

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 115**

51 Int. Cl.:
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06760341 .5**
96 Fecha de presentación: **24.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1899324**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.03.2008**

54 Título: **COMPUESTOS BENCIMIDAZOL-CARBOXAMIDA ÚTILES COMO AGONISTAS DEL RECEPTOR 5-HT4.**

30 Prioridad:
25.05.2005 US 684466 P
25.05.2005 US 684478 P
08.12.2005 US 748415 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.03.2012

73 Titular/es:
THERAVANCE, INC.
901 GATEWAY BOULEVARD
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080, US

72 Inventor/es:
MCKINNELL, Robert, Murray;
GENDRON, Roland;
JIANG, Lan;
CHOI, Seok-ki;
LONG, Daniel, D.;
FATHEREE, Paul, R.;
MARQUESS, Daniel;
DALZIEL, Sean, M. y
PHIZACKERLEY, Kirsten, M.

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

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 2 376 115 T3

DESCRIPCIÓN

Compuestos bencimidazol-carboxamida útiles como agonistas del receptor 5-HT₄

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIONCampo de la invención

10 La invención se refiere a compuestos bencimidazol-carboxamida que resultan útiles como agonistas del receptor 5-HT₄. Asimismo, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a compuestos para la utilización en el tratamiento o prevención de condiciones médicas mediadas por la actividad del receptor 5-HT₄ y a procedimientos e intermediarios que resultan útiles para preparar dichos compuestos.

Estado de la técnica

15 La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un neurotransmisor que se encuentra ampliamente distribuido en todo el cuerpo, tanto en el sistema nervioso central como en sistemas periféricos. Se han identificado por lo menos siete subtipos de receptor de serotonina y la interacción de la serotonina con estos diferentes receptores se asocia a una amplia diversidad de funciones fisiológicas. Por lo tanto, ha existido un interés sustancial en desarrollar agentes terapéuticos con diana en subtipos específicos de receptor de 5-HT.

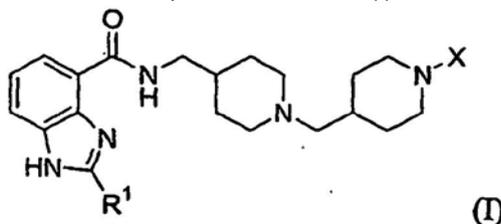
20 En particular, la caracterización de los receptores de 5-HT₄ y la identificación de agentes farmacéuticos que interactúan con los mismos recientemente ha sido el objeto de actividad significativa (ver, por ejemplo, la revisión de Langlois y Fischmeister, J. Med. Chem. 46:319-344, 2003, o la patente JP n° 2004 277318, las patentes WO n° 2005/021539 y n° 2004/026828 referentes a los agonistas de 5-HT₄). Los agonistas del receptor 5-HT₄ resultan útiles para el tratamiento de trastornos de motilidad reducida del tracto gastrointestinal. Entre dichos trastornos se incluyen el síndrome del intestino irritable (IBS), el estreñimiento crónico, la dispepsia funcional, el retardo del vaciado gástrico, la enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), la gastroparesis, el íleo post-operatorio, la pseudo-obstrucción intestinal y el retardo del tránsito intestinal inducido por un fármaco. Además, se ha sugerido que algunos compuestos agonistas del receptor de 5-HT₄ pueden utilizarse en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, incluyendo trastornos cognitivos, trastornos del comportamiento, trastornos del humor y trastornos de control de la función autonómica.

30 A pesar de la amplia utilidad de los agentes farmacéuticos que modulan la actividad del receptor de 5-HT₄, pocos compuestos agonistas del receptor de 5-HT₄ se encuentran en uso clínico actualmente. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, existe una necesidad de nuevos agonistas del receptor de 5-HT₄ que consigan los efectos deseados con efectos secundarios mínimos. Los agentes preferentes pueden presentar, entre otras propiedades, selectividad, potencia, propiedades farmacocinéticas y/o duración de acción mejoradas.

40 DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCION

45 La invención proporciona nuevos compuestos que presentan actividad agonista del receptor de 5-HT₄. Entre otras propiedades, se ha encontrado que los compuestos de la invención son agonistas potentes y selectivos de los receptores de 5-HT₄. Además, se ha encontrado que los compuestos preferentes de la invención muestran propiedades farmacocinéticas favorables en un modelo animal que permiten prever una buena biodisponibilidad en la administración por vía oral.

Por consiguiente, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



50 en la que:

R¹ es alquilo C₃₋₅, opcionalmente sustituido con -OH, y

X se selecciona de entre:

55 (a) -C(O)OR², en donde R² es alquilo C₁₋₄ o -(CH₂)_n-fenilo en el que n es 0 ó 1,

(b) -C(O)R³ en donde R³ se selecciona de entre:

fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃,

- OCF₃, -OCHF₂ y -CN,
alquilo C₁₋₅
cicloalquilo C₄₋₅, y
5 -(CH₂)_m-A en el que m es 0 ó 1 y A se selecciona de entre amino, turanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, piridinilo y naftalenilo;
- (c) -C(O)NR⁴R⁵ en el que R⁴ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R⁵ es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ y -OCHF₂,
- 10 (d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R⁷ es hidrógeno, -OH o alquilo C₁₋₃, o R⁶ y R⁷ conjuntamente forman oxo o -(CH₂)₂, y R⁸ es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCBF₂ y -CN,
- 15 (e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R¹⁰ es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ y -OCHF₂, y
- (f) -S(O)₂R¹¹ en el que R¹¹ se selecciona de entre alquilo C₁₋₃, -CH₂-fenilo, 2,4-dimetilisoxazolilo y fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados y fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo.

20 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto particular de fórmula (I) en forma de base libre cristalina. Se ha encontrado que el metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino presenta una temperatura de fusión de entre aproximadamente 145°C y aproximadamente 155°C, típicamente de entre aproximadamente 146°C y aproximadamente 148°C, una temperatura de degradación superior a aproximadamente 240°C y muestra cambios de peso inferiores a aproximadamente 0,25% al exponerlo a un intervalo de humedades relativas de entre aproximadamente 2% y aproximadamente 90% a temperatura ambiente. También se proporcionan formas cristalinas adicionales de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en aspectos adicionales de la invención.

35 Los compuestos de la invención resultan útiles para el tratamiento de enfermedades o condiciones asociadas a la actividad de los receptores de 5-HT₄, por ejemplo un trastorno de motilidad reducida del tracto gastrointestinal, mediante la administración en el mamífero de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención.

40 Los compuestos de la invención también pueden utilizarse como herramientas de investigación, es decir, para estudiar sistemas o muestras biológicas, o para estudiar la actividad de otros compuestos químicos. De esta manera, pueden utilizarse como herramienta de investigación para el estudio de un sistema o muestra biológico o para descubrir nuevos agonistas de receptores de 5-HT₄, mediante la puesta en contacto de un sistema o muestra biológico con un compuesto de la invención y la determinación de los efectos causados por el compuesto en el sistema o muestra biológico.

45 En aspectos separados y distintos, la invención también proporciona procedimientos sintéticos e intermediarios indicados en la presente memoria, que resultan útiles para preparar compuestos de la invención.

50 La invención también proporciona un compuesto de la invención tal como se ha descrito en la presente memoria para la utilización en la terapia médica, así como la utilización de un compuesto de la invención en la preparación de una formulación o medicamento destinado al tratamiento de enfermedad o condiciones específicas asociadas a la actividad de los receptores de 5-HT₄, por ejemplo trastornos de motilidad reducida del tracto gastrointestinal, en un mamífero.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

55 Diversos aspectos de la presente invención se ilustran haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

60 La figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvos (PXRD) de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma I): La figura 2 muestra un registro de calorimetría de escaneo diferencial (DSC) (registro superior, eje vertical derecho) y un registro de análisis termogravimétrico (TGA) (registro inferior, eje vertical izquierdo) del metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma I).

65 La figura 3 muestra una isoterma de la sorción dinámica de humedad (DMS) del metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma I): La figura 4 muestra un registro de calorimetría de escaneo diferencial (DSC) (registro superior, eje vertical

derecho) y un registro de análisis termogravimétrico (TGA) (registro inferior, eje vertical izquierdo) del metil-éster de ácido 4-(4-((2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino)metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma II).

La figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvos (PXRD) de metil-éster de ácido 4-(4-((2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino)metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma III).

La figura 6 muestra un registro de calorimetría de escaneo diferencial (DSC) (registro superior, eje vertical derecho) y un registro de análisis termogravimétrico (TGA) (registro inferior, eje vertical izquierdo) del metil-éster de ácido 4-(4-((2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino)metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma III).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención proporciona nuevos agonistas de receptores de bencimidazol-carboxamida 5-HT4 de fórmula (I), o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables o estereoisómeros del mismo. Los sustituyentes y valore siguientes están destinados a proporcionar ejemplos representativos de diversos aspectos de la presente invención. Estos valores representativos pretender definir adicionalmente dichos aspectos y no pretenden excluir otros valores o limitar el alcance de la invención.

En un aspecto específico de la invención, R^1 es alquilo C_{3-5} , opcionalmente sustituido con -OH.

En otro aspecto específico, R^1 es alquilo C_{3-5} .

En otros aspectos específicos, R^1 es alquilo C_{3-4} , o R^1 es isopropilo o *terc*-butilo.

En otro aspecto específico, R^1 es isopropilo.

En todavía otros aspectos específicos, R^1 es 1-hidroxi-1-metiletilo ó 2-hidroxi-1-metiletilo.

En un aspecto específico, X es $-C(O)OR^2$, en el que R^2 es alquilo C_{1-4} o $-(CH_2)_n$ -fenilo en el que n es 0 ó 1,

En otro aspecto específico, X es $-C(O)OR^2$ en el que R^2 es alquilo C_{1-3} o fenilo.

En otros aspectos específicos, X es $-C(O)OR^2$ en el que R^2 es metilo o fenilo, o en el que R^2 es metilo.

En un aspecto específico, X es $-C(O)R^3$ en el que R^3 se selecciona de entre fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ y $-CN$, alquilo C_{1-5} , cicloalquilo C_{4-5} y $-(CH_2)_m$ -A en el que m es 0 ó 1, y A se selecciona de entre amino, furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, piridinilo y naftalenilo.

En otro aspecto específico, X es $-C(O)R^3$ en el que R^3 es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ y $-CN$.

En otro aspecto específico, X es $-C(O)OR^3$ en el que R^3 es alquilo C_{1-5} o cicloalquilo C_{4-5} .

En otro aspecto específico, X es $-C(O)R^3$ en el que R^3 es $-(CH_2)_m$ -A en el que m es 0 y A se selecciona de entre amino, furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, piridinilo y naftalenilo.

En otro aspecto específico, X es $-C(O)R^3$ en el que R^3 es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo y $-CF_3$, furanilo o tiofenilo.

En todavía otros aspectos específicos, X es $-C(O)R^3$ en el que R^3 es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre metilo, cloro, fluoro y $-CF_3$, o R^3 es furán-2-ilo o tiofén-2-ilo.

En un aspecto específico, X es $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ y $-OCHF_2$.

En otro aspecto específico, X es $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno.

En otro aspecto específico, X es $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno y R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} y halo.

En otros aspectos específicos, X es $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno y R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1 halo o con un fluoro o cloro.

En un aspecto específico, X es $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ en el que R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^7 es hidrógeno, -OH o

alquilo C₁₋₃, o R⁶ y R⁷ conjuntamente forman oxo o -(CH₂)₂-, y R⁸ es fenilo o ciclohexilo en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN.

5 En otro aspecto específico, X es -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁶ es hidrógeno.

En otro aspecto específico, X es -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁸ es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN.

10 En otro aspecto específico, X es -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁸ es ciclohexilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN.

15 En todavía otros aspectos específicos, X es -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁶ es hidrógeno y R⁷ es hidrógeno, -OH o metilo, o R⁶ y R⁷ conjuntamente forman oxo o -(CH₂)₂-, y R⁸ es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo, o R⁸ es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre metilo, fluoro y cloro.

20 En un aspecto específico, X es -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R¹⁰ es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ y -OCHF₂.

En otro aspecto específico, X es -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o metilo.

25 En otros aspectos específicos, X es -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o metilo y R¹⁰ es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo, o fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre metilo, fluoro y cloro.

30 En un aspecto específico, X es -S(O)₂R¹¹ en el que R¹¹ se selecciona de entre alquilo C₁₋₃, -CH₂-fenilo, 2,4-dimetilisoaxazolilo y fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN.

35 En otro aspecto específico, X es -S(O)₂R¹¹ en el que R¹¹ es alquilo C₁₋₃, 2,4-dimetilisoaxazolilo o fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN.

40 En otros aspectos específicos, X es -S(O)₂R¹¹ en el que R¹¹ es metilo o fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo, o con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre metilo, fluoro y cloro.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), en el que:

R¹ es alquilo C₃₋₄, y X se selecciona de entre:

- 45 (a) -C(O)OR², en el que R² es alquilo C₁₋₃ o fenilo,
 (b) -C(O)R³ en el que R³ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo y -CF₃, furanilo o tiofenilo,
 (c) -C(O)NR⁴R⁵ en el que R⁴ es hidrógeno y R⁵ es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo,
 50 (d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ en el que R⁶ es hidrógeno y R⁷ es hidrógeno, -OH o metilo, o R⁶ y R⁷ conjuntamente forman oxo o -(CH₂)₂-, y R⁸ es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo,
 (e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o metilo y R¹⁰ es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo, y
 55 (f) -S(O)₂R¹¹ en el que R¹¹ es metilo o fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo.

La invención proporciona además un compuesto de fórmula (I), en la que:

R¹ es isopropilo o *terc*-butilo, y X se selecciona de entre:

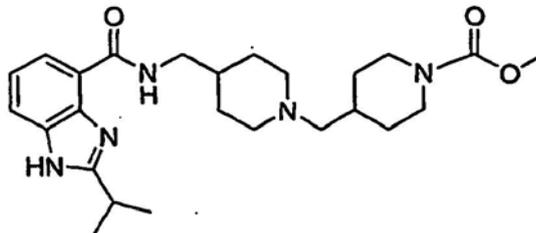
- 60 (a) -C(O)OR² en el que R² es metilo o fenilo,
 (b) -C(O)R³ en el que R³ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre metilo, cloro, fluoro y -CF₃, furán-2-ilo o tiofén-2-ilo, y
 (c) -C(O)NR⁴R⁵ en el que R⁴ es hidrógeno y R⁵ es fenilo opcionalmente sustituido con 1 fluoro o cloro.

65 En todavía otros aspectos específicos, la invención proporciona los compuestos indicados en los Ejemplos y en las

Tablas I a IX, posteriormente.

La convención de denominación química utilizada en la presente memoria se ilustra para el compuesto del Ejemplo 1:

5



10

que se denomina metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico, según el programa AutoNom, proporcionado por MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Alemania). La estructura de anillos fusionados "benzoimidazol" alternativamente se denomina "bencimidazol". Los dos términos son equivalentes tal como se utilizan en la presente memoria.

15

Tal como se ejemplifica mediante los compuestos particulares listados en las tablas, posteriormente, los compuestos de la invención pueden contener un centro quiral. Por consiguiente, la invención incluye mezclas racémicas, estereoisómeros puros y mezclas enriquecidas en estereoisómeros de dichos isómeros, a menos que se indique lo contrario. En el caso de que se muestre un estereoisómero particular, el experto en la materia entenderá que pueden encontrarse presentes cantidades menores de otros estereoisómeros en las composiciones de la invención, a menos que se indique lo contrario, con la condición de que cualquier utilidad de la composición en global no resulte eliminada por la presencia de dichos otros isómeros.

20

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto seleccionado de entre:

25

metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,

fenil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]-amino]-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,

{1-[1-(2-chlorobenzoil) piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil} amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

{1-[1-(2,4-difluorobenzoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

30

{1-[1-(furán-2-carbonil)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

{1-[1-(tiofén-2-carbonil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

35

{1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometilbenzoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

{1-[1-(2-fluoro-fenilcarbomoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}-amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

40

metil-éster de ácido 4-(4-[[2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]-amino]-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,

{1-[1-(2-fluoro-benzoil)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico,

{1-[1-(3-metil-benzoil)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico y

45

{1-[1-(4-fluorobenzoil)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico.

Definiciones

Al describir los compuestos, composiciones y métodos de la invención, los términos siguientes presentan los significados siguientes, a menos que se indique lo contrario.

50

El término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado monovalente que puede ser lineal o ramificado o una combinación de lineal y ramificado. A menos que se indique lo contrario, dichos grupos alquilo típicamente contienen entre 1 y 10 átomos de carbono. Entre los grupos alquilo representativos se incluyen, a título de ejemplo, metilo (Me), etilo, n-propilo (n-Pr), isopropilo (iPr), n-butilo (n-Bu), sec-butilo, isobutilo, terc-butilo (tBu), n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo y similares.

55

El término "alcoxi" se refiere a un grupo monovalente -O-alquilo, en el que alquilo se define tal como se ha indicado

anteriormente. Entre los grupos alcoxi representativos se incluyen, a título de ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y similares.

5 El término "cicloalquilo" se refiere a un grupo carbocíclico saturado monovalente que puede ser monocíclica o multicíclica. A menos que se indique lo contrario, dichos grupos cicloalquilo típicamente contienen entre 3 y 10 átomos de carbono. Entre los grupos cicloalquilo representativos se incluyen, a título de ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo y similares.

10 El término "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "oxo" se refiere a un átomo de oxígeno de doble enlace (=O).

15 El término "compuesto" se refiere a un compuesto preparado sintéticamente o producido de otra manera, tal como mediante metabolismo.

La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad suficiente para realizar el tratamiento administrada en un paciente que necesita tratamiento.

20 El término "tratamiento" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere al tratamiento de una enfermedad, trastorno o condición médica de un paciente, tal como un mamífero (particularmente un ser humano), que incluye:

(a) prevenir que aparezca la enfermedad, trastorno o condición médica, es decir, el tratamiento profiláctico de un paciente,

25 (b) mejora de la enfermedad, trastorno o condición médica, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o condición médica de un paciente,

(c) suprimir la enfermedad, trastorno o condición médica, es decir, enlentecer o detener el desarrollo de la enfermedad, trastorno o condición médica de un paciente, o

(d) aliviar los síntomas de la enfermedad, trastorno o condición médica de un paciente.

30 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de un ácido o base que resulta aceptable para la administración en un paciente, tal como un mamífero. Dichas sales pueden derivarse de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables y de bases farmacéuticamente aceptables. Típicamente, las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de la presente invención se preparan a partir de ácidos.

35 Entre las sales derivadas de ácidos farmacéuticamente aceptables se incluyen, aunque sin limitación, los ácidos acético, adípico, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, hidrobromico, hidrocórico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, nítrico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico, xinafoico (ácido 1-hidroxi-2-naftoico), ácido naftalén-1,5-disulfónico y similares.

40 El término "solvato" se refiere a un complejo o agregado formado por una o más moléculas de un soluto, es decir, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una o más moléculas de un solvente. Dichos solvatos típicamente son sólidos cristalinos que presentan una proporción molar sustancialmente fija de soluto y solvente. Entre los solventes representativos se incluyen, a título de ejemplo, agua, metanol, etanol, isopropanol, ácido acético y similares. En el caso de que el solvente sea agua, el solvato formado es un hidrato.

45 Se apreciará que la expresión "sal o solvato farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo" pretende incluir todas las permutaciones de las sales, solvatos y estereoisómeros, tal como un solvato de una sal farmacéuticamente aceptable de un estereoisómero de un compuesto de fórmula (I).

