

(22) Data de pedido: **2006.05.24**

(30) Prioridade(s): **2005.05.25 US 684466 P**
2005.05.25 US 684478 P
2005.12.08 US 748415 P

(43) Data de publicação do pedido: **2008.03.19**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.11.30**
017/2012

(73) Titular(es):

THERAVANCE, INC.

901 GATEWAY BOULEVARD SOUTH SAN
FRANCISCO, CA 94080

US

(72) Inventor(es):

DANIEL MARQUESS

US

PAUL R. FATHEREE

US

SEOK-KI CHOI

US

LAN JIANG

US

ROBERT MURRAY MCKINNELL

US

(74) Mandatário:

ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO
RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS DE BENZIMIDAZOLE-CARBOXAMIDA COMO AGONISTAS DO RECEPTOR DE 5-HT4**

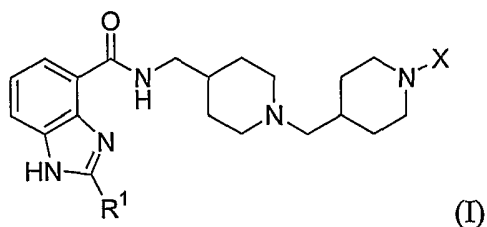
(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A COMPOSTOS DE BENZIMIDAZOLECARBOXAMIDA AGONISTAS DO RECEPTOR 5-HT4 DE FÓRMULA (I), EM QUE R1 E X SÃO COMO DEFINIDOS NA DESCRIÇÃO OU UM SEU SAL OU SOLVATO OU ESTEREOISÓMERO FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL. A INVENÇÃO TAMBÉM SE REFERE A COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO TAIS COMPOSTOS, MÉTODOS DE UTILIZAÇÃO DESSES COMPOSTOS PARA TRATAR DOENÇAS ASSOCIADAS À ACTIVIDADE DO RECEPTOR 5-HT4, E PROCESSOS E INTERMEDIÁRIOS ÚTEIS PARA PREPARAR TAIS COMPOSTOS. A INVENÇÃO REFERE-SE AINDA A FORMAS CRISTALINAS DE UM COMPOSTO DE FÓRMULA (I).

RESUMO

"COMPOSTOS DE BENZIMIDAZOLE-CARBOXAMIDA COMO AGONISTAS DO RECEPTOR DE 5-HT₄"

A invenção refere-se a compostos de benzimidazole-carboxamida agonistas do receptor 5-HT₄ de fórmula (I), em que R¹ e X são como definidos na descrição ou um seu sal ou solvato ou estereoisómero farmacêuticamente aceitável. A invenção também se refere a composições farmacêuticas compreendendo tais compostos, métodos de utilização desses compostos para tratar doenças associadas à actividade do receptor 5-HT₄, e processos e intermediários úteis para preparar tais compostos. A invenção refere-se ainda a formas cristalinas de um composto de fórmula (I).



DESCRIÇÃO

"COMPOSTOS DE BENZIMIDAZOLE-CARBOXAMIDA COMO AGONISTAS DO RECEPTOR DE 5-HT₄"

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Campo da Invenção

A invenção é dirigida a compostos de benzimidazole-carboxamida que são úteis como agonistas do receptor 5-HT₄. A invenção também é dirigida a composições farmacêuticas compreendendo tais compostos, a compostos para serem utilizados para tratar ou prevenir estados clínicos mediados pela actividade do receptor 5-HT₄, e a processos e intermediários úteis para preparar tais compostos.

Estado da Técnica

A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) é um neurotransmissor que está largamente distribuído ao longo do corpo, no sistema nervoso central e nos sistemas periféricos. Foram identificados pelo menos sete subtipos de receptores de serotonina e a interacção da serotonina com estes receptores diferentes está ligada a uma grande variedade de funções fisiológicas. Por conseguinte, tem existido um interesse considerável no desenvolvimento de agentes terapêuticos que visem subtipos específicos dos receptores 5-HT.

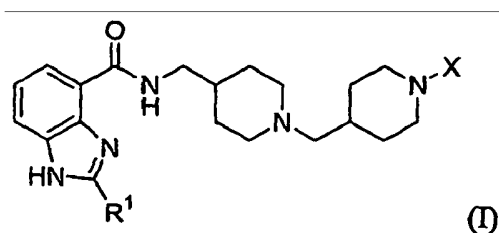
Em particular, a caracterização de receptores 5-HT₄ e a identificação de agentes farmacêuticos que interajam com estes mesmos tem sido o foco de actividade recente significativa. (Ver, por exemplo, o artigo de revisão de Langlois e Fischmeister, J. Med Chem. 2003, 46, 319-344 ou os documentos JP2004277318, WO2005/021539 e WO2004/026828 relacionados com agonistas de 5-HT₄). Os agonistas do receptor 5-HT₄ são úteis para o tratamento de distúrbios de mobilidade reduzida do aparelho gastrointestinal. Tais distúrbios incluem síndrome do intestino irritável (IBS), obstipação intestinal crónica, dispepsia funcional, esvaziamento gástrico retardado, doença de refluxo gastroesofágico (GERD), gastroparesia, vólvulo pós-operatório, pseudo-obstrução intestinal e trânsito retardado de origem medicamentosa. Além disso, foi sugerido que alguns compostos agonistas do receptor 5-HT₄ podem ser utilizados no tratamento de distúrbios do sistema nervoso central incluindo distúrbios cognitivos, distúrbios comportamentais, distúrbios de humor e distúrbios de controlo da função autónoma.

Apesar da grande utilidade dos agentes farmacêuticos que modulam a actividade do receptor 5-HT₄, poucos compostos agonistas do receptor 5-HT₄ são clinicamente utilizados no presente. Por conseguinte, existe uma necessidade de novos agonistas do receptor 5-HT₄ que alcancem os seus efeitos desejados com efeitos secundários mínimos. Entre outras propriedades, os agentes preferidos podem possuir selectividade, potência, propriedades farmacocinéticas e/ou duração de acção melhoradas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção proporciona novos compostos que possuem actividade agonista do receptor 5-HT₄. Entre outras propriedades, determinou-se que os compostos da invenção são agonistas potentes e selectivos do receptor 5-HT₄. Além disso, determinou-se que os compostos preferidos da invenção exibem propriedades farmacocinéticas favoráveis num modelo animal que são preditivas de boa biodisponibilidade por administração oral.

Por conseguinte, a invenção proporciona um composto de fórmula (I):



em que:

R¹ é alquiloC₃₋₅, opcionalmente substituído com -OH; e
X é seleccionado de

(a) -C(O)OR² em que R² é alquiloC₁₋₄ ou -(CH₂)_n-fenilo em que n é 0 ou 1;

(b) -C(O)R³ em que R³ é seleccionado de:

fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcóxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN, alquiloC₁₋₅,

cicloalquiloC₄₋₅, e

-(CH₂)_m-A em que m é 0 ou 1 e A é seleccionado de amino, furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetra-hidrofuranilo, piridinilo e naftalenilo;

(c) -C(O)NR⁴R⁵ em que R⁴ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃, e R⁵ é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ e -OCHF₂;

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ em que R⁶ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃ e R⁷ é hidrogénio, -OH ou alquiloC₁₋₃; ou R⁶ e R⁷ tomados em conjunto formam oxo ou -(CH₂)₂-; e R⁸ é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCBF₂ e -CN;

(e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ em que R⁹ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃ e R¹⁰ é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ e -OCHF₂; e

(f) -S(O)₂R¹¹ em que R¹¹ é seleccionado de alquiloC₁₋₃, -CH₂-fenilo, 2,4-dimetilisoxazolilo e fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN;

ou um seu sal ou solvato ou estereoisómero farmacêuticamente aceitável.

A invenção também proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um composto da invenção e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Noutro aspecto, a invenção proporciona um composto particular de fórmula (I) na forma cristalina de base livre. Determinou-se que o éster metílico do ácido 4-(4-[[2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil]-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino tem uma temperatura de fusão na gama de cerca de 145 °C até cerca de 155 °C, tipicamente entre cerca de 146 e cerca de 148 °C, uma temperatura de degradação acima de cerca de 240 °C, e exhibe alterações de peso inferiores a cerca de 0,25% quando exposto a uma gama de humidade relativa entre cerca de 2% e cerca de 90% à temperatura ambiente. Noutros aspectos da invenção também são proporcionadas formas cristalinas adicionais do éster metílico do ácido 4-(4-[[2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil]-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico.

Os compostos da invenção são úteis para tratamento de doenças ou estados associados à actividade do receptor 5-HT₄, e. g. um distúrbio de mobilidade reduzida do aparelho gastrointestinal, administrando ao mamífero, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto ou de uma composição farmacêutica da invenção.

Os compostos da invenção também podem ser utilizados como ferramentas de investigação, i. e. para estudar sistemas ou amostras biológicas, ou para estudar a actividade de outros compostos químicos. Assim, estes podem ser utilizados como uma ferramenta de investigação para estudar um sistema ou amostra biológico ou para identificar novos agonistas do receptor 5-HT₄, colocando em contacto um sistema ou amostra biológica com um composto da invenção e determinando os efeitos provocados pelo composto no sistema ou amostra biológica.

Em aspectos separados e distintos, a invenção também proporciona processos e intermediários de síntese aqui descritos, os quais são úteis para preparar compostos da invenção.

A invenção também proporciona um composto da invenção como aqui descrito para ser utilizado em terapia médica, bem como a utilização de um composto da invenção no fabrico de uma formulação ou medicamento para tratar doenças ou condições específicas associadas à actividade do receptor 5-HT₄, e. g. distúrbios de mobilidade reduzida do aparelho gastrointestinal, num mamífero.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Vários aspectos da presente invenção são ilustrados por referência aos desenhos apensos.

Figura 1 mostra um padrão de difracção de raios X de pós (PXRD) do éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I).

Figura 2 mostra um perfil de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) (perfil superior, eixo vertical direito) e um perfil de análise termogravimétrica (TGA) (perfil inferior, eixo vertical esquerdo) para o éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I).

Figura 3 mostra uma isotérmica dinâmica de absorção de humidade (DMS) para o éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I).

Figura 4 mostra um perfil de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) (perfil superior, eixo vertical direito) e um perfil de análise termogravimétrica (TGA) (perfil inferior, eixo vertical esquerdo) para o éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma II).

Figura 5 mostra um padrão de difracção de raios X de pós (PXRD) do éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma III).

Figura 6 mostra um perfil de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) (perfil superior, eixo vertical direito) e um perfil de análise termogravimétrica (TGA) (perfil inferior, eixo vertical esquerdo) para o éster metílico do ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma III).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A invenção proporciona novas benzimidazole-carboxamidas agonistas do receptor 5-HT₄ de fórmula (I) ou os seus sais ou solvatos ou estereoisómeros farmacologicamente aceitáveis. Os

seguintes substituintes e valores pretendem proporcionar exemplos representativos de vários aspectos desta invenção. Estes valores representativos destinam-se a definir ainda mais esses aspectos e não pretendem excluir outros valores ou limitar o âmbito da invenção.

Num aspecto específico da invenção, R^1 é alquiloC₃₋₅, opcionalmente substituído com -OH.

Noutro aspecto específico, R^1 é alquiloC₃₋₅.

Noutros aspectos específicos, R^1 é alquiloC₃₋₄; ou R^1 é isopropilo ou *terc*-butilo.

Noutro aspecto específico, R^1 é isopropilo.

Ainda noutros aspectos específicos, R^1 é 1-hidroxi-1-metiletilo ou 2-hidroxi-1-metiletilo.

Num aspecto específico, X é -C(O)OR² em que R² é alquiloC₁₋₄ ou -(CH₂)_n-fenilo em que *n* é 0 ou 1.

Noutro aspecto específico, X é -C(O)OR² em que R² é alquiloC₁₋₃ ou fenilo.

Noutros aspectos específicos, X é -C(O)OR² em que R² é metilo ou fenilo, ou em que R² é metilo.

Num aspecto específico, X é -C(O)R³ em que R³ é seleccionado de fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN; alquiloC₁₋₅; cicloalquiloC₄₋₅; e-(CH₂)_m-A em que *m* é

0 ou 1 e A é seleccionado de amino, furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetra-hidrofuranilo, piridinilo e naftalenilo.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, alcoxilo C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)R^3$ em que R^3 é alquilo C_{1-5} ou cicloalquilo C_{4-5} .

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)R^3$ em que R^3 é $-(CH_2)_m-A$ em que m é 0 e A é seleccionado de amino, furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetra-hidrofuranilo, piridinilo e naftalenilo.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo e $-CF_3$; furanilo; ou tiofenilo.

Ainda noutros aspectos específicos, X é $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, cloro, fluoro e $-CF_3$; ou R^3 é furan-2-ilo ou tiofen-2-ilo.

Num aspecto específico, X é $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio ou alquilo C_{1-3} , e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, alcoxilo C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ e $-OCHF_2$.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo.

Noutros aspectos específicos, X é $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 halo, ou com um fluoro ou cloro.

Num aspecto específico, X é $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃ e R^7 é hidrogénio, -OH ou alquiloC₁₋₃; ou R^6 e R^7 tomados em conjunto formam oxo ou $-(CH_2)_2-$; e R^8 é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^8 é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$.

Noutro aspecto específico, X é $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^8 é ciclo-hexilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$.

Ainda noutros aspectos específicos, X é $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio e R^7 é hidrogénio, -OH ou metilo; ou R^6 e R^7 tomados em conjunto formam oxo ou $-(CH_2)_2-$; e R^8 é fenilo ou

ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo; ou R⁸ é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, fluoro e cloro.

Num aspecto específico, X é -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ em que R⁹ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃, e R¹⁰ é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ e -OCHF₂.

Noutro aspecto específico, X é -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ em que R⁹ é hidrogénio ou metilo.

Noutros aspectos específicos, X é -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ em que R⁹ é hidrogénio ou metilo e R¹⁰ é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo, ou fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, fluoro e cloro.

Num aspecto específico, X é -S(O)₂R¹¹ em que R¹¹ é seleccionado de alquiloC₁₋₃, -CH₂-fenilo, 2,4-dimetilisoxazolilo e fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN.

Noutro aspecto específico, X é -S(O)₂R¹¹ em que R¹¹ é alquiloC₁₋₃, 2,4-dimetilisoxazolilo ou fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN.

Noutros aspectos específicos, X é $-S(O)_2R^{11}$ em que R^{11} é metilo ou fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo; ou com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, fluoro e cloro.

Num aspecto, a invenção proporciona um composto de fórmula (I) em que

R^1 é alquiloC₃₋₄; e

X é seleccionado de:

- (a) $-C(O)OR^2$ em que R^2 é alquiloC₁₋₃ ou fenilo;
- (b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo e $-CF_3$; furanilo; ou tiofenilo;
- (c) $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo;
- (d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio e R^7 é hidrogénio, $-OH$ ou metilo; ou R^6 e R^7 tomados em conjunto formam oxo ou $-(CH_2)_2-$; e R^8 é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo;
- (e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ em que R^9 é hidrogénio ou metilo e R^{10} é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo; e
- (f) $-S(O)_2R^{11}$ em que R^{11} é metilo ou fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo.

A invenção proporciona ainda um composto de fórmula (I) em que:

R^1 é isopropilo ou *terc*-butilo; e

X é seleccionado de:

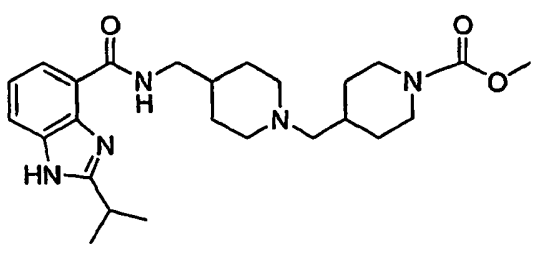
(a) $-C(O)OR^2$ em que R^2 é metilo ou fenilo;

(b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, cloro, fluoro e $-CF_3$; furan-2-ilo; ou tiofen-2-ilo; e

(c) $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 fluoro ou cloro.

Ainda noutros aspectos específicos, a invenção proporciona os compostos listados nos Exemplos e nos Quadros I a IX abaixo.

A convenção de nomenclatura química aqui utilizada é ilustrada para o composto de Exemplo 1:



o qual é designado como éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico, de acordo com o software AutoNom, fornecido por MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Alemanha). A estrutura de anel fundido "benzoimidazole" é

alternativamente designada "benzimidazole". Os dois termos são equivalentes como aqui utilizados.

Como exemplificado por compostos particulares listados nos quadros abaixo, os compostos da invenção podem conter um centro quiral. Por conseguinte, a invenção inclui misturas racémicas, estereoisómeros puros e misturas enriquecidas em estereoisómeros de tais isómeros, salvo indicação em contrário. Quando é mostrado um estereoisómero particular, será compreendido pelos especialistas na técnica, que podem estar presentes quantidades mais pequenas de outros estereoisómeros nas composições da invenção, salvo indicação em contrário, desde que qualquer utilidade da composição como um todo não seja eliminada pela presença desses outros isómeros.

Num aspecto, a invenção proporciona um composto seleccionado de:

éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

éster fenílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

{1-[1-(2-clorobenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2,4-difluorobenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(furano-2-carbonil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(tiofeno-2-carbonil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometilbenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-fenilcarbomoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

éster metílico do ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(3-metil-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; e

{1-[1-(4-fluorobenzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico.

Definições

Quando se descrevem os compostos, composições e métodos da invenção, os seguintes termos têm os significados seguintes, salvo indicação em contrário.

O termo "alquilo" significa um grupo hidrocarboneto saturado monovalente que pode ser linear ou ramificado ou associações destes. A menos que definido de outro modo, tais grupos alquilo contêm tipicamente desde 1 a 10 átomos de carbono. Os grupos alquilo representativos incluem, a título de exemplo, metilo (Me), etilo, *n*-propilo (*n*-Pr), isopropilo (iPr), *n*-butilo (*n*-Bu), *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo (tBu), *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, *n*-decilo e semelhantes.

O termo "alcoxilo" significa um grupo -O-alquilo monovalente, em que alquilo é definido como acima. Os grupos alcoxilo representativos incluem, a título de exemplo, metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo e semelhantes.

O termo "cicloalquilo" significa um grupo carbocíclico saturado monovalente, o qual pode ser monocíclico ou multicíclico. A menos que definido de outro modo, tais grupos cicloalquilo contêm tipicamente desde 3 a 10 átomos de carbono. Os grupos cicloalquilo representativos incluem, a título de exemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, ciclooctilo e semelhantes.

O termo "halo" significa fluoro, cloro, bromo ou iodo.

O termo "oxo" significa um átomo de oxigénio com ligação dupla (=O).

O termo "composto" significa um composto que foi preparado ou produzido sinteticamente por qualquer outra via, tal como por metabolismo.

O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" significa uma quantidade suficiente para realizar tratamento quando administrada a um doente necessitado de tratamento.

O termo "tratamento" como aqui utilizado significa o tratamento de uma doença, distúrbio ou estado clínico num doente, tal como um mamífero (particularmente um humano), o qual inclui:

- (a) prevenir a doença, distúrbio ou estado clínico de ocorrer, *i. e.*, tratamento profilático de um doente;
- (b) melhorar a doença, distúrbio ou estado clínico, *i. e.*, eliminando ou originando regressão da doença, distúrbio ou estado clínico num doente;
- (c) suprimir a doença, distúrbio ou estado clínico, *i. e.*, abrandando ou parando o desenvolvimento da doença, distúrbio ou estado clínico num doente; ou
- (d) aliviar os sintomas da doença, distúrbio ou estado clínico num doente.

O termo "sal farmacologicamente aceitável" significa um sal preparado a partir de um ácido ou base que é aceitável para administração a um doente, tal como um mamífero. Tais sais podem ser derivados de ácidos inorgânicos ou orgânicos farmacologicamente aceitáveis e de bases farmacologicamente aceitáveis. Tipicamente, os sais farmacologicamente aceitáveis dos compostos da presente invenção são preparados a partir de ácidos.

Os sais derivados de ácidos farmacologicamente aceitáveis incluem, mas não estão limitados a, ácido acético, adípico, benzenossulfónico, benzóico, canforsulfónico, cítrico,

etanossulfónico, fumárico, glucónico, glutâmico, bromídrico, clorídrico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanossulfónico, mícico, nítrico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenossulfónico, xifanóico (ácido 1-hidroxi-2-naftóico), naftaleno-1,5-dissulfónico e semelhantes.

O termo "solvato" significa um complexo ou agregado formado por uma ou mais moléculas de um soluto, *i. e.* um composto da invenção ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e uma ou mais moléculas de um solvente. Tais solvatos são tipicamente sólidos cristalinos possuindo uma proporção molar substancialmente fixa de soluto e solvente. Os solventes representativos incluem, a título de exemplo, água, metanol, etanol, isopropanol, ácido acético e semelhantes. Quando o solvente é água, o solvato formado é um hidrato.

Entender-se-á que o termo "ou um seu sal ou solvato de estereoisómero farmaceuticamente aceitável" destina-se a incluir todas as permutações de sais, solvatos e estereoisómeros, tal como um solvato de um sal farmaceuticamente aceitável de um estereoisómero de um composto de fórmula (I).

O termo "grupo de protecção de amino" significa um grupo de protecção adequado para prevenir reacções indesejadas num azoto amino. Os grupos de protecção de amino representativos incluem, mas não estão limitados a formilo; grupos acilo, por exemplo grupos alcanoílo, tal como acetilo; grupos alcoxicarbonilo, tal como *tert*-butoxicarbonilo (Boc); grupos arilmetoxicarbonilo, tais como benziloxicarbonilo (Cbz) e 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc); grupos arilmetilo, tais como benzilo (Bn), tritilo (Tr) e 1,1-di-(4'-metoxifenil)metilo; grupos sililo, tais como

trimetilsililo (TMS) e *terc*-butildimetilsililo (TBDMS); e semelhantes.

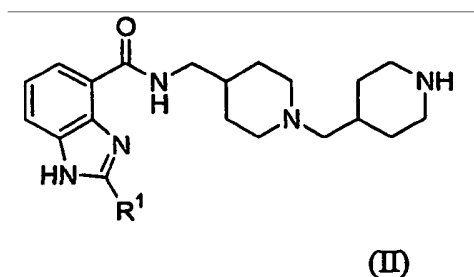
Procedimentos Gerais de Síntese

Os compostos da invenção podem ser preparados a partir de materiais de partida prontamente disponíveis utilizando os seguintes métodos e procedimentos gerais. Embora um aspecto particular da presente invenção seja ilustrado nos esquemas abaixo, os especialistas na técnica reconhecerão que todos os aspectos da presente invenção podem ser preparados utilizando os métodos aqui descritos ou utilizando outro métodos, reagentes e materiais de partida conhecidos dos especialistas na técnica. Entender-se-á também que onde forem dadas condições de processo típicas ou preferidas (*i. e.*, temperaturas, tempos, proporções molares de reagentes, solventes, pressões de reacção, etc.), também podem ser utilizadas outras condições de processo, salvo indicação em contrário. As condições reaccionais óptimas podem variar com os reagentes ou solvente particulares utilizados, mas tais condições podem ser determinadas por um especialista na técnica através de procedimentos de optimização de rotina.

Além disso, como será evidente para os especialistas na técnica, podem ser necessários grupos de protecção convencionais para impedir determinados grupos funcionais de sofrerem reacções indesejadas. A escolha de um grupo de protecção adequado para um grupo funcional particular, bem como as condições adequadas para protecção e desprotecção, são bem conhecidas na técnica. Por exemplo, numerosos grupos de protecção, e a sua introdução e remoção, são descritos em T. W. Greene e G. M. Wuts, *Protecting*

Groups in Organic Synthesis, Third Edition Wiley, Nova Iorque, 1999, e referências ali citadas.

Num método de síntese, os compostos de fórmula (I) são preparados fazendo reagir um intermediário de piperidinilmetil-piperidinilmetilo de fórmula (II):



com um reagente de fórmula (III):

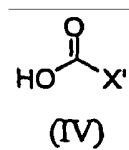
L-X (III)

em que L é um grupo de saída, por exemplo um halo, tal como cloro, ou um aciloxilo, éster sulfônico ou oxissuccinimida, e R¹ e X são definidos como na fórmula (I).

