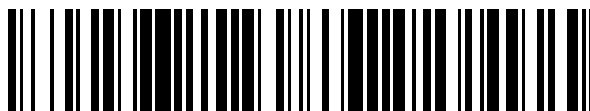


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 335**

51 Int. Cl.:
C07D 211/62 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
A61K 31/4523 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07748146 .3**
96 Fecha de presentación: **16.05.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2024354**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.02.2009**

54 Título: **DERIVADOS DE 1-[(4-[BENZOIL(METIL)AMINO]-3-(FENIL)BUTIL]AZETIDINA PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS GASTROINTESTINALES 1.**

30 Prioridad:
18.05.2006 US 801577 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.02.2012

73 Titular/es:
ALBIREO AB
ARVID WALLGRENS BACKE 20
413 46 GÖTEBORG, SE

72 Inventor/es:
JOHANSSON, Anders;
JOHANSSON, Johan y
SIGFRIDSSON, Carl-Gustav

74 Agente: **Lehmann Novo, Isabel**

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).

ES 2 373 335 T3

DESCRIPCIÓN

Derivados de 1-[(4-[benzoil(metil)amino]-3-(fenil)butil]azetidina para el tratamiento de trastornos gastrointestinales 1

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula I, a composiciones farmacéuticas que los contienen y al uso de dichos compuestos en tratamiento. La presente invención se refiere además a procesos para la preparación de compuestos de fórmula I.

10

Antecedentes de la invención

Las neuroquininas, también conocidas como taquiquininas, comprenden una clase de neurotransmisores peptídicos que se encuentran en los sistemas nerviosos central y periférico. Las tres taquiquininas principales son la sustancia P (SP), la neuroquinina A (NKA) y la neuroquinina B (NKB). Se conocen al menos tres tipos de receptores para las tres taquiquininas principales. Basándose en sus selectividades relativas que favorecen a los agonistas SP, NKA y NKB, los receptores se clasifican como receptores de neuroquinina 1 (NK₁), neuroquinina 2 (NK₂) y neuroquinina 3 (NK₃), respectivamente.

15

20

Existe la necesidad de un antagonista del receptor NK que sea activo por vía oral para el tratamiento, por ejemplo, de trastornos respiratorios, cardiovasculares, neurológicos, por dolor, oncológicos, inflamatorios y/o gastrointestinales. Para aumentar el índice terapéutico de dicho tratamiento es deseable obtener un compuesto tal que posea una toxicidad mínima o no sea tóxico y que sea selectivo para dichos receptores NK. Además, se considera necesario que dicho medicamento tenga propiedades farmacocinéticas y metabólicas favorables, proporcionando así un mejor perfil terapéutico y de seguridad como menores propiedades de inhibición de las enzimas hepáticas.

25

30

Es bien sabido que ciertos compuestos pueden causar efectos indeseados en la repolarización cardíaca en los humanos, observados como una prolongación del intervalo QT en los electrocardiogramas (ECG). En circunstancias extremas, esta prolongación del intervalo QT inducida por fármacos puede provocar un tipo de arritmia cardíaca denominada Torsades de Pointes (TdP; Vandenberg et al. *hERG K⁺ channels: friend and foe*. Trends Pharmacol Sci 2001; 22: 240-246), que lleva en último término a fibrilación ventricular y muerte repentina. El fenómeno principal en este síndrome es la inhibición por esos compuestos del componente rápido de la corriente rectificadora tardía de potasio (IKr). Los compuestos se unen a las subunidades alfa que forman la apertura de la proteína de canal que transporta esta corriente. Las subunidades alfa que forman la apertura son codificadas por el gen humano relacionado al gen éter a-go-go (hERG). Puesto que IKr desempeña un papel clave en la repolarización del potencial de acción cardíaco, su inhibición entorpece la repolarización y esto se manifiesta como una prolongación del intervalo QT. Si bien la prolongación del intervalo QT no es una preocupación de seguridad en sí misma, acarrea un riesgo de efectos adversos cardiovasculares y en un pequeño porcentaje de personas puede llevar a TdP y degeneración en fibrilación ventricular.

40

45

En particular, es deseable que el antagonista del receptor NK tenga un equilibrio adecuado en las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas para que sea terapéuticamente útil. Además de tener una potencia suficiente y selectiva, el antagonista del receptor NK necesita ser equilibrado con respecto a las propiedades farmacocinéticas atinentes. Por lo tanto, es necesario que el antagonista de NK tenga: a) afinidades suficientemente altas por los diferentes receptores NK, b) propiedades farmacocinéticas (propiedades de absorción, distribución y eliminación) que hagan posible que el fármaco actúe en los receptores NK diana principalmente en la periferia. Por ejemplo, el antagonista del receptor NK necesita tener una estabilidad metabólica suficientemente alta, c) afinidades suficientemente bajas por los diferentes canales iónicos, como el canal de potasio codificado por hERG para obtener un perfil de seguridad tolerable y d) propiedades de inhibición de enzimas hepáticas (como CYP3A4) en un bajo nivel para evitar las interacciones fármaco-fármaco.

50

Por otra parte, para mejorar la eficacia del antagonista del receptor NK, es beneficioso tener un antagonista de NK con un modo de acción competitivo de larga duración en el receptor.

55

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 y WO 03/037889 dan a conocer derivados de piperidinilbutilamida, que son antagonistas de taquiquininas.

60

"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, da a conocer el compuesto *N*-[2-(3,4-diclorofenil)-4-(3-morfolin-4-ilazetidina-1-il)butil]-*N*-metilbenzamida que se encontró que poseía propiedades antagonistas funcionales del receptor NK₂.

WO 96/05193, WO 97/27185 y EP 0962457 da a conocer derivados de azetidinilalquilactama con actividad antagonista de taquiquininas.

5 EP 0790248 da a conocer azetidinilalquilazapiperidonas y azetidinilalquioxapiperidonas, que se afirma que son antagonistas de taquiquininas.

WO 99/01451 y WO 97/25322 dan a conocer derivados de azetidinilalquilpiperidina que se reivindica que son antagonistas de taquiquininas.

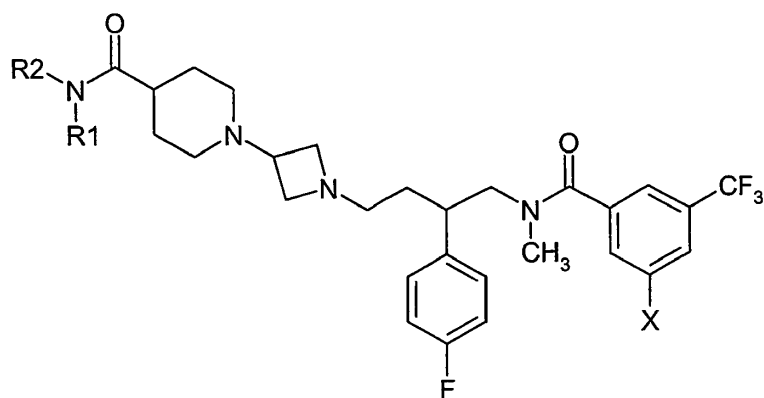
10 EP 0791592 da a conocer azetidinilalquilglutarimidias con propiedades antagonistas de taquiquininas.

W02004/110344 A2 da a conocer antagonistas duales de NK1,2 y su uso.

15 Un objetivo de la presente invención era proporcionar nuevos antagonistas de neuroquininas útiles en terapia. Otro objetivo era proporcionar nuevos compuestos que tuvieran propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas bien equilibradas.

Esbozo de la invención

20 La presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I)



(I)

donde

25 R1 y R2 se seleccionan, cada uno independientemente, entre hidrógeno, metilo, etilo o R1 y R2 forman un anillo de cuatro, cinco o seis miembros junto con el nitrógeno de la amida, donde dicho anillo contiene opcionalmente un átomo de oxígeno;

X es bromo o cloro;

así como sus sales farmacéutica y farmacológicamente aceptables, y los enantiómeros del compuesto de fórmula I y sus sales.

30 En una realización, R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo morfolina.

En una realización, R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo azetidina.

35 En una realización, R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo pirrolidina.

En una realización, R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo isoxazolidina.

En una realización, R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo oxazolidina.

40 La presente invención se refiere a los compuestos de fórmula I, como los definidos antes, así como a sus sales. Las sales para usar en composiciones farmacéuticas serán sales farmacéuticamente aceptables, pero otras sales pueden ser útiles en la producción de los compuestos de fórmula I.