50 La expresión "grupo protector de amino" se refiere a un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseables en un nitrógeno de un grupo amino. Entre los grupos protectores de amino representativos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, grupos formilo y acilo, por ejemplo grupos alcanilo, tales como grupos acetilo y alcoxycarbonilo, tales como terc-butoxicarbonilo; grupos arilmetoxicarbonilo, tales como benciloxicarbonilo (Cbz) y 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc); grupos arilmetilo, tales como bencilo (Bn), tritilo (Tr) y 1,1-di(4'-metoxifenil)metilo; grupos sililo, tales como trimetilsililo (TMS) y terc-butildimetilsililo (TBDMS) y similares.

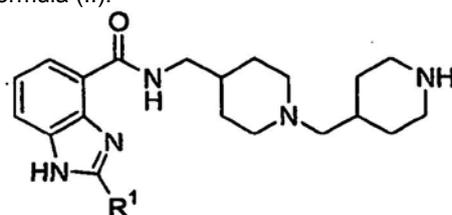
60 Procedimientos sintéticos generales

Los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles, utilizando los métodos generales y procedimientos siguientes. Aunque se ilustra un aspecto particular de la presente invención en los esquemas, posteriormente, el experto en la materia podrá reconocer que todos los aspectos de la presente invención pueden prepararse utilizando los métodos descritos en la presente memoria o mediante la utilización de otros métodos, reactivos y materiales de partida conocidos por el experto en la materia. También apreciará que, donde se proporcionan condiciones de procedimiento típicas o preferentes (es decir, temperaturas de

reacción, tiempos, proporciones molares de los reactivos, solventes, presiones, etc.), también podrán utilizarse otras condiciones de procedimiento a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas variarán con los reactivos o solvente particulares utilizados, aunque dichas condiciones podrán ser determinadas por el experto en la materia mediante procedimientos rutinarios de optimización.

Además, tal como resultará evidente para el experto en la materia, pueden resultar necesarios grupos protectores convencionales para impedir que determinados grupos funcionales sufran reacciones no deseadas. La elección de un grupo protector adecuado para un grupo funcional particular, así como las condiciones adecuadas para la protección y desprotección, son bien conocidas de la técnica. Por ejemplo, numerosos grupos protectores, y la introducción y eliminación de los mismos, se describen en T.W. Greene y G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, Wiley, New York, 1999, y referencias citadas en el mismo.

En un método de síntesis, se preparan compuestos de fórmula (I) haciendo reaccionar un intermediario piperidinilmetil-piperidinil-metilo de fórmula (II):



(II)

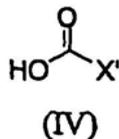
con un reactivo de fórmula (III):



en el que L es un grupo saliente, por ejemplo un halógeno, tal como cloro, o un aciloxi, éster sulfónico u oxisuccinimida, y R¹ y X se definen tal como en la fórmula (I).

La reacción típicamente se lleva a cabo poniendo en contacto el intermediario (II) con un número de equivalentes de intermediario (III) de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 en un diluyente aprótico polar, tal como diclorometano, en presencia de por lo menos un equivalente de una base amina, tal como N,N-diisopropiletilamina. Entre los diluyentes inertes adecuados para dicho procedimiento y los descritos posteriormente, también se incluyen N,N-dimetilformamida, triclorometano, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetrahydrofurano y similares. Entre las bases amina adecuadas para los procedimientos de la presente invención también se incluyen trietilamina, piridina y similares. La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C durante un tiempo de entre aproximadamente un cuarto de hora y aproximadamente 2 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente. Entre los reactivos ejemplares L-X, en el que L es cloro, se incluyen clorofornato de metilo, clorofornato de fenilo, cloruro de clorobenzoilo y cloruro de metanosulfonilo.

En un método alternativo de síntesis, los compuestos de fórmula (I), en la que X se selecciona de entre -C(O)R³, -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ y -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰, pueden prepararse mediante la reacción de acoplamiento de amidas de un intermediario de fórmula (II) con un ácido carboxílico de fórmula (IV):



(IV)

En la fórmula (IV), X' representa R³, C(R⁶R⁷)R⁸ o C(HR⁹)OR¹⁰, de manera que -C(O)X' corresponde a X, tal como se ha indicado anteriormente para la fórmula (I). En la reacción de acoplamiento de amidas del intermediario (II), en primer lugar se ponen en contacto entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 equivalentes del ácido carboxílico (IV) de un agente de acoplamiento, tal como hexafluorofosfato de O-(7-axabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) en un solvente aprótico polar, tal como dimetilformamida o los comentados anteriormente. A continuación, la mezcla de ácidos se ponen en contacto con el intermediario (II) en presencia de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4 equivalentes de una base amina, por ejemplo N,N-diisopropiletilamina. La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C durante un tiempo de entre aproximadamente un cuarto de hora y aproximadamente 2 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente.

Entre los agentes de acoplamiento alternativos adecuados se incluyen hidrócloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidin-fosfonio (PyBop). Los agentes de acoplamiento pueden combinarse con agentes impulsores, por ejemplo 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt), hidroxibenzotriazol (HOBt) ó

1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO).

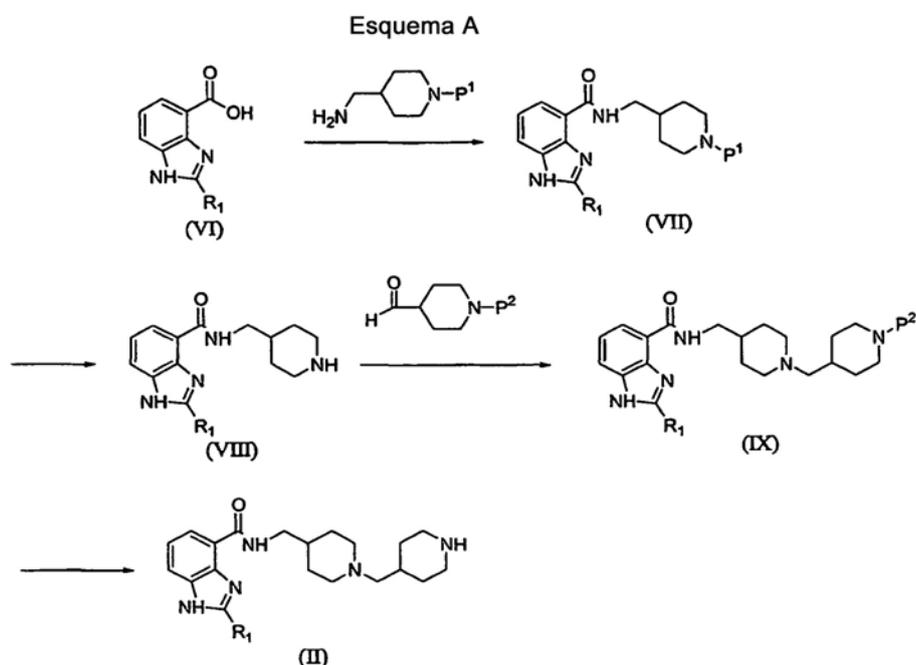
En todavía otro procedimiento alternativo, pueden prepararse compuestos de fórmula (I) en la que X es $-C(O)NHR^5$ mediante la reacción de un intermediario de fórmula (II) con un isocianato de la forma:



La reacción típicamente se lleva a cabo mediante la puesta en contacto del intermediario (II) con un número de equivalentes de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 de intermediario (V) en un diluyente aprótico polar en presencia de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4 equivalentes de una base amina. La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C durante un tiempo de entre aproximadamente un cuarto de hora y aproximadamente 24 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente.

El producto de fórmula (I) se aísla y se purifica mediante procedimientos convencionales. Por ejemplo, el producto puede concentrarse a sequedad bajo presión reducida y el residuo purificarse mediante cromatografía de HPLC.

Los intermediarios piperidinilmetil-piperidinilmetilo de fórmula (II) se preparan a partir de materiales de partida fácilmente disponibles mediante el procedimiento ilustrado en el Esquema A.



en el que P^1 y P^2 representan independientemente un grupo protector de amino, tal como *tert*-butoxicarbonilo (Boc).

En primer lugar, se hace reaccionar un ácido carboxílico de fórmula (VI) con una aminometil-piperidina protegida con el fin de formar un intermediario protegido de fórmula (VII). Esta reacción típicamente se lleva a cabo mediante la puesta en contacto de (VI) con un número de equivalentes de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2 de aminometilpiperidina protegida en un diluyente aprótico polar, en presencia de un agente de acoplamiento de amidas indicado anteriormente, por ejemplo hidrocloreuro de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) combinado con hidroxibenzotriazol (HOBT) ó 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) en combinación con 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO). La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 60°C durante un tiempo de entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 24 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente.

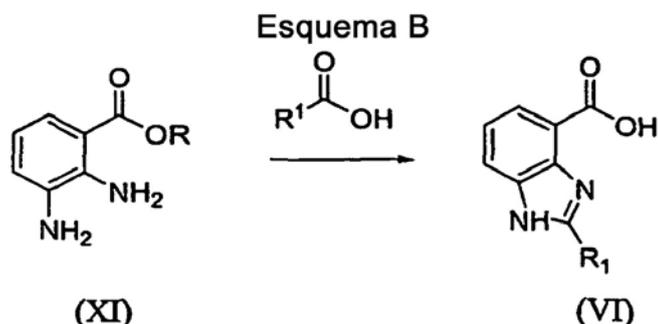
El grupo protector P^1 se elimina del intermediario (VII) por medios convencionales con el fin de proporcionar el intermediario (VIII). Por ejemplo, en el caso de que se utilice Boc como grupo protector, puede eliminarse mediante tratamiento con un ácido, tal como ácido trifluoroacético o hidrocloreico.

A continuación, se forma un intermediario de fórmula (IX) mediante la aminación reductora del intermediario (VIII) con una piperidina-carboxaldehído protegido. Esta reacción típicamente se lleva a cabo mediante la puesta en contacto de (VIII) con un número de equivalentes de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2 de la piperidina-carboxaldehído protegido en un diluyente inerte en presencia de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2 equivalentes de un agente reductor. Opcionalmente puede incluirse aproximadamente un equivalente de un ácido débil, tal como ácido acético, con el fin de acelerar la reacción. La reacción puede llevarse a

cabo a una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C, típicamente entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 30°C, durante aproximadamente 0,25 a aproximadamente 2 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente.

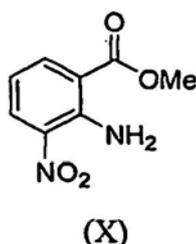
- 5 Entre los diluyentes inertes adecuados se incluyen diclorometano, triclorometano, 1,1,2,2-tetracloroetano y similares. Entre los agentes reductores típicos se incluyen triacetoxiborohidruro sódico, borohidruro sódico y cianoborohidruro sódico. El producto (IX) se aísla mediante procedimientos estándares. En el caso de que la amina (VIII) se suministre en forma de una sal de ácido, típicamente se incluye en la reacción un número de equivalentes de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3 de una base amina, tal como N,N-diisopropiletilamina. Finalmente, el grupo protector P² se elimina del intermediario (IX) mediante procedimientos convencionales con el fin de proporcionar el intermediario piperidinilmetil-piperidinilmetilo (II).
- 10

Puede prepararse un ácido carboxílico de fórmula (VI) a partir de un ácido o éster diaminobenzoico mediante el procedimiento ilustrado en el Esquema B:



- 15 en el que R representa metilo o hidrógeno. El intermediario (XI) se hace reaccionar con un ácido carboxílico, R¹C(O)OH, con el fin de formar el intermediario ácido (VI). Esta reacción típicamente se lleva a cabo mediante la puesta en contacto del ácido o éster (XI) con un número de equivalentes de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4 del ácido carboxílico, R¹C(O)OH, en una solución acuosa ácida. La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 100°C, durante un tiempo de entre aproximadamente 12 y aproximadamente 72 horas. A continuación, se eleva el pH de la solución mediante la adición de base, tal como hidróxido sódico, y el producto se aísla por medios convencionales.
- 20

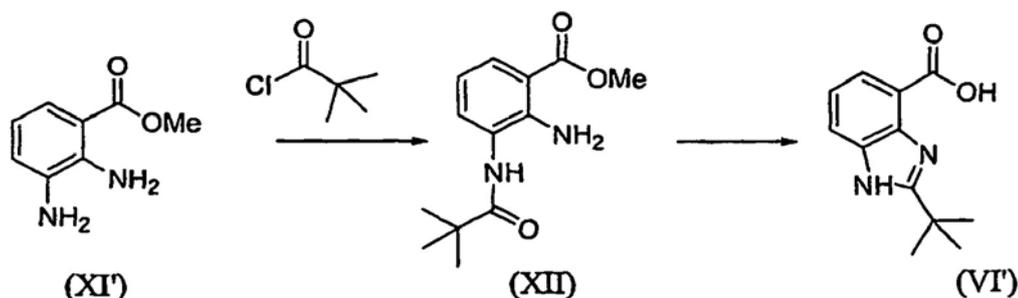
- 25 Un procedimiento conveniente para proporcionar el intermediario (XI) utiliza metil-éster de ácido 2-amino-3-nitrobenzoico (X):



- 30 como el material de partida. Típicamente se disuelve metil-éster de ácido 2-amino-3-nitrobenzoico (X) en un diluyente polar y se reduce mediante la exposición a una atmósfera de hidrógeno en presencia de un catalizador metal de transición con el fin de proporcionar metil-éster de ácido diaminobenzoico (XI). La reacción típicamente se lleva a cabo a temperatura ambiente durante aproximadamente 12 a 72 horas.

- 35 En el caso de que el sustituyente R¹ sea estéricamente voluminoso, tal como, por ejemplo, en el caso de que R¹ sea *tert*-butilo, puede prepararse ácido *tert*-butilbencimidazol carboxílico (VI') mediante la conversión del metil-éster (XI') siguiendo un procedimiento en dos etapas, tal como se ilustra, por ejemplo, en el Esquema C:

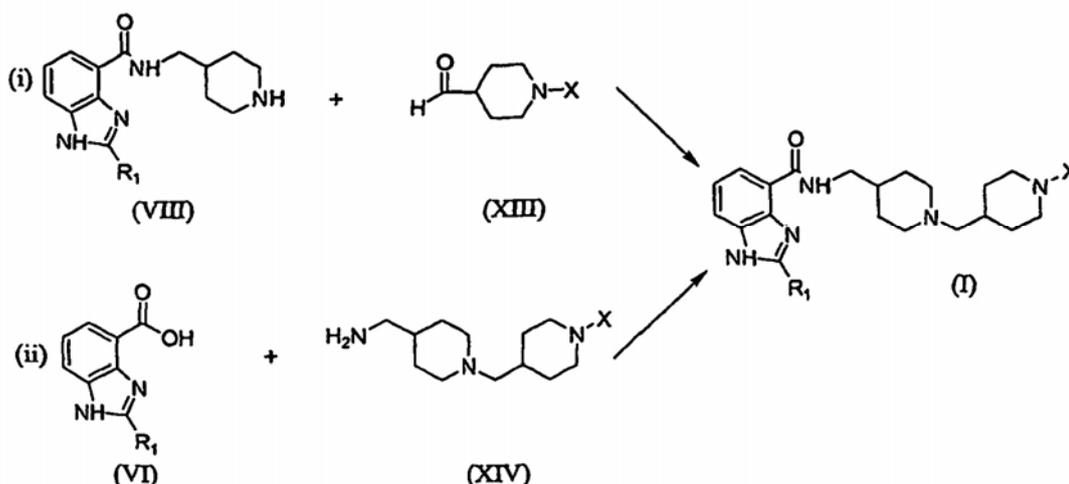
Esquema C



5 Tal como se describe en detalle en la Preparación 3, posteriormente, el metil-éster (XI') en primer lugar se hace reaccionar con cloruro de 2,2-dimetilpropionilo con el fin de proporcionar el intermediario (XII), que se somete a reflujo en una solución ácida fuerte, típicamente durante aproximadamente 12 a 72 horas, con el fin de proporcionar el ácido *terc*-butilbencimidazol carboxílico (VI').

En métodos alternativos de síntesis, pueden prepararse compuestos de fórmula (I) según las rutas de procedimiento ilustradas en el Esquema D utilizando la aminación reductora y otras reacciones indicadas anteriormente, y/o utilizando reacciones alternativas bien conocidas por el experto en la materia.

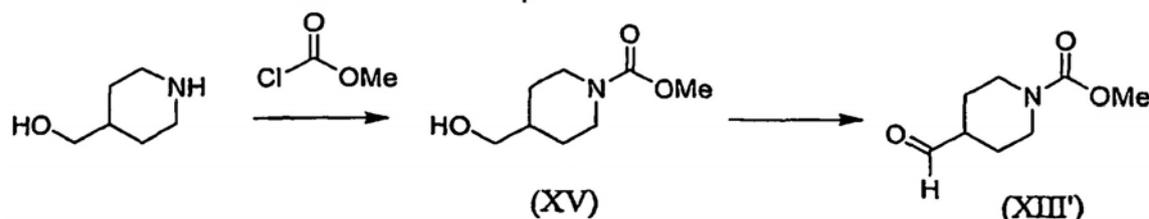
Esquema D



10 Tal como se muestra en la ruta del procedimiento (i), se hace reaccionar un intermediario de fórmula (VIII) con un intermediario de fórmula (XIII) con el fin de proporcionar un compuesto de fórmula (I). La reacción típicamente se lleva a cabo bajo las condiciones indicadas anteriormente para la reacción de la amina (VIII) con la piperidina-carboxaldehído protegida, en el Esquema A.

15 El intermediario (XIII) puede prepararse mediante la reacción de la 4-hidroximetilpiperidina con un reactivo L-X, de fórmula (III), seguido de la oxidación del intermediario resultante. Por ejemplo, para el caso particular de que X sea -C(O)OCH₃, el intermediario (XIII) puede prepararse tal como se muestra en el Esquema E.

Esquema E

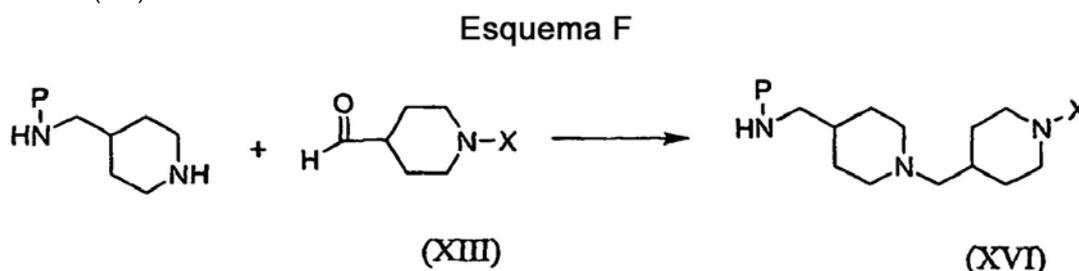


20 En primer lugar, se hace reaccionar 4-hidroximetilpiperidina con cloroformato de metilo con el fin de formar el intermediario hidroximetilpiperidina (XV). La reacción típicamente se lleva a cabo mediante la puesta en contacto de 4-hidroximetilpiperidina en una solución acuosa con un número de equivalentes de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 de cloroformato de metilo en presencia de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5 equivalentes de base. La reacción típicamente se lleva a cabo a una temperatura comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C durante un tiempo de entre aproximadamente 12 horas y

aproximadamente 72 horas, o hasta que la reacción se ha completado sustancialmente. A continuación, se oxida el intermediario (XV) con el fin de formar el intermediario formilpiperidinilo (XIII'). La reacción de oxidación típicamente utiliza un reactivo de oxidación, tal como una combinación de cloruro de oxalilo y dimetilsulfóxido (oxidación de Swern), un reactivo cromato, tal como clorocromato de piridinio, o un agente oxidante, tal como hipoclorito sódico, conjuntamente con un catalizador, tal como el radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinilo (TEMPO).

