamentblandinger er det viktig at det kan framskaffes en pålitelig, reproduserbar og konstant plasmakonsentrasjonsprofil av et medikament etter administrering til en pasient.

**[0027]** Kjemisk stabilitet, stabilitet i fast form og "holdbarhet/brukstid" for de aktive bestanddelene er også svært viktige faktorer. Medikamentsubstansen og blandingene som inneholder disse, bør fortrinnsvis være i stand til å lagres effektivt over et egnet tidsrom uten å oppvise noen vesentlig endring av de fysiokjemiske karakteristikkene for de aktive bestanddelene (for eksempel deres kjemiske sammensetning, densitet, hygroskopitet og løselighet). Det er dessuten viktig å være i stand til å framskaffe medikament i en form som er så kjemisk ren som mulig. Disse trekkene ved oppfinnelsen er diskutert i nærmere detalj nedenfor.



## I. Forbindelser

**[0028]** En forbindelse beskrevet her er (2S,3R)-N(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, representert som forbindelse A nedenfor eller et farmasøytisk akseptabelt salt av forbindelse A.



5

**[0029]** Den rasemiske forbindelsen N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid, en syntese og anvendelse i medisinsk behandling er beskrevet i US patentskrift 6,953,855 for Mazurov et al.

**[0030]** Rasemisk N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid er en høy-affinitets ligand for subtypen  $\alpha 7$  av den nevronale nikotinreseptoren (NNR). Rasemisk N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid inneholder to asymmetriske substituerte karbonatomer. Følgelig opptrer rasemisk N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid i fire stereoisomeriske former, det vil si (S,S), (S,R), (R,R), og (R,S). Gruppe (S,R), det vil si (2S,3R), er forbindelse A.

**[0031]** Det ble tidligere antatt at de dominante stereoisomeriske former som ble dannet i den rapporterte syntesen, inkludert US patentskrift 6,953,855, ble karakterisert ved den cis-relative konfigurasjon ved posisjonene 2 og 3 i 1-azabicyklo[2.2.2]oktan (quinuclidin)-ringen. Det var med andre ord en forståelse for at cis-diastereomeren (enantiomerpårene (2R,3R) og (2S,3S)), var de dominante formene som ble dannet med de rapporterte metodene. Denne bestemmelsen av dominant cis-syntese var basert på: (i) sammenlikning av  $^1\text{H}$  koplingskonstantene for hydrogenposisjonene 2 og 3 i quinuclidinringen og de isolerte mellomliggende diastereomeriske (cis og trans) til koplingskonstantene rapportert i litteraturen; og (ii) det forventede stereokjemiske resultat fra syntese kjemien som ble brukt til å produsere blandingen av forbindelsene, med analogi til litteraturen, med henvisning til Warawa et al., J. Med. Chem. 18(6): 587-593 (1975) og Viti et al., Letrahedron Lett. 35(32): 5939-5942 (1994). Det var følgelig en forventning om at cis-konfigurasjonen ville bli dannet. Den biologiske testingen med det produserte rasematet ble som sådan antatt å kunne tilskrives den dominante cis-konfigurasjonen.

**[0032]** Det har nå via røntgendiffraksjonsanalyse av krystalline saltformer og analoger at den dominerende diastereomeren som ble produsert i den opprinnelige syntesen faktisk var trans-diastereomeren. Det har dessuten blitt oppdaget at de to enantiomere med den trans-relative stereokjemien, det vil si (2S,3R) og (2R,3S), skiller seg vesentlig fra hverandre i deres evne til å samvirke med subtypen  $\alpha$  NNR. Konfigurasjonen (2S,3R), forbindelse A, har høyere aktivitet.

**[0033]** Med ytterligere analyser har en oppdaget at forbindelse A har farmakologiske egenskaper som skiller den fra: i) hver av de andre tre stereoisomerene, tatt individuelt; ii) blandingen av alle fire stereoisomerene, det vil si racematet; og iii) andre  $\alpha 7$  NNR-ligander rapportert i litteraturen.

35

5 **[0034]** (2S,3R)-N(2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (forbindelse A) er en svært selektiv, komplett agonist ved  $\alpha$  NNR-reseptoren med en oppsiktsvekkende lav EC50-verdi (for aktivering) og en god separasjon mellom EC50 og IC50 (for resterende inhibering), som gir funksjonell agonisme over et bredt intervall for terapeutisk nyttige konsentrasjoner.

## II. Skalerbar syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid

10 **[0035]** Spesifikke syntesetrinn varierer i deres evne til å skalere opp. Det er funnet reaksjoner som mangler deres evne til å skaleres opp av ulike årsaker, inkludert sikkerhetsbetraktninger, reagenskostnader, problematisk gjenvinning eller rensing, reaksjonsenergetikk (termodynamikk eller kinetikk) og reaksjonsutbytte.

**[0036]** Syntesen av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid beskrevet her har blitt brukt til å produsere kilogrammengder av materiale, og komponentreaksjonene har blitt utført på en multipel kilogramskala med høyt utbytte.

15 **[0037]** Den skalerbare syntesen anvender både den dynamiske oppløsningen av et racemiserbart keton (2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]octan-3-on) og den stereoselektive reduksjon av (R)- $\alpha$ -metylbenzylamin iminderivat (reduksjons-aminering) av det oppløste ketonet. Syntesesekvensene som er rapportert her er lett skalerbare og unngår kromatografisk rensing.

## 20 III. Fremstilling av nye saltformer av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid

25 **[0038]** (2S,3R)-N-(2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid som en fri base er et amorft pulver med svært begrenset vannløselighet. Den frie basen vil reagere med både uorganiske og organiske syrer til å danne visse syre addisjonssalter som har fysikalske og kjemiske egenskaper som er fordelaktige i fremstilling av farmasøytiske blandinger, inkludert men ikke begrenset til krystallinitet, vannløselighet og stabilitet. Støkiometrien for saltene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan variere.

30 **[0039]** Avhengig av måten som saltene beskrevet her blir dannet på, kan saltene ha krystallstrukturer som utelukker løsningsmidler som er tilstede under saltdannelse. På denne måten kan saltene opptre som hydrater og andre oppløsninger med varierende støkiometri av løsningsmiddel relativt til (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid.

**[0040]** Framgangsmåten for fremstilling av saltformene kan variere. Fremstilling av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid saltformer involverer generelt:

35 (i) blanding av den frie basen eller en løsning av den frie basen, nemlig (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2] oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid i et egnet løsningsmiddel med et syrenett eller som en løsning av syrer i et egnet løsningsmiddel;

40 (iia) avkjøling av den resulterende saltløsningen, om nødvendig for å utføre utfelling; eller (iib) tilsats av et egnet anti-løsningsmiddel for å forårsake utfelling; eller

(iic) inndamping av det første løsningsmidlet og tilsats av et nytt løsningsmiddel og gjenta enten trinn

(iia) eller trinn (iib); og

(iii) filtrere og samle det resulterende saltet.

5 **[0041]** Forbindelsen (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid kan være stereometrisk anriket. Det enantiomeriske og/eller diastereomeriske kan være 90 % eller mer. Det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskuddet kan være 95 % eller mer. Det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskuddet kan være 98 % eller mer. Det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskuddet kan være 99 % eller mer. Det enantiomeriske og/eller diastereomeriske overskuddet kan være 99,5 % eller mer.

10 **[0042]** Støkiometrien, løsningsmiddelblandingen, konsentrasjon av oppløsning og temperatur som anvendes kan variere. Representative løsningsmidler som kan brukes i fremstilling eller rekrySTALLISERING av saltformene inkluderer uten begrensning etanol, metanol, isopropylalkohol, aceton, etylacetat og acetonitril.

15 **[0043]** Eksempler på egnede farmasøytisk akseptable salter inkluderer uorganiske syre addisjonssalter slik som klorid, bromid, sulfat, fosfat og nitrat; organiske syreaddisjonssalter slik som acetat, galactarat, propionat, suksinat, laktat, glycolat, malat, tartrat, citrat, maleat, fumarat, metansulfonat, p-toluensulfonat og ascorbat; og salter med aminosyrer slik som aspartat og glutamat. Saltene kan i noen tilfeller være hydrater eller etanoloppløsninger. Representative salter som er framskaffet er beskrevet i US patentskrift 5,597,919 to Dull et al., 5,616,716 til Dull et al. og 5,663,356 til Ruecroft et al.

20 **[0044]** Saltscreening for den frie basen (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)methyl)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl)benzofuran-2-karboksamid avslørte at, mens mange salter av farmasøytisk akseptable syrer kunne vært dannet, hadde bare noen få av disse saltene akseptable egenskaper for kommersiell fremstilling. Evnen til å forutsi karakteristikene eksemplifisert ved et kommersielt levedyktig salt eksisterer derfor ikke. Syrer som dannet salter som var krystallinske, det vil si salter som oppviser en viss grad av krystallinitet, avhengig av framgangsmåten som de fremstilles med, inkludert  
25 saltsyre, svovelsyre, fosforsyre, p-toluensulfonsyre, melkesyre, D-mandelsyre, D-ravsyre, metansulfonsyre, R- og S-10-kamfersulfonsyrer, maleinsyre, ketoglutarsyre og hipposyre. Blant disse saltene oppviste hver av syrene saltsyre, fosforsyre, maleinsyre og p-toluensulfonsyresalter ekstra ønskelige egenskaper inkludert høyt smeltepunkt, god vannløselighet, og lav hygroskopitet. Disse karakteristikene ved disse saltene var uventet.

#### 30 **IV. Farmasøytiske forbindelser**

**[0045]** De farmasøytiske forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen inkluderer saltene beskrevet her, i ren tilstand eller i form av en blanding der forbindelsene er kombinert med ethvert annet farmasøytisk forenelig produkt, som kan være inert eller fysiologisk aktivt. De resulterende farmasøytiske blandinger kan brukes til å hindre en lidelse eller forstyrrelse i et  
35 individ som er utsatt for en slik tilstand eller forstyrrelse, og/eller til behandling av et individ som lider av tilstanden eller forstyrrelsen. De farmasøytiske forbindelsene beskrevet her inkluderer forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen og/eller farmasøytisk akseptable salter av samme.

40 **[0046]** Måten som forbindelsene administreres på kan variere. Blandingene administreres fortrinnsvis oralt (f.eks. i væskeform i et løsningsmiddel slik som en vannbasert eller ikke-vannbasert væske, eller i en fast bærer). Foretrukne blandinger for oral administrering inkluderer piller, tabletter, kapsler, glaserte tabletter, sirup og løsninger, inkludert harde gelatinkapsler og kapsler med tidsbestemt frigjøring. Standard bindemiddel inkluderer bindemiddel, fyller, fargestoffer, løsningsfremmende midler og liknende. Blandinger kan formuleres i  
45 enhetsdoseform eller i form av flere doser eller oppdelte doser. Foretrukne blandinger er i form av væske eller halvfast form. Blandinger som inkluderer en væskebasert farmasøytisk inert bærer

slik som vann eller andre farmasøytisk forenelige væsker eller halvfaste stoffer kan brukes. Bruken av slike væsker og halvfaste substanser er velkjent for en fagperson.

- 5 **[0047]** Blandingene kan også administreres via injeksjon, det vil si intravenøst, intramuskulært, subkutant, intraperitonealt, intraarteriært, intratekalt; og intracerebroventrikulært. Intravenøs administrering er den foretrukne formen for injeksjon. Egnede bærere for injeksjon er velkjent for fagpersonen og inkluderer 5 % dekstroseløsninger, saltløsninger og fosfatbufret saltløsning. Medikamentproduktet kan også administreres som en infusjon eller injeksjon (for eksempel i form av en suspensjon eller som en emulsjon i en farmasøytisk akseptabel væske eller blanding av væsker).
- 10 **[0048]** Formuleringene kan også administreres på andre måter, for eksempel rektal administrering. Formuleringer egnet for rektal administrering, slik som stikkpiller, er velkjent for en fagperson. Medikamentproduktet kan også administreres ved inhalering (for eksempel i form av en aerosol enten nasalt eller ved bruk av leveringsobjekter av typen beskrevet i US
- 15 eksempel ved bruk av en transdermal lapp) eller iontoforetikalt; eller ved administrering under tunga eller bukkalt. Selv om det er mulig å administrere en forbindelse i form av et aktivt kjemikalium i bulkform, er det foretrukket å presentere et medikamentprodukt i form av en farmasøytisk blanding eller formulering for effektiv administrering.
- 20 **[0049]** Eksempler på framgangsmåter for administrering av forbindelser vil være innen rekkevidde for en fagperson. Formuleringenes egnethet kan være avhengig av den spesifikke blandingen som brukes og det spesifikke subjektet som mottar behandlingen. Disse formuleringene kan inneholde en væskebærer som kan være oljeaktig, vannbasert, emulgert eller inneholde visse løsningsmidler som er egnet for den aktuelle administreringsmåten.
- 25 **[0050]** Blandingene kan administreres periodisk eller som en gradvis, kontinuerlig, konstant eller kontrollert rate til et varmblodig dyr, (for eksempel et pattedyr slik som en mus, rotte, kanin, hund, gris, ku eller ape), men administreres med fordel til et menneske. I tillegg kan tidspunktet på dagen og antall ganger per dag som den farmasøytiske formuleringen administreres på variere.
- 30 **[0051]** Andre egnede metoder for administrering av forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen er beskrevet i US patentskrift 5,604,231 til Smith et al.
- 35 **[0052]** Som beskrevet her kan forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre terapeutiske forbindelser. For eksempel kan en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen brukes i kombinasjon med andre NNR-ligander (slik som vareniclin), antioksidanter (slik som midler for fjerning av frie radikaler), antibakterielle midler (slik som penicillinbaserte antibiotika), antivirale midler (slik som nucleosid-analoger, slik som zidovudin og asyklovir), antikoagulanter (slik som warfarin), anti-inflammatoriske midler (slik som NSAIDs), anti-pyretika, smertestillende, anestetika (slik som brukt i kirurgi), acetylcholinesterase-
- 40 inhibitorer (slik som donepezil og galantamin), antipsykotiska (slik som haloperidol, clozapin, olanzapin og quetiapin), immuno-suppressantika (slik som syklosporin og methotrexat), nevroprotektive midler, steroider (slik som steroidhormoner), corticosteroider (slik som dexamethason, predisone, og hydrocortison), vitaminer, mineraler, nutraceutika, anti-depressiva (slik som imipramin, fluoxetin, paroxetin, escitalopram, sertralin, venlafaxin og duloxetin), anxiolytika (slik som alprazolam og buspiron), anticonvulsantika (slik som phenytoin og gabapentin), vasodilaterende midler (slik som prazosin og sildenafil), humørstabilisatorer (slik
- 45 som valproat og aripiprazol), medikamenter mot kreft (slik som anti-proliferativa), antihypertensive midler (slik som atenolol, clonidin, amlopidin, verapamil og olmesartan),

laxativa, avføringsmidler, diuretika (slik som furosemid), anti-spasmotika (slik som disyklomin), antidyskinetiske midler, og anti-ulcus- medikamenter (slik som esomeprazol).

**[0053]** Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan anvendes alene eller i kombinasjon med andre terapeutiske midler. En slik kombinasjon av farmasøytisk aktive midler kan administreres sammen eller separat, og når administrert separat kan administrering skje samtidig eller sekvensielt, i enhver rekkefølge. Mengden forbindelse(r) og de relative tidspunkt for administrering vil velges for å oppnå den ønskede terapeutiske effekt. Administreringen i kombinasjon kan være ved administrering samtidig i: (1) en enhetlig farmasøytisk blanding som inkluderer flere forbindelser; eller (2) separate farmasøytiske blandinger som hver inkluderer en av forbindelsene. Alternativt kan kombinasjonen administreres separat på en sekvensiell måte der ett behandlingsmiddel administreres først og den andre eller omvendt. Slik sekvensiell administrering kan være nær i tid eller fjern i tid. Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan brukes i behandlingen av en rekke forstyrrelser og tilstander og som sådan kan forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen brukes i kombinasjon med en rekke andre egnede terapeutiske midler som er nyttig i behandling av eller profylakse av disse forstyrrelsene eller tilstandene.

**[0054]** Den egnede dosen av forbindelsen er den mengden som er effektiv til å hindre opptreden av symptomene for forstyrrelsen eller til å behandle noen symptomer på forstyrrelsen som pasienten lider av. Som betegnet her med "effektiv mengde", "terapeutisk mengde" eller "effektiv dose" menes den mengden som er tilstrekkelig til å framkalle de ønskede farmakologiske eller terapeutiske effektene, for på denne måten å resultere i effektiv lindring eller behandling av forstyrrelsen.

**[0055]** Ved behandling av en CNS-forstyrrelse, er en effektiv mengde av en forbindelse en mengde som er tilstrekkelig til å passere gjennom hjernens blodbarriere hos individet for å binde til relevante reseptorposisjoner i hjernen hos individet og modulere aktiviteten av de relevante NNR-undertypene (for eksempel framskaffe neurotransmitter-sekresjon, for på denne måten å resultere i effektiv avverging eller behandling av forstyrrelsen). Et eksempel på avverging av en forstyrrelse er fastslått ved å forsinke igangsetting av symptomene på forstyrrelsen. Et eksempel på behandling av en forstyrrelse er fastslått av en reduksjon i symptomene forbundet med forstyrrelsen eller lindring av ny opptreden av symptomene på forstyrrelsen. Den effektive mengden er fortrinnsvis tilstrekkelig til å oppnå det ønskede resultatet, men utilstrekkelig til å forårsake merkbare bivirkninger.

**[0056]** Den effektive dose kan variere avhengig av faktorer slik som pasientens tilstand, alvorlighetsgraden av symptomene på forstyrrelsen, og måten som den farmasøytiske blandingen administreres på. For menneskelige pasienter krever den effektive dosen av typiske forbindelser generelt administrering av forbindelsen i en mengde som er tilstrekkelig til å modulere aktiviteten av relevante NNR, men mengden bør være utilstrekkelig til å indusere effektene på skjellettuskler og ganglia i noen vesentlig grad. Den effektive dose av forbindelser vil naturligvis avvike fra pasient til pasient, men inkluderer generelt mengder som starter der CNS-effekter eller andre ønskede terapeutiske effekter opptrer men under mengden der det observeres muskulære effekter.

**[0057]** Forbindelsene beskrevet her, kan når de brukes i effektive mengder i henhold til framgangsmåtene beskrevet her, gi en viss grad av forhindring av forløpet for, lindre symptomer på eller til en viss grad fremme gjenopptreden av CNS eller andre forstyrrelser. De effektive mengdene av disse forbindelsene er typisk under grensekonsentrasjonen som kreves for å framkalle eventuelle merkbare bivirkninger, for eksempel de effektene som er relatert til skjellettuskler eller ganglia. Forbindelsens kan administreres i et terapeutisk vindu der visse CNS og andre forstyrrelser blir behandlet og visse bivirkninger blir unngått. Ideelt sett er den

effektive dosen av forbindelsene beskrevet her tilstrekkelig til å gi de ønskede effektene ved forstyrrelsen men er utilstrekkelig (det vil si er ikke ved et tilstrekkelig høyt nivå) til å gi uønskede bivirkninger. Forbindelsene administreres fortrinnsvis ved en dose som er tilstrekkelig til å behandle CNS eller andre forstyrrelser men mindre enn, ofte mindre enn 1/5 og ofte mindre enn 1/10 av mengden som kreves til å framkalle visse bivirkninger i noen vesentlig grad.

**[0058]** Aller helst er effektive doser ved svært lave konsentrasjoner, der maksimale effekter observeres til å opptre med et minimum av bivirkninger. Typisk krever den effektive dosen av en slik forbindelse generelt administrering av forbindelsen i en mengde på mindre enn 5 mg/kg pasientvekt. Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen administreres ofte i en mengde fra mindre enn omlag 1 mg/kg pasientvekt og vanligvis mindre enn omlag 100 µg/kg pasientvekt, men ofte mindre enn omlag 10 µg til mindre enn 100 µg/kg pasientvekt. De forannevnte effektive dosene representerer typisk den mengden som administreres som en enkeltdose, eller som en eller flere doser som administreres over en 24 timer lang periode.

**[0059]** For human pasienter, krever generelt den effektive dose av typiske forbindelser administrering av forbindelsen i en mengde på minst 1, ofte minst omlag 10, og ofte minst omlag 100 mg/ 24 time/ pasient. For menneskelige pasienter, krever typisk den effektive dose av forbindelser administrering av forbindelsen som generelt ikke overstiger omlag 500, ofte ikke mer enn 400, og ofte ikke mer enn omlag 300 mg/ 24 time/ pasient. I tillegg administreres med fordel forbindelsene ved en effektiv dose slik at konsentrasjonen av forbindelsen i pasientens plasma normalt ikke overstiger 50 ng/mL, ofte ikke over 30 ng/mL, og ofte ikke over 10 ng/mL. I en utførelsesform ifølge den foreliggende oppfinnelsen, ligger en effektiv dose mellom omlag 1 mg og 10 mg in en 24 timer lang periode.

#### **IV. Framgangsmåte for bruk av forbindelsene**

**[0060]** Betegnelsen "agonist" brukt her er en substans som stimulerer dens bindingspartner, typisk en reseptor. Stimulering defineres i kontekst av den spesifikke undersøkelsen, eller kan være tilgjengelig i litteraturen fra en diskusjon her som foretar en sammenlikning med en faktor eller substans som er akseptert som en "agonist" eller en "antagonist" av den spesifikke bindingspartneren under hovedsakelig tilsvarende omstendigheter som verdsatt av fagpersonene. Stimulering kan defineres med hensyn til en økning i en spesifikk effekt eller funksjon som induseres ved interaksjon mellom agonisten eller partielle agonisten og en bindingspartner og kan inkludere allosteriske effekter.

**[0061]** Betegnelsen "antagonist" som brukes her er en substans som inhiberer sin bindingspartner, typisk en reseptor. Inhibering er definert i kontekst av den spesifikke undersøkelsen eller kan være tilgjengelig fra litteraturen fra en diskusjon her som foretar en sammenlikning med en faktor eller substans som er akseptert som en "agonist" eller en "antagonist" for den spesifikke bindingspartner under hovedsakelig tilsvarende omstendigheter som verdsatt av fagpersonene. Inhibering kan være definert med hensyn til en reduksjon av en spesifikk effekt eller funksjon som er indusert ved interaksjon mellom antagonist og en bindingspartner og kan inkludere allosteriske effekter.

**[0062]** Betegnelsen "partiell agonist" eller "partiell antagonist" som brukes her, er en substans som gir en grad av henholdsvis stimulering eller inhibering av sin bindingspartner som ikke er fullstendig eller henholdsvis komplett agonistisk eller antagonistisk. Det vil framgå at stimulering og dermed inhibering er definert reelt for enhver substans eller kategori av substanser som skal defineres som agonister, antagonister eller partielle agonister.

**[0063]** Betegnelsen "iboende aktivitet" eller "virkeevne" som brukes her, er relatert til et eller annet mål for biologisk virkeevne for det bindende partnerkomplekset. Med hensyn til

reseptorfarmakologi, bør konteksten der den iboende aktivitet eller virkeevne være definert være avhengig av konteksten av bindingspartneren (for eksempel reseptor/ligand)-kompleks og betraktningen av en aktivitet som er relevant overfor et spesifikt biologisk utbytte. For eksempel kan under noen omstendigheter virkeevne variere avhengig av det spesifikke andre budbringersystemet som er involvert. Se Hoyer, D. og Boddeke, H., Trends Pharmacol. Sci. 14(7): 270-5 (1993), tatt inn her som referanse med hensyn til slik fagkunnskap. Der slike kontekstuelle spesifikke evalueringer er relevante og hvordan de kan være relevante i kontekst av den foreliggende oppfinnelsen vil framgå for fagpersonen.

5  
10 **[0064]** Betegnelsen modulering av en reseptor som brukes her, inkluderer en agonisme, partiell agonisme, antagonisme, partiell antagonisme eller invers agonisme av en reseptor.

**[0065]** Betegnelsen nevrotransmittere som brukes her, hvis frigjøring reguleres av forbindelsene beskrevet her, inkluderer men er ikke begrenset til acetylcholin, dopamin, norepinefrin, serotonin og glutamat, og forbindelsene beskrevet her fungerer som modulatorer ved undertypen  $\alpha 7$  av CNS NNR.

