

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

(21) **PI 0712405-8 A2**

(22) Data de Depósito: 16/05/2007
(43) Data da Publicação: 16/10/2012
(RPI 2180)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 401/04
A61K 31/4523
A61P 1/00

(54) **Título:** COMPOSTO, USO DO MESMO, E, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA

(30) **Prioridade Unionista:** 18/05/2006 US 60/801577

(73) **Titular(es):** Albireo AB

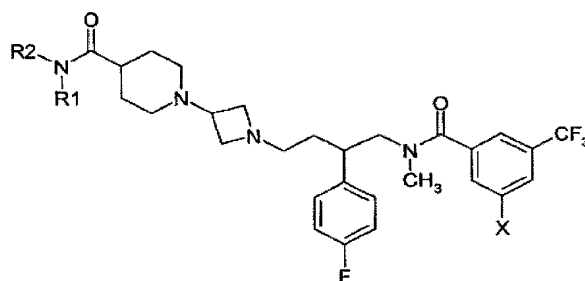
(72) **Inventor(es):** Anders Johansson, Carl-Gustav Sigfridsson, Johan Johansson

(74) **Procurador(es):** Momsen, Leonardos & CIA.

(86) **Pedido Internacional:** PCT SE2007000482 de 16/05/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/136324de 29/11/2007

(57) **Resumo:** COMPOSTO, USO DO MESMO, E, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção diz respeito a novos compostos da fórmula (I) em que R1, R2 e X são como definidos na descrição, assim como sais e enantiômeros destes. A invenção também diz respeito às composições farmacêuticas que compreendam os ditos compostos, e ao uso dos ditos compostos em terapia, por exemplo no tratamento de distúrbios gastrointestinais. A invenção diz respeito ainda aos processos para a preparação dos compostos. Os compostos são antagonistas do receptor de neurocinina (NK).



“COMPOSTO, USO DO MESMO, E, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA”

Campo da invenção

A presente invenção diz respeito a novos compostos da fórmula I, às composições farmacêuticas que compreendem os ditos compostos, e ao uso dos ditos compostos em terapia. A presente invenção diz respeito ainda aos processos para a preparação de compostos da fórmula I.

Fundamentos da invenção

As neurocininas, também conhecidas como as taquicininas, compreendem uma classe de neurotransmissores peptídicos que são encontrados nos sistemas nervosos periférico e central. As três taquicininas principais são Substância P (SP), Neurocinina A (NKA) e Neurocinina B (NKB). Pelo menos três tipos de receptores são conhecidos para as três taquicininas principais. Com base nas suas seletividades relativas que favorecem os agonistas SP, NKA e NKB, os receptores são classificados como receptores de neurocinina 1 (NK₁), neurocinina 2 (NK₂) e neurocinina 3 (NK₃), respectivamente.

Existe uma necessidade quanto a um antagonista do receptor NK oralmente ativo para o tratamento, por exemplo, distúrbios respiratórios, cardiovasculares, neuro, dor, oncologia, inflamatórios e/ou gastrointestinais. De modo a aumentar o índice terapêutico de tal terapia é desejável obter um tal composto que não possua nenhuma toxicidade ou toxicidade mínima assim como sendo seletivo aos ditos receptores de NK. Além disso, é considerado necessário que o dito medicamento tenha propriedades farmacocinéticas e metabólicas favoráveis fornecendo assim um perfil terapêutico e de segurança melhorado tal como propriedades inibidoras de enzima hepática mais baixa.

É bem conhecido que certos compostos podem causar efeitos indesejáveis na repolarização cardíaca no ser humano, observados como um prolongação do intervalo QT em eletrocardiogramas (ECG). Em circunstâncias extremas, esta prolongação do intervalo QT induzida por

medicamento pode levar a um tipo de arritmia cardíaca chamada de Torsades de Pointes (TdP; Vandenberg *et al.* hERG K⁺ channels: friend and foe. Trends Pharmacol Sci 2001; 22: 240-246), levando por fim à fibrilação ventricular e morte súbita. O evento primário nesta síndrome é a inibição do componente rápido da corrente de potássio retificadora retardada (IKr) por estes compostos. Os compostos ligam-se às subunidades alfa que formam abertura da proteína de canal que carrega esta corrente. As subunidades alfa que formam abertura são codificadas pelo gene relacionado com o éter-a-go-go (hERG). Visto que IKr desempenha um papel chave na repolarização do potencial de ação cardíaca, a sua inibição reduz a velocidade da repolarização e isto é manifestado como uma prolongação do intervalo QT. Embora a prolongação do intervalo QT não seja um problema de segurança por si, o mesmo carrega um risco de efeitos adversos cardiovasculares e em uma pequena porcentagem de pessoas o mesmo pode levar ao TdP e degeneração em fibrilação ventricular.

Em particular, é desejável que o antagonista do receptor de NK tenha um equilíbrio adequado de propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas para torná-lo terapeuticamente útil. Além de ter potência suficiente e seletiva, o antagonista do receptor de NK necessita ser equilibrado com respeito às propriedades farmacocinéticas relevantes. Assim, é necessário que o antagonista de NK tenha: a) afinidades suficientemente altas nos receptores NK diferentes, b) propriedades farmacocinéticas (propriedades de absorção, distribuição e eliminação) que torna possível para o medicamento atuar nos receptores NK alvejados principalmente na periferia. Por exemplo, o antagonista do receptor de NK precisa ter estabilidade metabólica suficientemente alta, c) afinidades suficientemente baixas para canais iônicos diferentes, tais como o canal de potássio codificado por hERG de modo a obter um perfil seguro tolerável e d) propriedades inibidoras da enzima hepática (tal como CYP3A4) em um nível baixo para

prevenir interações de medicamento para medicamento.

Além disso, de modo a realçar a eficácia do antagonista do receptor de NK, é benéfico ter um antagonista de NK com um modo competitivo de duração longa de ação no receptor.

5 A EP 0625509, EP 0630887, WO 95/05377, WO 95/12577, WO 95/15961, WO 96/24582, WO 00/02859, WO 00/20003, WO 00/20389, WO 00/25766, WO 00/34243, WO 02/51807 e WO 03/037889 divulgam derivados de piperidinilbutilamida, que são antagonistas de taquicinina.

10 “4-Amino-2-(aryl)-butylbenzamides and Their Conformationally Constrained Analogues. Potent Antagonists of the Human Neurokinin-2 (NK₂) Receptor”, Roderick MacKenzie, A., *et al*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2003), 13, 2211-2215, divulga o composto N-[2-(3,4-diclorofenil)-4-(3-morfolin-4-ilazetidín-1-il)butil]-N-metil-benzamida que foi descoberta possuir propriedades antagonísticas do receptor de NH₂
15 funcional.

A WO 96/05193, WO 97/27185 e EP 0962457 divulgam derivados de azetidínalquil-lactama com atividade antagonista de taquicinina.

20 A EP 0790248 divulga azetidínalquilazapiperidonas e azetidínalquioxapiperidonas, que são ditas serem antagonistas de taquicinina.

A WO 99/01451 e WO 97/25322 divulgam derivados de azetidínalquíl-piperidina reivindicadas serem antagonistas de taquicinina.

25 A EP 0791592 divulga azetidínalquíl-glutarímidas com propriedades antagonísticas de taquicinina.

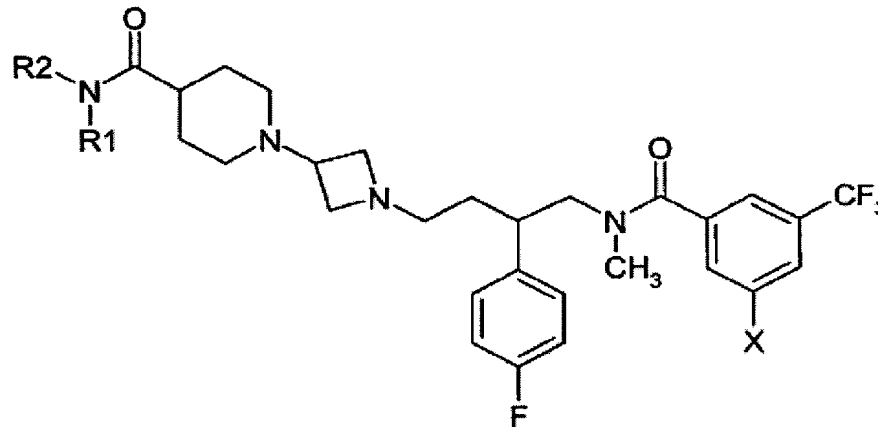
A WO 2004/110344 A2 divulga antagonistas NK_{1,2} duplos e o uso destes.

Um objetivo da presente invenção foi fornecer novos antagonistas de neurocinina úteis em terapia. Um outro objetivo foi fornecer

novos compostos tendo propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas bem equilibradas.

Esboço da invenção

A presente invenção fornece um composto da fórmula geral



(I)

5

em que

R1 e R2 são cada um e independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou R1 e R2 formam um anel de quatro, cinco ou seis membros junto com o nitrogênio da amida, o dito anel contendo opcionalmente um átomo de oxigênio;

10

X é bromo ou cloro;

assim como sais destes farmacêutica e farmacologicamente aceitáveis, e enantiômeros do composto da fórmula I e sais destes.

Em uma forma de realização, R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de morfolina.

15

Em uma forma de realização, R1 e R2, juntamente com o nitrogênio da amida, formam um anel de azetidina.

Em uma forma de realização, R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de pirrolidina.

20

Em uma forma de realização, R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de isoxazolidina.

Em uma forma de realização, R1 e R2, juntos com o nitrogênio

da amida, formam um anel de oxazolidina.

A presente invenção diz respeito a compostos da fórmula I como definido acima assim como ao sais destes. Os sais para o uso em composições farmacêuticas serão sais farmaceuticamente aceitáveis, mas outros sais podem ser úteis na produção dos compostos da fórmula I.

Os compostos da presente invenção são capazes de formar sais com vários ácidos inorgânicos e orgânicos e tais sais também estão dentro do escopo desta invenção. Os exemplos de tais sais de adição de ácido incluem acetato, adipato, ascorbato, benzoato, benzenossulfonato, bissulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, cicloexil sulfamato, etanossulfonato, fumarato, glutamato, glicolato, hemissulfato, 2-hidroxiethylsulfonato, heptanoato, hexanoato, cloridreto, bromidreto, iodidreto, hidroximaleato, lactato, malato, maleato, metanossulfonato, 2-naftalenossulfonato, nitrato, oxalato, palmoato, persulfato, fenilacetato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, quinato, salicilato, estearato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, tartarato, tosilato (p-tolueno-sulfonato), e undecanoato.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser preparados a partir do ácido correspondente de uma maneira convencional. Sais não farmaceuticamente aceitáveis podem ser úteis como intermediários e como tais são um outro aspecto da presente invenção.