La preparación de un compuesto de fórmula (I) según la ruta de procedimiento (i) del Esquema D utilizando el intermediario (XIII') se describe en los Ejemplos 214 y 216, posteriormente.

- 10 También puede prepararse un compuesto de fórmula (I) haciendo reaccionar un ácido carboxílico de fórmula (VI) con un intermediario de fórmula (XIV), tal como se muestra en la ruta de procedimiento (ii). Tal como se ilustra en el Esquema F, puede prepararse el intermediario (XIV) mediante la reacción de una aminometilpiperidina protegida con el intermediario (XIII).



- 15 en el que P es un grupo protector de amino, con el fin de proporcionar un intermediario protegido de fórmula (XVI), seguido de una etapa de desprotección. La preparación de compuestos según la ruta de procedimiento (ii) se describe en la Preparación 4 y en los Ejemplos 14 y 15, posteriormente.

- 20 Los reactivos L-X (III), X'C(O)OH (IV), O=C=N=R⁵ (V) y R¹C(O)OH se encuentran disponibles comercialmente o se preparan fácilmente mediante procedimientos estándares a partir de materiales de partida comunes.

En los ejemplos, posteriormente, se proporciona más información sobre condiciones de reacción específicas y otros procedimientos para preparar compuestos representativos de la invención o intermediarios de los mismos.

- 25 De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en un aspecto metodológico, la invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I), o una sal o estereoisómero del mismo, comprendiendo el procedimiento: (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con el compuesto de fórmula (III), (b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII) con un compuesto de fórmula (XIII), o (c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto de fórmula (XIV), con el fin de proporcionar un compuesto de fórmula (I) o una sal o estereoisómero del mismo.

- 35 En un aspecto metodológico adicional, la invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) seleccionado de entre -C(O)R³, -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸ y -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ o una sal o estereoisómero de los mismos, comprendiendo el procedimiento hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (IV), en la que X' representa R³, C(R⁶R⁷)R⁸ ó C(HR⁹)OR¹⁰, con el fin de proporcionar un compuesto de fórmula (I), o una sal o estereoisómero del mismo.

- 40 La invención proporciona además un compuesto de fórmula (II), o una sal o estereoisómero o derivado protector del mismo, en el que R¹ se define tal como en la fórmula (I).

Formas cristalinas

- 45 En otro aspecto, la invención proporciona metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en forma de base libre cristalina o un solvato del mismo. Se han observado tres formas distinguibles de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (en lo sucesivo, compuesto 1).

- 50 La Forma cristalina I de la presente invención es una base libre cristalina. La Forma I se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos (PXRD) que presenta dos o más picos de difracción en valores de 2θ seleccionados de entre 15.0860.20, 15.4160.20, 19.0060.20, 19.7060.20, and 23.6860.20. En particular, la Forma I se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos que presenta picos de difracción en los valores de 2θ de 19.0060.20 y 19.7060.20.

- 55 Tal como es bien conocido en el campo de la difracción de rayos X de polvos, las posiciones de los picos de los espectros de PXRD son relativamente menos sensibles a detalles experimentales, tales como los detalles de la preparación de las muestras y la geometría del instrumento, que las alturas relativas de los picos. De esta manera,

en un aspecto, la Forma cristalina I se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos en el que las posiciones de los picos concuerdan sustancialmente con las mostradas en la figura 1.

5 La Forma I ha sido caracterizada adicionalmente mediante análisis de difracción de rayos X de la estructura cristalina, proporcionando los parámetros siguientes de celda: la celda unitaria es ortorrómbica, con dimensiones $a=16,9053 \text{ \AA}$, $b=9,5172 \text{ \AA}$, $c=15,4659 \text{ \AA}$; el grupo espacial es $Pna2_1$; la densidad calculada era $1,22 \text{ g/cm}^3$. La estructura molecular resultante confirma que la composición química es la del compuesto **1** y que la unidad asimétrica no contiene agua ni otras moléculas de solvente. Los picos de difracción de rayos X de los polvos predichos a partir de las posiciones atómicas derivadas presentan una excelente concordancia con los resultados observados.

15 La Forma I cristalina de la presente invención también se caracteriza por una estabilidad térmica elevada, tal como pone de manifiesto su perfil de calorimetría de escaneo diferencial (DSC), que muestra un pico en el flujo de calor endotérmico en el intervalo comprendido entre aproximadamente 145°C y aproximadamente 155°C , típicamente entre aproximadamente 146°C y 148°C , tal como se ilustra en la figura 2, que puede identificarse como un punto de fusión. Además, el perfil del análisis termogravimétrico (TGA) no muestra ningún suceso significativo de cambio de peso a temperatura inferior a la de inicio de la degradación, que es superior a aproximadamente 240°C .

20 En todavía otro aspecto, la presente forma cristalina se caracteriza por su espectro de absorción de infrarrojos, que muestra bandas de absorción significativas en aproximadamente 766 , 1.097 , 1.251 , 1.413 , 1.449 , 1.579 , 1.609 , 1.640 y 1.696 cm^{-1} .

25 La presente forma cristalina se ha demostrado que presenta un perfil de sorción/desorción reversible con un nivel excepcionalmente reducido de higroscopicidad (es decir, una ganancia de peso inferior a aproximadamente $0,25\%$ en el intervalo de humedades de entre 2% y 90% a temperatura ambiente), tal como se muestra en la figura 3.

30 Además, la Forma I cristalina del compuesto **1** se ha encontrado que es estable bajo exposición a temperatura y humedad elevadas. Tras almacenar durante tres meses a 40°C y a 75% de humedad relativa, no se produjeron cambios detectables en los perfiles de DSC, TGA o PXRD, de la pureza química según determinación mediante análisis de HPLC, ni cambios observables de la apariencia visual. Tampoco se produjeron cambios detectables según la DSC, TGA o PXRD tras moler las partículas de Forma I desde un tamaño de partícula medio basado en el volumen de aproximadamente 470 micrómetros hasta un tamaño de partícula medio basado en el volumen de aproximadamente 15 , de aproximadamente 22 ó de aproximadamente 29 micrómetros.

35 La Forma II cristalina del compuesto **1** se caracteriza por los perfiles de DSC y TGA de la figura 4. El análisis de TGA muestra el inicio de la pérdida de peso en el intervalo de temperaturas de entre aproximadamente 95°C y aproximadamente 105°C , típicamente a aproximadamente 100°C , en un perfil escalonado consistente con la pérdida de agua o de solvente, mientras que el perfil de DSC muestra un pico en el flujo de calor endotérmico en una temperatura de entre aproximadamente 143°C y aproximadamente 145°C , simultáneamente al suceso de fusión. El patrón de PXRD de la Forma II es indistinguible del de la Forma I. Aunque no se ha realizado una identificación positiva, el perfil de TGA de la Forma II es consistente con la interpretación de la Forma II como solvato.

45 La tercera forma cristalina de la invención se ha identificado como monohidrato. La Forma III se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos (PXRD) que presenta dos o más picos de difracción en valores de 2θ seleccionados de entre $9.1460.20$, $12.4160.20$, $12.7460.20$, $17.7560.20$, $18.4760.20$, $20.6360.20$, $21.1360.20$ y $27.0560.20$, tal como se ilustra en la figura 5. En particular, la Forma III se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos que presenta picos de difracción en los valores de 2θ de $9.1460.20$ y $20.6360.20$.

50 Los perfiles de DSC y TGA de la Forma III, mostrada en la figura 6, demuestran que el material experimenta una pérdida de peso de perfil escalonado con inicio en el intervalo de temperaturas de entre aproximadamente 65°C y aproximadamente 75°C , típicamente a aproximadamente 70°C y un pico de flujo de calor endotérmico a una temperatura de entre aproximadamente 90°C y aproximadamente 100°C , consistente con la pérdida del agua de monohidrato y la posterior fusión. La Forma III ha sido caracterizada adicionalmente mediante análisis de difracción de rayos X de la estructura cristalina, proporcionando los parámetros de celda siguientes: la celda unitaria era monoclinica, con dimensiones $a=14,8101 \text{ \AA}$, $b=9,9985 \text{ \AA}$; $c=17,9222 \text{ \AA}$; $\beta= 106,3020^\circ$; el grupo espacial es $P2_1/n$; la densidad calculada era de $1,23 \text{ g/cm}^3$. La estructura molecular resultante confirma que la composición química es la del compuesto **1** y que la unidad asimétrica contiene una sola molécula de agua.

60 Las formas cristalinas separadas de la presente invención puede obtenerse reproduciblemente mediante los procedimientos siguientes. La Forma I cristalina puede prepararse mediante dispersión del compuesto **1** en un diluyente inerte seleccionado de entre acetonitrilo, éter, ciclohexano y acetato de etilo en una proporción de entre aproximadamente 15 mg y aproximadamente 25 mg de compuesto **1** por cada mililitro de diluyente para formar una mezcla, y permitir que la mezcla se evapore a temperatura ambiente, resultando en la formación de cristales.

65 Alternativamente, la Forma I puede obtenerse mediante un procedimiento de intercambio de solventes a partir de compuesto **1** crudo en solución, sin aislar en primer lugar el compuesto **1** amorfo tal como se describe en el Ejemplo

216, posteriormente. Típicamente, la reacción para preparar el compuesto 1 se lleva a cabo en un diluyente aprótico polar, tal como diclorometano, en el que el compuesto es altamente soluble. Para preparar la Forma I cristalina, se añade acetonitrilo, destilando bajo vacío el producto de reacción crudo con el fin de eliminar el diclorometano. Se preparó una mezcla que presentaba entre aproximadamente 1 y aproximadamente 200 mg de compuesto 1 por cada mililitro de acetonitrilo, típicamente entre aproximadamente 50 mg y aproximadamente 125 mg de compuesto 1 por cada mililitro de acetonitrilo, a partir del residuo restante tras la destilación y se calentó hasta una temperatura suficiente para disolver el residuo, por ejemplo una temperatura de aproximadamente 75°C. A continuación, la mezcla se enfrió hasta una temperatura no superior a aproximadamente 20°C con el fin de proporcionar la Forma I cristalina, que se aisló mediante procedimientos convencionales. En un procedimiento ejemplar, la mezcla se enfrió hasta producirse la nucleación, típicamente a una temperatura de entre aproximadamente 55°C y aproximadamente 65°C y se mantuvo a esa temperatura durante aproximadamente una hora. A continuación, se enfrió a una tasa de entre aproximadamente 0,25 y aproximadamente 0,4°C por minuto hasta una temperatura de aproximadamente 20°C. Para incrementar el rendimiento de Forma I cristalina, la mezcla puede enfriarse adicionalmente a una tasa de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 0,75°C por minuto hasta una temperatura de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 5°C.

Para preparar la Forma II, se dispersó el compuesto 1 amorfo en hexano a temperatura ambiente hasta una concentración final de aproximadamente 10 mg/ml, y se sonicó la mezcla resultante. Tras aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente, se obtuvieron sólidos cristalinos de Forma II.

La Forma III se preparó mediante disolución del compuesto 1 amorfo en una mezcla de solventes 1:1 de etanol: agua a temperatura ambiente hasta una concentración final de aproximadamente 20 mg/ml y se sonicó la solución durante aproximadamente 30 segundos. Se dejó que la solución se evaporase parcialmente en un vial no tapado. Tras aproximadamente 24 horas, se obtuvieron sólidos cristalinos de la Forma III.

Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de bencimidazol-carboxamida de la invención se administran típicamente en un paciente en forma de una composición farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas pueden administrarse en el paciente mediante cualquier vía de administración aceptable, incluyendo, aunque sin limitación, las vías de administración oral, rectal, vaginal, nasal, inhalada, tópica (incluyendo transdérmica) y parenteral.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en uno de sus aspectos de composición, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable y a una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. Opcionalmente, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener otros agentes terapéuticos y/o de formulación si se desea.

Las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Típicamente, dichas composiciones farmacéuticas contienen entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 95% en peso del agente activo, incluyendo entre aproximadamente 5% y aproximadamente 70% en peso, y entre aproximadamente 10% y aproximadamente 60% en peso del agente activo.

Puede utilizarse cualquier portador o excipiente convencional en las composiciones farmacéuticas de la invención. La elección de un portador o excipiente particular, o de combinaciones de portadores o excipientes, dependerá del modo de administración utilizado para tratar un paciente particular o tipo de condición médica o estado de enfermedad. A este respecto, la preparación de una composición farmacéutica adecuada para un modo particular de administración se encuentra perfectamente dentro del alcance del experto en la técnica farmacéutica. Además, los ingredientes para dichas composiciones se encuentran disponibles comercialmente de, por ejemplo, Sigma, Apartado postal nº 14508, St. Louis, MO 63178. A título de ilustración adicional, se describen técnicas convencionales de formulación en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20a edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland, 2000; y H.C. Ansel *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7a edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland, 1999.

Entre los ejemplos representativos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables se incluyen, aunque sin limitación, los siguientes: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa, (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata, (3) celulosa, tal como celulosa microcristalina y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa, (4) tragacanto en polvo, (5) malta, (6) gelatina, (7) talco, (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio, (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de algodón, aceite de azafrán, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, (10) glicoles, tales como propilenglicol, (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol, (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo, (13) agar, (14) agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio, (15) ácido alginico, (16) agua libre de pirógenos, (17) solución salina isotónica, (18) solución de Ringer, (19) alcohol etílico, (20) soluciones de tampón fosfato, y (21) otras

sustancias compatibles no tóxicas utilizadas en composiciones farmacéuticas.

5 Las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente se preparan mediante la mezcla o combinación intensiva e íntima de un compuesto de la invención con un portador farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. En caso necesario o si se desea, la mezcla uniformemente combinada resultante seguidamente puede conformarse o cargarse en tabletas, cápsulas, píldoras y similares utilizando procedimientos y equipos convencionales.

10 Las composiciones farmacéuticas de la invención preferentemente se empaquetan en una forma de dosificación unitaria. La expresión "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para la dosificación en un paciente, es decir, a cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado solo o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas de dosificación unitaria pueden ser cápsulas, tabletas, píldoras y similares.

15 En una realización preferente, las composiciones farmacéuticas de la invención resultan adecuadas para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden encontrarse en forma de cápsulas, tabletas, píldoras, pastillas, sellos, grageas, polvos, gránulos, o en forma de una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión de aceite-en-agua o de agua-en-aceite, o en forma de un elixir o jarabe, y similares, conteniendo, cada una, una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención a modo de ingrediente activo.

25 En el caso de que se destine a la administración oral en una forma de dosificación sólida (es decir, en forma de cápsulas, tabletas, píldoras y similares), las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente comprenden un compuesto de la presente invención como ingrediente activo y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico. Opcional o alternativamente, dichas formas de dosificación sólidas también pueden comprender: (1) rellenos o extensores, tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico, (2) ligantes, tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia, (3) humectantes, tales como glicerol, (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y/o carbonato sódico, (5) agentes retardantes de la solución, tales como la parafina, (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, (7) agentes humectantes, tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol, (8) absorbentes, tales como caolín y/o arcilla bentonita, (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y/o mezclas de los mismos, (10) agentes colorantes, y (11) agentes tamponadores.

35 También pueden encontrarse presentes en las composiciones farmacéuticas de la invención agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes. Entre los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables se incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloreto de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfato sódico, sulfito sódico y similares, (2) antioxidantes solubles en aceites, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares, y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, etilendiamina ácido tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares. Entre los agentes de recubrimiento para tabletas, cápsulas, píldoras y similares se incluyen aquellos utilizados para recubrimientos entéricos, tales como ftalato acetato de celulosa (CAP), acetato ftalato de polivinilo (PVAP), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico-éster de ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulosa (CAT), carboximetilcelulosa (CMEC), succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS) y similares.

50 Si se desea, las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo utilizando, a título de ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables, u otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas.

55 Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención opcionalmente pueden contener agentes opacificadores y pueden formularse de manera que liberen el ingrediente activo únicamente, o preferentemente, en una parte determinada del tracto gastrointestinal, opcionalmente de una manera retardada. Entre los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden utilizarse se incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede encontrarse en forma microencapsulada, en caso apropiado, con uno o más de los excipientes anteriormente indicados.

60 Entre las formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración oral se incluyen, a título de ejemplo, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Dichas formas de dosificación líquidas típicamente comprenden el ingrediente activo y un diluyente inerte, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizadores y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (especialmente los aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y mezclas de los

mismos. Las suspensiones, además del ingrediente activo, pueden contener agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, alcoholes isostearílicos etoxilados, polioxietilén-sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

5 Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan para la administración mediante inhalación. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración mediante inhalación típicamente se encuentran en forma de un aerosol o de unos polvos. Dichas composiciones generalmente se administran utilizando dispositivos de administración bien conocidos, tales como un inhalador de dosis medida, un inhalador de polvos secos, un nebulizador o un dispositivo de administración similar.

10 En el caso de que se administren mediante inhalación utilizando un recipiente presurizado, las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente comprenden el ingrediente activo y un propelente adecuado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado.

15 Además, la composición farmacéutica puede encontrarse en forma de una cápsula o cartucho (realizado en, por ejemplo, gelatina) que comprende un compuesto de la invención y unos polvos adecuados para la utilización en un inhalador de polvos. Entre dichas bases de polvos se incluyen, a título de ejemplo, lactosa o almidón.

20 Los compuestos de la invención también pueden administrarse por vía transdérmica utilizando sistemas de administración transdérmica y excipientes conocidos. Por ejemplo un compuesto de la invención puede mezclarse con intensificadores de permeación, tales como propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, azacicloalcán-2-ona y similares, e incorporarse en un parche o sistema de administración similar. Si se desea, pueden utilizarse excipientes adicionales, incluyendo agentes gelificantes, emulsionantes y tampones, en dichas composiciones transdérmicas.

25 Las formulaciones siguientes ilustran composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención:

Ejemplo de formulación A

30 Las cápsulas de gelatina dura para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	50 mg
Lactosa (secada mediante pulverización)	200 mg
Estearato de magnesio	10 mg

35 Procedimiento representativo: Se mezclan bien los ingredientes y después se cargan en una cápsula de gelatina dura (260 mg de composición en cada cápsula).

Ejemplo de formulación B

Las cápsulas de gelatina dura para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	20 mg
Almidón	89 mg
Celulosa microcristalina	89 mg
Estearato de magnesio	2 mg

40 Procedimiento representativo: Los ingredientes se mezclan bien y después se pasan a través de un tamiz U.S. de malla del nº 45 y se cargan en una cápsula de gelatina dura (200 mg de composición en cada cápsula).

Ejemplo de formulación C Las cápsulas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

45

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	10 mg
Monooleato de polioxietilén-sorbitán	50 mg
Almidón en polvo	250 mg

Procedimiento representativo: Se mezclan bien los ingredientes y después se cargan en una cápsula de gelatina dura (310 mg de composición en cada cápsula).

