

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(21) PI 0807974-9 A2**



\* B R P I 0 8 0 7 9 7 4 A 2 \*

**(22) Data de Depósito: 27/02/2008**

**(43) Data da Publicação: 16/09/2014**  
**(RPI 2280)**

**(51) Int.Cl.:**

C07D 451/02  
A61K 31/46

**(54) Título:** FORMAS CRISTALINAS DE UM  
COMPOSTO DE 8-AZABICICLO[3.2.1] OCTANO

**(30) Prioridade Unionista:** 28/02/2007 US 60/904,090

**(73) Titular(es):** Theravance, Inc.

**(72) Inventor(es):** LETICIA M. PREZA, Miroslav Raptá, Pierre-Jean Colson, SEAN DALZIEL

**(74) Procurador(es):** Orlando de Souza

**(86) Pedido Internacional:** PCT US2008002583 de  
27/02/2008

**(87) Publicação Internacional:** WO 2008/106159 de  
04/09/2008

**(57) Resumo:**

FORMAS CRISTALINAS DE UM COMPOSTO DE 8-AZABICICLO[3.2.1]  
OCTANO

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

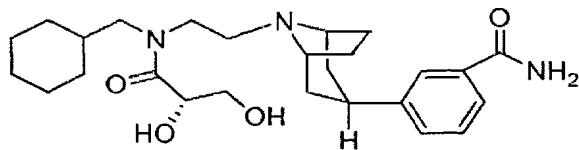
Campo da invenção

5 A invenção é dirigida às formas de sal cristalino de um composto de 8-azabiciclo[3.2.1]octano que são úteis como antagonistas do receptor opióide  $\mu$ . A invenção também é dirigida às composições farmacêuticas que compreendem esses compostos cristalinos, métodos de utilização desses compostos para o tratamento ou atenuação de condições 10 médicas mediadas pela atividade do receptor opióide  $\mu$ , e processos úteis para a preparação desses compostos.

Técnicas estabelecidas

Os Pedidos Provisórios de Patente U.S. com designação 15 comum N°s 60/777.962, depositado em 1º de março de 2006, e 60/841.028, depositado em 30 de agosto de 2006, e o Pedido de Patente U.S. N° de Série 11/711.961 revelam compostos de 20 8-azabiciclo[3.2.1]octano que são antagonistas do receptor opióide  $\mu$  que, espera-se, sejam úteis para o tratamento ou atenuação de condições médicas mediadas pela atividade do receptor opióide  $\mu$ . Em particular, o composto sulfato de 3- 25 endo- (8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]ethyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il) benzamida é especificamente revelado nesses pedidos como demonstrando atividade antagonista do receptor opióide  $\mu$ .

A estrutura química de 3-endo- (8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]ethyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (daqui por diante composto 1) é mostrada abaixo:



1

5       Para utilizar eficazmente esse composto como um agente terapêutico, seria desejável ter uma forma de sal em estado sólido que possa ser prontamente fabricado e que possua estabilidade química e física aceitáveis. Por exemplo, seria altamente desejável ter uma forma de sal que seja 10 termicamente estável, por exemplo, em temperaturas que excedam cerca de 175°C ou cerca de 180°C, e não seja higroscópico nem deliqüescente, facilitando, dessa forma, o processamento e armazenamento do material. Sólidos cristalinos são geralmente preferidos em relação às formas 15 amorfas, para aumento da pureza e estabilidade do produto manufaturado.

Nenhuma forma de sal cristalino de composto 1 foi relatada previamente. Conseqüentemente, existe a necessidade de uma forma de sal cristalino de composto 1 20 estável que não seja higroscópica nem deliqüescente, e exiba estabilidade térmica favorável.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece um sal de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-25 diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il) benzamida ou um solvato deste. Em um aspecto, a forma de sal cristalino da invenção é um sal de sulfato cristalino de composto 1. Em outro aspecto, a forma de sal cristalino da invenção é um hidrato cristalino do sal de 30 sulfato de composto 1.

Surpreendentemente, verificou-se que o sal de sulfato cristalino da invenção não exibe eventos térmicos significativos abaixo de uma temperatura de fusão na faixa de cerca de 190 a cerca de 205°C e exibe uma alteração de 5 peso de menos do que cerca de 0,3% quando exposto a uma gama de umidade relativa entre cerca de 2% e cerca de 90% em temperatura ambiente. Além disso, nem o sal de sulfato cristalino da invenção nem o hidrato deste são deliquescentes quando expostos a até cerca de 90% de 10 umidade relativa em temperatura ambiente.

Entre outros usos, espera-se que as formas de sal cristalino da invenção sejam úteis para a preparação de composições farmacêuticas para o tratamento ou atenuação de condições médicas mediadas pela atividade do receptor 15 opióide  $\mu$ . Conseqüentemente, em outro dos aspectos da composição, a invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável e um sal de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo 20 [3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um solvato deste.

A invenção também fornece um método de tratamento ou melhora de uma doença ou condição atenuada por tratamento com um antagonista do receptor opióide  $\mu$ , por exemplo, um distúrbio de motilidade reduzida do trato gastrintestinal, 25 o método compreendendo a administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um solvato deste.

30 A invenção ainda fornece um método de tratamento de

disfunção intestinal ou obstrução total do intestino pós-operatória induzida por opióide, o método compreendendo a administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de sulfato cristalino de 5 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo [3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um solvato deste.

Em outro aspecto do método, a invenção fornece um processo para a preparação de um sal de sulfato cristalino 10 da invenção, o processo compreendendo o contato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida com ácido sulfúrico para formar uma mistura de reação, e o isolamento do sal de sulfato cristalino da mistura de reação.

15 A invenção fornece um processo adicional para a preparação de um sal de sulfato cristalino da invenção, o processo compreendendo a dispersão de um hidrato cristalino do sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-20 3-il)benzamida em um diluente que compreende metanol para formar uma mistura de reação, e o isolamento do sal de sulfato cristalino da mistura de reação.

Ainda em outro aspecto do método, a invenção fornece 25 um processo para a preparação de um sal de sulfato cristalino de composto 1, o processo compreendendo: (a) o contato de um precursor protegido com composto 1 em que os grupos hidróxi estão protegidos com ácido sulfúrico para formar uma primeira mistura de reação; (b) isolamento de um sal sólido de grau intermediário de sulfato do composto 1 30 da primeira mistura de reação; (c) dispersão do sal sólido

de grau intermediário de sulfato em um diluente que compreende metanol para formar uma segunda mistura de reação; e (d) isolamento do sal de sulfato cristalino da segunda mistura de reação.

5 Em um aspecto relacionado da composição, a invenção fornece o aduto de bissulfito de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico, que é útil para a preparação do precursor protegido acima para o composto 1.

10 A invenção também fornece um sal de sulfato cristalino da invenção, como aqui descrito, para uso em terapia ou como um medicamento, bem como o uso de um sal de sulfato cristalino da invenção na fabricação de um medicamento, especialmente para a fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio associado à atividade do 15 receptor opióide  $\mu$  em um mamífero.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

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

20 A Figura 1 mostra um padrão de difração de pó com raios X (XRPD) de um sal de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]til}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

25 A Figura 2 mostra um traçado de calorimetria de varredura diferencial (DSC) (eixo vertical lateral direito) e um traçado de análise térmica gravimétrica (TGA) (eixo vertical lateral esquerdo) para um sal de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

30 A Figura 3 mostra um traçado de absorção dinâmica de

umidade (DMS) para um sal de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

A Figura 4 mostra um padrão de difração de pó com 5 raios X (XRPD) de um hidrato cristalino de um sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

A Figura 5 mostra um traçado de calorimetria de 10 varredura diferencial (DSC) (eixo vertical lateral direito) e um traçado de análise térmica gravimétrica (TGA) (eixo vertical lateral esquerdo) para um hidrato cristalino de um sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

A Figura 6 mostra um traçado de absorção dinâmica de 20 umidade (DMS) para um hidrato cristalino de um sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida da invenção.

#### **DESCRÍÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

A invenção fornece um sal de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um 25 solvato deste.

#### Definições

Na descrição dos compostos, composições e métodos da invenção, os seguintes termos possuem os seguintes significados, a menos que indicado de forma diferente.

30 O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" significa

uma quantidade suficiente para efetuar o tratamento quando administrada a um paciente que necessita de tratamento.

O termo "tratamento", como aqui usado, significa o tratamento de uma doença, um distúrbio ou uma condição médica em um paciente, por exemplo, um mamífero (particularmente um ser humano) que inclui:

(a) prevenção da ocorrência da doença, do distúrbio ou da condição médica, ou seja, tratamento profilático de um paciente;

10 (b) atenuação da doença, do distúrbio ou da condição médica, ou seja, eliminação ou produção da regressão da doença, do distúrbio ou da condição médica em um paciente, incluindo o antagonismo aos efeitos de outros agentes terapêuticos;

15 (c) supressão da doença, do distúrbio ou da condição médica, ou seja, tornar mais lento ou interromper o desenvolvimento da doença, do distúrbio ou da condição médica em um paciente; ou

20 (d) alívio dos sintomas da doença, do distúrbio ou da condição médica em um paciente.

O termo "solvato" significa um complexo ou agregado formado por uma ou mais moléculas de um soluto, ou seja, um composto da invenção ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, e uma ou mais moléculas de um solvente. Tais solvatos são tipicamente sólidos cristalinos que possuem uma proporção molar substancialmente fixa de soluto e solvente. Solventes representativos incluem, como forma de exemplo, água, metanol, etanol, isopropanol, ácido acético, e semelhantes. Quando o solvente é água, o solvato formado é especificamente denominado um hidrato.

O termo "sal de sulfato cristalino" ou, alternativamente, "sal de sulfato cristalino (forma anidra)" ou "sal anidro de sulfato", como aqui usado, significa um sólido cristalino que não inclui uma fração molar substancialmente fixa de moléculas de solvente na rede cristal, ou seja, um que não seja um solvato ou hidrato. Solvatos, ou especificamente hidratos, da invenção são identificados explicitamente.

Deve-se observar que, como usado na especificação e nas reivindicações em anexo, as formas no singular "um", "uma", "o" e "a" podem incluir referências no plural, a menos que o conteúdo indique claramente de forma diferente.

Agente ativo

O agente ativo nas presentes formas de sal, ou seja, composto 1, é designado 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida. Alternativamente, usando as convenções da IUPAC, como implementadas no software AutoNom (MDL Information Systems, GmbH, Frankfurt, Alemanha), o composto é denominado 3-((1R,3R,5S)-8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida. Portanto, o nome aqui utilizado corresponde à notação da IUPAC, com a orientação *endo* do grupo fenil substituído com relação ao grupo 8-azabiciclo[3.2.1]octano indicada explicitamente. Ainda em outras nomenclaturas comuns, a porção "((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino" da molécula é designada de forma variável como ((S)-2,3-diidroxi-1-oxopropil)amino ou ((S)-2,3-diidroxipropanamido).

30 Formas de sal da invenção

Em um aspecto, a invenção fornece sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida cristalino.

Em um aspecto, o sal de sulfato cristalino da presente invenção é caracterizado por um padrão de difração de pó com raios X (XRPD) que possui dois ou mais picos de difração, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração, em valores de  $2\theta$  selecionados de  $6,58 \pm 0,20$ ,  $7,52 \pm 0,20$ ,  $9,35 \pm 0,20$ ,  $14,69 \pm 0,20$ ,  $16,01 \pm 0,20$ ,  $17,45 \pm 0,20$ ,  $17,99 \pm 0,20$ ,  $18,62 \pm 0,20$ ,  $19,76 \pm 0,20$ ,  $21,11 \pm 0,20$ ,  $22,07 \pm 0,20$ ,  $23,18 \pm 0,20$ ,  $23,74 \pm 0,20$ ,  $24,56 \pm 0,20$ ,  $25,63 \pm 0,20$ ,  $26,45 \pm 0,20$ ,  $27,86 \pm 0,20$ ,  $28,31 \pm 0,20$ ,  $29,54 \pm 0,20$ ,  $30,59 \pm 0,20$ ,  $31,58 \pm 0,20$ ,  $33,89 \pm 0,20$  e  $36,02 \pm 0,20$ . Em particular, nesse aspecto, a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de pó com raios X que possui dois ou mais picos de difração, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração, em valores de  $2\theta$  selecionados de  $14,69 \pm 0,20$ ,  $16,01 \pm 0,20$ ,  $21,11 \pm 0,20$ ,  $22,07 \pm 0,20$  e  $23,18 \pm 0,20$ .

Como é bem conhecido no campo da difração de energia de raios X, as posições de pico dos espectros de XRPD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, tais como detalhes de preparação de amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Dessa forma, em um aspecto, um sal de sulfato cristalino de composto 1 é caracterizado por um padrão de difração de pó com raios X no qual as posições de pico estão substancialmente de acordo com aquelas mostradas na Figura 1.

A estrutura cristalina do sulfato foi ainda

caracterizada por análise de difração de raios X cristal única, fornecendo os seguintes parâmetros de rede: célula unitária é ortorrômbica com dimensões  $a = 6,8239 \text{ \AA}$ ,  $b = 16,2275 \text{ \AA}$ ,  $c = 24,2021 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ; volume celular 5 (V) de  $2680,0 \text{ \AA}^3$ ; densidade calculada é  $1,38 \text{ g/cm}^3$ ; grupo espacial é  $P2_12_12_1$  (#19). A estrutura molecular resultante confirma que a composição química é aquela do sal de sulfato de composto 1 em uma proporção molar de 1:1 de contra-íon de sulfato para composto 1 e que a célula 10 unitária assimétrica não contém água ou outras moléculas solventes. Os picos de difração de energia de raios X previstos a partir das posições atômicas derivadas estão plenamente de acordo com o padrão de XRPD observado.

Em outro aspecto, o sal de sulfato cristalino da 15 presente invenção é caracterizado por seu comportamento quando exposto à temperatura elevada. Como demonstrado na Figura 2, o traçado de calorimetria de varredura diferencial (DSC) de uma amostra altamente cristalina exibe um pico no fluxo de calor endotérmico, identificado como 20 uma transição de fusão, na faixa de cerca de  $190^\circ\text{C}$  a cerca de  $205^\circ\text{C}$ . O traçado de análise térmica gravimétrica (TGA) mostra ausência de perda de peso significativa em temperaturas abaixo do ponto de fusão. A decomposição térmica ocorre aproximadamente mediante fusão.

Ainda em outro aspecto, um sal de sulfato cristalino é 25 caracterizado por seu espectro de absorção infravermelha que mostra bandas de absorção significativas em torno de 430, 590, 639, 705, 867, 1.036, 1.053, 1.105, 1.171, 1.231, 1.277, 1.375, 1.391, 1.452, 1.476, 1.553, 1.596, 1.639, 30 1.664, 2.852, 2.907, 2.928, 2.967, 3.168 e  $3.357 \text{ cm}^{-1}$ .

Foi demonstrado que um sal de sulfato cristalino de composto 1 possui um perfil de adsorção/dessorção reversível, com um nível excepcionalmente baixo de capacidade higroscópica (ou seja, menos do que cerca de 5 0,3% de ganho de peso na faixa de umidade de 2% de umidade relativa até 90% de umidade relativa em temperatura ambiente), como mostrado na Figura 3.

Adicionalmente, verificou-se que o sal de sulfato cristalino de composto 1 é estável mediante exposição a 10 temperatura e umidade elevadas. Após armazenamento por 4 semanas a 40°C e 75% de umidade relativa, a análise por HPLC não mostrou degradação química e não havia alterações detectáveis nos resultados de DSC, TGA ou XRPD.

Em outro aspecto, a invenção fornece um hidrato 15 cristalino de um sal de sulfato de composto 1.

Em um aspecto, um hidrato cristalino de um sal de sulfato da presente invenção é caracterizado por um padrão de difração de pó com raios X (XRPD) que possui dois ou mais picos de difração, incluindo três ou mais e quatro ou 20 mais picos de difração, em valores de 2 $\theta$  selecionados de 9,41  $\pm$  0,20, 9,98  $\pm$  0,20, 15,17  $\pm$  0,20, 16,70  $\pm$  0,20, 18,59  $\pm$  0,20, 19,46  $\pm$  0,20, 19,91  $\pm$  0,20, 20,63  $\pm$  0,20, 21,35  $\pm$  0,20, 21,89  $\pm$  0,20, 23,00  $\pm$  0,20, 24,20  $\pm$  0,20, 25,40  $\pm$  0,20, 26,03  $\pm$  0,20, 27,44  $\pm$  0,20, 28,46  $\pm$  0,20, 29,45  $\pm$  25 0,20, 31,22  $\pm$  0,20, 31,82  $\pm$  0,20, 33,17  $\pm$  0,20, 33,56  $\pm$  0,20 e 36,89  $\pm$  0,20. Em particular, nesse aspecto, a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de pó com raios X que possui dois ou mais picos de difração, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração, 30 em valores de 2 $\theta$  selecionados de 16,70  $\pm$  0,20, 18,59  $\pm$

0,20, 19,46 ± 0,20, 19,91 ± 0,20, 23,00 ± 0,20 e 24,20 ± 0,20.