A reacção é tipicamente realizada colocando em contacto o intermediário (II) com entre cerca de 1 e cerca de 1,5 equivalentes de intermediário (III) num diluente polar aprótico, tal como diclorometano, na presença de pelo menos um equivalente de uma base de tipo amina, tal como *N,N*-diisopropiletilamina. Os diluentes inertes adequados para este processo e aqueles descritos abaixo, também incluem *N,N*-dimetilformamida, triclorometano, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetra-hidrofurano e semelhantes. As bases de tipo amina adequadas para os processos da presente invenção também incluem

triethylamina, piridina e semelhantes. A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 0 °C até cerca de 30 °C durante cerca de um quarto de hora até cerca de 2 horas, ou até a reacção estar substancialmente concluída. Os reagentes L-X ilustrativos, nos quais L é cloro, incluem cloroformato de metilo, cloroformato de fenilo, cloreto de clorobenzoílo e cloreto de metanossulfonilo.

Num método de síntese alternativo, compostos de fórmula (I), em que X é seleccionado de $-C(O)R^3$, $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ e $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, podem ser preparados pela reacção de acoplamento de amida de um intermediário de fórmula (II) com um ácido carboxílico de fórmula (IV):

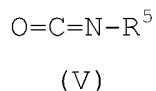


Na fórmula (IV), X' representa R^3 , $C(R^6R^7)R^8$ ou $C(HR^9)OR^{10}$, de tal forma que $-C(O)X'$ corresponde a X, como definido acima fórmula (IV). Na reacção de acoplamento de amida do intermediário (II), entre cerca de 1 e cerca de 1,5 equivalentes do ácido carboxílico (IV) são inicialmente postos em contacto com entre 1 e cerca de 1,5 equivalentes de um agente de acoplamento tal como hexafluorofosfato de O-(7-axabenzotrizol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurónio (HATU) num solvente polar aprótico tal como dimetilformamida ou os discutidos acima. A mistura ácida é em seguida posta em contacto com o intermediário (II) na presença de entre cerca de 2 e cerca de 4 equivalentes de uma base de tipo amina, por exemplo, N,N-diisopropiletilamina. A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 0 °C até cerca de 30 °C,

durante cerca de um quarto de hora até cerca de 2 horas, ou até a reacção estar substancialmente concluída.

Os agentes de acoplamento alternativos adequados incluem cloridrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 1,1'-carbonildiimidazole (CDI) 1,3 diciclohexilcarbodiimida (DCC) e hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidino-fosfónio (PyBop). Os agentes de acoplamento podem ser combinados com agentes promotores, por exemplo, 1-hidroxi-7-azabenzotriazole (HOAt), hidroxibenzotriazole (HOBt), ou 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO).

Ainda noutro processo alternativo; os compostos de fórmula (I) em que X é $-C(O)NHR^5$ podem ser preparados fazendo reagir um intermediário de fórmula (II) com um isocianato da forma:

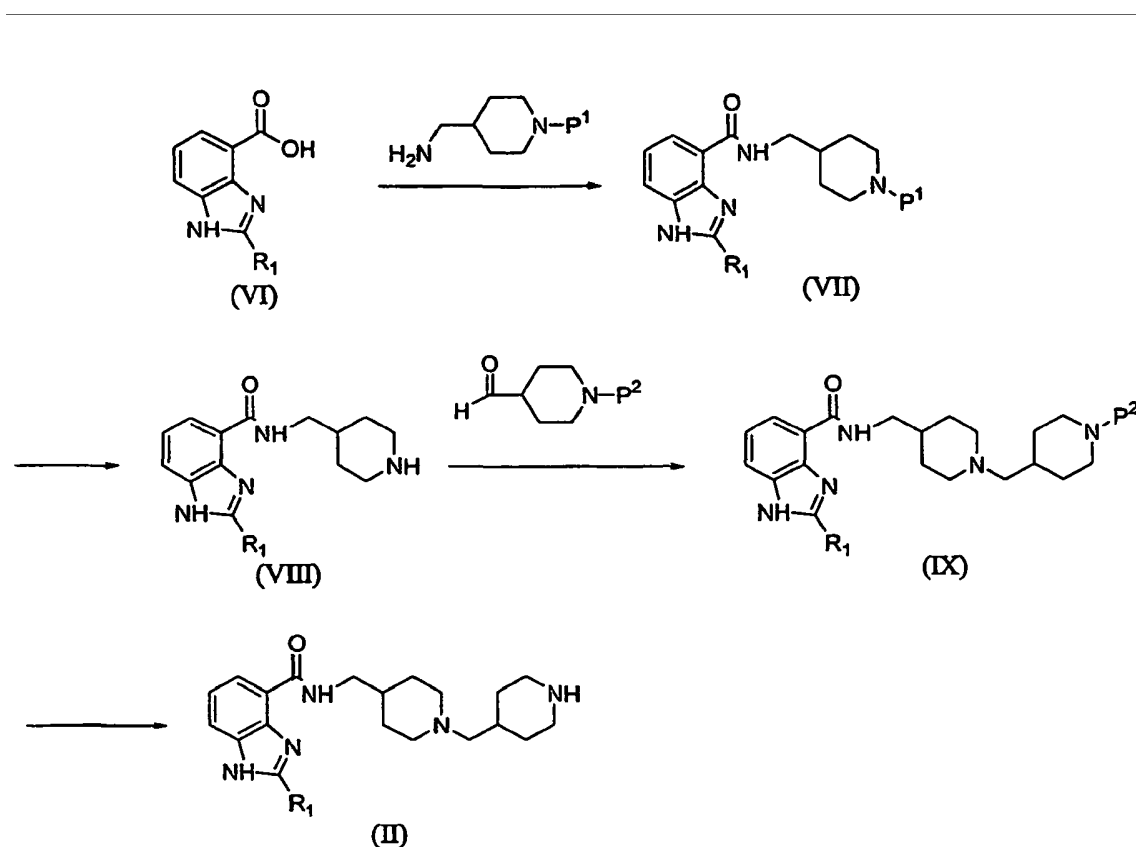


A reacção é tipicamente realizada colocando em contacto o intermediário (II) com entre cerca de 1 e cerca de 1,5 equivalentes de intermediário (V) num diluente polar aprótico na presença de entre cerca de 2 e cerca de 4 equivalentes de uma base de tipo amina. A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 0 °C até cerca de 30 °C durante cerca de um quarto de hora até cerca de 24 horas, ou até a reacção estar substancialmente concluída.

O produto de fórmula (I) é isolado e purificado por procedimentos convencionais. Por exemplo, o produto pode ser concentrado até à secura sob pressão reduzida e o resíduo purificado por HPLC cromatografia.

Os intermediários de piperidinilmetil-piperidinilmetilo de fórmula (II) são preparados a partir de materiais de partida prontamente disponíveis pelo procedimento ilustrado no Esquema A.

Esquema A



em que P^1 e P^2 representam independentemente um grupo de protecção de amino, tal como *tert*-butoxicarbonilo (Boc).

Em primeiro lugar, um ácido carboxílico de fórmula (VI) é feito reagir com uma aminometil-piperidina protegida para formar um intermediário protegido de Fórmula (VII). Esta reacção é tipicamente realizada colocando em contacto (VI) com entre cerca de 1 e cerca de 2 equivalentes de aminometilpiperidina protegida num diluente polar aprótico, na presença de um agente de

acoplamento de amida descrito acima, por exemplo cloridrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) combinado com hidroxibenzotriazole (HOBt) ou 1,1'-carbonildiimidazole (CDI) combinado com 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO) . A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 0 °C até cerca de 60 °C durante entre cerca de 1 e cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente concluída.

O grupo de protecção P¹ é removido do intermediário (VII) por meios convencionais para proporcionar o intermediário (VIII). Por exemplo, quando Boc é utilizado como grupo de protecção, este pode ser removido por tratamento com um ácido, tais como ácido trifluoroacético ou ácido clorídrico.

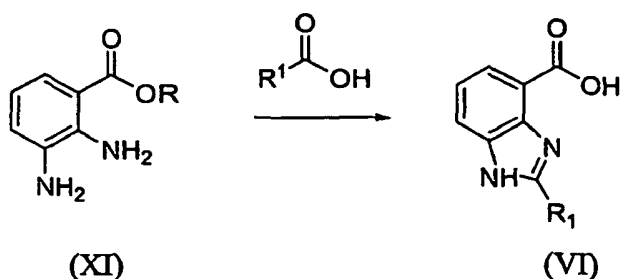
Em seguida é formado um intermediário de fórmula (IX) por aminação redutiva do intermediário (VIII) com um piperidina-carboxaldeído protegido. Esta reacção é tipicamente realizada colocando em contacto (VIII) com entre cerca de 1 e cerca de 2 equivalentes do piperidina-carboxaldeído protegido num diluente inerte na presença de entre cerca de 1 e cerca de 2 equivalentes de um agente de redução. Opcionalmente pode ser incluído cerca de um equivalente de um ácido fraco, tal como ácido acético para acelerar a reacção. A reacção pode ser realizada a uma temperatura entre cerca de 0 °C e cerca de 30 °C, tipicamente entre cerca de 20 °C e cerca de 30 °C, durante cerca de 0,25 até cerca de 2 horas, ou até a reacção estar substancialmente concluída.

Os diluentes inertes adequados incluem diclorometano, triclorometano, 1,1,2,2-tetracloroetano e semelhantes. Os agentes de redução típicos incluem triacetoxiboro-hidreto de sódio, boro-hidreto de sódio e cianoboro-hidreto de sódio. O

produto (IX) é isolado por procedimentos habituais. Quando a amina (VIII) é fornecida como um sal de ácido, é tipicamente incluído na reacção entre cerca de 1 e cerca de 3 equivalentes de uma base de tipo amina, tal como *N,N*-diisopropiletilamina. Finalmente, o grupo de protecção P² é removido a partir do intermediário (IX) por procedimentos convencionais para proporcionar o intermediário de piperidinilmetil-piperidinilmetilo (II).

Um ácido carboxílico de fórmula (VI) pode ser preparado a partir de um ácido ou éster diaminobenzóico pelo processo ilustrado no Esquema B:

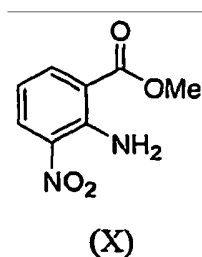
Esquema B



em que R representa metilo ou hidrogénio. O intermediário (XI) é feito reagir com um ácido carboxílico R¹C(O)OH para formar o ácido intermediário (VI). Esta reacção é tipicamente realizada colocando em contacto o ácido ou éster (XI) com entre cerca de 2 e cerca de 4 equivalentes do ácido carboxílico R¹C(O)OH numa solução aquosa ácida. A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 80 °C, até cerca de 100 °C durante cerca de 12 até cerca de 72 horas. O pH da solução é

então aumentado por adição de base, tal como hidróxido de sódio, e o produto isolado por meios convencionais.

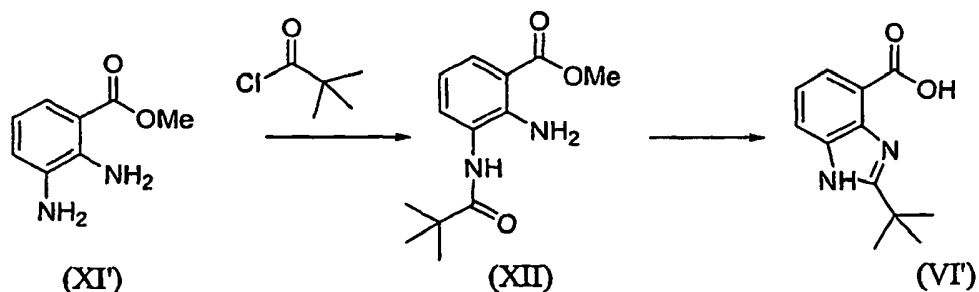
Um processo conveniente para proporcionar o intermediário (XI) como o éster metílico utiliza o éster metílico do ácido 2-amino-3-nitrobenzóico (X):



como o material de partida. Tipicamente, éster metílico do ácido 2-amino-3-nitrobenzóico (X) é dissolvido num diluente polar e reduzido por exposição a uma atmosfera de hidrogénio na presença de um catalisador de metal de transição para proporcionar o éster metílico do ácido diaminobenzóico (XI). A reacção é tipicamente realizada à temperatura ambiente durante cerca de 12 até cerca de 72 horas.

Quando o substituinte R^1 é estericamente volumoso, como por exemplo, quando R^1 é *terc*-butilo, o ácido *terc*-butilbenzimidazole-carboxílico (VI') pode ser preparado pela conversão do éster metílico (XI') de acordo com um processo de dois passos, como ilustrado, por exemplo, no Esquema C:

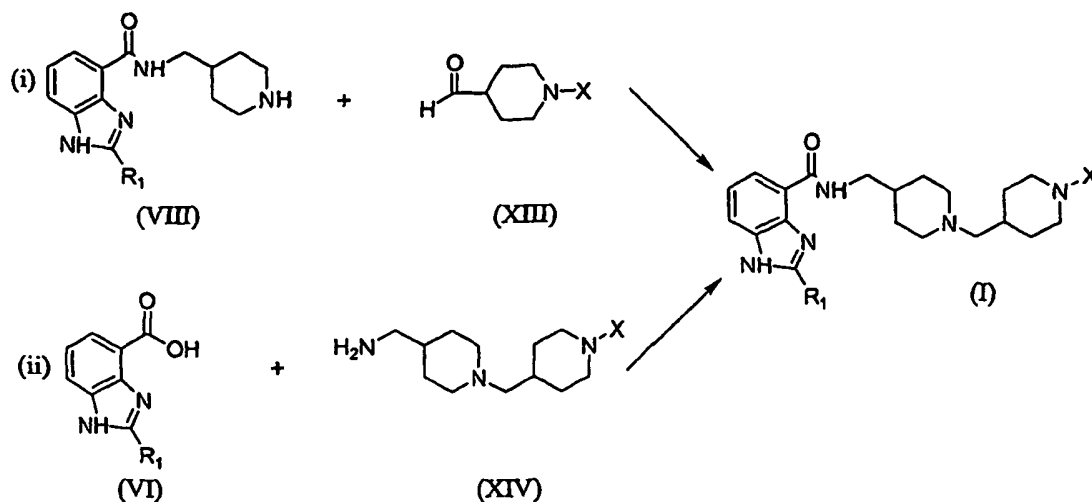
Esquema C



Como descrito em pormenor na preparação 3 abaixo, o éster metílico (XI') é primeiro feito reagir com cloreto de 2,2-dimetilpropionilo para proporcionar o intermediário (XII), o qual é submetido a refluxo numa solução de ácido forte, tipicamente, durante entre cerca de 12 e cerca de 72 horas, para proporcionar o ácido *terc*-butilbenzimidazole-carboxílico (VI').

Em métodos alternativos de síntese, os compostos de fórmula (I) podem ser preparados de acordo com as vias de processo ilustradas no Esquema D utilizando a aminação redutiva e outras reacções descritas acima, e/ou utilizando reacções alternativas bem conhecidas dos especialistas na técnica.

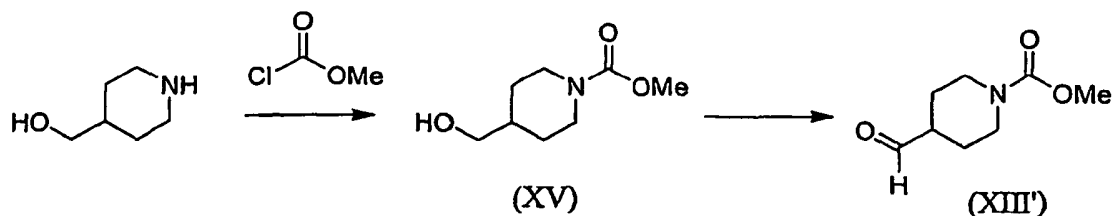
Esquema D



Como como mostrado na via de processo (i), um intermediário de fórmula (VIII) é feito reagir com um intermediário de fórmula (XIII) para proporcionar um composto de fórmula (I). A reacção é tipicamente realizada nas condições descritas acima para a reacção da amina (VIII) com o piperidina-carboxaldeído protegido no Esquema A.

O intermediário (XIII) pode ser preparado por reacção de 4-hidroximetilpiperidina com um reagente L-X, de fórmula (III), seguida de oxidação do intermediário resultante. Por exemplo, para o caso particular de X ser $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, o intermediário (XIII) pode ser preparado como se mostra no Esquema E.

Esquema E

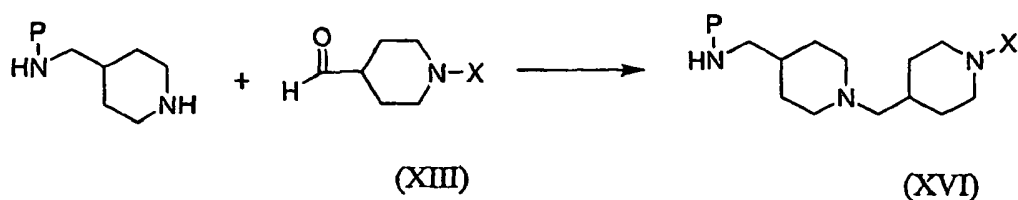


Primeiro, a 4-hidroximetilpiperidina é feita reagir com cloroformato de metilo para formar o intermediário de hidroximetilpiperidina (XV). A reacção é tipicamente realizada colocando em contacto a 4-hidroximetilpiperidina numa solução aquosa com entre cerca de 3 e cerca de 5 equivalentes de cloroformato de metilo na presença de entre cerca de 3 e cerca de 5 equivalentes de base. A reacção é tipicamente realizada a uma temperatura na gama de cerca de 0 °C até cerca de 30 °C durante cerca de 12 até cerca de 72 horas ou até a reacção estar substancialmente concluída. O intermediário (XV) é em seguida oxidado para formar o intermediário de formilpiperidinilo (XIII'). A reacção de oxidação utiliza tipicamente um reagente de oxidação tal como uma associação de cloreto de oxalilo e dimetilsulfóxido (oxidação de Swern), um reagente de cromato, tal como clorocromato de piridínio, ou um agente oxidante, tal como hipoclorito de sódio, em conjunto com um catalisador tal como o radical livre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxilo (TEMPO).

A preparação de um composto de fórmula (I) de acordo com a via de processo (i) do Esquema D utilizando o intermediário (XIII') é descrita nos Exemplos 214 e 216 abaixo.

Um composto de fórmula (I) também pode ser preparado fazendo reagir um ácido carboxílico de fórmula (VI) com um intermediário de fórmula (XIV), como se mostra na via de processo (ii). Como ilustrado no Esquema F, o intermediário (XIV) pode ser preparado por reacção de uma aminometilpiperidina protegida com o intermediário (XIII):

Esquema F



em que P é um grupo de protecção de amino, para proporcionar um intermediário protegido de fórmula (XVI), seguida de um passo de desprotecção. A preparação de compostos de acordo com a via de processo (ii) é descrita na Preparação 4 e nos Exemplos 14 e 15 abaixo.

Os reagentes L-X (III), $\text{X}'\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (IV), $\text{O}=\text{C}=\text{N}=\text{R}^5$ (V) e $\text{R}^1\text{C}(\text{O})\text{OH}$ estão comercialmente disponíveis ou são prontamente preparados por procedimentos correntes a partir de materiais de partida comuns.

Outros detalhes no que se refere a condições reaccionais específicas e outros procedimentos para preparar compostos representativos da invenção ou os seus intermediários são descritos nos exemplos abaixo.

Por conseguinte, num aspecto metodológico, a invenção proporciona um processo para preparar um composto de fórmula (I) ou um seu sal ou estereoisómero, compreendendo o processo (a) fazer reagir um composto de fórmula (II) com um composto da fórmula (III); (b) fazer reagir um composto fórmula (VIII) com um composto de fórmula (XIII); ou (c) fazer reagir um composto de fórmula (VI) com um composto de fórmula (XIV) para proporcionar um composto de fórmula (I) ou um seu sal ou estereoisómero.

Num aspecto metodológico adicional, a invenção proporciona um processo para preparar um composto de fórmula (I) em que X é seleccionado de $-C(O)R^3$, $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ e $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ ou um seu sal ou estereoisómero, compreendendo o processo fazer reagir um composto de fórmula (II) com um composto de fórmula (IV), em que X' representa R^3 , $C(R^6R^7)R^8$ ou $C(HR^9)OR^{10}$, para proporcionar um composto de fórmula (I) ou um seu sal ou estereoisómero.

A invenção proporciona ainda um composto de fórmula (II) ou um seu sal ou estereoisómero ou derivado protegido, em que R^1 é definido como na fórmula (I).

Formas Cristalinas

Noutro aspecto, a invenção proporciona o éster metílico do ácido
 4-(4-{[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico na forma de base livre cristalina ou um seu solvato. Foram observadas três formas distintas de éster metílico do ácido
 4-(4-{[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-

carbonil)amino]metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (a seguir composto 1).

A forma cristalina I da presente invenção é uma base livre cristalina. A Forma I é caracterizada por um padrão de difracção de raios X de pós (PXRD) possuindo dois ou mais picos de difracção a valores 2θ seleccionados de $15,08\pm0,20$, $15,41\pm0,20$, $19,00\pm0,20$, $19,70\pm0,20$, e $23,68\pm0,20$. Em particular, a Forma I é caracterizada por um padrão de difracção de raios X possuindo picos de difracção a valores 2θ de $19,00\pm0,20$ e $19,70\pm0,20$.

Como é bem conhecido no campo da difracção de raios X, as posições dos picos dos espectros de PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, tais como os detalhes de preparação de amostra e geometria do equipamento, do que são as alturas relativas dos picos. Assim, num aspecto, a Forma cristalina I é caracterizada por um padrão de difracção de raios X, em que as posições dos picos estão substancialmente de acordo com aquelas mostradas na Figura 1.

A Forma I foi ainda caracterizada por análise de difracção de raios X da estrutura cristalina, proporcionando os seguintes parâmetros de rede: a célula unitária é ortorrômbica com dimensões $a = 16,9053 \text{ \AA}$, $b = 9,5172 \text{ \AA}$, $c = 15,4659 \text{ \AA}$; o grupo espacial é $Pna2_1$; a densidade calculada é $1,22 \text{ g/cm}^3$. A estrutura molecular resultante confirma que a composição química é a do composto 1 e que a unidade assimétrica não contém água ou outras moléculas de solvente. Os picos de difracção de raios X previstos a partir das posições atómicas derivadas estão em excelente concordância com os resultados observados.

A Forma cristalina I da presente invenção também é caracterizada por estabilidade térmica a temperaturas altas como evidenciado pelo seu perfil de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) que exhibe um pico em fluxo de calor endotérmico na gama de cerca de 145 °C até cerca de 155 °C, tipicamente entre cerca de 146 e 148 °C como ilustrado na Figura 2, o qual pode ser identificado como um ponto de fusão. Além disso, o perfil de análise termogravimétrica (TGA) não mostra qualquer evento de alteração de peso significativo abaixo do início de degradação que é acima de cerca de 240 °C.

Ainda noutro aspecto, a presente forma cristalina é caracterizada pelo seu espectro de absorção no infravermelho que apresenta bandas de absorção significativas a cerca de 766, 1097, 1251, 1413, 1449, 1579, 1609, 1640 e 1696 cm^{-1} .

Foi demonstrado que a presente forma cristalina tem um perfil de absorção/dessorção reversível com um nível excepcionalmente baixo de higroscopicidade (*i. e.*, menos de cerca de 0,25% de ganho de peso na gama de humidade de 2% de humidade relativa a 90% de humidade relativa à temperatura ambiente) como se mostra na Figura 3.

Além disso, foi determinado que a Forma cristalina I do composto 1 é estável após exposição a temperatura e humidade elevadas. Após conservação durante três meses a 40 °C e 75% de humidade relativa, não houve quaisquer alterações detectáveis nos perfis de DSC, TGA ou PXRD, na pureza química como determinado através de análise por HPLC, e nenhuma alteração observável no aspecto visual. Também não houve quaisquer alterações detectáveis por DSC, TGA, ou PXRD depois de triturar as partículas da Forma I de um tamanho de partícula médio com

base no volume de cerca de 470 micrones até um tamanho de partícula médio com base no volume de cerca de 15, cerca de 22 ou cerca de 29 micrones.

