



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 364 727**

(51) Int. Cl.:

**C07D 205/04** (2006.01)

**A61K 31/397** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **08719316 .5**

(96) Fecha de presentación : **06.03.2008**

(97) Número de publicación de la solicitud: **2125714**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.12.2009**

(54) Título: **Sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida.**

(30) Prioridad: **16.03.2007 US 895163 P**

(73) Titular/es: **PFIZER LIMITED  
Ramsgate Road  
Sandwich, Kent CT13 9NJ, GB**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**13.09.2011**

(72) Inventor/es: **Glossop, Paul, Alan y  
James, Kim**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**13.09.2011**

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

**ES 2 364 727 T3**

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

### DESCRIPCIÓN

Sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida

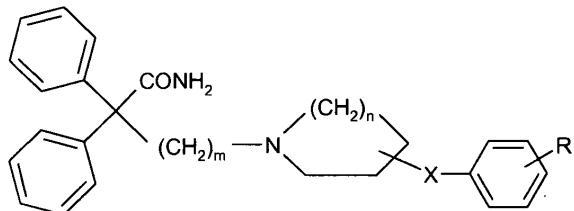
La presente invención se refiere a la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida y a procesos para su preparación de, a intermedios utilizados en la preparación de, a 5 composiciones que contienen y a los usos de, dicho compuesto.

La invención se refiere también a las formas derivadas de la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida, tales como hidratos, solvatos y polimorfos de la misma.

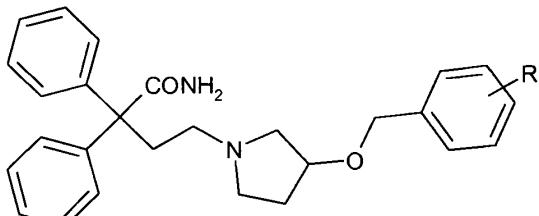
Los receptores muscarínicos colinérgicos son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G y se dividen adicionalmente en 5 subtipos, M<sub>1</sub> a M<sub>5</sub>. Los subtipos de receptor muscarínico están amplia y 10 diferencialmente expresados en el cuerpo. Se han clonado genes de los 5 subtipos y, de éstos, se han caracterizado farmacológicamente extensamente los receptores M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub> en tejido animal y humano. Los receptores M<sub>1</sub> se expresan en el cerebro (corteza e hipocampo), glándulas y en los ganglios de nervios simpáticos y parasimpáticos. Los receptores M<sub>2</sub> se expresan en el corazón, cerebro posterior, músculo liso y en las sinapsis del sistema nervioso 15 autónomo. Los receptores M<sub>3</sub> se expresan en el cerebro, glándulas y músculo liso. En las vías respiratorias, la estimulación de receptores M<sub>3</sub> provoca la contracción del músculo liso de las vías respiratorias, que conduce a broncoconstricción, mientras que en la glándula salivar, la estimulación del receptor M<sub>3</sub> aumenta la secreción de fluido y moco conduciendo a una salivación aumentada. Los receptores M<sub>2</sub> expresados en músculo liso se entiende 20 que son procontráctiles, mientras que los receptores M<sub>2</sub> presinápticos modulan la liberación de acetilcolina desde los nervios parasimpáticos. La estimulación de los receptores M<sub>2</sub> expresados en el corazón produce bradicardia. Los antagonistas muscarínicos de acción corta y prolongada se utilizan en el tratamiento de asma y EPOC; éstos incluyen los agentes de corta acción Atrovent® (bromuro de ipratropio) y Oxitent® (bromuro de oxitropio) y el agente 25 de acción prolongada Spiriva® (bromuro de tiotropio). Estos compuestos producen broncodilatación después de la administración inhalada. Además de mejoras en los valores espirométricos, el uso de agentes antimuscarínicos en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) está asociado a mejoras en el estado de salud y en la calidad de las evaluaciones vitales.

Como consecuencia de la amplia distribución de los receptores muscarínicos en el cuerpo, una exposición sistémica significativa a antagonistas muscarínicos se asocia a efectos tales como boca seca, estreñimiento, midriasis, retención urinaria (todos mediados predominantemente por el bloqueo de receptores M<sub>3</sub>) y taquicardia (mediada por el bloqueo de receptores M<sub>2</sub>). Un efecto secundario reseñado habitualmente después de la administración inhalada 30 de una dosis terapéutica de los antagonistas muscarínicos no selectivos, actuales, utilizados clínicamente es la boca seca, y aunque se reseña como de intensidad sólo leve, limita la dosis del agente inhalado administrado.

El documento JP11 100366 divulga antagonistas de receptores muscarínicos de fórmula:

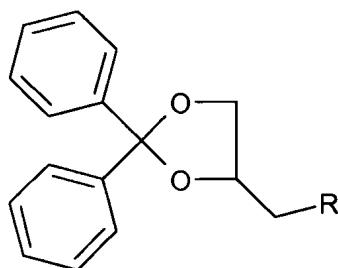


El documento EP 0 948 964 divulga antagonistas de receptores muscarínicos de fórmula:



35

y Angeli y col. (Bioorg & Med. Chem., 1997, vol. 5, nº 4, págs. 731-737) divulga antagonistas de receptores muscarínicos de fórmula:



en la que R puede seleccionarse de dialquilamino, azetidinilo, pirrolidinilo, piperidinilo opcionalmente sustituido, morfolinilo, etc.

5 Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de antagonistas del receptor M<sub>3</sub> mejorados que tengan un perfil farmacológico apropiado, por ejemplo, en términos de potencia, farmacocinética o duración de la acción. En este contexto, la presente invención se refiere a antagonistas del receptor M<sub>3</sub> novedosos. Existe la necesidad de antagonistas del receptor M<sub>3</sub> que tengan un perfil farmacológico adecuado para administración por la vía de inhalación.

10 La invención se refiere a la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida y sus hidratos, solvatos o polimorfos. Preferiblemente, la invención se refiere a una forma cristalina de la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida.

Preferiblemente, la invención se refiere a una forma cristalina no solvatada de la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida.

15 Preferiblemente, la sal clorhidrato de la invención tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por los siguientes picos principales de patrón de difracción de rayos X expresados en términos de ángulo 2-teta cuando se miden utilizando radiación Cu K $\alpha_1$  (longitud de onda= 1,5406 Å):

Angulo 2-teta°
9,1
11,2
13,7
18,3
19,7

20 Preferiblemente, la sal clorhidrato de la invención tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por los siguientes picos principales de patrón de difracción de rayos X expresados en términos de ángulo 2-teta cuando se miden utilizando radiación Cu K $\alpha_1$  (longitud de onda: 1,5406 Å):

Angulo 2-teta°
7,5
9,1
11,2
13,7
14,8
18,3
19,7

Preferiblemente, la sal clorhidrato de la invención tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por los siguientes picos principales de patrón de difracción de rayos X expresados en términos de ángulo 2-teta cuando se miden utilizando radiación Cu K $\alpha_1$  (longitud de onda: 1,5406 Å):

Angulo 2-teta°
7,5
9,1
11,2
13,7
14,8
18,3
19,7
23,4
28,3

Se ha encontrado ahora que la sal clorhidrato de la invención es un antagonista del receptor M<sub>3</sub> que es particularmente útil para el tratamiento de enfermedades y/o afecciones mediadas por M<sub>3</sub> y muestra una buena potencia, en particular cuando se administra por la vía de inhalación. La sal clorhidrato de la invención es particularmente adecuada para una administración por la vía de inhalación. En particular, la sal clorhidrato de la invención puede formularse para administración utilizando un inhalador de polvo seco.

La sal clorhidrato de la invención exhibe propiedades que incluyen la estabilidad en estado sólido y la compatibilidad con ciertos excipientes de producto farmacéutico que la hacen superior a su base libre correspondiente.

La sal clorhidrato de la invención puede prepararse a partir de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida según procesos convencionales para la preparación de sales tales como los dados a conocer en "Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection and Use", publicado por Wiley-VCH, 2002, editado por P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth, ISBN 3-906390-26-8".

La sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida puede existir tanto en formas no solvatadas como solvatadas. El término "solvato" se utiliza en la presente memoria para describir un complejo molecular que comprende la sal clorhidrato de la invención y una cantidad estequiométrica de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol. El término "hidrato" se emplea cuando dicho disolvente es agua.