45 Los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos y tales sales también están comprendidas en el alcance de esta invención. Los ejemplos de dichas sales de adición de ácido incluyen acetato, adipato, ascorbato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclohexilsulfamato, etanosulfonato, fumarato, glutamato, glicolato, hemisulfato, 2-hidroxietilsulfonato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, hidroximaleato, lactato, malato,

maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nitrato, oxalato, palmoato, persulfato, fenilacetato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, quinato, salicilato, estearato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, tartrato, tosilato (p-toluenosulfonato) y undecanoato.

5 Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir del ácido correspondiente de manera convencional. Las sales que no son farmacéuticamente aceptables pueden ser útiles como intermedios y como tales son otro aspecto de la presente invención.

Las sales de adición de ácido también pueden estar en forma de sales poliméricas como sulfonatos poliméricos.

10 Las sales se pueden formar por métodos convencionales, por ejemplo haciendo reaccionar la base libre del producto con uno o más equivalentes del ácido adecuado en un solvente o medio en el cual la sal sea poco soluble, o en un solvente como agua, que se elimina al vacío o por liofilización, o intercambiando los aniones de una sal existente por otro anión, en una resina de intercambio iónico adecuada.

15 Los compuestos de fórmula I tienen un centro quiral, y se debe comprender que la invención abarca todos los isómeros ópticos y enantiómeros. Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) pueden estar en forma de los estereoisómeros individuales, es decir, el enantiómero individual (el enantiómero R o el enantiómero S). Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) también pueden estar en forma de una mezcla racémica, es decir, una mezcla equimolar de los enantiómeros.

Los compuestos pueden existir como una mezcla de los isómeros conformacionales. Los compuestos de esta invención comprenden tanto los isómeros conformacionales individuales como las mezclas de dichos isómeros.

25 Formulaciones farmacéuticas

De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona una formulación farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula I, como un enantiómero individual, un racemato o una mezcla de éstos como una base libre, o sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la prevención y/o el tratamiento de trastornos respiratorios, cardiovasculares, neurológicos, por dolor, oncológicos, inflamatorios y/o gastrointestinales.

30 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar de manera habitual para la enfermedad que se desea tratar, por ejemplo, por administración oral, tópica, parenteral, bucal, nasal, vaginal o rectal o por inhalación o insuflación. Para esos propósitos los compuestos de esta invención se pueden formular por los métodos conocidos en el área en forma de, por ejemplo, comprimidos, pellas, cápsulas, soluciones acuosas u oleosas, suspensiones, emulsiones, cremas, pomadas, geles, aerosoles nasales, supositorios, polvos finamente divididos, o aerosoles o nebulizadores para inhalación, y para uso parenteral (que incluye administración intravenosa, intramuscular o infusión) soluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles, o emulsiones estériles.

40 Además de los compuestos de la presente invención, la composición farmacéutica de esta invención también puede contener, o ser coadministrada con (simultánea o secuencialmente), uno o más agentes farmacológicos valiosos para el tratamiento de una o más enfermedades de las mencionadas en este documento.

45 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se administrarán normalmente a seres humanos en una dosis diaria de un compuesto de fórmula I de 0.01 a 25 mg/kg de peso corporal. Alternativamente, se administrará una dosis diaria del compuesto de fórmula I de 0.1 a 5 mg/kg de peso corporal. Esa dosis diaria se puede administrar en dosis fraccionadas según sea necesario, donde la cantidad precisa administrada del compuesto y la vía de administración dependen del peso, la edad y el género del paciente que está siendo tratado, y de la enfermedad particular que está siendo tratada de acuerdo con los principios conocidos en el área.

50 Típicamente, cada unidad de la forma farmacéutica contendrá aproximadamente de 1 mg a 500 mg de un compuesto de esta invención. Por ejemplo un comprimido o una cápsula para administración oral pueden contener convenientemente hasta 250 mg (y típicamente de 5 a 100 mg) de un compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otro ejemplo, para administración por inhalación, un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se puede administrar en una dosis diaria que varíe de 5 a 100 mg, en una dosis única o fraccionada en dos a cuatro dosis diarias. En otro ejemplo, para administración por inyección intravenosa o intramuscular o infusión, se puede usar una solución o suspensión estéril que contenga hasta 10% p/p (y típicamente 5% p/p) de un compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

60 Uso médico y farmacéutico

La presente invención proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad en la que el antagonismo de las taquiquininas que actúan en los receptores NK es beneficioso, el cual comprende administrar a un sujeto una

cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables en la preparación de un medicamento para usar en una enfermedad en la que el antagonismo de las taquiquininas que actúan en los receptores NK es beneficioso.

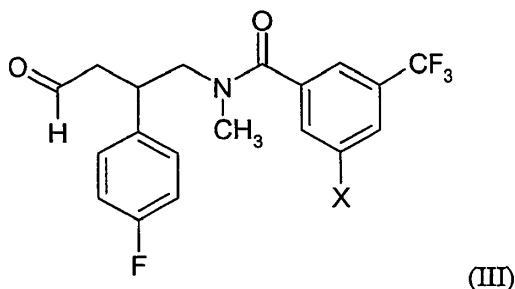
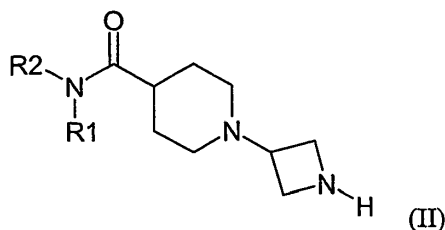
Los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables o sus solvatos, se pueden usar en la fabricación de un medicamento para usar en la prevención o el tratamiento de trastornos respiratorios, cardiovasculares, neurológicos, por dolor, oncológicos y/o gastrointestinales.

Los ejemplos de dichos trastornos son asma, rinitis alérgica, enfermedades pulmonares, tos, resfriado, inflamación, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, reactividad de las vías respiratorias, urticaria, hipertensión, artritis reumatoide, edema, angiogénesis, dolor, migraña, cefalea tensional, psicosis, depresión, ansiedad, enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, enfermedad de Huntington, hipermotilidad de la vejiga, incontinencia urinaria, trastornos alimentarios, depresión maníaca, dependencia de sustancias, trastornos del movimiento, trastornos cognitivos, obesidad, trastornos por estrés, trastornos de la micción, manía, hipomanía y agresión, trastorno bipolar, cáncer, carcinoma, fibromialgia, dolor torácico no cardíaco, hipermotilidad gastrointestinal, asma gástrica, enfermedad de Crohn, trastornos del vaciamiento gástrico, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable (SII), enfermedad inflamatoria del intestino (EII), emesis, asma gástrica, trastornos de la motilidad gástrica, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE) o dispepsia funcional.

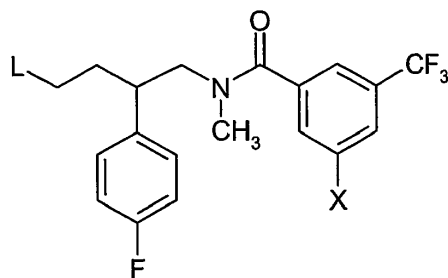
Métodos de preparación

En otro aspecto la presente invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales donde el proceso comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III):



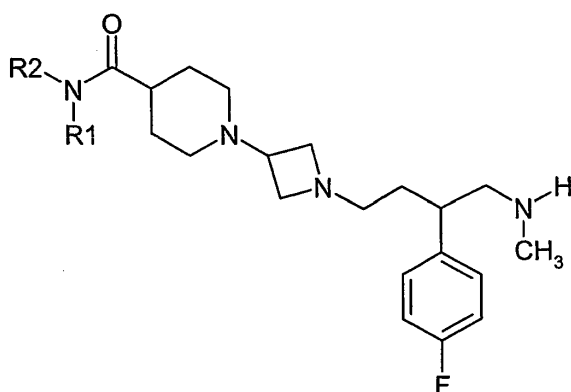
donde R1, R2 y X son los definidos precedentemente; y las condiciones son tales que la alquilación reductora del compuesto de fórmula (II) forma un enlace N-C entre el átomo de nitrógeno del grupo azetidina del compuesto de fórmula (II) y el átomo de carbono del grupo aldehído de los compuestos de fórmula (III); o
b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (IV):



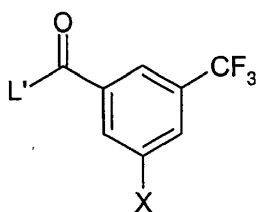
(IV)

en el que X es el definido precedentemente; y L es un grupo tal que la alquilación del compuesto de fórmula (II) forma un enlace N-C entre el átomo de nitrógeno del grupo azetidina del compuesto de fórmula (II) y el átomo de carbono de los compuestos de fórmula (IV) que está adyacente al grupo L; o

5 c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (V) con un compuesto de fórmula (VI):



(V)



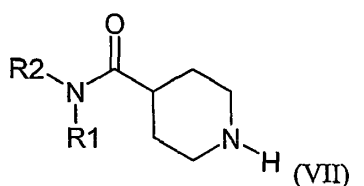
(VI)

en el que R1, R2 y X son los definidos precedentemente; y L' es un grupo saliente; y opcionalmente formar una sal farmacéuticamente aceptable.