A Forma cristalina II do composto 1 é caracterizada pelos perfis de DSC e TGA da Figura 4. A análise por TGA mostra um início de perda de peso na gama de temperatura de cerca de 95 até cerca de 105 °C, tipicamente a cerca de 100 °C, num perfil em degrau coerente com perda de água ou solvente, enquanto o perfil de DSC exhibe um pico em fluxo de calor endotérmico entre cerca de 143 e cerca de 145 °C, simultâneo com o evento de fusão. O padrão de PXRD da Forma II é indistinguível do da Forma I. Embora não tenha sido feita uma identificação positiva, o perfil de TGA da Forma II é coerente com a interpretação da Forma II como um solvato.

A terceira forma cristalina da invenção foi identificada como um mono-hidrato. A forma III é caracterizada por um padrão de difracção de raios X (PXRD) possuindo dois ou mais picos de difracção a valores 2θ seleccionados de $9,14\pm0,20$, $12,41\pm0,20$, $12,74\pm0,20$, $17,75\pm0,20$, $18,47\pm0,20$, $20,63\pm0,20$, $21,13\pm0,20$, e $27,05\pm0,20$, como ilustrado na Figura 5. Em particular, a Forma III é caracterizada por um padrão de difracção de raios X possuindo picos de difracção a valores 2θ de $9,14\pm0,20$ e $20,63\pm0,20$.

Os perfis de DSC e TGA da Forma III, mostrados na Figura 6, demonstram que o material sofre um perfil em degrau de perda de peso com início na gama de temperatura de cerca de 65 até cerca de 75 °C, tipicamente a cerca de 70 °C, e um pico em fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre cerca de 90 e cerca de 100 °C, coerente com a perda da água do mono-hidrato e fusão

subsequente. A Forma III foi ainda caracterizada por análise de difracção de raios X da estrutura cristalina, proporcionando os seguintes parâmetros de rede: a célula unitária é monoclinica com dimensões $a = 14,8101 \text{ \AA}$, $b = 9,9985 \text{ \AA}$; $c = 17,9222 \text{ \AA}$; $\beta = 106,3020^\circ$, o grupo espacial é $P2_1/n$; a densidade calculada é $1,23 \text{ g/cm}^3$. A estrutura molecular resultante confirma que a composição química é a do composto 1 e que a unidade assimétrica contém uma única molécula de água.

As formas cristalinas separadas da presente invenção podem ser obtidas de modo reprodutível pelos procedimentos seguintes. A Forma cristalina I pode ser preparada dispersando o composto 1 num diluente inerte seleccionado de acetonitrilo, éter, ciclo-hexano e acetato de etilo numa proporção entre cerca de 15 mg e cerca de 25 mg de composto 1 por mililitro de diluente para formar uma mistura, e permitindo que a mistura evapore à temperatura ambiente, resultando na formação do cristal.

Alternativamente, a Forma I pode ser obtida por um processo de troca de solvente a partir do composto 1 em bruto em solução, sem primeiro isolar o composto 1 amorfo como descrito no Exemplo 216 abaixo. Tipicamente, a reacção para preparar o composto 1 é realizada num diluente polar aprótico, tal como diclorometano, no qual o composto é extremamente solúvel. Para preparar a Forma cristalina I; é adicionado acetonitrilo enquanto o produto da reacção em bruto é destilado sob vácuo para remover o diclorometano. É preparada uma mistura possuindo entre cerca de 1 e cerca de 200 mg de composto 1 por mililitro de acetonitrilo, tipicamente entre cerca de 50 e cerca de 125 mg de composto 1 por mililitro de acetonitrilo, a partir do resíduo remanescente após a destilação e aquecida até uma temperatura suficiente para dissolver o resíduo, por exemplo uma temperatura de cerca de

75 °C. A mistura é em seguida arrefecida até uma temperatura de não mais do que cerca de 20 °C para proporcionar a Forma cristalina I, a qual é isolada por procedimentos convencionais. Num processo ilustrativo, a mistura é arrefecida até ocorrer a formação de núcleos de cristalização, tipicamente a uma temperatura entre cerca de 55 e cerca de 65 °C e mantida a essa temperatura durante cerca de uma hora. Em seguida, é arrefecida a uma velocidade entre cerca de 0,25 e cerca de 0,4 °C por minuto até uma temperatura de cerca de 20 °C. Para aumentar o rendimento da Forma cristalina I, a mistura pode ser ainda arrefecida a uma velocidade entre cerca de 0,5 e cerca de 0,75 °C por minuto até uma temperatura entre cerca de 0 e cerca de 5 °C.

Para preparar a Forma II, o composto 1 amorfo é dispersado em hexano à temperatura ambiente a uma concentração final de cerca de 10 mg/mL e a mistura resultante é submetida a ultrassons. Após cerca de 24 horas à temperatura ambiente são obtidos sólidos cristalinos da Forma II.

A Forma III é preparada dissolvendo o composto 1 amorfo numa mistura solvente de etanol: água 1:1 à temperatura ambiente até uma concentração final de cerca de 20 mg/mL e submetendo a solução a ultrassons durante cerca de 30 segundos. A solução é deixada evaporar parcialmente num frasco destapado. Após cerca de 24 horas são obtidos sólidos cristalinos da Forma III.

Composições Farmacêuticas

Os compostos de benzimidazole-carboxamida da invenção são tipicamente administrados a um doente na forma de uma composição farmacêutica. Tais composições farmacêuticas podem ser administradas ao doente por qualquer via de administração aceitável incluindo, mas não estando limitado aos, modos de administração oral, rectal, vaginal, nasal, inalada, tópica (incluindo transdérmica) e parentérica.

Por conseguinte, num dos seus aspectos de composições, a invenção é dirigida a uma composição farmacêutica compreendendo um veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável e uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula (I) ou um seu sal ou solvato farmacêuticamente aceitável. Opcionalmente, estas composições farmacêuticas podem conter outros agentes terapêuticos e/ou de formulação, se desejado.

As composições farmacêuticas da invenção contêm tipicamente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da presente invenção ou um seu sal farmacêuticamente aceitável. Tipicamente, tais composições farmacêuticas conterão desde cerca de 0,1 até cerca de 95% em peso do agente activo; incluindo desde cerca de 5 até cerca de 70% em peso; e desde cerca de 10 até cerca de 60% em peso do agente activo.

Nas composições farmacêuticas da invenção pode ser utilizado qualquer veículo ou excipiente convencional. A escolha de um veículo ou excipiente particular, ou associações de veículos ou excipientes, dependerá do modo de administração a ser utilizado para tratar um doente particular ou tipo de estado clínico ou estado patológico. A este respeito, a preparação de

uma composição farmacêutica adequada para um modo de administração particular está bem dentro do âmbito dos especialistas nas técnicas farmacêuticas. Além disso, os ingredientes para tais composições estão comercialmente disponíveis de, por exemplo, Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178. A título de ilustração adicional, técnicas de formulação convencionais são descritas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª Edição, Lippincott Williams & Branco, Baltimore, Mariland (2000); e H.C. Ansel *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Edição, Lippincott Williams & Branco, Baltimore, Mariland (1999).

Exemplos representativos de materiais que podem servir como veículos farmacêuticamente aceitáveis incluem, mas não estão limitados aos seguintes: (1) açúcares, tais como lactose, glucose e sacarose; (2) amidos, tais como amido de milho e amido de batata; (3) celulose, tal como celulose microcristalina, e seus derivados, tais como carboximetilcelulose sódica, etilcelulose e acetato de celulose; (4) tragacanta em pó; (5) malte; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tais como manteiga de cacau e ceras para supositório; (9) óleos, tais como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de açafrão-bastardo, óleo de sésamo, azeite, óleo de milho e óleo de soja; (10) glicóis, tal como propilenoglicol; (11) polióis, tais como glicerina, sorbitol, manitol e polietilenoglicol; (12) ésteres, tais como oleato de etilo e laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponizantes, tais como hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; (15) ácido algínico; (16) água apirogénica; (17) soro fisiológico isotónico; (18) solução de Ringer; (19) álcool etílico; (20) soluções de tampão de fosfato;

e (21) outras substâncias não tóxicas compatíveis utilizadas em composições farmacêuticas.

As composições farmacêuticas da invenção são tipicamente preparadas misturando ou combinando exaustiva e intimamente um composto da invenção com um veículo farmacêuticamente aceitável e um ou mais ingredientes opcionais. Se necessário ou desejado, a mistura uniformemente misturada resultante pode ser transformada ou carregada em comprimidos, cápsulas, pílulas e semelhantes utilizando procedimentos e equipamento convencionais.

As composições farmacêuticas da invenção são de um modo preferido, embaladas numa forma de dosagem unitária. A expressão "forma de dosagem unitária" refere-se a uma unidade fisicamente discreta adequada para administração a um doente, *i. e.*, contendo cada unidade uma quantidade predeterminada de agente activo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado sozinha ou em associação com uma ou mais unidades adicionais. Por exemplo, tais formas de dosagem unitárias podem ser cápsulas, comprimidos, pílulas e semelhantes.

Numa forma de realização preferida, as composições farmacêuticas da invenção são adequadas para administração oral. As composições farmacêuticas adequadas para administração oral podem estar na forma de cápsulas, comprimidos, pílulas, pastilhas, hóstias, drageias, pós, granulados; ou como uma solução ou uma suspensão num líquido aquoso ou não aquoso, ou como uma emulsão líquida de óleo em água ou água em óleo; ou como um elixir ou xarope; e semelhantes; contendo cada quantidade predeterminada de um composto da presente invenção como um ingrediente activo.

Quando destinada a administração oral numa forma de dosagem sólida (*i. e.*, como cápsulas, comprimidos, pílulas e semelhantes), as composições farmacêuticas da invenção compreenderão tipicamente um composto da presente invenção como o ingrediente activo e um ou mais veículos farmacêuticamente aceitáveis, tais como citrato de sódio ou difosfato de cálcio. Opcional ou alternativamente, tais formas de dosagem sólidas também podem compreender: (1) enchimentos ou extensores, tais como amidos, celulose microcristalina, lactose, sacarose, glucose, manitol e/ou ácido silícico; (2) aglutinantes, tais como carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e/ou goma-arábica; (3) humectantes, tal como glicerol; (4) desintegrantes, tais como agar-agar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, certos silicatos e/ou carbonato de sódio; (5) agentes de retardação da dissolução, tal como parafina; (6) aceleradores da absorção, tais como compostos de amónio quaternário; (7) humectantes, tais como álcool cetílico e/ou monoestearato de glicerol; (8) absorventes, tais como caulino e/ou argila de bentonite; (9) lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, laurilsulfato de sódio e/ou as suas misturas; (10) corantes; e (11) agentes tamponizantes.

Nas composições farmacêuticas da invenção também podem estar presentes agentes de libertação, humectantes, agentes de revestimento, edulcorantes, aromatizantes e agentes de perfume, conservantes e antioxidantes. Exemplos de antioxidantes farmacêuticamente aceitáveis incluem: (1) antioxidantes solúveis em água, tais como ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio, metabissulfato de sódio, sulfito de sódio e semelhantes; (2) antioxidantes solúveis em óleo, tais como

palmitato de ascorbilo, hidroxianisole butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galhato de propilo, alfa-tocoferol e semelhantes; e (3) agentes quelantes de metal, tais como ácido cítrico, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico e semelhantes. Os agentes de revestimento para comprimidos, cápsulas, pílulas e semelhantes, incluem aqueles utilizados para revestimentos entéricos, tais como acetato ftalato de celulose (CAP), poli(acetato ftalato de vinilo) (PVAP), ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, copolímeros de ácido metacrílico-éster de ácido metacrílico, acetato trimelitato de celulose (CAT), carboximetiletilcelulose (CMEC), acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) e semelhantes.

Se desejado, as composições farmacêuticas da presente invenção também podem ser formuladas para proporcionar libertação lenta ou controlada do ingrediente activo utilizando, a título de exemplo, hidroxipropilmetilcelulose em proporções variáveis; ou outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microsferas.

Além disso, as composições farmacêuticas da presente invenção podem conter opcionalmente agentes opacificantes e podem ser formuladas de modo a que libertem o ingrediente activo apenas ou, de um modo preferido, numa determinada porção do aparelho gastrointestinal, opcionalmente, de um modo retardado. Exemplos de composições de incorporação que podem ser utilizadas incluem substâncias poliméricas e ceras. O ingrediente activo também pode estar na forma micro-encapsulada, se apropriado, com um ou mais dos excipientes descritos acima.

As formas líquidas de dosagem adequadas para administração oral incluem, a título de ilustração, emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacêuticamente aceitáveis. Tais formas líquidas de dosagem compreendem tipicamente o ingrediente activo e um diluente inerte, tais como, por exemplo, água ou outros solventes, solubilizantes e emulsionantes, tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, óleos (esp., óleos de semente de algodão, amendoim, milho, gérmen, azeite, rícino e sésamo), glicerol, álcool tetra-hidrofurílico, polietilenoglicóis e ésteres de sorbitano de ácido gordo, e misturas destes. Além do ingrediente activo, as suspensões podem conter agentes de suspensão tais como, por exemplo, álcoois isostearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno sorbitol e sorbitano, celulose microcristalina, meta-hidróxido de alumínio, bentonite, agar-agar e tragacanta, e misturas destes.

Alternativamente, as composições farmacêuticas da invenção são formuladas para administração por inalação. As composições farmacêuticas adequadas para administração por inalação estarão tipicamente na forma de um aerossol ou um pó. Tais composições são geralmente administradas utilizando dispositivos de administração bem conhecidos, tal como um inalador doseador, um inalador de pó seco, um nebulizador ou um dispositivo de administração semelhante.

Quando administradas por inalação utilizando um recipiente pressurizado, as composições farmacêuticas da invenção compreenderão tipicamente o ingrediente activo e um propulsor adequado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano,

diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono ou outro gás adequado.

Adicionalmente, a composição farmacêutica pode estar na forma de um cápsula ou cartucho (feito, por exemplo, de gelatina) compreendendo um composto da invenção e um pó adequado para ser utilizado num inalador de pó. As bases de pó adequadas incluem, a título de exemplo, lactose ou amido.

Os compostos da invenção também podem ser administrados por via transdérmica utilizando sistemas de administração e excipientes transdérmicos conhecidos. Por exemplo, um composto da invenção pode ser misturado com promotores de penetração, tais como propilenoglicol, monolaurato de polietilenoglicol, azacicloalcan-2-onas e semelhantes, e incorporado num adesivo ou sistema de administração semelhante. Se desejado, podem ser utilizados excipientes adicionais incluindo agentes gelificantes, emulsionantes e tampões, nessas composições transdérmicas.

As seguintes formulações ilustram composições farmacêuticas representativas da presente invenção:

Exemplo de Formulação A

Cápsulas de gelatina dura para administração oral são preparadas como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	50 mg
Lactose (seca por pulverização)	200 mg
Estearato de magnésio	10 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida introduzidos numa cápsula de gelatina dura (260 mg de composição por cápsula).

Exemplo de Formulação B

Cápsulas de gelatina dura para administração oral são preparadas como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	20 mg
Amido	89 mg
Celulose microcristalina	89 mg
Estearato de magnésio	2 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida feitos passar através de um peneiro de malha nº 45 U.S. e introduzidos numa cápsula de gelatina dura (200 mg de composição por cápsula).

Exemplo de Formulação C

Cápsulas for administração oral são preparados como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	10 mg
Monooleato de polioxietileno sorbitano	50 mg
Amido em pó	250 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida introduzidos numa cápsula de gelatina (310 mg de composição por cápsula).

Exemplo de Formulação D

Comprimidos para administração oral são preparados como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	5 mg
Amido	50 mg
Celulose microcristalina	35 mg
Polivinilpirrolidona (10% em peso em água)	4 mg
Carboximetilamido de sódio	4,5 mg
Estearato de magnésio	0,5 mg
Talco	1 mg

Procedimento Representativo: O ingrediente activo, amido e celulose são feitos passar através de um peneiro de malha nº 45 U.S. e exaustivamente misturados. A solução de polivinilpirrolidona é misturada com os pós resultantes, e esta mistura é então feita passar através de um peneiro de malha nº 14 U.S.. Os granulados assim produzidos são secos a 50-60 °C e feitos passar através de um peneiro de malha nº 18 U.S. Os carboximetilamido de sódio, estearato de magnésio e talco

(previamente feitos passar através de um peneiro de malha nº 60 U.S.) são em seguida adicionados ao granulado. Depois de misturar, a mistura é prensada numa máquina de comprimidos para proporcionar um comprimido com 100 mg de peso.

Exemplo de Formulação E

Comprimidos para administração oral são preparados como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	25 mg
Celulose microcristalina	400 mg
Dióxido de silício fumado	10 mg
Ácido esteárico	5 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida prensados para formar comprimidos (440 mg de composição por comprimido).

Exemplo de Formulação F

Comprimidos com uma ranhura para administração oral são preparados como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	15 mg
Amido de milho	50 mg
Croscarmelose sódica	25 mg
Lactose	120 mg
Estearato de magnésio	5 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e prensados para formar um comprimido com uma ranhura (215 mg de composições por comprimido).

Exemplo de Formulação G

Uma suspensão para administração oral é preparada como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	0,1 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloreto de sódio	2,0 g
Metilparabeno	0,15 g
Propilparabeno	0,05 g
Açúcar granulado	25,5 g
Sorbitol (solução a 70%)	12,85 g
Veegum k (Vanderbilt Co.)	1,0 g
Aromatizante	0,035 mL
Corantes	0,5 mg
Água destilada	q.b. para 100 mL

Procedimento Representativo: Os ingredientes são misturados para formar uma suspensão contendo 10 mg de ingrediente activo por 10 mL de suspensão.

Exemplo de Formulação H

Um pó seco para administração por inalação é preparado como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	1,0 mg
Lactose	25 mg

Procedimento Representativo: O ingrediente activo é micronizado e em seguida misturado com lactose. Esta mistura combinada é em seguida introduzida num cartucho para inalação em gelatina. O conteúdo do cartucho é administrado utilizando um inalador de pó.

Exemplo de Formulação I

Um pó seco para administração por inalação num inalador doseador é preparado como se segue:

Procedimento Representativo: Uma suspensão contendo 5% em peso de um composto da invenção e 0,1% em peso de lecitina é preparada dispersando 10 g de composto activo como partículas micronizadas com tamanho médio inferior a 10 µm numa solução preparada a partir de 0,2 g de lecitina dissolvida em 200 mL de água desmineralizada. A suspensão é seca por pulverização e o

material resultante é micronizado em partículas possuindo um diâmetro médio inferior a 1,5 µm. As partículas são introduzidas em cartuchos com 1,1,1,2-tetrafluoroetano pressurizado.

Exemplo de Formulação J

Uma formulação injectável é preparada como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da invenção	0,2 g
Solução tampão de acetato de sódio (0,4 M)	40 mL
HCl (0,5 N) ou NaOH (0,5 N)	q.b. para pH 4
Água (destilada, estéril)	q.b. para 20 mL

Procedimento representativo: Os ingredientes acima são misturados e o pH é ajustado a $4 \pm 0,5$ utilizando HCl 0,5 N ou NaOH 0,5 N.

Exemplo de Formulação K

Cápsulas para administração oral são preparadas como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da Invenção	4,05 mg
Celulose microcristalina (Avicel PH 103)	259,2 mg
Estearato de magnésio	0,75 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida introduzidos numa cápsula de gelatina (Tamanho N° 1, Branca, Opaca) (264 mg de composição por cápsula).

Exemplo de Formulação L

Cápsulas para administração oral são preparadas como se segue:

Ingredientes	Quantidade
Composto da Invenção	8,2 mg
Celulose microcristalina (Avicel PH 103)	139,05 mg
Estearato de magnésio	0,75 mg

Procedimento Representativo: Os ingredientes são exaustivamente misturados e em seguida introduzidos numa cápsula de gelatina (Tamanho N° 1, Branca, Opaca) (148 mg de composição por cápsula).

Entender-se-á que qualquer forma dos compostos da invenção, (*i. e.*, base livre, sal farmacêutico ou solvato) que seja adequada para o modo de administração particular, pode ser utilizada nas composições farmacêuticas discutidas acima.

Utilidade

Os compostos de benzimidazole-carboxamida da invenção são agonistas do receptor 5-HT₄ e, por conseguinte, espera-se que sejam úteis para tratar estados clínicos mediados pelos

receptores 5-HT₄ ou associadas à actividade do receptor 5-HT₄, *i. e.*, estados clínicos que são melhorados por tratamento com um agonista do receptor 5-HT₄. Tais estados clínicos incluem, mas não estão limitados a, síndrome do intestino irritável (IBS), obstipação intestinal crónica, dispepsia funcional, esvaziamento gástrico retardado, doença de refluxo gastroesofágico (GERD), gastroparesia, vólvulo pós-operatório, pseudo-obstrução intestinal e trânsito retardado de origem medicamentosa. Além disso, foi sugerido que alguns compostos agonistas do receptor 5-HT₄ podem ser utilizados no tratamento de distúrbios do sistema nervoso central incluindo distúrbios cognitivos, distúrbios comportamentais, distúrbios do humor e distúrbios de controlo da função autónoma.

Em particular, os compostos da invenção aumentam a mobilidade do aparelho gastrointestinal (GI). Por conseguinte, a invenção também proporciona um composto da invenção para ser utilizado no tratamento de distúrbios do aparelho GI provocados por mobilidade reduzida em mamíferos, incluindo humanos. Tais distúrbios da mobilidade GI incluem, a título de ilustração, obstipação intestinal crónica, síndrome do intestino irritável com obstipação intestinal predominante (C-IBS), gastroparesia diabética e idiopática, e dispepsia funcional. A invenção também proporciona a utilização de um composto da invenção no fabrico de um medicamento para o tratamento de um dos estados clínicos acima num mamífero.

Quando utilizados para tratar distúrbios de mobilidade reduzida do aparelho GI ou outros estados clínicos pelos receptores 5-HT₄, os compostos da invenção serão tipicamente administrados por via oral numa dose diária única ou em doses diárias múltiplas, embora possam ser utilizadas outras formas de

administração. A quantidade de agente activo administrada por dose ou a quantidade total administrada por dia será tipicamente determinada por um médico, à luz das circunstâncias relevantes, incluindo o estado a ser tratado, a via de administração escolhida, o composto efectivo administrado e a sua actividade relativa, a idade, peso e resposta do doente particular, a gravidade dos sintomas do doente e semelhantes.

As doses adequadas para tratar distúrbios de mobilidade reduzida do aparelho GI ou outros distúrbios mediados pelos receptores 5-HT₄ variarão desde cerca de 0,0007 até cerca de 20 mg/kg/dia de agente activo, incluindo desde cerca de 0,0007 até cerca de 1 mg/kg/dia. Para um humano médio de 70 kg, isto perfaria desde cerca de 0,05 até cerca de 70 mg por dia de agente activo.

Quando utilizados para tratar obstipação intestinal crónica, os compostos da invenção serão tipicamente administrados por via oral num dose diária única ou em doses diárias múltiplas. De um modo preferido, a dose para tratar obstipação intestinal crónica variará desde cerca de 0,05 até cerca de 70 mg por dia.

Quando utilizados para tratar a síndrome do intestino irritável, especificamente a síndrome do intestino irritável com obstipação intestinal predominante, os compostos da invenção serão tipicamente administrados por via oral num dose diária única ou em doses diárias múltiplas. De um modo preferido, a dose para tratar a síndrome do intestino irritável com obstipação intestinal predominante variará desde cerca de 0,05 até cerca de 70 mg por dia.

Quando utilizados para tratar gastroparesia diabética, os compostos da invenção serão tipicamente administrados por via oral numa dose diária única ou em doses diárias múltiplas. De um modo preferido, a dose para tratar gastroparesia diabética variará desde cerca de 0,05 até cerca de 70 mg por dia.

Quando utilizado para tratar dispepsia funcional, os compostos da invenção serão tipicamente administrados por via oral num dose diária única ou em doses diárias múltiplas. De um modo preferido, a dose para tratar dispepsia funcional variará desde cerca de 0,05 até cerca de 70 mg por dia.