Em outro aspecto, um hidrato cristalino de um sal de sulfato de composto 1 é caracterizado por um padrão de difração de pó com raios X no qual as posições de pico estão substancialmente de acordo com aquelas mostradas na Figura 4.

O hidrato cristalino de um sal de sulfato da presente invenção também é caracterizado por seu traçado de calorimetria de varredura diferencial (DSC), que exibe dois eventos endotérmicos: um primeiro pico no fluxo de calor endotérmico na faixa de cerca de 125 a cerca de 133°C, e um segundo pico na faixa de cerca de 178 a cerca de 183°C, quando analisado em uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto, como ilustrado na Figura 5. O traçado de análise térmica gravimétrica (TGA) mostra um primeiro evento térmico entre cerca de 60 e cerca de 140°C e um segundo evento térmico entre cerca de 140 e cerca de 190°C. A análise por TGA acoplada ao IR do material vaporizado no primeiro evento térmico é consistente com uma composição de hidrato que possui cerca de um mole de água por mole de sulfato do composto 1.

Surpreendentemente, um hidrato cristalino de um sal de sulfato de composto 1 demonstrou baixa capacidade higroscópica. Como ilustrado na Figura 6, o hidrato cristalino exibe um perfil de adsorção/dessorção reversível em temperatura ambiente ao longo de toda a faixa de cerca de 2% a cerca de 90% de umidade relativa, com menos do que cerca de 0,3% de ganho de peso ao longo de toda a faixa de umidade relativa.

Essas propriedades das formas de sal desta invenção são ainda ilustradas nos Exemplos abaixo.

Procedimentos sintéticos

O agente ativo, 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-didroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida, pode ser preparado a partir de materiais de partida prontamente disponíveis pela utilização dos procedimentos descritos nos Exemplos abaixo, ou com a utilização dos procedimentos descritos nos Pedidos U.S. com designação comum listados na seção "Fundamentos da invenção" deste pedido.

Em um método de preparação, um sal de sulfato cristalino da invenção é preparado pelo contato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-didroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida com cerca de 0,5 a cerca de 1,5 equivalente molar, incluindo cerca de 1 equivalente molar, de ácido sulfúrico. Geralmente, essa reação é realizada em um diluente inerte em uma temperatura que varia de cerca de 0°C a cerca de 65°C, incluindo cerca de 60 a cerca de 65°C. Diluentes inertes adequados incluem, por exemplo, metanol, tolueno, diclorometano, e combinações como, por exemplo, tolueno e acetonitrila, diclorometano e acetonitrila, e tolueno, acetonitrila e água, além de uma combinação de metanol e água que compreende cerca de 10% de água. Com o uso desses diluentes, uma mistura de reação com uma concentração entre cerca de 5 e cerca de 400 mg/ml, incluindo entre cerca de 50 e cerca de 100 mg/ml, é preparada e mantida por cerca de 2 e cerca de 24 horas, com agitação opcional. A mistura pode ser resfriada até entre

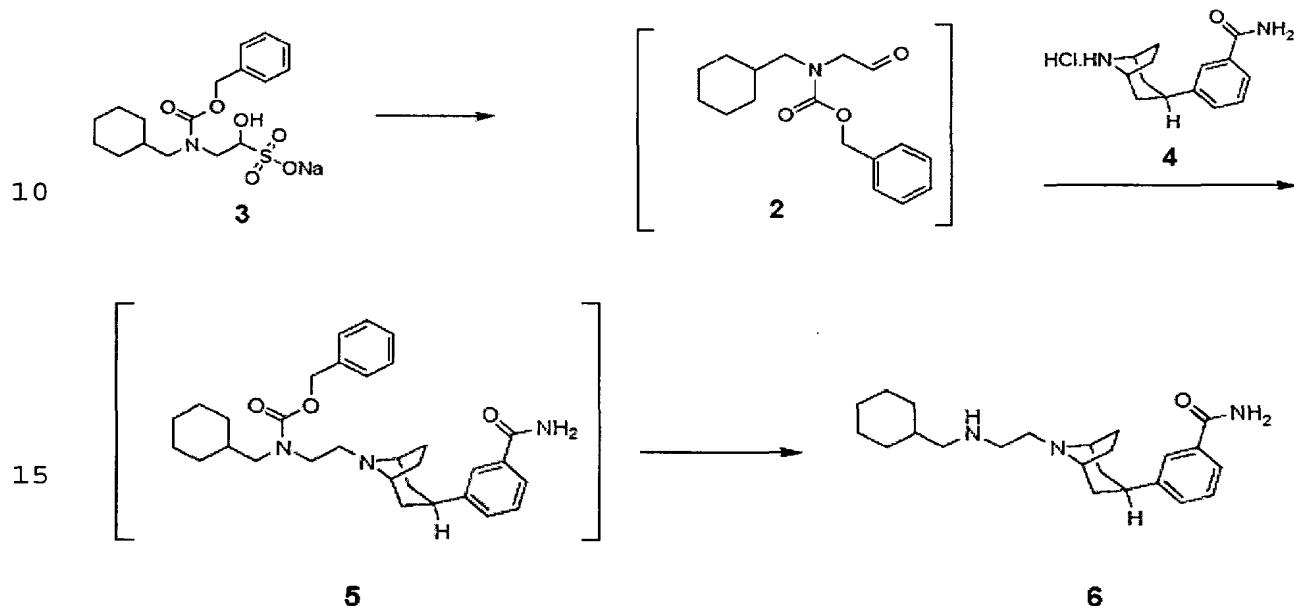
cerca de 5 e cerca de 20°C durante o período de manutenção.

Com o término da reação, um sal cristalino da invenção é isolado da mistura de reação por qualquer meio convencional, por exemplo, filtração, concentração, 5 centrifugação, e semelhantes.

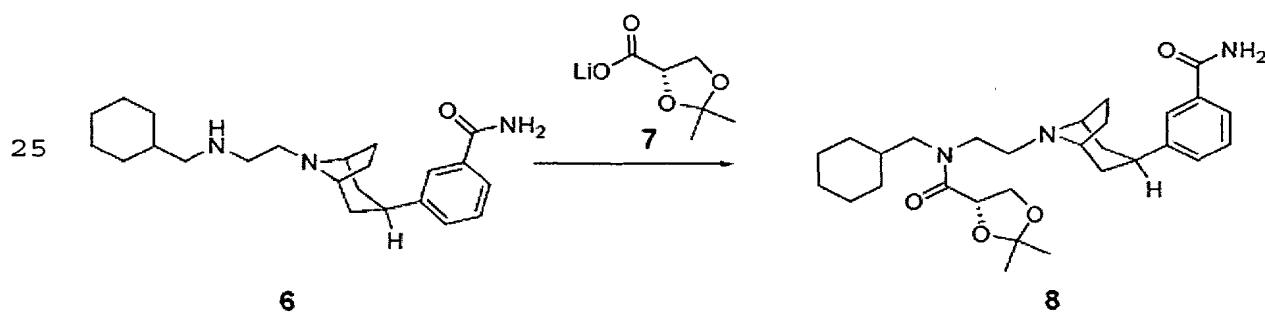
Alternativamente, o sulfato cristalino da invenção é preparado por recristalização da forma de hidrato. O hidrato cristalino está disperso em um diluente inerte, como descrito acima, em uma concentração entre cerca de 5 e 10 cerca de 400 mg/ml. Metanol, ou uma combinação de metanol:água, em uma proporção de cerca de 3:1 a cerca de 9:1, é diluente particularmente útil para essa reação. A mistura de reação é mantida em temperaturas na faixa de cerca de 0 a cerca de 65°C, tipicamente com agitação, por 15 entre cerca de 1 e cerca de 24 horas, incluindo entre cerca de 1 e cerca de 6 horas. Tipicamente, a mistura de reação é resfriada de cerca de 65°C até entre cerca de 5 e cerca de 20°C durante o período de manutenção. Para aumentar o rendimento, o volume da solução pode ser reduzido em torno 20 de 50%, antes de manter a mistura de reação por um período de tempo entre cerca de 1 e cerca de 24 horas, incluindo entre cerca de 1 e cerca de 6 horas, em uma temperatura entre cerca de 5 e cerca de 20°C. Os cristais resultantes são recuperados convencionalmente.

25 Tanto o sal de sulfato cristalino quanto o hidrato cristalino do sal de sulfato de composto 1 são vantajosamente preparados a partir do precursor protegido do composto 1. Como descrito nos exemplos abaixo, para preparar o agente ativo, o aldeído protegido 2, benzil 30 éster de ácido *N*-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico,

regenerado a partir de seu aduto de bissulfito 3, é acoplado ao cloridrato de 3-endo-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)-benzamida 4 para fornecer o intermediário protegido 5, que é desprotegido para fornecer 3-endo-{8-[2-5 (ciclohexilmetilamino)etil]-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il}benzamida 6.



A reação do intermediário 6 com (4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carboxilato de lítio 7 fornece o intermediário protegido {2-[3-(3-carbamoil-fenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]etil}ciclohexilmetyl-amida de ácido (S)-2,2-dimetil-[1,3]dioxolano-4-carboxílico 8.



O intermediário protegido 8 é colocado em contato com  
30 cerca de 0,8 a cerca de 1,3 equivalente, tipicamente cerca

de 1 a cerca de 1,2 equivalente, de ácido sulfúrico aquoso em um diluente inerte, por exemplo, acetato de etila ou acetato de isopropila, em uma temperatura entre cerca de 20 e cerca de 30°C. Um segundo diluente, que é miscível com a mistura de reação, e no qual o produto é menos solúvel, é tipicamente incluído na mistura de reação. Acetonitrila é útil como o segundo diluente. A mistura de reação é tipicamente agitada por um período entre cerca de 2 e cerca de 72 horas, resultando na desproteção do composto 8 e formação do sal sólido de grau intermediário de sulfato de composto 1, que é tipicamente predominantemente o hidrato cristalino do sulfato do composto 1. O produto de grau intermediário pode ser isolado convencionalmente, por exemplo, por filtração.

A forma de hidrato pode ser obtida por recristalização do produto de sulfato de grau intermediário, por exemplo, por suspensão do produto de grau intermediário em acetonitrila com aquecimento, adição de água para promover a dissolução, resfriamento até a temperatura ambiente, e isolamento da forma recristalizada de hidrato, como descrito no Exemplo 2 abaixo.

O sal de sulfato cristalino de composto 1 pode ser obtido a partir do produto sólido de grau intermediário da etapa de desproteção descrita acima. O produto de grau intermediário está disperso em um diluente inerte que compreende metanol em uma concentração entre cerca de 5 e cerca de 400 mg/ml, incluindo entre cerca de 50 e cerca de 200 mg/ml. Surpreendentemente, foi determinado que uma combinação de metanol e água, que possui até 25% de água, incluindo entre cerca de 0 e cerca de 15% de água, e entre

cerca de 5 e cerca de 15% de água, é um diluente útil para a preparação de um sal anidro cristalino. Em particular, uma combinação de metanol e água que compreende cerca de 10% de água é útil para recristalização do produto de grau 5 intermediário no sal anidro de sulfato da presente invenção.

Em um processo de recristalização típico, a mistura de reação é aquecida até que seja obtida a dissolução completa; por exemplo, a mistura de reação é aquecida até 10 cerca de 65°C, e depois resfriada até entre cerca de 5 e cerca de 22°C ao longo de um período entre cerca de 2 e cerca de 24 horas. Opcionalmente, cristais de semeadura do sal anidro de sulfato podem ser adicionados quando a mistura de reação estiver abaixo da temperatura de 15 dissolução. Os cristais resultantes são recuperados convencionalmente, por exemplo, por filtração.

De acordo ainda com outro processo, a forma de hidrato pode ser preparada a partir da forma de sulfato cristalino (anidra). Tipicamente, o sulfato cristalino primeiro é 20 convertido em uma forma amorfa, mais solúvel, por exemplo, por liofilização ou evaporação rápida de uma solução preparada a partir do sulfato cristalino. O material amorfo sólido de sulfato é então disperso em um sistema solvente aquoso, por exemplo, 25% de água e 75% de acetonitrila, e 25 opcionalmente agitado por um período de tempo, acima de cerca de 12 ou acima de cerca de 24 horas, em temperaturas na faixa de cerca de 0 a cerca de 65°C. Tipicamente, a temperatura inicialmente é elevada até cerca de 65°C e depois reduzida até entre cerca de 5 e cerca de 20°C. A 30 forma de hidrato cristalino resultante é recuperada

convencionalmente.

Conseqüentemente, em um aspecto do método, dentre outros processos, a invenção fornece um processo para a preparação de um sal de sulfato cristalino de composto 1, o processo compreendendo: (a) o contato de um precursor protegido com composto 1 em que os grupos hidróxi estão protegidos, com ácido sulfúrico para formar uma primeira mistura de reação; (b) isolamento de um sal sólido de grau intermediário de sulfato de composto 1 da primeira mistura de reação; (c) dispersão do sal sólido de grau intermediário de sulfato em um diluente que compreende metanol para formar uma segunda mistura de reação; e (d) isolamento do sal de sulfato cristalino da segunda mistura de reação.

Além disso, em um aspecto da composição, a invenção fornece o aduto de bissulfito de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico 3 útil para a preparação do composto 1. Como descrito na Preparação 1, o aduto de bissulfito 3 pode ser preparado por aminação redutiva de ciclohexanocarboxaldeído por 2,2-dietoxietilamina usando sódio triacetoxiborohidreto, seguida por adição de um grupo de proteção amino, desproteção da funcionalidade aldeído e conversão no aduto de bissulfito por reação com bissulfito de sódio. Alternativamente, a aminação redutiva inicial pode ser realizada por hidrogenação catalítica. Catalisadores de hidrogenação adequados incluem, sem limitação, catalisadores de paládio, platina e níquel de Raney.

#### Composições farmacêuticas

As formas de sal de sulfato cristalino da invenção são

tipicamente administradas a um paciente na forma de uma composição ou formulação farmacêutica. Essas composições farmacêuticas podem ser administradas ao paciente por qualquer via de administração aceitável, incluindo, sem limitação, modos de administração orais, retais, vaginais, nasais, inalados, tópicos (incluindo transdérmicos) e parenterais.

Conseqüentemente, em um dos aspectos das composições, a invenção é dirigida a uma composição farmacêutica que 10 compreende um veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável e uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de sulfato cristalino de composto 1 ou um solvato deste. Opcionalmente, essas composições farmacêuticas podem conter outros agentes terapêuticos e/ou de formulação, se 15 desejado. Quando se discutem as composições, subentende-se que o termo "sal da invenção" inclui o sal de sulfato cristalino de composto 1, bem como solvatos, em particular, o hidrato, deste.

As composições farmacêuticas da invenção tipicamente 20 contêm uma quantidade terapeuticamente eficaz do agente ativo, presente na forma de um sal da invenção. Tipicamente, essas composições farmacêuticas conterão cerca de 0,1 a cerca de 95% por peso do agente ativo; preferivelmente, de cerca de 5 a cerca de 70% por peso; e 25 mais preferivelmente de cerca de 10 a cerca de 60% por peso do agente ativo.

Qualquer veículo ou excipiente convencional pode ser usado nas composições farmacêuticas da invenção. A escolha de um veículo ou excipiente em particular, ou combinações 30 de veículos ou excipientes, dependerá do modo de

administração usado para tratar um paciente ou tipo de condição médica ou estado de doença em particular. A esse respeito, a preparação de uma composição farmacêutica adequada para um modo de administração em particular está 5 incluída no escopo daqueles habilitados nas técnicas farmacêuticas. Adicionalmente, os veículos ou excipientes usados nas composições farmacêuticas desta invenção estão disponíveis comercialmente. Como ilustração adicional, técnicas convencionais de formulação são descritas em 10 "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20<sup>a</sup> Edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); e H.C. Ansel e cols., "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems", 7<sup>a</sup> Edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

15 Exemplos representativos de materiais que podem servir como veículos farmaceuticamente aceitáveis incluem, sem limitação, os seguintes: açúcares, tais como lactose, glicose e sacarose; amidos, tais como amido de milho e amido de batata; celulose como, por exemplo, celulose 20 microcristalina, e seus derivados, tais como carboximetil celulose sódica, etil celulose e acetato de celulose; tragacanto em pó; malte; gelatina; talco; excipientes, tais como manteiga de cacau e ceras de supositórios; óleos, tais como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de 25 açafrão, óleo de gergelim, azeite de oliva, óleo de milho e óleo de soja; glicóis como, por exemplo, propileno glicol; polióis, tais como glicerina, sorbitol, manitol e polietileno glicol; ésteres, tais como oleato de etila e laurato de etila; ágar; agentes de tamponamento, tais como 30 hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; ácido

algínico; água sem pirógeno; solução salina isotônica; solução de Ringer; álcool etílico; soluções de tampão de fosfato; e outras substâncias atóxicas compatíveis empregadas em composições farmacêuticas.