Se incluyen dentro del ámbito de la invención complejos tales como clatratos, complejos de inclusión de medicamento-huésped en los que, en contraposición con los solvatos anteriormente citados, el medicamento y el huésped están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. Se incluyen también complejos del medicamento que contienen dos o más componentes orgánicos y/o inorgánicos que pueden estar en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. Los complejos resultantes pueden estar ionizados, parcialmente ionizados o no ionizados. Para una revisión de dichos complejos, véase J. Pharm. Sci. 64 (8), 1269-1288 de Halebian (agosto de 1975).

Están también incluidos dentro del alcance de la invención polimorfos y morfologías/hábitos cristalinos de la sal clorhidrato de la invención.

El término "sal clorhidrato de la invención" incluye la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida y sus hidratos, solvatos o polimorfos.

La sal clorhidrato de la invención es un compuesto farmacéuticamente activo valioso que es adecuado para la terapia y profilaxis de numerosos trastornos en los que están implicados receptores muscarínicos o en los que el antagonismo de este receptor puede inducir beneficios, en particular las enfermedades de las vías respiratorias alérgicas y no alérgicas (por ejemplo, asma, EPOC...), pero también en el tratamiento de otras enfermedades tales como enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad del intestino irritable, enfermedad diverticular, cinetosis, úlceras gástricas, examen radiológico del intestino, tratamiento sintomático de la HPB (hiperplasia prostática benigna), ulceración gástrica inducida por AINE, incontinencia urinaria (incluyendo incontinencia de urgencia, de frecuencia, imperiosa, vejiga hiperactiva, nocturia y síntomas del tracto urinario inferior), cicloplegia, enfermedad midriática y parkinsoniana.

La sal clorhidrato de la invención puede administrarse según la invención a animales, preferiblemente a mamíferos, y en particular a seres humanos, como producto farmacéutico para terapia y/o profilaxis. Puede administrarse per se, en mezclas entre sí o en forma de preparaciones farmacéuticas que contienen como constituyente activo una dosis eficaz de la sal clorhidrato de la invención, además de los excipientes y/o aditivos inocuos farmacéuticamente habituales.

La sal clorhidrato de la invención puede liofilizarse, secarse por pulverización o secarse por evaporación,

proporcionando un tapón sólido, polvo o película de material cristalino o amorfio. Puede utilizarse con este fin secado por microondas o radiofrecuencia.

- 5 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse sola o en combinación con otros medicamentos, y se administrará generalmente en forma de una formulación en asociación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en la presente memoria para describir cualquier ingrediente distinto de la sal clorhidrato de la invención. La elección del excipiente dependerá en gran medida del modo particular de administración.
- 10 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse directamente a la corriente sanguínea, al músculo o a un órgano interno. Los medios adecuados para administración parenteral incluyen intravenoso, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intrasternal, intracraneal, intramuscular y subcutáneo. Los dispositivos adecuados para administración parenteral incluyen inyectores de aguja (incluyendo microaguja), inyectores sin aguja y técnicas de infusión. Las formulaciones parenterales son típicamente disoluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes de tamponación (preferiblemente a un pH de 3 a 9) pero, para algunas aplicaciones, pueden formularse más adecuadamente en forma de una disolución no acuosa estéril o en forma seca para utilizar junto con un vehículo adecuado tal como agua estéril exenta de pirogénos. La preparación de las formulaciones parenterales en condiciones estériles, por ejemplo, mediante liofilización, puede conseguirse fácilmente utilizando técnicas farmacéuticas estándar bien conocidas por los expertos en la técnica.
- 15
- 20 Las formulaciones para administración parenteral pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos, controlada, orientada y programada. Por tanto, la sal clorhidrato de la invención puede formularse en forma de un sólido, semisólido o líquido tixotrópico para administración en forma de un depósito implantado que proporciona la liberación modificada del compuesto activo. Los ejemplos de dichas formulaciones incluyen prótesis endovasculares recubiertas con medicamento y microesferas de ácido poli-(DL-láctico-coglicólico) (PGLA).
- 25 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse también por vía tópica a la piel o mucosa, es decir, por vía dérmica o transdérmica. Las formulaciones típicas con este fin incluyen geles, hidrogeles, lociones, disoluciones, cremas, ungüentos, polvos para espolvorear, apósitos, espumas, películas, parches dérmicos, obleas, implantes, esponjas, fibras, vendajes y microemulsiones. Pueden utilizarse también liposomas. Los vehículos típicos incluyen alcohol, agua, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, glicerina, polietilenglicol y propilenglicol. Pueden incorporar potenciadores de la penetración, véase por ejemplo: J. Pharm. Sci. 88 (10), 955-958 de Finnin y Morgan (octubre de 1999).
- 30 Otros medios de administración tópica incluyen el suministro mediante electroporación, iontoforesis, fonoforesis, sonoforesis e inyección por microaguja o exenta de aguja (por ejemplo, Powderject™, Bioject™, etc.).
- 35 Las formulaciones para administración tópica pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos, controlada, orientada y programada.
- 40 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse también por vía intranasal o por inhalación, típicamente en forma de un polvo seco (solo, en forma de una mezcla, por ejemplo en una combinación seca con lactosa, o como una partícula de componentes mixtos, por ejemplo, mezclada con fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina) a partir de un inhalador de polvo seco o en forma de un pulverizador en aerosol a partir de un envase a presión, bomba, pulverizador, atomizador (preferiblemente un atomizador que utilice la electrohidrodinámica para producir una niebla fina), o nebulizador, con o sin el uso de un propelador adecuado, tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano o 1,1,1,2,3,3-heptafluoropropano. Para uso intranasal, el polvo puede comprender un agente bioadhesivo, por ejemplo, quitosán o ciclodextrina.
- 45 El envase a presión, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador contiene una disolución o suspensión del(de los) compuesto(s) de la invención que comprende, por ejemplo, etanol, etanol acuoso o un agente alternativo adecuado para dispersar, solubilizar o extender la liberación del principio activo, un(os) propelador(es) como disolvente(s) y un tensioactivo opcional tal como trioleato de sorbitán, ácido oleico o un ácido oligoláctico.
- 50 Antes del uso en una formulación en polvo seco o en suspensión, se microniza el producto farmacológico a un tamaño adecuado para suministro por inhalación (típicamente menos de 5 µm). Esto puede conseguirse mediante cualquier procedimiento de trituración apropiado tal como molido a chorro en espiral, molido a chorro en lecho fluidizado, procesamiento de fluido supercrítico para formar nanopartículas, homogeneización a alta presión o secado por pulverización. Las cápsulas (hechas, por ejemplo, de gelatina o hidroxipropilmelcelulosa), blísteres y cartuchos para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse para contener una mezcla en polvo de la sal clorhidrato de la invención, una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón y un modificador de la actividad tal como L-leucina, manitol o estearato de magnesio. La lactosa puede ser anhidra o estar en forma del monohidrato, preferiblemente lo último. Otros excipientes adecuados incluyen dextrano, glucosa, maltosa, sorbitol, xilitol, fructosa, sacarosa y trehalosa.
- 55 Una formulación en disolución adecuada para uso en un atomizador que utiliza la electrohidrodinámica para producir una niebla fina puede contener de 1 µg a 20 mg de la sal clorhidrato de la invención por accionamiento, y el volumen de accionamiento puede variar de 1 µl a 100 µl. Una formulación típica puede comprender la sal clorhidrato de la invención, propilenglicol, agua estéril, etanol y cloruro de sodio. Los disolventes alternativos que pueden utilizarse en lugar de propilenglicol incluyen glicerol y polietilenglicol.
- 60 Pueden añadirse aromas adecuados tales como mentol y levomentol, o edulcorantes tales como sacarina o sacarina de sodio a aquellas formulaciones de la invención concebidas para administración inhalada/intranasal.
- 65

Las formulaciones para administración inhalada/intranasal pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada utilizando, por ejemplo, PGLA. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos, controlada, orientada y programada.