Como descrito acima, os compostos da invenção são agonistas do receptor 5-HT₄. Os compostos da invenção são úteis como ferramentas de investigação para investigar ou estudar sistemas ou amostras biológicas possuindo receptores 5-HT₄ ou para identificar novos agonistas do receptor 5-HT₄. Além disso, uma vez que os compostos da invenção exibem selectividade de ligação para os receptores 5-HT₄ em comparação com a ligação a receptores de outros subtipos de 5-HT, em particular os receptores 5-HT₃, tais compostos são particularmente úteis para estudar os efeitos do agonismo selectivo dos receptores 5-HT₄ num sistema ou amostra biológico. Qualquer sistema ou amostra biológico adequado possuindo receptores 5-HT₄ pode ser utilizado em tais estudos que podem ser realizados *in vitro* ou *in vivo*. Os sistemas ou amostras biológicas adequados representativos para esses estudos incluem, mas não estão limitados a, células, extractos celulares, membranas do plasma, amostras de tecido, mamíferos (tais como ratinhos, ratos, cobaícos, coelhos, cães, porcos, etc.) e semelhantes.

Num estudo desse tipo, um sistema ou amostra biológica compreendendo um receptor 5-HT₄ é colocado em contacto com uma quantidade de um composto da invenção que provoca o agonismo do receptor 5-HT₄. Os efeitos do agonismo do receptor 5-HT₄ são então determinados utilizando procedimentos e equipamento convencionais, tais como ensaios de ligação a radioligando e funcional ensaios. Tais ensaios funcionais incluem alterações medidas por ligando no adenosina monofosfato cíclico intracelular (cAMP), alterações medidas por ligando na actividade da enzima adenilil-ciclase (que sintetiza cãibras), alterações medidas por ligando na incorporação de análogos de guanosina trifosfato (GTP), tal como [³⁵S]GTPγS (guanosina 5'-O-(γ-tio)trifosfato) ou GTP-Eu, em membranas isoladas via troca de análogos de GDP por análogos de GTP catalisada pelo receptor, alterações medidas por ligando nos iões cálcio intracelulares livres (medidos, por exemplo, com um leitor de placas por imagiologia ligada a fluorescência ou FLIPR® da Molecular Devices, Inc.) e medição da activação da proteína-quinase (MAPK) activada por mitogénio. Um composto da invenção pode ter um efeito agonista ou aumentar a activação dos receptores 5-HT₄ em qualquer dos ensaios funcionais listados acima ou em ensaios de natureza semelhante. Uma quantidade de um composto da invenção que provoca o agonismo do receptor 5-HT₄ variará tipicamente desde cerca de 1 nanomolar até cerca de 500 nanomolar.

Adicionalmente, os compostos da invenção podem ser utilizados como ferramentas de investigação para identificar novos agonistas do receptor 5-HT₄. Num método desse tipo, os dados de ligação ao receptor 5-HT₄ ou funcionais para um composto de ensaio ou um grupo de compostos de ensaio são comparados com os dados de ligação ao receptor 5-HT₄ ou funcionais para um

composto da invenção para identificar compostos de ensaio que possuam actividade de ligação ou funcional superior, se existir. Isto inclui, a geração de dados de comparação (utilizando os ensaios apropriados) e a análise dos dados de ensaio para identificar compostos de ensaio de interesse.

Entre outras propriedades, determinou-se que os compostos da invenção são agonistas potentes do receptor 5-HT₄ e exibem selectividade substancial para o subtipo receptor 5-HT₄ em relação ao subtipo receptor 5-HT₃ em ensaios de ligação a radioligando. Além disso, os compostos da invenção a que foi feita menção particular demonstraram propriedades farmacocinéticas superiores num modelo em rato. Assim, espera-se que tais compostos sejam extremamente biodisponíveis por administração oral. Além disso, foi demonstrado que estes compostos não exibem um nível de inibição inaceitável da corrente de ião potássio num modelo de fixação de tensão *in vitro* utilizando células inteiras isoladas que expressam o canal de potássio cardíaco hERG. O ensaio de fixação de tensão é um método pré-clínico aceite para avaliar o potencial de agentes farmacêuticos para alterar o padrão de repolarização cardíaca, especificamente para originar, o chamado prolongamento QT que tem sido associado a arritmia cardíaca. (Cavero *et al.*, Opinion on Pharmacotherapy, 2000, 1, 947-73, Fermini *et al.*, Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2, 439-447). Por conseguinte, é esperado que as composições farmacêuticas compreendendo compostos da invenção possuam um perfil cardíaco aceitável.

As suas propriedades, bem como a utilidade dos compostos da invenção, podem ser demonstradas utilizando vários ensaios *in vitro* e *in vivo* bem conhecidos dos especialistas na técnica.

Os ensaios representativos são descritos em mais pormenor nos exemplos seguintes.

EXEMPLOS

Os seguintes exemplos sintéticos e biológicos são oferecidos para ilustrar a invenção, e não são para ser interpretados de modo algum como limitando o âmbito da invenção. Nos exemplos abaixo, as abreviaturas seguintes têm os significados seguintes, salvo indicação em contrário. As abreviaturas não definidas abaixo têm os seus significados geralmente aceites.

Boc	= <i>terc</i> -butoxicarbonilo
DMSO	= dimetilsulfóxido
MeCN	= acetonitrilo
TFA	= ácido trifluoroacético
R _f	= factor de retenção

Os reagentes e solventes foram adquiridos de fornecedores comerciais (Aldrich, Fluka, Sigma, etc.), e utilizados sem mais purificação. As reacções foram realizadas sob atmosfera de azoto, salvo indicação em contrário. O progresso das misturas reaccionais foi seguido por cromatografia em camada fina (TLC), cromatografia líquida de alta eficiência analítica (HPLC anal.) e espectrometria de massa, cujos detalhes são dados abaixo e separadamente em exemplos de reacções específicos. As misturas reaccionais foram processadas como descrito especificamente em cada reacção; geralmente estas foram purificadas por extracção e outros métodos de purificação tais como cristalização dependente de temperatura e solvente, e precipitação. Além disso, as

misturas reaccionais foram rotineiramente purificadas por HPLC preparativa: um protocolo geral é descrito abaixo. A caracterização dos produtos da reacção foi rotineiramente realizada por espectrometria de massa e RMN de ^1H . Para medição por RMN, as amostras foram dissolvidas em solvente deuterado (CD_3OD , CDCl_3 ou $\text{DMSO}-d_6$), e os espectros de RMN de ^1H foram adquiridos com um instrumento Varian Gemini 2000 (300 MHz) sob condições de observação correntes. A identificação por espectrometria de massa dos compostos foi realizada por um método de ionização por electropulverização (ESMS) com um instrumento Applied Biosystems (Foster City, CA) modelo API 150 EX ou um instrumento Agilent (Palo Alto, CA) modelo 1100 LC/MSD.

Preparação 1: Síntese de (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico

a. Preparação de éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico

A uma solução de éster metílico do ácido 2-amino-3-nitrobenzóico saturada de azoto (Chess GmbH, 50 g, 0,26 mol) em etanol absoluto (800 mL) foi adicionado hidróxido de paládio (Degussa, 20% p/p sobre carvão, 58,75% p/p água, 10 g). A suspensão espessa foi desgaseificada, em seguida agitada vigorosamente sob hidrogénio (4 atm) à temperatura ambiente durante 48 h. O catalisador foi filtrado e o filtrado concentrado *in vacuo* para proporcionar éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico como um óleo laranja escuro que solidificou em repouso (43 g, 0,26 mol, 100%). (m/z): $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$ calculado para $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ 135,05; encontrado 135,3. RMN de ^1H (300 MHz,

DMSO- d_6): δ (ppm) 3,74 (s, 3H), 4,80 (s 1, 1H), 6,20 (s 1, 1H), 6,38 (t, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,06 (d, 1H).

b. Preparação de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico

Uma suspensão espessa de éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico (21,5 g, 0,13 mol) e ácido isobutírico (36,2 mL, 0,39 mol) em ácido clorídrico aquoso (4 M, 210 mL) foi agitada sob refluxo durante 24 h para proporcionar uma solução homogênea. A solução foi arrefecida até 10 °C e o pH aumentado até 3,5 utilizando solução aquosa de hidróxido de sódio (4 M, aprox. 210 mL), enquanto se mantinha a temperatura abaixo de 30 °C. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h, arrefecida até 10 °C, e o precipitado resultante filtrado. O bolo sólido foi transferido para um copo e foi adicionado acetonitrilo (300 mL). A suspensão espessa foi então agitada à temperatura ambiente durante 1 h e filtrada para proporcionar um sólido cinzento. O sólido foi seco sob vácuo para proporcionar o intermediário em epígrafe (23 g, 0,11 mol, 87%). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{11}H_{12}N_2O_2$ calc. 205,09; encontrado 205,3. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1,27 (d, 6H), 3,39 (m, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,78 (m, 2H).

c. Preparação de éster terc-butílico do ácido 4-[[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil]-piperidina-1-carboxílico

A uma solução de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico (9,0 g, 44,1 mmol) em *N,N*-dimetilformamida anidra

(100 mL) foi adicionado éster *terc*-butílico do ácido 4-aminometilpiperidina-1-carboxílico (9,4 g, 44,1 mmol), seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (16,9 mL, 97,0 mmol). A solução foi agitada durante 15 min à temperatura ambiente, antes da adição de hidroxibenzotriazole (5,9 g, 44,1 mmol), Cloridrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (8,4 g, 44,1 mmol) e mais *N,N*-dimetilformamida (50 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 16 h, diluída com diclorometano (300 mL), e lavada sequencialmente com ácido fosfórico aquoso 1 M, hidróxido de sódio aquoso 1 M e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A solução foi então seca sobre sulfato de sódio e concentrada *in vacuo* para proporcionar um óleo castanho que solidificou quando da adição de hexanos. O sólido foi filtrado para dar o intermediário em epígrafe como um sólido bege (13,8 g, 36,0 mmol, 78%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₂N₄O₃ 401,26; encontrado 401,5; [M-Boc+H]⁺ 301,5. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-90% MeCN/H₂O ao longo de 6 min) = 3,7 min. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 1,20 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,37 (s, 6H), 1,72 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 2,73 (s, 1, 2H), 3,22 (septeto, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,95 (m, 2H), 7,26 (t, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,79 (d, 1H), 10,11 (t, 1H).

d. Síntese de (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

A uma solução de éster *terc*-butílico do ácido 4-([(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil)-piperidina-1-carboxílico (10,8 g, 27,0 mmol) dissolvido em diclorometano (50 mL) a 0 °C foi lentamente adicionado ácido trifluoroacético (50 mL) em porções de 5 mL. A solução foi deixada aquecer até à temperatura ambiente, agitada durante mais

20 minutos, em seguida evaporada *in vacuo*. O ácido trifluoroacético em excesso foi removido por coevaporação com tolueno. O resíduo foi então dissolvido num volume mínimo de diclorometano e lentamente adicionado a éter dietílico (1 L) a 0 °C. A suspensão espessa resultante foi agitada durante 2 h à temperatura ambiente, em seguida filtrada para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido castanho claro (12,7 g, 24,0 mmol, 89%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₂₄N₄O 301,21; encontrado 301,5. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-50% MeCN/H₂O ao longo de 6 min) = 1,65 min. RMN de ¹H (300 MHz, MeOD-*d*₃): δ (ppm) 1,59 (d, 6H), 1,60 (m, 1H), 2,03 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 3,00 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,63 (septeto, 1H), 7,63 (t, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,96 (d, 1H). 9,04 (t, 1H).

Preparação 2: Síntese de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

a. Preparação de éster *terc*-butílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

A uma suspensão de bis-trifluoroacetato de (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (6,84 g, 12,95 mmol) em diclorometano (65 mL) à temperatura ambiente sob azoto foi adicionada sequencialmente *N,N*-diisopropiletilamina (1,67 g, 2,25 mL), uma solução de 1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidina-4-carboxaldeído (3,16 g, 14,89 mmol) em diclorometano (5 mL) e triacetoxiboro-hidreto de sódio (3,84 g, 18,13 mmol). A mistura resultante foi agitada à

temperatura ambiente durante 1,5 h, em seguida acidificada até pH 1 com ácido clorídrico aquoso 1 M. A camada aquosa foi removida e a camada orgânica extraída com ácido clorídrico aquoso 1 M até não permanecer qualquer produto na fase orgânica. As camadas aquosas combinadas foram lavadas com diclorometano, arrefecidas até 0 °C e basificadas até pH 12 com pastilhas de hidróxido de sódio. A solução foi então extraída com diclorometano até não permanecer qualquer produto na fase aquosa, e as camadas orgânicas combinadas lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas para dar o produto desejado como um óleo castanho (5,4 g, 10,8 mmol, 84%) que foi utilizado sem mais purificação. (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{28}H_{43}N_5O_3$ 498,35; encontrado 498,5.

b. Síntese de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

O produto do passo anterior (5,4 g, 10,8 mmol) foi dissolvido em diclorometano (40 mL) e arrefecido até 0 °C. Foi adicionado ácido trifluoroacético (30 mL) e a solução foi agitada a 0 °C durante mais 0,5 h. A mistura foi então concentrada e coevaporado duas vezes com diclorometano *in vacuo*. O resíduo resultante foi dissolvido em diclorometano (20 mL), arrefecido até 0 °C e basificado com hidróxido de sódio aquoso a 20% p/p (50 mL). A solução foi deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 10 minutos, em seguida filtrada. O sólido foi lavado com acetonitrilo e seco *in vacuo* para proporcionar um pó cinzento claro (3,09 g, 7,8 mmol, 72%) que foi utilizado sem

mais purificação. (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{23}H_{35}N_5O$ 398,29; encontrado 398,4.

Preparação 3: Síntese de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

a. Preparação de éster metílico do ácido 2-amino-3-(2,2-dimetilpropionilamino)benzóico

A uma solução de éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico (2,3 g, 13,8 mmol) em piridina (40 mL) à temperatura ambiente foi adicionado cloreto de 2,2-dimetilpropionilo (1,7 g, 14,0 mmol). A solução foi agitada a durante 16 h, evaporada e o resíduo partilhado entre acetato de etilo (100 mL) e ácido clorídrico aquoso 1 M (100 mL). A fase orgânica foi separada, lavada com ácido clorídrico aquoso 1 M (100 mL), seca sobre sulfato de sódio e evaporada para proporcionar o composto em epígrafe como um óleo escuro (2,7 g, 10,8 mmol, 78%) que foi utilizado sem mais purificação. (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{13}H_{18}N_2O_3$ 251,14; encontrado 250,8

b. Preparação de ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

Uma suspensão espessa do produto do passo anterior (2,7 g, 10,8 mmol) em ácido clorídrico aquoso 4 M (100 mL) foi agitada sob refluxo durante 24 h para proporcionar uma solução homogênea. O solvente foi evaporado para proporcionar o sal de

cloridrato do intermediário em epígrafe como um sólido cor de tijolo (2,5 g, 9,8 mmol, 91%). (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{12}H_{14}N_2O_2$ 219,12; encontrado 219,3. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1,45 (d, 9H), 3,39 (m, 1H), 7,91 (d, 1H), 7,95 (d, 1H).

c. Preparação de éster *terc*-butílico do ácido 4-{[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}-piperidina-1-carboxílico

A uma solução de cloridrato do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (1,11 g, 4,37 mmol) em *N,N*-dimetilformamida anidra (5 mL) foi adicionado 1,1'-carbonildiimidazole (0,77 g, 4,75 mmol). A solução foi agitada a 50 °C durante 2 h, em seguida foi adicionado éster *terc*-butílico do ácido 4-aminometil-piperidina-1-carboxílico (0,94 g, 4,39 mmol), seguido de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (1,46 g, 13 mmol). A solução foi agitada a 50 °C durante 16 h, deixada arrefecer e diluída com água (20 mL) e acetato de etilo (60 mL). A camada aquosa foi removida, a camada orgânica lavada com água (20 mL), seca sobre sulfato de sódio e concentrada *in vacuo* para proporcionar o intermediário em epígrafe (1,32 g, 3,18 mmol, 73%) que foi utilizado sem mais purificação. (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{23}H_{34}N_4O_3$ 415,27; encontrado 415,5.

d. Preparação de (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

Éster *terc*-butílico do ácido 4-{[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}-piperidina-1-carboxílico (13,5 g, 32,6 mmol) foi dissolvido em HCl 4 N em dioxano

(200 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 0,5 h. O sólido resultante foi filtrado para proporcionar o sal de bis-cloridrato do intermediário em epígrafe (11,3 g, 29,3 mmol, 89%). (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{18}H_{26}N_4O$ 315,22; encontrado 315,3. RMN de ^1H (300 MHz, D_2O + $MeOD-d_3$): 1,54 (s, 8H), 1,96 (m, 4H), 2,91 (m, 4H), 3,31 (s 1, 1H), 3,45 (d, 2H), 7,56 (t, 1H), 7,89-7,92 (m, 2H)

e. Preparação de éster *terc*-butílico do ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil)-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

A uma suspensão do sal de bis-HCl da (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (4,28 g, 11,06 mmol) em diclorometano (55 mL) à temperatura ambiente foram sequencialmente adicionados *N,N*-diisopropiletilamina (1,71 g, 2,31 mL), 1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidina-4-carboxaldeído (2,58 g, 12,17 mmol) e triacetoxiboro-hidreto de sódio (3,28 g, 15,48 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h, em seguida extraída com ácido clorídrico aquoso 1 M. As camadas aquosas combinadas foram basificadas até pH 12 com pastilhas de hidróxido de sódio, em seguida extraídas com diclorometano. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo resultante foi seco sob alto vácuo para dar um espuma acastanhada clara (4,9 g, 9,6 mmol, 87%) que foi utilizada sem mais purificação. (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{29}H_{45}N_5O_3$ 512,35, encontrado: 512,4.

f. Síntese de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

Éster *terc*-butílico do ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil)-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico em bruto, preparado como no passo anterior (5,1 g, 10 mmol) foi tratado com uma mistura de ácido trifluoroacético (40 mL) e diclorometano (40 mL) à temperatura ambiente durante 0,5 h. A mistura foi concentrada *in vacuo*, redissolvida em diclorometano (25 mL) e basificada com hidróxido de sódio aquoso 1 M (15 mL). A camada orgânica foi removida e a camada aquosa re-extraída com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas *in vacuo* para proporcionar o produto desejado como uma espuma castanha (3,6 g, 8,8 mmol, 88%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₃₇N₅O 412,31, encontrado 412,6.

Preparação 4. Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-aminometilpiperidin-1-ilmetil)-piperidina-1-carboxílico

a. Preparação de éster metílico do ácido 4-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)piperidin-1-ilmetilpiperidina-1-carboxílico

A uma solução de 4-*terc*-butoxicarbonilaminometilpiperidina (3,62 g, 16,9 mmol) em diclorometano (100 mL) foi adicionado éster metílico do ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico (2,89 g, 16,9 mmol) e ácido acético (0,96 mL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 10 min antes da adição de triacetoxiboro-hidreto de sódio (5,4 g, 25,5 mmol). A mistura

final foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h. A reacção foi terminada adicionando solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (100 mL) e a camada orgânica foi seca sobre MgSO_4 . A evaporação da solução orgânica proporcionou um resíduo oleoso amarelo pálido. Este foi purificado por cromatografia em coluna flash sobre sílica (CH_2Cl_2 a 5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$), produzindo o intermediário em epígrafe (4,4 g). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4$ 370,27; encontrado 370,5.

b. Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-aminometilpiperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

A uma solução de éster metílico do ácido 4-(4-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)piperidin-1-ilmetil)-piperidina-1-carboxílico (4,4 g, 10,8 mmol) em diclorometano (20 mL) foi adicionado ácido trifluoroacético (20 mL). Depois de agitar durante 20 min à temperatura ambiente, a solução foi evaporada *in vacuo*, produzindo o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um óleo amarelo pálido, o qual foi utilizado sem mais tratamento. (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$ 270,22; encontrado 270,5. RMN de ^1H (CD_3OD) δ (ppm) 4,0 (d 1, 2H), 3,6 (m, 5H), 2,9-2,7 (m, 6H), 2,1-1,9 (m, 2H), 1,7-1,5 (m, 6H), 1,2-1,0 (m, 4H).

Exemplo 1: Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

A uma suspensão de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (2,9 g, 7,3 mmol) em diclorometano (50 mL) foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (1,05 mL, 7,3 mmol). A solução resultante foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado, gota a gota, cloroformato de metilo (576 µL, 7,3 mmol). A mistura foi agitada a 0 °C durante 1,5 h, desactivada com ácido acético (1 mL) e evaporada *in vacuo* para proporcionar um sólido bege (4,8 g) que foi purificado via HPLC de fase inversa preparativa [gradiente de 5-10-25% (5-10% ao longo de 10 min; 10-25% ao longo de 50 min); caudal 15 mL/min; detecção a 280 nm] para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido branco (3,5 g, 5,1 mmol, 70%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₇N₅O₃ 456,30; encontrado 456,3. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-50% MeCN/H₂O ao longo de 6 min) = 3,06 min.

Exemplo 2: Síntese de éster fenílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

A uma solução de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (0,22 g, 0,55 mmol) e *N,N*-diisopropiletilamina (0,19 mL) em diclorometano (5,0 mL) foi adicionado cloroformato de fenilo (70 µL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 10 min, em seguida concentrada *in vacuo* e purificada via

HPLC de fase inversa preparativa para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido branco (98,4 mg, 0,13 mmol, 24%). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{30}H_{39}N_5O_3$ 518,32; encontrado 518,6. RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_3): δ (ppm) 1,14-1,28 (m, 2H), 1,39-1,53 (m, 6H), 1,52-1,62 (m, 2H), 1,70-1,78 (m, 2H), 1,92-2,06 (m, 4H), 2,82-2,97 (m, 6H), 3,32-3,38 (m, 2H), 3,43-3,50 (m, 1H), 3,52-3,69 (m, 2H), 4,04-4,12 (m, 1H), 4,18-4,26 (m, 1H), 6,91-6,98 (m, 1H), 7,08-7,13 (m, 1H), 7,21-7,28 (m, 1H), 7,45-7,50 (m, 1H), 7,73-7,77 (m, 1H), 7,81-7,87 (m, 1H), 9,02-9,32 (s 1, 1H).

Exemplo 3: Síntese de {1-[1-(2-clorobenzoil)piperidin-4-ilmetil] piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico

A uma suspensão de (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico (2,1 g, 5,29 mmol) em tetra-hidrofurano (26 mL) à temperatura ambiente foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (2,05 g, 15,87 mmol), diclorometano (12 mL) e *N,N*-dimetilformamida (5 mL). À suspensão resultante foi lentamente adicionado cloreto de o-clorobenzoílo (1,02 g, 5,82 mmol) e a mistura reaccional foi agitada durante 0,5 h à temperatura ambiente. A solução foi concentrada *in vacuo*, o resíduo resultante diluído com ácido acético (7,5 mL) e água (0,5 mL), e o produto purificado por HPLC preparativa de fase inversa. O sal purificado foi partilhado entre diclorometano e hidróxido de sódio aquoso 1 M, a camada orgânica removido e a camada aquosa re-extraída com diclorometano, e as camadas orgânicas combinadas lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e concentradas

in vacuo para dar o composto em epígrafe como uma espuma branca (1,75 g, 3,26 mmol, 62%).

(m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{30}H_{38}ClN_5O_2$) 536,28; encontrado 536,3. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): 0,90 (m 1, 2H), 1,24 (d, 6H), 1,45 (m 1, 2H), 1,68 (m 1, 8H), 1,96 (m, 1H), 2,72 (m 1, 5H), 3,08 (m, 2H), (3,20, m, 3H), 4,40 (m 1, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,39 (m, 1H), 7,49 (dd, 1H), 7,66 (dd, 1H).

Exemplos 4-6

Utilizando processos semelhantes ao do Exemplo 3, excepto substituindo o cloreto de o-clorobenzoílo pelo reagente de cloreto apropriado, foram preparados os compostos dos Exemplos 4-6.