Ejemplo de formulación D

5

Las tabletas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	5 mg
Almidón	50 mg
Celulosa microcristalina	35 mg
Polivinilpirrolidona (al 10% en peso en agua)	4 mg
Carboximetil-almidón sódico	4,5 mg
Estearato de magnesio	0,5 mg
Talco	1 mg

10

Procedimiento representativo: El ingrediente activo, almidón y celulosa se pasaron a través de un tamiz U.S. de malla del nº 45 y se mezclaron bien. La solución de polivinilpirrolidona se mezcló con los polvos resultantes, y esta mezcla seguidamente se pasó a través de un tamiz U.S. de malla del nº 14. Los gránulos producidos de esta manera se secaron a una temperatura de entre 50°C y 60°C y se pasaron a través de un tamiz U.S. de malla del nº 18. El carboximetil-almidón sódico, el estearato de magnesio y el talco (previamente pasado a través de un tamiz de malla del nº 60) seguidamente se añadieron a los gránulos. Tras mezclar, la mezcla se comprimió en una tableteadora, proporcionando una tableta que pesaba 100 mg.

15

Ejemplo de formulación E

Las tabletas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

20

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	25 mg
Celulosa microcristalina	400 mg
Dióxido de silicio ahumado	10 mg
Ácido esteárico	5 mg

Procedimiento representativo: Los ingredientes se mezclaron bien y después se comprimieron para formar tabletas (440 mg de composición en cada tableta).

25

Ejemplo de formulación F

Las tabletas monorranuradas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	15 mg
Almidón de maíz	50 mg
Croscarmelosa sódica	25 mg
Lactosa	120 mg
Estearato de magnesio	5 mg

30

Procedimiento representativo: Los ingredientes se mezclaron bien y después se comprimieron para formar tabletas monorranuradas (215 mg de composición en cada tableta).

Ejemplo de formulación G

35

Se preparó una suspensión para la administración oral de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	0,1 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloruro sódico	2,0 g
Metilparabén	0,15 g
Propilparabén	0,05 g
Azúcar granulado	25,5 g
Sorbitol (solución al 70%)	12,85 g

Veegum K (Vanderbilt Co.)	1,0 g
Saborizante	0,035 ml
Colorantes	0,5 mg
Agua destilada	c.s. para 100 ml

Procedimiento representativo: Los ingredientes se mezclan formando una suspensión que contiene 10 mg de ingrediente activo por cada 10 ml de suspensión.

5 Ejemplo de formulación H

Se prepararon unos polvos secos para la administración mediante inhalación del modo siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	1,0 mg
Lactosa	25 mg

10 Procedimiento representativo: Se micronizó el ingrediente activo y después se combinó con lactosa. A continuación, esta mezcla combinada se cargó en un cartucho para inhalación de gelatina. El contenido del cartucho se administra utilizando un inhalador de polvos.

15 Ejemplo de formulación I

Se prepararon unos polvos secos para la administración mediante inhalación en inhalador de dosis medida del modo siguiente:

20 Procedimiento representativo: Una suspensión que contenía 5% en peso de un compuesto de la invención y 0,1% en peso de lecitina se preparó mediante la dispersión de 10 gramos de compuesto activo en forma de partículas micronizadas con un tamaño medio inferior a 10 μ m en una solución formada a partir de 0,2 gramos de lecitina disueltos en 200 ml de agua desmineralizada. - Se secó la suspensión mediante pulverización y el material resultante se micronizó formando partículas de diámetro medio inferior a 1,5 μ m. Las partículas se cargaron en cartuchos con 1,1,1,2-tetrafluoroetano presurizado.

25 Ejemplo de formulación J

Se preparó una formulación inyectable de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	0,2 g
Solución tampón de acetato sódico (0,4 M)	40 ml
HCl (0,5 N) o NaOH (0,5 N)	c.s. para pH 4
Agua (destilada, estéril)	c.s. para 20 ml

30 Procedimiento representativo: Los ingredientes anteriormente indicados se combinaron y se ajustó el pH a $4 \pm 0,5$ utilizando HCl 0,5 N o NaOH 0,5 N.

35 Ejemplo de formulación K

Las cápsulas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	4,05 g
Celulosa microcristalina (Avicel PH 103)	259,2 mg
Estearato de magnesio	0,75 mg

40 Procedimiento representativo: Se mezclaron bien los ingredientes y después se cargaron en una cápsula de gelatina (tamaño nº 1, blanca, opaca) (264 mg de composición en cada cápsula).

45 Ejemplo de formulación L

Las cápsulas para la administración oral se preparan de la manera siguiente:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	8,2 mg
Celulosa microcristalina (Avicel PH 103)	139,05 mg
Estearato de magnesio	0,75 mg

5 Procedimiento representativo: Se mezclaron bien los ingredientes y después se cargaron en una cápsula de gelatina (tamaño nº 1, blanca, opaca) (148 mg de composición en cada cápsula).

10 Se entiende que cualquier forma de los compuestos de la invención (es decir, base libre, sal o solvato farmacéutico) que resulte adecuada para el modo particular de administración podrá utilizarse en las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente.

Utilidad

15 Los compuestos de bencimidazol-carboxamida de la invención son agonistas de receptores de 5-HT₄ y por lo tanto se espera que resulten útiles para tratar condiciones médicas mediadas por receptores de 5-HT₄ o asociados a la actividad de receptores de 5-HT₄, es decir, condiciones médicas que mejoran con el tratamiento con un agonista de receptor de 5-HT₄. Entre dichas condiciones médicas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, el síndrome del intestino irritable (IBS), el estreñimiento crónico, la dispepsia funcional, el retardo del vaciado gástrico, la enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD), la gastroparesis, el íleo post-operatorio, la pseudo-obstrucción intestinal y el retardo del tránsito intestinal inducido por un fármaco. Además, se ha sugerido que algunos compuestos agonistas del receptor de 5-HT₄ pueden utilizarse en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, incluyendo trastornos cognitivos, trastornos del comportamiento, trastornos del humor y trastornos de control de la función autonómica.

25 En particular, los compuestos de la invención incrementan la motilidad del tracto gastrointestinal (GI). Por lo tanto, la invención también proporciona un compuesto de la invención para la utilización en el tratamiento de trastornos del tracto GI causados por una motilidad reducida en mamíferos, incluyendo el ser humano. Entre dichos trastornos de la motilidad GI se incluyen, a título ilustrativo, el estreñimiento crónico, el síndrome del intestino irritable con predominio de estreñimiento (C-IBS), la gastroparesis diabética e idiopática y la dispepsia funcional. La invención también proporciona la utilización de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una de las condiciones médicas anteriormente indicadas en un mamífero.

35 Al utilizarlos para tratar trastornos de motilidad reducida del tracto GI u otras condiciones mediadas por receptores de 5-HT₄, los compuestos de la invención típicamente se administran por vía oral en una única dosis diaria o en múltiples dosis diarias, aunque pueden utilizarse otras formas de administración. La cantidad de agente activo administrada en cada dosis o la cantidad total administrada al día típicamente será determinada por un médico a la luz de las circunstancias relevantes, entre ellas la condición que debe tratarse, la vía de administración seleccionada, el compuesto mismo administrado y su actividad relativa, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente, y similares.

40 Las dosis adecuadas para el tratamiento de trastornos de motilidad reducida del tracto GI u otros trastornos mediados por receptores de 5-HT₄ se encuentran comprendidas entre aproximadamente 0,0007 y aproximadamente 20 mg/kg/día de agente activo, incluyendo entre aproximadamente 0,0007 y aproximadamente 1 mg/kg/día. Para un ser humano medio de 70 kg, ésta sería de entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 70 mg al día de agente activo.

45 Al utilizarlos para tratar el estreñimiento crónico, los compuestos de la invención típicamente se administran por vía oral en una única dosis diaria o en múltiples dosis diarias. Preferentemente, la dosis para tratar el estreñimiento crónico se encuentra comprendida entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 70 mg al día.

50 Al utilizarlos para tratar el síndrome del intestino irritable, concretamente el síndrome del intestino irritable con predominio de estreñimiento, los compuestos de la invención típicamente se administran por vía oral en una única dosis diaria o en múltiples dosis diarias. Preferentemente, la dosis para tratar el síndrome del intestino irritable con predominio de estreñimiento se encuentra comprendida entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 70 mg al día.

55 Al utilizarlos para tratar la gastroparesis diabética, los compuestos de la invención típicamente se administran por vía oral en una única dosis diaria o en múltiples dosis diarias. Preferentemente, la dosis para tratar la gastroparesis diabética se encuentra comprendida entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 70 mg al día.

60 Al utilizarlos para tratar la dispepsia funcional, los compuestos de la invención típicamente se administran por vía

oral en una única dosis diaria o en múltiples dosis diarias. Preferentemente, la dosis para tratar la dispepsia funcional se encuentra comprendida entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 70 mg al día.

Tal como se ha indicado anteriormente, los compuestos de la invención son agonistas de receptores de 5-HT₄. Los compuestos de la invención resultan útiles como herramientas de investigación para investigar o estudiar sistemas biológicos o muestras que presentan receptores de 5-HT₄, o para descubrir nuevos agonistas de receptores de 5-HT₄. Además, debido a que los compuestos de la invención muestran una selectividad de unión a los receptores de 5HT₄ en comparación con la unión a receptores de otros subtipos de 5-HT, en particular receptores de 5-HT₃, dichos compuestos resultan particularmente útiles para estudiar los efectos del agonismo selectivo de los receptores de 5-HT₄ en un sistema o muestra biológica. En dichos estudios, que pueden llevarse a cabo *in vitro* o *in vivo*, puede utilizarse cualquier sistema o muestra biológica que presente receptores de 5-HT₄. Entre los sistemas o muestras biológicas representativas para dichos estudios se incluyen, aunque sin limitación, células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejido, mamíferos (tales como ratones, ratas, cobayas, conejos, perros, cerdos, etc.) y similares.

En dicho estudio, se pone en contacto un sistema o muestra biológico que comprende un receptor de 5-HT₄ con una cantidad agonista de receptor de 5-HT₄ de un compuesto de la invención. A continuación, se determinan los efectos de agonismo del receptor de 5-HT₄ utilizando procedimientos y equipos convencionales, tales como ensayo de unión de ligandos radioactivos y ensayos funcionales. Entre dichos ensayos funcionales se incluyen los cambios mediados por ligandos de la adenosina monofosfato cíclica (AMPC) intracelular, cambios mediados por ligandos de la actividad del enzima adenilil-ciclasa (que sintetiza AMPC), los cambios mediados por ligandos en la incorporación de análogos de la guanosina trifosfato (GTP), tales como [³⁵S]GTPγS (guanosa 5'-O-(γ-tio)trifosfato) o GTP-Eu, en membranas aisladas, mediante el intercambio de análogos de GTP por análogos de GDP catalizado por receptores, los cambios mediados por ligandos de iones libres de calcio intracelular (medidos, por ejemplo, con un lector de placas de imágenes fluorescentes o FLIPR[®], de Molecular Devices, Inc.) y la medición de la activación de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK). Un compuesto de la invención puede actuar como agonista o incrementar la activación de receptores de 5-HT₄ en cualquiera de los ensayos funcionales indicados anteriormente, o en ensayo de naturaleza similar. Una cantidad agonista de receptores de 5-HT₄ de un compuesto de la invención se encuentra comprendida entre aproximadamente 1 nanomolar y aproximadamente 500 nanomolar.

Además, los compuestos de la invención pueden utilizarse como herramientas de investigación para el descubrimiento de nuevos agonistas de receptores de 5-HT₄. En dicho método, se compara la unión de receptores de 5-HT₄ o datos funcionales acerca de un compuesto de ensayo o de un grupo de compuestos de ensayo con la unión de receptores de 5-HT₄ o datos funcionales acerca de un compuesto de la invención, con el fin de identificar compuestos de ensayo que presenten una actividad superior de unión o funcional, en caso de que presenten alguna actividad. Lo anterior incluye tanto la generación de datos comparativos (utilizando los ensayos apropiados) y el análisis de los datos de ensayo con el fin de identificar compuestos de ensayo de interés.

Entre otras propiedades, se ha encontrado que los compuestos de la invención son potentes agonistas de los receptores de 5-HT₄ y que muestran una selectividad sustancial para el subtipo de receptor de 5-HT₄ respecto al subtipo de receptor de 5-HT₃ en ensayos de unión de ligandos radioactivos. Además, los compuestos de la invención de los que se ha hecho mención particular han demostrado propiedades farmacocinéticas superiores en un modelo de rata. De esta manera, se espera que dichos compuestos se encuentren altamente biodisponibles tras la administración oral. Además, se ha demostrado que dichos compuestos no muestran un nivel inaceptable de inhibición de la corriente de iones potasio en un modelo de pinza de voltaje utilizando células completas aisladas que expresaban el canal cardíaco hERG de potasio. El ensayo de pinza de voltaje es un método preclínico aceptado de evaluación del potencial de los agentes farmacéuticos de modificar el patrón de repolarización cardíaca, concretamente causando la denominada prolongación del QT, la cual se ha asociado con arritmia cardíaca (Cavero *et al.*, *Opinion on Pharmacotherapy* 1:947-73, 2000; Fermi *et al.*, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2:439-447, 2003). Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de la invención se espera que presenten un perfil cardíaco aceptable.

Dichas propiedades, así como la utilidad de los compuestos de la invención, pueden demostrarse utilizando diversos ensayos *in vitro* e *in vivo* bien conocidos por el experto en la materia. Se describen ejemplos representativos en mayor detalle en los ejemplos, a continuación.

Ejemplos

Los ejemplos sintéticos y biológicos sintéticos se proporcionan a fin de ilustrar la invención y no deben interpretarse en modo alguno como limitativos del alcance de la invención. En los ejemplos, posteriormente, las abreviaturas siguientes presentan los significados siguientes, a menos que se indique lo contrario. Las abreviaturas no definidas a continuación presentan sus significados aceptados de manera general.

Boc = *tert*-butoxicarbonilo
DMSO = dimetilsulfóxido

MeCN	=	acetonitrilo
TFA	=	ácido trifluoroacético
R _f	=	factor de retención

5 Los reactivos y solventes se adquirieron de proveedores comerciales (Aldrich, Fluka, Sigma, etc.) y se utilizaron sin purificación adicional. Las reacciones se realizaron bajo una atmósfera de nitrógeno, a menos que se indique lo contrario. Se realizó un seguimiento del progreso de la reacción en las mezclas mediante cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (HPLC anal.) y espectrometría de masas, los detalles de las cuales se proporcionan posteriormente y separadamente en ejemplos específicos de reacciones. Las mezclas de
10 reacción se prepararon tal como se describe concretamente en cada reacción; habitualmente se purifican mediante extracción y otros métodos de purificación, tales como la cristalización dependiente de la temperatura y del solvente, y la precipitación. Además, las mezclas de reacción se purificaron rutinariamente mediante HPLC preparativa: se describe posteriormente un protocolo general. La caracterización de productos de reacción se llevó a cabo rutinariamente mediante espectrometría de masas y de RMN-¹H. Para las mediciones de RMN, las muestras se disolvieron en solvente deuterado (CD₃OD, CDCl₃ o DMSO-d₆) y los espectros de RMN-¹H se obtuvieron con un
15 aparato Varian Gemini 2000 (300 MHz) bajo condiciones de observación estándares. La identificación mediante espectrometría de masas de los compuestos se llevó a cabo mediante un método de ionización mediante electropulverización (ESMS) con un aparato modelo API 150 EX de Applied Biosystems (Foster City, CA) o un aparato modelo 1100 LC/MSD de Agilent (Palo Alto, CA).

20 Preparación 1: Síntesis de (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

a. Preparación de metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico

25 A una solución saturada de nitrógeno de metil-éster de ácido 2-amino-3-nitrobenzoico (Chess GmbH, 50 g, 0,26 moles) en etanol absoluto (800 ml) se añadió hidróxido de paladio (Degussa, al 20% p/p sobre carbono, al 58,75% p/p en agua, 10 g). La suspensión se desgasificó, después se agitó vigorosamente bajo nitrógeno (4 atm) a temperatura ambiente durante 48 horas. Se filtró el catalizador y el filtrado se concentró al vacío, proporcionando metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico en forma de aceite naranja oscuro que se solidificó bajo reposo (43 g, 0,26
30 moles, 100%). (*m/z*): [M-OCH₃]⁺ calculado para C₈H₁₀N₂O₂: 135,05; observado: 135,3. RMN ¹H (DMSO-D₆, 300 MHz): δ (ppm) 3,74 (s, 3H), 4,80 (br s, 1H), 6,20 (br s, 1H), 6,38 (t, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,06 (d, 1H).

b. Preparación de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

35 Una suspensión de metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico (21,5 g, 0,13 moles) y ácido isobutírico (36,2 ml, 0,39 moles) en ácido hidrocórico acuoso (4 M, 210 ml) se agitó bajo reflujo durante 24 horas, proporcionando una solución homogénea. La solución se enfrió a 10°C y el pH se elevó a 3,5 utilizando una solución acuosa de hidróxido sódico (4 M, aproximadamente 210 ml), manteniendo una temperatura inferior a 30°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se enfrió a 10°C y se separó mediante filtración el precipitado
40 resultante. La torta sólida se transfirió a un vaso y se añadió acetonitrilo (300 ml). Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 1 hora y después se filtró, proporcionando un sólido gris. El sólido se secó bajo vacío, proporcionando el intermediario del título (23 g, 0,11 moles, 87%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₁H₁₂N₂O₂ calculado: 205,09; observado: 205,3. RMN ¹H (DMSO-D₆, 300 MHz): δ (ppm) 1,27 (d, 6H), 3,39 (m, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,78 (m, 2H).

45 c. Preparación de terc-butil-éster de ácido 4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)aminometil]-piperidín-1-carboxílico

50 A una solución de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (9,0 g, 44,1 mmoles) en N,N-dimetilformamida anhidra (100 ml) se añadió terc-butil-éster de ácido 4-aminometilpiperidín-1-carboxílico (9,4 g, 44,1 mmoles) seguido de N,N-diisopropiletilamina (16,9 ml, 97,0 mmoles). La solución se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente previamente a la adición de hidroxibenzotriazol (5,9 g, 44,1 mmoles), hidrocloreto de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (8,4 g, 44,1 mmoles) y N,N-dimetilformamida adicional (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se diluyó con diclorometano (300 ml) y se lavó
55 secuencialmente con ácido fosfórico acuoso 1 M, hidróxido sódico acuoso 1 M y solución hipersalina. A continuación, la solución se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío, proporcionando un aceite marrón que se solidificó tras la adición de hexanos. Se filtró el sólido, proporcionando el intermediario del título en forma de un sólido beige (13,8 g, 36,0 mmoles, 78%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₂N₄O₃: 401,26; observado: 401,5; [M-Boc+H]⁺ 301,5. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-90%/H₂O durante 6 minutos) = 3,7 min. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 1,20 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,37 (s, 6H), 1,72 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 2,73 (br s, 2H), 3,22 (septet, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,95 (m, 2H), 7,26 (t, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,79 (d, 1H), 10,11 (t, 1H).