15 **[0066]** Betegnelsene "forhindring" eller "profylakse" som er brukt her, inkluderer enhver grad av reduksjon av forløpet eller forsinking av forløpet av sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden. Betegnelsen inkluderer framskaffelse av beskyttende effekter mot en spesifikk sykdom, forstyrrelse eller tilstand samt forbedre tilbakefall av sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden. I et annet aspekt framskaffer oppfinnelsen en framgangsmåte for behandling av et individ med en  
20 tilstand av eller risiko for å utvikle eller erfare tilbakefall av en NNR- eller nAChR-mediert forstyrrelse. Forbindelsene og de farmasøytiske blandinger ifølge oppfinnelsen kan brukes til å oppnå en fordelaktig terapeutisk eller profylaktisk effekt, for eksempel i et individ med en CNS-hemming.

**[0067]** Som angitt foran, modulerer den frie basen og saltforbindelser beskrevet her undertypen  $\alpha 7$  NNR, karakteristisk for CNS, og kan brukes til å hindre eller behandle ulike tilstander eller  
25 forstyrrelser, inkludert de for CNS, i individer som har eller er utsatt for slike tilstander eller forstyrrelser, ved modulering av  $\alpha 7$  NNR. Forbindelsene har evnen til å oppvise selektiv binding til  $\alpha 7$  NNR og uttrykke nikotinisk farmakologi, for eksempel for å virke som agonister, partielle agonister, antagonister, som beskrevet. For eksempel som beskrevet her, når administrert i effektive mengder til pasienter med behov for samme, gi en viss grad av forhindring av forløpet  
30 av CNS-forstyrrelsen, nemlig gi beskyttende effekter, lindring av symptomene på CNS-forstyrrelsen eller forbedre tilbakefall av CNS-forstyrrelsen eller en kombinasjon av disse.

**[0068]** Forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan brukes til å behandle eller forhindre de typene tilstander og forstyrrelser som andre typer nikotinbaserte forbindelser har blitt foreslått  
35 eller har vist seg å være egnet som terapeutika, Se for eksempel referansene angitt foran samt Williams et al., Drug News Perspec. 7(4): 205 (1994), Americ et al., CNS Drug Rev. 1(1): 1-26 (1995), Americ et al., Exp. Opin. Invest. Drugs 5(1): 79-100 (1996), Bencherif et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 279: 1413 (1996), Lippiello et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 279: 1422 (1996), Damaj et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 291: 390 (1999); Chiari et al., Anesthesiology 91: 1447 (1999), Lavand'homme og Eisenbach, Anesthesiology 91: 1455 (1999), Holladay et al., J. Med. Chem. 40(28): 4169-94 (1997), Bannon et al., Science 279: 77 (1998), PCT WO 94/08992, PCT WO 96/31475, PCT WO 96/40682, og US patentskrift 5,583,140 til Bencherif et al., 5,597,919 til Dull et al., 5,604,231 til Smith et al. og 5,852,041 til Cosford et al.

**[0069]** Forbindelsene og deres farmasøytiske blandinger er egnet i behandlingen eller hindring av  
45 et utvalg av CNS-lidelser, inkludert nevrodegenerative lidelser, nevropsykiatriske lidelser, nevrologiske lidelser, og avhengigheter. Forbindelsene og deres farmasøytiske blandinger kan brukes til å behandle eller hindre kognitive mangler og dysfunksjoner, aldersrelatert og ellers;

oppmerksomhetslidelser og demens, inkludert de som er forårsaket av infeksjonsmidler eller metabolske forstyrrelser; for å framskaffe nevrobeskyttelse; til å behandle kramper og multiple cerebrale infarkt; til å behandle humørlidelser, krampe- og avhengighetsopppørsel; å gi smertelindring; å kontrollere inflammasjon, slik som mediert av cytokiner og nuclear faktor kappa B; til å behandle inflammatoriske lidelser; å gi smertelindring; til å behandle metabolske lidelser slik som diabetes eller metabolske syndrom; og til å behandle infeksjoner, som anti-infeksjonsmidler for behandling av bakterielle, fungale, og virale infeksjoner.

#### CNS-lidelser

**[0070]** Blant de lidelser, sykdommer og tilstander som forbindelsene og farmasøytiske blandinger ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan brukes til å behandle eller hindre er: aldersassosiert hukommelses-svekkelse (AAMI), mild kognitiv svekkelse (MCI), aldersrelatert kognitiv tilbakegang (ARCD), pre-senil demens, tidlig inntreden av Alzheimers sykdom, senil demens, demens av typen Alzheimer, Alzheimer's sykdom, kognitiv svekkelse uten demens (CIND), Lewy body demens, HIV-demens, AIDS demens complex, vaskulær demens, Downs syndrom, hodetrauma, traumatisk hjerneskode (TBI), demens pugilistica, Creutzfeld-Jacobs sykdom og prionsykdommer, slag, ischemi, svekket oppmerksomhets-lidelse, svekket oppmerksomhet fra hyperaktivitet, dysleksi, schizofreni, schizofrenisk lidelse, schizoaffektiv lidelse, kognitiv dysfunksjon i schizofreni, kognitive mangler i schizofreni slik som hukommelse, inkludert korttidshukommelse, eksekverende funksjon, oppmerksomhet, årvåkenhet, informationsprosessering og læring, demens (enten mild, moderat eller alvorlig) forbundet med schizofreni, demens (enten mild, moderat eller alvorlig) forbundet med schizofreni, Parkinsonism inkludert Parkinson's sykdom, postencephalitic parkinsonisme, parkinsonism-demens av Gaum, frontotemporal demens Parkinson's Type (FTDP), Pick's sykdom, Niemann-Pick's sykdom, Huntington's sykdom, Huntington's chorea, tardive dyskinesia, hyperkinesia, progressiv supranukleær lammelse, progressiv supranuclear paresis, syndrom med hvileløse ben, multippel sklerose, amyotrofisk lateral sklerose (ALS), motor nevron-sykdommer (MND), multippel system atropi (MSA), corticobasal degenerering, Guillain-Barré syndrom (GBS), kronisk inflammatorisk demyelinerende polynevropati (CIDP), epilepsi, autosomal dominant nocturnal frontal lobe-epilepsi, mani, angst, depresjon, premenstrual dysphoria, paniske lidelser, bulimi, anorexi, narkolepsi, søvnsyndrom, bipolare lidelser, generalisert angstlidelse, raseriutbrudd, opposisjonell trasslidelse, Tourette's syndrom, autisme, medikament- og alkoholavhengighet, tobakkavhengighet, fedme, cacheksi, psoriasis, lupus, akutt cholangitis, aphthous stomatitis, ulcer, astma, ulcerativ colitis, inflammatorisk tarmsykdom, Crohn's sykdom, postoperativ ileus, spastisk dystonia, diare, constipasjon, pouchitis, pankreatitt, viral pneumonitt, artritt, inkludert, reumatoid artritt og osteoartritt, endotoxaemi, sepsis, atherosklerose, idiopatisk pulmonar fibrose, akutt smerte, kronisk smerte, nevropati, urinar inkontinens, diabetes og neoplasias.

**[0071]** Kognitive svekkelser eller dysfunksjons kan være forbundet med psykiatriske lidelser eller tilstander, slik som schizofreni og andre psykotiske lidelser, inkludert men ikke begrenset til psykotiske lidelser, schizofrenisk lidelse, schizoaffektiv lidelse, stormannsgalskap, korte psykotiske lidelser, delte psykotiske lidelser og psykotiske lidelser grunnet en eller flere generelle medisinske tilstander, demens og andre kognitive lidelser, inkludert men ikke begrenset til mild kognitiv svekkelse, pre-senil demens, Alzheimer's sykdom, senil demens, demens av Alzheimer's type, aldersrelatert hukommelsessvekkelse, Lewy body demens, vaskulær demens, AIDS demens kompleks, dysleksi, Parkinsonisme inkludert Parkinson's sykdom, kognitiv svekkelse og demens av Parkinson's sykdom, kognitiv svekkelse av multippel sklerose, kognitiv svekkelse forårsaket av traumatisk hjerneskode, demens grunnet andre generelle medisinske tilstander, angstlidelser, inkludert men ikke begrenset til panisk lidelse uten agorafobi, panisk lidelse med agorafobi, agorafobi uten historie av panisk lidelse, spesifikk fobi, sosial fobi, tvangslidelse, post-traumatisk stresslidelse, akutt stresslidelse, generalisert angstlidelse og generalisert angstlidelse grunnet en



generell medisinsk tilstand, humørlidelser, inkludert men ikke begrenset til dyp depressiv lidelse, dysthymisk lidelse, bipolar depresjon, bipolar mani, bipolar I lidelse, depresjon forbundet med manisk, depressive eller blandede episoder, bipolar II lidelse, syklotymiak lidelse, og humørlidelser grunnet generelle medisinske tilstander, søvnlidelser, inkludert men ikke begrenset til

5 dyssomnilidelser, primær insomnia, primær hypersomnia, narkolepsi, parasomnia-lidelser, marerittlidelse, søvnterror-lidelse og søvngjengeri, mental tilbakegang, læringsvansker, motoriske lidelser, kommunikasjonslidelser, pervasive utviklingslidelser, svekkelser av oppmerksomhet og oppførsel med avbrudd, svekket oppmerksomhet, svekket oppmerksomhet fra hyperaktivitet, matings- og spiseforstyrrelser hos barn, barndom, eller voksne, ticlidelser, eliminasjonslidelser,

10 substans-relaterte lidelser, inkludert men ikke begrenset til substansavhengighet, substansmisbruk, substanceforgiftning, substansuttrekking, alkohol-relaterte lidelser, amfetamin eller amfetamin-liknende relaterte lidelser, koffein-relaterte lidelser, cannabis-relaterte lidelser, kokain-relaterte lidelser, hallucinogen-relaterte lidelser, inhalant-relaterte lidelser, nikotin-relaterte lidelser, opioid-relaterte lidelser, fencyclidin- eller fencyclidin-liknende-relaterte lidelser, og

15 sedative-, hypnotiske- eller anxiolytisk-relaterte lidelser, personlighetslidelser, inkludert men ikke begrenset til personlighetsforstyrrelser og impuls-regulerende lidelser.

**[0072]** Symptomene på schizofreni er generelt inndelt i tre kategorier: Positiv, Negativ, og Kognitiv. Positive symptomer kan også betegnes som "psykotiske" symptomer, og inkluderer stormannsgalskap og hallusinasjoner. "Positiv" viser til åpenbare symptomer. Negative symptomer

20 inkluderer emosjonell flathet eller mangel på uttrykk, manglende evne til å starte og følge aktiviteter, kortfattetet og mangel på innhold, og en mangel på gladhet eller interesse for aktiviteter. "Negativ" viser til en mangel på visse karakteristikk som ellers ville vært tilstede hos et friskt individ. Kognitive symptomer henført til tankeprosesser. Kognitive symptomer inkluderer kognitive mangler slik som hukommelse, inkludert korttidshukommelse, eksekverende funksjon,

25 oppmerksomhet, aktsomhet, informasjonsbearbeiding og læring, med henvisning til Sharma et al., Cognitive Function in Schizophrenia: Deficits, Functional Consequences, and Future Treatment, Psychiatr. Clin. N. Am. 26 (2003) 25-40. Schizofreni påvirker også humøret. Mens mange individer som er påvirket av schizofreni blir deprimeret, har også noen åpenbare humørsvingninger og selv bipolar-liknende tilstander.

30 **[0073]** De ovennevnte tilstandene og lidelsene er diskutert i nærmere detalj, for eksempel i American Psychiatric Association: Diagnostic og Statistical Manual of Mental lidelser, Fourth Edition, Text Revision, Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000. Denne manualen kan også henvises til mere detaljer angående symptomene og diagnostiske trekk forbundet med bruk, misbruk og avhengighet av substanser.

35 **[0074]** Fortrinnsvis opptrer behandlingen eller hindring av sykdommer, lidelser og tilstander uten merkbare negative bivirkninger, inkludert for eksempel signifikante økninger i blodtrykk og hjerterate, signifikante negative effekter på fordøyelseskanalen og signifikante effekter på skjelettmuskulaturen.

40 **[0075]** Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, når brukt i effektive mengder, er antatt å modulere aktiviteten av  $\alpha 7$  NNR uten merkbart interaksjon med nikotinsubtypene som karakteriserer den humane ganglia, som demonstrert ved en mangel på evnen til framkalling av nikotinfunksjon i adrenalt chromaffint vev, eller skjelettmuskulatur, ytterligere demonstrert ved en mangel på evnen til framkalling av nikotinfunksjon i cellepreparat som uttrykker muskel-type nikotinreseptorer. Disse forbindelsene er følgelig antatt å være i stand til å gi behandling eller

45 hindring av sykdommer, lidelser og tilstander uten å framkalle signifikante bivirkninger forbundet med aktivitet ved ganglion og nevro-muskulære steder. Administrering av forbindelsene er følgelig antatt å gi et terapeutisk vindu der behandling av visse sykdommer, lidelser og tilstander er framskaffet, og visse bivirkninger blir unngått. Det vil si at en effektiv dose av forbindelsen er antatt å være tilstrekkelig til å gi de ønskede effekter på den aktuelle sykdom, lidelse, eller tilstand,

men er antatt å være utilstrekkelig, det vil si ved et utilstrekkelig høyt nivå, til å gi uønskede bivirkninger.

5 **[0076]** Den foreliggende oppfinnelsen framskaffer følgelig bruk av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme, for bruk i terapi, slik som en terapi beskrevet foran.

**[0077]** I nok et aspekt framskaffer den foreliggende oppfinnelsen bruken av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme, i fremstilling av et medikament for bruk i behandlingen av en CNS-lidelse, slik som en lidelse, sykdom eller tilstand beskrevet foran.

## 10 Inflammasjon

15 **[0078]** Nervesystemet, primært gjennom vagus nervus, er kjent for å regulere størrelsen på den naturlige immunrespons ved å inhibere frigjøringen av makrofag tumor nekrosefaktor (TNF). Denne fysiologiske reaksjonen er kjent som "cholinergisk anti-inflammatorisk rute" (se for eksempel, Tracey, "The inflammatorisk reflex," Nature 420: 853-9 (2002)). Omfattende inflammasjon og tumor nekrosefaktor-syntese forårsaker morbiditet og selv mortalitet i en rekke sykdommer. Disse sykdommene inkluderer, men er ikke begrenset til, endotoxemi, reumatoid artritt, osteoartritt, psoriasis, astma, atherosklerose, idiopathic pulmonary fibrosis, og inflammatorisk tarmsykdom.

20 **[0079]** Inflammatoriske tilstander som kan behandles eller hindres ved administrering av forbindelsene beskrevet her inkluderer, men er ikke begrenset til, kronisk og akutt inflammasjon, psoriasis, endotoxemia, gout, akutt pseudogout, akutt gouty artritt, artritt, reumatoid artritt, osteoartritt, polymyositis, dermatomyositis, ankylosing spondylitis, Still's sykdom, Still's sykdom i voksenalder, transplantatavvisning, kronisk transplantatavvisning, astma, atherosklerose, mononuclearfagocytavhengig lungeskade, idiopathisk pulmonar fibrose, atopisk dermatitis, kronisk  
25 obstructive pulmonar sykdom, adult respiratorisk lidelsessyndrom, akutt bryssyndrom i sickle celledesykdom, inflammatorisk tarmsykdom, Crohn's sykdom, ulcerativ colitis, akutt cholangitis, aphteous stomatitis, pouchitis, glomerulonephritis, lupus nephritis, thrombose, og transplantat-  
vs. vert-reaksjon

### inflammatorisk respons forbundet med bakteriell og/eller viral infeksjon

30 **[0080]** Mange bakterielle og/eller virale infeksjoner (for eksempel meningitt, hepatitt og nephritt) er forbundet med bivirkninger fra dannelse av toksiner, og kroppens naturlige respons mot bakterier eller virus og/eller toksiner. Som diskutert foran, involverer kroppens respons mot infeksjon ofte dannelse av en signifikant mengde TNF og/eller andre cytokiner. Denne over-  
35 uttrykking av disse cytokinene kan resultere i betydelig skade, slik som septisk sjokk (når bakteriene er sepsis), endotoksisk sjokk, urosepsis, og toksisk sjokksyndrom.

**[0081]** Cytokin-ekspresjon er mediert av NNR og kan inhiberes ved administrering av agonister eller partielle agonister av disse reseptorer. Forbindelsene beskrevet her som er agonister eller partielle agonister av disse reseptorer kan derfor brukes til å minimere den inflammatoriske respons forbundet med bakteriell infeksjon, samt virale og fungale infeksjoner. Eksempler på slike  
40 bakterielle infeksjoner inkluderer antrax, botulisme, og sepsis. Noen av disse forbindelsene kan også ha antimikrobielle egenskaper.

**[0082]** Disse forbindelsene kan også brukes som tilleggsterapi i kombinasjon med eksisterende terapier for å håndtere bakterielle, virale, og fungale infeksjoner, slik som antibiotika, antivirale midler, og antifungale midler. Antitoksiner kan også brukes til å binde til toksiner produsert av de  
45 infiserte midlene og tillate de bundede toksinene å passere gjennom kroppen uten at det dannes

noen inflammatorisk respons. Eksempler på antitoksiner er for eksempel beskrevet i US patentskrift 6,310,043 til Bundle et al. Andre midler som er effektive mot bakterier og andre toksiner kan være effektive og deres terapeutiske effekt kan kompletteres ved samadministrering med forbindelsene beskrevet her.

## 5 Smerte

**[0083]** Forbindelsene kan administreres til å behandle og/eller hindre smerte, inkludert akutt, nevrologisk, inflammatorisk, nevropatisk, og kronisk smerte. Den smertestillende aktivitet fra forbindelser beskrevet her kan demonstreres i modeller av persistent inflammatorisk smerte og av nevropatisk smerte, utført som beskrevet i US patentpublikasjon 20010056084 A1 (Allgeier et al.), der det er beskrevet hyperalgesi i den komplette Freund's adjuvansrottemodell for inflammatorisk smerte og mekanisk hyperalgesi i modellen med mus partiell hoftenerveombinding for nevropatisk smerte.

**[0084]** Den smertestillende effekt er egnet til behandling av smerte av ulik opprinnelse eller etiologi, særlig ved behandling av inflammatorisk smerte og tilhørende hyperalgesi, nevropatisk smerte, og tilhørende hyperalgesi, kronisk smerte (for eksempel alvorlig kronisk smerte, post-operativ smerte, og smerte forbundet med ulike tilstander inkludert kreft, angina, renal eller biliary colic, menstruasjon, migrene, og gout). Inflammatorisk smerte kan ha ulike opphav inkludert artritt og reumatoid sykdom, teno-synovitis og vasculitis. Nevropatisk smerte inkluderer trigeminal eller herpetic neuralgia, diabetes nevropatisk smerte, causalgia, smerte i korsryggen og deafferentasjonssyndromer slik som brakiaplexus avulsjon.

### Neovaskularisering

**[0085]** The  $\alpha$  NNR er forbundet med neovaskularisering. Inhibering av neovaskularisering, for eksempel, ved administrering av antagonist (eller ved visse doseringer, partielle agonister) av  $\alpha$  NNR kan behandle eller hindre tilstander karakterisert ved uønsket neovaskularisering eller angiogenese. Slike tilstander kan inkludere de som er karakterisert ved inflammatorisk angiogenese og/eller ischemia-indusert angiogenese. Neovaskularisering forbundet med tumorvekst kan også inhiberes ved administrering av forbindelsene beskrevet her som fungerer som antagonist eller partielle agonister for  $\alpha$  NNR.

**[0086]** Spesifikk antagonisme for  $\alpha 7$  NNR-spesifikk aktivitet reduserer den angiogene respons mot inflammasjon, iskemi og neoplas. Retningslinjer med hensyn til egnede dyremodellsystemer for evaluering av forbindelsene beskrevet her kan for eksempel finnes i Heesch, C. et al., "A novel angiogenic pathway mediated by non-neuronal nikotinacetylcholine reseptors," J. Clin. Invest. 110(4):527-36 (2002), med hensyn til beskrivelsen av  $\alpha 7$ -spesifikk inhibering av angiogenese og cellulær modellering (in vitro) og dyremodellering av angiogenisk aktivitet relevant for sykdom hos mennesker, særlig Lewis lungetumormodell (in vivo, i mus - se særlig side 529, og 532-533).

**[0087]** Representative tumortyper som kan behandles ved bruk av forbindelsene beskrevet her inkluderer NSCLC, ovarial kreft, kreft i bukspyttkjertelen, brystkreft, colonkarinom, rectum karinom, lungekarinom, oropharynx karinom, hypopharynx karinom, esophagus karinom, stomacrocach karinom, pancreas karinom, leverkarinom, galleblærekarinom, gallegangkarinom, tynntarnkarinom, urinveiskarinom, nyrekarinom, bærekarinom, urothelial karinom, kvinnelig genitalkanalkarinom, livmorhalskarinom, uteruskarinom, eggstokkarinom, choriokarinom, gestational trofoblastisk sykdom, genitalkanalkarinom hos menn, prostatakarinom, sædblærekarinom, testikkelkarinom, kimcelletumorer, endokin kjertelkarinom, thyroid karinom, adrenal karinom, hypofysekarinom, hudkarinom, hemangiomas, melanomas, sarcomas, ben- og bløtvevsarcoma, Kaposi's sarcoma, tumorer i hjernen, tumorer i nervene, tumorer i øynene, tumorer i meninges, astrocytomas, gliomas, glioblastomas, retinoblastomas,

nevromas, neuroblastomas, Schwannomas, meningiomas, faste tumorer som oppstår fra hematopoietis malignancies (slik som leukems, chloromas, plasmacytomas og the plaketter og tumorer fra mycosis fungoider og kutan T-cellelymphoma/leukemi) og fastetumorer som oppstår fra lymfomas.

- 5 **[0088]** Forbindelsene kan også administreres i forbindelse med andre former for anti-kreftbehandling, inkludert samadministrering med antineoplastiske antitumormidler, slik som cis-platin, adriamycin, daunomycin og tilsvarende og/eller anti-VEGF (vaskulær endothelial vekstfaktor) agents, som er kjent på fagområdet.

- 10 **[0089]** Forbindelsene kan administreres på en slik måte at de er målrettet mot tumorstedet. For eksempel kan forbindelsene administreres i mikrokuler, mikropartikler eller liposomer konjugert med ulike antistoffer som leder mikropartiklene til tumoren. I tillegg kan forbindelsene være tilstede i mikrokuler, mikropartikler eller liposomer som er dimensjonert til å passere gjennom arteriene og venene, men immobiliseres i kapillærer som omgir tumorer og administrere forbindelsene lokalt til tumoren. Slike måter å levere medikament på er kjent på fagområdet.

#### 15 Andre lidelser

- [0090]** I tillegg til å behandle CNS-lidelser, inflammasjon, neovaskularisering og smerte, kan også forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen brukes til å hindre eller behandle visse andre tilstander, sykdommer og lidelser der NNR spiller en rolle. Eksempler inkluderer autoimmunlidelser slik som Lupus, lidelser forbundet med cytokinfrigjøring, kakeksi etter infeksjon (for eksempel som opptrer i AIDS, AIDS-relaterte kompleks og neoplas), metabolske lidelser inkludert type I diabetes, type II diabetes, metabolsk syndrom, ekstrem overvekt eller hyperglycemi, pemfitis, urinar inkontinens, retinale sykdommer, infeksjonssykdommer, myastheni, Eaton-Lambert syndrom, hypertensjon, osteoporese, innsnevring av blodkarene, vasodilatasjon, hjerterytmeforstyrrelser, bulimi, anorexi samt de indikasjonene som er publisert i PCT patentsøknad WO 98/25619. Forbindelsene i denne oppfinnelsen kan også administreres til å behandle rystelser, slik som de som er symptomatiske for epilepsi og til å behandle tilstander slik som syfilis og Creutzfeld-Jakobs sykdom.

#### Diagnostiske anvendelser

- 30 **[0091]** Forbindelsene kan brukes i diagnostiske blandinger, slik som prober, særlig når de er modifisert til å inkludere egnede markører. Probene kan for eksempel brukes til å bestemme det relative antall og/eller funksjon for spesifikke reseptorer, særlig  $\alpha$ -reseptorsubtyper. Til dette formålet er forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen aller helst merket med en radioaktiv isotop, slik som  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{123}\text{I}$  eller  $^{125}\text{I}$ .