Exemplo 4 {1-[1-(2,4-difluoro-benzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;
(m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{30}H_{37}F_2N_5O_2$, 538,30; encontrado 538,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-60% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 2,12 min. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): 0,92 (m, 2H), 1,30 (m, 2H), 1,38 (d, 6H), 1,53 (m, 2H), 1,60-1,90 (m, 6H), 2,07 (d, 2H), 2,73-2,85 (m 1, 3H), 3,05 (t, 1H), 3,22 (septeto, 1H), 3,38 (m 1, 3H), 4,44 (d 1, 1H), 7,10-7,50 (m, 4H), 7,62 (d, 1H), 7,77 (d, 1 H), 10,10 (s 1, 1H).

Exemplo 5 {1-[1-(furano-2-carbonil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₇N₅O₃ 492,30; encontrado 492,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) =1,68 min.

Exemplo 6 {1-[1-(tiofeno-2-carbonil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₇N₅O₂S 508,28; encontrado 508,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 1,94 min.

Exemplo 7: Síntese de {1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometilbenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

A uma solução de ácido 2-fluoro-5-trifluorometil-benzóico (100 mg, 0,48 mmol) em dimetilformamida (4 mL) à temperatura ambiente foi adicionado hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio (200 mg, 0,48 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 0,25 h, em seguida foram adicionadas (1-piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (210 mg, 0,48 mmol) e *N,N*-diisopropiletilamina (0,184 mL, 0,96 mmol) e a agitação continuou durante mais 0,5 h. A solução foi evaporada *in vacuo* e

o produto em bruto purificado por HPLC de fase inversa [gradiente de 5-10-25% (5-10% ao longo de 10 min; 10-25% ao longo de 50 min); caudal 15 mL/min; detecção a 280 nm] para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido branco (70 mg, 0,09 mmol, 18%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₃₇F₄N₅O₂ 588,30; encontrado 588,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-60% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 2,39 min.

Exemplo 8: Síntese de {1-[1-(2-fluoro-fenilarbamoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

(1-Piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico (220 mg, 0,55 mmol) foi dissolvida em *N,N*-dimetilformamida (2,0 mL) à temperatura ambiente. A esta solução foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (143,2 mg, 1,1 mmol) seguida de isocianato de *o*-fluorofenilo (75,4 mg, 0,55 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, concentrada *in vacuo* e o resíduo purificado por HPLC de fase inversa preparativa para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido branco (92,6 mg, 0,12 mmol, 22%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₃₉FN₆O₂ 535,32; encontrado 535,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 2,09 min.

Exemplo 9: Síntese de [1-(1-metanossulfonilpiperidin-4-ilmetil)piperidin-4-ilmetil]amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico

(1-Piperidin-4-ilmetilpiperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico (40 mg, 0,1 mmol) foi dissolvida em *N,N*-dimetilformamida (1,0 mL) à temperatura ambiente. A esta solução foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (0,175 mL, 1 mmol) seguida de cloreto de metanossulfonilo (11,5 mg, 0,1 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 16 h, em seguida concentrada *in vacuo* e o resíduo purificado por HPLC de fase inversa preparativa para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe como um sólido branco (27,2 mg, 0,04 mmol, 40%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₃₇N₅O₃S 476,27; encontrado 476,2. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 1,66 min.

Exemplo 10: Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-terc-butil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)amino]-metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

Ao produto em bruto da Preparação 3 (2,4 g, 5,8 mmol) em diclorometano (29 mL) à temperatura ambiente foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (1,5 g, 11,6 mmol). A mistura resultante foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado, gota a gota, cloroformato de metilo (660 mg, 6,98 mmol). A reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante mais 10 min. A solução foi concentrada, redissolvida em ácido acético a 50% em água, filtrada e purificada por HPLC preparativa de fase inversa. O sólido resultante foi dissolvido

em diclorometano e lavado com hidróxido de sódio aquoso 1 M. A camada aquosa foi extraída duas vezes com diclorometano e as camadas orgânicas combinadas lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas para dar o composto em epígrafe como uma espuma branca (1,3 g, 2,8 mmol, 48%). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{26}H_{39}N_5O_3$ 470,32, encontrado 470,6. RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_3): δ (ppm) 1,02-1,16 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,47-1,7 (m, 4H), 1,82-2,03 (m, 4H), 2,74-2,94 (m, 6H), 3,31-3,40 (m, 2H), 3,54-3,58 (m, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,98-4,03 (m, 2H), 7,41-7,46 (m, 1H), 7,71-7,74 (m, 1H), 7,79-7,82 (m, 1H), 9,35 (s, 1H).

Exemplos 11-13

Utilizando processos semelhantes aos do Exemplo 10, excepto substituindo o cloroformato de metilo pelo reagente de cloreto apropriado, foram preparados os compostos de Exemplos 11-13.

Exemplo 11 {1-[1-(2-fluoro-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{31}H_{40}FN_5O_2$ 534,33; encontrado 534,4. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/ H_2O ao longo de 4 min) = 2,09 min.

Exemplo 12 {1-[1-(3-metil-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{32}H_{43}N_5O_2$ 530,35; encontrado 530,42. Tempo de retenção (HPLC

anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de
4 min) = 2,22.

Exemplo 13 {1-[1-(4-fluorobenzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-terc-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;
(*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₄₀FN₅O₂ 534,33; encontrado 534,4. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-65% MeCN/H₂O ao longo de 4 min) = 2,17.

Exemplo 14. Síntese de éster metílico do ácido 4-[4-([2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil]amino)metil]piperidin-1-ilmetil]piperidina-1-carboxílico

a. Preparação de ácido 2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

A uma solução de éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico (1,5 g, 9,2 mmol) em HCl 4 M (50 mL) foi adicionado ácido 2-hidroxiisobutírico (2,87 g, 27,6 mmol). A mistura foi agitada a ~90 °C durante 24 h. Foi neutralizada através da utilização de solução aquosa de hidróxido de sódio até pH~3 e concentrada até à secura. O resíduo foi suspenso em metanol e filtrado através de um filtro de papel. O filtrado foi concentrado e o resíduo foi lavado com éter. O resíduo sólido remanescente foi dissolvido em acetato de etilo e lavado com solução aquosa saturada de solução de cloreto de sódio. Após secagem sobre MgSO₄, a solução orgânica foi evaporada *in vacuo*,

produzindo o intermediário em epígrafe como um óleo amarelo pálido (~800 mg). O produto em bruto foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação. (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{11}H_{12}N_2O_3$ 221,09; encontrado 221,1. RMN de ^1H (CD_3OD) δ (ppm) 7,8 (dd, 1H), 7,7 (dd, 1H), 7,2 (m, 1H), 1,3 (s, 6H).

b. Síntese de éster metílico do ácido 4-[4-([2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazole-4-carbonil]amino)metil]piperidin-1-ilmetil]piperidina-1-carboxílico

A uma solução do produto de ácido benzoimidazole-carboxílico do passo anterior (0,7 g, 3,18 mmol), do produto de aminometilpiperidina da Preparação 4 como o sal de bis-TFA (1,2 g, 3,13 mmol) e hidroxibenzotriazole (HOBt) (0,43 g, 3,18 mmol) em dimetilformamida (50 mL) foi adicionada trietilamina (1,3 mL, 9,3 mmol) e cloridrato de *N*-Etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) (0,67 g, 3,5 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 12 h, e concentrada até à secura *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre diclorometano (150 mL) e bicarbonato de sódio saturado. A camada orgânica foi seca sobre $MgSO_4$ e evaporada até à secura, produzindo um resíduo oleoso amarelo pálido. Este foi purificado por HPLC preparativa para proporcionar o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe. (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{25}H_{37}N_5O_4$ 472,29; encontrado 472,5. Tempo de retenção (HPLC anal.: 5-30% MeCN/ H_2O ao longo de 6 min) = 3,67 min. RMN de ^1H (CD_3OD) δ (ppm) 7,9-7,8 (m, 2H), 7,6-7,5 (t, 1H), 4,0 (d 1, 2H), 3,6 (s, 5H), 2,9-2,75 (m 1, 5H), 2,05-1,9 (d 1, 3H), 1,68 (m, 6H), 1,15 (m, 4H).

Exemplo 15. Síntese de éster metílico do ácido 4-[4-([2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazole-4-carbonil]amino)metil)-piperidin-1-ilmetil]piperidina-1-carboxílico

a. Preparação de ácido 2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazole-4-carboxílico

A uma solução de éster metílico do ácido 2,3-diaminobenzóico (2,1 g, 14,1 mmol) em HCl 4 M (90 mL) foi adicionado éster metílico do ácido 2-metil-3-hidroxipropiônico (5 g, 42,3 mmol). A mistura foi agitada a ~90 °C durante 24 h. Foi neutralizada pela utilização de solução aquosa de hidróxido de sódio até pH~3 e concentrada até à secura. O resíduo foi suspenso em metanol, e filtrado através de um papel de filtro. Depois de o filtrado ter sido concentrado, o resíduo sólido remanescente foi dissolvido em água e lavado com acetato de etilo. A solução aquosa foi evaporada *in vacuo* produzindo o intermediário em epígrafe como um óleo amarelo pálido (~800 mg). O produto em bruto foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação. (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{11}H_{12}N_2O_3$ 221,09; encontrado 221,3. RMN de ^1H (CD_3OD) δ (ppm) 8,1 (d, 1H), 7,9 (m, 1H), 7,6 (t, 1H), 3,8 (m, 2H), 3,6 (m, 1H), 1,4 (d, 3H).

b. Síntese de éster metílico do ácido 4-[4-([2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazole-4-carbonil]amino)metil)piperidin-1-ilmetil]piperidina-1-carboxílico

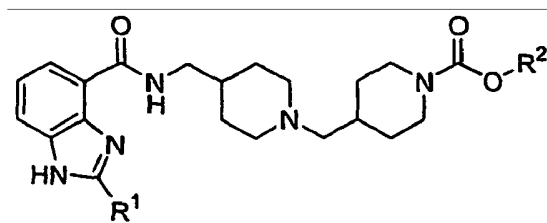
A uma solução do produto de ácido benzoimidazole-carboxílico do passo anterior (0,45 g, 1,75 mmol), o produto de

aminometilpiperidina da Preparação 4 como o sal de bis-trifluoroacetato (0,8 g, 1,6 mmol) e HOBt (0,237 g, 1,75 mmol) em dimetilformamida (50 mL) foi adicionada trietilamina (0,98 mL, 7,0 mmol) e EDC (0,353 g, 1,84 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 12 h e concentrada até à secura sob pressão reduzida. O resíduo foi partilhado entre diclorometano (150 mL) e bicarbonato de sódio saturado. A camada orgânica foi seca sobre MgSO_4 e evaporada até à secura, produzindo um resíduo oleoso amarelo pálido. Este foi purificado por HPLC preparativa, produzindo o sal de bis-trifluoroacetato do composto em epígrafe (0,2 g). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4$ 472,29; encontrado 472,5. Tempo de retenção (HPLC anal.: 10-40% MeCN/ H_2O ao longo de 6 min) = 3,31 min. RMN de ^1H (CD_3OD) δ (ppm) 7,9-7,8 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 1H), 4,0 (d 1, 2H), 3,85-3,7 (m, 2H), 3,6 (s 1, 6H), 3,3 (l, 2H), 2,9-2,6 (m 1, 6H), 2,0-1,8 (l, 4H), 1,7-1,5 (m, 6H), 1,4 (m, 3H), 1,1-1,0 (m, 4H).

Compostos Adicionais da Invenção

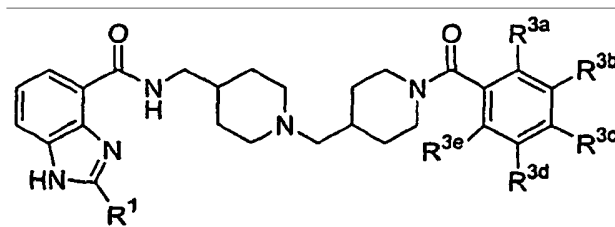
Utilizando os procedimentos dos Exemplos 1-13 e variações destes, foram preparados os compostos dos Quadros I até IX e caracterizados por espectrometria de massa. Nos quadros seguintes, as entradas em branco denotam hidrogénio.

Quadro I



Exemplo N°	R ¹	R ²	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
16	iPr	-CH ₂ -fenilo	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532, 32	532, 2
17	iPr	iPr	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484, 32	484, 2
18	tBu	fenilo	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532, 32	532, 2
19	tBu	-CH ₂ -fenilo	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546, 34	546, 4
20	tBu	iPr	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498, 34	498, 4

Quadro II



Exemplo N°	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
21	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550, 29	550, 6
22	iPr						C ₃₀ H ₃₉ N ₅ O ₂	502, 31	502, 4
23	iPr	F					C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520, 30	520, 2
24	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 4
25	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570, 30	570, 2
26	iPr		F				C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520, 30	520, 2
27	iPr		CH ₃				C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 4
28	iPr		CF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570, 30	570, 2
29	iPr		Cl				C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536, 27	536, 2

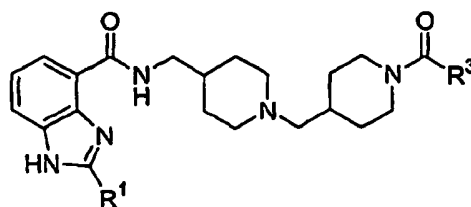
(continuação)

Exemplo Nº	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
30	iPr			CF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570,30	570,2
31	iPr			CH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
32	iPr			Cl			C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536,27	536,2
33	iPr			OCH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
34	iPr			F			C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520,30	520,2
35	iPr	F				F	C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
36	iPr	F			F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
37	iPr		F	F			C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
38	iPr	F	F				C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
39	iPr		F		F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
40	iPr	F		Cl			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,4
41	iPr		CF ₃		CF ₃		C ₃₂ H ₃₇ F ₆ N ₅ O ₂	638,29	638,2
42	iPr	Cl		F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,2
43	iPr		Cl		Cl		C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570,23	570,2
44	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₈ FN ₅ O ₃	586,29	586,2
45	iPr		CF ₃	F			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588,29	588,2
46	iPr		Cl	F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,2
47	iPr	OCH ₃		Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₃	566,28	566,2
48	iPr	CN					C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527,31	527,2
49	iPr	Cl		Cl			C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570,23	570,2
50	iPr		F	CF ₃			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588,29	588,2
51	iPr			CN			C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527,31	527,2
52	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₃	568,30	568,8
53	tBu	Cl		F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2
54	tBu		Cl		Cl		C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584,25	584,2
55	tBu		CN				C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,4
56	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2
57	tBu		CF ₃	F			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,2
58	tBu		Cl	F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2

(continuação)

Exemplo Nº	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
59	tBu	OCH ₃		Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580,30	580,2
60	tBu	CN					C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,4
61	tBu	Cl		Cl			C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584,25	584,2
62	tBu		F	CF ₃			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,2
63	tBu	F			CF ₃		C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,4
64	tBu			CN			C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,2
65	tBu			OCBF ₂			C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₃	582,32	582,4
66	tBu						C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,2
67	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
68	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
69	tBu		F				C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534,32	534,2
70	tBu		CF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
71	tBu		Cl				C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
72	tBu			CF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
73	tBu			CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
74	tBu			Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
75	tBu			OCH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
76	tBu	F				F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
77	tBu	F			F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
78	tBu		F	F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
79	tBu	F	F				C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
80	tBu		F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
81	tBu	F		F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
82	tBu	F			Cl		C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2
83	tBu		CF ₃		CF ₃		C ₃₃ H ₃₉ F ₆ N ₅ O ₂	652,30	652,2
84	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586,29	586,2
85	iPr		OCF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586,29	586,2
86	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2
87	tBu		OCF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2

Quadro III

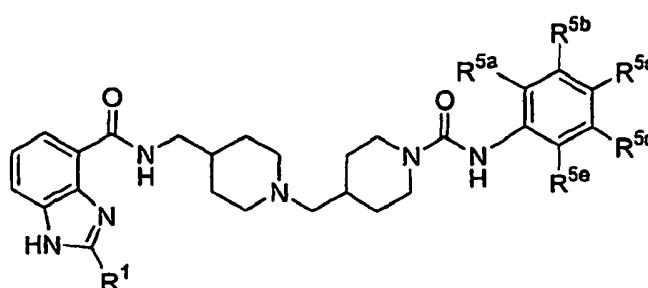


Exemplo Nº	R¹	R³	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
88	iPr	N(CH ₃) ₂	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₂	469,32	469,4
89	iPr	morfolin-1-ilo	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511,33	511,4
90	iPr	CH ₃	C ₂₅ H ₃₇ N ₅ O ₂	440,30	440,2
91	iPr	tetra-hidrofuran-2- ilo	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
92	iPr	-CH ₂ -tiofen-3-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2
93	iPr	2,2-dimetilpropilo	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
94	iPr	-CH ₂ -tiofen-2-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2
95	iPr	ciclo-hexilo	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
96	iPr	(S)-1-metilpropilo	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₂	482,34	482,4
97	iPr	-CH ₂ -naft-1-ilo	C ₃₅ H ₄₃ N ₅ O ₂	566,34	566,4
98	iPr	ciclopentilo	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
99	iPr	(R)-tetra- hidrofuran-2-ilo	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
100	tBu	furan-2-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃	506,31	506,2
101	tBu	-CH ₂ -tiofen-3-ilo	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
102	tBu	2,2-dimetilpropilo	C ₃₀ H ₄₇ N ₅ O ₂	510,37	510,4
103	tBu	-CH ₂ -tiofen-2-ilo	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
104	tBu	(S)-1-metilpropilo	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
105	tBu	-CH ₂ -naft-1-ilo	C ₃₆ H ₄₅ N ₅ O ₂	580,36	580,4
106	tBu	(R)-tetra- hidrofuran-2-ilo	C ₂₉ H ₄₃ N ₅ O ₃	510,34	510,4

(continuação)

Exemplo N°	R ¹	R ³	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
107	tBu	(S)-4-oxo-azetidin- 2-ilo	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₃	509,32	510,4
108	tBu	piridin-2-ilo	C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,2

Quadro IV

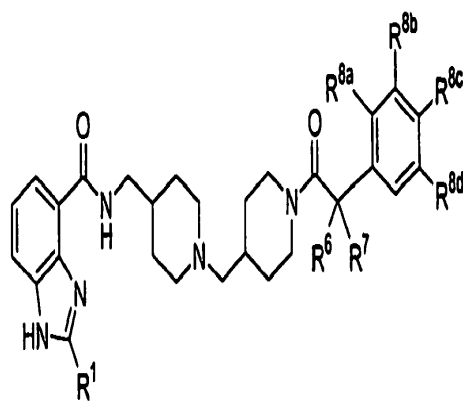


Exemplo N°	R ¹	R ^{5a}	R ^{5b}	R ^{5c}	R ^{5d}	R ^{5e}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
109	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
110	iPr		F				C ₃₀ H ₃₉ FN ₆ O ₂	535,31	535,2
111	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₂	585,31	585,2
112	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
113	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₄₀ F ₂ N ₆ O ₃	583,31	583,2
114	iPr						C ₃₀ H ₄₀ N ₆ O ₂	517,32	517,4
115	iPr	CH ₃				CH ₃	C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,4
116	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
117	iPr	tBu					C ₃₄ H ₄₈ N ₆ O ₂	573,38	573,4
118	iPr	Cl					C ₃₀ H ₃₉ ClN ₆ O ₂	551,28	551,2
119	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₁ ClN ₆ O ₂	565,30	565,2
120	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,5
121	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
122	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₂	599,32	599,2
123	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2

(continuação)

Exemplo N°	R ¹	R ^{5a}	R ^{5b}	R ^{5c}	R ^{5d}	R ^{5e}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
124	tBu			OCHF ₂			C ₃₂ H ₄₂ F ₂ N ₆ O ₃	597,33	597,4
125	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
126	tBu						C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
127	tBu	CH ₃				CH ₃	C ₃₃ H ₄₆ N ₆ O ₂	559,37	559,4
128	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2
129	tBu	tBu					C ₃₅ H ₅₀ N ₆ O ₂	587,40	587,4

Quadro V

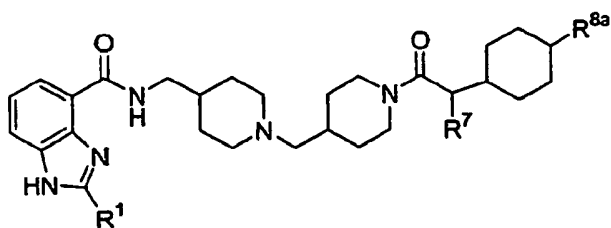


Exemplo Nº	R¹	R⁶	R⁷	R⁸ᵃ	R⁸ᵇ	R⁸ᶜ	R⁸ᵈ	Fórmula Molecular	[M+H]⁺ calc.	[M+H]⁺, encontrado
130	iPr		(S)-OH					C₃₁H₄₁N₅O₃	532,32	532,2
131	iPr		oxo					C₃₁H₃₉N₅O₃	530,31	530,2
132	iPr					Cl		C₃₁H₄₀ClN₅O₂	550,29	550,2
133	iPr		(S)-CH₃					C₃₂H₄₃N₅O₂	530,34	530,4
134	iPr		-(CH₂)₂-					C₃₃H₄₃N₅O₂	542,34	542,4
135	iPr			F		F		C₃₁H₃₉F₂N₅O₂	552,31	552,2
136	iPr				F			C₃₁H₄₀FN₅O₂	534,32	534,2
137	iPr				Cl			C₃₁H₄₀ClN₅O₂	550,29	551,2
138	iPr				F	F		C₃₁H₃₉F₂N₅O₂	552,31	552,2
139	iPr				F		F	C₃₁H₃₉F₂N₅O₂	552,31	553,2
140	iPr							C₃₁H₄₁N₅O₂	516,33	516,4
141	tBu		(S)-OH					C₃₂H₄₃N₅O₃	546,34	546,4

(continuação)

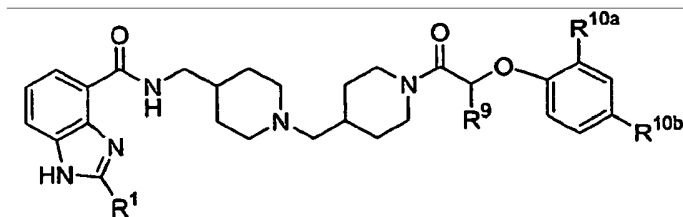
Exemplo N°	R ¹	R ⁶	R ⁷	R ^{8a}	R ^{8b}	R ^{8c}	R ^{8d}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ , encontrado
142	tBu					F		C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,2
143	tBu	oxo						C ₃₂ H ₄₁ N ₅ O ₃	544,32	544,4
144	tBu					Cl		C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	565,2
145	tBu		CH ₃			2-metilpropilo		C ₃₇ H ₅₃ N ₅ O ₂	600,42	600,4
146	tBu		(S)-CH ₃					C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₂	544,36	544,4
147	tBu	-(CH ₂) ₂ -						C ₃₄ H ₄₅ N ₅ O ₂	556,36	556,4
148	tBu			Cl		Cl		C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₂	598,26	599,2
149	tBu			F		F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
150	tBu				F			C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,4
151	tBu					CF ₃		C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,4
152	tBu				CF ₃			C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,2
153	tBu				Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	564,2
154	tBu				F	F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
155	tBu				F		F	C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,4
156	tBu							C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4

Quadro VI



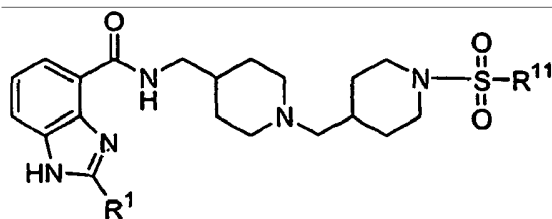
Exemplo Nº	R¹	R⁷	R⁸ᵃ	Fórmula Molecular	[M+H]⁺ calc.	[M+H]⁺ encontrado
157	iPr	(R)-OH		C₃₁F₄₇N₅O₃	538,37	538,4
158	iPr			C₃₁H₄₇N₅O₂	522,37	522,4
159	tBu	(R)-OH		C₃₂H₄₉N₅O₃	552,38	552,4
160	tBu			C₃₂H₄₉N₅O₂	536,39	536,4