5 As composições farmacêuticas são preparadas tipicamente por mistura ou mescla cuidadosa e íntima do agente ativo com um veículo farmaceuticamente aceitável e um ou mais ingredientes opcionais. A mistura uniformemente mesclada resultante pode então ser moldada ou carregada em 10 comprimidos, cápsulas, pílulas e semelhantes, com a utilização de procedimentos e equipamentos convencionais.

As composições farmacêuticas da invenção são preferivelmente embaladas em uma forma de dosagem unitária. O termo "forma de dosagem unitária" refere-se a uma unidade 15 fisicamente distinta adequada à dosagem de um paciente, ou seja, cada unidade contém uma quantidade predeterminada de agente ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, tanto isoladamente quanto em combinação com uma ou mais unidades adicionais. Por exemplo, essas formas de 20 dosagem unitária podem ser cápsulas, comprimidos, pílulas, e semelhantes, ou embalagens unitárias adequadas à administração parenteral.

Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da invenção são adequadas à administração oral. Composições 25 farmacêuticas adequadas à administração oral podem estar na forma de cápsulas, comprimidos, pílulas, pastilhas, cachets, drágeas, pós, grânulos; ou como uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou não aquoso; ou como uma emulsão líquida óleo-em-água ou água-em-óleo; ou como um 30 elixir ou xarope; e semelhantes; cada uma contendo uma

quantidade predeterminada de um composto da presente invenção como um ingrediente ativo.

Quando destinada à administração oral em uma forma de dosagem sólida (ou seja, como cápsulas, comprimidos, 5 pílulas e semelhantes), as composições farmacêuticas da invenção compreenderão tipicamente o agente ativo e um ou mais veículos farmaceuticamente aceitáveis como, por exemplo, citrato de sódio ou fosfato dicálcico. Opcional ou alternativamente, essas formas de dosagem sólida também 10 podem compreender: enchimentos ou extensores, tais como amidos, celulose microcristalina, lactose, sacarose, glicose, manitol e/ou ácido silícico; aglutinantes, tais como carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, sacarose e/ou acácia; umectantes como, por 15 exemplo, glicerol; agentes de desintegração, tais como ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou de tapioca, ácido algínico, certos silicatos e/ou carbonato de sódio; agentes de retardo de solução como, por exemplo, parafina; aceleradores da absorção, tais como compostos de 20 amônio quaternário; agentes umidificantes, tais como álcool cetílico e/ou monoestearato de glicerol; absorventes, tais como caulim e/ou argila bentonita; lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietileno glicóis sólidos, lauril sulfato de sódio e/ou 25 misturas destes; agentes corantes; e agentes de tamponamento.

Agentes de liberação, agentes umidificantes, agentes de revestimento, agentes adoçantes, flavorizantes e perfumantes, conservantes e antioxidantes também podem 30 estar presentes nas composições farmacêuticas da invenção.

Exemplos de antioxidantes farmaceuticamente aceitáveis incluem: antioxidantes hidrossolúveis, tais como ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio, metabissulfato de sódio, sulfito de sódio, e semelhantes;

5 antioxidantes lipossolúveis, tais como palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, propil galato, alfa-tocoferol, e semelhantes; e agentes quelantes de metal, tais como ácido cítrico, ácido etilenodiamina tetra-acético, sorbitol, ácido tartárico,

10 ácido fosfórico, e semelhantes. Agentes de revestimento para comprimidos, cápsulas, pílulas e semelhantes incluem aqueles usados para revestimentos entéricos, tais como ftalato de acetato de celulose, ftalato de acetato de polivinila, ftalato de hidroxipropil metilcelulose,

15 copolímeros de ácido metacrílico-éster de ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulose, carboximetil etil celulose, succinato de acetato de hidroxipropil metil celulose, e semelhantes.

As composições farmacêuticas da invenção também podem ser formuladas para fornecer liberação lenta ou controlada do agente ativo, usando, como forma de exemplo, hidroxipropil metil celulose em proporções variáveis; ou outras matrizes poliméricas, lipossomos e/ou microesferas. Além disso, as composições farmacêuticas da invenção podem opcionalmente conter agentes de opacificação e podem ser formuladas de modo a liberar o ingrediente ativo apenas, ou preferencialmente, em certa porção do trato gastrintestinal, opcionalmente, de forma retardada. Exemplos de composições combinadas que podem ser usadas

30 incluem substâncias poliméricas e ceras. O agente ativo

também pode estar em forma microencapsulada, se adequado, com um ou mais dos excipientes descritos acima.

Formas de dosagem líquida adequadas à administração oral incluem, como ilustração, emulsões, microemulsões, 5 soluções, suspensões, xaropes e elixires farmaceuticamente aceitáveis. Formas de dosagem líquida tipicamente compreendem o agente ativo e um diluente inerte como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsificantes, tais como álcool etílico, álcool 10 isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propileno glicol, 1,3-butileno glicol, óleos (esp., óleo de semente de algodão, óleo de amendoim, óleo de milho, óleo de germe de trigo, azeite de oliva, óleo de rícino e óleo de gergelim), 15 glicerol, álcool tetrahidrofurílico, polietileno glicóis e ésteres de ácido graxo de sorbitano, e misturas destes. Suspensões, além do ingrediente ativo, podem conter agentes de suspensão como, por exemplo, alcoóis isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol e ésteres de sorbitano, 20 celulose microcristalina, meta-hidróxido de alumínio, bentonita, ágar-ágar e tragacanto, e misturas destes.

Os sais desta invenção também podem ser administrados por via parenteral (por exemplo, por injeção intravenosa, subcutânea, intramuscular ou intraperitoneal). Para 25 administração parenteral, o agente ativo é tipicamente misturado com um veículo adequado para administração parenteral, incluindo, como forma de exemplo, soluções aquosas estéreis, solução salina, alcoóis de baixo peso molecular como, por exemplo, propileno glicol, polietileno 30 glicol, óleos vegetais, gelatina, ésteres de ácido graxo,

por exemplo, oleato de etila, e semelhantes. As formulações parenterais também podem conter um ou mais antioxidantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes umidificantes, emulsificantes ou agentes dispersantes.

5 Essas formulações podem ser tornadas estéreis pelo uso de um meio injetável estéril, um agente esterilizante, filtração, irradiação ou calor.

Alternativamente, as composições farmacêuticas da invenção são formuladas para administração por inalação. 10 Composições farmacêuticas adequadas à administração por inalação estarão tipicamente na forma de um aerossol ou um pó. Essas composições são geralmente administradas com a utilização de dispositivos de liberação bem conhecidos, tais como um inalador de dose metrificada, um inalador de 15 pó seco, um nebulizador ou um dispositivo de liberação similar.

Quando administradas por inalação com o uso de um recipiente pressurizado, as composições farmacêuticas da invenção compreenderão tipicamente o ingrediente ativo e um 20 propelente adequado como, por exemplo, diclorodifluormetano, triclorofluormetano, diclorotetrafluoretano, dióxido de carbono ou outro gás adequado. Adicionalmente, a composição farmacêutica pode estar na forma de uma cápsula ou cartucho (feito, por 25 exemplo, de gelatina) que compreende um composto da invenção e um pó adequado para uso em um inalador de pó. Bases de pós adequadas incluem, como forma de exemplo, lactose ou amido.

Os sais da invenção também podem ser administrados por 30 via transdérmica com o uso de sistemas e excipientes de

liberação transdérmicos conhecidos. Por exemplo, o agente ativo pode ser misturado com intensificadores da permeação, por exemplo, propileno glicol, monolaurato de polietileno glicol, azacicloalcan-2-onas, e semelhantes, e incorporado 5 em um emplastro ou sistema de liberação similar. Excipientes adicionais, incluindo agentes de gelificação, emulsificantes e tampões, também podem ser usados nessas composições transdérmicas, se desejado.

Se desejado, os sais desta invenção podem ser 10 administrados em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos. Nessa modalidade, um sal desta invenção é misturado fisicamente com o outro agente terapêutico para formar uma composição que contém ambos os agentes, ou cada agente está presente em composições separadas e distintas 15 que são administradas ao paciente simultânea ou seqüencialmente.

Por exemplo, um sal da invenção pode ser combinado com 20 um segundo agente terapêutico com o uso de procedimentos e equipamentos convencionais para formar uma composição que compreende um composto 1 e um segundo agente terapêutico. Adicionalmente, os agentes terapêuticos podem ser combinados com um veículo farmaceuticamente aceitável para formar uma composição farmacêutica que compreende um sal da invenção, um segundo agente terapêutico e um veículo 25 farmaceuticamente aceitável. Nessa modalidade, os componentes da composição são tipicamente misturados ou mesclados para criar uma mistura física. A mistura física é então administrada em uma quantidade terapeuticamente eficaz com o uso de qualquer uma das vias aqui descritas. 30 Alternativamente, os agentes terapêuticos podem permanecer

separados e distintos antes da administração ao paciente. Nessa modalidade, os agentes não são misturados fisicamente juntos antes da administração, mas são administrados simultaneamente ou em momentos separados como composições separadas. Essas composições podem ser embaladas separadamente ou podem ser embaladas juntas como um kit. Os dois agentes terapêuticos no kit podem ser administrados pela mesma via de administração ou por vias de administração diferentes.

Qualquer agente terapêutico compatível com o presente agente ativo pode ser usado como o segundo agente terapêutico. Em particular, agentes pró-cinéticos que atuam por meio de mecanismos diferentes do antagonismo ao receptor opióide  $\mu$  podem ser usados em combinação com os presentes compostos. Por exemplo, agonistas do receptor 5-HT<sub>4</sub>, por exemplo, tegaserod, renzaprida, mosaprida, prucaloprida, {(1S,3R,5R)-8-[2-(4-acetilpiperazin-1-il)etil]-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il}amida de ácido 1-isopropil-1H-indazol-3-carboxílico, {(1S,3R,5R)-8-[(R)-2-hidróxi-3-(metanossulfonil-metil-amino)propil]-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il}amida de ácido 1-isopropil-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxílico, ou éster metílico de ácido 4-(4-{{(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino}metil}-piperidin-1-ilmetil)piperidina-1-carboxílico podem ser usados como o segundo agente terapêutico.

Agentes pró-cinéticos adicionais úteis incluem, sem limitação, agonistas do receptor 5-HT<sub>3</sub> (por exemplo, pumosetrag), antagonistas do receptor 5-HT<sub>1A</sub> (por exemplo, AGI 001), ligantes de alfa-2-delta (por exemplo, PD-

217014), abridores do canal de cloreto (por exemplo, lubiprostona), antagonistas de dopamina (por exemplo, itoprida, metaclopramida, domperidona), agonistas de GABA-B (por exemplo, baclofeno, AGI 006), agonistas opioides kappa (por exemplo, asimadolina), antagonistas muscarínicos M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> (por exemplo, acotiamida), agonistas de motilina (por exemplo, mitencinal), ativadores da guanilato ciclase (por exemplo, MD-1100), e agonistas de grelina (por exemplo, Tzp 101, RC 1139).

10       Além disso, os sais da invenção podem ser combinados com agentes terapêuticos opioides. Esses agentes opioides incluem, sem limitação, morfina, petidina, codeína, diidrocodeína, oxicontina, oxicodona, hidrocodona, sufentanil, fentanil, remifentanil, buprenorfina, metadona  
15 e heroína.

20       Vários exemplos adicionais desses agentes terapêuticos são conhecidos na técnica e qualquer um desses agentes terapêuticos conhecidos pode ser empregado em combinação com os compostos desta invenção. Agentes secundários, quando incluídos, estão presentes em uma quantidade terapeuticamente eficaz, ou seja, em qualquer quantidade que produza um efeito terapeuticamente benéfico quando co-administrado com um composto da invenção. Doses adequadas para os outros agentes terapêuticos administrados em  
25 combinação com um composto da invenção estão tipicamente na faixa de cerca de 0,05 µg/dia a cerca de 100 mg/dia.

Conseqüentemente, as composições farmacêuticas da invenção opcionalmente incluem um segundo agente terapêutico, como descrito acima.

30       Os seguintes exemplos ilustram composições

farmacêuticas representativas da presente invenção:

*Exemplo de formulação A: Cápsulas de gelatina rígidas para administração oral*

Um sal da invenção (50 g), lactose atomizada (200 g) e 5 estearato de magnésio (10 g) são misturados cuidadosamente. A composição resultante é carregada em uma cápsula de gelatina rígida (260 mg de composição por cápsula).

*Exemplo de formulação B: Cápsulas de gelatina rígidas para administração oral*

10 Um sal da invenção (20 mg), amido (89 mg), celulose microcristalina (89 mg) e estearato de magnésio (2 mg) são misturados cuidadosamente e depois são passados através de uma peneira U.S. de trama N° 45. A composição resultante é carregada em uma cápsula de gelatina rígida (200 mg de 15 composição por cápsula).

*Exemplo de formulação C: Cápsulas de gelatina para administração oral*

Um sal da invenção (10 mg), mono-oleato de 20 polioxietileno sorbitano (50 mg) e pó de amido (250 mg) são misturados cuidadosamente e depois carregados em uma cápsula de gelatina (310 mg de composição por cápsula).

*Exemplo de formulação D: Comprimidos para administração oral*

Um sal da invenção (5 mg), amido (50 mg) e celulose 25 microcristalina (35 mg) são passados através de uma peneira U.S. de trama N° 45 e misturados cuidadosamente. Uma solução de polivinilpirrolidona (10% do peso em água, 4 mg) é misturada com os pós resultantes, e essa mistura é depois passada através de uma peneira U.S. trama N° 14. Os 30 grânulos assim produzidos são secos a 50-60°C e passados

através de uma peneira U.S. trama N° 18. Amido de carboximetil sódico (4,5 mg), estearato de magnésio (0,5 mg) e talco (1 mg), que foram passados previamente através de uma peneira U.S. trama N° 60, são então adicionados aos 5 grânulos. Após mistura, a mistura é compactada em uma máquina de comprimidos para gerar um comprimido pesando 100 mg.

*Exemplo de formulação E: Comprimidos para administração oral*

10 Um sal da invenção (25 mg), celulose microcristalina (400 mg), dióxido de silício fumegado (10 mg) e ácido esteárico (5 mg) são misturados cuidadosamente e depois compactados para formar comprimidos (440 mg de composição por comprimido).

15 *Exemplo de formulação F: Comprimidos com marca única para administração oral*

Um sal da invenção (15 mg), amido de milho (50 mg), croscarmelose sódica (25 mg), lactose (120 mg) e estearato de magnésio (5 mg) são misturados cuidadosamente e depois 20 compactados para formar comprimido com marca única (215 mg de composições por comprimido).

*Exemplo de formulação G: Suspensão para administração oral*

Os ingredientes seguintes são cuidadosamente misturados para formar uma suspensão para administração 25 oral contendo 100 mg de ingrediente ativo por 10 ml de suspensão:

Ingredientes	Quantidade
Sal da invenção	0,1 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloreto de sódio	2,0 g

	Metil parabeno	0,15 g
	Propil parabeno	0,05 g
	Açúcar granulado	25,5 g
	Sorbitol (solução 70%)	12,85 g
5	Veegum k (Vanderbilt Co.)	1,0 g
	Flavorizante	0,035 ml
	Colorantes	0,5 mg
	Água destilada	q.s. até 100 ml

*Exemplo de formulação H: Composição de pó seco*

10 Um sal micronizado da invenção (1 mg) é misturado com lactose (25 mg) e depois carregado em um cartucho de inalação de gelatina. O conteúdo do cartucho é administrado usando um inalador de pó.

*Exemplo de formulação J: Formulação injetável*

15 Um sal da invenção (0,1 g) é misturado com 0,1 M de solução tampão de citrato de sódio (15 ml). O pH da solução resultante é ajustado até o pH 6 com o uso de 1 N de ácido clorídrico aquoso ou 1 N de hidróxido de sódio aquoso. Soro fisiológico estéril em tampão de citrato é então adicionado 20 para fornecer um volume total de 20 ml.