- 35 **[0092]** De administrerte forbindelsene kan detekteres ved bruk av kjente detekteringsmetoder som er egnet til markøren som er brukt. Eksempler på detekteringsmetoder inkluderer posisjonsavgivende topografi (PET) og single-fotonemisjons-beregnet tomografi (SPECT). Radiomarkørene beskrevet foran er nyttige i PET (for eksempel  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$  eller  $^{76}\text{Br}$ ) og SPECT (for eksempel  $^{123}\text{I}$ ) avbildning, med halveringstid på omlag 20,4 minutter for  $^{11}\text{C}$ , omlag 109 minutter for  $^{18}\text{F}$ , omlag 13 timer for  $^{123}\text{I}$ , og omlag 16 timer for  $^{76}\text{Br}$ . Det er ønskelig med en høy spesifikk aktivitet for å visualisere de valgte reseptor-undertypene ved ikke-mettende konsentrasjoner. De administrerte dosene er typisk under det toksiske området og gir bilder med høy kontrast. Forbindelsene forventes å være i stand til å administreres i ikke-toksiske mengder. Bestemmelse av disse utføres på en måte som er kjent for fagpersonen innenfor avbildning med radiomarkører. Se for eksempel US patentskrift 5,969,144 til London et al.

- 45 **[0093]** Forbindelsene kan administreres ved bruk av kjente teknikker. Se for eksempel som angitt US patentskrift 5,969,144 til London et al. Forbindelsene kan administreres i formulerte blandinger

som inkluderer andre bestanddeler, slik som de typer bestanddeler som er egnet til formulering av en diagnostisk blanding. Forbindelser som er egnet i henhold til utøvelse av den foreliggende oppfinnelsen blir aller helst anvendt i form av høy renhet. Se US patentskrift 5,853,696 til Elmalch et al.

5 **[0094]** Etter at forbindelsene er administrert til et individ (for eksempel et menneskelig individ), kan nærværet av denne forbindelsen i individet avbildes og kvantifiseres med egnede teknikker for å indikere nærvær, mengde og funksjonalitet av valgte NNR-undertyper. I tillegg til mennesker, kan forbindelsene også administreres til dyr, slik som mus, rotter, hunder og aper. SPECT- og PET-avbildning kan utføres ved bruk av enhver egnet teknikk og apparat. Se Villemagne et al. i: Americ  
10 et al. (Eds.) Neuronal nikotin reseptorer: Pharmacology og Therapeutic Opportunities, 235-250 (1998) og US patentskrift 5,853,696 til Elmalch et al.

**[0095]** De radiomerkede forbindelsene bindes med høy affinitet til selektive NNR-undertyper (for eksempel  $\alpha$  og oppviser fortrinnsvis neglisjerbar ikke-spesifikk binding til andre nikotiniske cholinergisreseptor-undertyper (for eksempel de reseptor-undertypene som er forbundet med muskel og ganglia). Forbindelsene kan som sådan brukes som midler for ikke-invasiv avbildning av  
15 nikotincholinergisreseptor-undertyper i kroppen hos et individ, særlig i hjernen for diagnose forbundet med et utvalg av CNS-sykdommer og -lidelser.

**[0096]** De diagnostiske blandingerne kan brukes i en framgangsmåte for diagnostisering av en sykdom i et individ, slik som en menneskelig pasient. Framgangsmåten involverer administrering til  
20 denne pasienten en detekterbart merket forbindelse som beskrevet her, og detektering av bindingen av denne forbindelse til valgte NNR-undertyper (for eksempel  $\alpha$  reseptorsubtype). De som har fagkunnskap innenfor bruk av diagnostiske verktøy, slik som PET og SPECT, kan bruke de radiomerkede forbindelsene beskrevet her til å diagnostisere et bredt utvalg av tilstander og lidelser, inkludert tilstander og lidelser forbundet med dysfunksjon av sentralnervesystemet og det  
25 autonome nervesystemet. Slike lidelser inkluderer et bredt spekter av CNS-sykdommer og -lidelser, inkludert Alzheimer's sykdom, Parkinson's sykdom og schizofreni. Disse og andre representative sykdommer og lidelser som kan evalueres inkluderer de som er beskrevet i US patentskrift 5,952,339 til Bencherif et al.

**[0097]** I et annet aspekt, kan de diagnostiske blandingerne brukes i en framgangsmåte for  
30 overvåking av selektive nikotin reseptor-undertyper i et individ, slik som en menneskelig pasient. Framgangsmåten involverer administrering av en detekterbart merket forbindelse as beskrevet her til den aktuelle pasient og detektering av bindingen av forbindelsen til de valgte nikotinreseptor-undertyper nemlig undertypen  $\alpha 7$ -reseptor.

#### Reseptorbinding

35 **[0098]** Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan brukes som referanseligander i bindingsanalyser for forbindelser som bindes til NNR-undertyper, særlig  $\alpha$ -reseptorsubtypen. Til dette formål blir forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen fortrinnsvis merket med en radioaktiv isotop, slik som  $^3\text{H}$ , eller  $^{14}\text{C}$ .

#### **V. Synteseeksempler**

40 **[0099]** De etterfølgende synteseeksemplene er framsatt for å illustrere den foreliggende oppfinnelsen og bør ikke anses som begrensende på dens omfang. I disse eksemplene er alle deler og prosentandeler angitt i form av vekt med mindre annet er angitt. Alle løsninger er vannbaserte med mindre annet er angitt.

**Eksempel 1: Småskalasyntese av (2S, 3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (Forbindelse A) og dens enantiomer, (2R, 3S)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid**

2-((3-Pyridinyl)metylen)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on

5 **[0100]** Kaliumhydroksid (56 g, 0,54 mol) ble oppløst i metanol (420 mL). 3-Quinuclidin på hydroklorid (75 g, 0,49 mol) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i 30 min ved omgivelsestemperatur. 3-Pyridinkarboksaldehyd (58 g, 0,54 mol) ble tilsatt og blandingen omrørt i 16 timer ved omgivelsestemperatur. Reaksjonsblandingen ble gul i løpet av dette tidsrommet, med kaker av faststoff på veggene av kolben. Faststoffet ble skrapet av fra veggene og bitene  
10 brukket opp. Med rask omrøring, ble det tilsatt vann (390 mL). Når faststoffet var løst opp, ble blandingen avkjølt ved 4 °C over natta. Krystallene ble samlet ved filtrering, vasket med vann, og lufttørket til å oppnå 80 g gult faststoff. A sats nummer to (8 g) ble oppnådd ved konsentrering av filtratet til -10 % av sitt opprinnelige volum og avkjøling ved 4 °C over natta. Begge satsene var tilstrekkelig rene for videre omdanning (88 g, 82 % utbytte).

15 2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on

**[0101]** 2-((3-Pyridinyl)metylen)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on (20 g, 93 mmol) ble suspendert i metanol (200 mL) og behandlet med 46 mL 6 M saltsyre. 10 % Palladium på karbon (1,6 g) ble tilsatt og blandingen ble ristet under 1,72 bar (25 psi) hydrogen i 16 timer. Blandingens ble filtrert gjennom kiselgur, og løsningsmidlet ble fjernet fra filtratet ved rotasjonsinndamping. Dette ga rå  
20 2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on hydroklorid, i form av en hvit gummi (20 g), som deretter ble behandlet med 2 M natriumhydroksid (50 mL) og kloroform (50 mL) og omrørt i en time. Kloroformsjiktet ble separert og den vannbaserte fasen ble behandlet med 2 M natriumhydroksid (-5 mL, nok til å øke pH til 10) og mettet vandig natriumklorid (25 mL). Denne vannbaserte blandingen ble ekstrahert med kloroform (3 x 10 mL), og de kombinerte  
25 kloroformekstraktene ble tørket (vannfritt magnesiumsulfat) og konsentrert ved roterende inndamping. Residuet (18 g) ble oppløst i varm eter (320 mL) og avkjølt til 4 °C. Det hvite faststoffet ble filtrert av, vasket med en liten del kald eter og lufttørket. Konsentrering av filtratet til omlag 10 % sitt opprinnelige volum og avkjøling ved 4 °C produserte en andre sats. Et kombinert utbytte 16 g (79 %) ble oppnådd.

30 3-Amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan

**[0102]** Til en omrørt løsning av 2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on (3,00 g, 13,9 mmol) i tørr metanol (20 mL), under nitrogen, ble det tilsatt en 1 M løsning av zinkklorid i eter (2,78 mL, 2,78 mmol). Etter omrøring ved omgivelsestemperatur i 30 min, ble denne blandingen behandlet med fast ammoniumformat (10,4 g, 167 mmol). Etter omrøring i ytterligere en time ved  
35 omgivelsestemperatur, ble fast natriumcyanoborhydrid (1,75 g, 27,8 mmol) tilsatt porsjonsvis. Reaksjonen ble deretter omrørt ved omgivelsestemperatur over natta og terminert ved tilsatt av vann (omlag 5 mL). Den bråkjølte reaksjonen ble partisjonert mellom 5 M natriumhydroksid (10 mL) og kloroform (20 mL). Det vannbaserte sjiktet ble ekstrahert med kloroform (20 mL), og det kombinerte organiske sjiktet ble tørket (natriumsulfat), filtrert og konsentrert. Dette ga 2,97 g gul  
40 gummi. GCMS- analyse indikerte at produktet var en 1:9 blanding av cis- og trans-aminer, sammen med spor av den korresponderende alkohol (98 % total massegevinnning).

(2R,3S) og (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan

**[0103]** Di-p-toluoyl-D-vinsyre (5,33 g, 13,8 mmol) ble tilsatt til en omrørt løsning av rå 3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan (6,00 g, 27,6 mmol av 1:9 cis/trans) i metanol (20  
45 mL). Etter fullstendig oppløsning, ble deretter den klare løsningen konsentrert til en fast masse ved rotasjonsinndamping. Faststoffet ble oppløst i en minimum mengde av kokende metanol

(omlag 5 mL). Løsningen ble avkjølt langsomt, først ved omgivelsestemperatur (1 time), deretter i omlag 4 timer ved 5 °C og til slutt ved omlag 5 °C over natta. Det utfelte saltet ble samlet ved innløpsfiltrering og rekrystallisert fra 5 mL metanol. Lufttørking ga 1,4 g hvitt faststoff, som ble partisjonert mellom kloroform (5 mL) og 2 M natriumhydroksid (5 mL). Kloroformsjiktet og et 5 mL kloroformekstrakt av det vannbaserte sjiktet ble kombinert, tørket (vannfritt natriumsulfat) og konsentrert til å gi en fargeløs olje (0,434 g). Den enantiomeriske renhet av denne frie basen ble bestemt ved omdanning av en del til sitt N-(tert-butoksykarbonyl)-L-prolinamid, som deretter ble analysert for diastereomerisk renhet (98 %) ved bruk av LCMS.

**[0104]** Modervæsken fra den initiale krystallisering ble gjort basisk (omlag pH 11) med 2 M natriumhydroksid og ekstrahert to ganger med kloroform (10 mL). Kloroformekstraktene ble tørket (vannfritt natriumsulfat) og konsentrert til å gi en olje. Dette aminet (3,00 g, 13,8 mmol) ble oppløst i metanol (10 mL) og behandlet med di-p-toluoyl-L-vinsyre (2,76 g, 6,90 mmol). Blandingen ble varmet for å lette oppløsningen og deretter avkjølt langsomt til omlag 5 °C der den forble over natta. Bunnfallet ble samlet ved innløpsfiltrering, rekrystallisert fra metanol og tørket. Dette ga 1,05 g hvitt faststoff. Saltet ble omdannet til den frie base (utbytte = 0,364 g), og den enantiomeriske renhet (97 %) ble evaluert ved bruk av prolinamidmetoden, som beskrevet foran for den andre enantiomeren.

Transenantiomer A av N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid

**[0105]** Difenylklorfosfat (0,35 mL, 0,46 g, 1,7 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av benzofuran-2-karboksylysyre (0,28 g, 1,7 mmol) og trietylamin (0,24 mL, 0,17 g, 1,7 mmol) i tørr diklormetan (5 mL). Etter omrøring ved omgivelsestemperatur i 30 min, ble det tilsatt en løsning av (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2] oktan (0,337 g, 1,55 mmol) (som var avledet fra di-p-toluoyl-D-vinsyresaltet) og trietylamin (0,24 mL, 0,17 g, 1,7 mmol) i tørr diklormetan (5 mL). Reaksjonsblandingen ble omrørt over natta ved omgivelsestemperatur, og deretter behandlet med 10 % natriumhydroksid (1 mL). Tofaseblandingen ble separert og det organiske sjiktet ble konsentrert på en Genevac sentrifugalinddamper. Residuet ble oppløst i metanol (6 mL) og rensset ved HPLC på en C18 silikagel-kolonne ved bruk av en acetonitril/vann-gradient, med innhold av 0,05 % trifluoretansyre som eluent. Konsentrering av valgte fraksjoner, partisjonering av det resulterende residuet mellom kloroform og mettet vandig natriumbikarbonat, og inndamping av kloroform ga 0,310 g (42 % utbytte) hvitt pulver (95 % renhet ved GCMS). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,51 (d, 1H), 8,34 (dd, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,58 (dt, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,13 (dd, 1H), 6,63 (d, 1H), 3,95 (t, 1H), 3,08 (m, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,78 (m, 2H), 2,03 (m, 1H), 1,72 (m, 3H), 1,52 (m, 1H).

**[0106]** Dette materialet (transenantiomer A) ble senere bestemt til å være identisk, ved kiralkromatografisk analyse, med materiale hvis absolutte konfigurasjon er 2S,3R (etablert ved røntgenkrytallografisk analyse).

Transenantiomer B av N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid

**[0107]** Difenylklorfosfat (96 mL, 124 mg, 0,46 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av benzofuran-2-karboksylysyre (75 mg, 0,46 mmol) og trietylamin (64 mL, 46 mg, 0,46 mmol) i tørr diklormetan (1 mL). Etter omrøring ved omgivelsestemperatur i 45 min, ble en løsning av (2R,3S)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2] oktan (0,10 g, 0,46 mmol) (som var avledet fra di-p-toluoyl-L-vinsyresaltet) og trietylamin (64 mL, 46 mg, 0,46 mmol) i tørr diklormetan (1 mL) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt over natta ved omgivelsestemperatur, og deretter behandlet med 10 % natriumhydroksid (1 mL). Tofaseblandingen ble separert og det organiske sjiktet og et kloroformekstrakt (2 mL) av det vannbaserte sjiktet ble konsentrert ved

rotasjonsinndamping. Residuet ble oppløst i metanol og rensset ved HPLC på en C18 silikagel-kolonne, ved bruk av en acetonitril/vann-gradient, med innhold av 0,05 % trifluoretansyre som eluent. Konsentrering av valgte fraksjoner, partisjonering av det resulterende residuet mellom kloroform og mettet vandig natriumbikarbonat, og inndamping av kloroform ga 82,5 mg (50 % utbytte) av et hvitt pulver. NMR- spekteret var identisk med som ble oppnådd for 2S,3R-isomer. Siden den umiddelbare forløper for dette materialet (transenantiomer B) er enantiomeren for den umiddelbare forløper for 2S,3R -forbindelsen (transenantiomer A), er den absolutte konfigurasjonen for transenantiomer B antatt å være 2R,3S.

**Referanseeksempel 2: Storskalasyntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid og (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)-1-benzofuran-2-karboksamid p-toluensulfonatsalt**

2-((3-Pyridinyl)metylen)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on

**[0108]** 3-Quinuclidin på hydroklorid (8,25 kg, 51,0 mol) og metanol (49,5 L) ble tilsatt til en 100 L glassreaksjonskolbe under en nitrogenatmosfære forsynt med en mekanisk rører, temperatursonde og kondensator. Kaliumhydroksid (5,55 kg, 99,0 mol) ble tilsatt via en pulvertrakt i løpet av omlag 30 min, som resulterte i en økning i reaksjonstemperatur fra 50 °C til 56 °C. I løpet av omlag 2 timer, ble 3-pyridinkarboksaldehyd (4,80 kg, 44,9 mol) tilsatt til reaksjonsblandingen. Den resulterende blandingen ble omrørt ved 20 °C ± 5 °C i minimum 12 timer, mens reaksjonen ble overvåket ved tynnsjiktskromatografi (TLC). Ved fullføring av reaksjonen, ble reaksjonsblandingen filtrert gjennom en sintret glasstrakt og filterkaka ble vasket med metanol (74,2 L). Filtratet ble konsentrert, overført til en reaksjonskolbe, og vann (66,0 L) ble tilsatt. Suspensjonen ble omrørt i minimum 30 min, filtrert, og filterkaka ble vasket med vann (90,0 L) inntil pH av spylevannet var 7-9. Faststoffet ble tørket under vakuu ved 50 °C ± 5 °C i minimum 12 timer til å gi 8,58 kg (89,3 %) 2-((3-pyridinyl)metylen)-1-azabisyklo [2.2.2]oktan-3-on.

(2S)-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3- on di-p-toluoyl-D-tartratsalt

**[0109]** 2-((3-Pyridinyl)metylen)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on (5,40 kg, 25,2 mol) og metanol (40,5 L) ble tilsatt til en 72 L reaksjonsbeholder under en inert atmosfære forsynt med en mekanisk rører, temperatursonde, lavtrykks gassregulatorsystem, og trykkmåler. Innløpet ble fylt med nitrogen og blandingen ble omrørt til å oppnå en klar gul løsning. Til kolben ble det tilsatt 10 % palladium på karbon (50 % våt) (270 g). Atmosfæren i reaktoren ble evakuert ved bruk av vakuumpumpe, og innløpet ble erstattet med hydrogen til et vanntrykk på 25,4 til 50,8 cm (10 til 20 tommer). Evakuering og trykksetting med hydrogen ble gjentatt 2 ganger til, og etterlot reaktoren under 50,8 cm vannsøyletrykk (20 tommer) med hydrogengass etter den tredje trykksettingen. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 20 °C ± 5 °C i minimum 12 timer, og reaksjonen ble overvåket via TLC. Ved fullføring av reaksjonen, ble suspensjon filtrert gjennom en seng med Celite®545 (1,9 kg) på en sintret glasstrakt, og filterkaka ble vasket med metanol (10,1 L). Filtratet ble konsentrert til å oppnå et halvfast stoff som ble overført under en nitrogenatmosfære, til en 200 L reaksjonskolbe forsynt med en mekanisk rører, kondensator og temperatursonde. Det halvfast stoffet ble oppløst i etanol (57,2 L), og di-p-toluoyl-D-vinsyre (DTTA) (9,74 kg, 25,2 mol) ble tilsatt. Den omrørte reaksjonsblandingen ble varmet under reflux i minimum 1 time, og i ytterligere minimum 12 timer mens reaksjonen ble avkjølt til mellom 15 °C og 30 °C. Suspensjonen ble filtrert ved bruk av et bordfilter, og filterkaka ble vasket med etanol (11,4 L). Produktet ble tørket under vakuu ved omgivelsestemperatur til å oppnå 11,6 kg (76,2 % utbytte, 59,5 % faktorert for renhet) av (2S)-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on di-p-toluoyl-D-tartrat-salt.

(2S,3R)-3-Amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan di-p-toluoyl-D-tartratsalt



**[0110]** Vann (46,25 L) og natriumbikarbonat (4,35 kg, 51,8 mol) ble tilsatt til en 200 L kolbe. Ved fullstendig oppløsning, ble det tilsatt diklormetan (69,4 L). (2S)-2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on dip-toluoyl-D-tartratsalt (11,56 kg, 19,19 mol) ble tilsatt, og reaksjonsblandingen ble omrørt i mellom 2 min og 10 min. Sjiktene fikk separere i minimum 2 min (ekstra vann (20 L) ble tilsatt etter behov for å skille sjiktene). Den organiske fasen ble fjernet og tørket over vannfritt natriumsulfat. Diklormetan (34,7 L) ble tilsatt til den resterende vandige fasen, og suspensjonen ble omrørt i mellom 2 min og 10 min. Sjiktene fikk separate i mellom 2 min og 10 min. Igjen ble den organiske fasen ble fjernet og tørket over vannfritt natriumsulfat. Ekstraksjonen av den vannbaserte fasen med diklormetan (34,7 L) ble gjentatt enda en gang som angitt foran. Prøver av hver ekstraksjon ble overført til kiral HPLC-analyse. Natriumsulfatet ble fjernet ved filtrering, og filtratene ble konsentrert til å oppnå (2S)-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on (4,0 kg) i form av et faststoff.

**[0111]** (2S)-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on (3,8 kg) ble overført til en ren 100 L reaksjonskolbe av glass, under a nitrogenatmosfære, forsynt med a mekanisk rører og temperatursonde. vannfritt tetrahydrofuran (7,24 L) og (+)-(R)- $\alpha$ -etylbenzylamin (2,55 L, 20,1 mol) ble tilsatt. Titani(IV)isopropoksid (6,47 L, 21,8 mol) ble tilsatt til den omrørte reaksjonsblandingen i løpet av en periode på 1 time. Reaksjonen ble omrørt under a nitrogenatmosfære i minimum 12 timer. Etanol (36,17 L) ble tilsatt til reaksjonsblandingen. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til under -5 °C, og natriumborhydrid (1,53 kg, 40,5 mol) ble tilsatt porsjonsvis, mens reaksjonstemperaturen ble holdt under 15 °C (denne tilsatsen tok flere timer). Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt ved 15 °C  $\pm$  10 °C i minimum 1 time. Reaksjonen ble overvåket med HPLC, og ved fullføring av reaksjonen (som indikert ved mindre enn 0,5 % av (2S)-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-on igjen), 2 M natriumhydroksid (15,99 L) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i minimum 10 min. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom en seng med Celite®545 i en bordtrakt. Filterkaka ble vasket med etanol (15,23 L), og filtratet ble konsentrert til å oppnå en olje.

**[0112]** Konsentratet ble overført til en ren 100 L reaksjonskolbe av glass forsynt med en mekanisk rører og temperatursonde under en inert atmosfære. Vann (1 L) ble tilsatt og blandingen ble avkjølt til 0 °C  $\pm$  5 °C. 2 M Saltsyre (24 L) ble tilsatt til blandingen for å justere pH i blandingen til pH 1. Blandingens ble deretter omrørt i minimum 10 min, og 2 M natriumhydroksid (24 L) ble langsomt tilsatt for å justere pH i blandingen til pH 14. Blandingens ble omrørt i minimum 10 min, og den vannbaserte fasen ble ekstrahert med diklormetan (3 x 15,23 L). De organiske fasene ble tørket over vannfritt natriumsulfat (2,0 kg), filtrert, og konsentrert til å gi (2S, 3R)-N-((1R)-fenyletyl)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan (4,80 kg, 84,7 % utbytte).

**[0113]** The (2S,3R)-N-((1R)-fenyletyl)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan ble overført til en 22 L glasskolbe forsynt med en mekanisk rører og temperatursonde under en inert atmosfære. Vann (4,8 L) ble tilsatt, og den omrørte blandingen ble avkjølt til 5 °C  $\pm$  5 °C. Konsentrert saltsyre (2,97 L) ble langsomt tilsatt til reaksjonskolben, mens temperaturen i blandingen ble holdt under 25 °C. Den resulterende løsningen ble overført til en 72 L reaksjonskolbe som inneholdt etanol (18 L), forsynt med en mekanisk rører, temperatursonde, og kondensator under en inert atmosfære. Til kolben ble det tilsatt 10 % palladium på karbon (50 % våt) (311,1 g) og sykloheksen (14,36 L). Reaksjonsblandingen ble varmet ved nær reflux i minimum 12 timer, og reaksjonen ble overvåket ved TLC. Ved fullføring av reaksjonen, ble reaksjonsblandingen avkjølt til under 45 °C, og den ble filtrert gjennom en seng av Celite®545 (1,2 kg) på en sintret glasstrakt. Filterkaka ble rensed med etanol (3 L) og filtratet ble konsentrert til å oppnå en vandig fase. Vann (500 mL) ble tilsatt til det konsentrerte filtratet, og dette kombinerte vandige sjiktet ble vasket med metyl-tert-butyleter (MTBE) (2 x 4,79 L). 2 M natriumhydroksid (19,5 L) ble tilsatt til den vannbaserte fasen for å justere pH i blandingen til pH 14. Blandingens ble deretter omrørt i minimum 10 min. Den vannbaserte fasen ble ekstrahert med kloroform (4 x

11,96 L), og de kombinerte organiske fasene ble tørket over vannfritt natriumsulfat (2,34 kg). Filtratet ble filtrert og konsentrert til å oppnå (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl) metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan (3,49 kg, > kvantitativt utbytte) i form av en olje.