Os sais de adição de ácido também podem estar na forma de sais poliméricos tais como sulfonatos poliméricos.

Os sais podem ser formados por meios convencionais, tais como pela reação da forma de base livre do produto com um ou mais equivalentes do ácido apropriado de um solvente ou meio em que o sal é pouco solúvel, ou de um solvente tal como água, que é removido a vácuo ou pela secagem por congelamento ou pela troca dos ânions de um sal existente para um outro ânion em uma resina de troca iônica adequada.

Os compostos da fórmula I têm um centro quiral, e deve ser

entendido que a invenção abrange todos os isômeros e enantiômeros ópticos. Os compostos de acordo com a fórmula (I) podem estar na forma de estereoisômeros únicos, isto é, o enantiômero único (o enantiômero R ou o enantiômero S). Os compostos de acordo com a fórmula (I) também podem ser na forma de uma mistura racêmica, isto é, uma mistura equimolar de enantiômeros.

Os compostos podem existir como uma mistura de isômeros conformacionais. Os compostos desta invenção compreendem isômeros conformacionais tanto em misturas quanto individuais.

10 Formulações farmacêuticas

De acordo com um aspecto da presente invenção é fornecida uma formulação farmacêutica que compreende um composto da fórmula I, como um enantiômero, um racemato ou uma mistura destes como uma base livre ou sais farmacêuticamente aceitáveis destes, para o uso na prevenção e/ou tratamento de distúrbios respiratórios, cardiovasculares, neuro, dor, oncologia, inflamatórios e/ou gastrointestinais.

As composições farmacêuticas desta invenção podem ser administradas de uma maneira padrão para a condição de doença que é desejada tratar, por exemplo pela administração oral, tópica, parenteral, bucal, nasal, vaginal ou retal ou pela inalação ou insuflação. Para este propósito os compostos desta invenção podem ser formulados pelos meios conhecidos na técnica na forma, por exemplo de, tabletes, pílula, cápsulas, soluções aquosas ou oleosas, suspensões, emulsões, cremes, unguentos, géis, pulverizações nasais, supositórios, pós finamente divididos ou aerossóis ou nebulizadores para inalação, e para o uso parenteral (incluindo intravenoso, intramuscular ou infusão) soluções ou suspensões aquosas ou oleosas estéreis ou emulsões estéreis.

Além dos compostos da presente invenção a composição farmacêutica desta invenção também pode conter, ou ser co-administrada

(simultânea ou seqüencialmente) com, um ou mais agentes farmacológicos de valor no tratamento de uma ou mais condições de doença aqui aludidas.

As composições farmacêuticas desta invenção serão normalmente administradas aos seres humanos em uma dose diária de um composto da fórmula I de 0,01 a 25 mg/kg de peso corporal. Alternativamente, uma dose diária do composto da fórmula I de 0,1 a 5 mg/kg de peso corporal é administrado. Esta dose diária pode ser dada em doses divididas como necessário, a quantidade precisa do composto administrado e a via de administração dependendo do peso, idade e sexo do paciente sendo tratado e da condição de doença particular que é tratada de acordo com os princípios conhecidos na técnica.

Tipicamente, as formas de dosagem unitárias conterão cerca de 1 mg a 500 mg de um composto desta invenção. Por exemplo um tablete ou cápsula para administração oral podem convenientemente conter até 250 mg (e tipicamente, de 5 a 100 mg) de um composto da fórmula (I) ou um sal deste farmacologicamente aceitável. Em um outro exemplo, para administração pela inalação, um composto da fórmula (I) ou um sal deste farmacologicamente aceitáveis podem ser administrados em uma faixa de dosagem diária de 5 a 100 mg, em uma dose única ou dividida em duas a quatro doses diárias. Em um outro exemplo, para administração pela injeção ou infusão intravenosa ou intramuscular, uma solução ou suspensão estéreis contendo até 10 % p/p (e tipicamente, 5 % p/p) de um composto da fórmula (I) ou um sal deste farmacologicamente aceitável podem ser usados.

Uso médico e farmacêutico

A presente invenção fornece um método de tratar ou prevenir uma condição de doença em que o antagonismo de taquicinas que atuam nos receptores de NK é benéfica que compreende administrar a um paciente uma quantidade eficaz de um composto da fórmula (I) ou um sal deste farmacologicamente aceitável. A presente invenção também fornece o uso de

um composto da fórmula (I) ou um sal deste farmacologicamente aceitável na preparação de um medicamento para o uso em uma condição de doença em que o antagonismo de taquicinas atuam nos receptores de NK é benéfica.

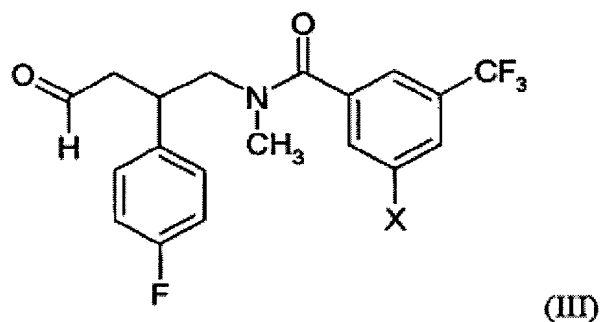
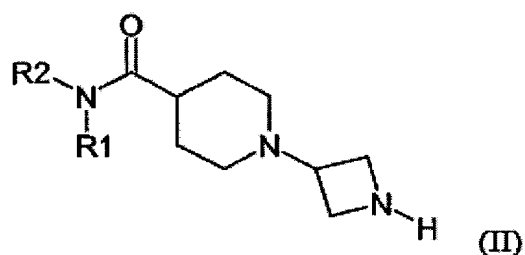
5 Os compostos da fórmula (I) ou sais ou solvatos destes farmacologicamente aceitáveis podem ser usados na fabricação de um medicamento para o uso na prevenção ou tratamento de distúrbios respiratórios, cardiovasculares, neuro, dor, oncologia e/ou gastrointestinais.

10 Os exemplos de tais distúrbios são asma, rinite alérgica, doenças pulmonares, tosse, frio, inflamação, doença pulmonar obstrutiva crônica, reatividade das vias aéreas, urticária, hipertensão, artrite reumatóide, edema, angiogênese, dor, enxaqueca, dor de cabeça de tensão, psicose, depressão, ansiedade, doença de Alzheimer, esquizofrenia, doença de Huntington, hipermotilidade da bexiga, incontinência urinária, distúrbio alimentar, depressão maníaca, dependência a substância, distúrbios de movimento, distúrbio cognitivo, obesidade, distúrbios de estresse, distúrbios de micturição, mania, hipomania e agressão, distúrbio bipolar, câncer, carcinoma, fibromialgia, dor no peito não cardíaca, hipermotilidade gastrointestinal, asma gástrica, doença de Crohn, distúrbios de esvaziamento gástrico, colite ulcerativa, síndrome do intestino irritável (IBS), doença do intestino inflamatório (IBD), êmese, asma gástrica, distúrbios de motilidade gástrica, doença do refluxo gastro-esofágico (GERD) ou dispepsia funcional.

Métodos de preparação

25 Em um outro aspecto a presente invenção fornece um processo para preparar um composto da fórmula (I) ou sais destes que processo este que compreende:

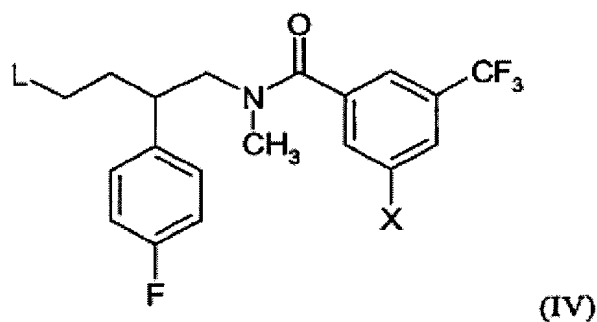
a) reagir um composto da fórmula (II) com um composto da fórmula (III):



em que R1, R2 e X são como mais acima definidos; e as condições são tais que a alquilação redutiva do composto da fórmula (II) forma uma ligação N-C entre o átomo de nitrogênio do grupo de azetidina do composto da fórmula (II) e o átomo de carbono do grupo aldeído dos compostos da fórmula (III); ou

5

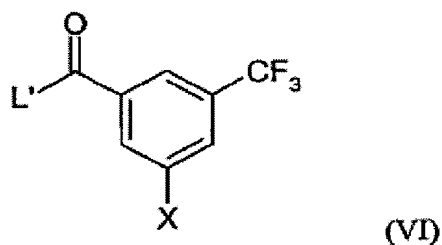
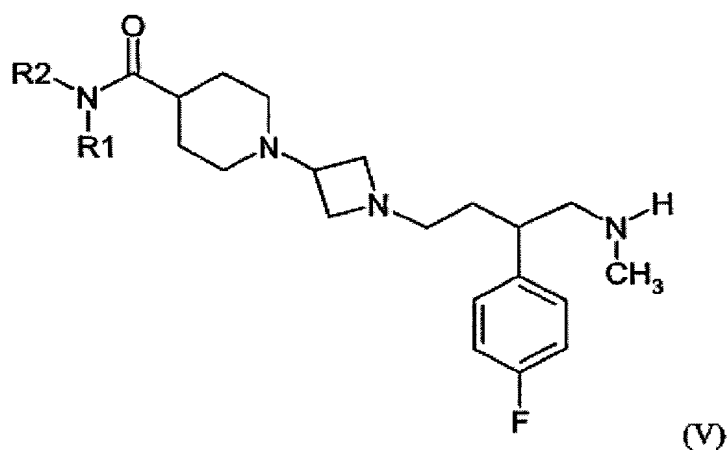
b) reagir um composto da fórmula (II) com um composto da fórmula (IV):



em que X é como mais acima definido; e L é um grupo tal que a alquilação do composto da fórmula (II) forma uma ligação N-C entre o átomo de nitrogênio do grupo de azetidina do composto da fórmula (II) e o átomo de carbono dos compostos da fórmula (IV) que é adjacente ao grupo L; ou

10

c) reagir um composto da fórmula (V) com um composto da fórmula (VI):

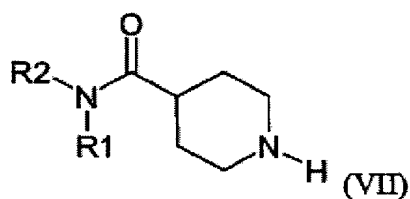


em que R1, R2 e X são como mais acima definidos; e L' é um grupo de partida; e opcionalmente formando um sal farmacologicamente aceitável.