60 d. Síntesis de (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

65 A una solución de terc-butil-éster de ácido 4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil-piperidín-1-

carboxílico (10,8 g, 27,0 mmoles) disuelta en diclorometano (50 ml) a 0°C se añadió lentamente ácido trifluoroacético (50 ml) en porciones de 50 ml. Se dejó que la solución se calentase hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 20 minutos adicionales y después se evaporó al vacío. Se eliminó el exceso de ácido trifluoroacético mediante coevaporación con tolueno. A continuación, se disolvió el residuo en un volumen mínimo de diclorometano y se añadió lentamente a éter dietílico (1 litro) a 0°C. La suspensión resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente y después se filtró, proporcionando sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido marrón pálido (12,7 g, 24,0 mmoles, 89%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para: C₁₇H₂₄N₄O 301,21; observado: 301,5. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-50%/H₂O durante 6 minutos) = 1,65 min. RMN ¹H (300 MHz, MeOD-*d*₃): δ (ppm) 1,59 (d, 6H), 1,60 (m, 1H), 2,03 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 3,00 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,63 (septeto, 1H), 7,63 (t, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,96 (d, 1H). 9,04 (t, 1H).

Preparación 2: Síntesis de (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

a. Preparación de terc-butil-éster de ácido 4-[[[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)aminometil]-piperidín-1-ilmetil]piperidín-1-carboxílico

A una suspensión de bis-trifluoroacetato de (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (6,84 g, 12,95 mmoles) en diclorometano (65 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno se añadió secuencialmente N,N-diisopropiletilamina (1,67 g, 2,25 ml), una solución de 1-(terc-butoxicarbonil)piperidín-4-carboxaldehído (3,16 g, 14,8 mmoles) en diclorometano (5 ml) y triacetoxiborohidruro sódico (3,84 g, 18,13 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas, después se acidificó hasta pH 1 con ácido hidroclicórico acuoso 1 M. Se eliminó la capa acuosa, y se extrajo la capa orgánica con ácido hidroclicórico acuoso 1 M hasta no quedar nada de producto en la fase orgánica. Las capas acuosas agrupadas se lavaron con diclorometano, se enfriaron a 0°C y se basificaron a pH 12 con pellets de hidróxido sódico. A continuación, la solución se extrajo con diclorometano hasta no quedar producto en la fase acuosa, y las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron, proporcionando el producto deseado en forma de un aceite marrón (5,4 g, 10,8 mmoles, 84%), que se utilizó sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₄₃N₅O₃: 498,35; observado: 498,5.

b. Síntesis de (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

El producto de la etapa anterior (5,4 g, 10,8 mmoles) se disolvió en diclorometano (40 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió ácido trifluoroacético (30 ml) y la solución se agitó a 0°C durante 0,5 horas adicionales. A continuación, la mezcla se concentró y se coevaporó dos veces con diclorometano al vacío. Se disolvió el residuo resultante en diclorometano (20 ml), se enfrió a 0°C y se basificó con solución acuosa al 20% p/p de hidróxido sódico (50 ml). Se dejó que la solución se calentase hasta la temperatura ambiente durante 10 minutos y después se filtró. El sólido se enjuagó con acetonitrilo y se secó al vacío, proporcionando unos polvos gris pálido (3,09 g, 7,8 mmoles, 72%), que se utilizaron sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₃H₃₅N₅O: 398,29; observado: 398,4.

Preparación 3: Síntesis de (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-terc-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

a. Preparación de metil-éster de ácido 2-amino-3-(2,2-dimetilpropionilamino)benzoico

A una solución de metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico (2,3 g, 13,8 mmoles) en piridina (40 ml) a temperatura ambiente se añadió cloruro de 2,2-dimetilpropionilo (1,7 g, 14,0 mmoles). Se agitó la solución durante 16 horas, se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo (100 ml) y ácido hidroclicórico acuoso 1 M (100 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con ácido hidroclicórico acuoso 1 M (100 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite oscuro (2,7 g, 10,8 mmoles, 78%) que se utilizó sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₁₈N₂O₃: 251,14; observado: 250,8.

b. Preparación de ácido 2-terc-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

Una suspensión del producto de la etapa anterior (2,7 g, 10,8 mmoles) en ácido hidroclicórico acuoso 4 M (100 ml) se agitó bajo reflujo durante 24 horas, proporcionando una solución homogénea. Se evaporó el solvente, proporcionando la sal hidroclicórica del intermediario del título en forma de un sólido rojo ladrillo (2,5 g, 9,8 mmoles, 91%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₂H₁₄N₂O₂: 219,12; observado: 219,3. RMN ¹H (DMSO-D₆, 300 MHz): δ (ppm) 1,45 (d, 9H), 3,39 (m, 1H), 7,91 (d, 1H), 7,95 (d, 1H).

c. Preparación de terc-butil-éster de ácido 4-[[[(2-terc-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil]-piperidín-1-carboxílico

A una solución de hidrocloreuro de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (1,11 g, 4,37 mmoles) en N,N-dimetilformamida anhidra (5 ml) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (0,77 g, 4,75 mmoles): La solución se agitó a 50°C durante 2 horas, después se añadió *terc*-butil-éster de ácido 4-aminometil-piperidín-1-carboxílico (0,94 g, 4,39 mmoles), seguido de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (1,46 g, 13 mmoles). La solución se agitó a 50°C durante 16 horas, se dejó que se enfriase y se diluyó con agua (20 ml) y acetato de etilo (60 ml). Se eliminó la capa acuosa, se lavó la capa orgánica con agua (20 ml), se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío, proporcionando el intermediario del título (1,32 g, 3,18 mmoles, 73%), que se utilizó sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₃H₃₄N₄O₃: 415,27; observado: 415,5.

10 d. Preparación de (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

15 Se disolvió *terc*-butil-éster de ácido 4-[(2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil-piperidín-1-carboxílico (13,5 g, 32,6 mmoles) en HCl 4 N en dioxano (200 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. El sólido resultante se filtró, proporcionando la sal bis-hidrocloreuro del intermediario del título (11,3 g, 29,3 mmoles, 89%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₆N₄O: 315,22; observado: 315,3. RMN ¹H (300 MHz, D₂O + MeOD-*d*₃): 1,54 (s, 8H), 1,96 (m, 4H), 2,91 (m, 4H), 3,31 (br s, 1H), 3,45 (d, 2H), 7,56 (t, 1H), 7,89-7,92 (m, 2H)

20 e. Preparación de *terc*-butil-éster de ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

25 A una suspensión de la sal bis-HCl de la (piperidín-4-ilmetil)-amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (4,28 g, 11,06 mmoles) en diclorometano (55 ml) a temperatura ambiente se añadió N,N-diisopropiletilamina (1,71 g, 2,31 ml), 1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidín-4-carboxaldehído (2,58 g, 12,17 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (3,28 g, 15,48 mmoles) secuencialmente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se extrajo con ácido hidrocloreuro acuoso 1 M. Las capas acuosas agrupadas se basificaron a pH 12 con pellets de hidróxido sódico y después se extrajeron con diclorometano. Las capas orgánicas agrupadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron. El residuo resultante se secó bajo alto vacío, proporcionando una espuma parduzca pálido (4,9 g, 9,6 mmoles, 87%) que se utilizó sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₉H₄₅N₅O₃: 512,35; observado: 512,4.

30 f. Síntesis de (1-piperidín-4-ilmetil)piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

35 El *terc*-butil-éster de ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)-piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico crudo, preparado tal como en la etapa anterior (5,1 g, 10 mmoles), se trató con una mezcla de ácido trifluoroacético (40 ml) y diclorometano (40 ml) a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La mezcla se concentró al vacío, se redisolvió en diclorometano (25 ml) y se basificó con solución acuosa 1 M de hidróxido sódico (15 ml). La capa orgánica se eliminó, y la capa acuosa se reextrajo con diclorometano. Las fases orgánicas agrupadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío, proporcionando el producto deseado en forma de una espuma marrón (3,6 g, 8,8 mmoles, 88%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₃₇N₅O: 412,31; observado: 412,6.

Preparación 4. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-aminometilpiperidín-1-ilmetil)-piperidín-1-carboxílico

45 a. Preparación de metil-éster de ácido 4-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

50 A una solución de 4-*terc*-butoxicarbonilaminometilpiperidina (3,62 g, 16,9 mmoles) en diclorometano (100 ml) se añadió metil-éster de ácido 4-formilpiperidín-1-carboxílico (2,89 g, 16,9 mmoles) y ácido acético (0,96 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos previamente a la adición de triacetoxiborohidruro sódico (5,4 g, 25,5 mmoles). La mezcla final se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se terminó mediante la adición de solución saturada de bicarbonato sódico (50 ml). La mezcla se extrajo con diclorometano (100 ml) y la capa orgánica se secó sobre MgSO₄. La evaporación de la solución orgánica proporcionó un residuo aceitoso amarillo pálido. Se purificó mediante cromatografía flash de columna de sílice (CH₂Cl₂ hasta MeOH al 5%/CH₂Cl₂), rindiendo el intermediario del título (4,4 g). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₃₅N₃O₄: 370,27; observado: 370,5.

55 b. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

60 A una solución de metil-éster de ácido 4-(4-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico (4,4 g, 10,8 mmoles) en diclorometano (20 ml) se añadió ácido trifluoroacético (20 ml). Tras agitar durante 20 minutos a temperatura ambiente, la solución se evaporó al vacío, rindiendo la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido, que se utilizó sin tratamiento adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₄H₂₇N₃O₂: 270,22; observado: 270,5. RMN ¹H (CD₃OD) δ (ppm) 4,0 (br d, 2H), 3,6 (m, 5H), 2,9-2,7 (m, 6H), 2,1-1,9 (m, 2H), 1,7-1,5 (m, 6H), 1,2-1,0 (m, 4m).

Ejemplo 1: Síntesis de 4-(4-((2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino)metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

5 A una suspensión de (1-piperidín-4-ilmetil)piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (2,9 g, 7,3 mmoles) en diclorometano (50 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (1,05 ml, 7,3 mmoles). La solución resultante se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota clorofornato de metilo (576 ml, 7,3 mmoles). La mezcla se agitó a 0°C durante 1,5 horas, se refrescó con ácido acético (1 ml) y se evaporó al vacío, proporcionando un sólido beige (4,8 g) que se purificó mediante HPLC de fase reversa preparativa [gradiente de 5-10-25% (5-10% en 10 minutos; 10-25% en 50 minutos); caudal: 15 ml/minuto; detección a 280 nm], proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (3,5 g, 5,1 mmoles, 70%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₇N₅O₃: 456,30; observado: 456,3. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-50%/H₂O en 6 minutos)=3,06 minutos.

Ejemplo 2: Síntesis de fenil-éster de ácido 4-(4-((2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino)metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

15 A una solución de (1-piperidín-4-ilmetil)piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (0,22 g, 0,55 mmoles) y N,N-diisopropiletilamina (0,19 ml) en diclorometano (5,0 ml) se añadió clorofornato de fenilo (70 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, después se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase reversa preparativa, proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (98,4 mg, 0,13 mmoles, 24%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₃₉N₅O₃: 518,32; observado: 518,6. RMN ¹H (300MHz, MeOD-*d*₃): δ (ppm) 1,14-1,28 (m, 2H), 1,39-1,53 (m, 6H), 1,52-1,62 (m, 2H), 1,70-1,78 (m, 2H), 1,92-2,06 (m, 4H), 2,82-2,97 (m, 6H), 3,32-3,38 (m, 2H), 3,43-3,50 (m, 1H), 3,52-3,69 (m, 2H), 4,04-4,12 (m, 1H), 4,18-4,26 (m, 1H), 6,91-6,98 (m, 1H), 7,08-7,13 (m, 1H), 7,21-7,28 (m, 1H), 7,45-7,50 (m, 1H), 7,73-7,77 (m, 1H), 7,81-7,87 (m, 1H), 9,02-9,32 (brs, 1H).

Ejemplo 3: Síntesis de {1-[1-(2-clorobenzoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

30 A una suspensión de (1-piperidín-4-ilmetil)piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (2,1 g, 5,29 mmoles) en tetrahidrofurano (26 ml) a temperatura ambiente se añadió N,N-diisopropiletilamina (2,05 g, 15,87 mmoles), diclorometano (12 ml) y N,N-dimetilformamida (5 ml). A la suspensión resultante se añadió lentamente cloruro de o-clorobenzoilo (1,02 g, 5,82 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó durante 0,5 horas a temperatura ambiente. La solución se concentró al vacío, el residuo resultante se diluyó con ácido acético (7,5 ml) y agua (0,5 ml), y el producto se purificó mediante HPLC preparativa de fase reversa. La sal purificada se dividió entre diclorometano e hidróxido sódico acuoso 1 M, se eliminó la capa orgánica y la capa acuosa se reextrajo con diclorometano, y las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío, proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma blanca (1,75 g, 3,26 mmoles, 62%).

35 (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₃₈ClN₅O₂: 536,28; observado: 536,3. RMN ¹H (DMSO-D₆, 300 MHz): 0,90 (br m, 2H), 1,24 (d, 6H), 1,45 (br m, 2H), 1,68 (br m, 8H), 1,96 (m, 1H), 2,72 (br m, 5H), 3,08 (m, 2H), (3,20, m, 3H), 4,40 (br m, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,39 (m, 1H), 7,49 (dd, 1H), 7,66 (dd, 1H).

Ejemplos 4 a 6

45 Mediante la utilización de procedimientos similares a los del Ejemplo 3, excepto por la sustitución del cloruro de o-clorobenzoilo por el reactivo cloruro apropiado, se prepararon los compuestos de los Ejemplos 4 a 6.

Ejemplo 4 {1-[1-(2,4-difluorobenzoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₃₇F₂N₅O₂: 538,30; observado: 538,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-60%/H₂O en 4 minutos)=2,12 min. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): 0,92 (m, 2H), 1,30 (m, 2H), 1,38 (d, 6H), 1,53 (m, 2H), 1,60-1,90 (m, 6H), 2,07 (d, 2H), 2,73-2,85 (br m, 3H), 3,05 (t, 1H), 3,22 (septeto, 1H), 3,38 (br m, 3H), 4,44 (br d, 1H), 7,10-7,50 (m, 4H), 7,62 (d, 1H), 7,77 (d, 1 H), 10,10 (br s, 1H).

Ejemplo 5 {1-[1-(furán-2-carbonil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₇N₅O₃: 492,30; observado: 492,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=1,68 minutos.

Ejemplo 6 {1-[1-(tiofén-2-carbonil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₃₇N₅O₂S: 508,28; observado: 508,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=1,94 minutos.

Ejemplo 7: Síntesis de {1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometil-benzoil-piperidín-4-ilmetil)]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

5 A una solución de ácido 2-fluoro-5-trifluorometil-benzoico (100 mg, 0,48 mmoles) en dimetilformamida (4 ml) a temperatura ambiente se añadió hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (200 mg, 0,48 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0,25 horas, después se añadieron (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (210 mg, 0,48 mmoles) y N,N-diisopropiletilamina (0,184 ml, 0,96 mmoles) y se continuó la agitación durante 0,5 horas adicionales. Se evaporó la solución al vacío y el producto crudo se purificó mediante HPLC de fase reversa [gradiente de 5-10-25% (5 a 10% en 10 minutos; 10 a 25% en 50 minutos); caudal: 15 ml/minuto, detección a 280 nm], proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (70 mg, 0,09 mmoles, 18%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₃₇F₄N₅O₂: 588,30; observado: 588,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-60%/H₂O en 4 minutos)=2,39 minutos.

Ejemplo 8: Síntesis de {1-[1-(2-fluoro-fenilcarbamoil)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

20 Se disolvió (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (220 mg, 0,55 mmoles) en N,N-dimetilformamida (2,0 ml) a temperatura ambiente. A esta solución se añadió N,N-diisopropiletilamina (143,2 mg, 1,1 mmoles) seguido de o-fluorofenilisocianato (75,4 mg, 0,55 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante HPLC de fase reversa preparativa, proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (92,6 mg, 0,12 mmoles, 22 %). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₃₉FN₆O₂: 535,32; observado: 535,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=2,09 minutos.

Ejemplo 9: Síntesis de [1-(1-metanosulfonilpiperidín-4-ilmetil)]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

30 Se disolvió (1-piperidín-4-ilmetilpiperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (40 mg, 0,1 mmoles) en N,N-dimetilformamida (1,0 ml) a temperatura ambiente. A esta solución se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,175 ml, 1 mmol) seguido de cloruro de metanosulfonilo (11,5 mg, 0,1 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, después se concentró al vacío y se purificó el residuo mediante HPLC de fase reversa preparativa, proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (27,2 mg, 0,04 mmoles, 40%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₃₇N₅O₃S: 476,27; observado: 476,2. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=1,66 minutos.

Ejemplo 10: Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

40 Al producto crudo de la Preparación 3 (2,4 g, 5,8 mmoles) en diclorometano (29 ml) a temperatura ambiente se añadió N,N-diisopropiletilamina (1,5 g, 11,6 mmoles). La mezcla resultante se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota cloroformato de metilo (660 mg, 6,98 mmoles). Se dejó que la reacción se calentase hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos adicionales. La solución se concentró, se redisolvió en ácido acético al 50% en agua, se filtró y se purificó mediante HPLC de fase reversa preparativa. El sólido resultante se disolvió en diclorometano y se lavó con hidróxido sódico acuoso 1 M. La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano, y las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron, proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma blanca (1,3 g, 2,8 mmoles, 48%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₆H₃₉N₅O₃: 470,32; observado: 470,6. RMN ¹H (300 MHz, MeOD-*d*₃): δ (ppm) 1,02-1,16 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,47-1,7 (m, 4H), 1,82-2,03 (m, 4H-1), 2,74-2,94 (m, 6H), 3,31-3,40 (m, 2H), 3,54-3,58 (m, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,98-4,03 (m, 2H), 7,41-7,46 (m, 1H), 7,71-7,74 (m, 1H), 7,79-7,82 (m, 1H), 9,35 (brs, 1H).

Ejemplos 11 a 13

55 Mediante la utilización de procedimientos similares a los del Ejemplo 10, excepto por la sustitución del cloroformato de metilo por el reactivo cloruro apropiado, se prepararon los compuestos de los Ejemplos 11 a 13.

Ejemplo 11 {1-[1-(2-fluorobenzoil)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₄₀FN₅O₂: 534,33; observado: 534,4. Tiempo de retención (HPLC anal.: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=2,09 minutos.

Ejemplo 12 {1-[1-(3-metilbenzoil)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₂H₄₃N₅O₂: 530,35; observado: 530,42. Tiempo de retención (HPLC anal.: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=2,22 minutos.

Ejemplo 13 {1-[1-(4-fluorobenzoil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico; (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₄₀FN₅O₂: 534,33; observado: 534,4. Tiempo de retención (HPLC anal.: MeCN al 2-65%/H₂O en 4 minutos)=2,17 minutos.

Ejemplo 14. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[[2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

5 a. Preparación de ácido 2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

10 A una solución de metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico (1,5 g, 9,2 mmoles) en HCl 4 M (50 ml) se añadió ácido 2-hidroxiisobutírico (2,87 g, 27,6 mmoles). La mezcla se agitó a ~90°C durante 24 horas. Se neutralizó mediante la utilización de solución acuosa de hidróxido sódico hasta pH~3 y se concentró a sequedad. El residuo se suspendió en metanol y se filtró a través de un papel de filtro. Se concentró el filtrado y se enjuagó el residuo con éter. El residuo sólido restante se disolvió en acetato de etilo y se lavó con solución hipersalina. Tras secar sobre MgSO₄, la solución orgánica se evaporó al vacío, rindiendo el intermediario del título en forma de un aceite amarillo pálido (~800 mg). El producto crudo se utilizó para la etapa siguiente sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₁H₁₂N₂O₃: 221,09; observado: 221,1. RMN ¹H (CD₃OD) δ (ppm) 7,8 (dd, 1H), 7,7 (dd, 1H), 7,2 (m, 1H), 1,3 (s, 6H).