- 5 En el caso de inhaladores de polvo seco y aerosoles, la unidad de dosificación se determina mediante una válvula que suministra una cantidad medida. Las unidades según la invención se disponen típicamente para administrar una dosis medida o "ráfaga" que contiene de 0,001 mg a 10 mg de la sal clorhidrato de la invención. La dosis diaria total estará típicamente en el intervalo de 0,001 mg a 40 mg, que puede administrarse en una sola dosis o, más habitualmente, en dosis divididas a lo largo del día. La sal clorhidrato de la invención es particularmente adecuada para administración por inhalación. En particular, la sal clorhidrato de la invención es adecuada para una formulación con lactosa en forma de polvo seco y por tanto puede administrarse utilizando un inhalador de polvo seco.
- 10 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse por vía rectal o vaginal, por ejemplo en forma de un supositorio, pesario o enema. La manteca de cacao es una base de supositorios tradicional, pero pueden utilizarse diversas alternativas según sea apropiado.
- 15 Las formulaciones para administración rectal/vaginal pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos, controlada, orientada y programada.
- 20 La sal clorhidrato de la invención puede administrarse también directamente al ojo o al oído, típicamente en forma de gotas de una suspensión o disolución micronizada en disolución salina estéril isotónica de pH ajustado. Otras formulaciones adecuadas para administración ocular y auricular incluyen ungüentos, implantes biodegradables (por ejemplo, esponjas de gel absorbible, colágeno) y no biodegradables (por ejemplo, silicona), obleas, lentes y sistemas de partículas o sistemas vesiculares tales como niosomas o liposomas. Puede incorporarse un polímero tal como ácido poliacrílico reticulado, poli (alcohol vinílico), ácido hialurónico, un polímero celulósico, por ejemplo, hidroxipropilmelcelulosa, hidroxietilcelulosa, o metilcelulosa, o un polímero heteropolisacárido, por ejemplo, goma gelano, junto con un conservante, tal como cloruro de benzalconio. Dichas formulaciones pueden suministrarse también por iontoporesis.
- 25 Las formulaciones para administración ocular/auricular pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos, controlada, orientada o programada.
- 30 La sal clorhidrato de la invención puede combinarse con entidades macromoleculares solubles, tales como ciclodextrina y derivados adecuados de la misma o polímeros que contienen polietilenglicol, para mejorar su solubilidad, velocidad de disolución, enmascaramiento del sabor, biodisponibilidad y/o estabilidad para uso en cualquiera de los modos de administración anteriormente mencionados. Se encuentra que los complejos de medicamento-ciclodextrina, por ejemplo, son útiles en general para la mayoría de las formas de dosificación y vías de administración. Pueden utilizarse tanto complejos de inclusión como de no inclusión. Como alternativa a la complejación directa con el medicamento, puede utilizarse la ciclodextrina como aditivo auxiliar, es decir, como vehículo, diluyente o solubilizante. Las más habitualmente utilizadas con estos fines son alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas, de las que pueden encontrarse ejemplos en las solicitudes de patente internacional Nº WO91/11172, WO94/02518 y WO98/55148.
- 35 Considerando que pueda ser deseable administrar una combinación de compuestos activos, por ejemplo con el fin de tratar una enfermedad o afección particular, está dentro del alcance de la presente invención que dos o más composiciones farmacéuticas, al menos una de las cuales contiene la sal clorhidrato de la invención, puedan combinarse convenientemente en forma de un kit adecuado para la coadministración de las composiciones.
- 40 Por tanto, el kit de la invención comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene la sal clorhidrato de la invención según la invención, y medios para retener separadamente dichas composiciones tales como un envase, botella dividida o envase de lámina de aluminio dividido. Es un ejemplo de dicho kit el familiar paquete blíster utilizado para envasar comprimidos, cápsulas y similares.
- 45 El kit de la invención es particularmente adecuado para administrar diferentes formas de dosificación, por ejemplo, parenteral, para administrar composiciones separadas en intervalos de dosificación diferentes o para valorar las composiciones separadas entre sí. Para ayudar al cumplimiento, el kit comprende típicamente instrucciones para la administración y puede proporcionarse con un denominado recordatorio.
- 50 Para administración a pacientes humanos, la dosis diaria total de la sal clorhidrato de la invención está típicamente en el intervalo de 0,001 mg a 5.000 mg dependiendo, por supuesto, del modo de administración. Por ejemplo, una dosis diaria intravenosa puede requerir sólo de 0,001 mg a 40 mg. La dosis diaria total puede administrarse en dosis única o divididas y, a discreción del médico, puede caer fuera del intervalo típico dado en la presente memoria.
- 55 Estas dosificaciones están basadas en un sujeto humano medio que tiene un peso de aproximadamente 65 kg a 70 kg. El médico será capaz de determinar fácilmente dosis para sujetos cuyo peso caiga fuera de este intervalo, tales como niños y ancianos.
- 60 Para evitar dudas, las referencias en la presente memoria a "tratamiento" incluyen referencias a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.
- 65 Según otra realización de la presente invención, la sal clorhidrato de la invención o composiciones de la misma pueden utilizarse también como una combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para coadministrar a un paciente para obtener cierto resultado final terapéutico particularmente deseado tal como el tratamiento de procesos patológicos patofisiológicamente relevantes incluyendo, pero sin limitación (i) broncoconstricción, (ii) inflamación, (iii) alergia, (iv) destrucción de tejido, (v) signos y síntomas tales como falta de

aliento, tos.

Como se utilizan en la presente memoria, los términos "coadministración", "coadministrado" y "en combinación con", con respecto a la sal clorhidrato de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos, se pretende que signifique, y designa e incluye, lo siguiente:

- 5     • la administración simultánea de dicha combinación de sal clorhidrato de la invención y agente(s) terapéutico(s) a un paciente necesitado de tratamiento, cuando dichos componentes se formulan conjuntamente en una forma de dosificación única que libera dichos componentes sustancialmente al mismo tiempo en dicho paciente,
- 10    • la administración sustancialmente simultánea de dicha combinación de sal clorhidrato de la invención y agente(s) terapéutico(s) a un paciente necesitado de tratamiento, cuando dichos componentes se formulan separadamente entre sí en formas de dosificación separadas que se toman sustancialmente al mismo tiempo por dicho paciente, tras lo cual dichos componentes se liberan sustancialmente al mismo tiempo en dicho paciente,
- 15    • la administración secuencial de dicha combinación de sal clorhidrato de la invención y agente(s) terapéutico(s) a un paciente necesitado de tratamiento, cuando dichos componentes se formulan por separado entre sí en formas de dosificación separadas que se toman consecutivamente por dicho paciente con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, tras lo cual dichos componentes se liberan en tiempos sustancialmente diferentes en dicho paciente; y
- 20    • la administración secuencial de dicha combinación de sal clorhidrato de la invención y agente(s) terapéutico(s) a un paciente necesitado de tratamiento, cuando dichos componentes se formulan conjuntamente en una forma de dosificación única que libera dichos componentes de manera controlada, tras lo cual se administran simultánea, consecutiva y/o solapadamente al mismo tiempo y/o en tiempos diferentes a dicho paciente,

en los que cada parte puede administrarse por la misma vía o vía diferente.

Los ejemplos adecuados de otros agentes terapéuticos que pueden utilizarse en combinación con el(las) compuesto(s) de fórmula (I), o sales, hidratos, solvatos o polimorfos o composiciones de los mismos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan en modo alguno a:

- 25    (a) inhibidores de 5-lipooxigenasa (5-LO) o antagonistas de proteína activadora de 5-lipooxigenasa (FLAP),  
 (b) antagonistas de leucotrieno (LTRA) incluyendo antagonistas de LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub>,  
 (c) antagonistas de receptor de histamina incluyendo antagonistas de H1 y H3,  
 (d) agentes simpaticomiméticos vasoconstrictores agonistas de adrenoceptor α1 y α2 para uso descongestivo,
- 30    (e) agonistas de β<sub>2</sub> de acción corta o prolongada,  
 (f) inhibidores de PDE, por ejemplo, inhibidores de PDE3, PDE4 y PDE5,  
 (g) teofilina,  
 (h) cromoglicato de sodio,  
 (i) inhibidores de COX inhibidores tanto no selectivos como selectivos de COX-1 o COX-2 (AINE),
- 35    (j) glucocorticosteroides orales e inhalados,  
 (k) anticuerpos monoclonales activos contra entidades inflamatorias endógenas,  
 (l) agentes anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNFα),  
 (m) inhibidores de moléculas de adhesión incluyendo antagonistas de VLA-4,
- 40    (n) antagonistas de receptor de cinina B1 y B2,  
 (o) agentes inmunosupresores,  
 (p) inhibidores de metaloproteasas de matriz (MMP),  
 (q) antagonistas de receptor de taquicinina NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> y NK<sub>3</sub>,
- 45    (r) inhibidores de elastasa,  
 (s) agonistas de receptor de adenosina A2a,  
 (t) inhibidores de urocinasa,  
 (u) compuestos que actúan sobre receptores de dopamina, por ejemplo, agonistas de D2,
- (v) moduladores de la ruta de NFκB, por ejemplo inhibidores de IKK,  
 (w) moduladores de las rutas de señalización de citocina tales como cinasa MAP p38 o cinasa syk,

- (x) agentes que pueden clasificarse como mucolíticos o antitusivos,
- (y) antibióticos,
- (z) inhibidores de HDAC,
- (aa) inhibidores de PI3 cinasa, y
- 5 (bb) antagonistas de CXCR2.