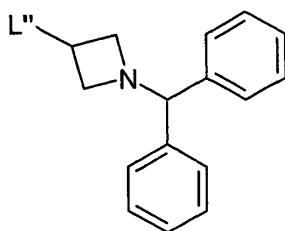
Los compuestos de las fórmulas (II) y (III) se hacen reaccionar en condiciones de alquilación reductora. La reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura no extrema, por ejemplo 0 -10 °C, en un solvente sustancialmente inerte por ejemplo diclorometano. Los reductores típicos incluyen los borohidruros como cianoborohidruro de sodio.

Los compuestos de las fórmulas (II) y (IV) se hacen reaccionar en condiciones de alquilación. Típicamente en los compuestos de fórmula (IV) L es un grupo saliente como halógeno o alquilsulfonilo. La reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura elevada, por ejemplo 30 - 130 °C, en un solvente sustancialmente inerte por ejemplo DMF.

Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar de manera convencional, por ejemplo haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VII:



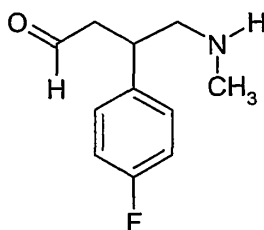
con un compuesto de fórmula (VIII):



(VIII)

5 en el que R1 y R2 son los definidos precedentemente; y L'' es un grupo tal que la alquilación del compuesto de fórmula (VII) forma un enlace N-C entre el átomo de nitrógeno del grupo piperidina del compuesto de fórmula (VII) y el átomo de carbono de los compuestos de fórmula (VIII) que está adyacente al grupo L''; y a continuación eliminando el grupo protector (-CH(Ph)₂) como por ejemplo mediante una reacción de hidrogenación catalítica.

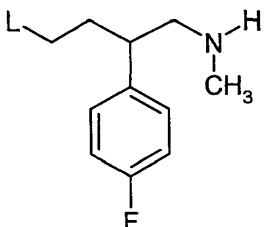
Los compuestos de fórmula (III) se pueden preparar, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IX) con un compuesto de fórmula (VI):



(IX)

10 en el que R1 es el definido precedentemente, en condiciones de acilación convencionales.

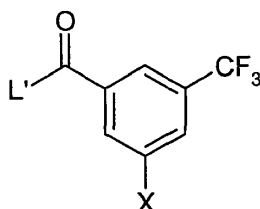
Los compuestos de fórmula (IV) se pueden preparar, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto de fórmula (X):



(X)

15 en el que L es el definido precedentemente, en condiciones de acilación convencionales.

Los compuestos de las fórmulas (V) y (VI) se pueden hacer reaccionar en condiciones de acilación convencionales donde



20 es un ácido o un derivado de ácido activado. Dichos derivados de ácido activados son bien conocidos en la bibliografía. Éstos se pueden formar in situ a partir del ácido o se pueden preparar, aislar y a continuación hacer reaccionar. Típicamente L' es cloro por lo cual se forma el cloruro de ácido. Típicamente la reacción de acilación se realiza en presencia de una base no nucleofílica, por ejemplo N,N-diisopropiletilamina, en un solvente sustancialmente inerte como diclorometano, a una temperatura no extrema.

Los compuestos de fórmulas (VII) y (VIII) son conocidos o se pueden preparar de manera convencional.

Ejemplos

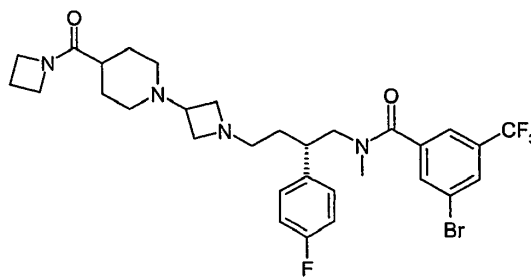
Se debe enfatizar que los compuestos de la presente invención muy a menudo muestran espectros de NMR muy complejos debido a la existencia de isómeros conformacionales. Se cree que es un resultado de la rotación lenta alrededor del enlace amida y/o arilo. Las abreviaturas siguientes se usan en la presentación de los datos de NMR de los compuestos: s-singlete; d-doblete; t-triplete; qt-cuartete; qn-quintete; m-multiplete; b-ancho; cm-multiplete complejo, que puede incluir picos anchos.

Los ejemplos siguientes describirán, pero no limitarán, la invención.

En la parte experimental se usan las abreviaturas siguientes: DIPEA (*N,N*-diisopropiletilamina), TBTU (tetrafluoroborato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio), DMF (*N,N*-dimetilformamida), THF (tetrahidrofurano) y TA (temperatura ambiente).

Ejemplo 1

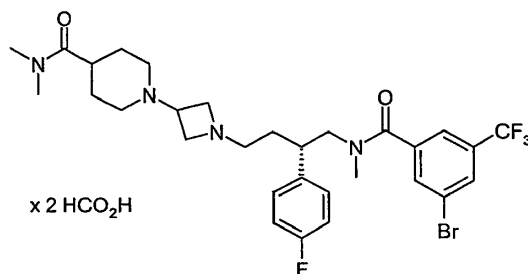
N-[(2*S*)-4-{3-[4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}-2-(4-fluorofenil)butil]-3-bromo-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida



Se disolvieron 3-bromo-*N*-[(2*S*)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida (véase método 1; 0.16 g, 0.36 mmol) y 1-azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina (véase método 2; 0.10 g, 0.47 mmol) en cloruro de metileno (10 mL) junto con una pequeña cantidad de metanol seco (0.2 mL). A la solución resultante se le agregaron DIPEA (0.14 g, 1.08 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (0.15 g, 0.72 mmol). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 4 h a TA. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno y se lavó dos veces con NaHCO₃ acuoso saturado y después con solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se filtró a través de un separador de fases y el solvente se eliminó por evaporación. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (metanol - cloruro de metileno, 10:1). Se obtuvo 0.14 g (59%) del compuesto del título como una espuma blanca. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 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)⁺

Ejemplo 2

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

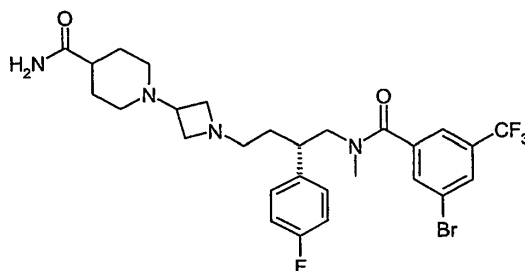


Una mezcla de 3-bromo-*N*-[(2*S*)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida (véase método 1; 0.178 g, 0.40 mmol), 1-azetidin-3-il-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida (véase método 3; 0.084 g, 0.40 mmol), ácido acético (0.3 mL), cianoborohidruro de (poliestirilmetil)trimetilamonio (0.098 g, 0.52 mmol) y metanol se agitó a TA durante 6 h. La resina se filtró y se lavó con metanol. El solvente del filtrado se eliminó por evaporación y el

producto se purificó por cromatografía en fase reversa (C8) usando acetonitrilo y solución acuosa de formiato de amonio/ácido fórmico ($\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$ 0.1 M, HCO_2H 0.1 M, pH 4) como eluyente. Se obtuvo 0.23 g (77%) del compuesto del título. $^1\text{H-NMR}$ (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 ($\text{M}+1$) $^+$.

Ejemplo 3

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



Se disolvieron 3-bromo-*N*-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil]-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida (véase método 1; 1.00 g, 2.24 mmol) y 1-azetidín-3-ilpiperidina-4-carboxamida (véase método 4; 0.49 g, 2.69 mmol) y trietilamina (1.24 mL, 9.0 mmol) en cloruro de metileno (30 mL) junto con una pequeña cantidad de metanol (5 mL). A la solución resultante se le agregó cianoborohidruro de sodio (0.21 g, 3.36 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 20 min. El solvente se eliminó por evaporación y el residuo se particionó entre cloruro de metileno y NaHCO_3 acuoso saturado. La fase orgánica se filtró a través de un separador de fases y el solvente se eliminó por evaporación. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (metanol saturado de amoníaco/cloruro de metileno, 1-20% de metanol). Se obtuvo 0.24 g (17%) del compuesto del título. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): 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 ($\text{M}+1$) $^+$.