5 **[0114]** Forbindelsen (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan ble overført til en ren 100 L reaksjonskolbe forsynt med en mekanisk rører, kondensator og temperatursonde under en inert atmosfære. Etanol (38,4 L) og dip-toluoyl-D-vinsyre (3,58 kg, 9,27 mol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble varmet ved forsiktig reflux i minimum 1 time. Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt i minimum 12 timer mens den ble avkjølt til mellom 15 °C og 30 °C. Den  
10 resulterende suspensjonen ble filtrert og filterkaka ble vasket med etanol (5,76 L). Filterkaka ble overført til en ren 100 L reaksjonskolbe av glass forsynt med en mekanisk rører, temperatursonde og kondensator under en inert atmosfære. En løsning av 9:1 etanol/vann (30,7 L) ble tilsatt, og den resulterende slurry ble varmet ved forsiktig reflux i minimum 1 time. Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt i minimum 12 timer under avkjøling til mellom 15 °C og 30 °C. Blandingen ble filtrert og filterkaka ble vasket med etanol (5,76 L). Produktet ble samlet og tørket under vakuum  
15 ved 50 °C 6 5 °C i minimum 12 timer til å gi 5,63 kg (58,1 % utbytte) av (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan di-p-toluoyl-D-tartratsalt.

(2S,3R)-N-(2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid

20 **[0115]** (2S,3R)-3-Amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan di-p-toluoyl-D-tartratsalt (3,64 kg, 5,96 mol) og 10 % vandig natriumkloridløsning (14,4 L, 46,4 mol) ble tilsatt til en 72 L glass-reaksjonskolbe forsynt med en mekanisk rører under en inert atmosfære. 5 M natriumhydroksid (5,09 L) ble tilsatt til den omrørte blandingen for å justere pH i blandingen til pH 14. Blandingen ble deretter omrørt i minimum 10 min. Den vannbaserte løsningen ble ekstrahert med kloroform (4 x 12,0 L), og det kombinerte organiske sjiktet ble tørket over vannfritt natriumsulfat (1,72 kg). Det kombinerte organiske sjiktet ble filtrert og filtratet ble konsentrert til å  
25 oppnå (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan (1,27 kg) i form av en olje.

30 **[0116]** The (2S,3R)-3-amino-2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan ble overført til en 50 L glass-reaksjonskolbe forsynt med en mekanisk rører under en inert atmosfære. Diklormetan (16,5 L), trietylamin (847 mL, 6,08 mol), benzofuran-2-karboksylyse (948 g, 5,85 mol) og O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N,1-tetrametyluronium heksafluorofosfat (HBTU) (2,17 kg, 5,85 mol) ble tilsatt til reaksjonsblandingen. Blandingen ble omrørt i minimum 4 timer ved  
35 omgivelsestemperatur, og reaksjonen ble overvåket ved HPLC. Ved fullføring av reaksjonen, ble 10 % vandig kaliumkarbonat (12,7 L, 17,1 mol) tilsatt til reaksjonsblandingen og blandingen ble omrørt i minimum 5 min. Sjiktene ble separert og den organiske fasen ble vasket med 10 % saltløsning (12,7 L). Sjiktene ble separert og den organiske fasen ble avkjølt til 15 °C ± 10 °C. 3 M Saltsyre (8,0 L) ble langsomt tilsatt til reaksjonsblandingen for å justere pH i blandingen til pH 1. Blandingen ble deretter omrørt i minimum 5 min, og sjiktene fikk separere i minimum 5 min. Faststoffet ble filtrert ved bruk av bordfilter. Sjiktene i filtratet ble separert, og den vannbaserte fasen og faststoffet fra trakta ble overført til reaksjonskolben. 3 M natriumhydroksid (9,0 L) ble langsomt tilsatt til kolben i porsjoner for å justere pH i blandingen til pH 14. Den vannbaserte fasen  
40 ble ekstrahert med diklormetan (2 x 16,5 L). De kombinerte organiske fasene ble tørket over vannfritt natriumsulfat (1,71 kg). Blandingen ble filtrert, og filtratet ble konsentrert til å gi (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (1,63 kg, 77,0 % utbytte) i form av et gult faststoff.

45 (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid p-toluensulfonat

**[0117]** (2S,3R)-N-(2-((3-Pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]oktan-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (1,62 kg, 4,48 mol) og diklormetan (8,60 kg) ble tilsatt til en syreballong. Det prosentvise forhold

vekt/vekt for materialet i løsnings ble bestemt med HPLC-analyse. Løsningen ble konsentrert til en olje, aceton (4 L) ble tilsatt, og blandingen ble konsentrert til et oljeaktig faststoff. Ekstra aceton (12 L) ble tilsatt til det oljeaktige faststoffet i den roterende inndamperen, og den resulterende slurry ble overført til en 50 L glass reaksjonskolbe med en mekanisk rører, kondensator, temperatursonde, og kondensator under en inert atmosfære. Reaksjonsblandingen ble varmet til 50 °C 6 5 °C. Vann (80,7 g) ble tilsatt til løsningen, og den ble omrørt i minimum 10 min. p-toluensulfonsyre (853 g, 4,44 mol) ble tilsatt til reaksjonsblandingen i porsjoner i løpet av omlag 15 min. Reaksjonsblandingen ble varmet til reflux og holdt ved denne temperaturen i minimum 30 min til å oppnå en løsning. Reaksjonen ble avkjølt til 40 °C 6 5 °C i løpet av omlag 2 timer.

10 Isopropylacetat (14,1 L) ble tilsatt i løpet av omlag 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble langsomt avkjølt ved omgivelsestemperatur i løpet av minimum 10 timer. Blanding ble filtrert og filterkaka ble vasket med isopropylacetat (3,5 L). Det isolerte produktet ble tørket under vakuum ved 105 °C 6 5 °C i mellom 2 timer og 9 timer til å gi 2,19 kg (88,5 % utbytte) av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid p-toluensulfonat, mp 226-228 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,78 (m, J = 5,1, 1H), 7,63 (d, J = 7,9, 1H), 7,54 (d, J = 7,8, 1H), 7,49 (d, J = 8,1, 2H), 7,37 (m, J = 8,3, 1H), 7,33 (m, J = 8,3, 6,9, 1,0, 1H), 7,18 (m, J = 7,8, 6,9, 1,0, 1H), 7,14 (d, J = 8,1, 2H), 7,09 (s, 1H), 6,99 (dd, J = 7,9, 5,1, 1H), 4,05 (m, J = 7,7, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 3,28 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 3,15 (dd, J = 13,2, 4,7, 1H), 3,02 (dd, J = 13,2, 11,5, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,02 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,79 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 157,2, 154,1, 150,1, 148,2, 146,4, 145,2, 138,0, 137,0, 130,9, 128,2 (2), 126,9, 126,8, 125,5 (2), 123,7, 123,3, 122,7, 111,7, 100,7, 61,3, 50,2, 48,0, 40,9, 33,1, 26,9, 21,5, 20,8, 17,0.

**[0118]** Prøver av dette materialet ble omdannet til Forbindelse A sin frie base (for bruk i saltseleksjonsstudier) ved behandling med vandig natriumhydroksid og ekstraksjon med kloroform. Gjennom inndamping av kloroform ble det tilbake et gråhvitt pulver, mp 167-170 °C, med følgende spektralkarakteristikker: Positiv ioneelektrospray MS [M+H]<sup>+</sup> ion m/z = 362. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,53 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 8,43 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 8,28 (dd, J = 1,6, 4,7 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,63 (dt, J = 1,7, 7,7 Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,46 (m, J = 8,5, 7,5 Hz, 1H), 7,33 (m, J = 7,7, 7,5 Hz, 1H), 7,21 (dd, J = 4,7, 7,7 Hz, 1H), 3,71 (m, J = 7,6 Hz, 1H), 3,11 (m, 1H), 3,02 (m, 1H), 2,80 (m, 2H), 2,69 (m, 2H), 2,55 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,56 (m, 1H), 1,26 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 158,1, 154,1, 150,1, 149,1, 146,8, 136,4, 135,4, 127,1, 126,7, 123,6, 122,9, 122,6, 111,8, 109,3, 61,9, 53,4, 49,9, 40,3, 35,0, 28,1, 26,1, 19,6.

**[0119]** Monohydrokloridsaltet av Forbindelse A (se Eksempel 5) ble underlagt røntgenkrystallografisk analyse. Den resulterende krystalstruktur (vist i henholdsvis figur 10A og 10B) etablerte den absolutte 2S,3R-konfigurasjon av Forbindelse A.

### Referanseeksempel 3: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamidfosfatsalt

**[0120]** Til en rundbunnet kolbe ble det tilsatt (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (8,18 g, 22,6 mmol) og 2-propanol (180 mL). Blanding ble omrørt og varmet ved 65-70 °C inntil alt faststoffet var oppløst. Løsningen ble omrørt voldsomt ved 65-70 °C, og fosforsyre (1,65 mL, 24,3 mmol) ble tilsatt dråpevis med pipette. Det ble umiddelbart dannet et hvitt, granulært faststoff. Blanding ble omrørt ved 65-70 °C i 30 minutter, avkjølt ved omgivelsestemperatur (23 °C) og omrørt i ytterligere 24 timer. Det hvite faststoffet ble samlet ved innløpsfiltrering, filterkaka ble vasket med 2-propanol (20 mL) og faststoffet ble luft-tørket i mist 1 time. Faststoffet ble tørket ytterligere i en vakuumovn ved 75 °C over natta (16 timer) til å gi 10,7 g av produktet (> kvantitativt utbytte), mp 265-273 °C med dekomponering, med endring i krystallinitet observert ved -180 °C. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) indikerte nærværet av 2-propanol (sterk oppløsning), som kan forklare det større enn kvantitative utbyttet. Kiral LC analyse ga en renhet på 97,1 % (270 nm).

**Referanseeksempel 4: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid maleatsalt**

[0121] Maleinsyre (0,067 g, 0,630 mmol) ble tilsatt til en varm slurry av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (0,203 g, 0,560 mmol) i isopropylacetat (2 mL), som avsatte fine, hvite faststoffer sammen med a gummirest. Ytterligere isopropylacetat (3 mL) og maleinsyre (0,006 g) ble tilsatt, og blandingen ble varmet til reflux. Isopropanol (5 mL) ble tilsatt ved reflux. Den resulterende blandingen med hvite faststoffer ble avkjølt ved omgivelsestemperatur, filtrert, og faststoffet ble vasket med isopropylacetat (2 mL). Produktet ble tørket under vakuum ved 60 °C i 18 timer til å gi 0,228 g av et gråhvitt, flakformet faststoff (84,7 % utbytte), mp 180-182 °C. 1H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) indikert ved en mono-salt-støkiometri. Beregninger for C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> · C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C, 65,40; H, 5,70; N, 8,80; Funnet: C, 65,35, 6529; H, 5,86, 5,68; N, 8,69, 8,78.

**Eksempel 5: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamidhydroklorid-salter**

[0122] Monohydroklorid: En saltsyre/THF-løsning ble framstilt ved tilsats av konsentrert saltsyre (1,93 mL av 12M, 23,2 mmol) dråpevis til 8,5 mL avkjølt THF. Løsningen ble varmet ved omgivelsestemperatur. Til en rundbunnet kolbe ble det tilsatt (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (8,49 g, 23,5 mmol) og aceton (85 mL). Blandingen ble omrørt og varmet ved 45-50 °C inntil det ble oppnådd en fullstendig løsning. Løsningen av saltsyre/THF som var framstilt foran, ble tilsatt dråpevis i løpet av en 5 min lang periode, med ekstra THF (1,5 mL) brukt i overføringen. Granulært, hvitt faststoff begynte å dannes under tilsats av syreløsningen. Blandingen ble avkjølt ved omgivelsestemperatur, og omrørt over natta (16 timer). Faststoffet ble samlet ved innløpsfiltrering, filterkaka ble vasket med aceton (10 mL), og faststoffet ble lufttørket med avsug i 30 min. Faststoffet ble tørket ytterligere i en vakuumovn ved 75 °C i 2 timer til å gi 8,79 g fine hvite krystaller (94 % utbytte), mp 255-262 °C. Kiral LC -analyse ga en renhet på 98,8 % (270 nm). 1H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) viser ingen resterende løsningsmidler og bekrefter mono-støkiometri. 1H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,7 (bred s, 1H-kvaternær ammonium), 8,80 (bred s, 1H-amid H), 8,54 (s, 1H), 8,23 (d, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,05-3,55 (m, 6H), 2,00-2,10 (m, 3H), 1,90 (m, 1H), 1,70 (m, 1H). En røntgenkristallografisk analyse av dette saltet etablerer stereokjemisk tilordning og støkiometri (se figur 10A og 10B).

[0123] Dihydroklorid: Saltstyregass ble langsomt boblet til en iskjølt løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (1,9 g, 5,3 mmol) i vannfri eter (25 mL). De flyktige bestanddelene ble fjernet, først i en nitrogenstrøm og deretter med høyt vakuum (natriumhydroksid-scrubber i høyt vakuum). Residuet ble finfordelt flere ganger med små volum av vannfri eter (avhendet), og det resterende faststoffet ble tørket under høyt vakuum. Dette ga 2,17 g (94 % utbytte) gråhvitt pulver, mp 210-212 °C (hygroskopisk). Kiral LC -analyse ga en renhet på 93,7 % (270 nm). Positiv ion-elektrospray MS [M+H]<sup>+</sup> ion m/z = 362. 1H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9,15 (s, 1H), 8,84 (d, 1H), 8,63 (d, 1H), 7,97 (t, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,35 (t, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,40-3,85 (m, 6H), 1,95-2,40 (m, 5H).

**Referanseeksempel 6: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hemigalactaratsalt**

[0124] Galactarsyre (mucic) (36,3 mg, 0,173 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). Blandingen ble refluxet mens vann (8 dråper) ble tilsatt; deretter ble den varme blandingen filtrert gjennom en bomullsplugg, som deretter ble rensset med etanol (1 mL). Kjølning feilet i å gi noe bunnfall. De flyktige bestanddelene ble fjernet ved rotasjonsinndamping, og

residuet (hvitt skum) ble finfordelt med isopropanol (avhendet), og det resterende faststoffet oppløst i reflukset aceton/vann (4 mL 7:1). Langsom avkjøling til 5 °C produserte et hvitt faststoff, som ble filtrert av, vasket med isopropanol (3 x 1 mL), og tørket under høyt vakuum. Dette ga 118 mg (73 % utbytte) fine hvite plater, mp 134-139 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,18 (t, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,98 (m, 1H), 4,08 (s, 1H, galactarsyre), 3,98 (d, 1H), 3,77 (s, 1H, galactarsyre), 3,66 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,95-3,30 (m, 4H), 1,65-2,05 (m, 5H).

**Referanseeksempel 7: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid D-tartratsalt**

10 **[0125]** Vinsyre (25,6 mg, 0,173 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). The resulterende løsning ble langsomt avkjølt ved omgivelsestemperatur. Ingen faststoff ble utfelt, slik at løsningen ble konsentrert til å gi et hvitt skum. Forsøk på å krystallisere i isopropanol feilet. Skummet ble oppløst i metanol og nok en halv ekvivalent med vinsyre (25,6 mg, 0,173 mmol) ble  
15 tilsatt. Blandingen ble konsentrert til å gi et hvitt skum, som ikke lot seg krystallisere fra blandinger av metanol og isopropanol. Det konsentrerte materialet (blanding av fast og gummivæske) ble deretter oppslemmet i etylacetat (1 mL), som ga et hvitt faststoff. Dette ble isolert ved filtrering (etylacetatvasking) og tørking i en vakuumovn (18 timer ved 40 °C), til å gi 141 mg (79,7 % utbytte) av det mono-støkiometriske salt (NMR), mp 136-140 °C. Kiral LC analyse ga en renhet på 98,1 %  
20 (270 nm). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,50 (s, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,86 (d, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,38 (t, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,21 (t, 1H), 4,34 (s, 2H, vinsyre), 4,26 (d, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,15-3,5 (m, 4H), 1,90-2,30 (m, 5H).

**Referanseeksempel 8: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid metansulfonatsalt**

25 **[0126]** Metansulfonsyre (332 mg, 0,346 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). Kjølning ga intet bunnfall. Blandingen ble reflukset, og den varme blandingen ble filtrert gjennom en bomullsplugg, som deretter ble rensset med metanol (1 mL). De flyktige bestanddelene ble fjernet ved rotasjonsinndamping og residuet (lysegult skum) ble oppløst i varm  
30 isopropanol (1 mL). Igjen feilet avkjøling i å gi noe bunnfall. Isopropanol ble inndampet, og residuet ble oppslemmet i aceton (1 mL). Filtrering og tørking i vakuumovn (18 timer ved 50 °C) ga 146 mg (92,5 % utbytte) lyst beige faststoff, mp 240-243 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,32 (s, 1H), 7,82 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,38 (m, 2H), 7,20 (m, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,01 (m, 1H), 4,09 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 3,00-3,40 (m, 4H), 2,67 (s, 3H, metansulfonsyre), 1,75-2,15  
35 (m, 5H).

**Referanseeksempel 9: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid D-mandelatsalt**

40 **[0127]** D-mandelsyre (52,6 mg, 0,346 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). Fortynning med etylacetat (4 mL) og avkjøling ga ikke noe bunnfall. De flyktige bestanddelene ble fjernet ved rotasjonsinndamping, og residuet (hvitt skum) ble oppløst i varm isopropanol (0,5 mL). Avkjøling til 5 °C produserte hvite krystaller som ble samlet ved innløpsfiltrering. Tørking i vakuumovn (18 timer ved 45 °C) ga 111 mg (62,4 % utbytte) lyst beige faststoff, mp 188,5-193 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,33 (s, 1H). 7,83 (s, 1H). 7,67 (d, 1H). 7,60  
45 (d, 1H). 7,27 (m, 8H, inkluderer mandelsyre), 7,12 (s, 1H). 7,01 (m, 1H), 4,85 (s, 1H, mandelsyre), 4,10 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,48 (m, 2H); 3,00-3,40 (m, 4H), 1,75-2,15 (m, 5H).

**Referanseeksempel 10: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid R-kamfersulfonatsalt**

[0128] R-10-kamfersulfonsyre (80,3 mg, 0,346 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). Avkjøling feilet i å avsette noe bunnfall. De flyktige bestanddelene ble fjernet ved rotasjonsinndamping, og residuet (hvitt skum) ble oppløst i varm isopropanol (0,5 mL). Avkjøling til 5 °C produserte noen få hvite krystaller og en melkeaktig suspensjon. Skraping av sidene av kolben med en spatel overførte til slutt blandingen til en tykk masse av fine hvite krystaller. Ytterligere 0,5 mL isopropanol ble tilsatt og krystallene ble samlet ved innløpsfiltrering. Vakuumovntørking (5 timer ved 70 °C, etterfulgt av 2 timer ved 110 °C) ga 193 mg (93,8 % utbytte) av hvitt faststoff, mp 149,5-156 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,30 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,99 (m, 1H), 4,07 (d, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,45 (m, 2H), 3,95-3,35 (m, 5H, inkluderer kamfersulfonsyre), 2,64 (d, 1H, kamfersulfonsyre), 2,22 (m, 2H), 1,70-2,10 (m, 8H, inkluderer kamfersulfonsyre), 1,45 (m, 1H, kamfersulfonsyre), 1,25 (m, 1H, kamfersulfonsyre), 0,85 (s, 3H, kamfersulfonsyre), 0,68 (s, 3H, kamfersulfonsyre).

**Referanseeksempel 11: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid S-kamfersulfonatsalt**

[0129] S-10-kamfersulfonsyre (80,3 mg, 0,346 mmol) ble tilsatt til en løsning av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid (125 mg, 0,346 mmol) i varm etanol (1 mL). Fortynning med etylacetat (4 mL) og avkjøling feilet i å avsette noe bunnfall. De flyktige bestanddelene ble fjernet ved rotasjonsinndamping, og residuet (hvitt skum) ble oppløst i varm isopropanol (1,5 mL). Avkjøling til 5 °C produserte hvite krystaller. Blanding ble konsentrert til omlag 0,5 mL og avkjølt igjen til 5 °C. Faststoffet ble deretter samlet ved innløpsfiltrering og vakuomtørket, i starten i 18 timer ved 45 °C, men deretter ved gradvis høyere temperaturer (til slutt ved 110 °C) for å fjerne resterende isopropanol. Dette ga 143 mg (69,7 % utbytte) hvitt faststoff, mp 153,5-157 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,29 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,34 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,99 (m, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,44 (m, 2H), 3,95-3,35 (m, 5H, inkluderer kamfersulfonsyre), 2,67 (d, 1H, kamfersulfonsyre), 2,23 (m, 2H), 1,70-2,10 (m, 8H, inkluderer kamfersulfonsyre), 1,46 (m, 1H, kamfersulfonsyre), 1,25 (m, 1H, kamfersulfonsyre), 0,84 (s, 3H, kamfersulfonsyre), 0,64 (s, 3H, kamfersulfonsyre).

[0130] Ved bruk av prosedyrer tilsvarende de som er rapportert foran (eksempel 3-11), ble det foretatt karakterisering av flere andre saltformer. Resultatene fra disse preparatene er rapportert i eksempel 12-14.

**Referanseeksempel 12: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid sulfatsalt**

[0131] Et sulfatsalt ble utfelt fra en blanding av isopropylacetat og vann. MP 278 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,28 (bred s, 1H, amid), 8,56 (dd, 1H), 8,24 (t, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 7,21 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 3,10-3,60 (m, 5H), 2,05 (m, 3H), 1,92 (m, 1H), 1,73 (m, 1H).

**Referanseeksempel 13: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid ketoglutaratsalt**

[0132] At α-ketoglutaratsalt ble utfelt fra isopropylacetat. MP 177 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,64 (s, 1H, amid), 8,50 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,78 (m, 2H), 3,00-3,45 (m, 5H), 2,81 (m, 2H, ketoglutarsyre), 2,41 (m, 2H, ketoglutarsyre), 1,96 (m, 3H), 1,83 (m, 1H), 1,60 (m, 1H).

**Referanseeksempel 14: Syntese av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hipporatsalt**

5 **[0133]** A hipporatsalt ble utfelt fra aceton (hygroskopisk til å oppnå smeltepunkt). 1H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,79 (s, 1H, amid), 8,56 (d, 1H), 8,44 (s, 1H, hipposyre), 829 (m, 1H), 7,87 (m, 2H, hipposyre), 7,76 (d, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,49 (m, 4H, inkluderer hipposyre), 7,34 (m, 2H), 721 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,74 (m, 2H), 3,00-3,50 (m, 5H), 2,80 (m, 2H, hipposyre), 1,79 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,30 (m, 1H).

**Referanseeksempel s 15: Isolering av (2R,3R)- og (2S,3S)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2,22]okt-3-yl) benzofuran-2-karboksamid og omdanning til galaktarsyresalter**

10 **[0134]** En prøve av supernatanten fra isoleringen av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid p-toluensulfonat (Eksempel 2) ble konsentrert ved rotasjonsinndamping, justert til pH 10 med 10 % vandig natriumhydroksid og ekstrahert med diklormetan. Diklormetaneekstraktet ble inndampet, og residuet (1,8 g) ble oppløst i absolutt etanol (55 mL) som inneholdt 0,5 % di-n-butylamin. Denne løsningen ble injisert i 0,25 mL store  
15 porsjoner på en 25 cm x 2,1 cm kiralpak® AD kiral HPLC kolonne, eluert med 60:40:02 heksan/etanol/di-n-butylamin (strømningsrate = 30 mL/min), overvåket ved 270 nm. Isolering av produktet eluerte ved omlag 7,5 min og det som eluerte ved omlag 13,5 min ga, etter inndamping av løsningsmidlet, 0,48 g (98 % kiral renhet) og 0,47 g (99 % kiral renhet) henholdsvis av fargeløs olje. De to NMR-spektrene var identiske. 1H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,49 (s, 1H), 8,45 (d, 1H),  
20 7,74 (d, 1H), 7,52 (m, 4H), 7,35 (t, 1H), 7,20 (dd, 1H). 7,05 (d, 1H). 4,55 (dt, 1H). 3,43 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,90 (m, 5H), 2,09 (m, 1H), 1,88 (m, 4H).