15 b. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[[2-(1-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

20 A una solución del producto ácido benzoimidazol-carboxílico de la etapa anterior (0,7 g, 3,18 mmoles), el producto aminometilpiperidina de la Preparación 4 en forma de la sal bis-TFA (1,2 g, 3,13 mmoles) e hidroxibenzotriazol (HOBt) (0,43 g, 3,18 mmoles) en dimetilformamida (50 ml) se añadió trietilamina (1,3 ml, 9,3 mmoles) e hidrocloreto de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) (0,67 g, 3,5 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y se concentró a sequedad al vacío. El residuo se dividió entre diclorometano (150 ml) y bicarbonato sódico saturado. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se evaporó a sequedad, rindiendo un residuo aceitoso amarillo pálido. Se purificó mediante HPLC preparativa, proporcionando la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₇N₅O₄: 472,29; observado: 472,5. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: 5-30% MeCN/H₂O en 6 minutos)=3,67 minutos. RMN ¹H (CD₃OD) δ (ppm) 7,9-7,8 (m, 2H), 7,6-7,5 (t, 1H), 4,0 (br d, 2H), 3,6 (s, 5H), 2,9-2,75 (br m, 5H), 2,05-1,9 (br d, 3H), 1,68 (m, 6H), 1,15 (m, 4H).

30 **Ejemplo 15: síntesis de metil-éster de ácido 4-[4-[[2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil]piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico**

a. Preparación de ácido 2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

35 A una solución de metil-éster de ácido 2,3-diaminobenzoico (2,1 g, 14,1 mmoles) en HCl 4 M (90 ml) se añadió metil-éster de ácido 2-metil-3-hidroxi propiónico (5 g, 42,3 mmoles). La mezcla se agitó a ~90°C durante 24 horas. Se neutralizó mediante la utilización de solución acuosa de hidróxido sódico hasta pH~3 y se concentró a sequedad. El residuo se suspendió en metanol y se filtró a través de un papel de filtro. Tras concentrar el filtrado, el residuo sólido restante se disolvió en agua y se lavó con acetato de etilo. La solución acuosa se evaporó al vacío, rindiendo el intermediario del título en forma de un aceite amarillo pálido (~800 mg). El producto crudo se utilizó para la etapa siguiente sin purificación adicional. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₁H₁₂N₂O₃: 221,09; observado: 221,3. RMN ¹H (CD₃OD) δ (ppm) 8,1 (d, 1H), 7,9 (m, 1H), 7,6 (t, 1H), 3,8 (m, 2H), 3,6 (m, 1H), 1,4 (d, 3H).

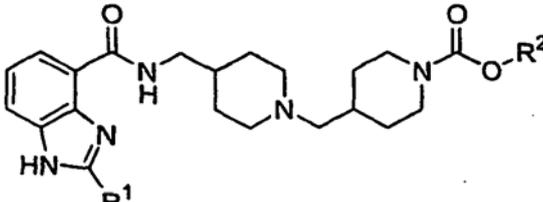
45 b. Síntesis de metil-éster de ácido 4-[4-[[2-(2-hidroxi-1-metiletil)-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil]piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

50 A una solución del producto ácido benzoimidazol-carboxílico de la etapa anterior (0,45 g, 1,75 mmoles), el producto aminometilpiperidina de la Preparación 4 en forma de la sal bis-trifluoroacetato (0,8 g, 1,6 mmoles) y HOBt (0,237 g, 1,75 mmoles) en dimetilformamida (50 ml) se añadió trietilamina (0,98 ml, 7,0 mmoles) y EDC (0,353 g, 1,84 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y se concentró a sequedad bajo presión reducida. El residuo se dividió entre diclorometano (150 ml) y bicarbonato sódico saturado. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se evaporó a sequedad, rindiendo un residuo aceitoso amarillo pálido. Se purificó mediante HPLC preparativa, rindiendo la sal bis-trifluoroacetato del compuesto del título (0,2 g). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₇N₅O₄: 472,29; observado: 472,5. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: 10-40% MeCN/H₂O en 6 minutos)=3,31 minutos. RMN ¹H (CD₃OD) δ (ppm) 7,9-7,8 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 1H), 4,0 (br d, 2H), 3,85-3,7 (m, 2H), 3,6 (br s, 6H), 3,3 (br, 2H), 2,9-2,6 (br m, 6H), 2,0-1,8 (br, 4H), 1,7-1,5 (m, 6H), 1,4 (m, 3H), 1,1-1,0 (m, 4H).

Compuestos adicionales de la invención

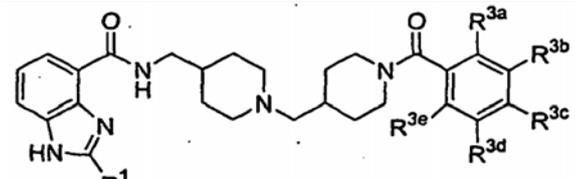
60 Mediante la utilización de los procedimientos de los Ejemplos 1 a 3 y variaciones de los mismos, se prepararon los compuestos de las Tablas I a IX y se caracterizaron mediante espectrometría de masas. En las tablas siguientes, las entradas en blanco indican hidrógeno.

Tabla I

					
Ejemplo nº	R ¹	R ²	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
16	iPr	-CH ₂ -fenilo	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
17	iPr	iPr	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484,32	484,2
18	tBu	Fenilo	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
19	tBu	-CH ₂ -fenilo	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
20	tBu	iPr	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498,34	498,4

5

Tabla II

									
Ejemplo nº	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
21	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,6
22	iPr						C ₃₀ H ₃₉ N ₅ O ₂	502,31	502,4
23	iPr	F					C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520,30	520,2
24	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
25	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570,30	570,2
26	iPr		F				C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520,30	520,2
27	iPr		CH ₃				C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
28	iPr		CF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570,30	570,2
29	iPr		Cl				C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536,27	536,2
30	iPr			CF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570,30	570,2
31	iPr			CH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
32	iPr			Cl			C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536,27	536,2
33	iPr			OCH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
34	iPr			F			C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520,30	520,2
35	iPr	F				F	C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
36	iPr	F			F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
37	iPr		F	F			C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
38	iPr	F	F				C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
39	iPr		F		F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538,29	538,2
40	iPr	F		Cl			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,4
41	iPr		CF ₃		CF ₃		C ₃₂ H ₃₇ F ₆ N ₅ O ₂	638,29	638,2
42	iPr	Cl		F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,2
43	iPr		Cl		Cl		C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570,23	570,2
44	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₈ FN ₅ O ₃	586,29	586,2
45	iPr		CF ₃	F			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588,29	588,2

46	iPr		Cl	F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554,26	554,2
47	iPr	OCH ₃		Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₃	566,28	566,2
48	iPr	CN					C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527,31	527,2
49	iPr	Cl		Cl			C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570,23	570,2
50	iPr		F	CF ₃			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588,29	588,2
51	iPr			CN			C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527,31	527,2
52	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₃	568,30	568,8
53	tBu	Cl		F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2
54	tBu		Cl		Cl		C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584,25	584,2
55	tBu		CN				C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,4
56	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2
57	tBu		CF ₃	F			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,2
58	tBu		Cl	F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2
59	tBu	OCH ₃		Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580,30	580,2
60	tBu	CN					C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,4
61	tBu	Cl		Cl			C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584,25	584,2
62	tBu		F	CF ₃			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,2
63	tBu	F			CF ₃		C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602,30	602,4
64	tBu			CN			C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541,32	541,2
65	tBu			OCBF ₂			C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₃	582,32	582,4
66	tBu						C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,2
67	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
68	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
69	tBu		F				C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534,32	534,2
70	tBu		CF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
71	tBu		Cl				C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
72	tBu			CF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584,31	584,4
73	tBu			CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
74	tBu			Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
75	tBu			OCH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
76	tBu	F			F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
77	tBu	F			F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
78	tBu		F	F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
79	tBu	F	F				C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
80	tBu		F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,4
81	tBu	F		F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
82	tBu	F			Cl		C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568,28	568,2
83	tBu		CF ₃		CF ₃		C ₃₃ H ₃₉ F ₆ N ₅ O ₂	652,30	652,2
84	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586,29	586,2
85	iPr		OCF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586,29	586,2
86	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2
87	tBu		OCF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600,31	600,2

Tabla II

Ejemplo n°	R ¹	R ³	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
88	iPr	N(CH ₃) ₂	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₂	469,32	469,4
89	iPr	morfolín-1-ilo	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511,33	511,4
90	iPr	CH ₃	C ₂₅ H ₃₇ N ₅ O ₂	440,30	440,2
91	iPr	tetrahidrofuran-2-ilo	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
92	iPr	-CH ₂ -tiofén-3-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2
93	iPr	2,2-dimetilpropilo	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
94	iPr	-CH ₂ -tiofén-2-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2

95	iPr	ciclohexilo	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
96	iPr	(S)-1-metilpropilo	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₂	482,34	482,4
97	iPr	-CH ₂ -naft-1-ilo	C ₃₅ H ₄₃ N ₅ O ₂	566,34	566,4
98	iPr	ciclopentilo	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
99	iPr	(R)-tetrahidrofuran-2-ilo	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
100	tBu	furán-2-ilo	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃	506,31	506,2
101	tBu	-CH ₂ -tiofén-3-ilo	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
102	tBu	2,2-dimetilpropilo	C ₃₀ H ₄₇ N ₅ O ₂	510,37	510,4
103	tBu	-CH ₂ -tiofén-2-ilo	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
104	tBu	(S)-1-metilpropilo	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
105	tBu	-CH ₂ -naft-1-ilo	C ₃₆ H ₄₅ N ₅ O ₂	580,36	580,4
106	tBu	(R)-tetrahidrofuran-2-ilo	C ₂₉ H ₄₃ N ₅ O ₃	510,34	510,4
107	tBu	(S)-4-oxo-azetidín-2-ilo	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₃	509,32	510,4
108	tBu	piridín-2-ilo	C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,2

Tabla IV

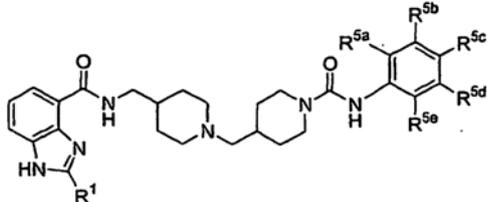
									
Ejemplo n°	R ¹	R ^{5a}	R ^{5b}	R ^{5c}	R ^{5d}	R ^{5e}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
109	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
110	iPr		F				C ₃₀ H ₃₉ FN ₆ O ₂	535,31	535,2
111	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₂	585,31	585,2
112	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
113	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₄₀ F ₂ N ₆ O ₃	583,31	583,2
114	iPr						C ₃₀ H ₄₀ N ₆ O ₂	517,32	517,4
115	iPr	CH ₃				CH ₃	C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,4
116	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
117	iPr	tBu					C ₃₄ H ₄₈ N ₆ O ₂	573,38	573,4
118	iPr	Cl					C ₃₀ H ₃₉ ClN ₆ O ₂	551,28	551,2
119	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₁ ClN ₆ O ₂	565,30	565,2
120	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,5
121	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
122	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₂	599,32	599,2
123	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2
124	tBu			OCHF ₂			C ₃₂ H ₄₂ F ₂ N ₆ O ₃	597,33	597,4
125	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
126	tBu						C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
127	tBu	CH ₃				CH ₃	C ₃₃ H ₄₆ N ₆ O ₂	559,37	559,4
128	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2
129	tBu	tBu					C ₃₅ H ₅₀ N ₆ O ₂	587,40	587,4

Tabla V

Ejemplo n°	R ¹	R ⁶	R ⁷	R ^{8a}	R ^{8b}	R ^{8c}	R ^{8d}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
130	iPr		(S)-OH					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
131	iPr		oxo					C ₃₁ H ₃₉ N ₅ O ₃	530,31	530,2
132	iPr					Cl		C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
133	iPr		(S)-CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
134	iPr		-(CH ₂) ₂ -					C ₃₃ H ₄₃ N ₅ O ₂	542,34	542,4
135	iPr			F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
136	iPr				F			C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534,32	534,2
137	iPr				Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	551,2
138	iPr				F	F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
139	iPr				F		F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	553,2
140	iPr							C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
141	tBu		(S)-OH					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
142	tBu					F		C ₃₂ R ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,2
143	tBu							C ₃₂ H ₄₁ N ₅ O ₃	544,32	544,4
144	tBu					Cl		C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	565,2
145	tBu		CH ₃			2-metilpropilo		C ₃₇ H ₅₃ N ₅ O ₂	600,42	600,4
146	tBu		(S)-CH ₃					C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₂	544,36	544,4
147	tBu		-(CH ₂) ₂ -					C ₃₄ H ₄₅ N ₅ O ₂	556,36	556,4
148	tBu			Cl		Cl		C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₂	598,26	599,2
149	tBu			F		F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
150	tBu				F			C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,4
151	tBu					CF ₃		C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,4
152	tBu			CF ₃				C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,2
153	tBu			Cl				C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	564,2
154	tBu				F	F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
155	tBu				F		F	C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,4
156	tBu							C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4

Tabla VI

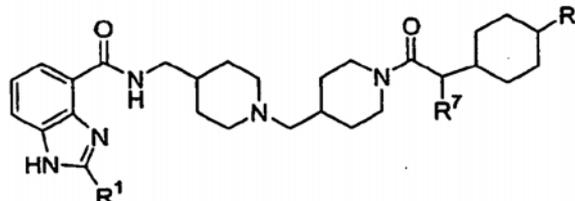
						
Ejemplo nº	R ¹	R ⁷	R ^{8a}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
157	iPr	(R)-OH		C ₃₁ F ₄₇ N ₅ O ₃	538,37	538,4
158	iPr			C ₃₁ H ₄₇ N ₅ O ₂	522,37	522,4
159	tBu	(R)-OH		C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₃	552,38	552,4
160	tBu			C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₂	536,39	536,4

Tabla VII

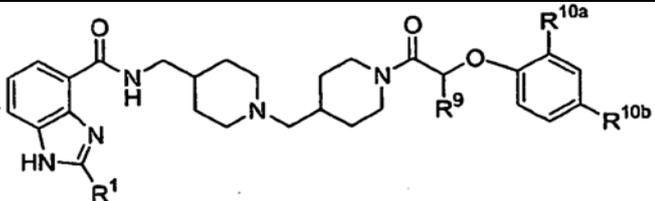
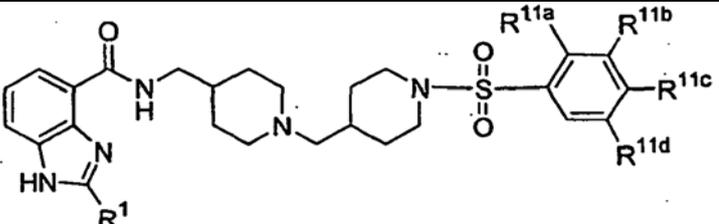
							
Ejemplo nº	R ¹	R ⁹	R ^{10a}	R ^{10b}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
161	iPr			CH ₃	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
162	iPr		Cl	Cl	C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₃	600,24	601,2
163	iPr	CH ₃		Cl	C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580,30	581,2
164	iPr	CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
165	tBu			CH ₃	C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560,35	560,4
166	tBu		Cl	Cl	C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₃	614,26	615,2
167	tBu	CH ₃		Cl	C ₃₃ H ₄₄ ClN ₅ O ₃	594,31	595,2
168	tBu	CH ₃			C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560,35	560,4
169	iPr	CH ₃			C ₂₄ H ₃₇ N ₅ O ₃ S	476,26	476,2
170	iPr	2,4-dimetilisoxazol-2-ilo			C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	557,28	557,2
171	iPr	-CH ₂ -fenilo			C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
172	tBu	2,4-dimetilisoxazol-2-ilo			C ₂₉ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	571,30	571,2
173	tBu	-CH ₂ -fenilo			C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2

Table IX

								
Ejemplo nº	R ¹	R ^{11a}	R ^{11b}	R ^{11c}	R ^{11d}	Fórmula molecular	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ observado
174	iPr	CF ₃				C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	606,27	606,2
175	iPr	CN				C ₃₀ H ₃₈ N ₆ O ₃ S	563,27	563,2
176	iPr			OCH ₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₄ S	568,29	568,2
177	iPr		Cl			C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572,24	572,2
178	iPr	F				C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556,27	556,2
179	iPr			CF ₃		C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606,27	606,2
180	iPr			iPr		C ₃₂ H ₄₅ N ₅ O ₃ S	580,32	580,4

181	iPr	Cl				C ₂₉ H ₃₈ CIN ₅ O ₃ S	572,24	572,2
182	iPr	CH ₃			F	C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2
183	iPr	Cl		F		C ₂₉ H ₃₇ CIFN ₅ O ₃ S	590,23	590,2
184	iPr	CH ₃	Cl			C ₃₀ H ₄₀ CIN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
185	iPr			tBu		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594,34	594,4
186	iPr	OCH ₃			Cl	C ₃₀ H ₄₀ CIN ₅ O ₄ S	602,25	602,2
187	iPr			Cl		C ₂₉ H ₃₈ CIN ₅ O ₃ S	572,24	572,2
188	iPr					C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃ S	538,28	538,2
189	iPr		F	F		C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556,27	556,2
190	iPr		CH ₃			C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
191	iPr			CH ₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
192	iPr		CF ₃			C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606,27	606,2
193	iPr	CH ₃				C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
194	tBu	CN				C ₃₁ H ₄₀ N ₆ O ₃ S	577,29	577,2
195	tBu			CF ₃		C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
196	tBu			iPr		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594,34	594,4
197	tBu	Cl				C ₃₀ H ₄₀ CIN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
198	tBu	CH ₃			F	C ₃₁ H ₄₂ FN ₅ O ₃ S	584,30	584,2
199	tBu	Cl		F		C ₃₀ H ₃₉ CIFN ₅ O ₃ S	604,24	604,2
200	tBu	CH ₃	Cl			C ₃₁ H ₄₂ CIN ₅ O ₃ S	600,27	600,2
201	tBu			tBu		C ₃₄ H ₄₉ N ₅ O ₃ S	608,36	608,4
202	tBu	OCH ₃			Cl	C ₃₁ H ₄₂ CIN ₅ O ₄ S	616,26	616,2
203	tBu		CH ₃			C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,4
204	tBu			CH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2
205	tBu		CF ₃			C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
206	tBu	CH ₃				C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2
207	tBu	CF ₃				C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620,28	620,2
208	tBu			OCH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₄ S	582,30	582,2
209	tBu		Cl			C ₃₀ H ₄₀ CIN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
210	tBu	F				C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2
211	tBu			Cl		C ₃₀ H ₄₀ CIN ₅ O ₃ S	586,25	586,2
212	tBu					C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
213	tBu			F		C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570,28	570,2

Ejemplo 214: síntesis alternativa de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil) amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

5 a. Preparación de metil-éster de ácido 4-hidroxi metil-piperidín-1-carboxílico

Se disolvió 4-hidroxi metilpiperidina (1,0 g, 8,6 mmoles) en agua (15 ml) y se enfrió a 0°C. A esta solución se añadió gota a gota una solución de carbonato potásico (4,8 g, 34,7 mmoles) en agua (10 ml), seguido de clorofornato de metilo (2,68 ml, 34,7 mmoles). La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó que se calentase hasta la temperatura ambiente en 2 horas. Tras agitar durante la noche (16 horas), la mezcla de reacción se acidificó con ácido hidroclicórico acuoso 6 M y se extrajo con diclorometano (3x60 ml). Se agruparon los extractos, se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron. El filtrado se evaporó, rindiendo el intermedio del título (1,4 g, 8,1 mmoles, 93%) en forma de un aceite incoloro. (*m/z*): C₈H₁₅NO₃ calculado: 173,11; observado: 156,2 [M-H₂O+H]⁺. RMN ¹H (DMSO-D₆, 300 MHz): δ (ppm) 0,98 (m, 2H), 1,52 (m, 1H), 1,63 (br d, 2H), 2,72 (br m, 2H), 3,23 (d, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,95 (br d, 2H), 4,48 (br s, 1H).

b. Preparación de metil-éster de ácido 4-formilpiperidín-1-carboxílico

A una solución de cloruro de oxalilo (4,1 ml, 8,2 mmoles) en diclorometano (4 ml) a -78°C se añadió gota a gota una solución de dimetilsulfóxido (1,2 ml, 16,4 mmoles) en diclorometano (4 ml). Tras agitar durante 5 minutos, se añadió una solución de metil-éster de ácido 4-hidroxi metilpiperidín-1-carboxílico (1,3 g, 7,5 mmoles) en diclorometano (5 ml). La solución resultante se agitó durante 5 minutos adicionales, después se añadió trietilamina (5,2 ml, 37,3 mmoles) y se dejó que la mezcla se calentase hasta -10°C. Tras agitar durante 1 hora, se añadió diclorometano (100 ml) y la capa orgánica se lavó con ácido fosfórico acuoso 1 M, hidróxido sódico acuoso 1 M y solución hipersalina. La solución se secó sobre sulfato sódico, después se evaporó, proporcionando el intermedio del título en forma de un aceite de color trigo (1,0 g, 5,8 mmoles, 78%). RMN ¹H (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 1,36 (m, 2H), 1,83 (m, 2H), 2,48 (br m, 1H), 2,93 (br t, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,80 (br d, 2H), 9,56 (s, 1H).

c. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico

5 Se suspendió en diclorometano (20 ml) (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico (sal bis-TFA, 1,1 g, 2,0 mmoles) y se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,72 ml, 4,0 mmoles). Tras convertirse la suspensión en una solución transparente, se añadió ácido acético (0,13 ml, 2,0 mmoles), seguido de una solución de metil-éster de ácido 4-formil-piperidín-1-carboxílico (0,54 g, 3,1 mmoles) en diclorometano (20 ml). Tras agitar durante 5 minutos a temperatura ambiente, se añadió triacetoxiborohidruro sódico (0,628 g, 3,1 mmoles), y la reacción se agitó durante 1 hora adicional. A continuación, se basificó la capa acuosa con hidróxido sódico
10 acuoso 1 M (35 ml) y se extrajo con diclorometano (2x20 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron, rindiendo el producto crudo en forma de un sólido marrón (1,41 g).