Ejemplo 3a

Para obtener información adicional con respecto a la forma sólida existente, se llevó a cabo la cristalización de la suspensión a temperatura ambiente en diferentes solventes. Después de aproximadamente 2 semanas se verificó la forma sólida con XRPD. Las muestras suspendidas en metanol, etanol, *i*-propanol, acetona y cloroformo mostraron difractogramas muy similares en XRPD, que difirieron del de la muestra original. La cristalinidad es notablemente mejor para la forma nueva. El material suspendido en etil metil cetona muestra un difractograma completamente extraordinario. La XRPD con montaje para fase caliente realizada sobre la muestra suspendida en *i*-propanol muestra que el difractograma de rayos X del polvo cambia por encima de 120 °C. El nuevo difractograma también es diferente del de la muestra original.

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

Se disolvió 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidina-4-carboxamida (2.0 g, 3.26 mmol) en acetona caliente (20 mL). Se disolvió ácido maleico (0.74 g, 6.4 mmol) en metanol caliente (4 mL) y esta solución se agregó después a la solución anterior. Las soluciones combinadas se dejaron a temperatura ambiente durante toda la noche pero no se pudo aislar ningún precipitado útil. La mezcla se diluyó con metanol y el solvente se eliminó por evaporación. El residuo se agregó a la mezcla de tolueno (17 mL) y 2-propanol (50 mL). Se agregó metanol (20 mL) y la mezcla se calentó hasta que se obtuvo una solución transparente. La solución se enfrió hasta temperatura ambiente y después se mantuvo en el congelador durante toda la noche. Se aisló un precipitado blanco por filtración y después se secó a presión reducida durante 48 h. Se obtuvieron 2.4 g del compuesto del título como un polvo blanco. El análisis $^1\text{H NMR}$ del producto indica que la muestra consiste en aproximadamente 1.5 a 2 mol de ácido maleico por mol de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-piperidina-4-carboxamida. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, D_2O): 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, 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).

La sal de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}piperidina-4-carboxamida se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con los valores d (valor d : el espaciado entre los planos paralelos hkl sucesivos en una red cristalina):

Forma original de la sal de maleato					
Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad 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		

Los picos, identificados con valores d calculados a partir de la fórmula de Bragg y las intensidades, se extrajeron del difractograma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-piperidina-4-carboxamida. Las intensidades relativas son menos confiables y en vez de valores numéricos se usan las definiciones siguientes:

5

% de Intensidad relativa*	Definición
25-100	vs (muy fuerte)
10-25	s (fuerte)
3-10	m (media)
1-3	w (débil)
*Las intensidades relativas se derivan de los difractogramas medidos con rendijas variables.	

También se obtuvo la forma original después de suspender en agua, n-heptano, acetonitrilo, isooctano, THF y metil isobutil cetona a temperatura ambiente.

10

Forma de la sal de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de suspender

15

Las muestras suspendidas en metanol, etanol, *i*-propanol, acetona y cloroformo muestran difractogramas muy similares en XRPD, que difieren del de la muestra original. Esta forma se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d (valor d: el espaciado entre los planos paralelos *hkl* sucesivos en una red cristalina):

Forma obtenida después de la suspensión en isopropanol					
Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad 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		

Forma obtenida después de la suspensión en isopropanol					
Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa
5,16	S	3,42	vs		

Los picos, identificados con valores d calculados a partir de la fórmula de Bragg y las intensidades, se extrajeron del difractograma de la forma obtenida de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida. Las intensidades relativas son menos confiables y en vez de valores numéricos se usan las definiciones siguientes:

5

% de Intensidad relativa*	Definición
25-100	vs (muy fuerte)
10-25	s (fuerte)
3-10	m (media)
1-3	w (débil)
*Las intensidades relativas se derivan de los difractogramas medidos con rendijas variables.	

Forma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de la XRDP con montaje para fase caliente

10

La XRDP realizada sobre la muestra suspendida en *i*-propanol muestra que el difractograma de rayos X del polvo cambia por encima de 120 °C. El nuevo difractograma también es diferente del de la muestra original.

Esta forma se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d (valor d: el espaciado entre los planos paralelos *hkl* sucesivos en una red cristalina):

15

Forma obtenida después de la suspensión en isopropanol – a temperatura elevada					
Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad 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

Los picos, identificados con valores d calculados a partir de la fórmula de Bragg y las intensidades, se extrajeron del difractograma de la forma obtenida de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de XRDP con montaje para fase caliente. Las intensidades relativas son menos confiables y en vez de valores numéricos se usan las definiciones siguientes:

20

% de Intensidad relativa*	Definición
25-100	vs (muy fuerte)
10-25	s (fuerte)
3-10	m (media)
1-3	w (débil)
*Las intensidades relativas se derivan de los difractogramas medidos con rendijas variables.	

Forma de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de la suspensión en metil etil cetona

25

Se obtuvo otra forma de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de la suspensión en metil etil cetona. Esta forma se caracteriza por

proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d (valor d: el espaciado entre los planos paralelos *hkl* sucesivos en una red cristalina):

Forma obtenida después de la suspensión en metil etil cetona					
Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad relativa	Valor d (Å)	Intensidad 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

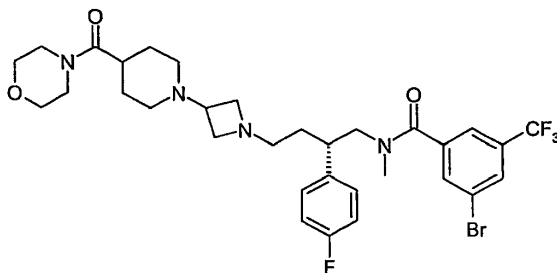
- 5 Los picos, identificados con valores d calculados a partir de la fórmula de Bragg y las intensidades, se extrajeron del difractograma de la forma obtenida de maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-piperidina-4-carboxamida después de la suspensión en metil etil cetona. Las intensidades relativas son menos confiables y en vez de valores numéricos se usan las definiciones siguientes:

% de Intensidad relativa*	Definición
25-100	vs (muy fuerte)
10-25	s (fuerte)
3-10	m (media)
1-3	w (débil)
*Las intensidades relativas se derivan de los difractogramas medidos con rendijas variables.	

- 10 Difractometría de rayos X de polvo (XRPD)
- Los experimentos de XRPD se realizaron en un difractómetro D8 Advance (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) con geometría Bragg-Brentano, equipado con un detector sensible a la posición (DSP) VANTEC-1. Se usó radiación Cu K α filtrada con níquel. Las muestras, aproximadamente 10 mg, se montaron en un portamuestras de fondo cero (cristal de silicio). Los datos se obtuvieron usando un modo de barrido continuo en el rango 1-50° 2 θ , con un tamaño de paso de 0.017° y un tiempo de paso de 0.5 s. Se aplicaron una rendija de divergencia variable (V20) y una rendija del detector de 12 mm, correspondiente a un ancho de ventana del detector de 3.47°.
- 15
- 20 La XRPD con montaje para fase caliente se realizó en el instrumento descrito antes, usando ajustes similares con una cámara MRI accesoria (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania), conectada a un controlador de temperatura Ansyco.

Ejemplo 4

- 25 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



- 30 Se disolvieron 3-bromo-N-((2S)-2-(4-fluorofenil)-4-oxobutil)-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (véase método 1; 0.14

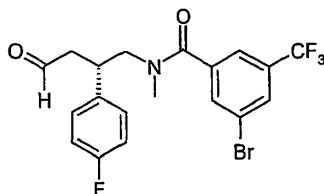
g, 0.31 mmol) y 4-[(1-azetidin-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina (véase método 5; 0.11 g, 0.42 mmol) en cloruro de metileno (10 mL) junto con metanol seco (0.2 mL). A la solución resultante se le agregaron DIPEA (0.12 g, 0.94 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (0.13 g, 0.63 mmol). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 4 h a TA. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno y se lavó dos veces con NaHCO₃ acuoso saturado y después con solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se filtró a través de un separador de fases y el solvente se eliminó por evaporación. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (metanol - cloruro de metileno, 10:1). Se obtuvo 0.11 g (53%) del compuesto del título como una espuma blanca. ¹H-NMR (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)⁺.