**[0135]** En varm løsning av hver av de frie baseprøvene i absolutt etanol (10 mL) ble behandlet med ekvivalent galactarsyre. De resulterende blandingene ble varmet ved 75 °C i 5 min og avkjølt, under omrøring, ved omgivelsestemperatur. De resulterende faststoffene ble samlet ved  
25 innløpsfiltrering og vakuomtørket, som ga 0,65 g (87 % utbytte) og 0,62 g (85 % utbytte) henholdsvis av hvitt granulært faststoff (mp 200-205 °C i hvert tilfelle). 1H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8,38 (s, 1H). 8,28 (d, 1H). 7,94 (d, 1H), 7,70 (d, 1H). 7,59 (d, 1H). 7,48 (t, 1H). 7,40 (m, 1H). 7,32 (m, 2H), 4,42 (m, 1H), 4,21 (s, 2H), 3,87 (s, 2H), 3,68 (m, 1H), 3,35 (m, 6H), 2,25 (m, 2H), 2,02 (m, 3H).

30 **Referanseeksempel 16: Syntese av (2R,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid p-klorbenzoatsalt**

**[0136]** Fast p-klorbenzosyre (46,8 mg, 0,299 mmol) ble tilsatt i porsjoner til en løsning av den tidligere eluerende isomer av N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid fra Eksempel 15 (108 mg, 0,299 mmol) i aceton (10 mL). Denne blandingen ble varmet til nær reflux i 30 min og avkjølt til omgivelsestemperatur. Det ble ikke dannet noe  
35 bunnfall, slik at løsningen ble konsentrert til omlag 20 % av sitt opprinnelige volum (varm plate), på hvilket tidspunkt det begynte å danne seg krystaller. Blandingene ble avkjølt og fortynnet med isopropanol (2 mL). denne blandingen ble konsentrert ved langsom inndamping av løsningsmiddel ved omgivelsestemperatur, og de resulterende faststoffene ble samlet og tørket. Dette produserte  
40 145 mg (94 % utbytte) lysegule krystaller, mp 150-152 °C. 1H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,49 (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,93 (d, 2H, p-klorbenzosyre), 7,67 (m, 2H), 7,57 (d, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,36 (d, 2H, p-klorbenzosyre), 7,30 (m, 1H), 7,27 (s, 1H). 7,16 (m, 1H), 7,00 (d, 1H, amid), 6,90 (bred s, kvaternært ammonium), 4,62 (m, 1H), 3,85 (dd, 1H), 3,36 (m, 1H), 2,95-3,25 (m, 5H), 2,16 (s, 1H), 1,70-2,10 (m, 4H).

45 **[0137]** Røntgenkrystallografisk analyse av denne prøven avslørte dens absolutte stereokjemi til å være 2R,3R (se figur 11A og 11B). Den siste eluerende isomer i Eksempel 15 har følgelig ved eliminering 2S,3S absolutt konfigurasjon.

**Eksempel 17: Kiral kromatografisk metode for analyse av stereoisomerene**

**[0138]** Etablering av en kiral kromatografisk metode for separasjon av de fire stereoisomerene fra hverandre viste seg å være svært utfordrende. De innledende forsøkene (ved bruk av en mobil fase med heksan/isopropanol/trietylamin) resulterte i overlappende topper og mindre enn optimale toppformer. Bytting fra isopropanol til etanol og fra trietylamin til di-n-butylamin forbedret gjenoppløsning og toppform og forkortet kjøretiden. Detaljene ved denne metoden er som følger:

- Analytisk kolonne: kiralpak® AD (250 x 4,6 mm, 5 mm)
- Mobil fase: 60:40:0,2 heksaner/etanol/di-n-butylamin
- 10 Injeksjonsvolum: 10 mL
- Strømningsrate: 1,0 mL per minutt
- Temperatur: 20 °C
- Detektering: UV ved 270 nm
- Total kjøretid : ~25 minutter
- 15 Elueringsrekkefølge (RT): 2S,3R (5,3 min); 2R,3S (7,3 min); 2R,3R (8,3 min); 2S,3S (12,1 min)

Et representativt kromatogram for de stereoisomere analoge er vist i Figur 12.

**Eksempel 18: XRPD**

**[0139]** XRPD-analyse ble utført for flere saltprøver beskrevet her. Diffraksjonsmønstre for hydroklorid- (Figur 13) og tosylat- (Figur 14) saltene er framskaffet. RøntgenPulverDiffraksjon (XRPD)

**[0140]** Røntgen Powder Diffraction mønstre ble samlet fra hvert av de to instrumentene. Noen ble samlet på et Siemens D5000 diffraktometer ved bruk av CuK $\alpha$ -stråling (40kV, 40mA),  $\theta$ - $\theta$ -goniometer, V20 divergena og mottaksspalter, en sekundær grafitt monokromator og en svingningsteller. Instrumentet ble kontrollert for ytelse ved bruk av sertifisert Corundum-standard (NIST 1976). Prøver kjørt under omgivelsesbetingelser ble framstilt som flate plateprøver ved bruk av pulver som mottatt. Omlag 35 mg av prøven ble pakket forsiktig til et hulrom kuttet inn i en polert nullbakgrunn (510) silikonskive. Prøven ble rotert i sitt eget plan under analyse, scanning fra 2° til 42° i trinn på 0,05° ved 4 sekunder per trinn, ved bruk av CuK $\alpha$  1 ( $\lambda = 1,5406\text{\AA}$ ).

**[0141]** Noen Røntgen Powder Diffraction mønstre ble samlet på et Bruker AXS C2 GADDS diffraktometer ved bruk av CuK $\alpha$ -stråling (40kV, 40mA), automatisert XYZ-trinn, laservideomikroskop for automatisk prøveposisjonering og en HiStar 2-dimensional area detektor. Røntgenoptikk besto av et enkelt Göbel flerlags speil koblet til en tapp hull collimator på 0,3mm. Stråledivergens (det vil si den effektive størrelsen av røntgenstrålen på prøven) var omlag 4 mm. En  $\theta$ - $\theta$ -kontinuerlig scannemodus ble brukt med en prøve - detektordistans på 20 cm som gir et effektivt 2 $\theta$ -intervall på 3,2° - 30,0°. Prøven ble typisk eksponert overfor røntgenstrålen i 120 sekunder. Prøver kjørt under omgivelsesbetingelser ble framstilt som flate plateprøver ved bruk av pulver mottatt uten maling. Omlag 1-2 mg av prøven ble presset lett på en silikonskive for å oppnå ei flat overflate. Prøver kjørt under ikke-omgivelsesbetingelser ble montert på ei silikonskive med



varmeledende forbindelse. Prøven ble deretter varmet til en aktuell temperatur med omlag 10 °C/min og deretter holdt isotermt i omlag 5 min før start av datainnsamling.

#### Differential Scanning Calorimetry (DSC)

- 5 **[0142]** DSC-data ble samlet på et TA instrument Q1000 forsynt med en 50 position auto-sampler. Instrumentet ble kalibrert for energi- og temperatur-kalibrering ved bruk av sertifisert indium. Typisk ble 0,5-1,5 mg av hver prøve, i en tappullet aluminiumpanne, varmet ved 10 °C/min fra 25 °C til 175-200 °C. En nitrogenstrøm ved 30 mL/min ble opprettholdt over prøven.

#### Thermo-Gravimetrisk Analyse (TGA)

- 10 **[0143]** TGA-data ble samlet på et TA Instrument Q500 TGA, forsynt med en 16 posisjoners auto-sampler. Instrumentet ble temperatur-kalibrert ved bruk av sertifisert Alumel. Typisk ble 5-10 mg av hver prøve lastet på en forhåndstarrert platinadigel og aluminium DSC panne, og ble varmet ved 10 °C/min fra omgivelsestemperatur til 350 °C. En nitrogenstrøm ved 60 mL/min ble opprettholdt over prøven.

#### Polarized Light Microscopy (PLM)

- 15 **[0144]** Prøver ble studert på et Leica LM/DM polarisert lysmikroskop med et digitalt videokamera for bildetaking. En liten mengde av hver prøve ble plassert på en glassplate, montert i neddykkingsolje og dekket med en glassplate, de individuelle partikler ble separert så godt som mulig. Prøven ble betraktet med passende forstørning og delvis polarisert lys, koblet til et  $\lambda$ -filter med falske farger.

#### 20 Hot Stage Microscopy (HSM)

- [0145]** Hot Stage Microscopy ble utført ved bruk av Leica LM/DM polarisert lysmikroskop kombinert med en Mettler-Toledo MTFP82HT hot-stage og et digitalt videokamera for bildetaking. En liten mengde av hver prøve ble plassert på en glassplate individuelle partikler separert så godt som mulig. Prøven ble betraktet med egnet forstørrelse og partielt polarisert lys, koblet til et  $\lambda$ -filter med falske farger, under varming fra omgivelsestemperatur typisk ved 10 °C/min.
- 25

#### Gravimetric Vapor Sorption (GVS)

- [0146]** Sorpsjonsisotemer ble bestemt på begge instrumentene. Noen av forsøkene ble kjørt ved bruk av VTI Corporation SGA-100 fuktsorpsjonsanalysator, regulert av VTI FlowSystem 4 programvare. Prøvetemperatur ble holdt ved 25 °C med et Polyscience konstant temperaturlad. Fuktigheten ble regulert ved å blande strømmer av tørr og våt nitrogen. Vektendringen i form av en funksjon av %RH ble overvåket ved bruk av Cahn Digital Recording Balance D-200 med en nøyaktighet på +/-0,0001 g.
- 30

- [0147]** Typisk ble en 10-20 mg prøve plassert på den tarerte vektskåla under omgivelsesbetingelser. Prøven ble tørket ved 50 °C i 1 time. Standard adsorpsjonsisoterm ble utført ved 25 °C ved 5 % RH lange intervaller over et 5-95 % RH intervall, og desorpsjonsisotermen ble tilsvarende utført ved 25 °C ved 5 % RH intervaller over et 95-5 % RH intervall. Prøvenes likevektskriteria inkluderte 0,0100 vekt% i 5 min eller en maksimal likevektstid på 180 min for hvert %RH-datapunkt.
- 35

- [0148]** Noen sorpsjonsisotemer ble oppnådd ved bruk av Hiden IGASorp fuktsorpsjonsanalysator, regulert av CFRSorp programvare. Prøvetemperatur ble holdt ved 25 °C av et Huber resirkulert vannbad. Fuktigheten ble kontrollert ved å blande strømmer av tørr og våt nitrogen, med en total strømningsrate på 250 mL/min. Den relative fuktighet ble målt med en kalibrert Vaisala RH-sonde (dynamisk intervall på 0-95 % RH), lokalisert nær prøven. Vektendringen, (massesammentrekning)
- 40

- av prøven som funksjon av % RH ble overvåket konstant med mikrovekta (nøyaktighet 60,001 mg). Typisk ble 10-20 mg av prøven plassert i en tart maskeformet kurv av rustfritt stål under omgivelsesbetingelser. Prøven ble lastet på og av ved 40 % RH og 25 °C (typiske omgivelsesbetingelser). En fuktsorpsjonsisoterm ble utført som skissert nedenfor (2 scan som ga 1 fullstendig syklus). Standardisotermen ble utført ved 25 °C ved 10 % RH intervaller over et 0-90 % RH intervall.

GVS Generiske metodeparametere

**[0149]**

Parametere	Verdier
Adsorpsjon - scan 1	40 - 90
Desorpsjon/adsorpsjon - scan 2	85 - Tørr, Tørr - 40
Intervaller (% RH)	10
Antall scan	2
Strømningsrate (mL/min)	250
Temperatur (°C)	25
Stabilitet (°C/min)	0,05
Minimum sorpsjonstid (timer)	1
Maksimal sorpsjonstid (timer)	4
Modus	AF2
Nøyaktighet (%)	98

- 10 **[0150]** Programvaren bruker i det minste en prosedyre med minimering av kvadrat sammen med en modell av masserelaksasjon, for å forutsi en asymptotisk verdi. Den målte masserelaksasjonsverdi må være innenfor 5 % av den som er spådd av programvaren før den neste verdi for % RH blir valgt. Den minimale likevektstiden ble satt til 1 time og den maksimale til

4 timer. Prøver ble typisk gjenvunnet etter komplettering av isotermeren og analysert på nytt med XRPD.

Vannbestemmelse med Karl Fischer (KF)

- 5 **[0151]** Vanninnholdet i hver prøve ble bestemt med et Mettler Toldeo DL39 Coulometer ved bruk av Hydranal Coulomat AG reagens og en argonstrøm. Veide prøver ble tilført til beholderen på en platina TGA-panne som var forbundet med en undertetning for å unngå inntrengning av vann. Omlag 10 mg av prøven ble brukt per titrering og duplikatbestemmelse ble utført.

Termodynamisk vannløselighet med HPLC

- 10 **[0152]** Vannløselighet ble bestemt ved å suspendere tilstrekkelig mengde av forbindelsen i 0,25 mL vann for å gi en maksimal sluttkonsentrasjon på  $\geq 10$  mg/mL av den forløperfrie formen av forbindelsen. Suspensjonen ble holdt ved likevekt ved 25 °C i 24 timer, hvorefter pH ble målt. Suspensjonen ble deretter filtrert gjennom glassfiber C filter til en 96-brønnet plate. Filtratet ble deretter fortynnet med en faktor på 101. Kvantifisering ble utført med HPLC med henvisning til en standardløsning på omlag 0,1 mg/mL i DMSO. Ulike volum av standarden, fortynnete og
- 15 ufortynnete prøveløsninger ble injisert. Løseligheten ble beregnet ved bruk av topparealene bestemt ved integrering av toppen funnet ved samme retensjonstid som hovedtoppen i standardinjeksjonen. Dersom det var tilstrekkelig faststoff i filterplata, ble XRPD samlet.

**[0153]**

Type metode	Omvendt fase med gradienteluering		
Kolonne	Phenomenex Luna C18 (2) 5 mikrometer, 50 x 4,6 mm		
Kolonnetemperatur (grader Celsius)	25		
Injeksjon (mikroliter)	5, 8 og 50		
Detektering: bølgelengde, båndbredde (nm)	260, 80		
Strømningsrate (mL/min)	2		
Fase A	0,1 % TFA i vann		
Fase B	0,085 % TFA i acetonitril		
Timetabell	Tid (min)	% fase A	% fase B
	0,0	95	5
	1,0	80	20
	2,3	5	995
	3,3	5	95
	3,5	95	5

	4,45	95	5
--	------	----	---

**[0154]** Renhetsanalyse ble utført på en Angilent HP 100 serie system forsynt med en diodearraydetektor og ved bruk av ChemStation programvare v9. En av de to metodene detaljert nedenfor ble brukt.

## 5 Metode 1

### [0155]

Type metode	Omvendt fase med gradienteluering
Kolonne	Kromasil 5 mikrometer C18, 150 x 4,6 mm
Kolonnetemperatur (Celsius)	26
Injeksjon (mikroliter)	10
Detektering: bølgelengde, båndbredde (nm)	302,8
Strømningsrate (mL/min)	1,0

Fase A	0,0256 M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> +0,02 M 1-heksan sulfonsyre Na-salt		
Fase B	Acetonitril		
Timetabell:			
	Tid (min)	% fase A	% fase B
	0	90	10

	8	90	10
	40	10	90
	41	90	10
	49	90	10
	50	90	10

## Metode 2

**[0156]**

Type metode	Omvendt fase med gradienteluering									
Kolonne	Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 4,6 mm, 5 mikrometer									
Kolonnetemperatur (grader Celsius)	258									
Injeksjon (mikroliter)	5									
Detektering: bølgelengde, båndbredde (nm)	255,90									
Strømningsrate (mL/min)	1									
Fase A	0,1 % TFA i vann									
Fase B	0,085 % TFA i acetonitril									
Timetabell:	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tid (min)</th> <th>% fase A</th> <th>% fase B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>95</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> </tbody> </table>	Tid (min)	% fase A	% fase B	0	95	8	25	5	95
Tid (min)	% fase A	% fase B								
0	95	8								
25	5	95								

	25,2	95	5
	30	95	5

## Ionekromatografi

- 5 **[0157]** Data ble samlet på en Metrohm 861 Advanced Compact IC ved bruk av IC Net programvare v2.3. Prøver ble framstilt som 1000 ppm prøver i vann. Der prøveløseligheten var lav, ble det brukt et egnet løsningsmiddel i tillegg slik som DMSO. Prøver ble fortynnet til 50 ppm eller 100 ppm med et egnet løsningsmiddel før testing. Kvantifisering ble oppnådd ved sammenlikning med standardløsninger med kjent konsentrasjon for ionet som skulle analyseres.

## Ionekromatografiske metoder for anioner

**[0158]**

Type metode	Anionutveksling
Kolonne	Metrosep A Supp 5 - 250 (4.0 x 250 mm)
Kolonnetemperatur (grader Celsius)	Omgivelses
Injeksjon (mikroliter)	20

10

Type metode	Anionutveksling
Detektering	Ledningsevnedetektor
Strømningsrate (mL/min)	0,7
Eluent	3,2 mM natriumkarbonat, 1,0 mM natriumhydrogenkarbonat i vann

**[0159]**

Type metode	Kationutveksling
Kolonne	Metrosep C 2 - 250 (4,0 x 250 mm)
Kolonnetemperatur (grader Celsius)	Omgivelses
Injeksjon (mikroliter)	20
Detektering	Ledningsevnedetektor
Strømningsrate (mL/min)	1,0
Eluent	4,0 mM vinsyre 0,75 mM Dipicolinsyre i vann

**[0160]** Omlag 50 mg (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]okt-3-yl) benzofuran-2-karboksamid hydroklorid ble innveid i en glassampulle og varmet til 50 °C. 100 ml deler av 1-butanmol/vann (5 volum % vann) ble tilsatt til faststoffet inntil det ble dannet en klar løsning (500 ml totalt). Prøven ble omrørt i 50 °C i 1 time og det ble utført observasjoner. Etter oppvarming ved 50 °C i en time forble prøven en klar løsning og ble kjølt ned fra 50 °C til 25 °C ved en rate på 1.4 °C per time. Prøven forble en klar løsning ved avkjøling og ble dekket med parafilm, gjennomhullet og hensatt til inndamping ved omgivelsestemperatur. Etter 2 uker ble det observert store krystaller i den delvis inndampede prøven. Figur 13 er en XRPD av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]okt-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid som illustrerer både observerte (lysere) og beregnete (mørkere) mønstre.

**[0161]** Det eksperimentelle mønsteret er fra prøven med (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo [2.2.2]okt-3-yl) benzofuran-2-karboksamid monohydroklorid mens det beregnede eksemplet er fra den enkle krystall røntgenstrukturensom beskrevet her og skissert i figur 10A og 10B. Begge mønstrene er i overensstemmelse med hensyn til 2θ-verdier og mindre forskjell i intensiteter og toppbredder kan tilskrives instrumentoppløsning og foretrukne orienteringseffekter. Andre mindre forskjeller kan tilskrives et temperaturskifte på grunn av at de observerte data er samlet ved romtemperatur og beregnede data tatt fra en struktur ved 120K.

**[0162]** Tosylatsaltet, særlig det krystallinske monosaltet, ble bekreftet og diffraksjonsmønsteret er vist i Figur 14 ved bruk av CuKα-stråling (40kV, 40mA), θ-θ-goniometer, V20-divergens og mottaksspalter, en sekundær grafitt monokromator og en svingningsteller. Et XRPD- diffraktogram av tosylatsaltet etter 1 uke ved 40 °C/75%RH avslører en endring men prøven er fremdeles Form 1. Endringen er sannsynligvis grunnet en mer hydratisert form.

#### VII. Biologiske analyser

**[0163]** Forbindelse A og dens stereoisomerer sin evne til å bindes til og modulere funksjonen ved ulike NNR-undertyper ble evaluert som beskrevet i US patent 6,953,855 til Mazurov et al, hvis

innhold herved er tatt inn som referanse. Reseptorselectivitet som profilerer for Forbindelse A (inkludert 5HT3 og muscarinsyre) ble utført med NovaScreen<sup>®</sup> Biosciences Corporation.

**[0164]** Elektrofysiologisk måling av  $\alpha 7$  NNR-respons ble tatt i to ekspresjonssystemer: rotte  $\alpha 7$  NNR i pattedyr GH4C1-celler og humant  $\alpha 7$  NNR i *Xenopus* oocytter.

5 **[0165]** Cellene GH4C1 som uttrykker rotte  $\alpha 7$  NNR ble framstilt som beskrevet av Placzek et al., Mol. Pharm. 68 (6): 1863-1876 (2005). Elektrofysiologiske målinger av agonistaktivitet ble oppnådd ved bruk av Dynaflo raskt perfusjonssystem og patchklemme ved bruk av dette GH4C1 celleekspresjonssystemet. Både acetylkolin og nikotin produserte konsentrasjonsavhengig  
10 aktivering av  $\alpha 7$  mediert strøm. Agonist EC50 verdier fra litteraturen var sammenliknbare med de som ble oppnådd med bruk av denne metoden (se Dunlop et al. Biochem Pharmacol in press (2007) og Dynaflo online materials (www.cellelectricon.com)).

**[0166]** Hel-cellestrømmer registrert med en Axopatch 700A forsterker ble filtrert ved 1 kHz og samlet ved 5 kHz med et PCI-kort (National Instrument). Sammenliknet med tidligere studier ble saltløsningene modifisert som indikert for å øke den nåværende stabiliteten. Celler ble registrert  
15 ved romtemperatur i det etterfølgende ekstracellulære mediet: 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl<sub>2</sub>, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES. Justert til pH 7.4 med vandig NaOH. Borsilicatelektroder (3 - 5 M $\Omega$ ) ble fylt med følgende medium: 130 mM TRIS-fosfat, 5 mM NaCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM EGTA, justert til pH 7.4 med vandig KOH (se Wu et al., J. Physiol. 576:103-118 (2006)). Under disse betingelsene ble det oppnådd makrostrøm-aktivitet med NNR hel-celle registrering  
20 som varer opp til 60 min framkalt med 1000 mM acetylkolin (ACh) konsentrasjon.

**[0167]** Prosedyrer for cellehåndtering ble tilpasset fra Cellelectricon bruksnotater for Dynaflo. Etter fjerning fra inkubatoren, ble i korte trekk celler vasket grundig tre ganger med registreringsmedium og plassert på trinnet med et invertert Zeiss mikroskop. Gjennomsnittlig 5  
25 min var nødvendig før konfigureringen av hel-celleregistreringen var etablert. For å unngå modifisering av cellebetingelsene, ble det foretatt registrering av en enkelt celle per enkeltlast av celler til Dynaflo silikonbrikken. Det kunne ikke detekteres noen forskjeller i fraksjonen av responsive celler blant forsøksbetingelsene. Mer enn 95 % av cellene responderte på ACh, og hver celle som representerer en målbar strøm ble tatt i betraktning. Celler ble holdt ved -60 mV gjennom hele forsøket. Alle testløsninger ble framstilt daglig fra lagerløsninger. Frisk acetylkolin (ACh) lagerløsning ble laget daglig i Ringer's løsning og fortynnet. Dose/respons-kurver ble  
30 beskrevet med enkle Hill-likninger ved bruk av Prism 5.0 programvare.

**[0168]** *Xenopus*-oocytter som uttrykker humant  $\alpha 7$  NNR ble framstilt som beskrevet av Papke og Papke, Brit. J. Pharmacol. 137: 49-61 (2002). Voksne (>9 cm) hunn *Xenopus laevis* African padd (Nasco, Ft. Atkinson, WI) ble brukt som en kilde for oocytter. Før kirurgi ble paddene bedøvet ved  
35 å plassere dyret i en 1.5 g/L løsning av 3-aminobenzsyre-etylester i 30 min. Oocytter ble fjernet fra innsnitt tatt i buken.

**[0169]** For å fjerne det folliculære cellelaget, ble høstede oocytter behandlet med 1.25 mg/mL collagenase fra Worthington Biochemical Corporation (Freehold, NJ) i 2 timer ved romtemperatur i kalsium-fri Barth's løsning (88 mM NaCl, 1 mM KCl, 15 mM HEPES pH 7.6, 0.81 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.38  
40 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.1 mg/mL gentamicinsulfat). Deretter ble trinn 5 oocytter isolert og injisert med 50 nL (5-20 ng) hver med det humane  $\alpha 7$  cRNA. Det ble gjort registreringer 2 til 7 dager etter injisering. Frisk acetylkolin (ACh) lagerløsninger ble laget daglig in Ringer's løsning.