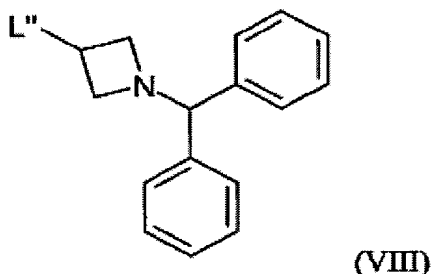
Os compostos das fórmulas (II) e (III) são reagidos sob condições da alquilação redutiva. A reação é tipicamente, realizada em uma temperatura não extrema, por exemplo de 0 a 10° C, em um solvente substancialmente inerte por exemplo diclorometano. Agentes redutores típicos incluem boroidretos tais como cianoboroidreto de sódio.

Os compostos das fórmulas (II) e (IV) são reagidos sob condições de alquilação. Tipicamente, nos compostos da fórmula (IV) L é um grupo de partida tal como halogênio ou alquilsulfonilóxi. A reação é tipicamente, realizada em uma temperatura elevada, por exemplo 30 a 130° C, em um solvente substancialmente inerte por exemplo DMF.

Os compostos da fórmula (II) podem ser preparados de uma maneira convencional, por exemplo reagindo-se um composto da fórmula VII:

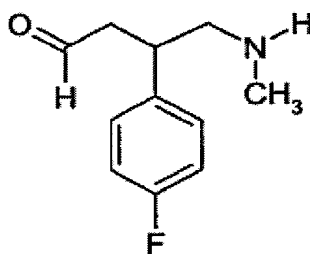


com um composto da fórmula (VIII):



em que R1 e R2 são como mais acima definidos; e L'' é um grupo tal que a alquilação do composto da fórmula (VII) forma uma ligação N-C entre o átomo de nitrogênio do grupo piridina do composto da fórmula (VII) e o átomo de carbono dos compostos da fórmula (VIII) que é adjacente ao grupo L''; e subseqüentemente remover o grupo de proteção (-CH(Ph)₂) como por exemplo, por uma reação de hidrogenação catalítica.

Os compostos da fórmula (III) podem ser preparados, por exemplo, reagindo-se um composto da fórmula (IX) com um composto da fórmula (VI):

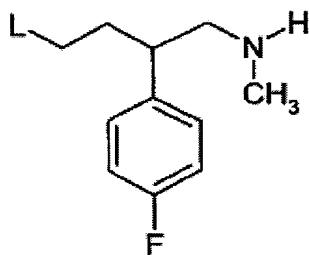


(IX)

em que R1 é como mais acima definido sob condições de acilação convencionais.

Os compostos da fórmula (IV) podem ser preparados, por exemplo, reagindo-se um composto da fórmula (VI) com um composto da fórmula (X):

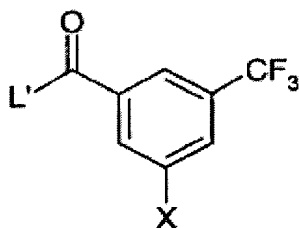
12



(X)

em que L é como mais acima definido sob condições de acilação convencionais.

Os compostos das fórmulas (V) e (VI) podem ser reagidos sob condições de acilação convencionais em que



5 é um ácido ou um derivado de ácido ativado. Tais derivados de ácido ativados são bem conhecidos na literatura. Eles podem ser formados *in situ* a partir de ácido ou eles podem ser preparados, isolados e subseqüentemente reagidos. Tipicamente, L' é cloro formando desse modo o cloreto ácido. Tipicamente, a reação de acilação é realizada na presença de
 10 uma base não nucleofílica, por exemplo N,N-diisopropiletilamina, em um solvente substancialmente inerte tal como diclorometano em uma temperatura não extrema.

Os compostos da fórmula (VII) e (VIII) são conhecidos ou podem ser preparados de uma maneira convencional.

15 Exemplos

Deve ser enfatizado que os compostos da presente invenção na maioria das vezes apresentam espectros de RMN altamente complexos devido à existência de isômeros conformacionais. Acredita-se que isto seja um resultado da rotação lenta em torno da ligação de amida e/ou arila. As
 20 seguintes abreviações são usadas na apresentação dos dados de RMN dos

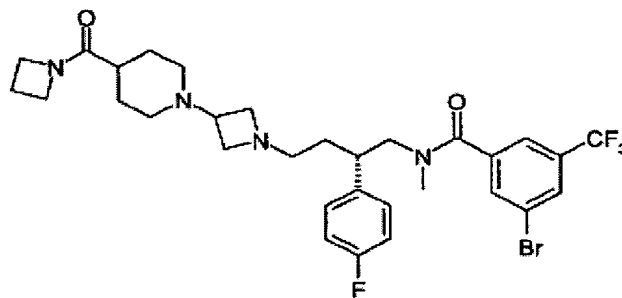
compostos: s-singlete; d-dublete; t-triplete; qt-quarteto; qn-quinteto; m-multiplete; b-amplio; cm-multiplete complexo, que podem incluir picos amplos.

Os seguintes exemplos descreverão, mas não limitarão, a invenção.

As seguintes abreviações são usadas no experimental: DIPEA (N,N-diisopropiletilamina), TBTU (tetrafluoroborato de N,N,N'N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)urônio), DMF (N,N-dimetilformamida), THF (tetraidrofurano) e RT (temperatura ambiente).

10 Exemplo 1

N-[(2S)-4-{3-[4-(Azetidín-1-ilcarbonil)piperidín-1-il]azetidín-1-il}-2-(4-fluorofenil)butil]-3-bromo-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida

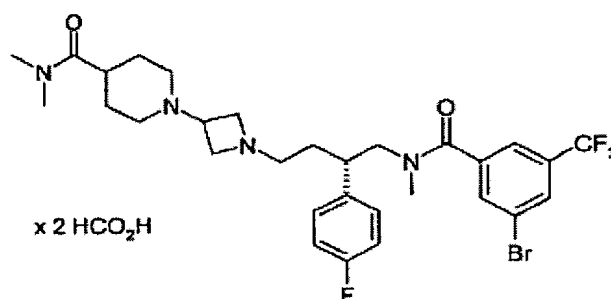


3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (ver método 1; 0,16 g, 0,36 mmol) e 1-azetidín-3-il-4-(azetidín-1-ilcarbonil)piperidina (ver método 2; 0,10 g, 0,47 mmol) foram dissolvidos em cloreto de metileno (10 ml) junto com uma pequena quantidade de metanol seco (0,2 ml). À solução resultante foram adicionados DIPEA (0,14 g, 1,08 mmol) e triacetoxiboroidreto de sódio (0,15 g, 0,72 mmol). A mistura foi agitada sob nitrogênio por 4 horas na temperatura ambiente. A mistura foi diluída com cloreto de metileno e lavada duas vezes com NaHCO₃ saturado aquoso e depois com salmoura. A fase orgânica foi filtrada através de um separador de fase e o solvente foi removido pela evaporação. O produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (metanol - cloreto de metileno, 10:1). Foi obtido 0,14 g (59 %) do composto

do título como uma espuma branca. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 1,4 - 1,8 (cm, 6H), 2,1 (m, 1H) 2,2 (qn, 2H), 2,3 - 2,4 (cm, 2H), 2,5 - 3,5 (cm, 14H), 3,6 (d, 1H), 3,9 (t, 2H), 4,1 (t, 2H), 6,8 - 7,4 (cm, 6H), 7,7 (s, 1H); LCMS: m/z 654 ($M + 1$)⁺.

5 Exemplo 2

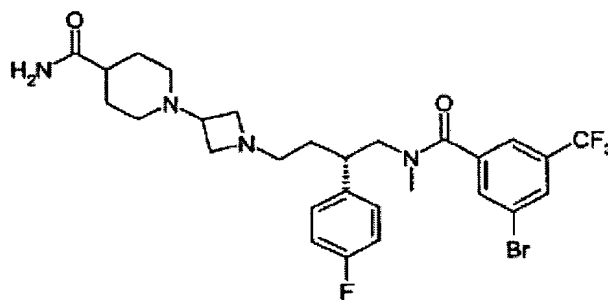
Diformiato de 1-{1[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida



Uma mistura de 3-bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (ver método 1; 0,178 g, 0,40 mmol), 1-Azetidín-3-il-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida (ver método 3; 0,084 g, 0,40 mmol), ácido acético (0,3 ml), cianoboroidreto de (poliestirilmetil)trimetilamônio (0,098 g, 0,52 mmol) e metanol foi agitado na temperatura ambiente por 6 horas. A resina foi separada por filtração e lavada com metanol. O solvente do filtrado foi removido pela evaporação e o produto foi purificado pela cromatografia de fase reversa (C8) usando acetonitrila e a solução aquosa de formiato de amônio/ácido fórmico ($\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$ 0,1 M, HCO_2H 0,1 M, pH 4) como eluente. Foi obtido 0,23 g (77 %) do composto do título. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 1,6 - 2,0 (cm, 6H), 2,6 - 4,2 (cm, 24H), 7,0 - 8,0 (cm, 6H), 8,4 (s, 1H); LCMS: m/z 642 ($M + 1$)⁺.

Exemplo 3

1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il} piperidín-4-carboxamida



3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-

(trifluorometil)benzamida (ver método 1; 1,00 g, 2,24 mmol) e 1-azetidina-3-ilpiperidina-4-carboxamida (ver método 4; 0,49 g, 2,69 mmol) e trietilamina (1,24 ml, 9,0 mmol) foram dissolvidos em cloreto de metileno (30 ml) junto com metanol (5 ml). À solução resultante foi adicionado cianoboroidreto de sódio (0,21 g, 3,36 mmol) e a mistura foi agitada na temperatura ambiente por 20 minutos. O solvente foi removido pela evaporação e o resíduo foi dividido entre cloreto de metileno e NaHCO₃ saturado aquoso. A fase orgânica foi filtrada através de um separador de fase e o solvente foi removido pela evaporação. O produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (metanol/cloreto de metileno saturados com amônio, 1 a 20 % de metanol). Foi obtido 0,24 g (17 %) do composto do título. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 1,4 - 3,8 (cm, 23H), 5,7 (b, 1H), 5,8 (b, 1H), 6,8 - 7,4 (cm, 6H), 7,7 (s, 1H); LCMS: m/z 614 (M + 1)⁺.