Quadro VI



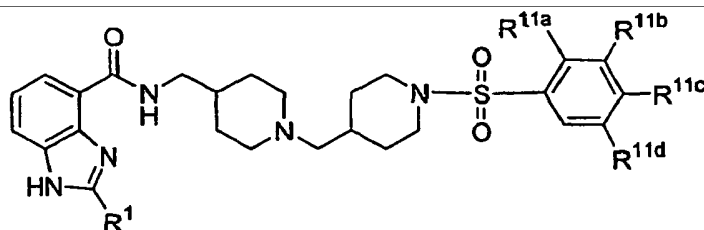
Exemplo Nº	R¹	R⁹	R¹⁰ᵃ	R¹⁰ᵇ	Fórmula Molecular	[M+H]⁺ calc.	[M+H]⁺ encontrado
161	iPr			CH₃	C₃₂H₄₃N₅O₃	546,34	546,4
162	iPr		Cl	Cl	C₃₁H₃₉Cl₂N₅O₃	600,24	601,2
163	iPr	CH₃		Cl	C₃₂H₄₂ClN₅O₃	580,30	581,2
164	iPr	CH₃			C₃₂H₄₃N₅O₃	546,34	546,4
165	tBu			CH₃	C₃₃H₄₅N₅O₃	560,35	560,4
166	tBu		Cl	Cl	C₃₂H₄₁Cl₂N₅O₃	614,26	615,2
167	tBu	CH₃		Cl	C₃₃H₄₄ClN₅O₃	594,31	595,2
168	tBu	CH₃			C₃₃H₄₅N₅O₃	560,35	560,4

Quadro VII



Exemplo N°	R¹	R¹¹	Fórmula Molecular	[M+H]⁺ calc.	[M+H]⁺ encontrado
169	iPr	CH₃	C ₂₄ H ₃₇ N ₅ O ₃ S	476,26	476,2
170	iPr	2,4-dimetilisoxazol-2-ilo	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	557,28	557,2
171	iPr	-CH₂-fenilo	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
172	tBu	2,4-dimetilisoxazol-2-ilo	C ₂₉ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	571,30	571,2
173	tBu	-CH₂-fenilo	C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2

Quadro IX



Exemplo N°	R¹	R¹¹ᵃ	R¹¹ᵇ	R¹¹ᶜ	R¹¹ᵈ	Fórmula Molecular	[M+H]⁺ calc.	[M+H]⁺ encontrado
174	iPr	CF₃				C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	606,27	606,2
175	iPr	CN				C ₃₀ H ₃₈ N ₆ O ₃ S	563,27	563,2
176	iPr			OCH₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₄ S	568,29	568,2
177	iPr		Cl			C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572,24	572,2
178	iPr	F				C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556,27	556,2
179	iPr			CF₃		C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606,27	606,2
180	iPr			iPr		C ₃₂ H ₄₅ N ₅ O ₃ S	580,32	580,4
181	iPr	Cl				C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572,24	572,2

(continuação)

Exemplo N°	R ¹	R ^{11a}	R ^{11b}	R ^{11c}	R ^{11d}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
182	iPr	CH ₃			F	C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2
183	iPr	Cl		F		C ₂₉ H ₃₇ ClFN ₅ O ₃ S	590,23	590,2
184	iPr	CH ₃	Cl			C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
185	iPr			tBu		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594,34	594,4
186	iPr	OCH ₃			Cl	C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₄ S	602,25	602,2
187	iPr			Cl		C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572,24	572,2
188	iPr					C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃ S	538,28	538,2
189	iPr.		F	F		C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556,27	556,2
190	iPr		CH ₃			C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
191	iPr			CH ₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
192	iPr		CF ₃			C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606,27	606,2
193	iPr	CH ₃				C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
194	tBu	CN				C ₃₁ H ₄₀ N ₆ O ₃ S	577,29	577,2
195	tBu			CF ₃		C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
196	tBu			iPr		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594,34	594,4
197	tBu	Cl				C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
198	tBu	CH ₃			F	C ₃₁ H ₄₂ FN ₅ O ₃ S	584,30	584,2
199	tBu	Cl		F		C ₃₀ H ₃₉ ClFN ₅ O ₃ S	604,24	604,2
200	tBu	CH ₃	Cl			C ₃₁ H ₄₂ ClN ₅ O ₃ S	600,27	600,2
201	tBu			tBu		C ₃₄ H ₄₉ N ₅ O ₃ S	608,36	608,4
202	tBu	OCH ₃			Cl	C ₃₁ H ₄₂ ClN ₅ O ₄ S	616,26	616,2
203	tBu		CH ₃			C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,4
204	tBu			CH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2
205	tBu		CF ₃			C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
206	tBu	CH ₃				C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2
207	tBu	CF ₃				C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
208	tBu			OCH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₄ S	582,30	582,2
209	tBu		Cl			C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
210	tBu	F				C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2

(continuação)

Exemplo N°	R ¹	R ^{11a}	R ^{11b}	R ^{11c}	R ^{11d}	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ calc.	[M+H] ⁺ encontrado
211	tBu			Cl		C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
212	tBu					C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
213	tBu			F		C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2

Exemplo 214. Síntese alternativa de éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

a. Preparação de éster metílico do ácido 4-hidroximetil-piperidina-1-carboxílico

4-Hidroximetilpiperidina (1,0 g, 8,6 mmol) foi dissolvida em água (15 mL) e arrefecida até 0 °C. A esta solução foi adicionada gota a gota uma solução de carbonato de potássio (4,8 g, 34,7 mmol) em água (10 mL), seguida de cloroformato de metilo (2,68 mL, 34,7 mmol). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 2 h. Depois de agitar de um dia para o outro (16 h), a mistura reaccional foi acidificada com ácido clorídrico aquoso 6 M e extraída com diclorometano (3 × 60 mL). Os extractos foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. O filtrado foi evaporado para produzir o intermediário em epígrafe (1,4 g, 8,1 mmol, 93%) como um óleo incolor. (*m/z*): C₈H₁₅NO₃ calc. 173,11; encontrado 156,2 [M-H₂O+H]⁺. RMN de ¹H (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0,98 (m, 2H), 1,52 (m, 1H), 1,63 (d 1, 2H), 2,72 (m 1, 2H), 3,23 (d, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,95 (d 1, 2H), 4,48 (s 1, 1H).

b. Preparação de éster metílico do ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico

A uma solução de cloreto de oxalilo (4,1 mL, 8,2 mmol) em diclorometano (4 mL) a -78 °C foi adicionada gota a gota uma solução de dimetilsulfóxido (1,2 mL, 16,4 mmol) em diclorometano (4 mL). Depois de agitar durante 5 min, foi adicionada uma solução de éster metílico do ácido 4-hidroximetilpiperidina-1-carboxílico (1,3 g, 7,5 mmol) em diclorometano (5 mL). A solução resultante foi agitada durante mais 5 min, em seguida foi adicionada trietilamina (5,2 mL, 37,3 mmol) e a mistura deixada aquecer até -10 °C. Depois de agitar durante 1 h, foi adicionado diclorometano (100 mL) e a camada orgânica foi lavada com ácido fosfórico aquoso 1 M, hidróxido de sódio aquoso 1 M e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A solução foi seca sobre sulfato de sódio, em seguida evaporada para proporcionar o intermediário em epígrafe como um óleo cor de trigo (1,0 g, 5,8 mmol, 78%). RMN de ^1H (300MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1,36 (m, 2H), 1,83 (m, 2H), 2,48 (m 1, 1H), 2,93 (t 1, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,80 (d 1, 2H), 9,56 (s, 1H).

c. Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

(Piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carboxílico (sal de bis-TFA; 1,1 g, 2,0 mmol) foi suspensa em diclorometano (20 mL) e foi adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (0,72 mL, 4,0 mmol). Quando a suspensão se tornou uma solução transparente, foi adicionado ácido acético (0,13 mL, 2,0 mmol), seguido de uma solução de éster metílico do

ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico (0,54 g, 3,1 mmol) em diclorometano (20 mL). Depois de agitar durante 5 minutos à temperatura ambiente, foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,628 g, 3,1 mmol) e a reacção agitada durante um mais 1 h. A camada aquosa foi então tornada alcalina com hidróxido de sódio aquoso 1 M (35 mL) e extraída com diclorometano (2 × 20 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e evaporadas para produzir o produto em bruto como um sólido castanho (1,41 g).

O produto em bruto foi purificado via HPLC preparativa (fase inversa) [gradiente de 5-10-25%: 5% MeCN/água (0,1% TFA) até 10% MeCN linear ao longo de 10 min; 10% MeCN até 25% MeCN linear ao longo de 50 min; caudal = 15 mL/min; detecção a 280 nm] para proporcionar o composto em epígrafe como o sal de bis-trifluoroacetato, que foi então liofilizado. Foi adicionada uma mistura de hidróxido de sódio 1 M e diclorometano (1:1, 100 mL) ao sal de bis-trifluoroacetato liofilizado. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada, e o sólido resultante foi liofilizado para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco (0,93 g, 2 mmol, 98% de rendimento, pureza 97,5%). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para $C_{25}H_{37}N_5O_3$ 456,30; encontrado 456,3. Tempo de retenção (HPLC anal.: 2-50% MeCN/ H_2O ao longo de 6 min) = 3,06 min. RMN de ^1H (300 MHz, $DMSO-d_6$): 0,92 (m, 2H), 1,30 (m, 2H), 1,38 (d, 6H), 1,53 (m, 1H), 1,60-1,90 (m, 7H), 2,07 (d, 2H), 2,73 (m 1, 2H), 2,83 (d 1, 2H), 3,22 (septeto, 1H), 3,33 (t, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,93 (d 1, 2H), 7,23 (t, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,77 (d, 1H), 10,10 (s 1, 1H).

Exemplo 215. Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I)

Éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico na forma de sólido amorfo, preparado de acordo com o processo do Exemplo 214 (300 mg) foi dissolvido em acetonitrilo (15 mL), misturado até dissolução completa, e exposto à atmosfera resultando em evaporação parcial. Foi observada a formação de núcleos de cristalização em menos de 2 h. A composição química dos cristais foi confirmada através de análise estrutural por RMN de ¹H, cromatografia líquida/espectrometria de massa (LC/MS) e raios X. A natureza cristalina do produto sólido foi confirmada por difracção de raios X, calorimetria de varrimento diferencial e análise estrutural por raios X.

Exemplo 216. síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetbil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I)

a. Preparação de éster metílico do ácido 4-hidroximetilpiperidina-1-carboxílico

4-Hidroximetilpiperidina (47,6 g, 1,0 eq) e água (300 mL) foram introduzidos num balão. A mistura resultante foi arrefecida até 0-10 °C. Foram adicionados carbonato de potássio (85,7 g, 1,5 eq) dissolvido em água (150 mL) e cloroformato de metilo (38,4 mL, 1,1 eq) enquanto se mantinha a temperatura abaixo de 10 °C. Quando a adição estava concluída, a mistura

reaccional foi aquecida até 20-30 °C durante 1 hora. Depois da reacção estar concluída, foi adicionado diclorometano (500 mL) à mistura reaccional. A camada orgânica foi recolhida e lavada com solução de ácido fosfórico 1 M (200 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (200 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (200 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio (50 g, 1 p/p eq) e em seguida destilada sob vácuo para produzir o intermediário em epígrafe. (67,0 g, 90% de rendimento)

b. Preparação de éster metílico do ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico

Éster metílico do ácido 4-hidroximetilpiperidina-1-carboxílico (34,7 g, 1,0 eq) foi dissolvido em diclorometano e arrefecido até 0-10 °C. Foi adicionada uma solução de bicarbonato de sódio (2,35 g, 0,14 eq) e brometo de sódio (2,40 g, 0,10 eq) em água (100 mL) ao longo de 15 min enquanto se mantinha a temperatura a 0-10 °C. Foi adicionado o radical livre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxilo (TEMPO) (0,32 g, 0,01 eq) à mistura, seguido de solução de hipoclorito de sódio a 10-13% p/v (135 mL, 1,1 eq) ao longo de 1 h com boa agitação enquanto se mantinha a temperatura a 0-10 °C. Depois da reacção estar concluída, as camadas foram separadas e a camada orgânica lavada com água (150 mL) e seca sobre sulfato de sódio (30 g, 1 p/p eq). O solvente foi removido por destilação para proporcionar o intermediário em epígrafe (31,0 g, 90% de rendimento).

c. Preparação de (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico

Foi adicionado ácido trifluoroacético (56,0 mL, 10 eq) a um balão contendo uma solução, ~5 °C, de éster terc-butílico do ácido 4- $\{[(2\text{-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)amino]metil}\}$ -piperidina-1-carboxílico (30,0 g, 1,0 eq) em diclorometano (300 mL) enquanto se mantinha a temperatura abaixo de 10 °C. A mistura resultante foi agitada a 20-30 °C durante 2 h. Quando a reacção estava concluída foram adicionados trietilamina (73,2 mL, 7,0 eq) e ácido acético (4,3 mL, 1,0 eq) para proporcionar uma solução do intermediário em epígrafe com um pH aparente de aproximadamente 4 que foi utilizado directamente no passo seguinte.

d. Síntese de éster metílico do ácido 4-(4- $\{[(2\text{-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonilamino]metil}\}$ piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico

Foi adicionado éster metílico do ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico (25,7 g, 2,0 eq) à solução preparada no passo anterior enquanto se mantinha a temperatura a 20-30 °C. Depois de agitar durante 30 min, foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (24,3 g, 1,5 eq) enquanto se mantinha a temperatura a 20-30 °C. A mistura reaccional foi agitada a 20-30 °C durante 30 min. Depois de a reacção estar concluída, foi adicionado ácido clorídrico 1 M (300 mL) para desactivar a reacção. O produto contendo a camada aquosa foi recolhido e lavado com diclorometano, (150 mL). A camada aquosa foi tratada com carvão activado (Darco G60, 6 g, 20% p/p) para remover a cor. A suspensão foi agitada durante 1 h e em seguida filtrada através

de um leito de Celite. Foi adicionado diclorometano (300 mL) à solução aquosa e o produto livre tornado básico utilizando hidróxido de sódio 4 N ajustando o pH da camada aquosa até 12-13. A camada orgânica foi recolhida e lavada com água (300 mL). A camada orgânica foi destilada a 80 °C e o solvente trocado por acetonitrilo (2 × 300 mL), para remover o diclorometano e trietilamina residual. Os sólidos foram suspensos em acetonitrilo (600 mL) e a mistura aquecida até os sólidos estarem dissolvidos (~75 °C). A solução foi arrefecida até ocorrer a formação de núcleos de cristalização (~55 - 65 °C) e mantida durante 1 h. A suspensão espessa foi arrefecida até 20 °C ao longo de 2 h e, em seguida, até 0-5 °C ao longo de 30 min, seguida de agitação a 0-5 °C durante 30 min. Os sólidos foram filtrados e lavados com acetonitrilo frio (60 mL). O bolo húmido foi seco sob vácuo a 60 °C durante 6 h para proporcionar o composto em epígrafe. (28,3 g, 85% de rendimento).

Exemplo 217: Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma I)

Éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico na forma de sólido amorfo, preparado de acordo com o processo do Exemplo 214 foi disperso nos diluentes inertes listados no Quadro X abaixo. As misturas foram expostas à atmosfera e deixadas até evaporar completamente. Os sólidos resultantes foram caracterizados por difracção de raios X. Foi demonstrado que todos os sólidos eram cristalinos com um padrão de difracção de raios X coerente com o

descrito abaixo no Exemplo 220, o qual foi obtido a partir da amostra do Exemplo 215.

Quadro X: Síntese da Forma Cristalina

Diluyente	Composto de Fórmula (I) (mg)	Volume de Diluyente (mL)
Éter	4,60	0,230
Ciclo-hexano	4,87	0,486
Acetato de etilo	5,67	0,284

Exemplo 218: Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma II)

Éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico na forma de sólido amorfo (42,2 mg) foi disperso em hexano (4,22 mL) à temperatura ambiente a uma concentração final de 10 mg/mL. A solução foi submetida a ultrassons para dispersar os sólidos maiores. Após 24 h à temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) tinha ocorrido cristalização. Os sólidos cristalinos foram isolados por filtração a vácuo, antes da análise.

Exemplo 219: Síntese de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino (Forma III)

Éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico na forma de sólido amorfo (38 mg) foi dissolvido numa mistura solvente de etanol:água 1:1 (1,9 mL) à temperatura ambiente a uma concentração final de 20 mg/mL. A solução foi submetida a ultrassons durante 30 segundos para garantir dissolução total. A solução foi então deixada evaporar lentamente num frasco destapado. Após 24 h à temperatura ambiente tinha ocorrido cristalização. Os sólidos cristalinos foram isolados por filtração a vácuo. O bolo de filtração foi lavado uma vez com uma mistura solvente de etanol:água 1:1, antes da análise.

Exemplo 220: Difraccção de Raios X

Os padrões de difracção de raios X foram obtidos com um Difractómetro de Raios X Thermo ARL Modelo X'TRA (Thermo ARL SA, Suíça) utilizando radiação K α de Cu a 1,542 Å (45 kV, 40 mA) com um detector de estado sólido de Si(Li). A análise foi tipicamente realizada a uma velocidade de varrimento de 2°/min com um tamanho de passo de 0,03° por ponto ao longo de uma gama de 2° θ a 35° em ângulo dois-teta. As amostras, como recebidas ou trituradas num pó fino, foram suavemente empacotadas num cadinho de quartzo com 7,8 mm de diâmetro e 0,5 mm de profundidade concebido para caber no porta-amostras de carregamento superior do instrumento para análise. A calibração do instrumento em $\pm 0,02^\circ$ de ângulo dois-teta foi verificada semanalmente por

comparação com um padrão de metal de silício. Um padrão de PXRD representativo para o composto cristalino do Exemplo 215 (Forma I), que foi triturado à mão até um pó, é mostrado na Figura 1. Um padrão de PXRD representativo para uma amostra de Forma cristalina III obtido com um difractómetro Rigaku utilizando radiação $K\alpha$ de Cu (30 kV, 15 mA) é mostrado na Figura 5.

Exemplo 221: Análise Estrutural por raios X

a. Forma I

Um pedaço do cristal produzido no Exemplo 215 possuindo dimensões de $0,33 \times 0,17 \times 0,11$ mm foi montado numa fibra de vidro. Os dados de estrutura de raios X foram obtidos utilizando um detector de área Bruker SMART 6K CCD-ray com um diâmetro de janela de 13,5 cm, controlado pelo software SMART versão 5.630 (Bruker, 2003) utilizando radiação $K\alpha$ de Cu. A distância da amostra até ao detector foi de 5,039 cm. Os dados foram recolhidos a uma temperatura de -153 ± 1 °C e foram analisados utilizando o software SHELXS versão 6.14 (Bruker, 2003). Foram derivados os seguintes parâmetros de rede: a célula unitária é ortorrômbica com dimensões $a = 16,9053$ Å, $b = 9,5172$ Å, $c = 15,4659$ Å; o grupo espacial é $Pna2_1$; a densidade calculada é de 1,22 g/cm. Os picos de difracção de raios X previstos a partir das posições atómicas derivadas estão em excelente concordância com os resultados observados obtidos como descrito no Exemplo 220, como se mostra no Quadro XI.

Quadro XI: Posições dos Picos de PXRD

Observado 2θ (graus)	Previsto 2θ (graus)
15,08 $\pm 0,20$	15,1 $\pm 0,2$
15,41 $\pm 0,20$	15,6 $\pm 0,2$
19,00 $\pm 0,20$	19,2 $\pm 0,2$
19,70 $\pm 0,20$	19,5 $\pm 0,2$
23,68 $\pm 0,20$	23,7 $\pm 0,2$

b. Forma III

Um pedaço do cristal produzido pelo processo do Exemplo 219 possuindo dimensões de 0,35 × 0,12 × 0,09 mm foi analisado pelo método descrito acima. Foram derivados os seguintes parâmetros de rede: a célula unitária é monoclinica com dimensões $a = 14,8101 \text{ \AA}$, $b = 9,9985 \text{ \AA}$, $c = 17,9222 \text{ \AA}$; $\beta = 106,3020^\circ$, o grupo espacial é $P2_1/n$; a densidade calculada é de $1,23 \text{ g/cm}^3$.

Exemplo 222: Análise Térmica

A calorimetria de varrimento diferencial (DSC) foi realizada utilizando um módulo TA Instruments Modelo Q-100. Os dados foram recolhidos e analisados utilizando o software TA Instruments Thermal Advantage para o Q Series™. Foi pesada com exactidão uma amostra de cerca de 7 mg para um recipiente de alumínio com tampa. A amostra foi avaliada utilizando uma rampa de aquecimento linear de 10°C/min desde 5°C até cerca de 200°C . A célula de DSC foi purgada com azoto seco durante a utilização.

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada utilizando um módulo TA Instruments Modelo Q-500. Os dados foram recolhidos e analisados utilizando o software TA Instruments Thermal Advantage para o Q Series™. Uma amostra com cerca de 2 mg de peso foi colocada num recipiente de alumínio num suporte de platina e varrida desde a temperatura ambiente até cerca de 300 °C com uma velocidade de aquecimento linear de 10 °C/min. As câmaras de equilíbrio e do forno foram purgadas com azoto durante a utilização.

Perfis representativos de DSC e TGA para o material de Forma cristalina I (preparada de acordo com o processo do Exemplo 216), Forma II e Forma III são mostrados nas Figuras 2, 4 e 6, respectivamente.

Exemplo 223: Avaliação da Absorção Dinâmica de Humidade

A avaliação da absorção dinâmica de humidade (DMS) foi realizada a 25 °C utilizando um sistema de microbalança atmosférica VTI, SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Foi utilizado um tamanho de amostra de aproximadamente 5-10 mg e a humidade foi fixada no valor ambiente no início da análise. Uma análise de DMS típica consistiu de três varrimentos: ambiente até 2% de humidade relativa (HR), 2% de HR até 90% de HR, 90% de HR até 5% de HR a um velocidade de varrimento de 5% de HR/passo. A massa foi medida a cada dois minutos e a HR foi mudada para o valor seguinte ($\pm 5\%HR$) quando a massa da amostra era estável dentro de 0,02% durante 5 pontos consecutivos. Uma isotérmica de DMS representativa para o composto cristalino do Exemplo 215 (Forma I) é mostrada na Figura 3.

O composto cristalino da invenção exibe um perfil de absorção/dessorção reversível com uma alteração de peso inferior a 0,25% ao longo de toda a gama de 2% até 90% de HR e uma alteração de peso inferior a 0,1% ao longo da gama de humidade crítica de 40% até 75% de HR.

Exemplo 224: Análise por Infravermelho

O espectro de absorção no infravermelho (IV) do composto cristalino do Exemplo 215 (Forma I) foi determinado ao longo da gama de frequências de 4000 a 675 cm^{-1} utilizando um espectrómetro Avatar 360 FT-IR munido de um porta-amostras de reflexão total atenuada (ATR) Nicolet. Um espectro de absorção no IV representativo para uma amostra do composto cristalino da invenção tinha bandas de absorção significativas a 766 ± 1 , 1097 ± 1 , 1251 ± 1 , 1413 ± 1 , 1449 ± 1 , 1579 ± 1 , 1609 ± 1 , 1640 ± 1 , e 1696 ± 1 cm^{-1} .

Exemplo 225: Avaliação da Estabilidade no Estado Sólido

Amostras do composto cristalino de Forma I, preparadas de acordo com o processo do Exemplo 216, foram conservadas em múltiplos frasquinhos de vidro abertos a 40 °C e 75% de HR. Em intervalos específicos, o conteúdo de um frasquinho representativo era removido e analisado por DSC, TGA, PXRD e por HPLC em relação à pureza química. Após três meses de conservação, não houve qualquer alteração detectável nos termogramas de DSC ou TGA nem no padrão de PXRD. A pureza química da amostra conservada foi 99,5%.

Ensaio 1: Ensaio de ligação de radioligando em Receptores 5-HT_{4(c)} Humanos

a. Preparação da Membrana 5-HT_{4(c)}

Células HEK-293 (rim embrionário humano) transfectadas de modo estável com ADNc do receptor 5-HT_{4(c)} humano (B_{max} = ~6,0 pmol/mg proteína, como determinado utilizando ensaio de ligação de radioligando à membrana [³H]-GR113808) foram cultivadas em balões T-225 em Meio de Eagles Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 4 500 mg/L de D-glucose e cloridrato de piridoxina (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: Cat N° 11965) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 10437), L-glutamina 2 mM e (100 unidades) penicilina-(100 µg) estreptomicina/mL (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 15140) numa incubadora humidificada, 5% CO₂ a 37 °C. As células foram cultivadas sob pressão de selecção contínua através da adição de 800 µg/mL de geneticina (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 10131) ao meio.