**[0170]** Det ble gjennomført forundersøkelse med OpusXpress 6000A (Axon Instruments, Union City CA). OpusXpress er et integrert system som gir automatisert sammenstilling og  
45 spenningsklemmer for opptil åtte oocytter parallelt. Både spennings- og strømlektroder ble fylt med 3 M KCl. Celler ble spenningsklemte ved et holdepotensiale på -60mV. Data ble samlet ved 50



Hz og filtrert ved 20 Hz. Celler ble bath-perfusert med Ringer's løsning, og agonistløsninger ble levert fra en 96-brønnet plate via engangspinner, som eliminerte enhver mulighet for forurensning mellom enhetene. Strømningsrater ble satt ved 2 mL/min. Medikamentanvendelser alternerte mellom ACh kontroller og eksperimentelle agonister. Anvendelser varte i 12 sekunder etterfulgt av 5 en 181 sekunder lang periode med utvasking.

**[0171]** Responser ble beregnet som nettoladning (se Papke og Papke, Brit. J. Pharmacol. 137: 49-61 (2002), som skissert foran) for  $\alpha 7$  reseptorer. Hver oocytte mottok en initial kontrollanvendelse av ACh, etterfulgt av en eksperimentell medikamentanvendelse, og deretter en oppfølgings kontrollanvendelse av ACh (300 mM). Responser på eksperimentelle medikamentanvendelser ble 10 beregnet i forhold til de forutgående ACh kontrollresponsene for å normalisere verdiene, og kompensere for de varierende nivå av kanalkuttrykking blant oocytterne. Legg merke til at 300 mM ACh framkalte maksimale nettoladningsresponser fra  $\alpha 7$  reseptorer slik at normalisering til ACh kontroller effektivt normaliserte verdiene til ACh sine maksimale responser. Gjennomsnitt og standardavvik (SEM) ble beregnet fra de normaliserte responsene for minst fire oocytter for hver 15 eksperimentell konsentrasjon. For konsentrasjons-respons-relasjoner, ble det plottet data mottatt fra nettoladnings-analyser ved bruk av Kaleidagraph 3.02 (Abelbeck Software; Reading, PA), og det ble laget kurver fra Hill-likningen.

**[0172]** Oppførselskarakterisering av Forbindelse A ble utført i henhold til følgende protokoller. Objektgjenkjenning (OR) oppgaven ble utført i henhold til beskrivelsen av Ennaceur og Delacour 20 Behav. Brain Res. 100: 85-92 (1988). Paradigmen med den radiale arm maze (RAM) ble utført i henhold til beskrivelsen av Levin et al., Behav. Pharm. 10: 675-680 (1999). Pre-pulse-inhiberingsanalyse (PPI) ble utført i henhold til beskrivelsen av Suemaru et al., Brit. J. Pharmacol. 142(5): 843-850 (2004). Reverseringen av apomorfin-indusert locomotoraktivitet (APO LOCO) ble utført i henhold til beskrivelsen av Roux et al., Curr. Protocols in Pharmacol. Unit 5.17 (1999).

25 Sammendrag av In Vitro biologisk aktivitet

**[0173]** Forbindelse A inhiberer fullstendig bindingen av radiomerket MLA til rottehjerne-hippocampus  $\alpha 7$  NNR med verdier for en likevektskonstant ( $K_i$ ) på -1 nM, som indikerer at det har svært høy affinitet for subtypen  $\alpha 7$  NNR. Stereoisomerene av Forbindelse A har følgende  $K_i$ -verdier ved rotte  $\alpha 7$  NNRs: 2R,3S (42 nM) [tidligere rapportert som 28 nM]; 2R,3R (1 nM); 2S,3S 30 (25 mM) (se Figur 1A). Som illustrert i Figur 1A2, Forbindelse A, 2S,3R enantiomer, oppviser en aktivitet ved  $\alpha 7$  subtypen i motsetning til dens tre enantiomere analoger, som er representert som overlappende punkter med svak aktivitet. Forbindelse A bindes ikke til  $\alpha 4$  2 NNR med noen signifikant aktivitet ( $K_i$ -verdier >2 mM).

**[0174]** Den funksjonelle aktivitet av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyclo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid og et farmasøytisk akseptabelt salt av samme (Forbindelse A) og dets 35 stereoisomerer ble undersøkt ved bruk av patch-klemmer elektrofysiologiske teknikker med rotte  $\alpha 7$  NNR uttrykt stabilt i GH4C1 (mammalian) celler. I disse forsøkene produserte Forbindelse A en markant forskjellig funksjonell profil sammenliknet med de andre individuelle isomerene og den rasemiske blandingen av alle fire isomerer. Som en kan se i figur 1A og 1B, er Forbindelse A langt 40 mer potent og effektiv ved framkalling av funksjonell respons ( $E_{max}$  = 93% relativt til acetylkolin (ACh);  $EC_{50}$  = 14 nM) enn noen av de andre isomerene eller blandingen av fire isomerer. Forbindelse A (2S,3R isomer) er den eneste isomer av N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyclo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid som er i stand til å gi potent agonisme 45 gjennom konsentrasjonsområdet på 1-50 nM, der 10 nM er forbundet med in vivo aktivitet som beskrevet her, som vist i Figur 1B.

**[0175]** Den funksjonelle aktivitet av Forbindelse A ble også evaluert elektrofysiologisk i *Xenopus* oocytter som transient uttrykker humant  $\alpha 7$  NNR. I dette systemet har Forbindelse A en  $EC_{50}$ -

verdi på 33 nM og  $eE_{max}$  på 100 % av ACh-respons. Det fantes reduksjoner i påfølgende kontrollresponser for ACh etter anvendelse av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid ved konsentrasjoner over 100 nM ( $IC_{50}$  = 200 nM). I motsetning til tidligere beskrevet  $\alpha 7$  fulle agonister (se Asties et al., *Current Drug Targets CNS Neurological Disorders* 1(4): 337-348 (2002), er separasjonsverdien mellom  $EC_{50}$  og  $IC_{50}$  for (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid indikert ved konsentrasjoner som produserer den halvmaksimale funksjonelle respons på  $\alpha 7$  fører til minimal heller enn full, residual inhibering. Det var ingen detekterbar aktivering når (2S, 3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid ble anvendt på oocytter som uttrykker den humane  $\alpha 4\beta 2$ -subtype og ingen vesentlige endringer i påfølgende kontrollresponser på ACh, som indikerer at (2S, 3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid verken er en agonist eller antagonist ved  $\alpha 4\beta 2$ .

**[0176]** Forbindelsene oppviste liten eller ingen agonistaktivitet i funksjonelle modeller som bærer muskeltype-reseptorer (en  $\alpha 1\beta 1\gamma \delta$  subtype i humane TE671/RD klonale celler), eller ganglion-type reseptorer ( $\alpha 3\beta 4$ -subtype i Shooter-subklon av rotte pheochromocytoma PC12 -celler og i humane SHSY-5Y klonale celler), som genererer  $\leq 10\%$  (human muskel),  $\leq 20\%$  (rotteganglion) og  $\leq 10\%$  (humant ganglion) av nikotinrespons ved disse subtypene. Disse verdiene indikerer selektivitet for CNS subtyper framfor PNS-subtyper.

**[0177]** På grunn av den nære sekvens og strukturelle homologi mellom  $\alpha 7$  og 5-hydroksytryptamin (5HT3) reseptorer og kryss-reaktivitet mot disse 2 reseptorer observert med andre nikotinligander, ble affiniteten av Forbindelse A for 5HT3-reseptorer undersøkt. Forbindelse A (10 mM) viste 59 % inhibering av radioligandbinding ved mus 5HT3-reseptor og 25 % inhibering ved den humane reseptor. Undersøkelse av funksjonell aktivering ved den humane 5HT3-reseptor foreslår minimal til ingen aktivering (det vil si at det ble oppnådd en maksimal respons på 15 % ved 100 mM).

**[0178]** Muscarinreseptorer er et annet område av interesse grunnet interaksjoner som har blitt observert med andre nikotinligander. Forbindelse A oppviser minimal til ingen interaksjon når undersøkt i konkurrerende bindingsinhibering for M1, M2, ikke-selektive sentrale og ikke-selektive perifere muscarinreseptorer.

**[0179]** Verdiene viser at Forbindelse A er selektiv for  $\alpha 7$  NNR-ligander. Forbindelse A bindes ikke godt ved disse subtypene av nikotinreseptor som er karakteristisk for det perifere nervesystemet eller ved muscarin- eller 5HT3-serotonergiske reseptorer. Forbindelse A innehar følgelig terapeutisk potensiale i behandling av sentralnervesystem-forstyrrelser uten å produsere bivirkninger forbundet med interaksjon med det perifere nervesystemet.

#### Sammendrag av In Vivo Biologisk aktivitet

**[0180]** Forbindelse A, (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid eller et farmasøytisk akseptabelt salt av samme, oppviser signifikant virkeevne i oppførselsmodeller modeller for kognisjon. Forbindelse A viste potent aktivitet i objektgjenkjenningparadigmen i rotter, etter både i.p. (intraperitoneal, Figur 3) og p.o. (oral, Figur 4) administrering, og viste dessuten aktivitet over et bredt doseintervall etter oral administrering (Figur 4). Administrert intraperitonealt ved de samme lave dosene (0.3 og 1 mg/kg) har Forbindelse A en tendens til å reversere MK-801-induserte svekkelser i OR-oppgaven (figur 5), og administrert oralt ved 0.3 mg/kg Forbindelse A sine kognitive effekter varer i minst 18 timer (Figur 6). I den radiale arm maze (RAM) (Figur 7) paradigmen som undersøker kortidsminne, økte Forbindelse A signifikant antall korrekte valg før feil. Disse resultatene viser potensiale for (2S, 3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid i behandling av kognitive svekkelser og lidelser forbundet med schizofreni, inkludert for korttidsminnet.

- [0181]** For at en forbindelse skal være egnet til behandling av den kognitive feil i schizofreni, må den ikke svekke effektene av klassiske eller atypiske antipsykotika mod de positive symptomer på schizofreni. Det tvinger seg følgelig fram at i tillegg til dens kognitiv-fremmende egenskaper, oppviser Forbindelse A også virkeevne i reversering av apomorfinitusert locomotoraktivitet (APO
- 5 LOCO) (Figur 8) og pre-pulsinhivering (PPI) (Figur 9) modeller på positive symptomer på schizofreni. (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3yl)benzofuran-2-karboksamid vil følgelig forventes å fremme en ekstra fordel mot de positive samt de kognitive symptomer forbundet med schizofreni.
- [0182]** De spesifikke farmakologiske responsene som observeres kan variere i henhold til og
- 10 avhengig av den spesifikke aktive forbindelse som er valgt eller hvorvidt det foreligger farmasøytiske bærere samt typen formulering og administreringsmåte, og slike forventede variasjoner eller forskjeller i resultatene er tatt med i betraktningen med praktisering av den foreliggende oppfinnelsen.

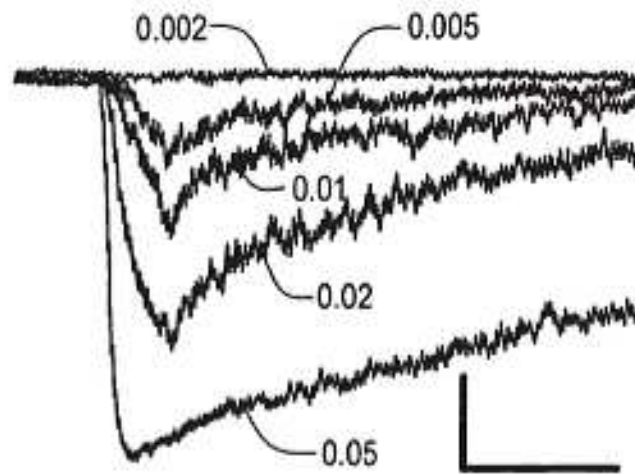
**Patentkrav**

1. Et (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme.
- 5 2. (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme.
3. Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1 eller 2 i framstillingen av et medikament for behandlingen eller forebygging av en forstyrrelse i sentralnervesystemet, inflammasjon, smerte, eller neovaskularisering.
- 10 4. Anvendelse av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme i framstillingen av et medikament for behandlingen eller forebygging av en sentralnervesystem-forstyrrelse, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering i  
15 en menneskelig pasient, der dosen av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme er fra 1 til 500 mg/24 timer/pasient.
5. Forbindelse ifølge krav 1 eller 2 for bruk i behandlingen eller forebygging av en  
20 sentralnervesystem-forstyrrelse, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering.
6. Et (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme for bruk i behandlingen eller forebygging av en sentralnervesystem-  
25 forstyrrelse, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering i en menneskelig pasient, der dosen av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme er fra 1 til 500 mg/24 timer/pasient.
- 30 7. Anvendelse i henhold til krav 4 eller en forbindelse for bruk i henhold til krav 6, der dosen er fra 1 til 300 mg/24 timer/human pasient.
8. Anvendelse av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et  
35 hydrat eller oppløsning av samme for fremstilling av et medikament for behandling eller forebygging av en sentralnervesystem-forstyrrelse, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering der dosen av (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et  
40 hydrat eller oppløsning av samme er mellom 10 mg/kg og mindre enn 100 mg/kg pasientvekt.
9. Et (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S,3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabisyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme for bruk i behandlingen eller forebygging av en sentralnervesystem-  
45 forstyrrelse, inflammasjon, smerte eller neovaskularisering der dosen av (2S,3R)-N-(2-((3-

pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme eller (2S, 3R)-N-(2-((3-pyridinyl)metyl)-1-azabicyklo[2.2.2]okt-3-yl)benzofuran-2-karboksamid mono-hydroklorid eller et hydrat eller oppløsning av samme er mellom 10 mg/kg og mindre enn 100 mg/kg pasientvekt.

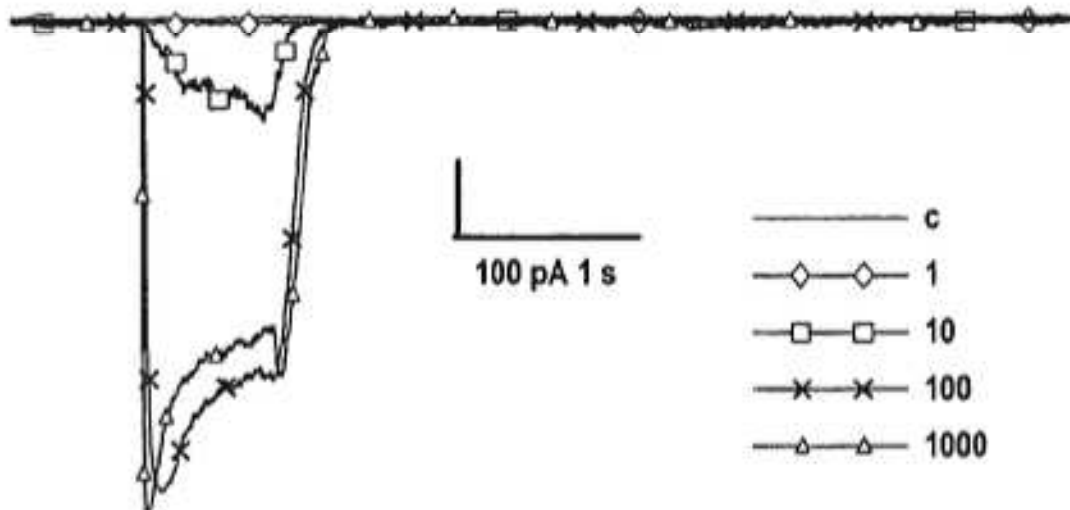
- 5 10. Anvendelse ifølge krav 3, 4, 7 eller 8 eller en forbindelse for bruk i henhold til krav 5, 6, 7 eller 9, der sentralnervesystem-forstyrrelsen er karakterisert ved en endring i normal neurotransmitterfrigjøring.
- 10 11. Anvendelse ifølge krav 3, 4, 7, 8 eller 10 eller en forbindelse for bruk i henhold til krav 5, 6, 7, 9 eller 10, der sentralnervesystem-forstyrrelsen er valgt fra mild kognitiv svekkelse, alders-relatert hukommelsestap, pre-senil demens, tidlig inntreden av Alzheimer's sykdom, senil demens, demens av Alzheimer's type, Alzheimer's sykdom, Lewy Body demens, mikroinfarkt-demens, AIDS-relatert demens, HIV-demens, multiple cerebrale infarkt, Parkinsonisme, Parkinson's sykdom, Pick's sykdom, progressiv supranuclear palsy, Huntington's chorea, tardiv dyskinesi, hyperkinesi, mani, oppmerksomhetsforstyrrelser, forstyrrelser i oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, 15 depresjon, dysleksi, schizofreni, kognitive lidelser ved schizofreni, depresjon, tvangsfyrrelser eller Tourette's syndrom.
- 20 12. Anvendelse ifølge et av kravene 3, 4, 7, 8, 10 og 11 eller en forbindelse for bruk i henhold til et av kravene 5, 6, 7, 9, 10 og 11, der sentralnervesystem-forstyrrelsen er valgt fra Alzheimer's sykdom, mani, oppmerksomhetssvekkelser, forstyrrelser i oppmerksomhet fra hyperaktivitet, angst, dysleksi, schizofreni, kognitive lidelser i schizofreni, depresjon, tvangsfyrrelser eller Tourette's syndrom.
- 25 13. Farmasøytisk blanding som omfatter en forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller en forbindelse for bruk i henhold til et av kravene 5, 6, 7, 9, 10, 11 og 12 og en eller flere farmasøytisk akseptable bærere.

### Forbindelse A i en 7 rotte GH4C1 cellelinje



Figur 1A.3

### En Ch i en 7 rotte GH4C1 cellelinje



Figur 1A.4

FIG. 1B

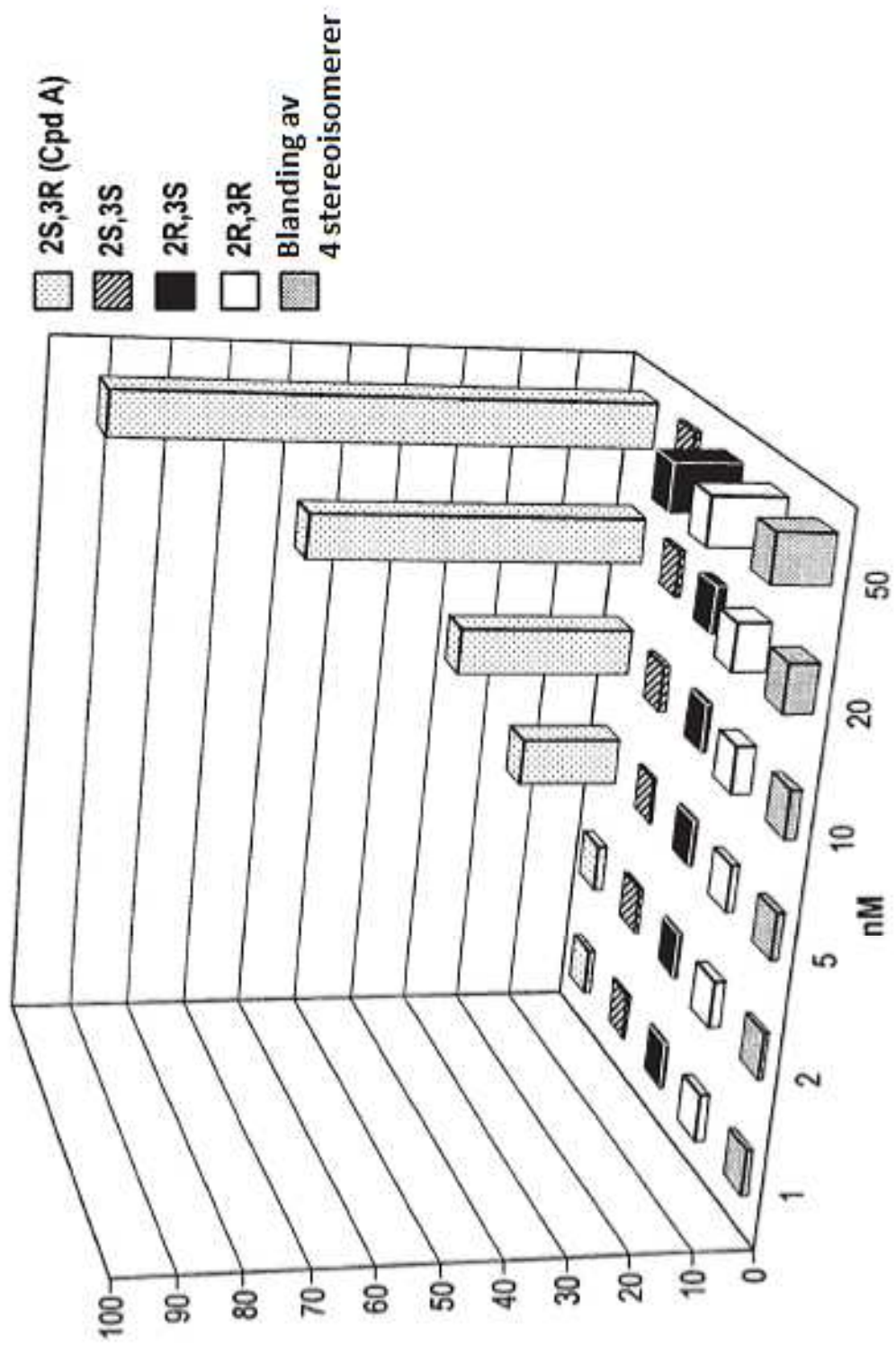


FIG. 2A

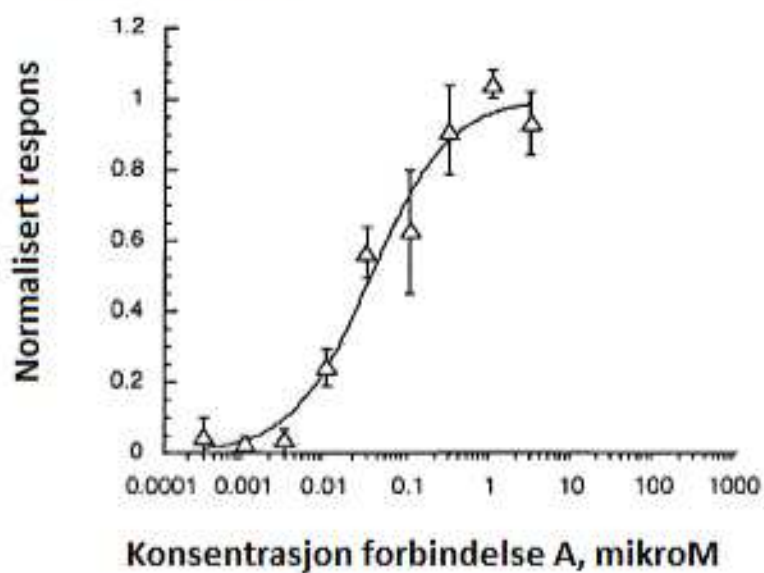
**A** alfa7-aktivering

FIG. 2B

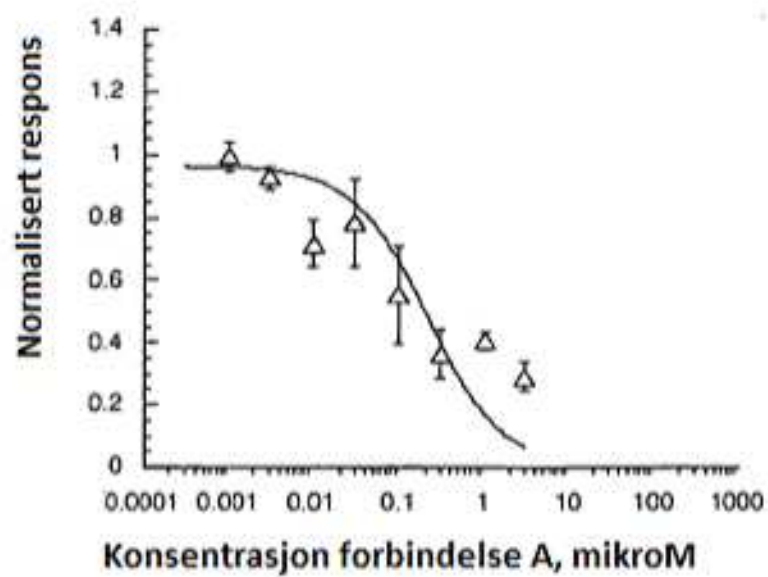
**E** Ach-kontroller etter bruk av forbindelse A