15 Exemplo 3a

De modo a se obter informação adicional com respeito à forma sólida existente a cristalização em suspensão foi realizada na temperatura ambiente em solventes diferentes. Depois de aproximadamente 2 semanas a forma sólida foi checada com XRPD. As amostras empastadas em metanol, etanol, i-propanol, acetona e clorofórmio mostram padrões muito similares em XRPD, que diferem daqueles da amostra original. A cristalinidade é notavelmente melhor para a nova forma. O material colocado em suspensão em etil metil cetona demonstra um padrão completamente único. XRPD de estágio quente realizado na amostra colocada em

suspensão em i-propanol mostra que o padrão de raio X no pó é trocado acima de 120° C. O padrão novo também é diferente daquela da amostra original.

Sal de maleato de 1-{1-{(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil) benzoil]-
5 (metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidin-4-carboxamida

1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)-
amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidin-4-carboxamida (2,0 g,
3,26 mmol) foi dissolvida em acetona quente (20 ml). Ácido maleico (0,74 g,
6,4 mmol) foi dissolvido em metanol quente (4 ml) e esta solução foi depois
10 adicionada à primeira solução. As soluções combinadas foram deixadas na
temperatura ambiente durante a noite mas nenhum precipitado útil pôde ser
isolado. A mistura foi diluída com metanol e o solvente foi removido pela
evaporação. O resíduo foi adicionado a uma mistura de tolueno (17 ml) e 2-
propanol (50 ml). Metanol (20 ml) foi adicionado e a mistura foi aquecida até
15 que uma solução clara fosse obtida. A solução foi esfriada até a temperatura
ambiente e depois mantida em um congelador durante a noite. Um
precipitado branco foi isolado pela filtração e depois secado na
pressão reduzida por 48 horas. Foi obtido 2,4 g do composto do título como
um pó branco. A análise de ¹H RMN do produto mostra que a amostra
20 consiste de aproximadamente 1,5 a 2 mol de ácido maleico por mol de 1-1-
{1-(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)
butil]azetidín-3-il} piperidin-4-carboxamida. ¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 1,2
(d, 1,6 H), 1,8 - 2,2 (cm, 5,8H), 2,6 - 2,7 (m, 1H), 2,7 (s, 1H), 2,8 - 3,2 (cm,
5,1H), 3,2-3,3 (m, 1H), 3,3 - 3,5 (cm, 2,3H), 3,5 - 3,8 (m, 1,4H), 3,9 - 4,1 (m,
25 0,6H), 4,2 - 4,7 (cm, 4,6H), 6,3 (s, 2,9H), 6,9 - 7,3 (m, 4,2H), 7,4 (m, 1H), 8,0
(s, 0,6H).

O sal de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)
benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidin-4-
carboxamida é caracterizado no fornecimento de um padrão de difração de

raio X no pó, exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d (valor d: o espaçamento entre planos hkl paralelos sucessivos em um retículo cristalino):

Forma original de sal de maleato					
valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa
18,72	vs	5,48	vs	3,42	vs
9,49	vs	4,92	vs	3,27	vs
9,23	vs	4,77	vs	3,21	vs
8,05	vs	4,45	vs	3,19	vs
5,72	vs	3,69	vs		

Os picos, identificados com valores d calculados a partir da fórmula de Bragg e intensidades, foram extraídos a partir de difractograma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)-benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidín-4-carboxamida. As intensidades relativas são menos confiáveis e ao invés de valores numéricos as seguintes definições são usadas:

% de Intensidade relativa*	Definição
25 a 100	vs (muito forte)
10 a 25	s (forte)
3 a 10	m (médio)
1 a 3	w (fraco)

* As intensidades relativas são derivadas de difractogramas medidos com fendas variáveis.

A forma original também foi obtida seguindo o empastamento em água, n-heptano, acetonitrila, isooctano, THF e metil isobutil cetona na temperatura ambiente.

Forma de sal de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)-benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il} piperidín-4-carboxamida seguindo o empastamento

As amostras empastadas em metanol, etanol, i-propanol, acetona e clorofórmio demonstram padrões muito similares em XRPD, que diferem daqueles da amostra original. Esta forma é caracterizada no fornecimento de um padrão de difração de raio X no pó, exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d (valor

d: o espaçamento entre planos hkl paralelos sucessivos em um retículo cristalino):

Forma obtida depois da suspensão em isopropanol					
valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa
19,1	s	4,94	vs	3,35	vs
10,5	vs	4,91	vs	3,28	vs
10,3	s	4,75	vs	3,19	vs
9,55	vs	4,49	vs	3,11	s
8,09	vs	4,43	vs	3,02	s
7,75	vs	4,36	s	2,91	s
7,26	s	4,20	vs		
6,73	s	4,09	vs		
6,36	s	4,05	vs		
6,14	s	3,90	vs		
5,86	vs	3,84	s		
5,72	vs	3,64	s		
5,41	s	3,58	vs		
5,26	s	3,51	vs		
5,16	s	3,42	vs		

Os picos, identificados com valores d calculados a partir da fórmula de Bragg e intensidades, foram extraídos a partir de difractograma de maleato de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil] (metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidín-4-carboxamida. As intensidades relativas são menos confiáveis e ao invés de valores numéricos as seguintes definições são usadas:

% de Intensidade relativa*	Definição
25 a 100	vs (muito forte)
10 a 25	s (forte)
3 a 10	m (médio)
1 a 3	w (fraco)

* As intensidades relativas são derivadas de difractogramas medidos com fendas variáveis.

10 Forma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)-benzoil]-(metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il} piperidín-4-carboxamida seguida por XRPD de estágio quente

XRPD realizado na amostra colocada em suspensão em isopropanol mostra que o padrão de raio X no pó é trocado acima de 120° C. O padrão novo também é diferente daquele da amostra original.

Esta forma é caracterizada no fornecimento de um padrão de difração de raio X no pó, exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d (valor d: o espaçamento entre planos hkl paralelos sucessivos em um retículo cristalino):

Forma obtida depois da suspensão em isopropanol - temp aumentada					
valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa
17,4	s	7,04	vs	4,56	vs
10,8	s	6,58	vs	4,04	vs
9,65	s	4,98	vs	3,65	vs
8,72	s	4,81	vs	3,43	vs
7,36	vs	4,76	vs	3,34	vs

5 Os picos, identificados com valores d calculados a partir da fórmula de Bragg e intensidades, foram extraídos a partir de difractograma da forma obtida de maleato 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil]-(metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidín-4-carboxamida seguida por XRPD de estágio quente. As intensidades relativas são menos confiáveis e ao invés de valores numéricos as seguintes definições são usadas:

% de Intensidade relativa*	Definição
25 a 100	vs (muito forte)
10 a 25	s (forte)
3 a 10	m (médio)
1 a 3	w (fraco)

* As intensidades relativas são derivadas de difractogramas medidos com fendas variáveis.

Forma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil]-(metil)-amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidín-4-carboxamida a seguir da suspensão em metil etil cetona

15 Uma outra forma de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-piperidín-4-carboxamida foi obtida a seguir da suspensão em metil etil cetona. Esta forma é caracterizada no fornecimento de um padrão de difração de raio X no pó, exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d (valor

20 d: o espaçamento entre planos hkl paralelos sucessivos em um retículo

cristalino):

Forma obtida depois da suspensão em metil etil cetona					
valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa	valor d (Å)	Intensidade relativa
10,5	vs	5,28	vs	4,10	vs
8,47	vs	5,16	vs	3,75	vs
7,49	vs	4,75	vs	3,53	vs
6,87	vs	4,64	vs	3,33	vs
6,38	vs	4,49	vs	3,07	vs
6,20	vs	4,31	vs	2,99	vs
5,85	vs	4,21	vs	2,89	vs

Os picos, identificados com valores d calculados a partir da fórmula de Bragg e intensidades, foram extraídos a partir de difractograma da forma obtida de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-

5

(trifluorometil)benzoi](metil)amino]-3-(4-

fluorofenil)butil]azetidín-3- il}piperidín-4-carboxamida a seguir da suspensão em metil etil cetona. As intensidades relativas são menos confiáveis e ao invés de valores numéricos as seguintes definições são usadas:

% de Intensidade relativa*	Definição
25 a 100	vs (muito forte)
10 a 25	s (forte)
3 a 10	m (médio)
1 a 3	w (fraco)

* As intensidades relativas são derivadas de difractogramas medidos com fendas variáveis.

Difratômetro de raio X no pó (XRPD)

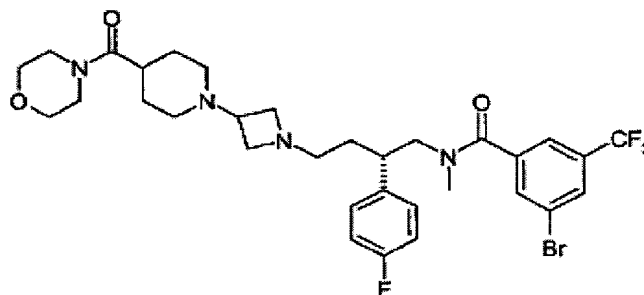
10

Os experimentos de XRPD foram realizados em um difratômetro D8 Advance (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemanha) com geometria de Bragg-Brentano, equipado com um detector sensível à posição VANTEC-1 (PSD). A radiação Cu K α filtrada em níquel foi usada. As amostras, aprox. 10 mg, foram montadas em um suporte de fundo zero (cristal

15 sílicio). Os dados foram coletados usando o modo de varredura contínua na faixa de 1 a 50° 2 θ , com um tamanho de etapa de 0,017° e um tempo de etapa de 0,5 s. Uma fenda de divergência variável (V20) e uma fenda detectora de 12 mm, correspondente a uma janela detectora ampla de 3,47°, foram aplicadas.

XRPD de estágio quente foi realizado no instrumento descrito acima, usando ambientes similares com uma câmara MRI anexa (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemanha), conectada a um controlador de temperatura Ansyco.