Según la presente invención, se prefiere la combinación de los compuestos de fórmula (I) con:

- antagonistas de H3,
- agonistas de  $\beta_2$ ,
- inhibidores de PDE4,
- 10 - esteroides, especialmente glucocorticosteroides,
- agonistas de receptor de adenosina A2a,
- moduladores de las rutas de señalización de citocina tales como cinasa MAP p38 o cinasa syk, o
- antagonistas de leucotrieno (LTRA) incluyendo antagonistas de LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub>.

Según la presente invención, se prefiere adicionalmente la combinación de los compuestos de fórmula (I) con:

- 15 - glucocorticosteroides, en particular glucocorticosteroides inhalados con efectos secundarios sistémicos reducidos, incluyendo prednisona, prednisolona, flunisolida, acetónido de triamcinolona, dipropionato de beclometasona, budesonida, propionato de fluticasona, ciclesonida y furoato de mometasona, o
- agonistas de  $\beta_2$  incluyendo en particular salbutamol, terbutalina, bambuterol, fenoterol, salmeterol, formoterol, tulobuterol y sus sales.

20 Ha de apreciarse que todas las referencias en la presente memoria a tratamiento incluyen tratamiento curativo, paliativo y profiláctico. La descripción siguiente se refiere a las aplicaciones terapéuticas en las que puede utilizarse la sal clorhidrato de la invención.

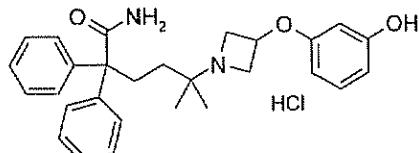
25 La sal clorhidrato de la invención tiene la capacidad de interaccionar con el receptor M<sub>3</sub> y por tanto tener un amplio intervalo de aplicaciones terapéuticas, como se describe más adelante, debido al papel esencial que desempeña la sal clorhidrato en la fisiología de todos los mamíferos.

30 Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a la sal clorhidrato de la invención o composiciones de la misma, para uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones en los que está implicado el receptor M<sub>3</sub>. Más específicamente, la presente invención se refiere también a la sal clorhidrato de la invención, para uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones seleccionadas del grupo que consiste en:

- broncoconstricción crónica o aguda, bronquitis crónica, obstrucción de las vías respiratorias pequeñas y enfisema;
- 35 • enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular una enfermedad obstructiva o inflamatoria de las vías respiratorias que es un miembro seleccionado del grupo constituido por neumonía eosinofílica crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), EPOC que incluye bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada o no asociada a EPOC, EPOC que se caracteriza por una obstrucción progresiva irreversible de las vías respiratorias, síndrome de las dificultades respiratorias en el adulto (SDRA), exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de terapia con otro medicamento y enfermedad de las vías respiratorias que está asociada a hipertensión pulmonar;
- 40 • bronquitis de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular bronquitis que es un miembro seleccionado del grupo constituido por bronquitis aguda, bronquitis laringotraqueal aguda, bronquitis araquídica, bronquitis catarral, bronquitis de crup, bronquitis seca, bronquitis asmática infecciosa, bronquitis productiva, bronquitis por *Staphylococcus* o *Streptococcus* y bronquitis vesicular;
- 45 • asma de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular asma que es un miembro seleccionado del grupo constituido por asma atópica, asma no atópica, asma alérgica, asma bronquial atópica mediada por IgE, asma bronquial, asma esencial, asma verdadera, asma intrínseca causada por perturbaciones patofisiológicas, asma extrínseca causada por factores ambientales, asma esencial de causa desconocida o no evidente, asma no atópica, asma bronquítica, asma enfisematoso, asma inducida por el ejercicio, asma inducida por alérgeno, asma inducida por aire frío, asma laboral, asma infecciosa causada por infección bacteriana, fúngica, protozoaria o vírica, asma no alérgica, asma incipiente, síndrome sibilante del lactante y bronquiolitis;
- 50 • lesión pulmonar aguda;

- bronquiectasia de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular bronquiectasia que es un miembro seleccionado del grupo constituido por bronquiectasia cilíndrica, bronquiectasia sacular, bronquiectasia fusiforme, bronquiectasia capilar, bronquiectasia quística, bronquiectasia seca y bronquiectasia folicular.

**Ejemplo 1:Clorhidrato de amida del ácido 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanoico**



5 Se añadió una disolución de HCl 1,25 M en metanol (6,3 ml, 7,8 mmol) a una disolución de amida del ácido 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanoico (3,5 g, 7,8 mmol) en metanol (30 ml). Se agitó la disolución a t a durante 3 h, después se dispuso en un baño de hielo durante 6 h. Al no observarse precipitación, se concentró la disolución a presión reducida retirando algo del disolvente (17 ml) y se agitó la disolución resultante a t a durante 16 h, proporcionando un precipitado. Se filtró la suspensión, se lavó con metanol (10 ml) y se secó en una estufa a vacío a 40°C, proporcionando clorhidrato de amida del ácido 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanoico en forma de un sólido blanco, 2,55 g (67%).

10 Se determinó el punto de fusión del ejemplo 1 mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC) utilizando un calorímetro de barrido diferencial Perkin Elmer Diamond. Se calentó la muestra a 20°C/minuto, desde temperatura ambiental hasta 300°C, en una cubeta de aluminio aireada de 50 µl. Se muestra la curva de DSC en la Figura 3. Se evidenció el punto de fusión por una fuerte endotermia a 218,7°C (inicio a 215,3°C).

**Procedimiento de difracción de rayos X en polvo**

20 Se midió el patrón de difracción de rayos X en polvo utilizando un difractómetro de rayos X en polvo Bruker-AXS Ltd. D4 equipado con un cambiador de muestras automático, un goniómetro teta-teta, ranura de divergencia de rayo automática y un detector PSD Vantec-1. Se preparó la muestra para análisis montando en un montaje de muestra de oblea de silicio de fondo bajo. Se rotó la muestra mientras se irradiaba con rayos X Cu K $\alpha_1$  (longitud de onda= 1,5406 Å) con el tubo de rayos X operado a 40 kV/35 mA. Se realizaron los análisis con el goniómetro funcionando en modo continuo fijado para una cuenta de 0,2 s por etapa de 0,018° durante un intervalo de 2-teta de 2 a 55°. Se muestra el patrón medido en la Figura 1. Se muestra el patrón de difracción de rayos X en polvo resultante con intensidades y localización de picos (el error de ángulo 2θ es ±0,1°) en la tabla 1:

**Tabla 1**

Angulo 2-teta °	Intensidad %	Angulo 2-teta °	Intensidad %
7,5	15,9	22,8	59,4
9,1	55,6	23,4	65,9
11,2	42,5	24,1	50,9
13,7	65,6	24,5	25,5
13,9	21,8	25,0	14,6
14,2	5,5	25,8	17,0
14,8	40,6	26,5	21,2
15,3	27,0	27,6	18,4
16,2	29,2	27,7	16,6
16,4	23,1	28,3	28,1
17,7	14,1	29,5	17,8
18,3	64,1	30,5	14,2
19,0	36,7	30,9	35,1
19,3	52,3	31,3	12,4
19,5	14,2	32,0	16,6

19,7	100,0	33,6	18,6
20,1	20,9	34,8	12,6
20,3	35,4	35,2	14,2
21,3	28,0	38,4	15,8
21,5	18,7	39,1	13,4
21,8	60,9	40,9	14,4

#### Determinación de la estructura cristalina mediante difracción de rayos X monocristalina

Se determinó la estructura cristalina del ejemplo 1 mediante difracción de rayos X monocristalina a temperatura ambiente utilizando un difractómetro de rayos X monocristalino Bruker SMART APEX y radiación Mo K $\alpha$ . Se integraron<sup>1</sup> las intensidades a partir de varias series de exposiciones en las que cada exposición cubría 0,3° en  $\omega$ , con un tiempo de exposición de 30 s y el conjunto de datos totales era mayor que un hemisferio. Se corrigieron los datos para absorción utilizando el procedimiento de multibarriado<sup>2</sup>. Se resolvió exitosamente la estructura cristalina mediante procedimientos directos utilizando SHELXS-97<sup>3</sup> en el grupo espacial P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub> y se refinó mediante el procedimiento de mínimos cuadrados utilizando SHELXL-97<sup>4</sup>.

10 <sup>1</sup>software SMART v5.622 (de control) y SAINT v6.02 (de integración), Bruker AXS Inc., Madison, WI 1994.