As células foram cultivadas até aproximadamente 60-80% de confluência (< 35 passos de subcultura). Às 20-22 horas antes da colheita, as células foram lavadas duas vezes e forneceu-se DMEM isento de soro. Todos os passos de preparação da membrana foram realizados com gelo. A monocamada celular foi levantada por agitação mecânica suave e trituração com uma pipeta de 25 mL. As células foram recolhidas por centrifugação a 1000 rpm (5 min).

Para a preparação das membranas, os sedimentos celulares foram ressuspensos em ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-etanossulfónico 50 mM gelado (HEPES), pH 7,4 (tampão de preparação de membranas) (40 mL/rendimento celular total a

partir de 30-40 balões T225) e homogeneizados utilizando um disruptor polytron (ajuste 19, 2×10 s) em gelo. Os homogenatos resultantes foram centrifugados a 1200 g durante 5 min a 4 °C. O sedimento foi rejeitado e o sobrenadante centrifugado a 40000 g (20 min). O sedimento foi lavado uma vez por ressuspensão com tampão de preparação de membranas e centrifugação a 40000 g (20 min). O sedimento final foi ressuspensão em HEPES 50 mM, pH 7,4 (tampão de ensaio) (equivalente 1 balão T225/1 mL). A concentração de proteína na suspensão de membranas foi determinada pelo método de Bradford (Bradford, 1976). As membranas foram conservadas congeladas em alíquotas a -80 °C.

b. Ensaaios de ligação de radioligando

Os ensaios de ligação de radioligando foram realizadas em placas de ensaio de polipropileno com 96 poços profundos de 1,1 mL (Axygen) num volume total de ensaio de 400 μ L contendo 2 μ g de proteína de membrana em HEPES 50 mM, pH 7,4, contendo 0,025% de albumina de soro bovino (BSA). Os estudos de saturação de ligação para determinação dos valores de K_d do radioligando foram realizados utilizando [^{3} H]-GR113808 (Amersham Inc., Bucks, UK: Cat N° TRK944; actividade específica ~82 Ci/mmol) a 8-12 concentrações diferentes que vão desde 0,001 nM - 5,0 nM. Os ensaios de substituição para determinação dos valores de pK_i dos compostos foram realizados com [^{3} H]-GR113808 a 0,15 nM e onze concentrações diferentes de composto que vão desde 10 pM - 100 μ M.

Os compostos de ensaio foram recebidos como soluções-mãe a 10 mM em DMSO e diluídos a 400 μ M em HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25 °C, contendo 0,1% de BSA, e em seguida foram feitas diluições

sucessivas (1:5) no mesmo tampão. A ligação não específica foi determinada na presença de GR113808 não marcado 1 μ M. Os ensaios foram incubados durante 60 min à temperatura ambiente e em seguida as reacções de ligação foram terminadas por filtração rápida sobre placas de filtro de fibra de vidro GF/B de 96 poços (Packard BioScience Co., Meriden, CT) pré-enxaguadas em polietilenoimina a 0,3%. As placas de filtro foram lavadas três vezes com tampão de filtração (HEPES 50mM gelado, pH7,4) para remover radioactividade não ligada. As placas foram secas, foram adicionados 35 μ L de fluido de cintilação líquida Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) a cada poço e as placas foram contadas num contador de cintilação líquida Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Os dados de ligação foram analisados por análise de regressão não linear com o conjunto de software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) utilizando o modelo de 3 parâmetros para competição em um sítio. O FUNDO (mínimo da curva) foi fixado ao valor para a ligação não específica, como determinado na presença de GR113808 1 μ M. Os valores de K_i para os compostos de ensaio foram calculados, no Prism, a partir dos valores de IC_{50} de melhor ajuste e do valor de K_d do radioligando, utilizando a equação de Cheng-Prusoff (Cheng e Prusoff, Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 3099-108): $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$ em que $[L]$ = concentração de [^3H]-GR113808. Os resultados são expressos como o logaritmo decimal negativo dos valores de K_i , pK_i .

Os compostos de ensaio que têm um valor de pK_i maior neste ensaio têm uma maior afinidade de ligação para o receptor 5-HT₄. Os compostos da invenção que foram testados neste ensaio tinham um valor de pK_i que vai desde cerca de 7,0 até cerca de 10,0.

Ensaio 2: Ensaio de Ligação de Radioligando em Receptores 5-HT_{3A} Humanos: Determinação da Selectividade para o Subtipo de Receptor

a. Preparação de Membranas 5-HT_{3A}

Células HEK-293 (rim embrionário humano) transfectadas de modo estável com ADNc do receptor 5-HT_{3A} humano foram obtidas de Dr. Michael Bruess (Universidade de Bona, GDR) (Bmax = - 9,0 pmol/mg proteína, como determinado utilizando ensaio de ligação de radioligando à membrana [³H]-GR65630). As células foram cultivadas em balões T-225 ou em fábricas de célula em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco a 50% (DMEM) (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat N° 11965) e F12 de Ham a 50% (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 11765) suplementado com soro fetal bovino termicamente inativado a 10% (FBS) (Hyclone, Logan, UT: Cat N° SH30070-03) e (50 unidades) penicilina-(50 µg) estreptomicina/mL (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 15140) numa incubadora humidificada, 5% CO₂ a 37 °C.

As células foram cultivadas aproximadamente até 70-80% de confluência (< 35 passos de subcultura). Todos os passos de preparação da membrana foram realizados em gelo. Para colher as células, o meio foi aspirado e as células foram lavadas com soro fisiológico tamponado com fosfato de Dulbecco isento de Ca²⁺, Mg²⁺ (dPBS). A monocamada de células foi levantada através de agitação mecânica suave. As células foram recolhidas por centrifugação a 1000 rpm (5 min). Os passos seguintes de preparação da membrana seguiram o protocolo descrito acima para as membranas que expressam os receptores 5-HT_{4(c)}.

b. Ensaaios de Ligação de Radioligando

Os ensaios de ligação de radioligando foram realizados em placas de ensaio de 96 poços em polipropileno num volume total de ensaio de 200 μ L contendo 1,5-2 μ g de proteína de membrana em HEPES 50 mM, pH 7,4, contendo 0,025% de tampão de ensaio BSA. Os estudos de saturação da ligação para determinação dos valores de K_d do radioligando foram realizados utilizando [^{3} H]-GR65630 (PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: Cat N° NET1011, actividade específica ~85 Ci/mmol) a doze concentrações diferentes que vão desde 0,005 nM até 20 nM. Os ensaios de substituição para determinação dos valores de pK_i dos compostos foram realizadas com [^{3} H]-GR65630 a 0,50 nM e onze concentrações diferentes de composto que vão desde 10 pM até 100 μ M. Os compostos foram recebidos como soluções-mãe a 10 mM em DMSO (ver secção 3.1), diluídos a 400 μ M em HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25 °C, contendo 0,1% BSA, e em seguida feitas diluições sucessivas (1:5) no mesmo tampão. A ligação não específica foi determinada na presença de MDL72222 não marcado 10 μ M. Os ensaios foram incubados durante 60 min à temperatura ambiente, em seguida as reacções de ligação foram terminadas por filtração rápida sobre placas de filtro de fibra de vidro GF/B de 96 poços (Packard BioScience Co., Meriden, CT) pré-enxaguadas em polietilenoimina a 0,3%. As placas de filtro foram lavadas três vezes com tampão de filtração (HEPES 50 mM gelado, pH 7,4) para remover radioactividade não ligada. As placas foram secas, foram adicionados 35 μ L de fluido de cintilação líquida Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) a cada poço e as placas foram contadas num contador de cintilação líquida Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Os dados de ligação foram analisados utilizando o procedimento de regressão não linear descrito acima para determinar os valores de K_i . O FUNDO (mínimo da curva) foi fixado ao valor para a ligação não específica, como determinado na presença de MDL72222 10 μ M. A quantidade [L] na equação de Cheng-Prusoff foi definida como a concentração de [^{3} H]-GR65630.

A selectividade para o subtipo de receptor 5-HT₄ em relação ao subtipo de receptor 5-HT₃ foi calculada como a relação $K_i(5\text{-HT}_{3A})/K_i(5\text{-HT}_{4(c)})$. Os compostos da invenção que foram testados neste ensaio tinham uma selectividade para o subtipo de receptor 5-HT₄/5-HT₃ que varia desde cerca de 4000 até mais de 400000.

Ensaio 3: Ensaio Flashplate de Acumulação de cAMP em células inteiras com células HEK-293 que expressam Receptores 5-HT_{4(c)} humanos

Neste ensaio, a potência funcional de um composto de ensaio foi determinada medindo a quantidade de AMP cíclico produzido quando células HEK-293 que expressam receptores 5-HT₄ foram postas em contacto com concentrações diferentes de composto de ensaio.

a. Cultura de Células

Células HEK-293 (rim embrionário humano) transfectadas de modo estável com ADNc de receptor 5-HT_{4(c)} humano clonado foram preparadas expressando o receptor a duas densidades diferentes: (1) a uma densidade de cerca de 0,5-0,6 pmol/mg de proteína,

como determinado utilizando um ensaio de ligação de radioligando à membrana [³H]-GR113808, e (2) a uma densidade de cerca de 6,0 pmol/mg de proteína. As células foram cultivadas em balões T-225 em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 4 500 mg/L de D-glucose (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 11965) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 10437) e (100 unidades) penicilina-(100 µg) estreptomicina/mL (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 15140) numa incubadora humidificada, 5% CO₂ a 37 °C. As células foram cultivadas sob pressão de selecção contínua pela adição de geneticina (800 µg/mL: GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 10131) ao meio.

b. Preparação de Células

As células foram cultivadas até aproximadamente 60-80% de confluência. Vinte a vinte e duas horas antes do ensaio, as células foram lavadas duas vezes e forneceu-se DMEM isento de soro contendo 4 500 mg/L de D-glucose (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 11965). Para colher as células, o meio foi aspirado e foram adicionados 10 mL de Versene (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat N° 15040) a cada balão T-225. As células foram incubadas durante 5 min à t.a. e, em seguida, expulsas do balão por agitação mecânica. A suspensão celular foi transferida para um tubo de centrífuga contendo um volume igual de dPBS pré-aquecido (37 °C) e centrifugada durante 5 min a 1000 rpm. O sobrenadante foi rejeitado e o sedimento foi ressuspenso em tampão de estimulação (10 mL de equivalentes por 2-3 balões T-225) pré-aquecido (37 °C). Este tempo foi anotado e assinalado como tempo zero. As células foram contadas com um contador Coulter (conta acima de 8 µm, o rendimento do balão foi de 1-2 × 10⁶ células/balão). As

células foram ressuspensas a uma concentração de 5×10^5 células/mL em tampão de estimulação pré-aquecido (37 °C) (como fornecido no quite de flashplate) e pré-incubadas a 37 °C durante 10 min.

Os ensaios de cAMP foram realizados num formato de radioimunoensaio utilizando o Sistema de Ensaio de Ativação de Adenilil-Ciclase em Flashplate com ^{125}I -cAMP (SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA), de acordo com as instruções do fabricante.

As células foram cultivadas e preparadas como descrito acima. As concentrações celulares finais no ensaio foram de 25×10^3 células/poço e o volume final de ensaio foi 100 µL. Os compostos de ensaio foram recebidos como soluções-mãe a 10 mM em DMSO, diluídos a 400 µM em HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25 °C, contendo 0,1% BSA e, em seguida feitas diluições sucessivas (1:5) no mesmo tampão. Os ensaios de acumulação de AMP cíclico foram realizados com 11 concentrações diferentes de composto que vão desde 10 pM a 100 µM (concentrações finais de ensaio). Foi incluída uma curva concentração-resposta de 5-HT (10 pM a 100 µM) em cada placa. As células foram incubadas, sob agitação, a 37 °C durante 15 min e a reacção terminada por adição de 100 µL de tampão de detecção gelado (como proporcionado no kit flashplate) a cada poço. As placas foram seladas e incubadas a 4 °C de um dia para o outro. A radioactividade ligada foi quantificada por espectroscopia de cintilação proximidade utilizando o Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

A quantidade de cAMP produzido por mL de reacção foi extrapolada a partir da curva padrão de cAMP, de acordo com as

instruções fornecidas no manual de utilizador do fabricante. Os dados foram analisados por análise de regressão não linear com o pacote de Software GraphPad Prism utilizando o modelo de dose-resposta sigmoidal de 3 parâmetros (declive limitando à unidade). Os dados de potência são relatados como valores de pEC_{50} , o logaritmo decimal negativo do valor de EC_{50} , em que EC_{50} é a concentração efectiva para uma resposta máxima de 50%.

Os compostos de ensaio que exibem um valor de pEC_{50} maior neste ensaio têm uma maior potência para agonizar o receptor 5-HT₄. Os compostos da invenção que foram testados neste ensaio, por exemplo, na linha celular (1) possuindo um densidade de cerca de 0,5-0,6 pmol/mg de proteína, tinham um valor de pEC_{50} que vai desde cerca de 7,5 até cerca de 9,5.

Ensaio 4: Ensaio de Fixação de Tensão *in vitro* de Inibição da Corrente de Iões Potássio em Células Inteiras que Expressam o Canal de Potássio Cardíaco hERG

Células CHO-K1 transfectadas de modo estável com ADNc de hERG foram obtidas de Gail Robertson da Universidade de Wisconsin. As células foram mantidas em conservação criogénica até serem necessárias. As células foram expandidas e subcultivadas em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco/F12 suplementado com 10% de soro fetal bovino e 200 µg/mL de geneticina. As células foram aplicadas em lamelas de vidro revestidas com poli-D-lisina (100 µg/mL), em placas de 35 mm² (contendo 2 mL de meio) a uma densidade que permitia que as células isoladas fossem seleccionadas para estudos de fixação de tensão com células inteiras. As placas foram mantidas num ambiente humidificado, 5% CO₂ a 37 °C.

A solução extracelular foi preparada pelo menos cada 7 dias e conservada a 4 °C quando não estava em utilização. A solução extracelular continha (mM): NaCl (137), KCl (4), CaCl₂ (1,8), MgCl₂ (1), Glucose (10), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-etanossulfónico (HEPES) (10), pH 7,4 com NaOH. A solução extracelular, na ausência ou presença de composto de ensaio, estava contida em reservatórios, a partir dos quais fluía para a câmara de registo a, aproximadamente, 0,5 mL/min. A solução intracelular foi preparada, separada em alíquotas e conservada a -20 °C até ao dia de utilização. A solução intracelular continha (mM): KCl (130), MgCl₂ (1), sal de etilenoglicol-ácido bis(beta-aminoetilo éter)-*N,N,N',N'*-tetracético (EGTA) (5), MgATP (5), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-etanossulfónico (HEPES) (10), pH 7,2 com KOH. Todas as experiências foram realizadas à temperatura ambiente (20-22 °C).

As lamelas nas quais as células foram aplicadas foram transferidas para uma câmara de registo e perfundidas continuamente. Foram formados isolamentos Gigaohm entre a célula e o eléctrodo de conexão. Uma vez obtida uma conexão estável, foi iniciado o registo no modo de fixação de tensão, com o potencial de manutenção inicial a -80 mV. Depois de ter sido atingida uma corrente estável na célula inteira, as células foram expostas ao composto de ensaio. O protocolo de tensão padrão foi: passo do potencial de manutenção de -80 mV a +20 mV durante 4,8 s, repolarizar para -50 mV durante 5 s e em seguida regressar ao potencial de manutenção original (-80 mV). Este protocolo de tensão era corrido uma vez a cada 15 s (0,067 Hz). As amplitudes das correntes máximas durante a fase de repolarização foram determinadas utilizando o software pClamp. Compostos de ensaio a uma concentração de 3 µM foram perfundidos sobre as células durante 5 minutos, seguido de um período de

eliminação de 5 minutos na ausência de composto. Finalmente foi adicionado um controlo positivo (cisaprida, 20 nM) ao perfusato para testar a função da célula. O passo de -80 mV a +20 mV activa o canal hERG, resultando numa corrente exterior. O passo de regresso a -50 mV resulta numa corrente de cauda exterior, à medida que o canal recupera da inactivação e desactiva.

As amplitudes das correntes máximas durante a fase de repolarização foram determinadas utilizando o software pCLAMP. Os dados do controlo e do artigo de ensaio foram exportados para Origin® (OriginLab Corp., Northampton MA) onde as amplitudes de corrente individuais foram normalizadas à amplitude de corrente inicial na ausência de composto. As médias das correntes normalizadas e os erros padrão para cada condição foram calculadas e representadas contra o curso de tempo da experiência.

Foram feitas comparações entre as inibições da corrente de K^+ observadas após a exposição de cinco minutos ao artigo de ensaio ou controlo de veículo (geralmente DMSO a 0,3%). Foram realizadas Comparações estatísticas entre grupos experimentais utilizando um teste t independente com duas populações (Microcal Origin v. 6.0). As diferenças foram consideradas significativas a $p < 0,05$.

Quanto menor a percentagem de inibição da corrente de iões potássio neste ensaio, menor o potencial dos compostos de ensaio para alterar o padrão de repolarização cardíaca quando utilizados como agentes terapêuticos. Por exemplo, os compostos dos Exemplos 1-14, os quais foram testados neste ensaio a uma concentração de 3 μ M exibiram uma inibição da corrente de iões

potássio inferior a cerca de 30%, incluindo inferior a cerca de 20%.

Ensaio 5: Modelo de Biodisponibilidade Oral *in vitro*: Ensaio de Penetração com Caco-2

O ensaio de penetração com Caco-2 foi realizado para modelar a aptidão dos compostos de ensaio para passar através do intestino e entrar na corrente sanguínea após administração oral. Foi determinada a velocidade à qual os compostos de ensaio em solução penetram uma monocamada de células concebida para imitar a junção estanque das monocamadas do intestino delgado humano.

As células Caco-2 (cólon, adenocarcinoma; humano) foram obtidas de ATCC (American Type Culture Collection; Rockville, MD). Para o estudo de penetração, as células foram aplicadas a uma densidade de 63000 células/cm² em filtros de polycarbonato Transwells pré-humedecidos (Costar; Cambridge, MA). Formou-se uma monocamada de células após 21 dias em cultura. Após a cultura de células na placa Transwells, a membrana contendo a monocamada de células foi desprendida da placa transwell e inserida na câmara de difusão (Costar; Cambridge, MA). A câmara de difusão foi inserida no bloco de aquecimento que estava munido de água circulante externa, termostaticamente regulada a 37 °C para controlar a temperatura. A admissão de ar fornecia 95% O₂/5% CO₂ a cada metade de uma câmara de difusão e criava um padrão de fluxo laminar através da monocamada de células, que foi eficaz na redução da camada limítrofe não agitada.

O estudo de penetração foi realizado com concentrações de composto de ensaio a 100 μM e com ^{14}C -manitol para acompanhar a integridade da monocamada. Todas as experiências foram realizadas a 37 °C durante 60 min. Foram recolhidas amostras aos 0, 30 e 60 min dos lados dador e receptor da câmara. As amostras foram analisadas por HPLC ou contagem de cintilação líquida em relação às concentrações de composto de ensaio e manitol. Foi calculado o coeficiente de penetração (K_p) em cm/s.

Neste ensaio, um valor de K_p maior do que cerca de 10×10^{-6} cm/s é considerado indicativo de biodisponibilidade favorável. Os compostos da invenção que foram testados neste ensaio exibiram, tipicamente, valores de K_p entre cerca de 10×10^{-6} cm/s e cerca de 50×10^{-6} cm/s.

Ensaio 6: Estudo Farmacocinético no Rato

Foram preparadas formulações de solução aquosa de compostos de ensaio em ácido láctico a 0,1%, a um pH entre cerca de 5 e cerca de 6. Ratos Sprague-Dawley machos (género CD, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) foram administrados com compostos de ensaio por administração intravenosa (IV) a uma dose de 2,5 mg/kg ou por sonda esofágica oral (PO) a uma dose de 5 mg/kg. O volume de administração foi de 1 mL/kg para administração IV e 2 mL/kg para administração PO. Foram recolhidas amostras sucessivas de sangue dos animais pré-dose, e aos 2 (apenas IV), 5, 15 e 30 min, e às 1, 2, 4, 8 e 24 horas pós-dose. As concentrações dos compostos de ensaio no plasma sanguíneo foram determinadas através de análise por cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS/MS) (MDS

SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA) com um limite inferior de quantificação de 1 ng/mL.

Os parâmetros farmacocinéticos padrão foram avaliados por análise não comportamental (Modelo 201 para IV e Modelo 200 para PO) utilizando WinNonlin (Versão 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA). O máximo na curva de concentração do composto de ensaio no plasma sanguíneo vs. tempo é marcado $C_{\max}$. A área sob a curva concentração vs. tempo a partir do momento de administração até à última concentração mensurável ($AUC(0-t)$) foi calculada pela regra trapezoidal linear. A biodisponibilidade oral ($F(\%)$), *i. e.* a proporção normalizada à dose da $AUC(0-t)$ para administração PO em relação à $AUC(0-t)$ para administração IV, foi calculada como:

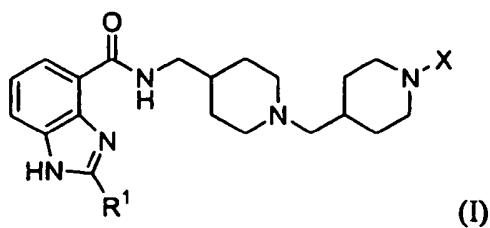
$$F(\%) = AUC_{PO}/AUC_{IV} \times Dose_{IV}/Dose_{PO} \times 100\%$$

É esperado que os compostos de ensaio que exibem valores maiores dos parâmetros $C_{\max}$, $AUC(0-t)$ e $F(\%)$ neste ensaio tenham maior biodisponibilidade quando administrados por via oral. Os compostos preferidos da invenção tinham valores de $C_{\max}$ que variam tipicamente desde cerca de 0,06 até cerca de 0,8 µg/mL e valores de $AUC(0-t)$ que variam tipicamente desde cerca de 0,14 até cerca de 1,2 µg·h/mL. A título de exemplo, o composto do Exemplo 1 tinha um valor de $C_{\max}$ de 0,8 µg/mL, um valor de $AUC(0-t)$ de 1,2 µg·h/mL e uma biodisponibilidade oral ($F(\%)$) no modelo de rato de cerca de 75%.

Lisboa, 13 de Janeiro de 2012

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (I):



em que:

R^1 é alquiloC₃₋₅, opcionalmente substituído com -OH; e
X é seleccionado de

- (a) $-C(O)OR^2$ em que R^2 é alquiloC₁₋₄ ou
 $-(CH_2)_n$ -fenilo em que n é 0 ou 1;
(b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é seleccionado de:

fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou
3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄,
halo, alcóxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$,
alquiloC₁₋₅,
cicloalquiloC₄₋₅, e
 $-(CH_2)_m$ -A em que m é 0 ou 1 e A é seleccionado
de amino furanilo, tiofenilo, morfolinilo,
tetra-hidrofuranilo, piridinilo e
naftalenilo;

- (c) $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio ou
alquiloC₁₋₃, e R^5 é fenilo opcionalmente

substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ e -OCHF₂;

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ em que R⁶ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃ e R⁷ é hidrogénio, -OH ou alquiloC₁₋₃; ou R⁶ e R⁷ tomados em conjunto formam oxo ou -(CH₂)₂-; e R⁸ é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN;

(e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ em que R⁹ é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃, e R¹⁰ é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ e -OCHF₂; e

(f) -S(O)₂R¹¹ em que R¹¹ é seleccionado de alquiloC₁₋₃, -CH₂-fenilo, 2,4-dimetilisoxazolilo, e fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ e -CN;

ou um seu sal ou solvato ou estereoisómero farmacêuticamente aceitável.