5 Exemplo 4 3-Bromo-N-((2S)-2-(4-fluorofenil)-4-{3-[4-(morfolin-4-il-carbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}butil)-N-metil-5-(trifluorometil)-benzamida



3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (ver método 1; 0,14 g, 0,31 mmol) e 4-[(1-azetidina-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina (ver método 5; 0,11 g, 0,42 mmol) foram dissolvidos em cloreto de metileno (10 ml) junto com metanol seco (0,2 ml). À solução resultante foram adicionados DIPEA (0,12 g, 0,94 mmol) e triacetoxiboroidreto de sódio (0,13 g, 0,63 mmol). A mistura foi agitada sob nitrogênio por 4 horas na temperatura ambiente. A mistura foi diluída com cloreto de metileno e lavada duas vezes com NaHCO₃ saturado aquoso e depois com salmoura. A fase orgânica foi filtrada através de um separador de fase e o solvente foi removido pela evaporação. O produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (metanol - cloreto de metileno, 10:1). Foi obtido 0,11 g (53 %) do composto do título como uma espuma branca. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 1,4 - 3,8 (cm, 32H), 6,8 - 7,4 (cm, 6H), 7,7 (s, 1H); LCMS: m/z 684 (M + 1)⁺.

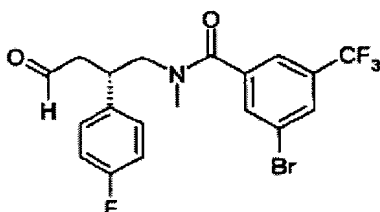
Preparação Materiais de Partida

Os materiais de partida para os exemplos acima são comercialmente disponíveis ou são facilmente preparados pelos métodos

padrão de materiais conhecidos. Por exemplo, as seguintes reações são uma ilustração, mas não uma limitação, de alguns dos materiais de partida.

Método 1

3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida



(a) 3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida

A uma solução de [(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]metilamina (ver Bioorg. Med. Chem. Lett; 2001; 265-270; 0,54 g, 2,8 mmol) e ácido 3-bromo-5-trifluorometil benzóico (0,81 g, 3,0 mmol) em DMF (7 ml) foram adicionados TBTU (0,96 g, 3,0 mmol) e DIPEA (1,41 g, 10,9 mmol). A mistura de reação foi agitada sob nitrogênio durante a noite na temperatura ambiente e depois dividida entre acetato de etila e uma a solução aquosa de NaHCO₃. A fase aquosa foi extraída três vezes com acetato de etila. As soluções orgânicas combinadas foram lavadas três vezes com água e depois secadas em uma coluna separadora de fase. O solvente foi removido pela evaporação e o produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (acetato de etila - heptano 10 % a 17 %). Foi obtido 0,86 g (68 %) de 3-bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 2,1 - 3,8 (cm, 8H), 4,9 - 5,1 (m, 2H), 5,5 - 5,8 (m, 1H), 6,8 - 7,4 (cm, 6H), 7,8 (s, 1H). LCMS: m/z 445 (M + 1)⁺.

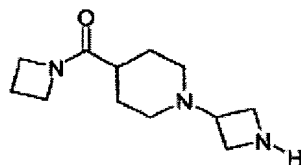
(b) 3-Bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida

A uma solução de 3-bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-

en-1-il]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (0,86 g, 1,9 mmol) em acetona (45 ml) foram adicionados OsO₄ (2,5% em álcool t-butílico, 0,49 ml, 0,039 mmol) e 4-metilmorfolina-4-óxido (0,41 g, 3,5 mmol). A solução foi agitada sob nitrogênio na temperatura ambiente durante a noite e depois uma a
 5 solução aquosa de NaHSO₃ (39 %, 45 ml) foi adicionada. A mistura foi agitada por 2 horas, diluída com água e depois extraída duas vezes com cloreto de metileno. As soluções orgânicas combinadas foram separadas por meio de uma coluna separadora de fase e o solvente foi removido pela evaporação. O resíduo (1,08 g) foi dissolvido em THF (18 ml) e água (4,5 ml)
 10 e à solução resultante foi adicionado NaIO₄ (0,73 g, 3,4 mmol). A mistura foi agitada sob nitrogênio durante a noite na temperatura ambiente. A mistura foi dividida entre cloreto de metileno e água. A fase aquosa foi extraída com cloreto de metileno e depois as soluções orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura e separadas por meio de uma coluna separadora de fase . O
 15 solvente foi removido pela evaporação. Foi obtido 0,78 g (90 %) do composto do título. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 2,4 - 4,4 (cm, 8H), 6,2 - 8,2 (cm, 7H), 9,8 (s, 1H); LCMS: m/z 447 (M + 1)⁺.

Método 2

1-Azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina



20 (a) 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila

Ácido 1-(terc-Butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (0,40 g, 1,75 mmol) foi dissolvido em DMF seco (5 ml) e à solução foram adicionados DIPEA (1,22 ml, 7,0 mmol), TBTU (0,67 g, 2,1 mmol) e azetidina (0,12 g, 2,1 mmol). A mistura de reação foi agitada na temperatura ambiente por 12
 25 horas. A mistura foi diluída com cloreto de metileno e depois lavada com a solução aquosa de HCl (2 M) e depois com a solução aquosa de NaHCO₃

(sat.). As fases foram separadas por meio de uma coluna separadora de fase e o solvente foi removido pela evaporação. Foi obtido 0,50 g (100 %) de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidin-1-carboxilato de terc-butila como um sólido bruto. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): 1,4 - 1,5 (s, 9H), 1,6 - 1,9 (m, 5H), 2,2 - 2,4 (m, 3H), 2,6 - 2,8 (m, 2H), 3,9 - 4,2 (m, 5H).

(b) 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidina

4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila (0,50 g, 1,86 mmol) foi dissolvido em cloreto de metileno (10 ml) e à solução foi adicionado ácido trifluoroacético (2,12 g, 18,6 mmol). A mistura foi agitada na temperatura ambiente durante a noite e depois o solvente foi removido pela evaporação. O resíduo foi dissolvido em uma pequena quantidade de metanol e THF e a solução foi depois carregada em um absorvente de troca catiônica (Isolute® SCX-2; 10 g). A coluna foi lavada com THF e o produto foi depois eluído com metanol saturado em amônia. O solvente foi removido pela evaporação. Foi obtido 0,32 g (100 %) de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): 1,4 - 1,5 (m, 4H), 2,0 - 2,2 (m, 3H), 2,4 - 2,5 (m, 2H), 2,9 - 3,0 (d, 2H), 3,7- 3,8 (t, 2H), 3,9 (s, 1H), 4,0 (t, 2H).

(c) 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina

A uma mistura de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina (0,34 g, 2,0 mmol) e 1-(difenilmetil)azetidin-3-ona (ver Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0,37 g, 1,6 mmol), metanol (5 ml) e ácido acético (0,1 ml) foi adicionado cianoboroidreto de (poliestirilmetil) trimetilamônio (4,1 mmol/g, 0,61 g). A mistura de reação foi aquecida por 10 minutos a 120°C usando aquecimento de nodo único de microonda e depois filtrada através de um separador de fase. O solvente foi removido pela evaporação e o produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (metanol - cloreto de metileno, 5:95). Foi obtido 0,42 g (70 %) of 4-(azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)-azetidin-3-il]piperidina como uma espuma incolor. ^1H RMN

(500 MHz, CDCl_3): 1,6 - 1,7 (m, 2H), 1,7 - 1,8 (m, 4H), 2,0 - 2,1 (m, 1H), 2,2 (qn, 2H), 2,7 - 2,8 (m, 2H), 2,8 - 3,0 (m, 3H), 3,4 (t, 2H), 4,0 (t, 2H), 4,1 (t, 2H), 4,4 (s, 1H), 7,1 - 7,2 (t, 2H), 7,2 - 7,3 (t, 4H), 7,4 (d, 4H); LCMS: m/z 390 ($M + 1$)⁺.

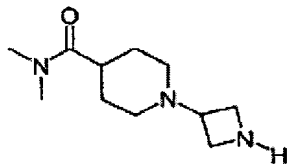
5 (d) 1-Azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina

4-(Azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]-

piperidina (0,42 g, 1,1 mmol) foi dissolvida em etanol e à solução resultante foi adicionado hidróxido de paládio em carbono (0,15 g) e formiato de amônio (0,28 g, 4,4 mmol). A mistura de reação foi aquecida por 4 minutos a
 10 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. O catalisador foi separado por filtração por meio de um separador de fase e a torta do filtro foi lavada com etanol. O solvente foi removido pela evaporação e o resíduo foi dissolvido em metanol (1 ml) e THF (10 ml). A solução foi carregada em um absorvente de troca catiônica (Isolute® SCX-2; 10 g). A coluna foi lavada
 15 com THF e o produto foi depois eluído com metanol saturado em amônia. O solvente foi removido pela evaporação e foi obtido 0,25 g do composto do título como óleo incolor. ¹H RMN (500 MHz, CD_3OD): 2,0 - 2,2 (m, 4H), 2,3 - 2,4 (m, 2H), 2,6 - 2,8 (m, 3H), 3,2 - 3,3 (d, 2H), 3,8 (qn, 1H), 4,3 (t, 2H), 4,4 (m, 2H), 4,5 (m, 2H), 4,6 (t, 2H); LCMS: m/z 224 ($M + 1$)⁺.

20 Método 3

1-Azetidin-3-il-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida



(a) Ácido 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-carboxílico

A uma mistura de ácido piperidin-4-carboxílico (0,13 g, 1,0 mmol) e 1-(difenilmetil)azetidin-3-ona (ver Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0,24 g, 1,0 mmol), metanol (3 ml) e ácido acético (0,3 ml)
 25 foi adicionado cianoboroidreto de (poliestirilmetil) trimetilamônio (4,1

mmol/g, 0,25 g). A mistura de reação foi aquecida por 5 minutos a 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. Metanol foi adicionado e depois a resina foi separada por filtração. O solvente foi removido pela evaporação. Foi obtido 0,35 g (100 %) de ácido 1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidina-4-carboxílico. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 1,6 - 1,8 (m, 2H), 1,9 - 2,0 (m, 4H), 2,3 - 2,4 (m, 1H), 2,7 - 2,8 (m, 2H), 2,9 - 3,0 (m, 3H), 3,4 (t, 2H), 4,4 (s, 1H), 7,2 (t, 2H), 7,2 - 7,3 (t, 4H), 7,4 (d, 4H); LCMS: m/z 351 (M + 1)⁺.

(b) 1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida

10 Ácido 1[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidín-4-carboxílico (0,35 g, 0,9 mmol) dissolvido em DMF (8 ml) e à solução foram adicionados TBTU (0,39 g, 1,2 mmol), DIPEA (0,21 ml, 1,2 mmol) e um solução de dimetilamina (3,0 ml, 2 M em THF, 6 mmol). A mistura foi agitada na temperatura ambiente por 14 horas. A solução aquosa de NaHCO₃ foi
15 adicionada e a mistura foi extraída três vezes com cloreto de metileno. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura e secadas em MgSO₄. O solvente foi removido pela evaporação e o produto foi purificado pela cromatografia de fase reversa (C8) usando acetonitrila e solução aquosa de acetato de amônio (0,1 M) como eluente. Foi obtido 0,20 g (59 %) de 1-[1-
20 (Difenilmetil)azetidín-3-il]-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 1,6 - 2,0 (cm, 6H), 2,4 - 2,5 (m, 1H), 2,8 (m, 2H), 2,9 - 3,0 (m, 5H), 3,1 (s, 3H), 3,4 (t, 2H), 4,4 (s, 1H), 7,2 (t, 2H), 7,3 (t, 4H), 7,4 (d, 4H); LCMS: m/z 378 (M + 1)⁺.