<sup>2</sup>SADABS, programa para escalar y corregir los datos de detector de área, G.M. Sheldrick, Universidad de Gotinga, 1997 (basado en el procedimiento de R.H. Blessing, Acta Cryst. 1995, A51, 33-38).

<sup>3</sup>SHELXS-97, programa para la resolución de la estructura cristalina, G.M. Sheldrick, Universidad de Gotinga, Alemania, 1997, publicación 97-2.

15 <sup>4</sup>SHELXL-97, programa para el refinado de la estructura cristalina, G.M. Sheldrick, Universidad de Gotinga, Alemania, 1997, publicación 97-2.

#### Cálculo del patrón de difracción de rayos X en polvo a partir de la estructura cristalina del ejemplo 1

Se calcularon los ángulos 2θ e intensidades relativas a partir de la estructura monocristalina del ejemplo 1 utilizando el módulo de "Difracción de polvo Reflex" de Accelrys MS Modelling™ (versión 3.0). Los parámetros pertinentes de simulación fueron:

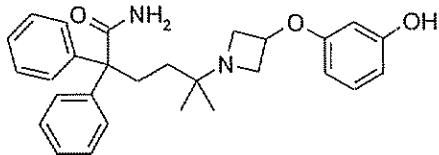
Longitud de onda= 1,5406 Å (Cu K $\alpha$ )

Factor de polarización: 0,5

Perfil seudo-Voigt (U= 0,01, V= -0,001, W= 0,002).

El patrón calculado representa el de una fase pura del ejemplo 1, puesto que deriva de una estructura monocristalina. Se muestra una comparación de los patrones medido y calculado en la Figura 2, y se demuestra que la mayor parte está representada por la estructura monocristalina. Las ligeras discrepancias entre intensidades de pico pueden atribuirse a efectos de orientación preferida en el patrón medido. La Figura 2 muestra los patrones de PXRD del ejemplo 1 (SUPERIOR: patrón medido, INFERIOR: patrón calculado a partir de la estructura monocristalina).

#### 30 Preparación 1: 5-[3-(3-Hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida

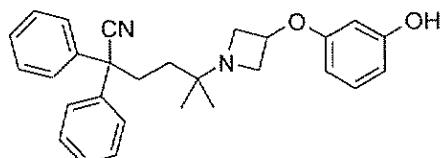


Se calentó a 80°C una suspensión de 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo (0,16 g, 0,38 mmol, 1 eq), alcohol terc-amílico (1,8 ml, 12 ml/g) y KOH (0,41 g, 7,26 mmol, 20 eq) durante 2 d, tras lo cual la HPLC mostró la terminación de la reacción. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente, después se repartió entre agua y TBME, se acidificó la fase acuosa a pH 8 con HCl ac, se separaron las fases y se concentró la fase orgánica, proporcionando 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida en forma de un aceite incoloro, 0,11 g (68%).

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,10 (s, 6H), 1,22-1,34 (m, 2H), 2,42-2,55 (m, 2H), 3,28-3,40 (m, 2H), 3,65-3,88 (m, 2H), 4,70-4,80 (m, 1H), 5,55-5,70 (s a, 2H), 6,23-6,36 (m, 2H), 6,45-6,53 (m, 1H), 7,03-7,12 (m, 1H), 7,19-7,39 (m,

10H). EMBR ESI m/z 445 [M+H]<sup>+</sup>.

**Preparación 2: 5-[3-(3-Hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo**

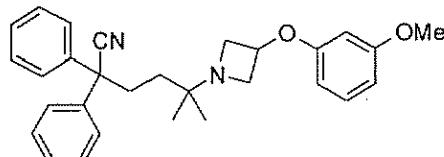


5 Se añadió 5-[3-(3-metoxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo (40 g, 90,8 mmol, 1 eq) a ácido metanosulfónico (200 ml, 5 ml/g) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, después DL-metionina (40,6 g, 272 mmol, 3 eq), dando como resultado una disolución. Se agitó la disolución durante 3 d a temperatura ambiente y 1 da 30°C antes de añadir DL-metionina adicional (5,42 g, 36 mmol, 0,4 eq) y se mantuvo a 30°C durante 2 días adicionales, tras lo cual la HPLC indicó la terminación de la reacción (<5% de MP).

10 Se diluyó la mezcla con iso-PrOAc (400 ml) y después *cuidadosamente* con agua (400 ml). Se mezclaron las fases durante 15 minutos, después se separaron. Se lavó la fase orgánica con NaOH 1 M (400 ml), después agua (2 x 200 ml) antes de secar sobre MgSO<sub>4</sub>, y se concentraron hasta un sólido blanco a presión reducida a 40°C. Se resuspendió el sólido en tolueno (160 ml, 4 ml/g) a ~5°C durante 1 hora, después se filtró, se lavó con tolueno frío (80 ml, 2 ml/g) y se secó en una estufa a vacío a 50°C durante 2 días, proporcionando 5-[3-(3-hidroxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo en forma de un sólido blanco, 29,3 g (76%). El análisis por HPLC muestra >98% del área.

15 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,98 (s, 6H), 1,35-1,44 (m, 2H), 2,41-2,52 (m, 2H), 3,18-3,26 (m, 2H), 3,48-3,57 (m, 2H), 4,65-4,74 (m, 1H), 6,26-6,29 (m, 1H), 6,32-6,37 (m, 1H), 6,43-6,47 (m, 1H), 7,12 (t, J= 8,2 Hz, 1H), 7,25-7,44 (m, 10H).

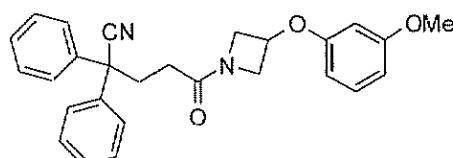
**Preparación 3: 5-[3-(3-Metoxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo**



20 Se añadió ZrCl<sub>4</sub> (80,4 g, 0,35 mol, 2,1 eq) en porciones a THF (700 ml) en atmósfera de N<sub>2</sub> enfriado en un baño de hielo manteniendo una temperatura inferior a 15°C, dando como resultado una suspensión marrón. Se enfrió después la mezcla adicionalmente en un baño de hielo/MeOH antes de la adición de MeMgCl (3 M en THF, 493 ml, 1,48 mol, 9 eq) durante 1 h, manteniendo la temperatura inferior a 0°C. Se añadió lentamente una disolución preformada de 5-[3-(3-metoxifenoxi)azetidin-1-il]-5-oxo-2,2-difenilpentanonitrilo (70 g, 0,164 mol, 1 eq) en THF (210 ml, 3 ml/g) a la disolución de Zr/Grignard controlando la exotermia a menos de 0°C. Se mantuvo la suspensión marrón resultante a 0°C durante 6,5 h antes de añadir Me-THF (700 ml) seguido de inactivación *cuidadosa* con NH<sub>4</sub>Cl acuoso (previamente preparado con 400 ml de NH<sub>4</sub>Cl sat. + 500 ml de agua). Tras la separación, la fase orgánica se lavó con agua (3 x 350 ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se intercambió el disolvente por EtOH a 40°C a presión reducida, dando como resultado un precipitado de 210 ml de volumen final (3 ml/g). Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 18 h, después se enfrió en un baño de hielo durante 1 h, se filtró, se lavó con EtOH (140 ml, 2 ml/g) y se secó en una estufa a vacío a 45°C durante 5 h, proporcionando 5-[3-(3-metoxifenoxi)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanonitrilo en forma de un sólido blanco, 43,1 g (60%). El análisis por HPLC muestra >99% del área.

35 RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,90-1,03 (m, 6H), 1,31-1,44 (m, 2H), 2,41-2,56 (m, 2H), 3,07-3,24 (m, 2H), 3,42-3,54 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 4,63-4,74 (m, 1H), 6,28-6,38 (m, 2H), 6,48-6,55 (m, 1H), 7,26-7,49 (m, 11H); EMBR APCI m/z 441 [M+H]<sup>+</sup>.

**Preparación 4: 5-[3-(3-Metoxifenoxi)azetidin-1-il]-5-oxo-2,2-difenilpentanonitrilo**



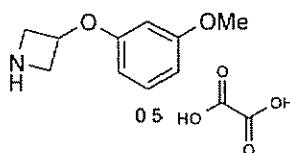
40 A una suspensión de ácido 4-ciano-4,4-difenilbutírico (300 g, 1,13 mol, 1 eq) en EtCN (3,0 l, 3 ml/g) a t a se añadió DMAP (13,82 g, 0,11 mol, 0,1 eq), hemioxalato de 3-(3-metoxifenoxi)azetidina (253,5 g, 1,13 mol, 1 eq) después WSCDI (325,2 g, 1,68 mol, 1,5 eq), dando como resultado una ligera efervescencia, una exotermia a 10°C y la disolución hasta una disolución. Despues de 2 h, se consideró completada la reacción por HPLC (sin amina detectada). Se añadió HCl 2 M (1,2 l, 4 ml/g) y se agitó la mezcla bifásica durante 10 min antes de separar, lavando

la fase orgánica con NaOH 2 M (1,5 l, 5 ml/g) y agua (2 x 1,5 l).