2. Composto da Reivindicação 1, em que R¹ é alquiloC₃₋₅.
3. Composto da Reivindicação 2, em que R¹ é isopropilo ou terc-butilo.
4. Composto da Reivindicação 2, em que X é -C(O)OR².

5. Composto da Reivindicação 4, em que R^2 é alquiloC₁₋₃ ou fenilo.
6. Composto da Reivindicação 2, em que X é $-C(O)R^3$.
7. Composto da Reivindicação 6, em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$ e $-OCHF_2$.
8. Composto da Reivindicação 2, em que X é $-C(O)NR^4R^5$.
9. Composto da Reivindicação 2, em que:

R^1 é alquiloC₃₋₄; e

X é seleccionado de:

- (a) $-C(O)OR^2$ em que R^2 é alquiloC₁₋₃ ou fenilo;
- (b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo e $-CF_3$; furanilo; ou tiofenilo;
- (c) $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo;
- (d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio e R^7 é hidrogénio, $-OH$ ou metilo; ou R^6 e R^7 tomados em conjunto formam oxo ou $-(CH_2)_2-$; e R^8 é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo;

- (e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ em que R^9 é hidrogénio ou metilo e R^{10} é fenilo opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo; e
- (f) $-S(O)_2R^{11}$ em que R^{11} é metilo ou fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄ e halo.

10. Composto da Reivindicação 9, em que:

R^1 é isopropilo ou *terc*-butilo; e
 X é seleccionado de:

- (a) $-C(O)OR^2$ em que R^2 é metilo ou fenilo;
- (b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é fenilo, opcionalmente substituído com 1 ou 2 substituintes seleccionados de metilo, cloro, fluoro e $-CF_3$; furan-2-ilo; ou tiofen-2-ilo; e
- (c) $-C(O)NR^4R^5$ em que R^4 é hidrogénio e R^5 é fenilo opcionalmente substituído com 1 fluoro ou cloro.

11. Composto da Reivindicação 2, em que o composto é seleccionado de:

éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

éster fenílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1H-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

{1-[1-(2-clorobenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2,4-difluorobenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(furano-2-carbonil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(tiofeno-2-carbonil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometilbenzoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-isopropil-1*H* benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-fenilcarbamoil)piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}-amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico,

{1-[1-(2-fluoro-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(3-metil-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico;

{1-[1-(4-fluorobenzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; e

seus sais e solvatos e estereoisómeros farmacêuticamente aceitáveis.

12. Composto da Reivindicação 2, em que o composto é seleccionado de:

éster metílico do ácido 4-(4-[[2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil]piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

éster metílico do ácido 4-(4-[[2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]-metil]piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico;

{1-[1-(2-fluoro-benzoil)-piperidin-4-ilmetil]piperidin-4-ilmetil}amida do ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico; e

seus sais e solvatos e estereoisómeros farmacêuticamente aceitáveis.

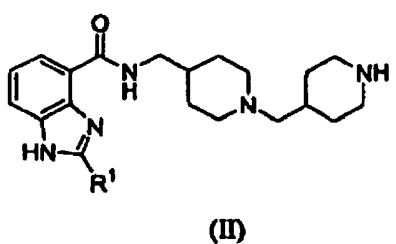
13. Éster metílico do ácido 4-(4-[[2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil]piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino ou um seu solvato.

14. Composto cristalino da Reivindicação 13, em que o composto cristalino é caracterizado por um padrão de difracção de raios X de pós possuindo dois ou mais picos de difracção a valores 2θ seleccionados de $15,08 \pm 0,20$, $15,41 \pm 0,20$, $19,00 \pm 0,20$, $19,70 \pm 0,20$ e $23,68 \pm 0,20$.

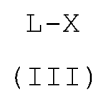
15. Composto cristalino da Reivindicação 14, em que o composto cristalino é caracterizado por um perfil de calorimetria de varrimento diferencial que exibe um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura na gama de cerca de 146 °C até cerca de 148 °C.
16. Composto cristalino da Reivindicação 13, em que o composto cristalino é caracterizado por um perfil de calorimetria de varrimento diferencial que exibe um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura na gama de cerca de 143 °C até cerca de 145 °C.
17. Composto cristalino da Reivindicação 13, em que o composto cristalino é um mono-hidrato.
18. Composto cristalino da Reivindicação 17, em que o composto cristalino é caracterizado por um padrão de difracção de raios X de pós possuindo dois ou mais picos de difracção a valores 2θ seleccionados de $9,14\pm0,20$, $12,41\pm0,20$, $12,74\pm0,20$, $17,75\pm0,20$, $18,47\pm0,20$, $20,63\pm0,20$, $21,13\pm0,20$ e $27,05\pm0,20$.
19. Composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 18 e um veículo farmaceuticamente aceitável.
20. Composto como reivindicado em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18 para utilização em terapia.

21. Composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, para utilização no tratamento de um distúrbio de mobilidade reduzida do aparelho gastrointestinal num mamífero.
22. Composto para ser utilizado no tratamento de um distúrbio de mobilidade reduzida do aparelho gastrointestinal no mamífero como reivindicado na reivindicação 21, em que o distúrbio é seleccionado de obstipação intestinal crónica, síndrome do intestino irritável com obstipação intestinal predominante, gastroparesia diabética e idiopática, e dispepsia funcional.
23. Composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, para utilização no tratamento de síndrome do intestino irritável, obstipação intestinal crónica, dispepsia funcional, esvaziamento gástrico retardado, doença de refluxo gastroesofágico, gastroparesia, vólvulo pós-operatório, pseudo-obstrução intestinal ou trânsito retardado de origem medicamentosa.
24. Processo para preparar um composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 18, compreendendo o processo:

(i) fazer reagir um composto de fórmula (II):

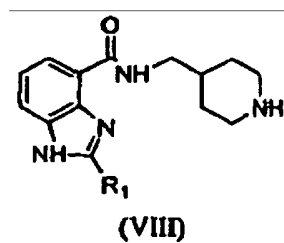


com um composto de fórmula (III):

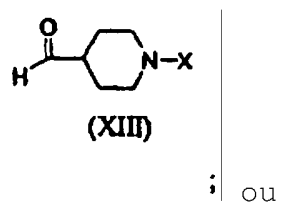


em que L é grupo de saída;

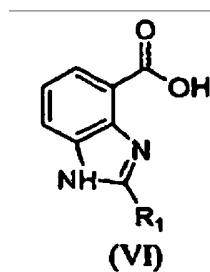
(ii) fazer reagir um composto de fórmula (VIII):



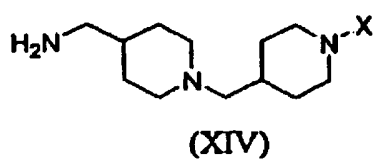
com um composto de fórmula (XIII):



(iii) fazer reagir um composto de fórmula (VI):

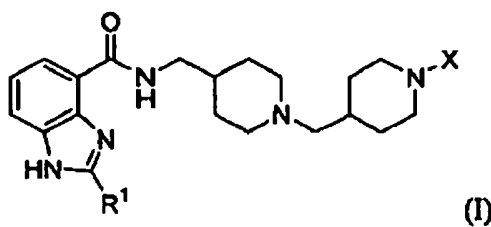


com um composto de fórmula (XIV):



possuindo R^1 e X os significados de qualquer uma das Reivindicações 1 a 18.

25. Processo para preparar um composto de fórmula (I),



em que:

R^1 é alquiloC₃₋₅; e

X é seleccionado de

(b) $-C(O)R^3$ em que R^3 é seleccionado de:

fenilo, opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquiloC₁₋₄, halo, alcoxiloC₁₋₄, $-CF_3$, $-OCF_3$ e $-OCHF_2$, alquiloC₁₋₅, cicloalquiloC₄₋₅, e $-(CH_2)_m-A$ em que m é 0 ou 1 e A é seleccionado de furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetra-hidrofuranilo, piridinilo e naftalenilo;

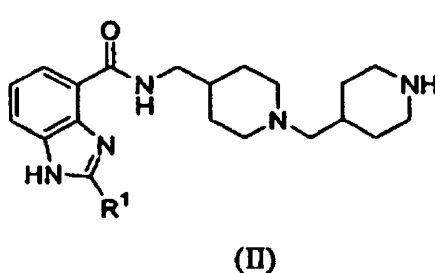
(d) $-C(Q)C(R^6R^7)R^8$ em que R^6 é hidrogénio ou alquiloC₁₋₃ e R^7 é hidrogénio, $-OH$, alquiloC₁₋₃ ou oxo; ou R^6 e R^7

formam $-(CH_2)_2-$; e R^8 é fenilo ou ciclo-hexilo, em que fenilo ou ciclo-hexilo estão opcionalmente substituídos com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, alcoxilo C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ e $-CN$; e

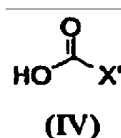
(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ em que R^9 é hidrogénio ou alquilo C_{1-3} , e R^{10} é fenilo opcionalmente substituído com 1, 2 ou 3 substituintes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, alcoxilo C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ e $-OCHF_2$;

ou um seu sal ou solvato ou estereoisómero farmacêuticamente aceitável, compreendendo o processo:

fazer reagir um composto de fórmula (II):

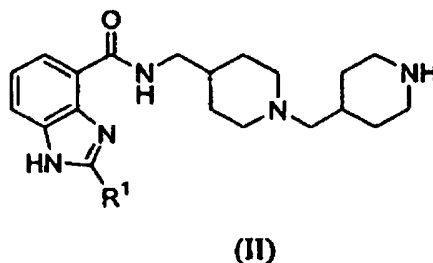


com um composto de fórmula (IV):



em que X' é seleccionado de R^3 , $C(R^6R^7)R^8$ e $C(HR^9)OR^{10}$ para proporcionar um composto de fórmula (I) ou um seu sal ou solvato ou estereoisómero farmacêuticamente aceitável.

26. Composto de fórmula (II):



em que R¹ é alquiloC₃₋₅,

ou um seu sal ou estereoisómero ou derivado protegido.

27. Processo para preparar éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino, compreendendo o processo:

(a) dispersar éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico num diluente inerte seleccionado de acetonitrilo, éter, ciclo-hexano e acetato de etilo numa proporção entre cerca de 15 mg e 25 mg de éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico por mililitro de diluente para formar uma mistura; e

(b) permitir que a mistura evapore para proporcionar éster metílico do ácido 4-(4-{[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil}piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino.

28. Processo para preparar éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino, compreendendo o processo:

(a) fazer reagir (piperidin-4-ilmetil)amida do ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carboxílico com éster metílico do ácido 4-formilpiperidina-1-carboxílico num diluente polar aprótico;

(b) adicionar acetonitrilo enquanto se destila o produto do passo (a) para remover o diluente polar aprótico do produto do passo (a);

(c) preparar uma mistura do resíduo da destilação do passo (b) em acetonitrilo a uma concentração entre cerca de 50 e cerca de 125 mg de éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico por mililitro de acetonitrilo a uma temperatura suficiente para dissolver o resíduo; e

(d) arrefecer a mistura do passo (c) a uma temperatura de não mais do que cerca de 20 °C para proporcionar éster metílico do ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazole-4-carbonil)-amino]metil)piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico cristalino.

Lisboa, 13 de Janeiro de 2012

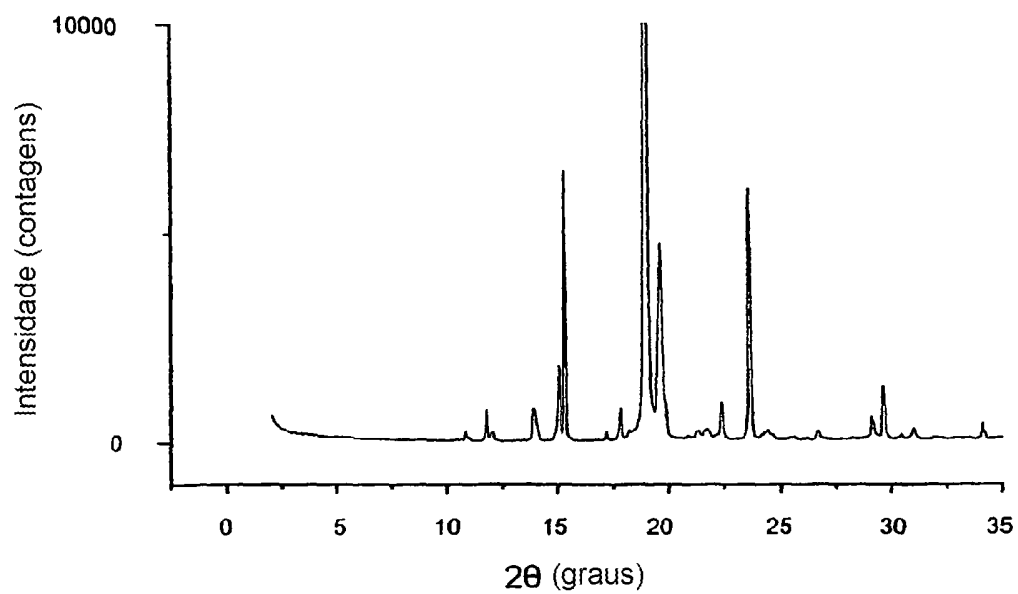


Figura 1

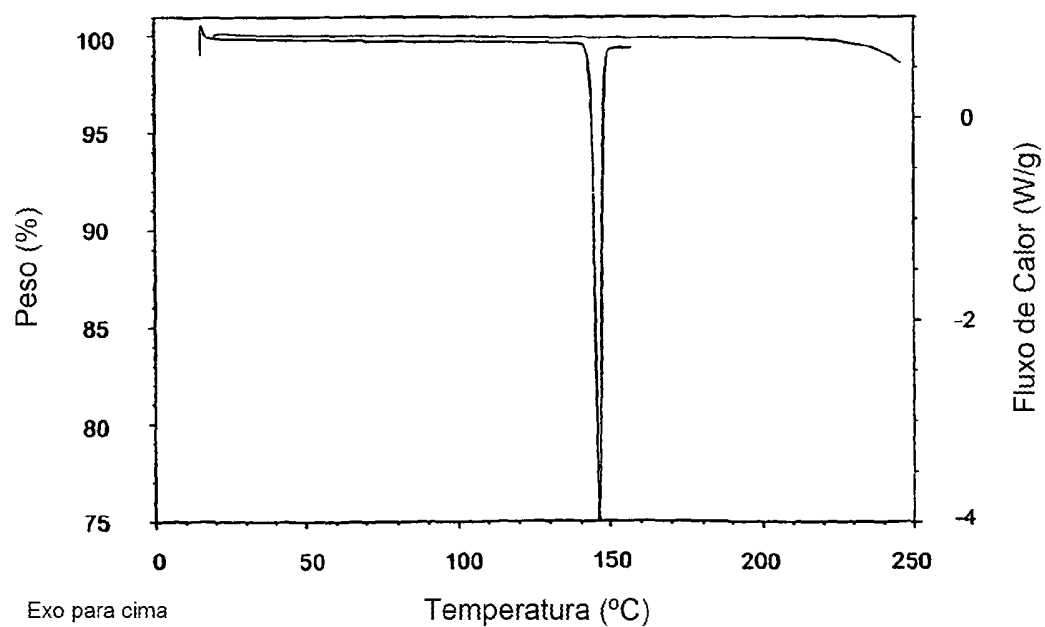


Figura 2

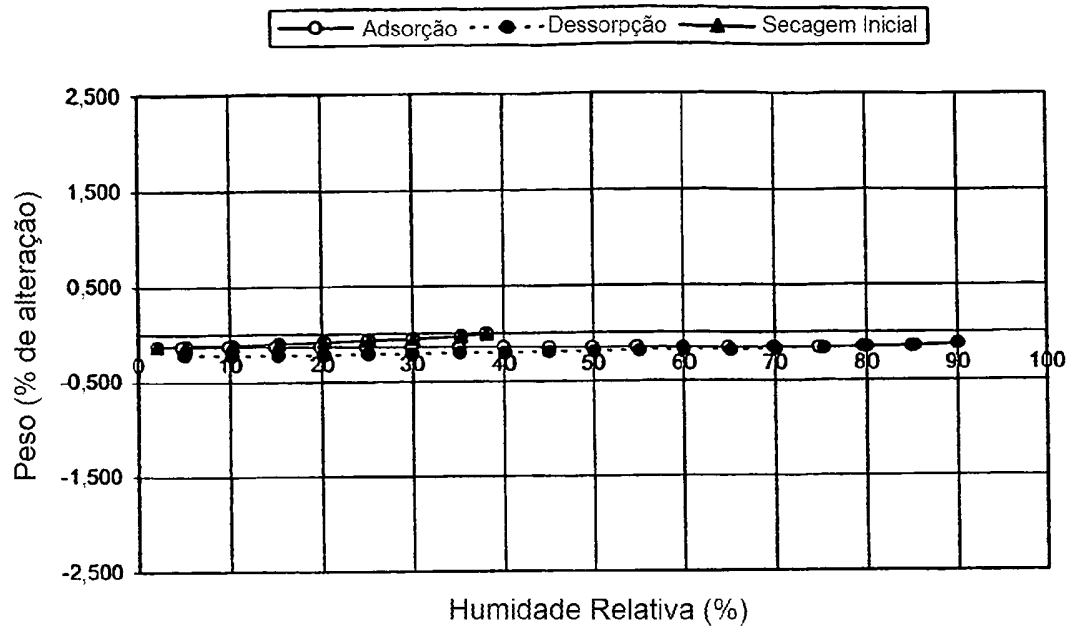


Figura 3

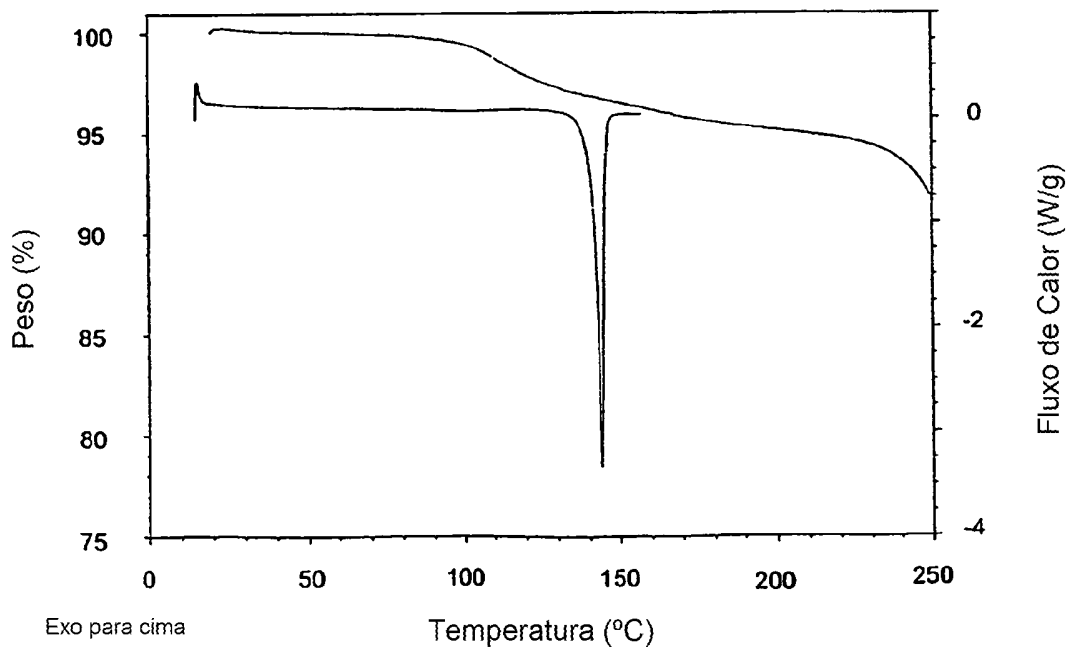


Figura 4

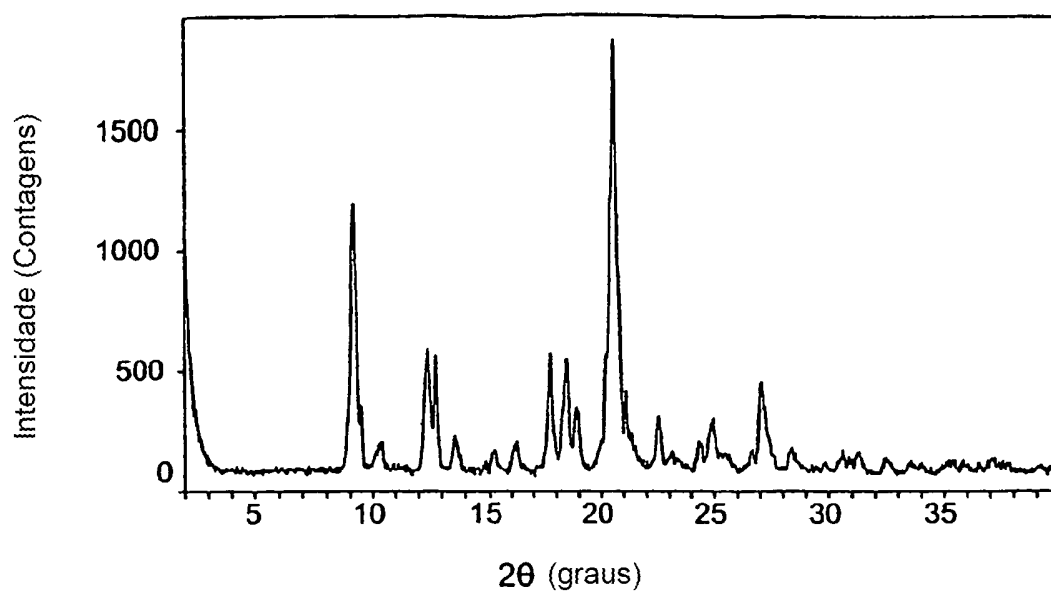


Figura 5

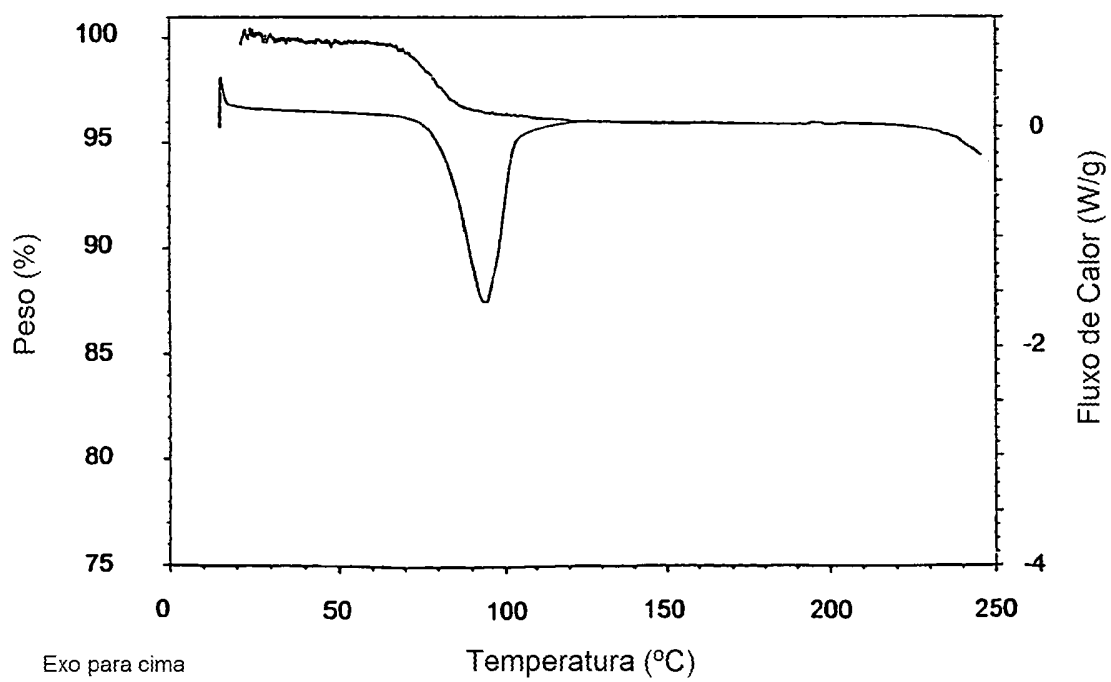


Figura 6