Preparación de los materiales de partida

Los materiales de partida para los ejemplos anteriores o son comerciales o se preparan fácilmente mediante métodos corrientes a partir de materiales conocidos. Por ejemplo, las reacciones siguientes son una ilustración, pero no una limitación, de algunos de los materiales 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

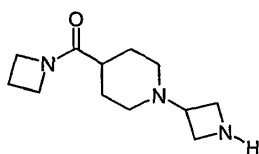
A una solución de [(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]metilamina (véase Bioorg. Med. Chem. Lett; 2001; 265-270; 0.54 g, 2.8 mmol) y ácido 3-bromo-5-trifluorometilbenzoico (0.81 g, 3.0 mmol) en DMF (7 mL) se le agregaron TBTU (0.96 g, 3.0 mmol) y DIPEA (1.41 g, 10.9 mmol). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante toda la noche a TA y después se particionó entre acetato de etilo y una solución acuosa de NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las soluciones orgánicas combinadas se lavaron tres veces con agua y después se secaron mediante columna separadora de fases. El solvente se eliminó por evaporación y el producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo - heptano 10% a 17%). Se obtuvo 0.86 g (68%) de 3-bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida. ¹H-NMR (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 una solución de 3-bromo-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)pent-4-en-1-il]-N-metil-5-(trifluorometil)benzamida (0.86 g, 1.9 mmol) en acetona (45 mL) se le agregaron OsO₄ (2.5% en alcohol t-butilico, 0.49 mL, 0.039 mmol) y 4-metilmorfolina-4-óxido (0.41 g, 3.5 mmol). La solución se agitó en atmósfera de nitrógeno a TA durante toda la noche y después se le agregó una solución acuosa de NaHSO₃ (39%, 45 mL). La mezcla se agitó durante 2 h, se diluyó con agua y después se extrajo dos veces con cloruro de metileno. Las soluciones orgánicas combinadas se separaron por medio de una columna separadora de fases y el solvente se eliminó por evaporación. El residuo (1.08 g) se disolvió en THF (18 mL) y agua (4.5 mL) y a la solución resultante se le agregó NaIO₄ (0.73 g, 3.4 mmol). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante toda la noche a TA. La mezcla se particionó entre cloruro de metileno y agua. La fase acuosa se extrajo con cloruro de metileno y después las soluciones orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio y se separaron por medio de una columna separadora de fases. El solvente se eliminó por evaporación. Se obtuvo 0.78 g (90%) del compuesto del título. ¹H-NMR (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



(a) 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

Se disolvió ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)piperidina-4-carboxílico (0.40 g, 1.75 mmol) en DMF seca (5 mL) y a la solución se le agregaron DIPEA (1.22 mL, 7.0 mmol), TBTU (0.67 g, 2.1 mmol) y azetidina (0.12 g, 2.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. La mezcla se diluyó con cloruro de metileno y después se lavó con una solución acuosa de HCl (2 M) y después con una solución acuosa de NaHCO₃ (sat.). Las fases se separaron por medio de una columna separadora de fases y el solvente se eliminó por evaporación. Se obtuvo 0.50 g (100%) de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo como un sólido crudo. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 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

Se disolvió 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (0.50 g, 1.86 mmol) en cloruro de metileno (10 mL) y a la solución se le agregó ácido trifluoroacético (2.12 g, 18.6 mmol). La mezcla se agitó a TA durante toda la noche y después el solvente se eliminó por evaporación. El residuo se disolvió en una pequeña cantidad de metanol y THF, y después la solución se cargó en un sorbente de intercambio catiónico (Isolute® SCX-2; 10 g). La columna se lavó con THF y después el producto se eluyó con metanol saturado de amoníaco. El solvente se eliminó por evaporación. Se obtuvo 0.32 g (100%) de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 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).

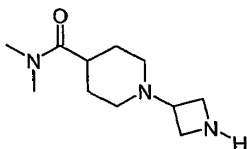
(c) 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina

A una mezcla de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina (0.34 g, 2.0 mmol) y 1-(difenilmetil)azetidin-3-ona (véase Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0.37 g, 1.6 mmol), metanol (5 mL) y ácido acético (0.1 mL) se le agregó cianoborohidruro de (poliestirilmetil)trimetilamonio (4.1 mmol/g, 0.61 g). La mezcla de reacción se calentó durante 10 min a 120 °C usando calentamiento con microondas de un solo nodo y después se filtró a través de un separador de fases. El solvente se eliminó por evaporación y el producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (metanol - cloruro de metileno, 5:95). Se obtuvo 0.42 g (70%) de 4-(azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina como una espuma incolora. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 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)⁺.

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

Se disolvió 4-(azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina (0.42 g, 1.1 mmol) en etanol y a la solución resultante se le agregó hidróxido de paladio sobre carbón (0.15 g) y formiato de amonio (0.28 g, 4.4 mmol). La mezcla de reacción se calentó durante 4 min. a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. El catalizador se filtró mediante un separador de fases y la torta de filtración se lavó con etanol. El solvente se eliminó por evaporación y el residuo se disolvió en metanol (1 mL) y THF (10 mL). La solución se cargó en un sorbente de intercambio catiónico (Isolute® SCX-2; 10 g). La columna se lavó con THF y después el producto se eluyó con metanol saturado de amoníaco. El solvente se eliminó por evaporación y se obtuvo 0.25 g del compuesto del título como un aceite incoloro. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): 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)⁺.

Método 3

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

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

A una mezcla de ácido piperidina-4-carboxílico (0.13 g, 1.0 mmol) y 1-(difenilmetil)azetidin-3-ona (véase Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0.24 g, 1.0 mmol), metanol (3 mL) y ácido acético (0.3 mL) se le agregó cianoborohidruro de (poliestirilmetil)trimetilamonio (4.1 mmol/g, 0.25 g). La mezcla de reacción se calentó durante 5 min. a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. Después se agregó metanol y la resina se filtró. El solvente se eliminó por evaporación. Se obtuvo 0.35 g (100%) de ácido 1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-carboxílico. ¹H-NMR (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]piperidina-4-carboxamida

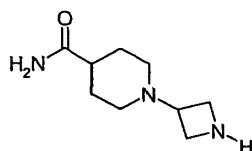
Se disolvió ácido 1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidina-4-carboxílico (0.35 g, 0.9 mmol) en DMF (8 mL) y a la solución se le agregaron TBTU (0.39 g, 1.2 mmol), DIPEA (0.21 mL, 1.2 mmol) y una solución de dimetilamina (3.0 mL, 2 M en THF, 6 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 14 h. Se agregó una solución acuosa de NaHCO_3 y la mezcla se extrajo tres veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio y se secaron en MgSO_4 . El solvente se eliminó por evaporación y el producto se purificó por cromatografía en fase reversa (C8) usando acetonitrilo y solución acuosa de acetato de amonio (0.1 M) como eluyente. Se obtuvo 0.20 g (59%) de 1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 1.6-2.0 (m, 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 ($\text{M}+1$)⁺.

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

Se colocó hidróxido de paladio sobre carbón (0.10 g) en un vial de 5 mL adecuado para síntesis en microondas. Se disolvió 1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida (0.20 g, 0.53 mmol) en metanol (3 mL) y se le agregó ácido acético (0.3 mL). La mezcla se agitó en atmósfera de hidrógeno (1.6 bar) a TA durante cuatro días. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite®. El solvente se eliminó por evaporación y se obtuvo 0.11 g (53%) del compuesto del título.

Método 4

1-Azetidín-3-ilpiperidina-4-carboxamida



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

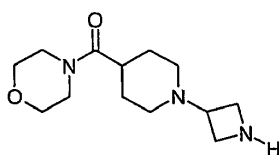
A una mezcla de piperidina-4-carboxamida (1.05 g, 8.2 mmol) y 1-(difenilmetil)azetidín-3-ona (véase Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 1.94 g, 8.2 mmol), metanol (3 mL) y ácido acético (3 mL) se le agregó cianoborohidruro de (poliestirilmetil)trimetilamonio (4.1 mmol/g, 1.9 g). La mezcla de reacción se calentó durante 5 min. a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. La resina se filtró y el solvente se eliminó por evaporación. Se obtuvieron 2.85 g (99%) de 1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidina-4-carboxamida. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): 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 ($\text{M}+1$)⁺.