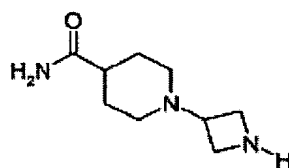
(c) 1-Azetidín-3-il-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida

25 Hidróxido de paládio em carbono (0,10 g) foi colocado em um frasco de 5 ml intencionado para síntese de microonda. 1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida (0,20 g, 0,53 mmol) dissolvido em metanol (3 ml) e ácido acético (0,3 ml) foi adicionado. A mistura foi agitada sob hidrogênio (1,6 bar) na temperatura

ambiente por quatro dias. A mistura foi filtrada através um tampão de Celite[®]. O solvente foi removido pela evaporação e foi obtido 0,11 g (53 %) do composto do título.

Método 4

5 1-azetidín-3-ilpiperidina-4-carboxamida



(a) 1-1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidín-4-carboxamida

A uma mistura de piperidín-4-carboxamida (1,05 g, 8,2 mmol), 1-(difenilmetil)azetidín-3-ona (ver Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 1,94 g, 8,2 mmol), metanol (30 ml) e ácido acético (3 ml) foi adicionado cianoboroidreto de (poliestirilmetil) trimetilamônio (4,1 mmol/g, 1,9 g). A mistura de reação foi aquecida por 5 minutos a 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. A resina foi separada por filtração e o solvente foi removido pela evaporação. Foi obtido 2,85 g (99 %) de 1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidín-4-carboxamida. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 1,6 - 1,9 (m, 6H), 2,1 - 2,2 (m, 1H), 2,7 - 2,8 (d, 2H), 2,9 - 3,0 (m, 3H), 3,4 (t, 2H), 4,4 (s, 1H), 5,7 - 5,8 (b, 1H), 6,2 (b, 1H), 7,2 (t, 2H), 7,2 - 7,3 (t, 4H), 7,4 (d, 4H); LCMS: m/z 350 (M + 1)⁺.

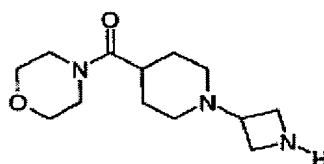
(b) Dicloridreto de 1-azetidín-3-il]piperidín-4-carboxamida

1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidín-4-carboxamida (1,4 g, 4,1 mmol), formiato de amônio (0,77 g, 12 mmol) e etanol (15 ml) foram carregados a um frasco de 25 ml intencionado para síntese de microonda. Hidróxido de paládio em carbono (0,55 g) foi adicionado e a mistura de reação foi aquecida por 2 minutos a 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. A mistura, que ainda conteve material de partida, foi filtrada e ao filtrado foi adicionada uma outra porção de hidróxido de paládio em carbono junto com uma mistura de ácido acético e etanol (1:10). A

mistura de reação foi agitada sob hidrogênio (5 bar) na temperatura ambiente por 4 horas e depois filtrada através de um tampão de Celite®. O solvente foi removido pela evaporação e o resíduo foi dividido entre de tolueno e ácido clorídrico diluído. A fase aquosa foi secada por congelamento e o resíduo pegajoso foi depois co-evaporado com o tolueno, re-dissolvido em água e depois secado por congelamento. Foi obtido 1,35 g (65 %) do composto do título. ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): 5 1,6 - 2,0 (cm, 6H), 2,2 - 2,3 (m, 1H), 2,8 (m, 2H), 3,4 (m, 1H), 3,9 - 4,1 (m, 4H).

Método 5

10 4-[(1-Azetidin-3-il)piperidin-4-il]carbonil]morfolina



(a) 4-({1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidin-4-il}-carbonil)-morfolina

4-(Piperidin-4-ilcarbonil)morfolina (0,30 g, 1,26 mmol) e 1-(difenilmetil)azetidín-3-ona (ver Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0,30 g, 1,5 mmol) foram dissolvidos em uma mistura de metanol (5 ml) e ácido acético (0,1 ml). Cianoboroidreto de (poliestirilmetil) trimetilamônio (4,1 mmol/g, 0,38 g) foi adicionado e a mistura de reação foi aquecida por 10 minutos a 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. A mistura foi filtrada através de um separador de fase e a resina lavada com metanol. O solvente foi removido pela evaporação e o resíduo dissolvido em cloreto de metileno. A solução foi lavada duas vezes com uma solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi filtrada através de um separador de fase e o solvente foi removido pela evaporação. O produto foi purificado pela cromatografia em gel de sílica (metanol/cloreto de metileno, metanol a 5 %). Foi obtido 0,44 g (83 %) de 4-({1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidin-4-il}carbonil)morfolina como um óleo incolor. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 1,6 - 1,7 (m, 2H), 1,7 - 1,9 (m, 4H), 2,2 (m, 1H), 2,7 - 2,8 (m, 2H), 2,8 - 3,0 (m,

4H), 3,3 - 3,5 (m, 3H), 3,5 - 3,7 (m, 6H), 4,4 (s, 1H), 7,1 - 7,2 (t, 2H), 7,2 - 7,3 (t, 4H), 7,4 (d, 4H); LCMS: m/z 420 (M + 1)⁺.

(b) 4-[(1-Azetidin-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina

4-({1-[1-(Difenilmetil)azetidín-3-il]piperidin-4-il}carbonil)-

5 morfolina (0,44 g, 1,0 mmol) foi dissolvida em etanol e à solução resultante foram adicionados hidróxido de paládio em carbono (0,15 g) e formiato de amônio (0,27 g, 4,2 mmol). A mistura de reação foi aquecida por 2 minutos a 120° C usando aquecimento de nodo único de microonda. O catalisador foi separado por filtração por meio de um separador de fase e a torta de filtro foi
10 lavado com etanol. O solvente foi removido pela evaporação e o resíduo dissolvido em metanol (1 ml) e THF (10 ml). A solução foi carregada em um absorvente de troca catiônica (Isolute[®] SCX-2; 10 g). A coluna foi lavada com THF e o produto foi depois eluído com metanol saturado em amônia. O
15 solvente das frações coletadas foi removido pela evaporação e foi obtido 0,11 g do composto do título como óleo incolor. ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): 1,7 - 1,8 (m, 4H), 1,9 - 2,0 (m, 2H), 2,6 - 2,9 (m, 4H), 3,3 - 3,4 (m, 1H), 3,5 - 3,7 (m, 8H), 3,8 - 4,0 (m, 3H); LCMS: m/z 254 (M + 1)⁺.

Farmacologia

A transfecção e cultivo de células usadas em FLIPR e ensaios de Ligação

20 Células K1 do Ovário do Hamster Chinês (CHO) (obtidas da ATCC) foram estavelmente transfectadas com o receptor NK₂ humano (hNK₂R cDNA em pRc/CMV, Invitrogen) ou o receptor NK3 humano (hNK₃R em vetor pcDNA 3.1/Hygro (+)/IRES/CD8, Invitrogen modificado na AstraZeneca EST-Bio UK, Alderley Park). As células foram transfectadas
25 com o reagente lipídico catiônico LIPOFECTAMINE[®] (Invitrogen) e a seleção foi realizada com Geneticin (G418, Invitrogen) a 1 mg/ml para as células transfectadas hNK₂R e com Higromicina (Invitrogen) a 500 µg/ml para as células transfectadas hNK₃R. os clones de célula única foram coletados pela ajuda do Separador de Célula Ativada pela Fluorescência

(FACS), testado quanto a funcionalidade em um ensaio de FLIPR (ver abaixo), expandido em cultura e criopreservada para uso futuro. As células CHO estavelmente transfectadas com receptores NK₁ humanos origina-se da AstraZeneca R&D, Wilmington USA. O cDNA do receptor de NK₁ humano (obtido da RNAPCR de tecido pulmonar) foi subclonado em pRcCMV (Invitrogen). A transfecção foi realizada pelo Fosfato de Cálcio e seleção com 1 mg/ml de G418.

As células CHO estavelmente transfectadas com hNICR, hNK₂R e hNK₃R foram cultivadas em um incubador umidificado sob 5 % de CO₂, em Nut Mix F12 (HAM) com Glutamax I, 10 % de Soro Bovino Fetal (FBS), 1 % de Penicilina/Estreptomicina (PEST) suplementado com 200 µg/ml de Geneticina para as células que expressam hNK₁R e hNK₂R e 500 µg/ml de higromicina para as células que expressam hNK₃R. As células foram cultivadas em frascos T175 e rotineiramente passadas quando 70 a 80 % confluentes por até 20 a 25 passagens.

Avaliação da Atividade de Compostos de Teste Selecionados para Inibir a Ativação de Receptor NK₁/NK₂/NK₃ Humano (ensaio de FLIPR)

A atividade de um composto da invenção para inibir a ativação de receptor NK₁/NK₂/NK₃ medida como aumento mediado pelo receptor de NK₁/NK₂/NK₃ no Ca²⁺ intracelular foi avaliada pelo seguinte procedimento:

As células CHO estavelmente transfectadas com receptores NK₁, NK₂ ou NK₃ humanos foram plaqueadas em placas de 96 reservatórios de parede preta/fundo claro (Costar 3904) a 3,5 x 10⁴ células por reservatório e cultivadas por aproximadamente 24 h em meio de crescimento normal em um incubador de CO₂ a 37° C.