FIG. 3

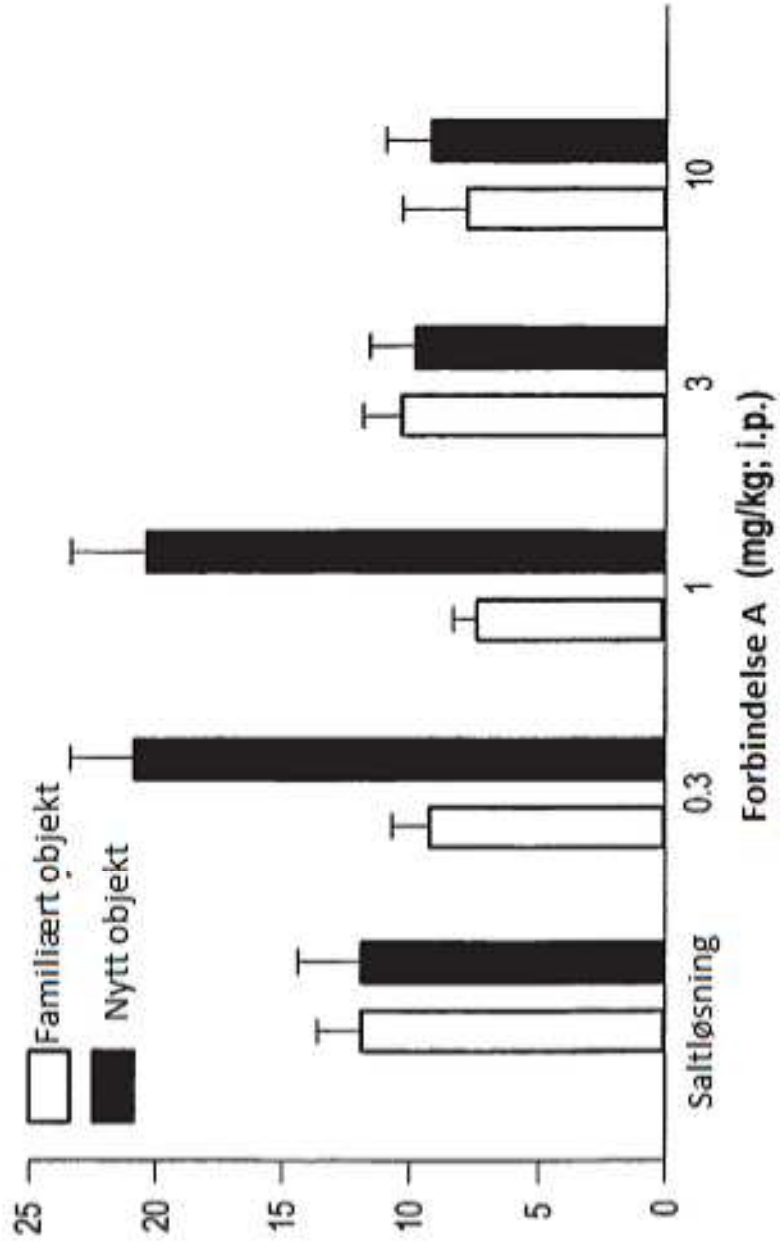


FIG. 4

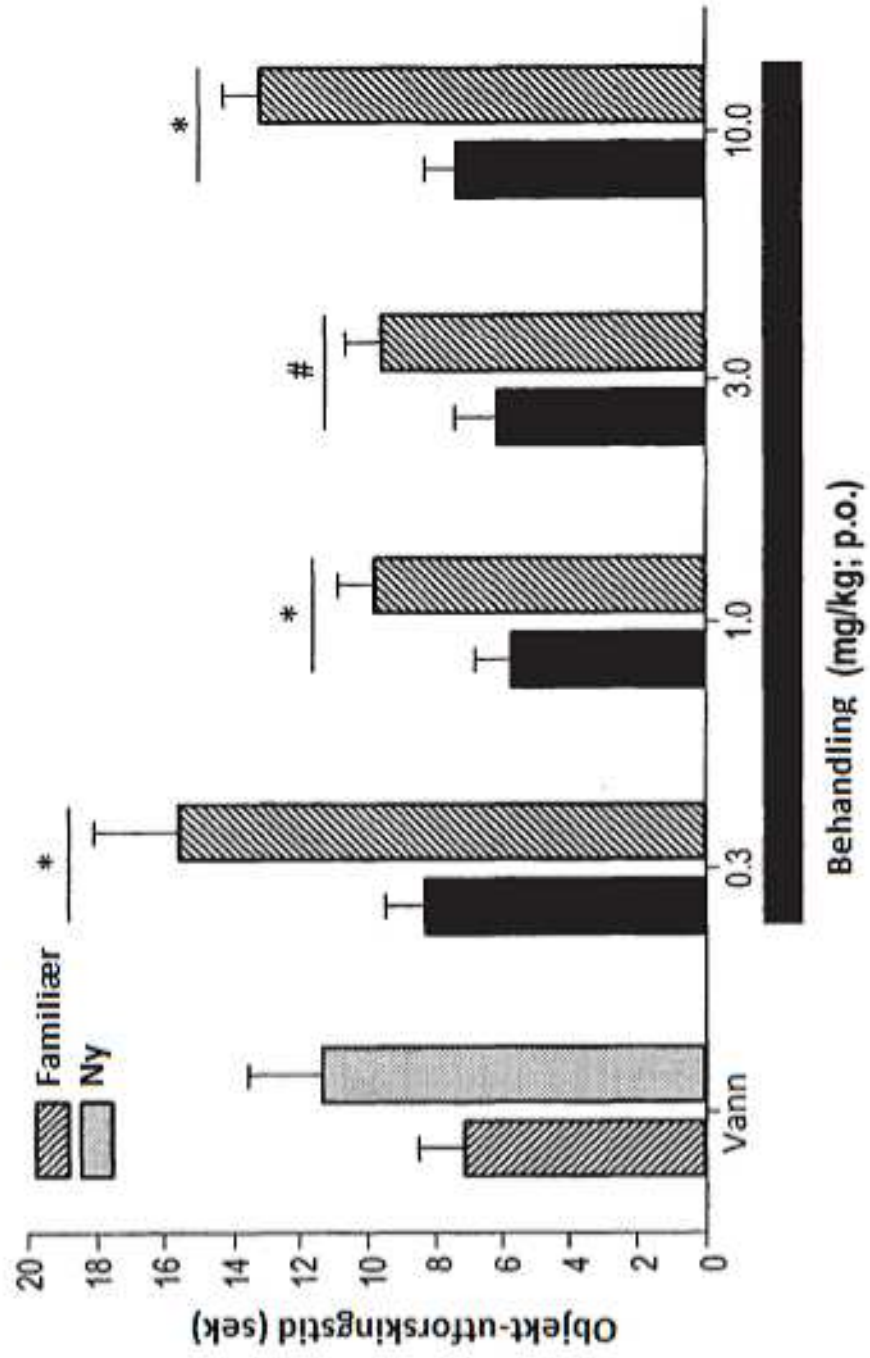


FIG. 5A

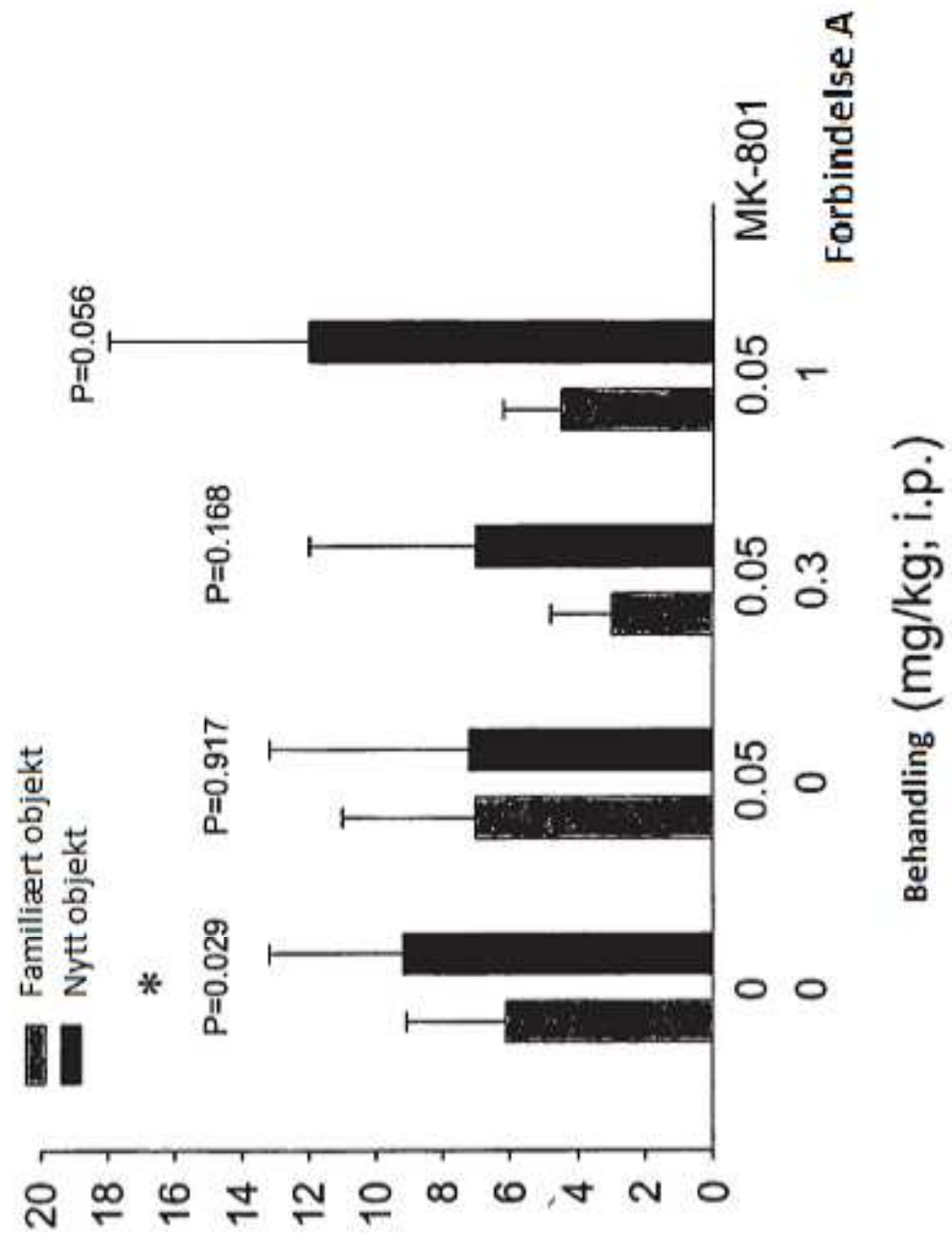


FIG. 5B

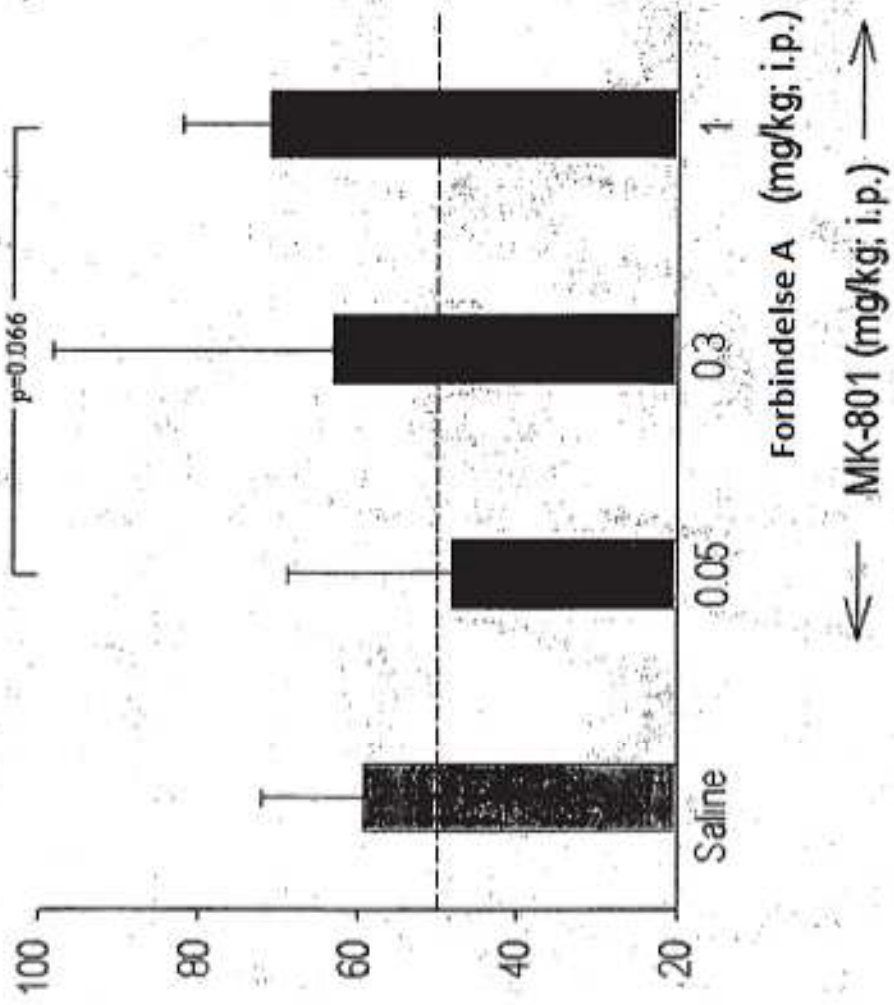


FIG. 6

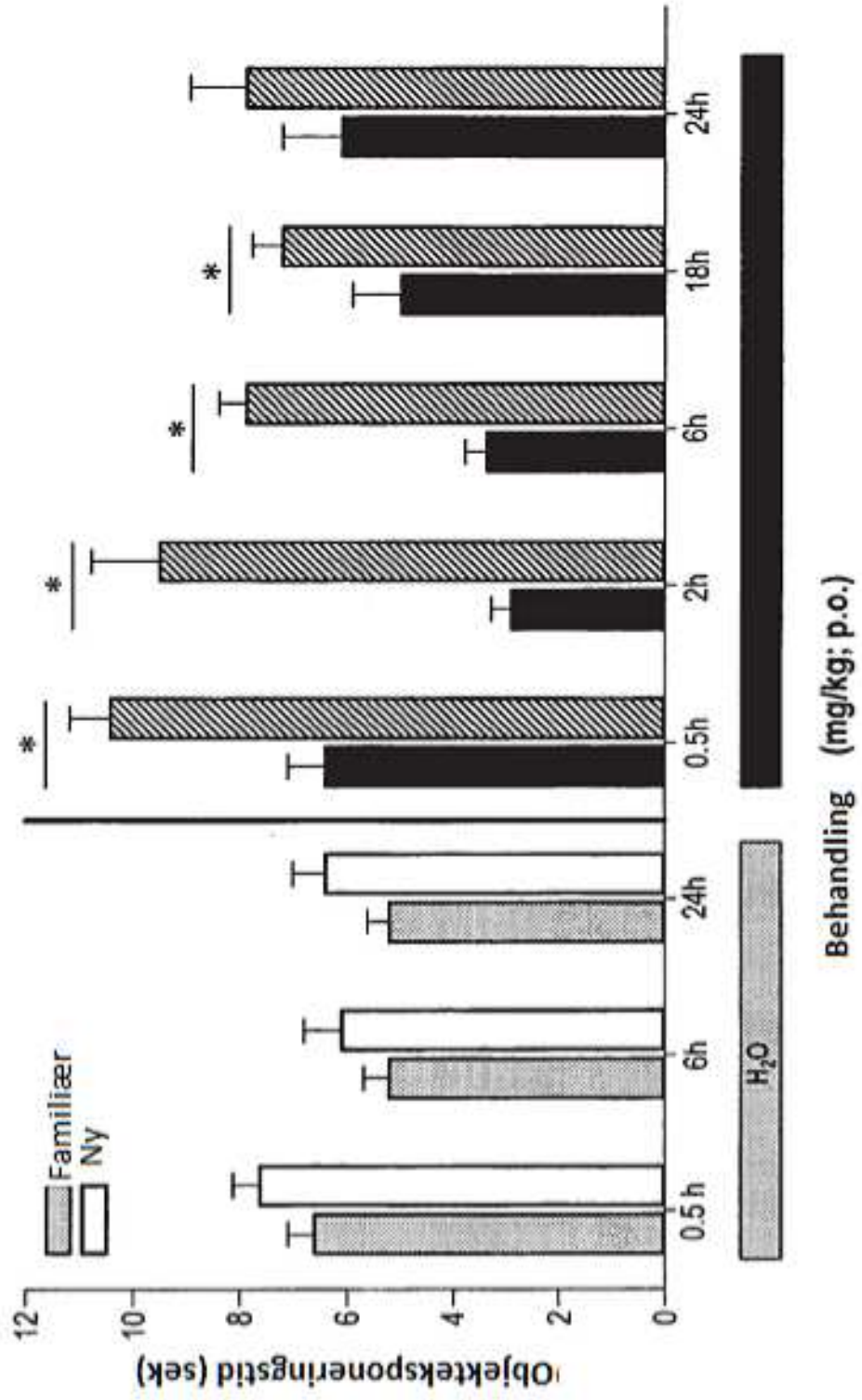


FIG. 7

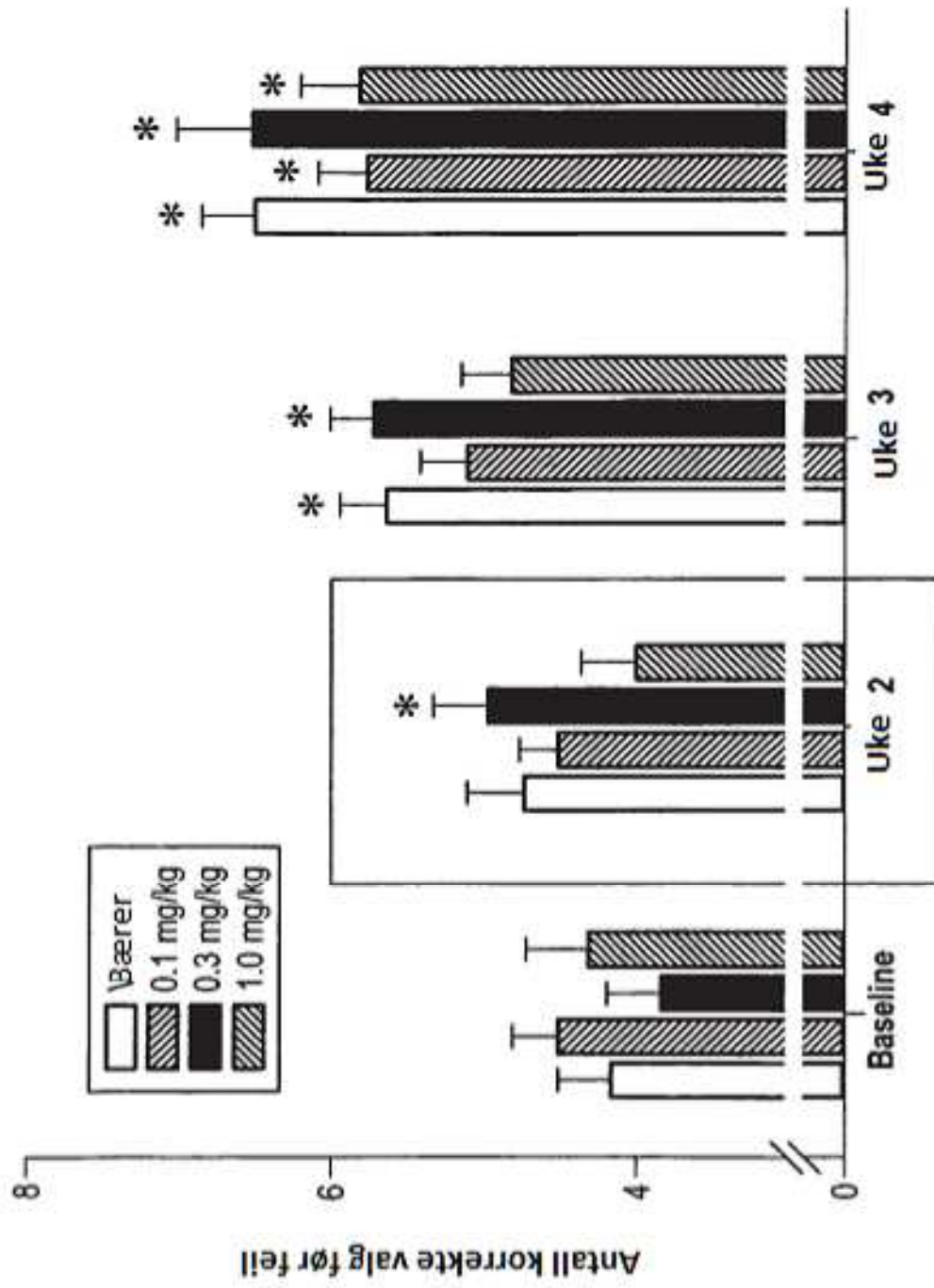


FIG. 8

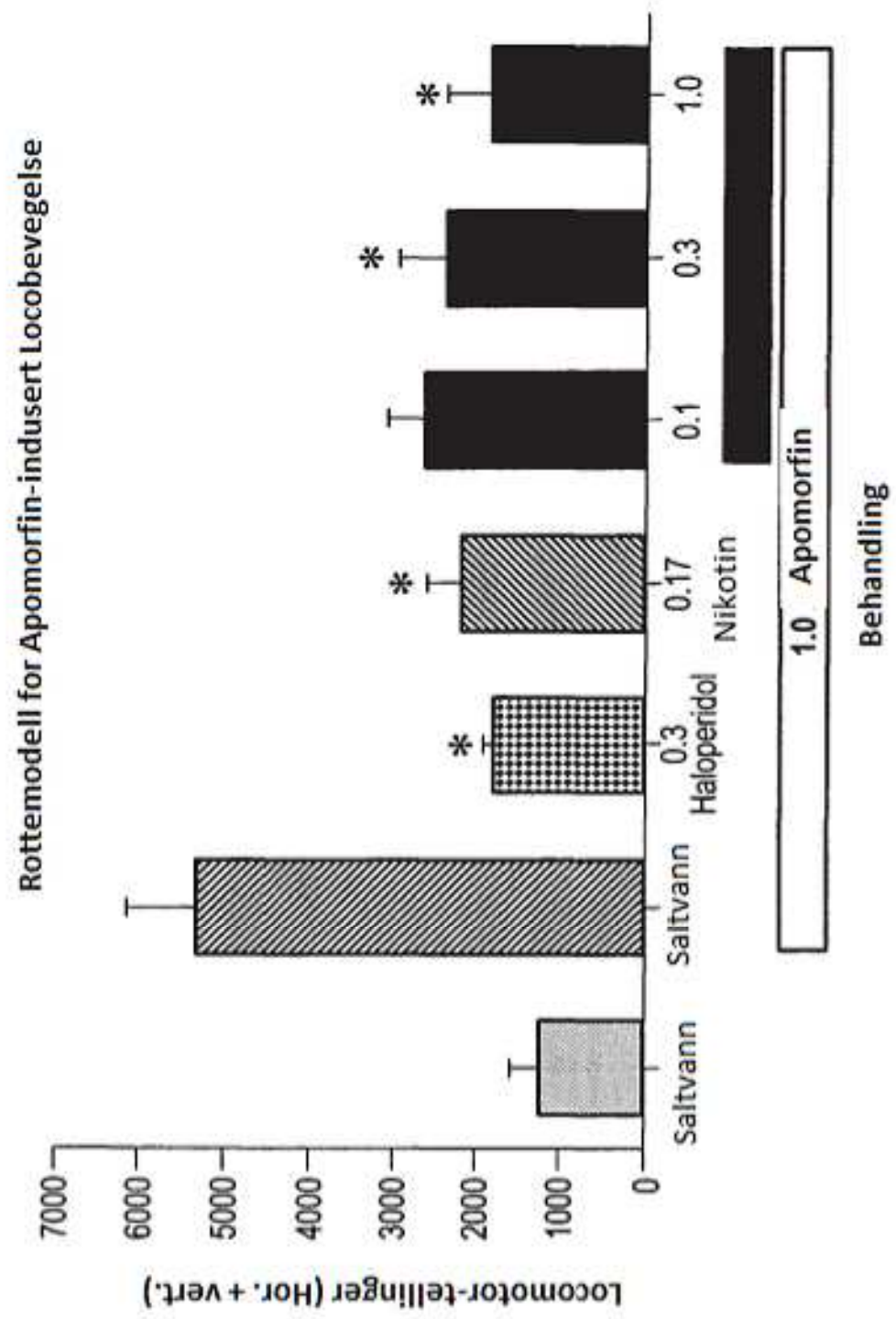
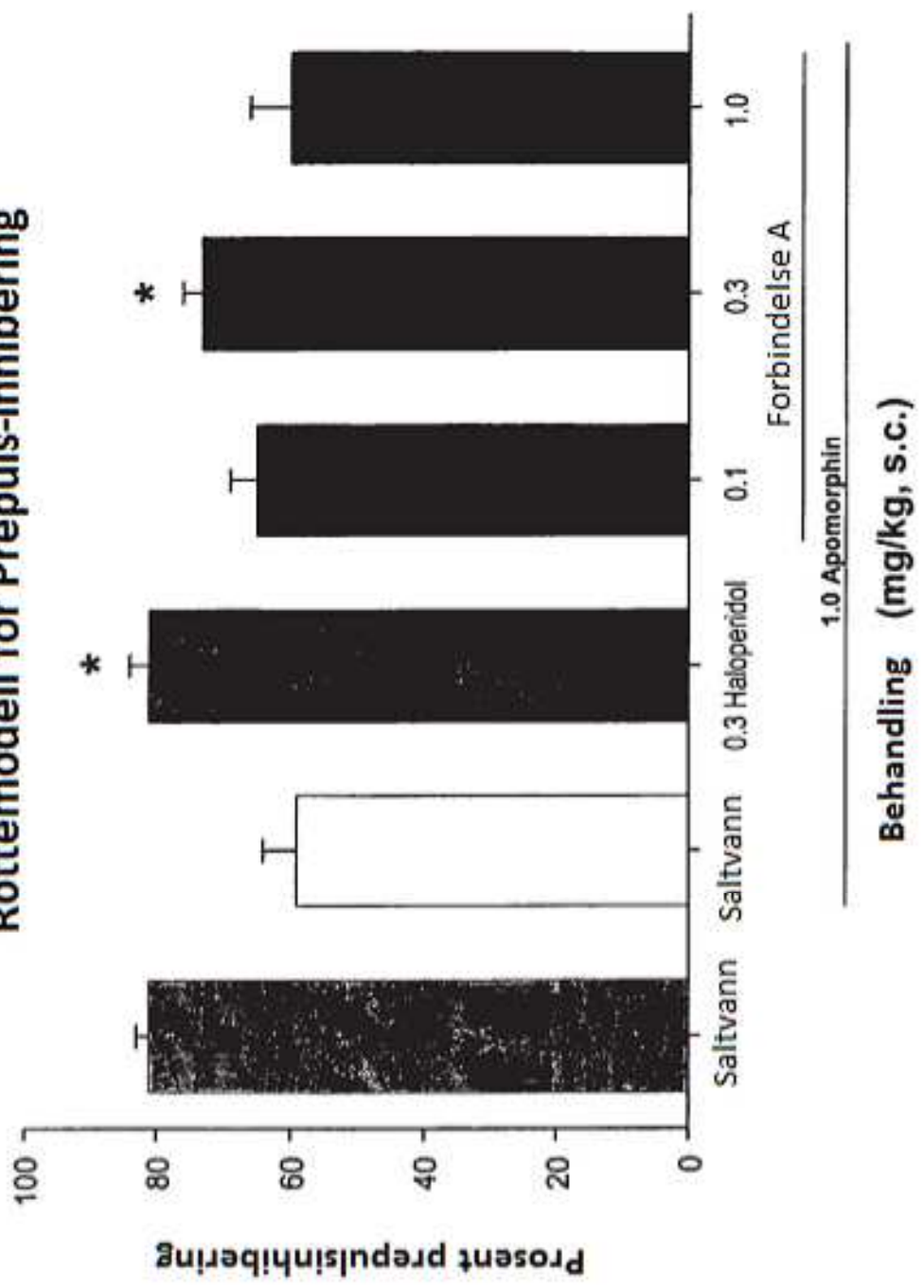