(b) Diclorhidrato de 1-azetidín-3-ilpiperidina-4-carboxamida

Se cargaron 1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidina-4-carboxamida (1.4 g, 4.1 mmol), formiato de amonio (0.77 g, 12 mmol) y etanol (15 mL) en un vial de 25 mL adecuado para síntesis en microondas. Se agregó hidróxido de paladio sobre carbón (0.55 g) y la mezcla de reacción se calentó durante 2 min a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. La mezcla, que todavía contenía material de partida, se filtró y al filtrado se le agregó otra porción de hidróxido de paladio sobre carbón junto con una mezcla de ácido acético y etanol (1:10). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno (5 bar) a TA durante 4 h y después se filtró a través de una almohadilla de Celite®. El solvente se eliminó por evaporación y el residuo se particionó entre tolueno y ácido clorhídrico diluido. La fase acuosa se liofilizó y el residuo pegajoso se coevaporó con tolueno, se volvió a disolver en agua y después se liofilizó. Se obtuvo 1.35 g (65%) del compuesto del título. ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 1.6-2.0 (m, 6H), 2.2-2.3 (m, 1H), 2.8 (m, 2H), 3.4 (m, 1H), 3.9-4.1 (m, 4H).

Método 5

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



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

Se disolvieron 4-(piperidin-4-ilcarbonil)morfolina (0.30 g, 1.26 mmol) y 1-(difenilmetil)azetidín-3-ona (véase Bioorg. Med. Chem. Lett.; 13; 2003; 2191-2194, 0.30 g, 1.5 mmol) en una mezcla de metanol (5 mL) y ácido acético (0.1 mL). Se le agregó cianoborohidruro de (poliestirilmetil)trimetilamonio (4.1 mmol, 0.38 g) y la mezcla de reacción se calentó durante 10 min a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. La mezcla se filtró a través de un separador de fases y la resina se lavó con metanol. El solvente se eliminó por evaporación y el residuo se disolvió en cloruro de metileno. La solución se lavó dos veces con una solución saturada de NaHCO₃. La fase orgánica se filtró a través de un separador de fases y el solvente se eliminó por evaporación. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (metanol/cloruro de metileno, 5% de metanol). Se obtuvo 0.44 g (83%) de 4-({1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidin-4-il}carbonil)morfolina como un aceite incoloro. ¹H-NMR (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

Se disolvió 4-({1-[1-(difenilmetil)azetidín-3-il]piperidin-4-il}carbonil)morfolina (0.44 g, 1.0 mmol) en etanol y a la solución resultante se le agregó hidróxido de paladio sobre carbón (0.15 g) y formiato de amonio (0.27 g, 4.2 mmol). La mezcla de reacción se calentó durante 2 min. a 120 °C usando calentamiento por microondas de un solo nodo. El catalizador se filtró mediante un separador de fases y la torta de filtración se lavó con etanol. El solvente se eliminó por evaporación y el residuo se disolvió en metanol (1 mL) y THF (10 mL). La solución se cargó en un sorbente de intercambio catiónico (Isolute® SCX-2; 10 g). La columna se lavó con THF y después el producto se eluyó con metanol saturado de amoniaco. El solvente de las fracciones recogidas se eliminó por evaporación y se obtuvo 0.11 g del compuesto del título como un aceite incoloro. ¹H NMR (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)⁺.

Farmacología

Transfección y cultivo de células usadas en FLIPR y ensayos de unión

Se transfectaron establemente células KI de ovario de hámster chino (CHO) (obtenidas de ATCC) con el receptor humano NK₂ (hNK₂R cDNA en pRc/CMV, Invitrogen) o el receptor NK₃ (hNK₃R en pcDNA 3.1/Hygro (+)/IRES/CD8, Invitrogen vector modificado en AstraZeneca EST-Bio Reino Unido, Alderley Park). Las células se transfectaron con el reactivo lípido catiónico LIPOFECTAMINE™ (Invitrogen) y la selección se realizó con Geneticina (G418, Invitrogen) a una concentración de 1 mg/ml para las células transfectadas con hNK₂R y con Higromicina (Invitrogen) a una concentración de 500 µg/ml para las células transfectadas con hNK₃R. Se recogieron clones de una sola célula con ayuda de un clasificador de células activadas por fluorescencia (FACS), se analizaron con respecto a su funcionalidad en el ensayo FLIPR (véase más adelante), se expandieron en cultivo y se criopreservaron para uso futuro. Las células CHO transfectadas establemente con receptores humanos NK₁ se originaron en AstraZeneca R&D, Wilmington Estados Unidos. El ADNc del receptor humano NK₁ (obtenido por PCR a partir de ARN de tejido pulmonar) se subclonó en pRcCMV (Invitrogen). La transfección se realizó mediante fosfato de calcio y la selección con 1 mg/ml de G418.

Las células CHO establemente transfectadas con hNK₁R, hNK₂R y hNK₃R se cultivaron en una estufa de incubación humedecida, con 5% de CO₂, en Nut Mix F12 (HAM) con Glutamax I, 10% de suero fetal bovino (FBS), 1% de Penicilina/Estreptomicina (PEST) complementado con 200 µg/ml de Geneticina para células que expresan hNK₁R y hNK₂R y 500 µg/ml de Higromicina para las células que expresan hNK₃R. Las células se cultivaron en matraces T175 y se hicieron pasajes de rutina cuando había un crecimiento confluyente de 70-80% hasta 20-25 pasajes.

Evaluación de la actividad de compuestos de prueba seleccionados para inhibir la activación de los receptores humanos NK₁/NK₂/NK₃ (ensayo FLIPR)

La actividad de un compuesto de la invención para inhibir la activación del receptor NK₁/NK₂/NK₃ medida como el aumento en el Ca²⁺ intracelular mediado por el receptor NK₁/NK₂/NK₃ se evaluó mediante el procedimiento siguiente:

Las células CHO establemente transfectadas con receptores humanos NK₁, NK₂ o NK₃ se distribuyeron en placas de fondo transparente y paredes negras de 96 pocillos (Costar 3904) a una concentración de 3.5 x 10⁴ células por pocillo y se cultivaron durante aproximadamente 24 h en medio de cultivo normal en una estufa con CO₂, a 37 °C.

Antes del ensayo FLIPR se cargaron las células de cada placa de 96 pocillos con el colorante sensible al Ca²⁺, Fluo-3 (TEFLABS 0116), a una concentración 4 µM en un medio de carga que consistía en Nut Mix F12 (HAM) con Glutamax I, HEPES 22 mM, Probenicid (Sigma P-8761) 2.5 mM y 0.04% de Pluronic F-127 (Sigma P-2443) y se mantuvieron en la oscuridad durante 1 h en una estufa con CO₂, a 37 °C. Después las células se lavaron tres veces en el tampón del ensayo (solución salina equilibrada de Hank (HBSS) que contenía HEPES 20 mM, Probenicid 2.5 mM y 0.1% de BSA) usando una pipeta multicanal que las dejó en 150 µl al final del último lavado. Mediante el

FLIPR (Lector de Placas por formación de Imagen Fluorométrica) se transfirieron automáticamente con pipeta, diluciones seriadas de un compuesto de prueba en tampón de ensayo (la concentración final de DMSO se mantuvo por debajo de 1%) a cada pocillo de prueba y se registró la intensidad de la fluorescencia (excitación 488 nm y emisión 530 nm) con la cámara FLIPR CCD durante un período de preincubación de 2 min. Después mediante el FLIPR se agregaron 50 µl de solución agonista de sustancia P (específica para NK₁), NKA (específica para NK₂), o Pro-7-NKB (específica para NK₃) (concentración final equivalente a una concentración aproximada CE₆₀) a cada pocillo que ya contenía 200 µl del tampón del ensayo (que contenía el compuesto de prueba o vehículo) y se controló continuamente la fluorescencia durante otros 2 min. La respuesta se midió como la fluorescencia relativa máxima después del agregado del agonista y se calcularon las CI₅₀ de curvas de diez puntos de concentración-respuesta para cada compuesto. Las CI₅₀ se convirtieron después a valores de pK_B con la fórmula siguiente:

$$K_B = CI_{50} / 1 + (CE_{60} \text{ conc. de agonista usada en el ensayo} / CE_{50} \text{ del agonista})$$

$$pK_B = -\log K_B$$

Determinación de la constante de disociación (K_i) de los compuestos para los receptores humanos NK₁/NK₂/NK₃ (ensayo de unión)

Se prepararon membranas a partir de células CHO establemente transinfectadas con receptores humanos NK₁, NK₂ o NK₃ de acuerdo con el método siguiente.