Antes do ensaio de FLIPR as células de cada placa de 96 reservatórios foram carregadas com o pigmento sensível ao Ca²⁺ Fluo-3 (TEFLABS 0116) a 4 µM em um meio de carga consistindo de Nut Mix F12 (HAM) com Glutamax I, 22 mM de HEPES, 2,5 mM de Probenicid (Sigma

P-8761) e 0,04 % Pluronic F-127 (Sigma P-2443) por 1 hora mantido no escuro em um incubador de CO₂ a 37° C. As células foram depois lavadas três vezes em tampão de ensaio (solução salina balanceada de Hanks (HBSS) contendo 20 mM de HEPES, 2,5 mM de Probenicid e 0,1 % de BSA) usando uma pipeta de canal múltiplo deixando-a em 150 µl no final da última lavagem. As diluições em série de um composto de teste em tampão de ensaio (concentração de DMSO final mantida abaixo de 1 %) foram automaticamente pipetadas pela FLIPR (Leitora de Placa de Formação de Imagem Fluorimétrica) em cada reservatório de teste e a intensidade de fluorescência foi registrada (excitação 488 nm e emissão 530 nm) pela câmara CCD FLIPR por um período de pré incubação de 2 min. 50 µl de solução de agonista da Substância P (específica de NK₁), NKA (específica de NK₂), ou Pro-7-NKB (específica de NK₃) (concentração final equivalente a uma concentração EC₆₀ aproximada) foi depois adicionada pelo FLIPR em cada reservatório já contendo 200 µl de tampão de ensaio (contendo o composto de teste ou veículo) e a fluorescência foi continuamente monitorada por mais 2 min. A resposta foi medida como a fluorescência relativa de pico depois da adição de agonista e IC₅₀s foram calculados a partir de curvas de concentração-resposta de dez pontos para cada composto. As IC₅₀s foram depois convertidas aos valores pK_B com a seguinte fórmula:

$$KB = IC_{50} / 1 + (EC_{60} \text{ conc. de agonista usado no ensaio} / EC_{50} \text{ agonista})$$

$$pK_B = - \log KB$$

Determinação da Constante de Dissociação (K_i) de compostos para Receptores NK₁/NK₂/NK₃ Humanos (Ensaio de Ligação)

As membranas foram preparadas a partir de células CHO estavelmente transfectadas com receptores de NK₁, NK₂ ou NK₃ humanos de acordo com o seguinte método.

As células foram descoladas com solução de Accutase®, colhidas em PBS contendo 5 % de FBS pela centrifugação, lavadas duas

vezes em PBS e recolocadas em suspensão a uma concentração de 1×10^8 células/ml em Tris-HCl 50 mM, KCl 300 mM, EDTA-N₂ 10 mM pH 7,4 (4° C). As suspensões de célula foram homogeneizadas com um UltraTurrax 30 s 12.000 rpm. Os homogenados foram centrifugados a 38.000 x g (4° C) e a
5 pelota recolocada em suspensão em Tris-HCl 50 mM pH 7,4. A homogeneização foi repetida uma vez e os homogenados foram incubados em gelo por 45 min. Os homogenados foram mais uma vez centrifugados como descrito acima e recolocados em suspensão em Tris-HCl 50 mM pH 7,4. Esta etapa de centrifugação foi repetida 3 vezes no total. Depois da última etapa de
10 centrifugação a pelota foi recolocada em suspensão em Tris-HCl 50 mM e homogeneizada com Dual Potter, 10 batidas até uma solução homogênea, uma alíquota foi removida para a determinação de proteína. As membranas foram alíquotadas e congeladas a -80° C até o uso.

O ensaio de radioligando é realizado na temperatura ambiente
15 em placas de microtítulo de 96 reservatórios (Placas de Superfície Não Aderentes, Coming 3600) com um volume de ensaio final de 200 µl/reservatório em tampão de incubação (50 mM de tampão de Tris (pH 7,4 temperatura ambiente) contendo 0,1 % de BSA, 40 mg/L de Bacitracin, tabletes de coquetel de inibidor de protease isento de EDTA completo 20
20 pílulas/L (Roche) e 3 mM de MnCl₂). As curvas de ligação de competição foram feitas adicionando-se quantidades crescentes do composto de teste. Os compostos de teste foram dissolvidos e diluídos em série em DMSO, concentração de DMSO final de 1,5 % no ensaio. 50 µl de ZD 6021 Não rotulado (um antagonista de NK não seletivo, 10 µM de conc final) foram
25 adicionados para a medição da ligação não específica. Para a ligação total, 50 µl de DMSO 1,5 % (conc final) em tampão de incubação foram usados. [³H-Sar, Met(O₂)-Substância P] (4 nM de conc final) foi usado em experimentos de ligação em hNK_{1r}. [³H-SR48968] (conc. final de 3 nM) para hNK_{2r} e [³H-SR142801] (conc final de 3 nM) para experimentos de ligação em hNK_{3r}. 50

μl de radioligando, 3 μl de composto de teste diluído em DMSO e 47 μl de tampão de incubação foram misturados com 5 a 10 μg de membranas celulares em 100 μl de tampão de incubação e incubada por 30 min na temperatura ambiente em um agitador de microplaca.

5 As membranas foram depois coletadas pela filtração rápida em Filtermat B (Wallac), pré embebido em 0,1 % de BSA e 0,3 % de Polietilenoimina (Sigma P-3143), usando um Colhedor Micro 96 Harvester (Skatron Instruments, Noruega). Os filtros foram lavados pela colhedora com tampão de lavagem gelado (50 mM de Tris-HCl, pH 7,4 a 4° C, contendo 3
10 mM de MnCl₂) e secado a 50° C por 30 a 60 min. Folhas de cintilador Meltilex foram fundidas nos filtros usando um Microselador (Wallac, Finlândia) e os filtros foram contados em um Contador de Cintilação Líquida β (1450 Microbeta, Wallac, Finlândia).

O valor K_i para o ligando não rotulado foi calculado usando a
15 equação de Cheng-Prusoff (Biochem. Pharmacol. 22: 3099 - 3108, 1973): onde L é a concentração do ligando radioativo usado e K_d é a afinidade do ligando radioativo para o receptor, determinada pela ligação de saturação.

Os dados foram ajustados para uma equação de quatro parâmetros usando Excel Fit.

$$K_i = IC_{50} / (1 + (L/K_d))$$

20 *Resultados*

No geral, os compostos da invenção, que foram testados, demonstraram atividade antagonística estatisticamente significativa no receptor de NK₁ dentro da faixa de 7 a 8 para o pK_B. Para o receptor de NK₂ a faixa para o pK_B foi de 7 a 9. No geral, a atividade antagonística no receptor
25 de NK₃ foi de 7 a 9 para o pK_B.

No geral, os compostos da invenção, que foram testados, demonstraram inibição de CYP3A4 estatisticamente significativa em um nível baixo. Os valores de IC₅₀ testados de acordo com Bapiro *et al*; Drug Metab.

Dispos. 29, 30-35 (2001) foram no geral maiores do que 10 μ M.

Atividade contra hERG

A atividade de compostos de acordo com a fórmula I contra o canal de potássio codificado por hERG pode ser determinado de acordo com
5 Kiss L, *et al.* Assay Drug Dev Technol. 1 (2003), 127-35: "High throughput ion-channel pharmacology: planar-array-based voltage clamp".

No geral, os compostos da invenção, que foram testados, demonstraram atividade de hERG estatisticamente significativa em um nível baixo. Os valores de IC₅₀ testados como descrito acima foram no geral
10 maiores do que 8 mM.

Estabilidade Metabólica

A estabilidade metabólica de compostos de acordo com a fórmula I pode ser determinada como descrito abaixo:

A taxa de biotransformação pode ser medida como formação
15 de metabólito(s) ou a taxa de desaparecimento do composto precursor. O planejamento experimental envolve a incubação de concentrações baixas de substrato (usualmente 1,0 μ M) com microsomas hepáticos (usualmente 0,5 mg/ml) e coletando alíquotas em pontos de tempo variáveis (usualmente 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40 min.). O composto de teste é usualmente dissolvido em
20 DMSO. A concentração de DMSO na mistura de incubação é usualmente de 0,1 % ou menos visto que mais solvente pode reduzir drasticamente as atividades de alguns CYP450s. As incubações são feitas em tampão de fosfato de potássio 100 mM, pH 7,4 e a 37° C. Acetonitrila ou metanol são usados para interromper a reação. O composto precursor é analisado pela HPLC-MS.
25 A partir da meia-vida calculada, $t_{1/2}$, a depuração intrínseca, Clint, é estimada levando-se a concentração de proteína microsômica e o peso do fígado em conta.

No geral, os compostos da invenção tiveram estabilidade metabólica *in vitro* a um nível alto. Os valores de depuração intrínseca

testados como acima foram no geral mais baixos do que 25 µl/min/mg de proteína.

A seguinte tabela ilustra as propriedades dos compostos da presente invenção:

5 N-[(2S)-4-{3-[4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}-2-(4-fluorofenil)butil]-3-bromo-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida
(Ex 1):

pKB (NK1)	pKB (NK2)	pKB (NK3)	IC ₅₀ (hERG)	IC ₅₀ (CYP3A4)	CLint (HLM)
7,7	8,6	8,4	11,0 µM	13,5 µM	23 µl/min/mg

Evolução biológica

Batida na Pata de Gerbo (modelo de teste específico de NK1)

10 Gerbos mongolianos machos (60 a 80 g) são adquiridos da Charles River, Alemanha. Na chegada, eles são alojados em grupos de dez, com alimento e água *ad libitum* em ambientes de contenção controlados em temperatura e umidade. Os animais são deixados pelo menos 7 dias para aclimatizar às condições de alojamento antes dos experimentos. Cada animal
15 é usado apenas uma vez e eutanizados imediatamente depois do experimento pela punção cardíaca ou uma dose excessiva letal de pentobarbital sódico.

Os gerbos são anestesiados com isoflurano. Os antagonistas do receptor de NK1 permeáveis ao CNS potenciais são administrados intraperitoneal, intravenosa ou subcutaneamente. Os compostos são dados em
20 vários pontos de tempo (tipicamente, 30 a 120 minutos) antes da estimulação com agonista.

Os gerbos são levemente anestesiados usando isoflurano e uma incisão pequena é feita na pele sobre a bregma. 10 pmol de ASMSP, um agonista do receptor de NK1 seletivo, é administrado icv em um volume de 5
25 µl usando uma seringa de Hamilton com uma agulha de 4 mm de comprimento. O ferimento é segurado fechado e o animal é colocado em uma pequena gaiola plástica e deixado acordar. A gaiola é colocada sobre um

pedaço de tubo plástico cheio de água e conectado a um computador por intermédio de um transdutor de pressão. O número de batidas com a pata traseira é registrado.

Modelo de Cromodacriorréia (modelo de teste específico de NK1)

5 As ações de antagonistas nos receptores de NK1 periféricos podem ser avaliadas em gerbos *in vivo* usando o chamado modelo de cromodacriorréia (Bristow L J, Young L. Chromodacryorrhea and repetitive hind paw tapping: models of peripheral and central tachykinin NK1 receptor activation in gerbils. Eur J Pharmacol 1994; 253: 245-252). Em resumo, a
10 administração sistêmica (intravenosa) de agonistas do receptor de NK1 aos gerbos anestesiados resultou na secreção abundante de lágrimas vermelhas/marrons nos olhos devido à secreção de porfirina da glândula Harderiana. Os antagonistas do receptor de NK1 bloqueiam a cromodacriorréia evocada pelo agonista de NK1.