15 El producto crudo se purificó mediante HPLC preparativa (fase reversa) [gradiente de 5-10-25%: MeCN al 5%/agua (TFA al 0,1%) hasta MeCN al 10% linealmente en 10 minutos; MeCN al 10% hasta MeCN al 25% linealmente en 50 minutos; caudal: 15 ml/minuto; detección a 280 nm], proporcionando el compuesto del título en forma de la sal bis-trifluoroacetato, que seguidamente se liofilizó. Se añadió una mezcla de hidróxido sódico 1 M y diclorometano (1:1, 100 ml) a la sal bis-trifluoroacetato liofilizada. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó, y el sólido resultante se liofilizó, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,93 g, 2
20 mmoles, rendimiento de 98%, pureza: 97,5%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₇N₅O₃: 456,30; observado: 456,3. Tiempo de retención (HPLC anal. HPLC: 2-50% MeCN/H₂O en 6 minutos)=3,06 minutos. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): 0,92 (m, 2H), 1,30 (m, 2H), 1,38 (d, 6H), 1,53 (m, 1H), 1,60-1,90 (m, 7H), 2,07 (d, 2H), 2,73 (brm, 2H), 2,83 (br d, 2H), 3,22 (septeto, 1H), 3,33 (t, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,93 (br d, 2H), 7,23 (t, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,77 (d, 1H), 10,10 (br s, 1H).

25 **Ejemplo 215: síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino] metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico (Forma I)**

30 Metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en forma sólida amorfa, preparado según el procedimiento del Ejemplo 214 (300 mg) se disolvió en acetonitrilo (15 ml), se mezcló hasta la disolución completa y se expuso a la atmósfera, resultando en una evaporación parcial. Se observó que los cristales se habían nucleado en 2 horas. Se confirmó la composición química de los cristales mediante RMN ¹H, cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC/MS) y análisis estructural de rayos X. Se confirmó la naturaleza cristalina del producto sólido mediante difracción de rayos X de los
35 polvos, calorimetría de escaneo diferencial y análisis estructural de rayos X.

Ejemplo 216: síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino] metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma I)

40 a. Preparación de metil-éster de ácido 4-hidroximetil-piperidín-1-carboxílico

45 Se cargaron 4-hidroximetilpiperidina (47,6 g, 1,0 equiv.) y agua (300 ml) en un matraz. La mezcla resultante se enfrió a 0°C-10°C. Se añadieron carbonato potásico (85,7 g, 1,5 equiv.) disuelto en agua (150 ml) y clorofornato de metilo (38,4 ml, 1,1 equiv.), manteniendo la temperatura a un nivel inferior a 10°C. Tras completar la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta 20-30°C durante 1 hora. Tras completarse la reacción, se añadió diclorometano (500 ml) a la mezcla de reacción. Se recolectó la capa orgánica y se lavó con solución de ácido fosfórico 1 M (200 ml), solución saturada de bicarbonato sódico (200 ml) y solución saturada de cloruro sódico (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico (50 g, 1 equiv. p/p) y después se destiló bajo vacío, produciendo el intermediario del título (67,0 g, rendimiento de 90%).

50 b. Preparación de metil-éster de ácido 4-formilpiperidín-1-carboxílico

55 Se disolvió metil-éster de ácido 4-hidroximetilpiperidín-1-carboxílico (34,7 g, 1,0 equiv.) en diclorometano y se enfrió a 0°C-10°C. Se añadió una solución de bicarbonato sódico (2,35 g, 0,14 equiv.) y bromuro sódico (2,40 g, 0,10 equiv.) en agua (100 ml) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura entre 0°C y 10°C. Se añadió radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO) (0,32 g, 0,01 equiv.) a la mezcla, seguido de solución al 10%-13% p/v de hipoclorito sódico (135 ml, 1,1 equiv.) durante 1 hora bajo agitación vigorosa, manteniendo la temperatura entre 0°C y 10°C. Tras completarse la reacción, se separaron las capas y la capa orgánica se lavó con agua (150 ml) y se secó sobre sulfato sódico (30 g, 1 equiv. p/p). Se eliminó el solvente mediante destilación, proporcionando el intermediario del título (31,0 g, rendimiento de 90%).

60 c. Preparación de (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carboxílico

65 Se añadió ácido trifluoroacético (56,0 ml, 10 equiv.) a un matraz que contenía una solución a ~5°C de terc-butil-éster de ácido 4-[[2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil]amino]metil)piperidín-1-carboxílico (30,0 g, 1,0 equiv.) en diclorometano (300 ml), manteniendo la temperatura a un nivel inferior a 10°C. La mezcla resultante se agitó a una

temperatura de entre 20°C y 30°C durante 2 horas. Tras completar la reacción, se añadieron trietilamina (73,2 ml, 7,0 equiv.) y ácido acético (4,3 ml, 1,0 equiv.), proporcionando una solución del intermediario del título con un pH aparente de aproximadamente 4 que se utilizó directamente en la etapa siguiente.

5 **d. Síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico**

Se añadió metil-éster de ácido 4-formilpiperidín-1-carboxílico (25,7 g, 2,0 equiv.) a la solución preparada en la etapa anterior, manteniendo la temperatura entre 20°C y 30°C. Tras agitar durante 30 minutos, se añadió triacetoxiborohidruro sódico (24,3 g, 1,5 equiv.), manteniendo la temperatura entre 20°C y 30°C. La mezcla de reacción se agitó a una temperatura de entre 20°C y 30°C durante 30 minutos. Tras completar la reacción, se añadió ácido hidrocórico 1 M (300 ml) para desactivar la reacción. La capa acuosa que contenía el producto se recolectó y se lavó con diclorometano (150 ml). La capa acuosa se trató con carbono activado (Darco G60, 6 g, al 20% p/p) para eliminar el color. La suspensión se agitó durante 1 hora, y después se filtró a través de un lecho de Celite. Se añadió diclorometano (300 ml) a la solución acuosa y el producto se purificó utilizando hidróxido sódico 4 N mediante ajuste del pH de la capa acuosa a 12-13. La capa orgánica se recolectó y se lavó con agua (300 ml). La capa orgánica se destiló a 80°C y se intercambié el solvente con acetonitrilo (2x300 ml), con el fin de eliminar el diclorometano y la trietilamina residual. Se suspendieron los sólidos en acetonitrilo (600 ml) y la mezcla se calentó hasta disolver los sólidos (~75°C). Se enfrió la solución hasta producirse la nucleación (~55°C-65°C) y se mantuvo durante 1 hora. Se enfrió la suspensión hasta 20°C en 2 horas y después hasta 0°C-5°C en 30 minutos, seguido de agitación a una temperatura de entre 0°C y 5°C durante 30 minutos. Se filtraron los sólidos y se lavaron con acetonitrilo frío (60 ml). La torta húmeda se secó bajo vacío a 60°C durante 6 horas, proporcionando el compuesto del título (28,3 g, rendimiento de 85%).

25 **Ejemplo 217: síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino] metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma I)**

Metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en forma sólida amorfa, preparado según el procedimiento del Ejemplo 214 se dispersó en los diluyentes inertes listados en la Tabla X, a continuación. Las mezclas se expusieron a la atmósfera y se dejó que se evaporasen por completo. Los sólidos resultantes se caracterizaron mediante difracción de rayos X de los polvos. Se demostró que todos los sólidos eran cristalinos con un patrón de difracción de rayos X de los polvos consistente con el indicado posteriormente, en el Ejemplo 220, que se obtuvo de la muestra del Ejemplo 215.

35

Tabla X: Síntesis de formas cristalinas

Diluyente	Compuesto de fórmula (I) (mg)	Volumen de diluyente(ml)
Éter	4,60	0,230
Ciclohexano	4,87	0,486
Acetato de etilo	5,67	0,284

Ejemplo 218: síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma II)

Metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en forma sólida amorfa (42,2 mg) se dispersó en hexano (4,22 ml) a temperatura ambiente hasta una concentración final de 10 mg/ml. La solución se sonicó para dispersar los sólidos de mayor tamaño. Tras 24 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 22°C), se había producido la cristalización. Se aislaron los sólidos cristalinos mediante filtración bajo vacío, previamente al análisis.

45

Ejemplo 219: síntesis de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino (Forma III)

Se disolvió metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en forma sólida amorfa (38 mg) en hexano en una mezcla 1:1 de solventes etanol:agua (1,9 ml) a temperatura ambiente hasta una concentración final de 20 mg/ml.

50

La solución se sonicó durante 30 segundos para garantizar la disolución completa. A continuación, se dejó que la solución se evaporase lentamente en un vial no tapado. Tras 24 horas a temperatura ambiente, se había producido la cristalización. Los sólidos cristalinos se aislaron mediante filtración al vacío. La torta de filtración se lavó una vez con una mezcla 1:1 de solventes etanol:agua, previamente al análisis.

55

Ejemplo 220: difracción de rayos X de los polvos

Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de los polvos con un difractor de rayos X Thermo ARL modelo

60

X'TRA (Thermo ARL SA, Suiza) utilizando radiación $K\alpha$ del Cu a 1.542 Å (45 kV, 40 mA) con un detector de estado sólido de Si(Li). El análisis típicamente se llevó a cabo a una velocidad de barrido de 2°/minuto, tamaño de salto de 0,03° por punto en un intervalo de $2^\circ \pm 35^\circ$ de ángulo dos-theta. Las muestras, no modificadas o molidas hasta formar polvos finos, se introdujeron cuidadosamente en un tubo de cuarzo de 7,8 mm de diámetro y 0,5 mm de fondo diseñado para encajar en el recipiente para muestras de carga superior del aparato para el análisis. La calibración del aparato hasta 60,02° de ángulo dos-theta se verificó semanalmente mediante comparación con un estándar de metal silicio. En la figura 1 se muestra un patrón de PXRD representativo para el compuesto cristalino del Ejemplo 215 (Forma I), que se molió manualmente hasta formar unos polvos. En la figura 5 se muestra un patrón de PXRD representativo de una muestra de Forma III cristalina obtenida con un difractómetro Rigaku utilizando $K\alpha$ de Cu (30 kV, 15 mA).

Ejemplo 221: análisis estructural de rayos X

a. Forma I

Un trozo de cristal producido en el Ejemplo 215 con dimensiones de 0,33x0,17x0,11 mm se montó sobre un filtro de fibra de vidrio. Se obtuvieron datos de rayos X de la estructura utilizando un detector CCD de área de rayos X Bruker SMART con un diámetro de ventana de 13,5 cm, controlado por el software SMART versión 5.630 (Bruker, 2003) utilizando radiación $K\alpha$ del Cu. La distancia de muestra a detector era de 5,039 cm. Los datos se recogieron a una temperatura de $-153 \pm 1^\circ\text{C}$ y se analizaron utilizando el programa SHELXS versión 6.14 (Bruker, 2003). Se derivaron los parámetros de red siguientes: la celda unitaria era ortorrómbica con dimensiones $a=16,9053$ Å, $b=9,5172$ Å, $c=15,4659$ Å; el grupo espacial era $Pna2_1$, densidad calculada de 1,22 g/cm. Los picos de difracción de rayos X de los polvos predichos a partir de las posiciones atómicas derivadas concuerdan de modo excelente con los resultados observados obtenidos tal como se describe en el Ejemplo 220, tal como se muestra en la Tabla XI.

Tabla XI: Posiciones de pico del PXRD

2θ observado (grados)	2θ predicho (grados)
$15,08 \pm 60,20$	$15,1 \pm 60,2$
$15,41 \pm 60,20$	$15,6 \pm 60,2$
$19,00 \pm 60,20$	$19,2 \pm 60,2$
$19,70 \pm 60,20$	$19,5 \pm 0,2$
$23,68 \pm 60,20$	$23,7 \pm 60,2$

b. Forma III

Se analizó un trozo de cristal producido mediante el procedimiento del Ejemplo 219 que presentaba las dimensiones 0,35x0,12x0,09 mm, mediante el método indicado anteriormente. Se derivaron los parámetros de red siguientes: la celda unitaria era monoclinica, con dimensiones $a=14,8101$ Å, $b=9,9985$ Å; $c=17,9222$ Å; $\beta=106,3020^\circ$; el grupo espacial era $P2_1/n$; la densidad calculada era de 1,23 g/cm³.

Ejemplo 222: análisis térmico

Se llevó a cabo una calorimetría de escaneo diferencial (DSC) utilizando un módulo modelo Q-100 de TA Instruments. Se recogieron los datos y se analizaron utilizando un Thermal Advantage de TA Instruments para el software Q Series™. Se pesó con precisión una muestra de aproximadamente 7 mg en una bandeja de aluminio con tapa. Se evaluó la muestra utilizando una rampa lineal de calentamiento de 10°C/minuto entre 5°C y aproximadamente 200°C. La celda de la DSC se purgó con nitrógeno seco durante la utilización.

Se llevó a cabo un análisis termogravimétrico (TGA) utilizando un módulo modelo Q-500 de TA Instruments. Se recogieron los datos y se analizaron utilizando un Thermal Advantage de TA Instruments para el software Q Series™. Se introdujo una muestra que pesaba aproximadamente 2 mg en una bandeja de aluminio en un soporte de platino y se escaneó entre la temperatura ambiente y aproximadamente 300°C con una tasa lineal de calentamiento de 10°C/minuto. Se purgaron la balanza y los hornos de cámara con nitrógeno durante la utilización.

En las figuras 2, 4 y 6 se muestran registros representativos de DSC y TGA para materiales de Forma I cristalina (preparada según el procedimiento del Ejemplo 216), Forma II y Forma III, respectivamente.

Ejemplo 223: evaluación de la sorción dinámica de la humedad

Se llevó a cabo una evaluación de la sorción dinámica de la humedad (DMS) a 25°C utilizando una microbalanza atmosférica VTI, sistema SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Se utilizó un tamaño de muestra de aproximadamente 5 a 10 mg y se fijó la humedad en el valor ambiental al inicio del análisis. Un análisis típico de DMS consistía de tres escaneos: humedad ambiental hasta humedad relativa (RH) de 2%, RH de 2% a RH de 90%, RH de 90% a RH de 5%, a una tasa de escaneo de 5% de RH/paso. Se midió la masa cada dos minutos y se modificó la RH al valor siguiente (RH de $\pm 5\%$) al estabilizarse la masa de la muestra a menos de 0,02% en 5 puntos

consecutivos. En la figura 3 se muestra una isoterma representativa de DMS para el compuesto cristalino del Ejemplo 215 (Forma I).

- 5 El compuesto cristalino de la invención mostraba un perfil de sorción/desorción reversible con un cambio de peso inferior a 0,25% en el intervalo completo de 2% a 90% de RH y un cambio de peso inferior a 0,1% en el intervalo de humedad crítico de RH de 40% a 75%.

Ejemplo 224: Análisis de infrarrojos

- 10 Se determinó el espectro de absorción de infrarrojos (IR) del compuesto cristalino del Ejemplo 215 (Forma I) en el intervalo de frecuencias e 4.000 a 675 cm^{-1} utilizando un espectrómetro de IR Avatar 360 FT dotado de un soporte para muestras de reflexión total atenuada (ATR) Nicolet. Un espectro de absorción de IR representativo para una muestra del compuesto cristalino de la invención presentaba bandas de absorción significativas en 76.661, 109.761, 125.161, 141.361, 144.961, 157.961, 160.961, 164.061 y 169.661 cm^{-1} .

15

Ejemplo 225: Evaluación de estabilidad de estado sólido

- 20 Se almacenaron muestras del compuesto cristalino de Forma I, preparadas según el procedimiento del Ejemplo 216, en múltiples viales de vidrio abiertos, a 40°C y con un 75% de RH. A intervalos específicos se retiró el contenido de un vial representativo y se analizó mediante DSC, TGA, PXRD y mediante HPLC para la pureza química. Tras tres meses de almacenamiento, no se produjo ningún cambio detectable en los termogramas de DSC o TGA ni en el patrón de PXRD. La pureza química de la muestra almacenada era de 99,5%.

Ensayo 1: ensayo de unión de ligandos radioactivos en receptores humanos de 5-HT_{4(c)}

25

a. 5-HT_{4(c)} de preparaciones de membranas

- 30 Se cultivaron células HEK-293 (renales embrionarias humanas) transfectadas establemente con ADNc de receptor de 5-HT_{4(c)} humano ($B_{\text{max}} \approx 6,0$ pmoles/mg de proteína, determinado utilizando un ensayo de unión de ligandos radioactivos de membrana [³H]-GR113808) en matraces T-225 en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía 4.500 mg/l de D-glucosa e hidrocloreuro de piridoxina (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: n° de cat. 11965) suplementado con suero de feto bovino al 10% (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 10437), L-glutamina 2 mM y (100 unidades) penicilina-(100 μg) estreptomycin/ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 15140) en un incubador humidificado con 5% de CO₂ a 37°C. Las células se cultivaron bajo presión selectiva continua mediante la adición de 800 mg/ml de geneticina (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 10131) al medio.