FIG. 9

### Rottemodell for Prepuls-inhibering



Signifikant forskjellig fra saltvann + 1,0 mg/kg Apomorfin, P < 0,05



FIG. 10A

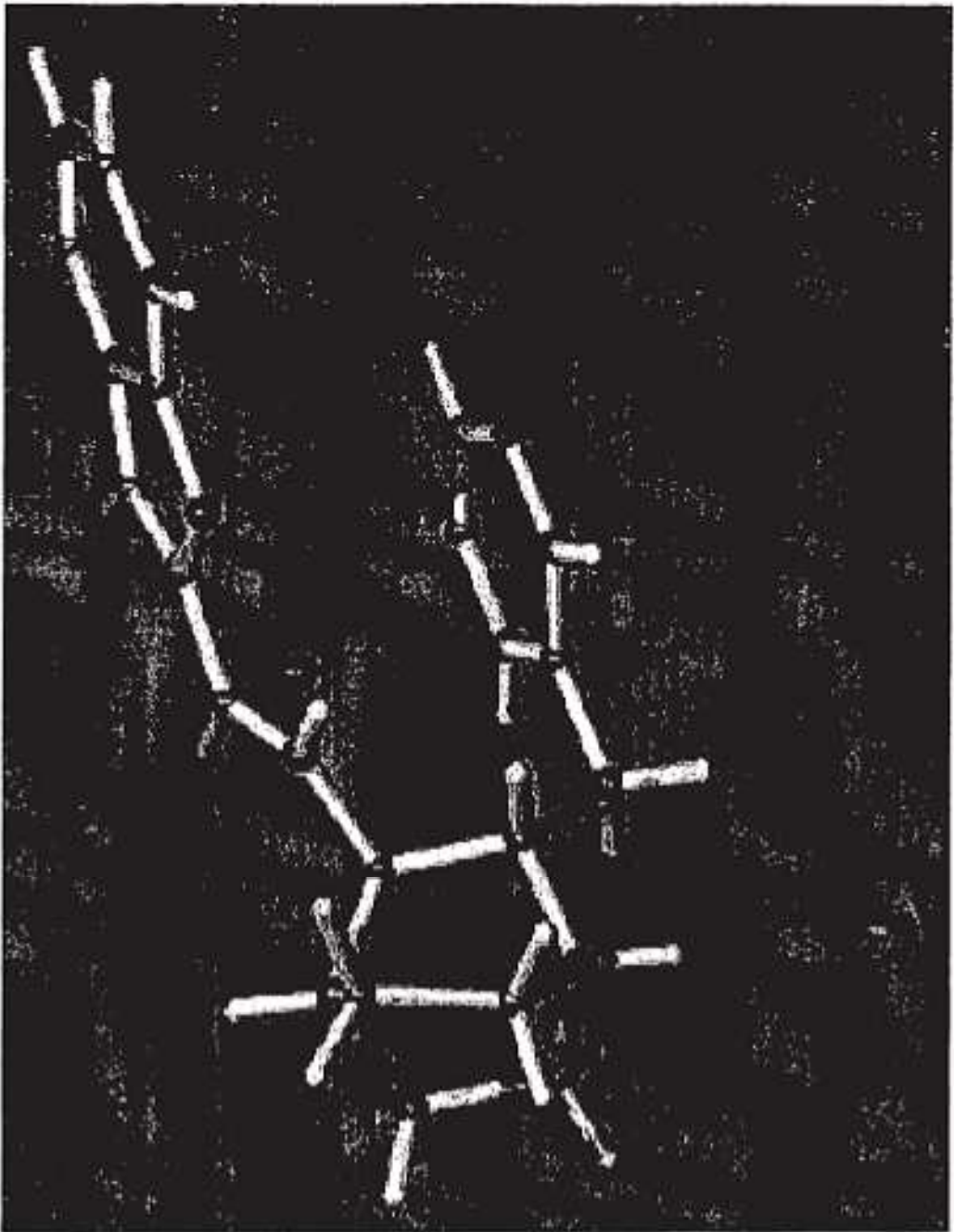


FIG. 10B

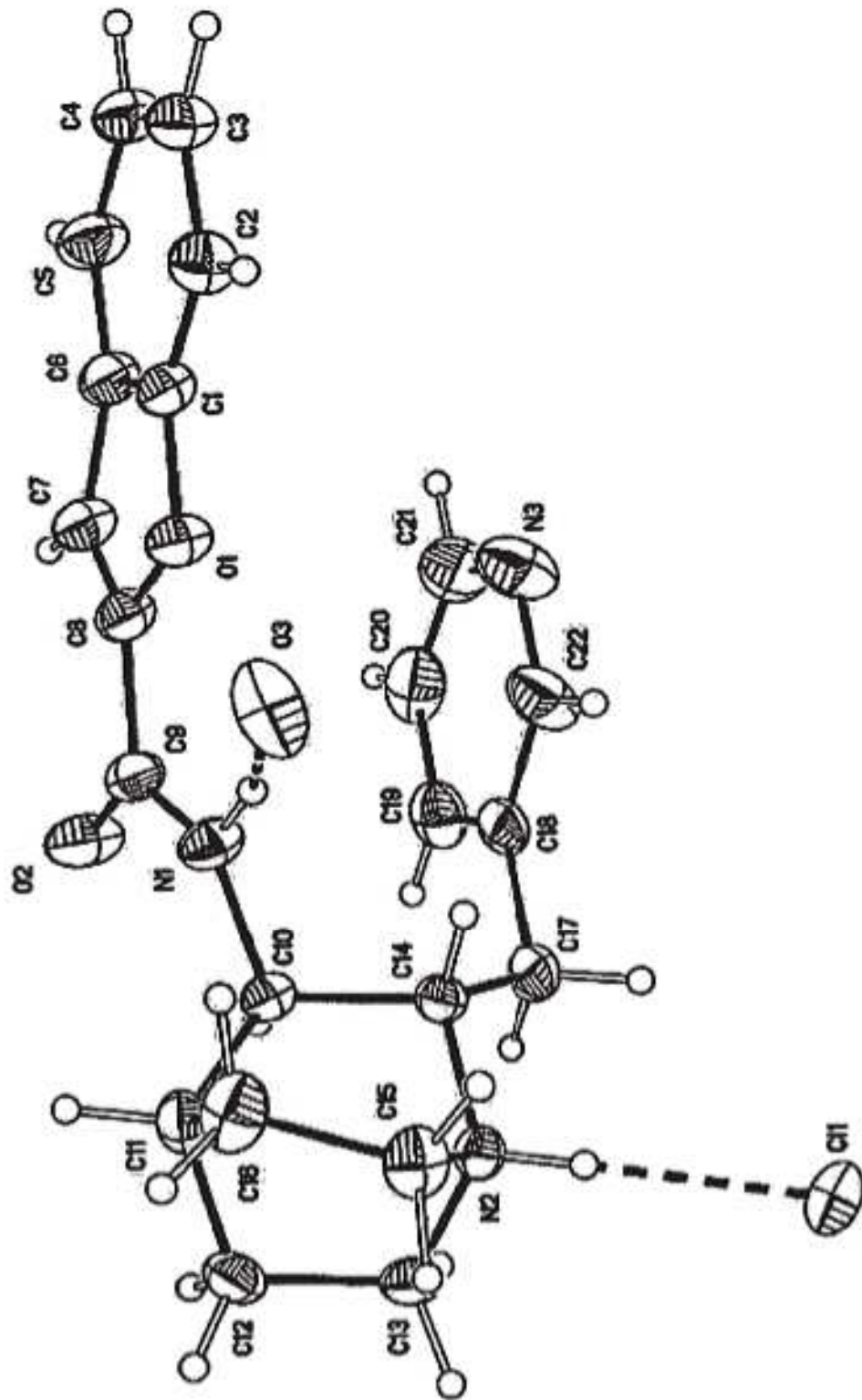


FIG. 11A

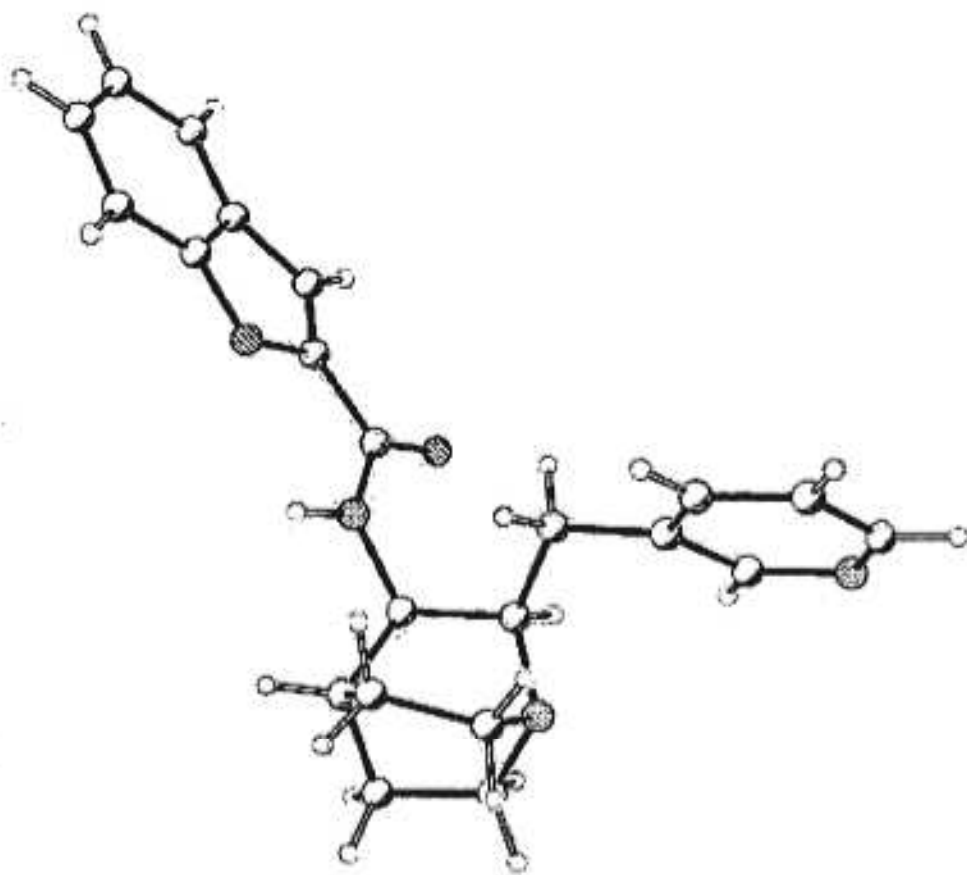


FIG. 11B

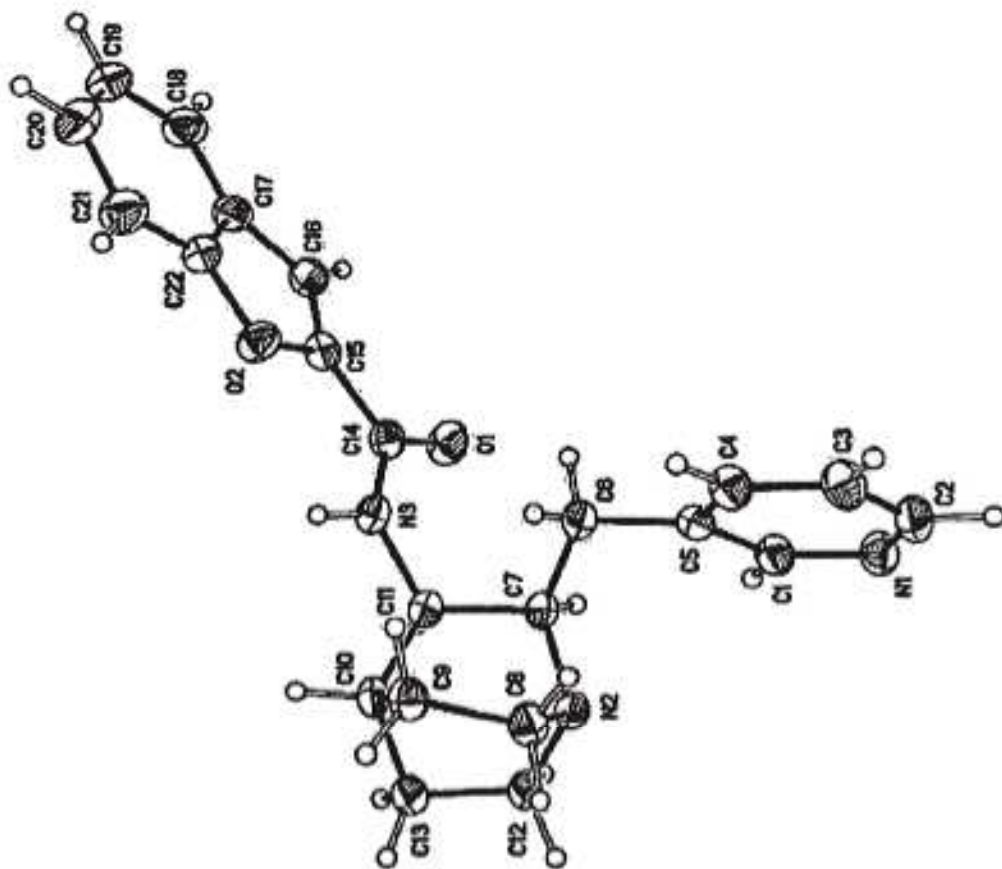


FIG. 12

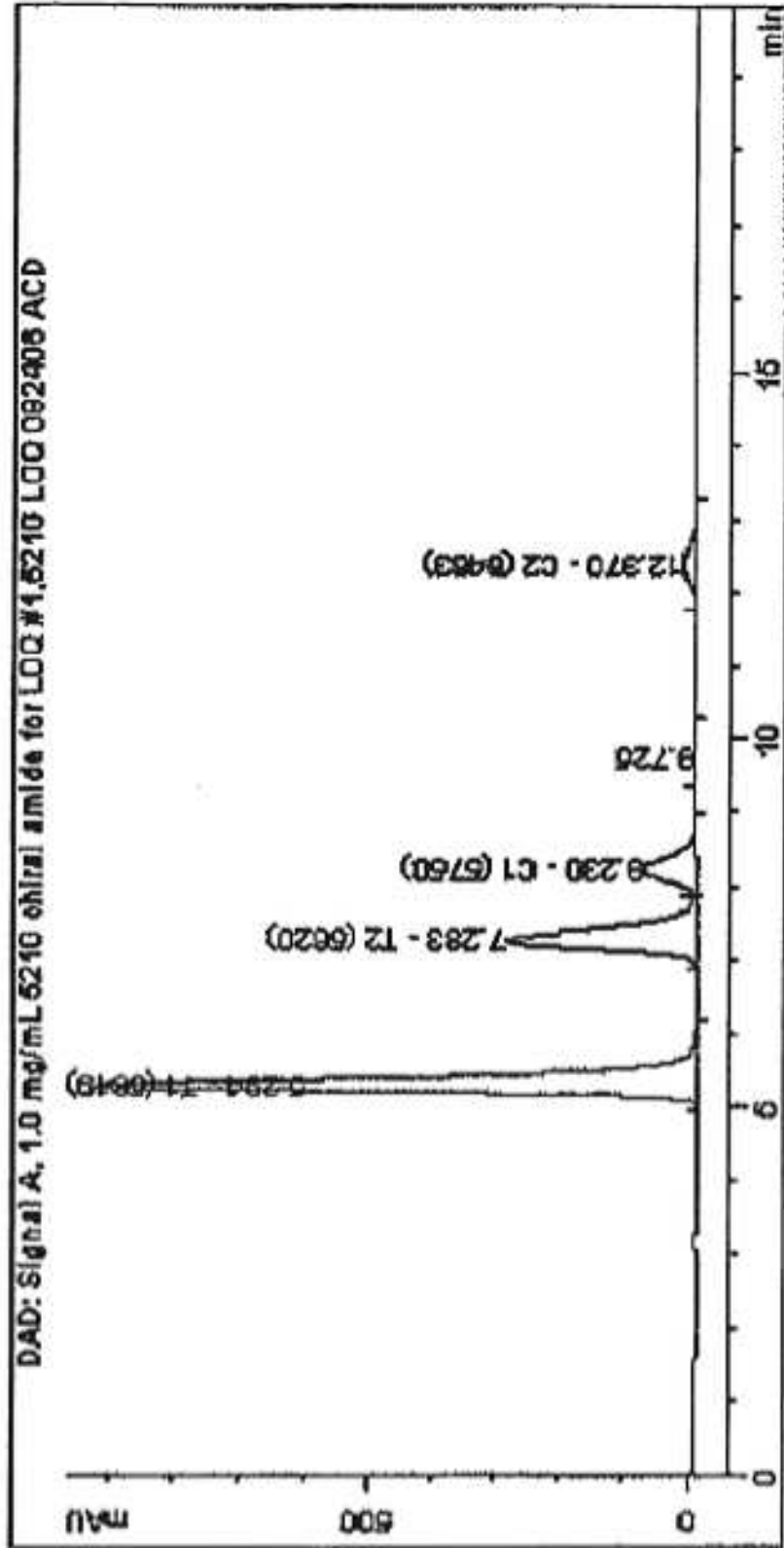


FIG. 13

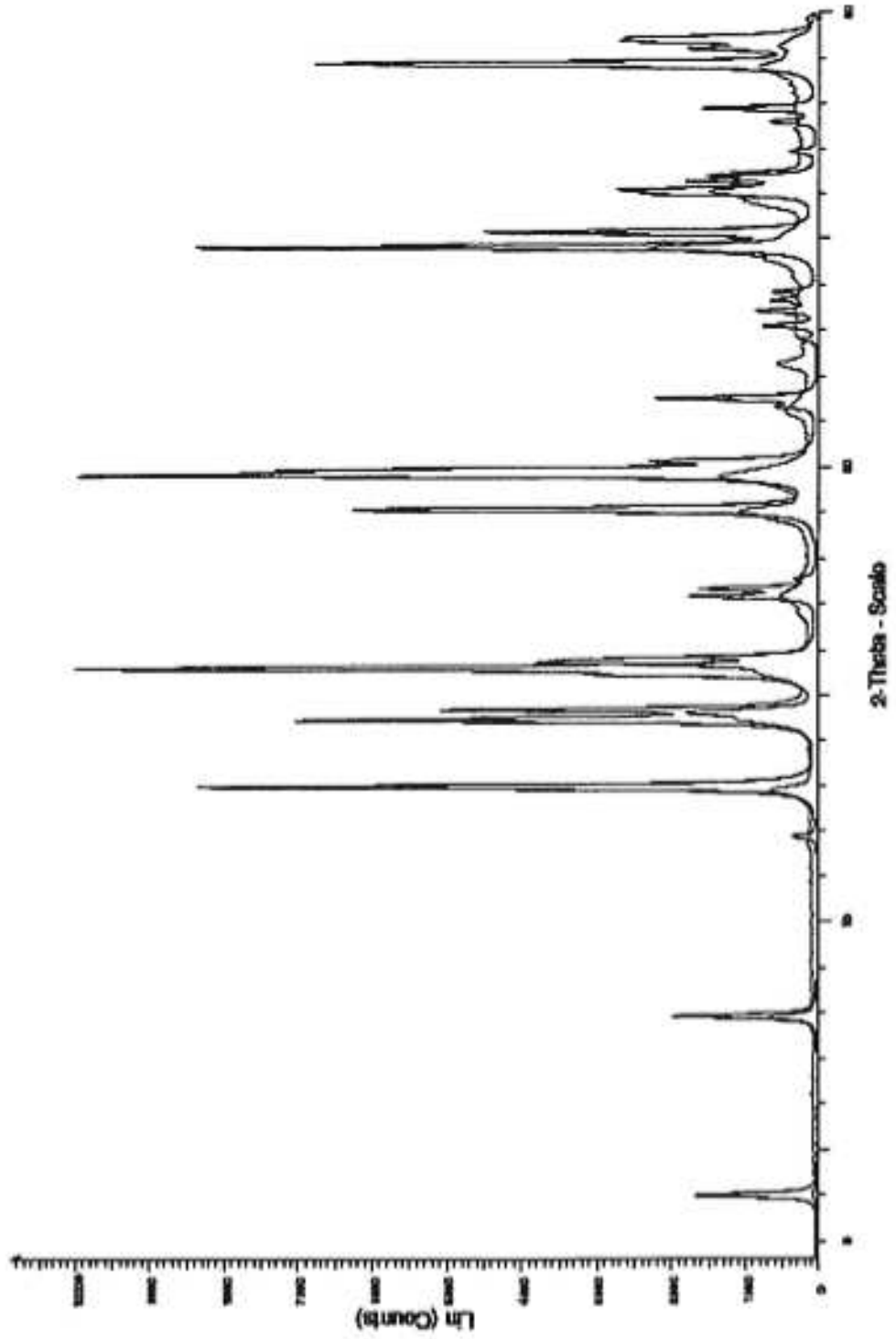


FIG. 14