Será subentendido que qualquer forma de sal da invenção (ou seja, sal cristalino ou solvato) que seja adequada ao modo de administração em particular pode ser usada nas composições farmacêuticas discutidas acima.

25 Utilidade

O presente agente ativo, sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida, é um antagonista no receptor opióide  $\mu$  e, portanto, espera-se que os sais da 30 invenção sejam úteis para o tratamento de condições médicas

mediadas por receptores opioides  $\mu$  ou associadas à atividade do receptor opioide  $\mu$ , ou seja, condições médicas que são atenuadas por tratamento com um antagonista do receptor opioide  $\mu$ . Em particular, espera-se que os sais da invenção sejam úteis para o tratamento de efeitos adversos associados ao uso de opioide analgésicos, ou seja, sintomas tais como constipação, esvaziamento gástrico diminuído, dor abdominal, distensão abdominal, náuseas, e refluxo gastresofágico, denominados coletivamente disfunção intestinal induzida por opioides. Espera-se também que as presentes formas de sal sejam úteis para o tratamento de obstrução total do intestino pós-operatória, um distúrbio de motilidade reduzida do trato gastrintestinal que ocorre após cirurgia abdominal ou outra cirurgia. Além disso, foi sugerido que compostos antagonistas do receptor opioide  $\mu$  como, por exemplo, o composto 1, podem ser usados para reverter náuseas e vômitos induzidos por opioides.

Como foi demonstrado que o composto 1 aumenta a motilidade do trato gastrintestinal (GI) em modelos animais, espera-se que os sais da invenção sejam úteis para o tratamento de distúrbios do trato GI causados por motilidade reduzida em mamíferos, incluindo seres humanos. Esses distúrbios da motilidade GI incluem, como ilustração, constipação crônica, constipação predominante na síndrome do cólon irritável (C-IBS), gastroparesia diabética e idiopática, e dispepsia funcional.

Em um aspecto, portanto, a invenção fornece um método de aumento da motilidade do trato gastrintestinal em um mamífero, o método compreendendo a administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma

composição farmacêutica que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável e um sal da invenção.

Quando usados para tratar distúrbios de motilidade reduzida do trato GI ou outras condições mediadas por receptores opiôides  $\mu$ , os sais da invenção tipicamente serão administrados oralmente em uma dose diária única ou em múltiplas doses ao dia, embora possam ser usadas outras formas de administração. Por exemplo, particularmente quando usados para tratar obstrução total do intestino pós-operatória, os compostos da invenção podem ser administrados parenteralmente. A quantidade de agente ativo administrada por dose ou a quantidade total administrada por dia tipicamente será determinada por um médico, à luz das circunstâncias relevantes, incluindo a condição a ser tratada, a via de administração escolhida, o composto específico administrado e sua atividade relativa, a idade, o peso e a resposta do paciente individual, a gravidade dos sintomas do paciente, e semelhantes.

As doses adequadas para o tratamento de distúrbios de motilidade reduzida do trato GI ou outros distúrbios mediados por receptores opiôides  $\mu$  irão variar de cerca de 0,0007 a cerca de 20 mg/kg/dia de agente ativo, incluindo de cerca de 0,0007 a cerca de 1,4 mg/kg/dia. Para um ser humano médio com 70 kg, essa seria uma quantidade de cerca de 0,05 a cerca de 100 mg por dia de agente ativo.

Em um aspecto da invenção, os compostos da invenção são usados para tratar disfunção intestinal induzida por opiôides. Quando usados para tratar disfunção intestinal induzida por opiôides, os compostos da invenção tipicamente serão administrados oralmente em uma dose diária única ou

em múltiplas doses ao dia. De preferência, a dose para o tratamento de disfunção intestinal induzida por opióides irá variar de cerca de 0,05 a cerca de 100 mg por dia.

Em outro aspecto da invenção, os compostos da invenção 5 são usados para tratar obstrução total do intestino pós-operatória. Quando usados para tratar obstrução total do intestino pós-operatória, os compostos da invenção tipicamente serão administrados por via oral ou intravenosa em uma dose diária única ou em múltiplas doses ao dia. De 10 preferência, a dose para o tratamento de obstrução total do intestino pós-operatória irá variar de cerca de 0,05 a cerca de 100 mg por dia.

A invenção também fornece um método de tratamento de um mamífero que possui uma doença ou condição associado à 15 atividade do receptor opióide  $\mu$ , o método compreendendo a administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da invenção ou de uma composição farmacêutica que compreende um composto da invenção.

20 O presente agente ativo é opcionalmente administrado em combinação com outro agente ou agentes terapêuticos, em particular, em combinação com agentes pró-cinéticos que atuam por meio de mecanismos opióides não  $\mu$ . Conseqüentemente, em outro aspecto, os métodos e 25 composições da invenção ainda compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz de outro agente pró-cinético.

Como descrito acima, os sais da invenção são antagonistas do receptor opióide  $\mu$ . A invenção ainda fornece, portanto, um método de antagonismo de um receptor 30 opióide  $\mu$  em um mamífero, o método compreendendo a

administração de um sal da invenção ao mamífero.

Entre outras propriedades, verificou-se que o presente agente ativo em forma de base livre e de sal de sulfato exibe ligação potente aos receptores opióides  $\mu$  e pouco ou 5 nenhum agonismo em ensaios funcionais do receptor  $\mu$ . Portanto, os sais da invenção são antagonistas potentes do receptor opióide  $\mu$ . Além disso, o agente ativo demonstrou predominantemente atividade periférica, quando comparada com atividade do sistema nervoso central em modelos 10 animais. Portanto, espera-se que os sais da invenção revertam reduções induzidas por opióides da motilidade GI, sem interferência com os efeitos centrais benéficos de analgesia. Essas propriedades, bem como a utilidade dos compostos da invenção, podem ser demonstradas com a 15 utilização de vários ensaios *in vitro* e *in vivo* bem conhecidos por aqueles habilitados na técnica. Ensaios representativos são descritos com mais detalhe nos exemplos seguintes.

#### EXEMPLOS

20 Os exemplos sintéticos e biológicos a seguir são oferecidos para ilustrar a invenção, e não devem ser considerados de modo algum como limitantes do escopo da invenção. Nos exemplos abaixo, as seguintes abreviações possuem os seguintes significados, a menos que indicado de 25 forma diferente. As abreviações não definidas abaixo possuem seus significados geralmente aceitos.

DIPEA = *N,N*-diisopropiletilamina

DMF = *N,N*-dimetilformamida

EtOAc = acetato de etila

30 EtOH = etanol

MeTHF	=	2-metiltetrahidrofurano
MTBE	=	terc-butil metil éter
NaHMDS	=	bis(trimetilsilil)amida de sódio
PyBop	=	hexafluorfosfato de benzotriazol-1-

5 iloxitripirrolidino-fosfônio

psi	=	libras por polegada quadrada
R <sub>t</sub>	=	tempo de retenção
THF	=	tetrahidrofurano

Reagentes e solventes foram adquiridos de fornecedores comerciais (Aldrich, Fluka, Sigma etc.), e usados sem purificação adicional. As reações foram executadas sob atmosfera de nitrogênio, a menos que observado de forma diferente. O progresso das misturas de reação foi monitorado por cromatografia de camada delgada (TLC), cromatografia analítica líquida de alta performance (HPLC anal.), e espectrometria de massa. As proporções *endo/exo* de produtos foram determinadas por análise por HPLC usando os protocolos descritos abaixo. As misturas de reação foram constituídas como descrito especificamente em cada reação; comumente, elas foram purificadas por extração e outros métodos de purificação como, por exemplo, cristalização dependente de temperatura e de solvente, e precipitação. A caracterização de produtos de reação foi feita rotineiramente por espectrometria de massa e <sup>1</sup>H-RNM. Para medida de RNM, as amostras foram dissolvidas em solvente deuterado (CD<sub>3</sub>OD, CDCl<sub>3</sub> ou DMSO-*d*<sub>6</sub>), e os espectros de <sup>1</sup>H-RNM foram adquiridos com um instrumento Varian Gemini 2000 (300 MHz) sob condições de observação padronizadas. A identificação espectrométrica de massa dos compostos foi realizada por um método de ionização por eletrospray (ESMS)

com um instrumento de Applied Biosystems (Foster City, CA) modelo API 150 EX ou com um instrumento de Agilent (Palo Alto, CA) modelo 1100 LC/MSD.

Condições gerais de HPLC

5 Coluna: Zorbax SB-Aq, 5  $\mu$ m. 4,6 x 250 mm  
 Temperatura da coluna: 40°C  
 Taxa de fluxo: 1,0 ml/min  
 Fases móveis: A = Água/ACN (98:2) + TFA 0,1%  
 B = Água/ACN (10:90) + TFA 0,1%,

10 Volume de injeção: 10  $\mu$ l  
 Comprimento de onda do detector: 214 nm

Método de HPLC 1

Os compostos brutos foram dissolvidos em Água/ACN (50:50) a cerca de 1 mg/ml e analisados usando o seguinte 15 gradiente ao longo de 20 minutos (tempo (min)/% de B): 0/10, 2,5/20, 9/75, 15/90, 17/90, 18/10, 20/10.

Método de HPLC 2

Os compostos foram dissolvidos em Água/ACN (90:10) a cerca de 1 mg/ml e analisados usando o seguinte gradiente 20 ao longo de 30 minutos (tempo (min)/% de B): 0/10, 13/10, 23/65, 28/90, 29/90, 30/10.

Método de HPLC 3

Os compostos foram dissolvidos em Água/ACN (90:10) a cerca de 1 mg/ml e analisados usando o seguinte gradiente 25 ao longo de 55 minutos (tempo (min)/% de B): 0/10, 10/20, 46/75, 47/90, 50/10, 55/10.

**Preparação 1: Síntese de aduto de bissulfito de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico**

**a. Preparação de N-ciclohexilmetil-(2,2-dietoxietil)**

30 amina

A uma mistura de 2,2-dietoxietilamina (209 ml, 1,43 mol) e MeTHF (1.050 litros), foi adicionado ciclohexanocarbaldeído (107 ml, 0,89 mol). A mistura de reação foi agitada por 30 minutos em temperatura ambiente e resfriada até 0°C. Triacetoxiborohidreto de sódio (378 g, 1,79 mol) foi adicionado ao longo de 40 minutos e a mistura de reação foi agitada por 2 horas e resfriada até 0°C. Um M de NaOH (1 litro) foi adicionado. A camada orgânica foi lavada com salmoura em água (1:1, 2 x 1 litro) e o volume foi reduzido até aproximadamente 20%. MeTHF (1 litro) foi adicionado, e o volume reduzido até aproximadamente 20%. A solução do intermediário do título bruto foi usada diretamente na etapa seguinte.

**b. Preparação de benzil éster de ácido N-15 ciclohexilmetil-(2,2-dietoxietil)carbâmico**

Ao produto da etapa prévia (~ 213 g, ~ 0,9 mol), foram adicionados MeTHF (2 litros) e DIPEA (233 ml, 1,34 mol). A mistura de reação foi resfriada até 0°C e cloroformato de benzila (140 ml, 0,98 mol) foi adicionado gota a gota. A mistura de reação foi agitada por 30 minutos a 0°C, por 2 horas, a 0°C até a temperatura ambiente, e depois por 1 hora em temperatura ambiente. Água (1,6 litro) foi adicionada, e a mistura de reação foi agitada por 10 minutos. As fases foram separadas e a camada orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio (1,6 litro) e água (1,6 litro). As camadas foram separadas e a camada orgânica foi reduzida até cerca de 20%. MeTHF (1 litro) foi adicionado e o volume reduzido até aproximadamente 20%. A solução do intermediário do título bruto foi usada diretamente na etapa seguinte.

c. Síntese de aduto de bissulfito de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico

Ao produto da etapa prévia (~ 302 g, ~ 0,62 mol) e acetonitrila (2 litros), foi adicionado 1 M de HCl (2 litros), e a mistura de reação foi agitada a 30°C por 7 horas. Acetato de etila (2 litros) foi adicionado, e a mistura de reação foi agitada por 10 minutos. As fases foram separadas, a camada orgânica foi lavada com 1 M de HCl (1,5 litro), as fases foram novamente separadas, e a camada orgânica foi lavada com 0,5 M de HCl (1 litro). Bissulfito de sódio (71,4 g, 0,69 mol) foi adicionado, e a mistura de reação foi agitada de um dia para o outro, e depois filtrada. O reator e o bolo do filtro foram lavados com acetato de etila (1 litro). A solução resultante foi seca ao ar por 2 horas e sob vácuo de um dia para o outro para fornecer o composto do título como um sólido branco (199 g, >99% de pureza da área por HPLC). O filtrado foi tratado pelo mesmo procedimento para fornecer um segundo lote do composto do título (30 g).

20       Preparação 2: Síntese de 3-*endo*-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)-benzamida

a. Preparação de 8-benzil-3-exo-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]octan-3-ol

A um frasco de 3 litros, foi adicionado pó de cloreto 25 ceroso (194 g, 0,79 mol). O frasco foi depurado com nitrogênio e THF (800 ml) foi adicionado. A mistura de reação foi agitada a 25°C por 1 hora. À mistura, foi adicionado aproximadamente 1 M de brometo de 3-metoxifenil magnésio em THF (800 ml, 0,87 mol) gota a gota. O caldo 30 resultante foi agitado a 3°C por 1,5 hora. Uma solução de

8-benzil-8-aza-biciclo[3.2.1]octan-3-ona (120,4 g, 0,56 mol) em THF (200 ml) foi então adicionada gota a gota, mantendo a temperatura interna em -5°C. A solução resultante foi agitada por 15 minutos. A mistura de reação 5 foi adicionada a um frasco contendo 6 N de HCl (800 ml), mantendo a temperatura a 10°C. Após o solvente ter sido removido por evaporação rotatória, a mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. Os sólidos foram isolados por filtração, lavados com 6 N de 10 HCl (70 ml) e acetonitrila (3 x 70 ml) e secos, para fornecer o sal de HCl do intermediário do título como um sólido esbranquiçado (161 g).

b. Preparação de 8-benzil-3-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-2-eno

15 A um frasco de 3 litros, foram adicionados cloridrato de 8-benzil-3-exo-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]octan-3-ol (383,9 g, 1,06 mol), 6 M de HCl (800 ml) e MeTHF (200 ml). O caldo resultante foi aquecido a 70°C por 2,5 horas sob nitrogênio. A mistura de reação foi transferida para um 20 reator de 12 litros e resfriada até 10°C. O frasco de reação foi lavado com MeTHF (1 litro) que foi adicionado ao reator de 12 litros. NaOH (50% do peso em água, 200 ml) foi adicionado, e mais NaOH (50% do peso, 150 ml) foi adicionado em porções até que fosse alcançado o pH de 25 aproximadamente 13. As fases foram separadas, a camada de água foi extraída com MeTHF (1 litro), e as camadas de MeTHF combinadas foram lavadas com salmoura (1 litro). O solvente foi reduzido por evaporação rotatória a 30 a 40°C, gerando o intermediário do título (360 g) como um óleo 30 espesso. EtoH (1,5 litro) foi adicionado, e o volume foi

reduzido até aproximadamente 500 ml e depois ajustado até 18 litro.

**c. Preparação de 3-*endo*-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo [3.2.1]octano**

5 Ao 8-benzil-3-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-2-eno (em EtOH 95%, 400 ml, 0,20 mol), preparado na etapa prévia, foram adicionados 6 M de HCl (45 ml) e depois MeTHF (50 ml). A mistura de reação foi depurada com nitrogênio, aquecida até 40°C, e paládio sobre carbono (10% do peso, 8 g) foi adicionado. O reator foi pressurizado com hidrogênio (3 x 137,89 kPa) e depois hidrogenado a 137,89 kPa a 40°C por 18 horas. A mistura de reação foi filtrada através de Celite, concentrada, lavada com MeTHF (2 x 100 ml), filtrada através de um filtro de vidro áspero, lavada com MeTHF (10 ml) e seca no filtro para fornecer o sal de HCl do intermediário do título como um sólido branco (31 g, isômero único (isômero exo indetectável por HPLC)). Um adicional de 5,2 g de produto foi recuperado do licor-mãe.

20 **d. Preparação de 3-*endo*-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-ol)-fenol**

A um frasco de 500 ml, foram adicionados cloridrato de 3-*endo*-(3-metoxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]octano (115 g, 0,45 mol) e ácido hidrobrônico (48% do peso em água, 100 ml, 0,88 mol). A mistura foi aquecida até 120°C e mantida naquela temperatura por 24 horas com agitação. Mais solução de ácido hidrobrônico (25 ml) foi adicionada, e a mistura de reação foi aquecida com agitação por 6 horas e depois resfriada até 70°C. Acetonitrila (200 ml) foi adicionada, e o caldo resultante foi resfriado até 10°C e depois

filtrado, e o bolo do filtro foi lavado com acetonitrila (50 ml) para gerar o sal de HBr do intermediário do título (99 g, > 99% puro) como um sólido granular branco.