Se concentró la disolución hasta sequedad a presión reducida a 40°C y se reemplazó por MeOH. Se repitió esto para retirar todo el EtCN y se dejó enfriar la disolución metanólica caliente resultante de 2,5 l de volumen (8,33 ml/g), dando como resultado una suspensión densa. Se enfrió la suspensión en un baño de hielo durante 2 h, después se filtró, se lavó con MeOH (600 ml, 2 ml/g) y se secó el sólido a vacío durante 18 h a 45°C, proporcionando 5-[3-(3-metoxifenoxy)azetidin-1-il]-5-oxo-2,2-difenilpentanonitrilo en forma de un sólido blanco, 347 g (72%). El análisis por HPLC muestra >98% del área.

10 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2,07-2,16 (m, 2H), 2,69-2,77 (m, 2H), 3,70-3,78 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,94-4,00 (m, 1H), 4,21-4,29 (m, 1H), 4,42-4,45 (m, 1H), 4,92-5,00 (m, 1H), 6,36-6,42 (m, 2H), 6,54-6,59 (m, 1H), 7,16-7,23 (m, 1H), 7,30-7,40 (m, 2H), 7,41-7,46 (m, 8H).

#### Preparación 5: Hemioxalato de 3-(3-metoxifenoxy)azetidina

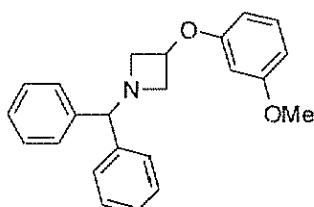


15 Se añadieron 1-benzhidril-3-(3-metoxifenoxy)azetidina (300 g, 0,87 mol, 1 eq), Pd(OH)<sub>2</sub> (20% en peso sobre carbono) (60 g, 20% en peso) y EtOH (6 l, 20 ml/g) a un recipiente de hidrogenación adecuado. Se sometió la mezcla a 413,7 kPa de H<sub>2</sub> y se agitó a ta hasta terminación de la reacción después de 48 h (<5% de MP por HPLC).

Se filtró la mezcla de reacción sobre Arbocel y se lavó abundantemente con EtOH, después se concentró a un volumen de 1,2 l (4 ml/g) a presión reducida a 40°C. Se añadió a la disolución resultante a ta ácido oxálico (39,11 g, 0,43 mmol, 0,5 eq) en porciones, dando como resultado una suspensión densa y una exotermia a 15°C. Se dejó agitar la mezcla durante 3 días a ta.

20 20 Se enfrió la suspensión en un baño de hielo durante 2 h, después se filtró, se lavó con EtOH (600 ml, 2 ml/g) y se secó el sólido a vacío a 50°C durante 18 h, proporcionando hemioxalato de 3-(3-metoxifenoxy)azetidina en forma de un sólido blanco, 165 g (85%). El análisis por HPLC muestra >96% del área.

#### Preparación 6: 1-Benzhidril-3-(3-metoxifenoxy)azetidina



25 25 Se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (610,6 g, 4,42 mol, 1,2 eq) a una disolución de éster 1-benzhidrilazetidin-3-ílico del ácido metanosulfónico (1.169 g, 3,68 mol, 1 eq) en EtCN (2,33 l, 2 ml/g) a ta. Se añadió a la suspensión resultante una disolución preformada de 3-metoxifeno (548,3 g, 4,42 mol, 1,2 eq) en EtCN (3,50 l, 3 ml/g), y se calentó la mezcla a 80°C en atmósfera de N<sub>2</sub> durante 18 h, tras lo cual se observó la terminación de la reacción (<5% de éster 1-benzhidrilazetidin-3-ílico del ácido metanosulfónico por HPLC).

30 30 Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió NaOH 1 M (5,85 l, 5 ml/g) y se agitó la disolución resultante durante ~15 min antes de dejar separar. Se repartieron las fases y se lavó la fase orgánica con NaOH 1 M (3,51 l, 3 ml/g) y salmuera ac. (116 g de NaCl en 5,58 l de agua, 5 ml/g). Se dispuso la fase orgánica en condiciones de destilación atmosférica y se intercambió el disolvente por MeOH mediante concentración hasta bajo volumen (2 ml/g) y después adiciones secuenciales de MeOH, proporcionando una suspensión de 4 ml/g sin EtCN detectado por RMN-<sup>1</sup>H.

35 35 Se enfrió la suspensión a 0°C durante 3 h, después se filtró, se lavó con MeOH (2,5 l) y se secó el sólido a vacío a 50°C durante 18 h, proporcionando PF1261660 en forma de un sólido blanco, 944 g (74%). El análisis por HPLC muestra >99% del área.

#### Abreviaturas

ta = temperatura ambiente

40 Me = metilo

Ph = fenilo

MP = material de partida

h = hora

min = minutos

d = día

#### **Actividad *in vitro* de la sal clorhidrato de la invención**

##### **Ensayo de potencia**

- 5 Se determina la potencia de  $M_3$  en células CHO-K1 transfectadas con el gen betalactamasa-NFAT. Se transfectan células CHO (ovario de hámster chino) que expresan recombinantemente el receptor muscarínico humano  $M_3$  con el plásmido NFAT $_{\beta}$ -Lac\_Zeo. Se cultivan las células en DMEM con Glutamax-1, suplementado con HEPES 25 mM (Life Technologies 32430-027) que contiene 10% de FCS (suero de ternera fetal, Sigma F-7524), piruvato de sodio 1 nM (Sigma S-8636), AAANE (aminoácidos no esenciales, Invitrogen 11140-035) y 200  $\mu$ g/ml de zeocina (Invitrogen R250-01).
- 10

##### **Protocolo de ensayo de $hM_3 \beta$ -Lac**

- Se recogen células para ensayo cuando alcanzan 80-90% de confluencia utilizando disolución de disociación celular exenta de enzimas (Life Technologies 13151-014) incubada con las células durante 5 min a 37°C en una atmósfera que contiene 5% de CO<sub>2</sub>. Se recogen las células desprendidas en medio de crecimiento calentado y se centrifugan a 2.000 rpm durante 10 min, se lavan en PBS (disolución salina tamponada con fosfato: Life Technologies 14190-094) y se centrifugan de nuevo como se acaba de describir. Se resuspenden las células a  $2 \times 10^5$  células/ml en medio de crecimiento (composición como se describe anteriormente). Se añaden 20  $\mu$ l de esta suspensión celular a cada pocillo de una placa negra de fondo transparente de 384 pocillos (Greiner Bio One 781091-PFI). El tampón de ensayo utilizado es PBS suplementado con 0,05% de Pluronic F-127 (Sigma 9003-11-6) y 2,5% de DMSO. Se estimula la señalización del receptor muscarínico  $M_3$  utilizando carbamilcolina 80 nM (Aldrich N240-9) incubada con las células durante 4 h a 37°C/5% de CO<sub>2</sub>, y se controla al final del periodo de incubación utilizando un lector de placas Tecan SpectraFluor+ ( $\lambda$  de excitación 405 nm, de emisión 450 nm y 503 nm). Se añade el compuesto que se va a ensayar al ensayo al inicio del periodo de incubación de 4 horas y se mide la actividad del compuesto como la inhibición dependiente de la concentración de la señal inducida por carbamilcolina. Se representan las curvas de inhibición y se generan los valores de  $IC_{50}$  utilizando un ajuste sigmoideo de 4 parámetros y se convierten en valores de  $K_i$  utilizando la corrección de Cheng-Prusoff y el valor de  $K_D$  para la carbamilcolina en el ensayo.