Se desprendieron células con solución Accutase®, se recogieron en PBS que contenía 5% de FBS mediante centrifugación, se lavaron dos veces en PBS y se resuspendieron a una concentración de 1 x 10⁸ células/ml en Tris-HCl 50 mM, KCl 300 mM, EDTA-N₂ 10 mM de pH 7.4 (4 °C). Las suspensiones de células se homogeneizaron con un UltraTurrax 30 s 12.000 rpm. Los homogeneizados se centrifugaron a 38 000 x g (4 °C) y el sedimento se resuspendió en Tris-HCl 50 mM de pH 7.4. La homogeneización se repitió una vez y los homogeneizados se incubaron en hielo durante 45 min. Los homogeneizados se volvieron a centrifugar según se describe antes y se resuspendieron en Tris-HCl 50 mM de pH 7.4. Este paso de centrifugación se repitió tres veces en total. Después del último paso de centrifugación el sedimento se resuspendió en Tris-HCl 50 mM y se homogeneizó con un equipo Potter Dual, 10 impulsos, hasta obtener una solución homogénea y se extrajo una alícuota para la determinación de proteína. Las membranas se separaron en alícuotas y se congelaron a -80 °C hasta que se usaron.

El ensayo de unión de radioligando se realizó a temperatura ambiente en placas de microtitulación de 96 pocillos (placas de superficie no adherente, Corning 3600) con un volumen de ensayo final de 200 µl/pocillo en tampón de incubación (tampón Tris 50 mM (pH 7.4, TA) que contenía 0.1% de BSA, 40 mg/L de Bacitracina, comprimidos de cóctel completo de inhibidores de proteasas exento de EDTA, 20 comprimidos/L (Roche) y MnCl₂ 3 mM). Se hicieron curvas de competición por la unión agregando cantidades crecientes del compuesto de prueba. Los compuestos de prueba se disolvieron y se diluyeron en serie en DMSO, concentración final de DMSO en el ensayo 1.5%. Se agregaron 50 µl de ZD 6021 sin marcar (un antagonista de NK no selectivo, concentración final 10 µM) para la medición de la unión no específica. Para la unión total, se usaron 50 µl de DMSO al 1.5% (conc. final) en tampón de incubación. Se usaron [³H-Sar, Met(O₂)-sustancia P] (conc. final 4 nM) en los experimentos de unión en hNK_{1r}. [³H-SR48968] (conc. final 3 nM) para hNK_{2r} y [³H-SR142801] (conc. final 3 nM) para los experimentos de unión en hNK_{3r}. Se mezclaron 50 µl de radioligando, 3 µl de compuesto de prueba diluido en DMSO y 47 µl de tampón de incubación con 5 a 10 µg de membranas celulares en 100 µl de tampón de incubación y se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente en un agitador de microplacas.

Las membranas se recogieron mediante filtración rápida en Filtermat B (Wallac), embebido previamente en 0.1% de BSA y 0.3% de polietilenoimina (Sigma P-3143), usando un colector Micro 96 (Skatron Instruments, Noruega). Los filtros se lavaron con el colector, con tampón de lavado helado (Tris-HCl 50 mM de pH 7.4 a 4 °C, que contenía MnCl₂ 3 mM) y se secaron a 50 °C durante 30-60 min. Se fundieron láminas de centelleo Meltilex sobre los filtros usando un microsellador (Wallac, Finlandia) y se hizo el recuento de los filtros en un contador de centelleo líquido β (1450 Microbeta, Wallac, Finlandia).

El valor de K_i para el ligando sin marcar se calculó usando la ecuación de Cheng-Prusoff (Biochem. Pharmacol. 22:3099-3108, 1973): donde L es la concentración de ligando radioactivo utilizado y K_d es la afinidad de ligando radioactivo por el receptor, determinada por saturación de la unión.

Los datos se ajustaron a una ecuación de cuatro parámetros usando Excel Fit.

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

Resultados

En general, los compuestos de la invención, que fueron analizados, demostraron una actividad antagonista estadísticamente significativa en el receptor NK₁ en el rango de 7-8 para la pK_B. Para el receptor NK₂ el rango para

la pK_B fue 7-9. En general, la actividad antagonista en el receptor NK_3 fue 7-9 para la pK_B .

En general, los compuestos de la invención, que fueron analizados, demostraron una inhibición de CYP3A4 estadísticamente significativa en un bajo nivel. Los valores de Cl_{50} analizados de acuerdo con Bapiro et al; Drug Metab. Dispos. 29, 30-35 (2001) fueron en general superiores a 10 μM .

Actividad frente a hERG

La actividad de los compuestos de acuerdo con la fórmula I frente al canal de potasio codificado por hERG se puede determinar de acuerdo con Kiss L, et al. Assay Drug Dev Technol. 1 (2003), 127-35: "High throughput ion-channel pharmacology: planar-array-based voltage clamp".

En general, los compuestos de la invención, que fueron analizados, demostraron una inhibición de hERG estadísticamente significativa en un bajo nivel. Los valores de Cl_{50} analizados según se describió antes fueron generalmente superiores a 8 μM .

Estabilidad metabólica

La estabilidad metabólica de los compuestos de acuerdo con la fórmula I se puede determinar como se describe a continuación:

La velocidad de biotransformación se puede medir o bien como la formación de metabolito(s) o como la velocidad de desaparición del compuesto generador. El diseño experimental implica la incubación de bajas concentraciones de sustrato (habitualmente 1.0 μM) con microsomas hepáticos (habitualmente 0.5 mg/ml) y la extracción de alícuotas en distintos momentos (generalmente a los 0, 5, 10, 15, 20, 30 y 40 min.). El compuesto de prueba se disuelve usualmente en DMSO. La concentración de DMSO en la mezcla de incubación es usualmente 0.1% o menor, puesto que más solvente puede reducir drásticamente las actividades de algunas CYP450. Las incubaciones se hacen en tampón de fosfato de potasio 100 mM de pH 7.4 y a 37 °C. Se usa acetonitrilo o metanol para detener la reacción. El compuesto generador se analiza por HPLC-MS. A partir de la semivida calculada, $t_{1/2}$, se estima la depuración intrínseca, Cl_{int} , tomando en cuenta la concentración de proteína microsómica y el peso del hígado.

En general, los compuestos de la invención tuvieron estabilidad metabólica in vitro en un nivel alto. Los valores de depuración intrínseca analizados como se indicó antes fueron generalmente inferiores a 25 $\mu L/min/mg$ de proteína.

La tabla siguiente ilustra las propiedades de los compuestos de la presente invención:

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

pK_B (NK_1)	pK_B (NK_2)	pK_B (NK_3)	Cl_{50} (hERG)	Cl_{50} (CYP3A4)	Cl_{int} (HLM)
7.7	8.6	8.4	11.0 μM	13.5 μM	23 $\mu L/min/mg$

Evaluación biológica

Zapateo del jerbo (modelo de prueba específico para NK_1)

Se compran jerbos de Mongolia machos (60 a 80 g) a Charles River, Alemania. Al llegar, se los aloja en grupos de diez, con alimento y agua a voluntad en habitaciones con temperatura y humedad controladas. Se permite que los animales se aclimaten a las condiciones de alojamiento durante al menos 7 días antes de los experimentos. Cada animal se usa sólo una vez y se lo sacrifica inmediatamente después del experimento mediante punción cardíaca o una sobredosis letal de pentobarbital sódico.

Los jerbos se anestesian con isoflurano. Los antagonistas potenciales del receptor NK_1 que penetran al SNC se administran por vía intraperitoneal, intravenosa o subcutánea. Los compuestos se administran en diversos momentos (típicamente 30 a 120 minutos) antes de la estimulación con el agonista.

Los jerbos se anestesian ligeramente usando isoflurano y se les practica una pequeña incisión en la piel por encima del bregma. Se les administran 10 pmol de ASMSP, un agonista selectivo del receptor NK_1 , icv en un volumen de 5 μL usando una jeringa de Hamilton con una aguja de 4 mm de longitud. La herida se cierra con pinzas y el animal se coloca en una jaula plástica pequeña y se lo deja hasta que despierta. La jaula se coloca sobre un trozo de tubería de plástico llena con agua y conectada a una computadora a través de un transductor de presión. Se registra la cantidad de golpes con la pata trasera.