5 **e. Preparação de 2,2,2-trifluor-1-[3-endo-(3-hidroxifenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]etanona**

A uma solução de hidrobrometo de 3-endo-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)-fenol (54,4 g, 0,19 mol), tolueno (210 ml) e trietilamina (40 ml, 0,29 mol), foi adicionado anidrido trifluoracético (54 ml, 0,38 mol) ao longo de 20 minutos. A mistura de reação foi agitada a 40°C por 2 horas. Acetato de etila (370 ml) e salmoura em água (1:1, 265 ml) foram adicionados. A mistura de reação foi agitada por 15 minutos, as fases foram separadas. À camada orgânica, foi adicionado bicarbonato de sódio saturado (300 ml), e a mistura foi agitada vigorosamente de um dia para o outro. As fases foram separadas e a camada orgânica foi lavada com salmoura em água (1:1, 265 ml) seca sobre sulfato de sódio e a maior parte do solvente foi removida por evaporação rotatória. Tolueno (100 ml) foi adicionado, e o solvente removido por evaporação rotatória para fornecer o intermediário do título bruto.

20 **f. Preparação de éster 3-endo-[8-(2,2,2-trifluoracetil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il]fenílico de ácido trifluormetanossulfônico**

25 A um frasco de 500 ml, foram adicionadas a solução de acetato de etila (220 ml) do intermediário da etapa prévia (32,8 g, 0,11 mol) e trietilamina (23 ml, 0,17 mol). A solução foi resfriada até 5°C e cloreto de trifluormetano sulfônico (14 ml, 0,13 mol) foi adicionado gota a gota. 30 Deixou-se que a mistura aquecesse até 25°C, e ela foi

agitada naquela temperatura por 1 hora. Bicarbonato de sódio saturado (200 ml) foi adicionado, as camadas foram separadas, salmoura (150 ml) foi adicionada à camada orgânica, as camadas foram novamente separadas, e o solvente foi removido da camada orgânica para fornecer o intermediário do título bruto.

5 **g. Preparação de 3-endo-[8-(2,2,2-trifluoracetil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il]-benzonitrila**

A um frasco de 100 ml, foram adicionados éster 3-endo-[8-(2,2,2-trifluoracetil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il] fenílico de ácido trifluormetanossulfônico (25,3 g, 58,7 mmol), tris(dibenzilidenoacetona) dipaládio (0) (0,81g, 0,9 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfino) ferroceno (1,01 g, 1,8 mmol) e cianeto de zinco (4,2 g, 35,8 mmol). O frasco foi depurado três vezes com nitrogênio por 5 minutos e depois colocado sob um abrigo a vácuo por 5 minutos. Ao frasco, foram adicionados DMF (150 ml) e água destilada (2,5 ml). A solução foi depurada com nitrogênio com agitação por 10 minutos, aquecida até 120°C e agitada a 120°C sob nitrogênio por 4 horas. Quando a reação estava completada, 20 g de produto de um lote prévio, preparado pelo mesmo procedimento, foram adicionados e agitados por 20 minutos.

20 g de produto de um lote prévio, preparado pelo mesmo procedimento, foram adicionados e agitados por 20 minutos.

A maior do solvente foi removida por destilação, e a solução foi resfriada até 22°C. À solução, foi adicionado acetato de etila (445 ml), e a solução resultante foi filtrada através de Celite. Bicarbonato de sódio (450 ml) foi adicionado, e a solução foi agitada por 15 minutos. As camadas foram separadas, e a camada orgânica foi lavada com salmoura diluída (2 x 95 ml), e filtrada através de sulfato de sódio. O volume foi reduzido até cerca de 50 ml por

remoção de acetato de etila. Álcool isopropílico (150 ml) foi adicionado, e a solução foi agitada a 22°C por 1 hora. Os sólidos foram isolados por filtração e lavados com álcool isopropílico (2 x 25 ml) para fornecer o 5 intermediário do título (33,5 g, 100% puro por HPLC) como um sólido esbranquiçado/marrom claro. Um segundo lote de produto (6,3 g, > 98% puro por HPLC) foi isolado do filtrado.

h. Síntese de 3-endo-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)-10 benzamida

Uma solução de 3-endo-[8-(2,2,2-trifluoracetil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il]-benzonitrila (10 g, 32 mmol) em ácido sulfúrico (96%, 12 ml) foi aquecida até 50°C com agitação e mantida naquela temperatura com agitação por 2 15 horas. A mistura de reação foi resfriada até 22°C e adicionada lentamente a um frasco de 500 ml contendo 5 N de NaOH (90 ml) e metanol (100 ml), que foi resfriado até 10°C. Os precipitados de sal foram filtrados e o filtrado foi agitado a 22°C por 1 hora. A mistura de reação foi 20 concentrada sob pressão reduzida. Ao resíduo foi adicionado MeTHF (150 ml), e a mistura de reação foi agitada a 22°C por 5 minutos. As camadas foram separadas e MeTHF (100 ml) foi adicionado à camada aquosa. As camadas foram separadas e salmoura (150 ml) foi adicionada às camadas orgânicas 25 combinadas. As camadas foram separadas, e a camada orgânica foi seca sobre carbonato de potássio e filtrada, e o solvente foi removido. Uma mistura de EtOH (25 ml) e HCl concentrado (2,6 ml) foi adicionada ao resíduo com agitação, e depois MTBE (25 ml) foi adicionado e a solução 30 foi agitada a 22°C. Os sólidos precipitados foram filtrados

e secos ao ar para fornecer o sal de HCl do composto do título (8 g, 97% de pureza por HPLC) como um sólido branco.

**Preparação 3: Síntese de 3-endo-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

5        a. **Preparação de 8-benzil-8-azabiciclo[3.2.1]oct-2-en-3-il éster de ácido triflúor-metanossulfônico**

A um frasco de 500 ml, foram adicionados cloridrato de 8-benzil-8-azabiciclo[3.2.1]octan-3-on (50,4 g, 200 mmol), EtOAc (160 ml) e 4 N de NaOH (50 ml). A mistura de reação 10 foi aquecida até 30°C e agitada naquela temperatura por 1 hora. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi descartada. O total da camada orgânica foi reduzido até aproximadamente 40 ml por evaporação rotatória e THF (270 ml) foi adicionado.

15        A solução resultante foi adicionada a um frasco de 1 litro e resfriada até -20°C. Uma solução de NaHMDS (1 M em THF, 230 ml, 230 mmol) foi adicionada ao frasco ao longo de 15 minutos. A mistura de reação foi agitada a -20 ± 5°C por 1 hora. *N*-fenil-bis(trifluormetanossulfonimida) (82,2 g, 200 mmol) foi adicionada à mistura de reação em porções ao longo de 5 minutos, e a mistura foi agitada a -20°C até -10°C por 1 hora. À mistura de reação, foi adicionado 1 N de NaOH (200 ml), e deixou-se que a mistura fosse aquecida até 22°C com agitação. O solvente foi parcialmente removido por evaporação rotatória a 30°C até um total de 450 ml. À mistura de reação restante, foram adicionados EtOAc (300 ml) e heptano (150 ml). A mistura foi agitada a 22°C por 5 minutos. As camadas foram separadas, e a camada aquosa foi descartada. A camada orgânica foi lavada com 1 N de NaOH (30 x 450 ml). As camadas aquosas foram descartadas. A camada

orgânica foi concentrada por evaporação rotatória para fornecer o intermediário do título (77 g, >96% de pureza pelo Método de HPLC 1).

5       <sup>1</sup>H RNM (*d*<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): δ (ppm) 7,25-7,35 (m, 5H),  
 6,05 (d, *J* = 5,2, 1H), 3,64 (q, *J* = 13,2, 2H), 3,40-3,44  
 (m, 2H), 2,77 (d, *J* = 16,4, 1H), 1,79-2,09 (m, 5H), 1,52-  
 1,59 (m, 1H).

10       **b. Preparação de 3-(8-benzil-8-azabiciclo[3.2.1]oct-2-en-3-il)benzamida**

15       Ao produto bruto da etapa prévia, foi adicionado THF (420 ml), e a solução foi depurada com nitrogênio por 5 minutos. A um frasco de 2 litros, foram adicionados ácido 3-carbamoilfenil borônico (98%, 33,0 g, 200 mmol), acetato de paládio (II) (98%, 0,46 g, 2 mmol), 1,1'-  
 15       bis(difenilfosfino)ferroceno (97%, 1,1 g, 2 mmol) e fluoreto de potássio (34,9 g, 600 mmol), seguidos pela solução em THF de 8-benzil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-2-en-3-il éster ácido triflúor-metanossulfônico. A mistura resultante foi depurada com nitrogênio por 5 minutos, aquecida até o refluxo (67°C) sob nitrogênio e agitada por 2 horas. A mistura de reação foi resfriada até 30°C, e depois EtOAc (500 ml) e 1 N de NaOH (500 ml) foram adicionados, e a mistura foi agitada a 22°C por 10 minutos. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi descartada. A camada orgânica foi lavada com uma mistura de salmoura (250 ml) e água (250 ml) e agitada por 5 minutos. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi descartada. A camada orgânica foi brevemente seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada, e o solvente foi parcialmente removido. O 30       produto se precipitou como sólidos amarelo claros durante a

remoção do solvente. O caldo resultante (cerca de 200 ml) foi filtrado, e os sólidos foram lavados com EtOAc gelado (0°C, 100 ml) e secos sob alto vácuo a 25°C para fornecer o intermediário do título (42,5 g) como um sólido amarelo

5 claro.

O licor-mãe e as lavagens acima foram combinados e concentrados, e o caldo resultante (cerca de 100 ml) foi agitado a 5°C por 30 minutos e filtrado. Os sólidos filtrados foram lavados com EtOAc gelado (0°C, 30 ml) e secos sob alto vácuo para fornecer um segundo lote do intermediário do título (7 g, rendimento combinado de 78%, > 98,5% puro pelo Método de HPLC 1).

10

(m/z) : [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O, 319,18; encontrado 319,4. <sup>1</sup>H RNM (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm) 7,9 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 6,4, 1H), 7,57 (d, *J* = 6,4, 1H), 7,21-7,42 (m, 6H), 6,38 (d, *J* = 4,4, 1H), 6,13 (s, br, 1H), 5,83 (s, br, 1H), 3,68-3,76 (m, 2H), 3,46-3,51 (m, 2H), 2,92 (d, *J* = 17,2, 1H), 2,18-2,26 (m, 1H), 2,04-2,12 (m, 2H), 1,86-1,92 (m, 1H), 1,58-1,65 (m, 1H).

15

20       c.     Síntese    de    3-*endo*- (8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-  
il)benzamida

A um vaso de hidrogenação de 1 litro, foram adicionados 3-(8-benzil-8-azabiciclo[3.2.1]oct-2-en-3-il)benzamida (40 g, 125 mmol), EtOH (800 ml), 6 M de HCl (42 ml) e água (80 ml), e a mistura foi agitada a 22°C até que a dissolução completa fosse observada. A mistura de reação foi depurada com nitrogênio por 5 minutos enquanto era aquecida até 30°C ao longo de 5 minutos. À mistura, foi adicionado Pd/C 10% do peso (50% em água, 4 g). A mistura

25

30       foi depurada na pressão atmosférica com hidrogênio por 5-10

minutos durante aquecimento. A mistura foi agitada a 50°C sob um fluxo de hidrogênio a < 34,47 kPa (< 0,34 atmosfera) por 5 horas, resultando em uma conversão >99% dos reagentes, de acordo com análise por HPLC. A solução foi 5 resfriada até 30°C e filtrada através de Celite para fornecer uma solução do sal de HCl bruto do composto do título com uma proporção *endo*:*exo* de aproximadamente 93:7 pelo Método de HPLC 2; *Rt endo* = 10,97, *Rt exo* = 12,67. (m/z): [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O, 231,15; encontrado 10 231,2.

A água foi removida do produto bruto por destilação azeotrópica a 30°C em EtOH (aproximadamente 80 ml) para fornecer um caldo que foi aquecido até 60°C até a dissolução completa. A solução foi resfriada até 35°C e 15 foram adicionados cristais de semeadura do produto (0,05 g) (os cristais de semeadura foram preparados de acordo com o processo descrito na Preparação 2). O caldo resultante foi agitado a 22°C por 30 minutos, MTBE (120 ml) foi adicionado lentamente, e o caldo foi agitado a 22°C por 4 horas, e 20 depois a 0°C por 1 hora. Os sólidos resultantes foram filtrados, lavados com EtOH gelado e secos sob alto vácuo para fornecer o sal de HCl do composto do título (24,5 g) como um pó branco (75% de rendimento, >98,5% de pureza < 0,4% de isômero *exo* pelo Método de HPLC 3, *Rt endo* = 8,67, 25 *Rt exo* = 9,43).

(m/z): [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O 231,15; encontrado 231,2. <sup>1</sup>H RNM (*d*<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): δ (ppm) 9,13 (s, br, 1H), 9,03 (s, br, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,58 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,40 (t, *J* = 30 7,6, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,17-3,23 (m, 1H), 2,39-2,46 (m,

2H), 2,19-2,24 (m, 2H), 1,86-1,89 (m, 2H), 1,59-1,63 (m, 2H).

Exemplo 1A: Síntese de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil) 5 amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida

a. Preparação de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico

A um frasco de 100 ml, foram adicionados aduto de bissulfito de benzil éster de ácido N-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)-carbâmico (3,94 g, 1 mmol) e MeTHF (35 ml), seguidos por água (25 ml). O caldo resultante foi agitado em temperatura ambiente por 5 minutos e 1 M de NaOH (8 ml) foi adicionado. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 45 minutos. As camadas foram separadas, e o total da camada orgânica foi reduzido até aproximadamente 8 ml para fornecer o intermediário do título bruto.

b. Preparação de benzil éster de ácido 2-[3-endo-(3-carbamoilfenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]-etil}

20 ciclohexilmetil-carbâmico

Ao produto da etapa prévia, foi adicionado DMF (15 ml), seguido por cloridrato de 3-endo-(8-azabiciclo[3.2.1]oct-3-il)-benzamida (2,67 g, 1 mmol) e depois DMF (10 ml). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 30 minutos, resfriada até 10°C, e depois foi adicionado triacetoxiborohidreto de sódio (4,25 g, 2 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 90 minutos e depois resfriada até 10°C. Acetato de isopropila (100 ml) foi adicionado, seguido por 1 M de NaOH (50 ml). A mistura foi agitada por 15 minutos, e as fases

foram separadas. A camada orgânica foi lavada com salmoura em água (1:1, 2 x 50 ml), e o total da camada orgânica foi reduzido até aproximadamente 10 ml para fornecer o intermediário do título bruto.

5       c. Preparação de 3-endo-{8-[2-(ciclohexilmetilamino)etil]-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il}benzamida

Ao produto da etapa prévia, foram adicionados EtOH (30 ml) e HCl concentrado (1,5 ml). A solução foi depurada com nitrogênio, paládio sobre carbono 10% (470 mg) foi adicionado, e a mistura foi depurada com nitrogênio por 5 minutos, e depois hidrogenada a 206,84 kPa de um dia para o outro. Após depuração com nitrogênio por 2 minutos, a solução foi filtrada através de Celite, e o solvente foi removido até aproximadamente 10 ml. Acetato de isopropila (40 ml) e 1 M de NaOH (20 ml) foram adicionados. As camadas foram separadas e a camada orgânica foi lavada com salmoura (20 ml), as fases foram separadas e o solvente orgânico removido até 5-10 ml. Acetato de isopropila (20 ml) foi adicionado e o volume reduzido até aproximadamente 8 ml, ao qual acetato de isopropila (20 ml) foi adicionado. O caldo resultante foi agitado em temperatura ambiente por 2 horas. O produto foi isolado por filtração, o frasco de reação e o bolo do filtro foram lavados com acetato de isopropila (10 ml) para gerar o intermediário do título (2,4 g, 98% puro) 25 como um sólido esbranquiçado.

d. Preparação de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (forma de hidrato)

A um frasco de 500 ml, foram adicionados 3-endo-{8-[2-(ciclohexilmetilamino)etil]-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il}

benzamida (31 g, 83,9 mmol) e DMF (150 ml). A mistura foi agitada por 10 minutos, e depois foram adicionados hexafluorfosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)-fosfônio (56,8 g, 109 mmol) e (4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carboxilato de lítio (15,6 g, 92,3 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 horas. Acetato de etila (600 ml) e 0,5 M de NaOH (300 ml) foram adicionados, e as fases foram separadas. A camada orgânica continha {2-[3-(3-carbamoil-fenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]etil}ciclohexilmetyl-amida de ácido (S)-2,2-dimetil-[1,3]dioxolano-4-carboxílico bruta (aproximadamente 84 mmol), que não foi isolada.