##### **Ensayo de tráquea de conejillo de indias**

- Se sacrifican de manera selectiva conejillos de indias Dunkin-Hartley macho de 350-450 g de peso con una concentración creciente de CO<sub>2</sub>, seguido de exanguinación de la vena cava. Se extirpan las tráqueas desde la laringe hasta el punto de entrada en la cavidad torácica y después se disponen en disolución tampón de Krebs modificada oxigenada reciente (Krebs que contiene propranolol 10  $\mu$ M, guanetidina 10  $\mu$ M e indometacina 3  $\mu$ M) a temperatura ambiente. Se abren las tráqueas cortando a través del cartílago enfrente del músculo traqueal. Se cortan tiras de aproximadamente 3-5 anillos de cartílago de anchura. Se une un hilo de algodón al cartílago en un extremo de la tira para la conexión al transductor de fuerza y se hace un bucle con el algodón en el otro extremo para anclar el tejido en el baño de órganos. Se montan las tiras en baños de órganos de 5 ml llenados con Krebs modificado aireado caliente (37°C). Se fija el caudal de la bomba a 1,0 ml/min y se lavan continuamente los tejidos. Se disponen los tejidos a una tensión inicial de 1.000 mg. Se retensionan los tejidos después de 15 y 30 minutos, después se dejan equilibrar durante 30-45 minutos adicionales.

- 40 Se someten los tejidos a estimulación eléctrica de campo (EEC) con los siguientes parámetros: series de 10 s cada 2 minutos, amplitud de pulso 0,1 ms, 10 Hz y 10-30 V. Se eleva el voltaje 5 V cada 10 min dentro del intervalo indicado hasta observar una respuesta contráctil máxima de cada tejido. Este voltaje cuasimáximo para cada tejido se utiliza después a lo largo del resto del experimento. Después de equilibrar la EEC durante 20 min, se detiene la bomba, y después de 15 min se toman lecturas de control durante un periodo de 8-10 min (4-5 respuestas). Se añade después compuesto a cada tejido en forma de una dosis de bolo a  $30 \times K_i$  (determinada en el receptor  $M_3$  humano expresado en células CHO en un ensayo de unión por filtración), y se deja incubar durante 2 h. Se lava después el compuesto de los tejidos utilizando un lavado rápido con Krebs modificado durante 1 min y se restaura el flujo a 1 ml/min durante el resto del experimento. Al final del experimento, se exponen los tejidos a histamina (1  $\mu$ M) para determinar la viabilidad. Se recogen automáticamente las lecturas tomadas durante el experimento utilizando el software Notocord®. Se convierten los datos brutos en porcentaje de respuesta teniendo en cuenta las medidas de inhibición de la respuesta a EEC. Después de empezar el lavado, se registran los tiempos empleados para que el tejido se recupere un 25% de la inhibición inducida y se utilizan como medida de la duración de la acción del compuesto. La viabilidad del tejido limita la duración del experimento a 16 h después del lavado del compuesto. Se ensayan típicamente los compuestos a  $n=2$  a 5 para estimar la duración de la acción.

##### **Puede utilizarse también como alternativa el siguiente ensayo de tráquea de conejillo de indias:**

- 55 Se extirpan las tráqueas de conejillos de indias Dunkin-Hartley macho (peso 350-450 g) y, después de la retirada del tejido conectivo adherente, se hace una incisión a través del cartílago enfrente del músculo traqueal y se preparan tiras traqueales de 3-5 anillos de cartílago de anchura. Se suspenden las tiras traqueales entre un extensómetro isométrico y un gancho de tejido fijado con el músculo en el plano horizontal en baños de tejido de 5 ml bajo una tensión inicial de 1 g y bañadas en disolución de Krebs calentada (37°C) aireada (95% de O<sub>2</sub>/5% de CO<sub>2</sub>) que contiene indometacina 3  $\mu$ M y guanetidina 10  $\mu$ M.

- 60 Se disponen los tejidos entre electrodos de alambre de platino paralelos (~1 cm de hueco). Se mantiene un flujo constante de 1 ml/min de disolución de Krebs reciente (de la composición anterior) a través de los baños de tejido utilizando bombas peristálticas. Se dejan equilibrar los tejidos durante 1 hora con retensionado a 1 g a los 15 min y 30 min desde el inicio del periodo de equilibrado. Al final del equilibrado, se someten a estimulación eléctrica de campo (EEC) utilizando los siguientes parámetros: 10 V, 10 Hz, 0,1 ms de amplitud de pulso con trenes de 10 s

cada 2 min. En cada tejido, se construye una curva de respuesta al voltaje en el intervalo de 10 V - 30 V (manteniendo todos los demás parámetros de estimulación constantes) para determinar la estimulación cuasimáxima. Utilizando estos parámetros de estimulación, las respuestas de EEC son 100% mediadas por nervio y 100% colinérgicas, como se confirma por el bloqueo por tetrodotoxina 1  $\mu$ M o atropina 1  $\mu$ M. Se estimulan entonces 5 repetidamente los tejidos a intervalos de 2 min hasta que las respuestas fueron reproducibles. Se detiene la bomba peristáltica 20 min antes de la adición del compuesto de estudio y se registra la contracción muscular media durante los 10 últimos minutos como la respuesta de control. Se añade el compuesto de estudio a los baños de tejido, recibiendo cada tejido una sola concentración de compuesto, y se deja equilibrar durante 2 h. A las 2 h después de 10 la adición, se registra la inhibición de la respuesta de EEC y se generan curvas de  $Cl_{50}$  utilizando un intervalo de concentraciones de compuesto sobre las tiras traqueales del mismo animal. Se lavan después rápidamente los 15 tejidos y se reestablece la perfusión de 1 ml/min con disolución de Krebs. Se estimulan los tejidos durante 16 h adicionales y se registra la recuperación de la respuesta a EEC. Al final de las 16 h, se añade histamina 10  $\mu$ M a los baños para confirmar la viabilidad del tejido. Se identifica la concentración cuasimáxima (concentración ensayada que da una respuesta >70% de inhibición pero menor del 100%) del antagonista a partir de la curva de  $Cl_{50}$  y se calcula el tiempo para alcanzar un 25% de recuperación de la inhibición inducida ( $T_{25}$ ) en tejidos que reciben esta concentración. Se ensayan típicamente los compuestos a n= 2 a 5 para estimar la duración de la acción.

### REIVINDICACIONES

1. Sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida.
2. Una forma cristalina no solvatada de la sal clorhidrato de 5-[3-(3-hidroxifenoxy)azetidin-1-il]-5-metil-2,2-difenilhexanamida, según la reivindicación 1.

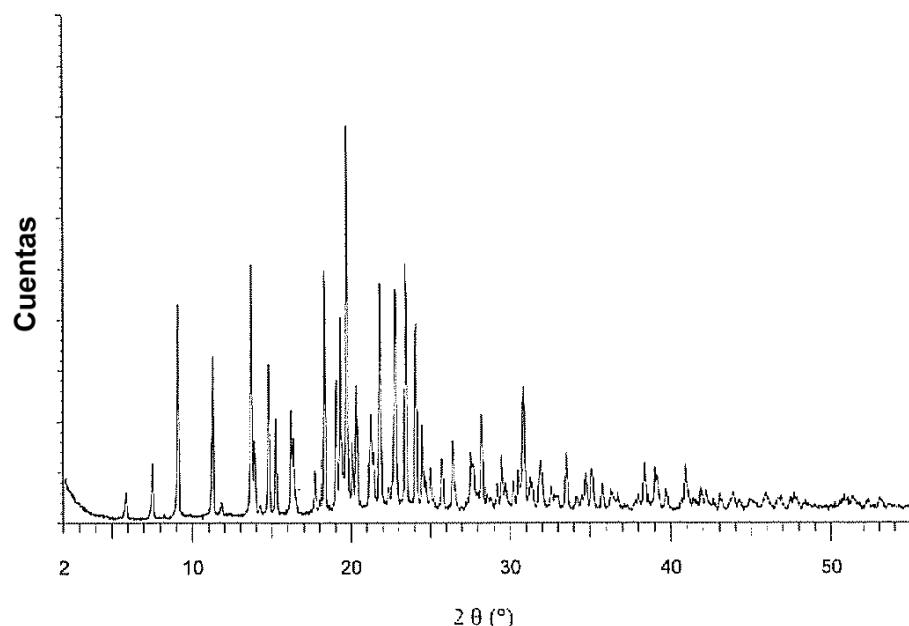
5 3. Un compuesto según la reivindicación 2 que tiene un patrón de difracción de rayos X **caracterizado por** los siguientes picos principales de patrón de difracción de rayos X expresados en términos de ángulo 2-teta cuando se miden utilizando radiación Cu K $\alpha_1$  (longitud de onda= 1,5406 Å)