15 *Saída de pelota fecal (modelo de teste específico de NK2)*

O efeito *in vivo* (NK2) dos compostos da fórmula I pode ser determinado medindo-se a saída de pelota fecal induzida pelo agonista do receptor de NK2 usando gerbo como descrito por exemplo em The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (2001), pp. 559 - 564.

20 *Modelo da Distensão Colorretal*

A distensão colorretal (CRD) em gerbos é realizada como anteriormente descrito em ratos e camundongos (Tampere A, Brusberg M, Axenborg J, Hirsch I, Larsson H, Lindstrom E. Evaluation of pseudo-affective responses to noxious colorectal distension in rats by manometric recordings. Pain 2005; 116: 220 - 226; Arvidsson S, Larsson M, Larsson H, Lindstrom E, Martinez V. Assessment of visceral pain-related pseudo-affective responses to colorectal distension in mice by intracolonic manometric recordings. J Pain 2006; 7: 108-118) com modificações leves. Em resumo, os gerbos são habituados às gaiolas de Bollmann 30 a 60 min por dia por três dias

consecutivos antes dos experimentos para reduzir erros experimentais de movimento devido ao estresse de encarceramento. Um balão de polietileno de 2 cm (feito em casa) com cateter de conexão é inserido no cólon distal, 2 cm a partir da base do balão para o ânus, durante anestesia de isoflurano leve (Forene[®], Abbott Scandinavia AB, Solna, Suécia). O cateter é fixado à cauda com fita. Os balões são conectados a transdutores de pressão (P-602, CFM-k33, 100 mmHg, Bronkhorst HI-TEC, Veenendal, Países Baixos). Os gerbos são deixados recuperar da sedação nas gaiolas de Bollmann por pelo menos 15 min antes do início dos experimentos.

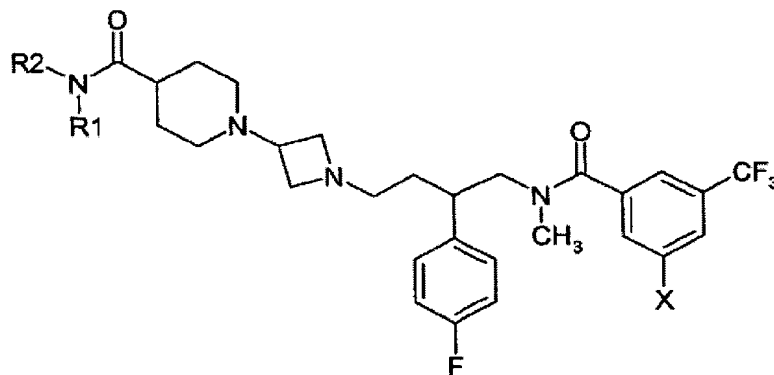
Um barostato feito de encomenda (AstraZeneca, Mölndal, Suécia) é usado para controlar a inflação de ar e controlar a pressão do balão. Um software de computador feito de encomenda (PharmLab *on-line* 4.0) rodando em um computador padrão é usado para controlar o barostato e para executar a coleta de dados. O paradigma da distensão usado consiste de 12 distensões fásicas repetidas a 80 mmHg, com uma duração de pulso de 30 segundos em intervalos de 5 min. Os compostos ou seus respectivos veículos são administrados como injeções intraperitoneais (i.p.) antes do paradigma de CRD. Cada gerbo recebe tanto veículo quanto composto em ocasiões diferentes com pelo menos dois dias entre os experimentos. Por este motivo, cada gerbo serve como o seu próprio controle de veículo.

Os canais de entrada de dados analógicos são amostrados com taxas de amostragem individuais, e a filtração digital é realizada nos sinais. Os sinais de pressão do balão são amostrados em 50 amostras/s. Um filtro de passagem alta a 1 Hz é usado para separar as mudanças de pressão induzidas pela contração da pressão que varia lentamente gerada pelo barostato. Uma resistência no fluxo de ar entre o gerador de pressão e o transdutor de pressão realça ainda as variações de pressão induzidas pelas contrações abdominais do animal. Um software de computador feito por encomenda (PharmLab *off-line* 4.0) é usado para quantificar a magnitude de sinais de pressão do balão

filtrados em passagem alta. O valor retificado médio (ARV) dos sinais de pressão de balão filtrados em passagem alta é calculado por 30 s antes do pulso (isto é, resposta de referência) e para a duração do pulso. Quando do cálculo da magnitude dos sinais de pressão do balão filtrados em passagem alta, o primeiro e o último segundos de cada pulso são excluídos visto que estes refletem sinais de erro experimental produzidos pelo barostato durante a inflação e deflação e não originam do animal.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que é da fórmula (I)



(I)

em que

R1 e R2 são cada um e independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou R1 e R2 formam um anel de quatro, cinco ou seis membros junto com o nitrogênio da amida, o dito anel contendo opcionalmente um átomo de oxigênio;

X é bromo ou cloro;

assim como sais destes farmaceutica e farmacologicamente aceitáveis, e enantiômeros do composto da fórmula I e sais destes.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 é hidrogênio.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 é metila.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 é etila.

5. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado pelo fato de que R2 é hidrogênio.

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado pelo fato de que R2 é metila.

7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado pelo fato de que R2 é etila.

8. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de morfolina.

5 9. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de azetidina.

10 10. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de pirrolidina.

11. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de isoxazolidina.

15 12. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, juntos com o nitrogênio da amida, formam um anel de oxazolidina.

13. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o composto é o enantiômero (S).

20 14. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é o maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidín-4-carboxamida.

15. Composto de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que fornece um padrão de difração de raio X em pó exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d:

Forma original do sal de maleato	
valor d (Å)	Intensidade relativa
5,48	vs
4,92	vs
4,77	vs
4,45	vs
3,69	vs
3,42	vs
3,21	vs

16. Composto de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que é um solvato de isopropanol.

17. Composto de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que fornece um padrão de difração de raio X em pó exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d:

Forma obtida depois da suspensão em isopropanol	
valor d (Å)	Intensidade relativa
9,55	vs
8,09	vs
5,86	vs
4,75	vs
4,43	vs
3,90	vs
3,58	vs
3,42	vs

18. Composto de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que fornece um padrão de difração de raio X em pó exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d:

Forma obtida depois da suspensão em isopropanol - temp aumentada	
valor d (Å)	Intensidade relativa
4,98	vs
4,81	vs
4,76	vs
4,56	vs
4,04	vs
3,65	vs

19. Composto de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que é um solvato de metil etil cetona.

20. Composto de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que fornece um padrão de difração de raio X em pó exibindo substancialmente os seguintes picos principais com valores d:

Forma obtida depois da suspensão em metil etil cetona	
valor d (Å)	Intensidade relativa
10,5	vs

7,49	vs
5,28	vs
5,16	vs
4,75	vs
4,64	vs
4,31	vs
4,21	vs
3,75	vs
3,53	vs

21. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é selecionado de

N-[(2S)-4-{3-[4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}-2-(4-fluorofenil)butil]-3-bromo-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida;

5 1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida;

1-{1-[(3S)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}piperidina-4-carboxamida; e

10 3-Bromo-N-((2S)-2-(4-fluorofenil)-4-{3-[4-(morfolin-4-ilcarbonil)-piperidin-1-il]azetidin-1-il}butil)-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida.

22. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 21, caracterizado pelo fato de que é para o uso em terapia.

15 23. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 21, caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio gastrointestinal funcional.

20 24. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 21, caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de IBS.

25. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 21, caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de dispepsia funcional.

26. Formulação farmacêutica, caracterizada pelo fato de que

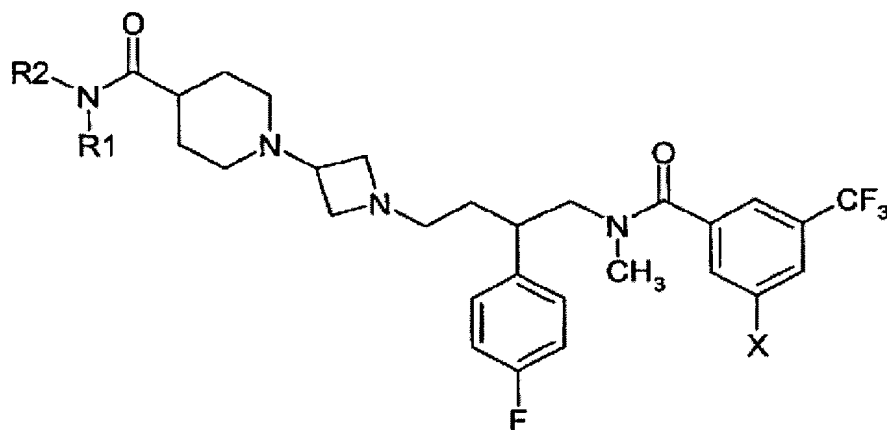
compreende um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 21 como ingrediente ativo e um carreador ou diluente farmacêuticamente aceitáveis.

27. Composto, caracterizado pelo fato de que é selecionado de
- 5 1-Azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina;
 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila;
 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidina;
 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-
 il]piperidina;
- 10 1-Azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina;
 1-Azetidin-3-il-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
 Ácido 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-
 carboxílico;
- 15 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]-N,N-dimetilpiperidina-4-
 carboxamida;
 1-Azetidin-3-il-N,N-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
 1-azetidin-3-ilpiperidina-4-carboxamida;
 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-carboxamida;
 Dicloridreto de 1-azetidin-3-ilpiperidina-4-carboxamida;
- 20 4-[(1-Azetidin-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina;
 4-({1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidin-4-il}carbonil)
 morfolina; e
 4-[(1-Azetidin-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina.

RESUMO

“COMPOSTO, USO DO MESMO, E, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA”

A presente invenção diz respeito a novos compostos da fórmula (I)



(I)

5 em que R1, R2 e X são como definidos na descrição, assim como sais e enantiômeros destes. A invenção também diz respeito às composições farmacêuticas que compreendam os ditos compostos, e ao uso dos ditos compostos em terapia, por exemplo no tratamento de distúrbios gastrointestinais. A invenção diz respeito ainda aos processos para a
10 preparação dos compostos. Os compostos são antagonistas do receptor de neurocinina (NK).