A camada orgânica foi lavada com salmoura em água (1:1, 2 x 300 ml) e as fases foram separadas. À camada orgânica, foram adicionados 2 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (42 ml), e a mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. Acetonitrila (300 ml) foi adicionada, e o caldo resultante foi agitado por 2 horas. O produto foi isolado por filtração, o bolo do filtro foi lavado com acetonitrila (200 ml), seco ao ar por 2 horas e depois sob vácuo em temperatura ambiente por 20 horas para fornecer o composto do título (40 g, 97% puro por HPLC) como um pó branco.

e. Síntese de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida

A um frasco de 100 ml, foi adicionada a forma de hidrato sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (2 g) e MeOH (40 ml). O caldo resultante foi

aquecido até 65°C sob nitrogênio por 20 minutos, resultando em dissolução completa. A solução foi resfriada até a temperatura ambiente com agitação. Cerca de 20 ml de solvente foram removidos sob ligeiramente pressão reduzida, 5 e o caldo resultante agitado em temperatura ambiente de um dia para o outro. O produto foi isolado por filtração, e o frasco e o bolo do filtro foram lavados com acetonitrila (2 x 5 ml). O bolo do filtro foi seco ao ar por 2 horas e depois sob vácuo em temperatura ambiente de um dia para o 10 outro para fornecer o composto do título (1,71 g, > 99% puro por HPLC, aproximadamente 85% de rendimento) como um pó branco.

Uma amostra preparada de acordo com o procedimento acima foi caracterizada por  $^1\text{H}$  RNM (400 MHz, DMSO  $d_6$ ):  $\delta$  15 (ppm) 9,08 & 8,94 (dois conjuntos de brs, 1H), 7,99-8,04 (m, 2H), 7,74-7,76 (m, 1H), 7,68-7,70 (m, 1H), 7,41-7,45 (m, 2H), 4,81, 5,00 e 5,30 (três conjuntos de brs, 2H), 4,34 (m deformado, 1H), 4,00 & 4,05 (m deformado, 2H), 3,01-3,25 e 3,47-3,55 e 3,75-3,82 (três conjuntos de m, 20 10H), 2,50-2,55 (m, 2H), 1,99 (m deformado, 2H), 1,56-1,70 (m, 8H), 1,15-1,19 (m, 3H), 0,89-0,99 (m, 2H).

**Exemplo 1B: Síntese de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

25 a. Preparação de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida

Uma mistura de 3-endo-{8-[2-(ciclohexilmethylamino) 30 etil]-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il}benzamida (100 g, 270,6 mmol) e DMF (480 ml) foi agitada por 10 minutos e depois

refrescada a 0°C. Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxytris(pirrolidino)fosfônio (183 g, 352 mmol) e lítio (4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carboxilato (49,3 g, 324 mmol) foram adicionados em uma porção a 0°C. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 6 horas. Acetato de isopropila (2,0 l) e 1 M de NaOH (1,0 l) foram adicionados, a mistura de reação foi agitada por 15 minutos, e as fases foram separadas. A camada orgânica foi lavada com salmoura em água (1:1, 2 x 1,0 litro) e as fases foram separadas. A camada orgânica foi reduzida até um quarto do volume (aproximadamente 500 ml), acetonitrila (500 ml) foi adicionada, e a mistura de reação foi agitada até homogênea, para fornecer uma solução de intermediário 2-[3-*endo*-(3-carbamoil-fenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]-15 etil-ciclohexilmetil-amida de ácido (S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carboxílico em acetato de isopropila e acetonitrila.

Uma alíquota da solução de intermediário acima (3,03 g, 6,09 mmol) em acetato de isopropila/acetonitrila (22,5 ml) foi combinada com 2,0 M de ácido sulfúrico em água (3,68 ml) e mantida a 25°C por 20 horas, e depois mantida a 10°C com agitação por 5 horas. A solução da reação foi filtrada, e o bolo do filtro foi lavado com acetonitrila (25 ml) e seco, para gerar o sal de grau intermediário de sulfato do composto do título (2,91 g, 99,4% de pureza por HPLC) como um sólido branco, predominantemente na forma de hidrato cristalino.

b. Síntese de sulfato cristalino de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-30 aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida

Uma mistura do grau intermediário do sulfato de 3-  
 endo- (8-2- [ciclohexilmetil- ((S) -2,3-diidroxi-propionil) -  
 amino] -etil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il) -benzamida (154,0  
 g, 277,1 mmol) preparado como na etapa prévia e metanol/10%  
 5 de água (616 ml) foi aquecida a 65°C ao longo de 45 minutos  
 com agitação. A mistura de reação foi resfriada até 55°C,  
 foram adicionados cristais de semeadura do produto do  
 título (120 mg), a mistura de reação foi agitada a 55°C por  
 1 hora, e a temperatura foi reduzida até 20°C na taxa de  
 10 10°C/h, e depois mantida por 8 horas. A mistura de reação  
 foi resfriada até 5°C, mantida por 30 minutos, e filtrada.  
 O bolo do filtro foi lavado com metanol (2 x 25 ml) e seco  
 de um dia para o outro sob alto vácuo para gerar o composto  
 do título (126,3 g, 99,9% de pureza).

15 **Exemplo 2: Recristalização de sulfato de 3-endo- (8-{2-  
 [ciclohexilmetil- ((S) -2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-  
 aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (forma de hidrato)**

O sulfato do Composto 1 (forma de hidrato) (920 mg)  
 foi suspenso em acetonitrila (5 ml) e aquecido até 65°C.  
 20 Água (2,4 ml) foi então adicionada gota a gota até que a  
 dissolução completa fosse obtida. A solução resultante foi  
 resfriada até temperatura ambiente ao longo de 20 minutos.  
 A nucleação foi observada por volta de 35°C. Os sólidos  
 foram isolados por filtração a vácuo, lavados com  
 25 acetonitrila (5 ml) e secos para fornecer o composto do  
 título.

**Exemplo 3: Cristalização de sulfato de 3-endo- (8-{2-  
 [ciclohexilmetil- ((S) -2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-  
 aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

30 O sulfato do Composto 1 (forma de hidrato) (50 mg) foi

disperso em uma mistura solvente de água (10%) e metanol (90%) (0,83 ml) e aquecido até 60°C com agitação. Deixou-se que a solução resultante resfriasse até a temperatura ambiente ao longo de 2 horas. Os sólidos resultantes foram 5 isolados por filtração a vácuo para fornecer o composto do título (8 mg).

**Exemplo 4: Cristalização de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

10 O sulfato do Composto 1 (forma de hidrato) (42 mg) foi disperso em uma mistura solvente de água (25%) e metanol (75%) (0,42 ml) e aquecido até 60°C com agitação. Deixou-se que a solução resultante resfriasse até a temperatura ambiente. O volume foi reduzido por 50% por evaporação 15 rotatória, e a solução foi deixada em temperatura ambiente de um dia para o outro. Os sólidos resultantes foram isolados por filtração a vácuo para fornecer o composto do título (8 mg).

**Exemplo 5: Cristalização de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

O Composto 1 (11 mg) foi dissolvido em uma mistura solvente de tolueno (22%) e acetonitrila (78%) (0,2 ml). Acetonitrila (0,15 ml) foi adicionada, seguida por 0,04 M 25 de ácido sulfúrico em acetonitrila (0,59 ml). Formou-se um precipitado sólido mediante a adição de ácido. A mistura de reação foi deixada em temperatura ambiente por 12 horas. Os sólidos resultantes foram isolados por filtração para fornecer o composto do título.

30 **Exemplo 6: Cristalização de sulfato de 3-endo-(8-{2-**

[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida

O Composto 1 (38 mg) foi dissolvido em diclorometano (0,5 ml). À solução, foi adicionado 0,04 M de ácido sulfúrico em acetonitrila (1,91 ml). Formou-se um precipitado sólido mediante a adição de ácido. A mistura de reação foi deixada em temperatura ambiente por 12 horas. Os sólidos resultantes foram isolados por filtração para fornecer o composto do título.

10       **Exemplo 7: Cristalização de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida**

O Composto 1 (22 mg) foi dissolvido em uma mistura solvente de tolueno (23%) e acetonitrila (77%) (0,41 ml). À solução, foi adicionado 0,04 M de ácido sulfúrico em acetonitrila (1,20 ml). Formou-se um precipitado sólido mediante a adição de ácido. Água (0,16 ml) foi adicionada à mistura de reação, dissolvendo o precipitado. A nucleação foi observada após 2 horas. Os sólidos resultantes foram isolados por filtração a vácuo para fornecer o composto do título.

15       **Exemplo 8: Cristalização de sulfato de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (forma de hidrato)**

20       O sulfato cristalino do Composto 1 (7,1 g) foi dissolvido em uma mistura solvente de água (42 ml) e acetonitrila (25 ml). A solução foi liofilizada para produzir um sal amorfó de sulfato. O sal amorfó (6,6 g) foi disperso em uma mistura solvente de acetonitrila (75%) e água (25%) (34,6 ml) e aquecido até 65°C por 10 minutos com

agitação, e deixou-se que resfriasse até que fosse alcançada a temperatura ambiente. Após 12 horas, os sólidos resultantes foram isolados por filtração a vácuo para fornecer o composto do título (5,4 g).

5       **Exemplos 9-17: Propriedades das formas de sal da invenção**

Amostras do sal de sulfato cristalino de 3-endo-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida (composto 1) preparadas como no Exemplo 1A e do hidrato cristalino do sal de sulfato de composto 1, preparado como no Exemplo 2, foram analisadas por difração de pó com raios X (XRPD), calorimetria de varredura diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia infravermelha (IR) 15 e cromatografia iônica.

**Exemplo 10: Difração de pó com raios X**

Os padrões de difração de pó com raios X das Figuras 1 e 4 foram obtidos com um difratômetro Rigaku usando radiação Cu K $\alpha$  (30,0 kV, 15,0 mA). A análise foi realizada 20 com o goniômetro executado em modo de varredura contínua de 3° por minuto, com um tamanho de etapa de 0,03° sobre uma gama de 2 a 40°. As amostras foram preparadas em suportes de amostras de quartzo como uma camada delgada de material em pó. O instrumento foi calibrado com um padrão de 25 silício.

**Exemplo 11: Análise térmica**

A calorimetria de varredura diferencial (DSC) foi realizada usando um módulo de TA Instruments Modelo Q-100. Os dados foram coletados e analisados usando o software de 30 TA Instruments Thermal Advantage para Q Series™. Uma

amostra de cerca de 1-10 mg foi pesada precisamente em uma bandeja de alumínio com tampa. A amostra foi avaliada usando uma rampa de aquecimento linear de 10°C/min de 5°C até, tipicamente, 265°C. A célula DSC foi depurada com 5 nitrogênio seco durante o uso. Traçados de DSC representativos para as amostras do sal de sulfato cristalino e do hidrato cristalino de um sal de sulfato de composto 1 são mostrados nas Figuras 2 e 5, respectivamente.

10 A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada usando um módulo de TA Instruments Modelo Q-500. Os dados foram coletados e analisados usando o software de TA Instruments Thermal Advantage para Q Series™. Uma amostra pesando cerca de 1-5 mg foi colocada em uma badeja de alumínio em um berço de platina e avaliada da temperatura ambiente até 300°C com uma taxa de aquecimento linear de 10°C/min. As câmaras de equilíbrio e da fornalha foram depuradas com nitrogênio durante o uso. Traçados de TGA representativos para as amostras de um sal de sulfato cristalino e de um 15 hidrato cristalino de um sal de sulfato de composto 1 também são mostrados nas Figuras 2 e 5, respectivamente.

20

**Exemplo 12: Estimativa de Absorção dinâmica de umidade**

A avaliação da absorção dinâmica de umidade (DMS) foi realizada a 25°C usando um sistema de VTI SGA-100 com 25 micro-equilíbrio atmosférico (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Foi usado um tamanho de amostra de aproximadamente 5-10 mg, e a umidade foi ajustada no valor ambiente no início da análise. Uma análise de DMS típica consistia em três varreduras: umidade relativa (RH) ambiente até 2%, 2% 30 de RH até 90% de RH, 90% de RH até 5% de RH em uma taxa de

varredura de 5% de RH/etapa. A massa foi medida a cada dois minutos, e a RH era alterada para o valor seguinte ( $\pm$  5% de RH) quando a massa da amostra era estável dentro de 0,02% para 5 pontos consecutivos. Traçados de DMS representativos para as amostras de um sal de sulfato cristalino e de um hidrato cristalino de um sal de sulfato de composto 1 são mostrados nas Figuras 3 e 6, respectivamente.

**Exemplo 13: Análise infravermelha**

O espectro de absorção infravermelha (IR) foi determinado ao longo da faixa de freqüência de 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  usando um espectrômetro Avatar 360 FT-IR equipado com um módulo de espectroscopia por refletância difusa no infravermelho com transformada de Fourier (DRIFTS). Um espectro de absorção IR representativo para uma amostra de um sal de sulfato cristalino da invenção teve bandas de absorção significativas a  $430 \pm 1$ ,  $590 \pm 1$ ,  $639 \pm 1$ ,  $705 \pm 1$ ,  $867 \pm 1$ ,  $1.036 \pm 1$ ,  $1.053 \pm 1$ ,  $1.105 \pm 1$ ,  $1.171 \pm 1$ ,  $1.231 \pm 1$ ,  $1.277 \pm 1$ ,  $1.375 \pm 1$ ,  $1.391 \pm 1$ ,  $1.452 \pm 1$ ,  $1.476 \pm 1$ ,  $1.553 \pm 1$ ,  $1.596 \pm 1$ ,  $1.639 \pm 1$ ,  $1.664 \pm 1$ ,  $2.852 \pm 1$ ,  $2.907 \pm 1$ ,  $2.928 \pm 1$ ,  $2.967 \pm 1$ ,  $3.168 \pm 1$  e  $3.357 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ .

**Exemplo 14: Análise de estrutura cristal por difração de raios X**

Um pedaço do cristal do sal de sulfato do Composto 1 com as dimensões de  $0,43 \times 0,05 \times 0,031 \text{ mm}$  foi montado em uma fibra de vidro. Os dados da estrutura cristal por difração de raios X foram obtidos usando um detector de área de raios X Bruker SMART 6K CCD com um diâmetro de janela de 13,5 cm, controlado pelo software SMART versão 5.630 (Bruker, 2003) usando radiação Cu K $\alpha$ . A distância da

amostra até o detector era de 5,039 cm. Os dados foram coletados em uma temperatura de  $-153 \pm 1^\circ\text{C}$ , e foram analisados usando o software SHELXS versão 6.14 (Bruker, 2003). Os seguintes parâmetros de rede foram derivados: a 5 célula unitária é ortorrômbica com dimensões  $a = 6,8239 \text{ \AA}$ ,  $b = 16,2275 \text{ \AA}$ ,  $c = 24,2021 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ; volume celular (V) de  $2680,0 \text{ \AA}^3$ ; densidade calculada é de  $1,38 \text{ g/cm}^3$ ; grupo espacial é  $\text{P}2_1\text{2}_1\text{2}_1$ (#19); os picos de difração de pó com raios X previstos a partir das posições atômicas 10 derivadas de acordo com o software Mercury 1.4 foram avaliados por inspeção visual como estando perfeitamente de acordo com os resultados experimentais da Figura 1.

**Exemplo 15: Avaliação da estabilidade em estado sólido**

Amostras do sal de sulfato da invenção foram 15 armazenadas em múltiplos frascos de vidro abertos a  $20^\circ\text{C}$  e 60% de umidade relativa (RH) e a  $40^\circ\text{C}$  e 75% de RH. Em intervalos específicos, o conteúdo de um frasco representativo foi removido e analisado por DSC, TGA, PXRD, e por HPLC quanto à pureza química. Após 4 semanas de 20 armazenamento, não havia alteração detectável nos termogramas de DSC ou TGA, nem no padrão de XRPD de amostras armazenadas em qualquer uma das condições. A pureza química das amostras armazenadas por HPLC ficou inalterada em 99,7%.