Modelo de cromodacriorrea (modelo de prueba específico para NK1)

Las acciones de los antagonistas en los receptores NK1 periféricos se pueden evaluar en jerbos in vivo usando el denominado modelo de cromodacriorrea (Bristow LJ, 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). En resumen, la administración sistémica (intravenosa) de agonistas del receptor NK1 a jerbos anestesiados produce una profusa secreción de lágrimas rojo/marrón en los ojos debido a la secreción de porfirina desde la glándula de Harderian. Los antagonistas del receptor NK1 bloquean la cromodacriorrea provocada por los agonistas de NK1.

Producción de heces (modelo de prueba específico para NK2)

El efecto in vivo (NK2) de los compuestos de fórmula I se puede determinar midiendo la producción de heces inducida por los agonistas del receptor NK2 usando un jerbo como se describe por ej. en The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (2001), pp. 559-564.

Modelo de distensión colorrectal

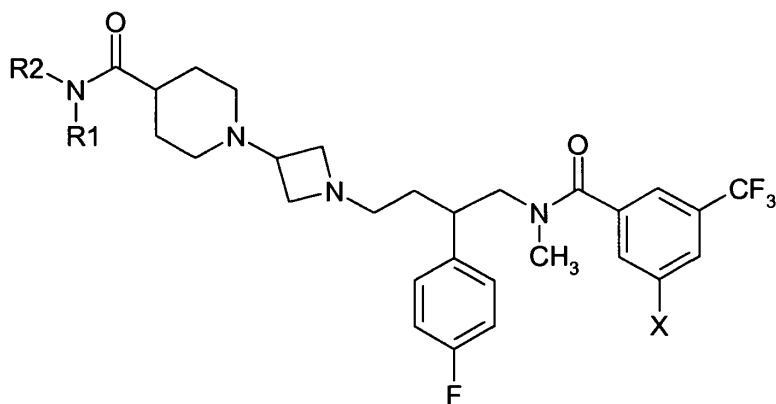
La distensión colorrectal (DCR) en jerbos se realiza como se describió previamente en ratas y ratones (Tammperre A, Brusberg M, Axenborg J, Hirsch I, Larsson H, Lindström E. Evaluation of pseudo-affective responses to noxious colorectal distension in rats by manometric recordings. Pain 2005; 116: 220-226; Arvidsson S, Larsson M, Larsson H, Lindström 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) con ligeras modificaciones. En resumen, se acostumbra a los jerbos a jaulas Bollmann durante 30 a 60 min por día durante tres días consecutivos antes de los experimentos, para reducir los artefactos de movimiento debidos al estrés de la reclusión. Se introduce un balón de polietileno de 2 cm (casero) con un catéter de conexión en el colon distal, 2 cm entre la base del balón y el ano, durante la anestesia ligera con isoflurano (Forene®, Abbott Scandinavia AB, Solna, Suecia). El catéter se fija a la cola con cinta. Los balones se conectan a transductores de presión (P-602, CFM-k33, 100 mmHg, Bronkhorst HI-TEC, Veenendal, los Países Bajos). Se permite que los jerbos se recuperen de la sedación en las jaulas Bollmann durante al menos 15 min antes de comenzar los experimentos.

Se usa un barostato hecho a medida (AstraZeneca, Mölndal, Suecia) para manejar el inflado de aire y el control de la presión del balón. Se usa un programa informático diseñado a propósito (PharmLab on-line 4.0) corriendo en una computadora estándar para controlar el barostato y para realizar la obtención de datos. El paradigma de distensión utilizado consiste en 12 distensiones fásicas repetidas a 80 mm de Hg, con una duración del pulso de 30 s a intervalos de 5 min. Los compuestos o sus respectivos vehículos se administran mediante inyecciones intraperitoneales (i.p.) antes del paradigma de DCR. Cada jerbo recibe vehículo y compuesto en diferentes ocasiones con al menos dos días entre experimentos. Por consiguiente, cada jerbo sirve como su propio control de vehículo.

Se toman muestras de los canales de entrada analógicos con velocidades de muestreo individuales y se realiza filtrado digital en las señales. Se toman muestras de la señales de presión del balón a razón de 50 muestras/s. Se usa un filtro de pasaaltas a 1 Hz para separar los cambios en la presión inducida por la contracción, de la presión variable lenta generada por el barostato. Una resistencia en el flujo de aire entre el generador de presión y el transductor de presión, potencia aún más las variaciones de presión inducidas por las contracciones abdominales del animal. Se usa un programa informático diseñado a propósito (PharmLab off-line 4.0) para cuantificar la magnitud de las señales de presión del balón filtradas por el filtro de pasaaltas. El valor promedio rectificado (VPR) de las señales de presión del balón filtradas por el filtro de pasaaltas se calcula durante 30 s antes del pulso (es decir, línea de base de la respuesta) y mientras dura el pulso. Cuando se calcula la magnitud de las señales de presión del balón filtradas por el filtro de pasaaltas, se excluyen el primer y el último segundos de cada pulso porque estos reflejan señales artefacto producidas por el barostato durante el inflado y desinflado y no se originan en el animal.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

donde

R1 y R2 se seleccionan, cada uno independientemente, entre hidrógeno, metilo, etilo o R1 y R2 forman un anillo de cuatro, cinco o seis miembros junto con el nitrógeno de la amida, donde dicho anillo contiene opcionalmente un átomo de oxígeno;

X es bromo o cloro;

así como sus sales farmacéutica y farmacológicamente aceptables, y los enantiómeros del compuesto de fórmula I y sus sales.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 es hidrógeno.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 es metilo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 es etilo.

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R2 es hidrógeno.

6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R2 es metilo.

7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R2 es etilo.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo morfolina.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo azetidina.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo pirrolidina.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo isoxazolidina.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R1 y R2, junto con el nitrógeno de la amida, forman un anillo oxazolidina.

13. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 donde el compuesto es el enantiómero (S).

14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es maleato de 1-{1-[(3S)-4-[[3-bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidín-3-il}-piperidina-4-carboxamida.

15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, que se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d:

Forma original de la sal de maleato	
Valor d (Å)	Intensidad relativa
5,48	vs
4,92	vs
4,77	vs
4,45	vs
3,69	vs
3,42	vs
3,21	vs

16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, que es un solvato de isopropanol.

- 5 17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, que se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d:

Forma obtenida después de la suspensión en isopropanol	
Valor d (Å)	Intensidad 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. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, que se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d:

10

Forma obtenida después de la suspensión en isopropanol – a temperatura elevada	
Valor d (Å)	Intensidad relativa
4,98	vs
4,81	vs
4,76	vs
4,56	vs
4,04	vs
3,65	vs

19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, que es un solvato de metil etil cetona.

- 15 20. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 19, que se caracteriza por proporcionar un difractograma de rayos X del polvo que muestra sustancialmente los picos principales siguientes con valores d:

Forma obtenida después de la suspensión en metil etil cetona	
Valor d (Å)	Intensidad relativa
10,5	vs

Forma obtenida después de la suspensión en metil etil cetona	
Valor d (Å)	Intensidad relativa
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. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado entre
- 5 *N*-[(2*S*)-4-{3-[4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}-2-(4-fluorofenil)butil]-3-bromo-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida;
- 1-{1-[(3*S*)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
- 1-{1-[(3*S*)-4-[[3-Bromo-5-(trifluorometil)benzoil](metil)amino]-3-(4-fluorofenil)butil]azetidin-3-il}piperidina-4-carboxamida; y
- 10 3-Bromo-*N*-[(2*S*)-2-(4-fluorofenil)-4-{3-[4-(morfolin-4-ilcarbonil)piperidin-1-il]azetidin-1-il}butil]-*N*-metil-5-(trifluorometil)benzamida
22. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para usar en tratamiento.
23. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de un trastorno gastrointestinal funcional.
- 15 24. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del SII.
- 20 25. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de dispepsia funcional.
26. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 como principio activo como y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 25 27. Un compuesto seleccionado entre
- 1-Azetidin-3-il-4-(azetidin-1-ilcarbonil)piperidina;
- 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo;
- 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)piperidina;
- 30 4-(Azetidin-1-ilcarbonil)-1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina;
- 1-Azetidin-3-il-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
- Ácido 1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-carboxílico;
- 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
- 1-Azetidin-3-il-*N,N*-dimetilpiperidina-4-carboxamida;
- 35 1-Azetidin-3-ilpiperidina-4-carboxamida;
- 1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidina-4-carboxamida;
- Clorhidrato de 1-azetidin-3-ilpiperidina-4-carboxamida;
- 4-[(1-Azetidin-3-ilpiperidin-4-il)carbonil]morfolina y
- 4-({1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]piperidin-4-il}carbonil)morfolina.