Ángulo 2-teta ( $\pm 0,1^\circ$ )
9,1
11,2
13,7
18,3
19,7

- 10 4. Una composición farmacéutica que comprende al menos una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o un hidrato, solvato o polimorfo del mismo.
- 5 5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un hidrato, solvato o polimorfo del mismo, para su uso como un medicamento.
6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un hidrato, solvato o polimorfo del mismo, para su uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones seleccionados del grupo que consiste en:
- 15 • broncoconstricción crónica o aguda, bronquitis crónica, obstrucción de las vías respiratorias pequeñas y enfisema;
- enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular una enfermedad obstructiva o inflamatoria de las vías respiratorias que es un miembro seleccionado del grupo que consiste en neumonía eosinofílica crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), EPOC que incluye bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada o no asociada a EPOC, EPOC **que se caracteriza por** una obstrucción progresiva irreversible de las vías respiratorias, síndrome de las dificultades respiratorias en el adulto (SDRA), exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de terapia con otro medicamento y enfermedad de las vías respiratorias que está asociada a hipertensión pulmonar;
- 20 • bronquitis de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular bronquitis que es un miembro seleccionado del grupo que consiste en bronquitis aguda, bronquitis laringotraqueal aguda, bronquitis araquídica, bronquitis catarral, bronquitis de crup, bronquitis seca, bronquitis asmática infecciosa, bronquitis productiva, bronquitis por *Staphylococcus* o *Streptococcus* y bronquitis vesicular;
- 25 • asma de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular asma que es un miembro seleccionado del grupo que consiste en asma atópica, asma no atópica, asma alérgica, asma bronquial atópica mediada por IgE, asma bronquial, asma esencial, asma verdadera, asma intrínseca causada por perturbaciones patofisiológicas, asma extrínseca causada por factores ambientales, asma esencial de causa desconocida o no evidente, asma no atópica, asma bronquítica, asma enfisematoso, asma inducida por el ejercicio, asma inducida por alérgeno, asma inducida por aire frío, asma laboral, asma infecciosa causada por infección bacteriana, fúngica, protozoaria o vírica, asma no alérgica, asma incipiente, síndrome sibilante del lactante y bronquiolitis;
- 30 • lesión pulmonar aguda;
- bronquiectasia de cualquier tipo, etiología o patogénesis, en particular bronquiectasia que es un miembro seleccionado del grupo que consiste en bronquiectasia cilíndrica, bronquiectasia sacular, bronquiectasia fusiforme, bronquiectasia capilar, bronquiectasia quística, bronquiectasia seca y bronquiectasia folicular.
- 35 7. El uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un hidrato, solvato o polimorfo del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones seleccionadas del grupo según se describe en la reivindicación 6.
8. Una combinación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una forma derivada del mismo, con un agente terapéutico seleccionado de:
- (a) inhibidores de 5-lipooxigenasa (5-LO) o antagonistas de proteína activadora de 5-lipooxigenasa (FLAP),
- 45 (b) antagonistas de leucotrieno (LTRA) incluyendo antagonistas de LT<sub>B</sub><sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub>,
- (c) antagonistas de receptor de histamina incluyendo antagonistas de H<sub>1</sub> y H<sub>3</sub>,

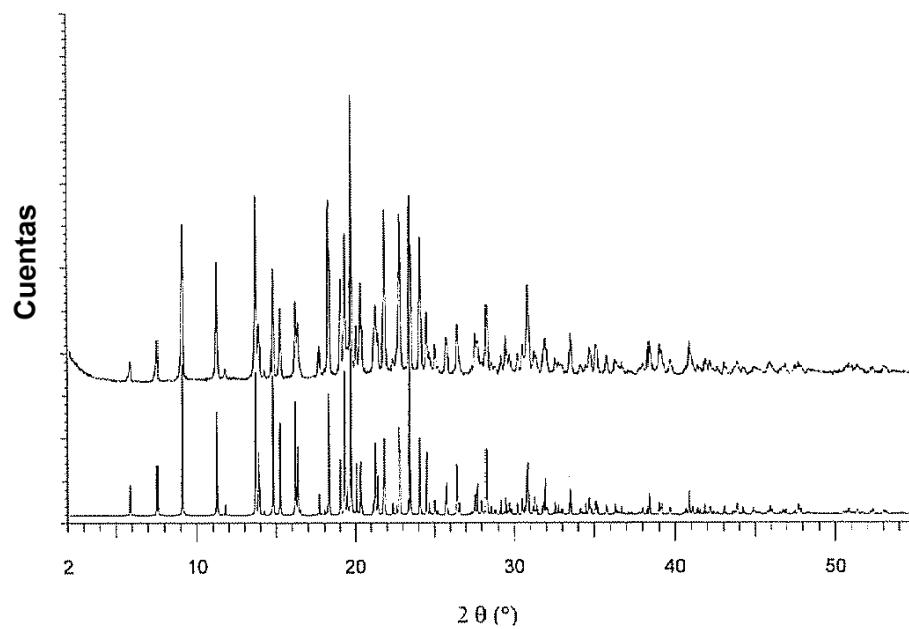
- (d) agentes simpaticomiméticos vasoconstrictores agonistas de adrenoceptor  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  para uso descongestivo,
- (e) agonistas de  $\beta_2$  de acción corta o prolongada,
- (f) inhibidores de PDE, por ejemplo, inhibidores de PDE3, PDE4 y PDE5,
- 5 (g) teofilina,
- (h) cromoglicato de sodio,
- (i) inhibidores de COX inhibidores tanto no selectivos como selectivos de COX-1 o COX-2 (AINE),
- (j) glucocorticosteroides orales e inhalados,
- (k) anticuerpos monoclonales activos contra entidades inflamatorias endógenas,
- 10 (l) agentes anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNF $\alpha$ ),
- (m) inhibidores de moléculas de adhesión incluyendo antagonistas de VLA-4,
- (n) antagonistas de receptor de cinina B1 y B2,
- (o) agentes inmunosupresores,
- (p) inhibidores de metaloproteasas de matriz (MMP),
- 15 (q) antagonistas de receptor de taquicinina NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> y NK<sub>3</sub>,
- (r) inhibidores de elastasa,
- (s) agonistas de receptor de adenosina A2a,
- (t) inhibidores de urocinasa,
- (u) compuestos que actúan sobre receptores de dopamina, por ejemplo, agonistas de D2,
- 20 (v) moduladores de la ruta de NF $\kappa$ B, por ejemplo inhibidores de IKK,
- (w) moduladores de las rutas de señalización de citocina tales como cinasa MAP p38 o cinasa syk,
- (x) agentes que pueden clasificarse como mucolíticos o antitusivos,
- (y) antibióticos,
- (z) inhibidores de HDAC,
- 25 (aa) inhibidores de PI3 cinasa, y
- (bb) antagonistas de CXCR2.

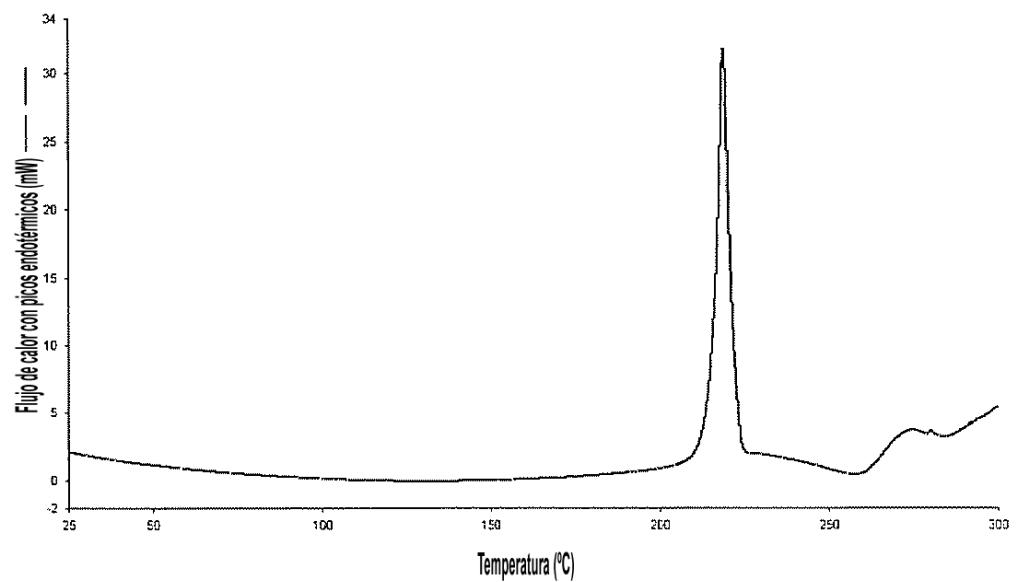
**FIGURA 1**



**FIGURA 2**

5



**FIGURA 3**

5