25 **Exemplo 16: Determinação do teor de contra-íon**

Uma amostra do sal de sulfato da invenção foi analisada por cromatografia iônica de sulfato usando um sistema de cromatografia iônica Dionex ICS-2000 equipado com um supressor de ânion auto-regenerador, detector de 30 condutividade, coluna de troca aniônica analítica IonPac

AS11-HC e coluna de guarda IonPac AG11-HC. O teor de sulfato da amostra foi determinado como sendo de 17,1%, o que pode ser comparado com um teor de sulfato teórico de 17,6% para um equivalente molar de íon sulfato por mole de composto parente.

**Exemplo 17: Determinação do teor de água do hidrato**

Uma amostra do hidrato da invenção foi analisada por TGA acoplada à análise IR do material vaporizado durante perda de peso inicial. O traçado de TGA mostra uma perda de peso de 3,2% abaixo de 100°C, que pode ser comparada com uma perda de peso teórica de 3,1% para um monoidrato do sulfato do Composto 1. O espectro IR do material vaporizado era consistente com o espectro IR de referência da água.

**Ensaio 1: Ensaio de ligação de radioligante em receptores opióides humanos  $\mu$ , humanos Delta e de porquinho-da-índia Kappa**

**a. Preparação de membrana**

Células CHO-K1 (Ovário de Hamster Chinês) transfectadas estavelmente com cDNA do receptor opióide humano  $\mu$  ou de receptor kappa de porquinho-da-índia foram cultivadas em meio que consiste em meios Hams-F12 suplementados com FBS 10%, 100 unidades/ml de penicilina - 100  $\mu$ g/ml de estreptomicina e 800  $\mu$ g/ml de Geneticina em uma incubadora de  $CO_2$  5%, umidificada a 37°C. Os níveis de expressão do receptor ( $B_{max}$  aproximadamente 2,0 e aproximadamente 0,414 pmol/mg de proteína, respectivamente) foram determinados usando [ $^3H$ ]-Diprenorfina (atividade específica de aproximadamente 50-55 Ci/mmol) em um ensaio de ligação de radioligante de membrana.

As células foram cultivadas até 80-95% de confluência

(< 25 passagens de subcultura). Para a passagem da linhagem celular, a monocamada de células foi incubada por 5 minutos em temperatura ambiente e coletada por agitação mecânica em 10 ml de PBS suplementado com 5 mM de EDTA. Após a 5 ressuspensão, as células foram transferidas para 40 ml de meio de crescimento fresco para centrifugação por 5 minutos a 1.000 rpm, e ressuspensas em meio de crescimento fresco na proporção de divisão apropriada.

Para a preparação da membrana, as células foram 10 coletadas por agitação mecânica suave com 5 mM de EDTA em PBS, seguida por centrifugação (2.500 g por 5 minutos). Os péletes foram ressuspensos em tampão de ensaio (50 mM de ácido 4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etanossulfônico *N*-(2-hidroxietil)piperazina-*N'*-(ácido 2-etanossulfônico) 15 (HEPES)), pH 7,4, e homogeneizados com um homogeneizador politron no gelo. Os homogeneizados resultantes foram centrifugados (1.200 g por 5 minutos), os péletes descartados e o sobrenadante centrifugado (40.000 g por 20 minutos). Os péletes foram lavados uma vez por ressuspensão 20 em tampão de ensaio, seguido por uma centrifugação adicional (40.000 g por 20 minutos). Os péletes finais foram ressuspensos em tampão de ensaio (1 equivalente de T-225 frasco/1 ml de tampão de ensaio). A concentração de proteína foi determinada usando um kit de ensaio de 25 proteína Bio-Rad Bradford, e as membranas foram armazenadas em alíquotas congeladas a -80°C, enquanto necessário.

Membranas de receptor opióide humano delta (hDOP) foram adquiridas de Perkin Elmer. As  $K_d$  e  $B_{max}$  relatadas para essas membranas determinadas por análises de saturação 30 em ensaios de ligação de radioligante de  $[^3H]$ -Natrindol

foram de 0,14 nM ( $pK_d = 9,85$ ) e 2,2 pmol/mg de proteína, respectivamente. A concentração de proteína foi determinada usando um kit de ensaio de proteína Bio-Rad Bradford. As membranas foram armazenadas em alíquotas congeladas a - 5 80°C, enquanto necessário.

**b. Ensaio de ligação de radioligantes**

Os ensaios de ligação de radioligante foram realizados em uma placa de ensaio de polipropileno de 96 poços Axygen de 1,1 ml, em um volume total de ensaio de 200  $\mu$ l contendo 10 a quantidade apropriada de proteína da membrana (aproximadamente 3, aproximadamente 2 e aproximadamente 20  $\mu$ g para mi, delta e kappa, respectivamente) em tampão de ensaio, suplementado com albumina sérica bovina 0,025% (BSA). Foram feitos estudos de saturação de ligação para 15 determinação dos valores  $K_d$  do radioligante usando  $[^3H]$ -Diprenorfina em 8-12 concentrações diferentes, variando de 0,001 nM - 5 nM. Foram efetuados ensaios de deslocamento para determinação dos valores  $pKi$  dos compostos com  $[^3H]$ -Diprenorfina a 0,5, 1,2 e 0,7 nM para mi, delta e kappa, 20 respectivamente, e onze concentrações de composto, variando de 10 pM - 100  $\mu$ M.

Os dados de ligação foram analisados por análise por regressão não linear com a suíte de programas GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) usando o 25 modelo de 3 parâmetros para competição por um sítio. O mínimo da curva foi fixado ao valor para ligação não específica, determinado na presença de 10  $\mu$ M de naloxona. Os valores  $K_i$  para os compostos de teste foram calculados, em Prism, a partir dos valores de  $IC_{50}$  com o melhor ajuste, 30 e do valor  $K_d$  do radioligante, usando a equação de Cheng-

Prusoff ( $K_i = IC_{50}/(1+([L]/K_d))$ ) em que  $[L]$  = a concentração de  $[^3H]$ -Diprenorfina. Os resultados são expressos como o logaritmo decádico negativo dos valores  $K_i$ ,  $pK_i$ .

Os compostos de teste que possuem um valor  $pK_i$  maior nesses ensaios possuem uma afinidade de ligação maior pelo receptor opióide  $\mu$ , delta ou kappa. O sal de sulfato do Composto 1 exibiu um valor  $pK_i$  de 9,9 no receptor opióide  $\mu$  humano.

**Ensaio 2: Ativação mediada por agonista do receptor opióide  $\mu$  em membranas preparadas por células CHO-K1 que expressam o receptor opióide  $\mu$  humano**

Neste ensaio, os valores da potência e da atividade intrínseca de compostos de teste foram determinados pela medida da quantidade de GTP-Eu ligado presente após 15 ativação do receptor em membranas preparadas por células CHO-K1 que expressam o receptor opióide  $\mu$  humano.

**a. Preparação de membrana do receptor Opióide  $\mu$ :**

Membranas do receptor opióide  $\mu$  humano (hMOP) foram preparadas como descrito acima ou foram adquiridas de 20 Perkin Elmer. As  $pK_d$  e  $B_{max}$  relatadas para as membranas adquiridas determinadas por análises de saturação em um ensaio de ligação de radioligante de  $[^3H]$ -Diprenorfina foram de 10,06 e 2,4 pmol/mg de proteína, respectivamente. A concentração de proteína foi determinada usando um kit de 25 ensaio de proteína Bio-Rad Bradford. As membranas foram armazenadas em alíquotas congeladas a -80°C, enquanto necessário. GTP-Eu e GDP liofilizados foram diluídos até 10  $\mu$ M e 2 mM, respectivamente, em  $H_2O$  destilada duplamente, e depois misturados, e ficaram em repouso em temperatura 30 ambiente por 30 minutos, antes da transferência para

amostras de alíquotas individuais para armazenamento a - 20°C.

**b. Ensaio de troca de nucleotídeo GTP-Eu  $\mu$  de humano**

Foram feitos ensaios de troca de nucleotídeo GTP-Eu usando o kit de ligação de GTP DELPHIA (Perkin/Elmer) em placas de filtro de 96 poços AcroWell de acordo com as especificações do fabricante. As membranas foram preparadas como descrito acima e, antes do início do ensaio, as alíquotas foram diluídas até uma concentração de 200  $\mu$ g/ml em tampão de ensaio (50 mM de HEPES, pH 7,4 a 25°C), depois homogeneizadas por 10 segundos usando um homogeneizador Polytron. Os compostos de teste foram recebidos como 10 mM de soluções de estoque em DMSO, diluídos até 400  $\mu$ M em tampão de ensaio contendo BSA 0,1%, e foram então feitas diluições seriais (1:5) para gerar dez concentrações de composto, variando de 40 pM - 80  $\mu$ M; GDP e GTP-Eu foram diluídos até 4  $\mu$ M e 40 nM, respectivamente, em tampão de ensaio. O ensaio foi realizado em um volume total de 100  $\mu$ l, contendo 5  $\mu$ g de proteína da membrana, composto de teste variando de 10 pM - 20  $\mu$ M, 1  $\mu$ M de GDP e 10 nM de GTP-Eu diluídos em 10 mM de MgCl<sub>2</sub>, 50 mM de NaCl e 0,0125% de BSA, (concentrações finais do ensaio). Uma curva de concentração-resposta DAMGO (Tyr-D-Ala-Gly-(metil)Phe-Gly-ol) (variando de 12,8 pM - 1 mM) foi incluída em cada placa.

As placas de ensaio foram preparadas imediatamente antes do ensaio, após a adição de 25  $\mu$ l de tampão de ensaio, 25  $\mu$ l de composto de teste e 25  $\mu$ l de GDP e GTP-Eu. O ensaio foi iniciado pela adição de 25  $\mu$ l de proteína da membrana e deixou-se incubar por 30 minutos. As placas de

ensaio foram depois filtradas com uma tubulação a vácuo Waters conectada ao aparelho de vácuo regulada para 33,86-40,63 kPa e lavada com solução de lavagem de GTP em temperatura ambiente (2 x 300 ml). Os fundos das placas 5 foram blotted para remover o excesso de líquido. As placas foram então imediatamente lidas para determinar a quantidade de GTP-Eu ligado por medida da fluorescência tempo-resolvida (TRF) em uma leitora de placas Packard Fusion. Veículo: DMSO não excedeu 1% da concentração final 10 do ensaio.

A quantidade de GTP-Eu ligado é proporcional ao grau de ativação dos receptores opióides  $\mu$  pelo composto de teste. A atividade intrínseca (IA), expressa como uma percentagem, foi determinada como a proporção da quantidade 15 de GTP-Eu ligado observada para ativação pelo composto de teste em relação à quantidade observada para ativação por DAMGO, que supostamente é um agonista total (IA=100). O sal de sulfato de composto 1 demonstrou uma atividade intrínseca de -5 neste ensaio. Dessa forma, o presente sal 20 de sulfato demonstrou ser um antagonista.

#### **Ensaio 3: Modelo em rato da eficácia *in vivo***

Neste ensaio, a eficácia dos compostos de teste foi avaliada em um modelo de trânsito gastrintestinal, que avalia a atividade periférica. Este estudo foi aprovado 25 pelo "Institutional Animal Care and Use Committee at Theravance, Inc." e adequado ao "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" publicado pela "National Academy of Sciences" (em 1996).

##### **a. Ensaio de esvaziamento gástrico de ratos**

30 Os compostos de teste foram avaliados no ensaio de

esvaziamento gástrico em ratos para determinar sua habilidade para reverter esvaziamento gástrico retardado induzido por loperamida. Os ratos ficaram em jejum de um dia para o outro, antes da administração dos compostos de teste ou de veículo pela via de administração intravenosa, subcutânea, intramuscular ou oral, em doses que variam de 0,001 a cerca de 30 miligramas/quilograma (mg/kg). A administração do composto de teste foi seguida por administração subcutânea de loperamida em uma dose de 1 mg/kg ou de veículo. Cinco minutos após a administração de loperamida ou veículo, foi administrada uma refeição de carvão, não nutritiva, não absorvível, por meio de engorda oral, e animais tiveram livre acesso à água pelos sessenta minutos de duração do experimento. Os animais foram então submetidos à eutanásia por meio de asfixia com dióxido de carbono, seguida por toracotomia, e o estômago foi cuidadosamente removido. O estômago foi ligado no esfíncter esofágiano inferior e no esfíncter pilórico para evitar esvaziamento adicional durante a remoção de tecido. O peso gástrico foi então determinado após remoção das ligaduras.

**b. Análise de dados e resultados**

Os dados foram analisados usando a suíte de programas GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Foram construídas curvas do percentual de reversão por análise de regressão não linear usando um modelo sigmóide de dose-resposta (inclinação variável), e os valores de ID<sub>50</sub> com o melhor ajuste foram calculados. Os mínimos e máximos da curva foram fixados para valores de controle de loperamida (indicando 0% de reversão) e controles de veículo (indicando 100% de reversão), respectivamente. Os

resultados são expressos como ID<sub>50</sub>, a dose necessária para 50% de reversão dos efeitos de loperamida, em miligramas por quilograma. O sal de sulfato do composto 1, administrado oralmente, exibiu um valor de ID<sub>50</sub> de 0,26 5 mg/kg no modelo de esvaziamento gástrico.

Embora a presente invenção tenha sido descrita com referência a modalidades específicas desta, deve ser entendido por aqueles habilitados na técnica que várias alterações podem ser feitas e que equivalentes podem ser 10 substituídos, sem se afastar do verdadeiro espírito e escopo da invenção. Além disso, podem ser feitas muitas modificações para adaptar uma situação, material, composição de matéria, processo, etapa de processo ou etapas em particular ao objetivo, espírito e escopo da 15 presente invenção. Todas essas modificações visam ser incluídas no escopo das reivindicações em anexo. Adicionalmente, todas as publicações, patentes e documentos de patente aqui citados anteriormente são aqui incorporados por referência em sua totalidade, como se fossem aqui 20 incorporados individualmente por referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Forma de sal cristalino caracterizada pelo fato de ser o sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um solvato desta.

5 2. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é um sal cristalino de sulfato.

10 3. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um padrão de difração de pó com raios X que possui dois ou mais picos de difração em valores de  $2\theta$  selecionados de  $6,58 \pm 0,20$ ,  $7,52 \pm 0,20$ ,  $9,35 \pm 0,20$ ,  $14,69 \pm 0,20$ ,  $16,01 \pm 0,20$ ,  $17,45 \pm 0,20$ ,  $17,99 \pm 0,20$ ,  $18,62 \pm 0,20$ ,  $19,76 \pm 0,20$ ,  $21,11 \pm 0,20$ ,  $22,07 \pm 0,20$ ,  $23,18 \pm 0,20$ ,  $23,74 \pm 0,20$ ,  $24,56 \pm 0,20$ ,  $25,63 \pm 0,20$ ,  $26,45 \pm 0,20$ ,  $27,86 \pm 0,20$ ,  $28,31 \pm 0,20$ ,  $29,54 \pm 0,20$ ,  $30,59 \pm 0,20$ ,  $31,58 \pm 0,20$ ,  $33,89 \pm 0,20$  e  $36,02 \pm 0,20$ .

20 4. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó com raios X compreende dois ou mais picos de difração em valores de  $2\theta$  selecionados de  $14,69 \pm 0,20$ ,  $16,01 \pm 0,20$ ,  $21,11 \pm 0,20$ ,  $22,07 \pm 0,20$  e  $23,18 \pm 0,20$ .

25 5. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um padrão de difração de pó com raios X no qual as posições de pico estão substancialmente de acordo com as posições de pico do 30 padrão mostrado na Figura 1.

6. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um traçado de calorimetria de varredura diferencial registrado em uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico em uma temperatura entre cerca de 190°C e cerca de 205°C.

7. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um traçado de calorimetria de varredura diferencial substancialmente de acordo com aquele mostrado na Figura 2.

8. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é um hidrato de um sal de sulfato.

9. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um padrão de difração de pó com raios X que possui dois ou mais picos de difração em valores de  $2\theta$  selecionados de  $9,41 \pm 0,20$ ,  $9,98 \pm 0,20$ ,  $15,17 \pm 0,20$ ,  $16,70 \pm 0,20$ ,  $18,59 \pm 0,20$ ,  $19,46 \pm 0,20$ ,  $19,91 \pm 0,20$ ,  $20,63 \pm 0,20$ ,  $21,35 \pm 0,20$ ,  $21,89 \pm 0,20$ ,  $23,00 \pm 0,20$ ,  $24,20 \pm 0,20$ ,  $25,40 \pm 0,20$ ,  $26,03 \pm 0,20$ ,  $27,44 \pm 0,20$ ,  $28,46 \pm 0,20$ ,  $29,45 \pm 0,20$ ,  $31,22 \pm 0,20$ ,  $31,82 \pm 0,20$ ,  $33,17 \pm 0,20$ ,  $33,56 \pm 0,20$  e  $36,89 \pm 0,20$ .

10. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó com raios X compreende dois ou mais picos de difração em valores de  $2\theta$  selecionados de  $16,70 \pm 0,20$ ,  $18,59 \pm 0,20$ ,  $19,46 \pm 0,20$ ,  $19,91 \pm 0,20$ ,  $23,00 \pm 0,20$  e

24,20 ± 0,20.

11. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a forma de sal cristalino é caracterizada por um padrão de difração de 5 pó com raios X no qual as posições de pico estão substancialmente de acordo com as posições de pico do padrão mostrado na Figura 4.

12. Forma de sal cristalino, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a forma de 10 sal cristalino é caracterizada por um traçado de calorimetria de varredura diferencial substancialmente de acordo com aquele mostrado na Figura 5.

13. Composição farmacêutica caracterizada por 15 compreender um veículo farmaceuticamente aceitável e a forma de sal cristalino de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

14. Processo para a preparação de um sal cristalino de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3- 20 il)benzamida caracterizado pelo fato de compreender:

(a) o contato de um precursor protegido com 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida, em que os grupos hidróxi são protegidos com ácido sulfúrico para formar uma 25 primeira mistura de reação;

(b) o isolamento de um sal sólido de grau intermediário de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo [3.2.1]oct-3-il)benzamida da primeira mistura de reação;

30 (c) a dispersão do sal sólido de grau intermediário de

sulfato em um diluente que compreende metanol para formar uma segunda mistura de reação; e

(d) o isolamento do sal cristalino de sulfato da segunda mistura de reação.

5 15. Processo, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que o precursor protegido é {2-[3-(3-carbamoil-fenil)-8-azabiciclo[3.2.1]oct-8-il]etil}ciclohexilmetil-amida de ácido (S)-2,2-dimetil-[1,3]dioxolano-4-carboxílico.

10 16. Processo, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o diluente que compreende metanol ainda compreende até cerca de 25% de água.

15 17. Processo, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o diluente que compreende metanol compreende entre cerca de 5% e cerca de 15% de água.

20 18. Processo para a preparação de um sal cristalino de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) o contato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida com ácido sulfúrico para formar uma mistura de reação; e

25 (b) o isolamento do sal cristalino de sulfato da mistura de reação.

19. Processo para a preparação de um sal cristalino de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-

30 il)benzamida caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) a dispersão de um hidrato cristalino do sal de sulfato de 3-*endo*-(8-{2-[ciclohexilmetil-((S)-2,3-diidroxi-propionil)amino]etil}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il) benzamida em um diluente que compreende metanol para formar 5 uma mistura de reação; e

(b) o isolamento do sal cristalino de sulfato da mistura de reação.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o diluente que compreende 10 metanol ainda compreende até 25% de água.

21. Aduto caracterizado pelo fato de ser de bissulfito de éster benzílico de ácido *N*-ciclohexilmetil-(2-oxoetil)- carbâmico.

22. Forma de sal cristalino, de acordo com qualquer 15 uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12, caracterizada por ser usada em terapia.

23. Use da forma de sal cristalino de qualquer das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12, caracterizada por ser na fabricação de um medicamento para 20 o tratamento de uma doença ou condição médica em um mamífero atenuada por tratamento com um antagonista do receptor opióide mu.

24. Uso, de acordo com reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que a doença ou condição é disfunção 25 intestinal ou obstrução total do intestino pós-operatória induzida por opióide.

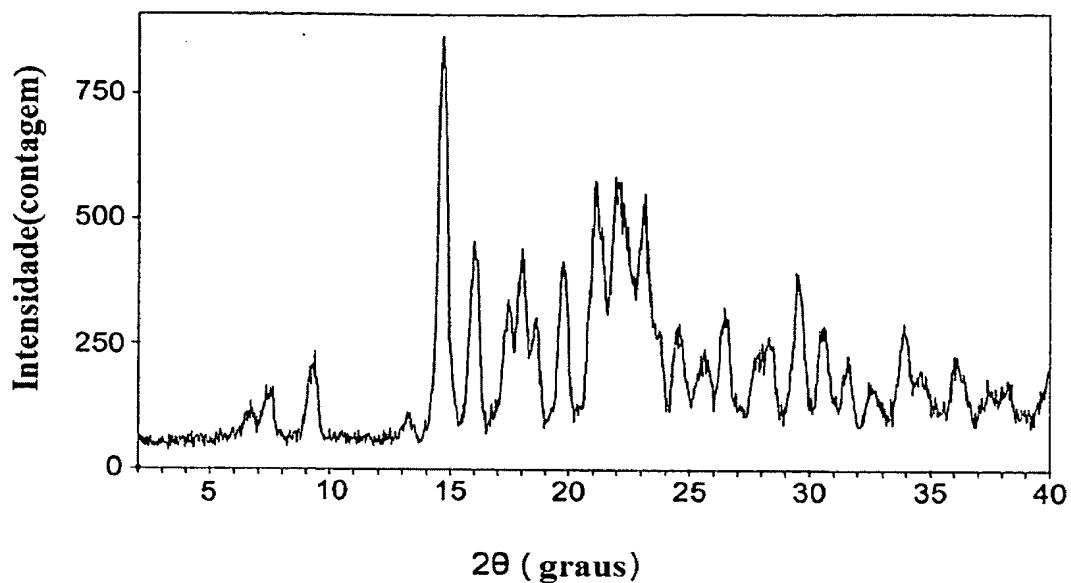
25. Método de tratamento de um mamífero possuindo uma condição médica atenuada por tratamento com um antagonista do receptor opióide mu caracterizado pelo fato de 30 compreender a administração ao mamífero de uma composição

farmacêutica que comprehende um veículo farmaceuticamente aceitável e da forma de sal cristalino de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

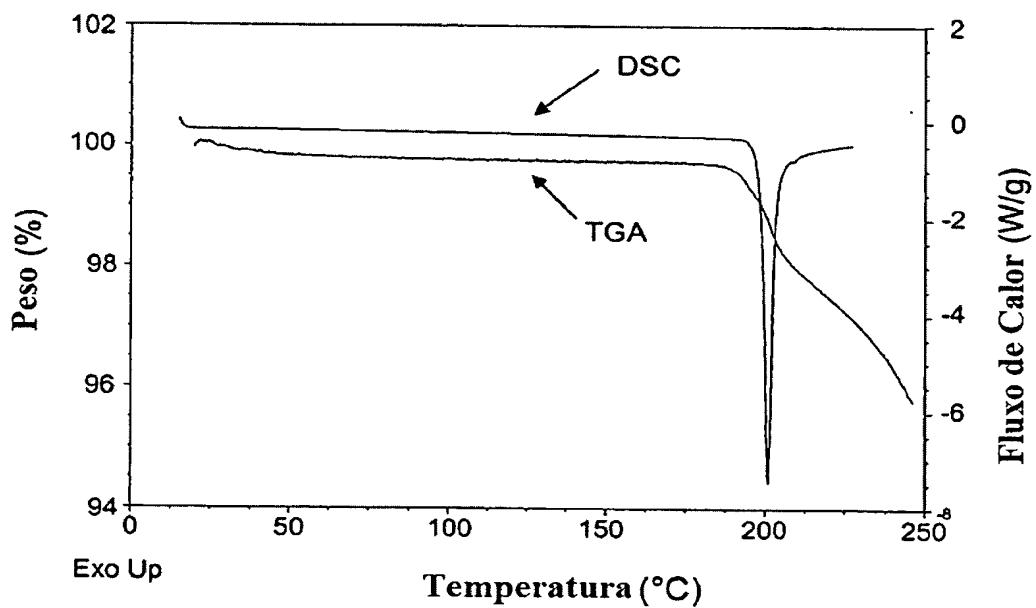
26. Método, de acordo com a reivindicação 25, 5 caracterizado pelo fato de que a condição médica é disfunção intestinal ou obstrução total do intestino pós-operatória induzida por opióide.

27. Método de aumento da motilidade do trato gastrintestinal em um mamífero caracterizado por 10 compreender a administração ao mamífero de uma composição farmacêutica que comprehende um veículo farmaceuticamente aceitável e a Forma de sal cristalino, de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

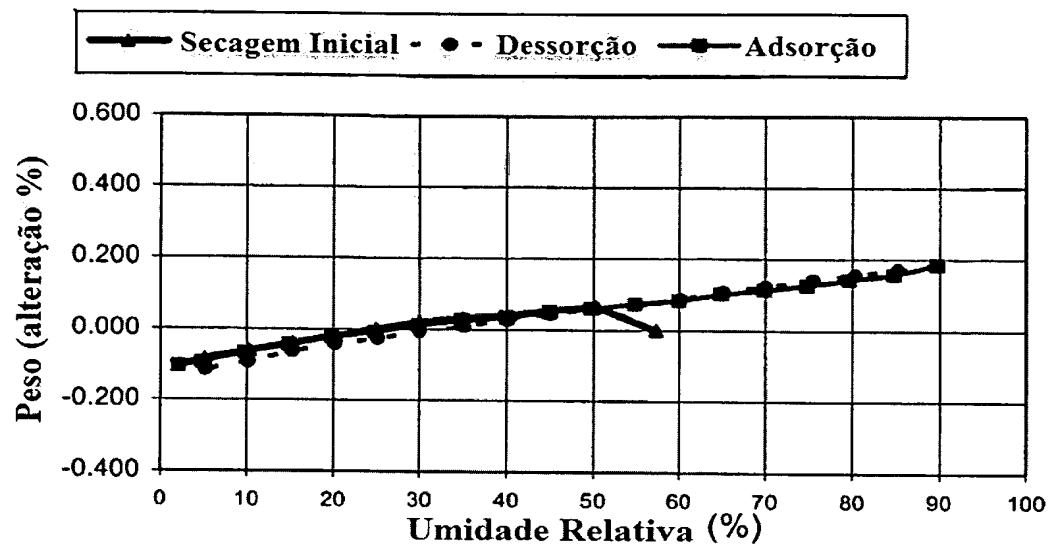
28. Método de antagonizar um receptor opióide mu em um 15 mamífero caracterizado por compreender a administração ao mamífero de uma composição farmacêutica que comprehende um veículo farmaceuticamente aceitável e a Forma de sal cristalino, de qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.



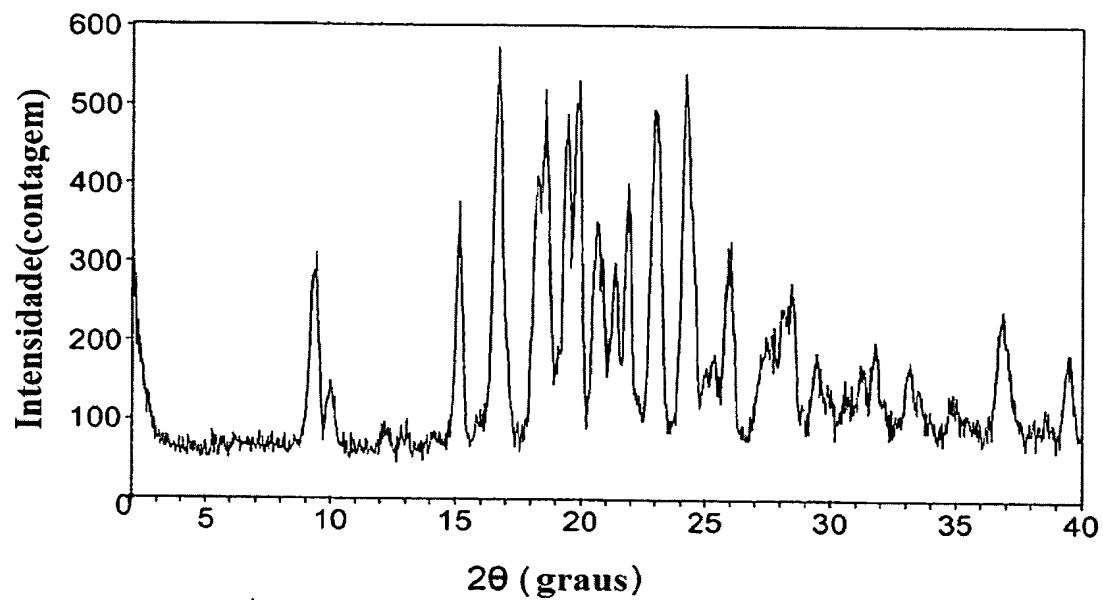
**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**

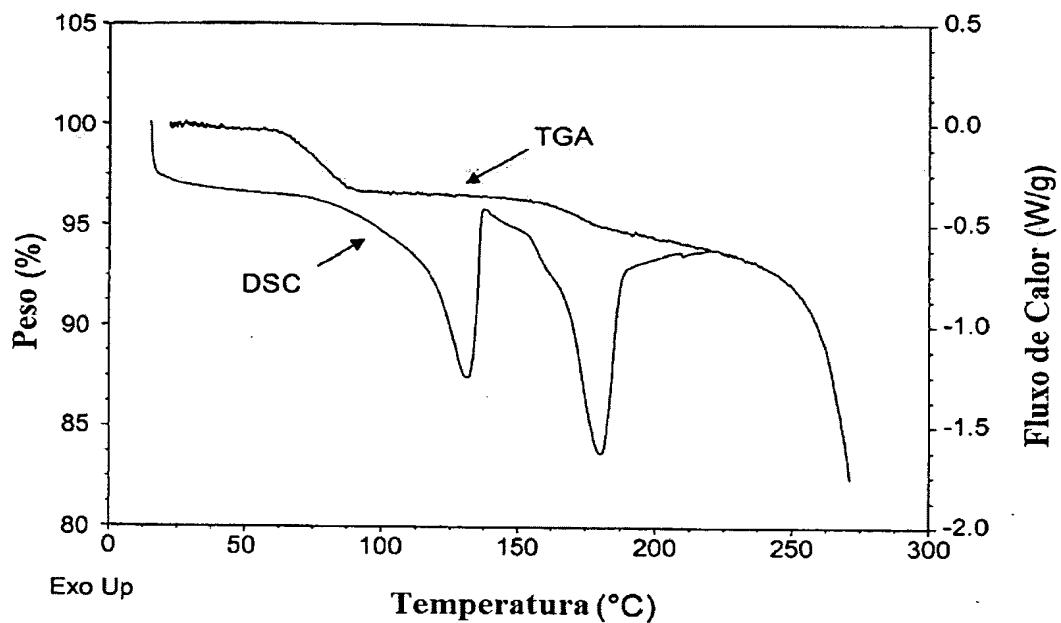


Figura 5

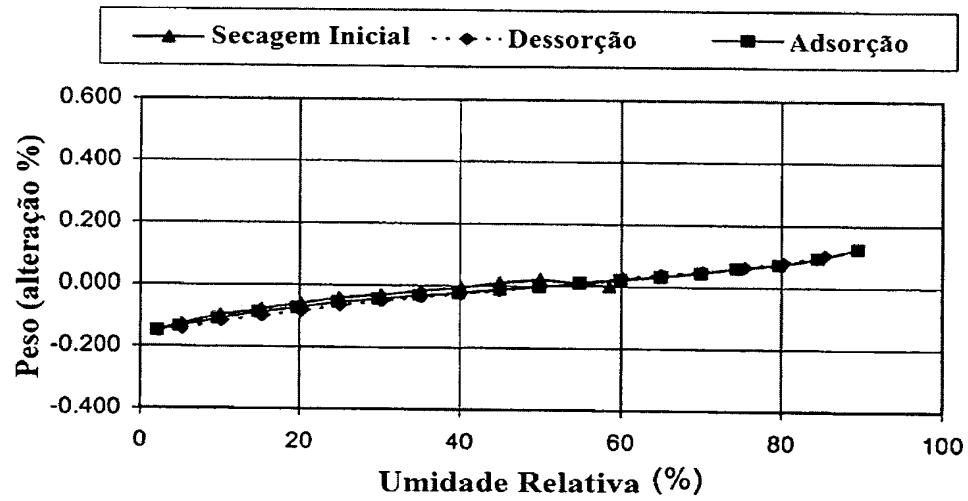


Figura 6

RESUMO**FORMAS CRISTALINAS DE UM COMPOSTO DE 8-AZABICICLO[3.2.1]****OCTANO**

A invenção fornece um sal cristalino de sulfato de 3-  
5 endo- (8-{2-[ciclohexilmetyl-((S)-2,3-diidroxi-propionil)  
amino]ethyl}-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)benzamida ou um  
solvato desta. A invenção também fornece composições  
farmacêuticas que compreendem estas formas de sal  
cristalino, métodos de utilização destas formas de sal  
cristalino para o tratamento de doenças associadas à  
atividade do receptor opióide mu e processos úteis para a  
preparação destas formas de sal cristalino.