35

- 40 Las células se cultivaron hasta una confluencia de aproximadamente 60-80% (<35 pases de subcultivo). Unas 20-22 horas antes de la recolección, las células se lavaron dos veces y se alimentaron con DMEM sin suero. Todas las etapas de la preparación de membranas se llevaron a cabo sobre hielo. Se levantó la monocapa celular mediante agitación mecánica suave y trituración con una pipeta de 25 ml. Las células se recogieron mediante centrifugación a 1.000 rpm (5 minutos).

40

- 45 Para la preparación de las membranas, los pellets celulares se resuspendieron en ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazin-etanosulfónico (HEPES) 50 mM helado, pH 7,4 (tampón de preparación de membranas) (40 ml/total de producción celular procedente de 30 a 40 matraces T225) y se homogeneizaron utilizando un triturador Polytron (marca de dial 19, 2x10 s) sobre hielo. Los homogenizados resultantes se centrifugaron a 1.200 g durante 5 minutos a 4°C. Se descartó el pellet y el sobrenadante se centrifugó a 40.000g (20 minutos). Se lavó el pellet una vez mediante resuspensión con tampón de preparación de membranas y centrifugación a 40.000g (20 minutos). El pellet final se resuspendió en HEPES 50 mM, pH 7,4 (tampón de ensayo) (matraz T225 de equivalente 1/1 ml). Se determinó la concentración de proteínas de la suspensión de membranas mediante el método de Bradford (Bradford, 1976). Las membranas se almacenaron congeladas en alícuotas a -80°C.

50

b. Ensayos de unión de ligandos radioactivos

- 55 Se llevaron a cabo ensayo de unión de ligandos radioactivos en placas de ensayo de 1,1 ml de polipropileno de 96 pocillos profundos (Axygen) en un volumen de ensayo total de 400 μl que contenía 2 mg de proteína membranar en HEPES 50 mM, pH 7,4, que contenía albúmina de suero bovino (BSA) al 0,025%. Se llevaron a cabo estudios de saturación de unión para la determinación de los valores K_d del ligando radioactivo utilizando [³H]-GR113808 (Amersham Inc., Bucks, Reino Unido: n° de cat. TRK944; actividad específica de ~82 Ci/mmol) a 8-12 concentraciones diferentes comprendidas entre 0,001 nM y 5,0 nM. Se llevaron a cabo ensayos de desplazamiento para la determinación de los valores de pK_i de los compuestos con [³H]-GR113808 a una concentración de 0,15 nM y once concentraciones diferentes de compuestos comprendidas entre 10 μM y 100 μM .

60

- 65 Los compuestos de ensayo se recibieron en forma de soluciones madre 10 mM en DMSO y se diluyeron a 400 μM en HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25°C, que contenía BSA al 0,1% y seguidamente se llevaron a cabo diluciones en serie (1:5) con el mismo tampón. Se determinó la unión no específica en presencia de GR113808 1 μM no marcado. Se

incubaron los ensayos durante 60 minutos a temperatura ambiente y después se determinaron las reacciones de unión mediante filtración rápida a través de placas de 96 pocillos con filtros de fibra de vidrio GF/B (Packard BioScience Co., Meriden, CT) presurgidas en polietileno al 0,3%. Las placas de filtros se lavaron tres veces con tampón de filtración (HEPES 50 mM helado, pH 7,4) para eliminar la radioactividad no unida. Las placas se secaron, se añadieron 35 ml de líquido de centelleo Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) a cada pocillo y las placas se contaron en un contador de centelleo líquido Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Los datos de uniones se analizaron mediante análisis de regresión no lineal con el paquete de software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) utilizando el modelo de 3 parámetros para la competencia por un sitio. El parámetro BOTTOM (mínimo de la curva) se fijó en el valor de la unión no específica, determinado en presencia de GR113808 1 μ M. Los valores de K_i para los compuestos de ensayo se calcularon, en Prism, a partir de los valores de IC_{50} de ajuste óptimo, y el valor de K_d del ligando radioactivo utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng y Prusoff, Biochemical Pharmacology 22:309-108, 1973). $K = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$ en donde [L] = concentración de [3 H]-GR113808. Los resultados se expresan como el logaritmo decimal negativo de los valores de K_i , pK_i .

Los compuestos de ensayo que presentaban un valor de pK_i superior en este ensayo presentaban una afinidad de unión más alta para el receptor de 5-HT₄. Los compuestos de la invención que se sometieron a ensayo en este ensayo presentaban un valor de pK_i comprendido entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 10,0.

Ensayo 2: Ensayo de unión de ligandos radioactivos en receptores humanos de 5-HT_{3A} Determinación de la selectividad de los subtipos de receptor

a. 5-HT_{3A} de preparaciones de membranas

Se obtuvieron células HEK-293 (renales embrionarias humanas) transfectadas establemente con ADNc de receptor de 5-HT_{3A} humano, del Dr. Michael Bruess (Universidad de Bonn, Alemania) ($B_{max} = 9,0$ pmoles/mg de proteína, determinado utilizando el ensayo de unión de ligandos radioactivos membranales de [3 H]-GR65630. Se cultivaron las células en matraces T-225 ó en fábricas celulares en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) al 50% (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: n° de cat. 11965) y F12 de Ham al 50% (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 11765) suplementado con suero de feto bovino al 10% (FBS) inactivado por calor (Hyclone, Logan, UT: n° de cat. SH30070-03), y (50 unidades) penicilina-(50 μ g) de estreptomycin/ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 15140) en un incubador humidificado con 5% de CO₂ a 37°C.

Las células se cultivaron hasta una confluencia de aproximadamente 70-80% (<35 pases de subcultivo). Todas las etapas de la preparación de membranas se llevaron a cabo sobre hielo. Para recolectar las células, se aspiró el medio y las células se enjuagaron con solución salina de Dulbecco tamponada con fosfato sin Ca²⁺, Mg²⁺. Se levantó la monocapa celular mediante agitación mecánica suave. Las células se recogieron mediante centrifugación a 1.000 rpm (5 minutos). Las etapas posteriores de la preparación de las membranas siguieron el protocolo descrito anteriormente para las membranas que expresan receptores de 5-HT_{4(c)}.

b. Ensayos de unión de ligandos radioactivos

Se llevaron a cabo ensayo de unión de ligandos radioactivos en placas de ensayo de polipropileno de 96 pocillos en un volumen de ensayo total de 200 μ l que contenía 1,5 a 2 mg de proteína membranal en HEPES 50 mM, pH 7,4, que contenía tampón de ensayo BSA al 0,025%. Se llevaron a cabo estudios de saturación de unión para la determinación de los valores K_d del ligando radioactivo utilizando [3 H]-GR65630 (PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: n° de cat. NET1011; actividad específica de ~85 Ci/mmol) a doce concentraciones diferentes comprendidas entre 0,005 nM y 20 nM. Se llevaron a cabo ensayos de desplazamiento para la determinación de los valores de pK_i de compuestos con [3 H]-GR65630 a una concentración de 0,50 nM y once concentraciones diferentes de compuesto comprendidas entre 10 pM a 100 μ M. Los compuestos se recibieron en forma de soluciones madre 10 mM en DMSO (ver la sección 3.1), se diluyeron hasta 400 μ M en HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25°C, que contenía BSA al 0,1% y seguidamente se llevaron a cabo diluciones en serie (1:5) con el mismo tampón. Se determinó la unión no específica en presencia de MDL72222 10 μ M no marcado. Se incubaron los ensayos durante 60 minutos a temperatura ambiente y después se terminaron las reacciones de unión mediante filtración rápida a través de placas de 96 pocillos con filtros de fibra de vidrio GF/B (Packard BioScience Co., Meriden, CT) presurgidas en polietileno al 0,3%. Las placas de filtros se lavaron tres veces con tampón de filtración (HEPES 50 mM helado, pH 7,4) para eliminar la radioactividad no unida. Las placas se secaron, se añadieron 35 ml de líquido de centelleo Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) a cada pocillo y las placas se contaron en un contador de centelleo líquido Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Los datos de unión se analizaron utilizando el procedimiento de regresión no lineal indicado anteriormente para determinar los valores de K_i . El parámetro BOTTOM (mínimo de la curva) se fijó en el valor de la unión no específica, determinado en presencia de MDL72222 10 μ M. La cantidad [L] en la ecuación de Cheng-Prusoff se define como la concentración de [3 H]-GR65630

Se calculó la selectividad para el subtipo de receptor 5-HT₄ con respecto al subtipo de receptor 5-HT₃ como la proporción K(5-HT_{3A})/K(5-HT_{4(C)}). Los compuestos de la invención que se sometieron a ensayo en dicho ensayo presentaban una selectividad de subtipos de receptor 5-HT₄/5-HT₃ comprendida entre aproximadamente 4.000 y un valor superior a 400.000.

5 **Ensayo 3: Ensayo de placa instantánea de acumulación de AMPc en células completas con células HEK-293 que expresan receptores de 5-HT_{4(c)}**

10 En este ensayo, se determinó la potencia funcional de un compuesto de ensayo mediante la medición de la cantidad de AMP cíclico producida al poner en contacto células HEK-293 que expresan receptores de 5-HT₄ con diferentes concentraciones del compuesto de ensayo.

a. Cultivo celular

15 Se prepararon células HEK-293 (renales embrionarias humanas) transfectadas establemente con ADNc de receptor de 5-HT_{4(c)} humano clonado que expresaban el receptor a dos densidades diferentes: (1) a una densidad de aproximadamente 0,5-0,6 pmoles/mg de proteína, determinada utilizando un ensayo de unión de ligandos radioactivos membranales de [³H]-GR113808, y (2) a una densidad de aproximadamente 6,0 pmoles/mg de proteína. Las células se cultivaron en matraces T-225 en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía 4.500 mg/l de D-glucosa (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 11965) suplementado con suero de feto bovino al 10% (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 10437), y (100 unidades) penicilina-(100 µg) de estreptomycin/ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 15140) en un incubador humidificado con 5% de CO₂ a 37°C. Las células se cultivaron bajo presión selectiva continua mediante la adición de geneticina (800 mg/ml: GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 10131) al medio.

25 b. Preparación celular

30 Se cultivaron células hasta una confluencia de aproximadamente 60 a 80%. Veinte a veintidós horas antes del ensayo, se lavaron las células dos veces y se alimentaron con DMEM sin suero que contenía 4.500 mg/l de D-glucosa (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 11965). Para recolectar las células, se aspiró el medio y se añadieron 10 ml de Versene (GIBCO-Invitrogen Corp.: n° de cat. 15040) a cada matraz T-225. Las células se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente y después se desengancharon del matraz mediante agitación mecánica. La suspensión celular se transfirió a un tubo de centrifuga que contenía un volumen igual de dPBS precalentado (37°C) y se centrifugó durante 5 minutos a 1.000 rpm. Se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en tampón de estimulación precalentado (37°C) (equivalente de 10 ml por cada 2-3 matraces T-225). Se registró este tiempo y se marcó como tiempo cero. Se contaron las células con un contador Coulter (recuento de mayores de 8 µm, el rendimiento del matraz era de 1-2 x10⁶ células/matraz). Se resuspendieron las células a una concentración de 5x10⁵ células/ml en tampón de estimulación precalentado (37°C) (tal como se proporciona en el kit de la placa instantánea) y se preincubaron a 37°C durante 10 minutos.

40 Se llevaron a cabo ensayos de AMPc en un formato de radioinmunoensayo utilizando el sistema de ensayo de placa instantánea de activación de la adenilil-ciclasa con ¹²⁵I-AMPc (SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

45 Las células se cultivaron y se prepararon tal como se ha indicado anteriormente. Las concentraciones celulares finales en el ensayo eran de 25x10³ células/pocillo y el volumen final del ensayo era de 100 ml. Los compuestos de ensayo se recibieron en forma de soluciones madre 10 mM en DMSO, se diluyeron a 400 µM en HEPES 50 mM, pH 7,4 a 25°C, que contenía BSA al 0,1% y seguidamente se llevaron a cabo diluciones en serie (1:5) con el mismo tampón. Se llevaron a cabo ensayos de acumulación de AMP cíclico con 11 concentraciones diferentes de compuesto comprendidas entre 10 pM y 100 µM (concentraciones finales del ensayo). Se incluyó en cada placa una curva de respuesta a la concentración de 5-HT (10 pM a 100 µM). Las células se incubaron, bajo agitación, a 37°C durante 15 minutos, y la reacción se terminó mediante la adición de 100 ml de tampón de detección helado (tal como se proporciona en el kit de la placa instantánea) a cada pocillo. Se sellaron las placas y se incubaron a 4°C durante la noche. La radioactividad unida se cuantificó mediante espectroscopía de proximidad por centelleo utilizando el aparato Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

60 La cantidad de AMPc producida por ml de reacción se extrapoló a partir de la curva estándar de AMPc siguiendo las instrucciones proporcionadas en el manual para el usuario del fabricante. Los datos se analizaron mediante análisis de regresión no lineal con el paquete de software GraphPad Prism utilizando el modelo sigmoidal de 3 parámetros de dosis-respuesta (pendiente restringida a la unidad). Los datos de potencia se informa como valores de pEC₅₀, el logaritmo decimal negativo del valor de EC₅₀, en donde EC₅₀ es la concentración efectiva para un 50% de la respuesta máxima.

65 Los compuestos de ensayo que presentaban un valor de pEC₅₀ superior en este ensayo presentaban una potencia más alta como agonista del receptor de 5-HT₄. Los compuestos de la invención que se sometieron a ensayo en este ensayo, por ejemplo, en la línea de células (1) que presentaba una densidad de aproximadamente 0,5-0,6

pmoles/mg de proteína presentaba un valor de pEC₅₀ comprendido entre aproximadamente 7,5 y aproximadamente 9,5.

5 **Ensayo 4: Ensayo *in vitro* de pinza de voltaje de inhibición de la corriente de iones potasio en células completas que expresan los canales hERG cardiacos del potasio**

10 Se obtuvieron células CHO-K1 transfectadas establemente con ADNc de hERG, de Gail Robertson en la Universidad de Wisconsin. Las células se mantuvieron bajo almacenamiento criogénico hasta su utilización. Las células se expandieron y se realizaron los pases en medio de Eagle modificado por Dulbecco/F12 suplementado con suero de feto bovino al 10% y geneticina 200 mg/ml. Las células se sembraron en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-D-lisina (100 mg/ml) en placas de 35 mm² (que contenían 2 ml de medio) a una densidad que permitía que las células aisladas fueran seleccionadas para estudios de pinza de voltaje en células completas. Las placas se mantuvieron en un ambiente humidificado con 5% de CO₂ a 37°C.

15 La solución extracelular se preparó por lo menos cada 7 días y se almacenó a 4°C cuando no se utilizaba. La solución extracelular contenía (mM): NaCl (137), KCl (4), CaCl₂ (1.8), MgCl₂ (1), Glucosa (10), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazín-etanosulfónico (HEPES) (10), pH 7,4 con NaOH. La solución extracelular, en ausencia o en presencia de compuesto de ensayo, se encontraba contenida en reservorios a partir de los cuales fluía hacia el interior de la cámara de registro con un caudal aproximado de 0,5 ml/minuto. La solución intracelular se preparó, se dividió en alícuotas y se almacenó a -20°C hasta el día de la utilización. La solución intracelular contenía (mM): KCl (130), MgCl₂(1), sal de éter etilenglicol-bis(beta-aminoetilico)-ácido N,N,N',N'-tetraacético (EGTA) (5), MgATP (5), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazín-etanosulfónico (HEPES) (10), pH 7,2 con KOH. Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente (20°C a 22°C).

25 Los cubreobjetos sobre los que se sembraron las células se transfirieron a una cámara de registro y se perfundieron continuamente. Se formaron sellos gigaohm entre la célula y el electrodo-parche. Tras conseguir un parche estable, se inició el registro en el modo de pinza de voltaje, con un potencial de fijación inicial de -80 mV. Tras alcanzar una corriente estable en células completas, las células se expusieron a un compuesto de ensayo. El protocolo de voltaje estándar era: salto del potencial de fijación de -80 mV a +20 mV durante 4,8 segundos, repolarización a -50 mV durante 5 segundos y seguidamente vuelta al potencial de fijación original (-80 mV). Se realizó este protocolo de voltaje una vez cada 15 segundos (0,067 Hz). Se determinaron las amplitudes de corriente de los picos durante la etapa de repolarización utilizando el programa pClamp. Se perfundieron los compuestos de ensayo a una concentración de 3 µM sobre las células durante 5 minutos, seguido de un periodo de lavado de 5 minutos en ausencia de compuesto. Finalmente se añadió un control positivo (cisáprido, 20 nM) al perfundido para someter a ensayo el funcionamiento de la célula. El salto de -80 mV a +20 mV activa el canal hERG, resultando en una corriente hacia el exterior. El salto de vuelta a -50 mV resulta en una corriente de cola hacia el exterior, al recuperarse de la inactivación y desactivarse el canal.

40 Se determinaron las amplitudes de corriente de los picos durante la etapa de repolarización utilizando el programa pClamp. Los datos de control y de ensayo se exportaron a Origin[®] (OriginLab Corp., Northampton, MA), en donde las amplitudes de corriente individuales se normalizaron respecto a la amplitud de corriente inicial en ausencia de compuesto. Las medias de corriente normalizadas y errores estándares para cada condición se calcularon y representaron en un gráfico frente al curso temporal del experimento.

45 Se realizaron comparaciones entre las inhibiciones observadas de la corriente de K⁺ tras la exposición de cinco minutos al artículo de ensayo o al vehículo de control (habitualmente DMSO al 0,3%). Se llevaron a cabo comparaciones estadísticas entre los grupos experimentales utilizando una prueba t independiente de dos poblaciones (Microcal Origin v. 6.0). Las diferencias se consideraron significativas con p<0,05.

50 Cuanto menor es el porcentaje de inhibición de la corriente de iones potasio en este ensayo, menor es el potencial de que los compuestos de ensayo modifiquen el patrón de repolarización cardiaca al utilizarlos como agentes terapéuticos. Por ejemplo, los compuestos de los Ejemplos 1 a 14 que se sometieron a ensayo en el presente ensayo a una concentración de 3 µM mostraron una inhibición de la corriente de iones potasio inferior a aproximadamente 30%, incluyendo inferior a aproximadamente 20%.

55 **Ensayo 5: Modelo *in vitro* de biodisponibilidad oral: Ensayo de permeación de Caco-2**

60 Se llevó a cabo el ensayo de permeación de Caco-2 con el fin de modelizar la capacidad de los compuestos de ensayo de pasar a través del intestino y llegar al flujo sanguíneo tras la administración oral. Se determinó la tasa a la que los compuestos de ensayo en solución permean una monocapa celular diseñada para imitar la estrecha unión de las monocapas del intestino delgado humano.

65 Se obtuvieron células Caco-2 (adenocarcinoma de colon humano) de la ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD). Para el estudio de permeación, las células se sembraron a una densidad de 63.000 células/cm² sobre transpocillos prehumectados con filtros de policarbonato (Costar, Cambridge, MA). Se formó una monocapa celular tras 21 días de cultivo. Tras el cultivo celular en la placa de transpocillos, se desenganchó de la placa de

transpocillos la membrana que contenía la monocapa celular y se insertó en la cámara de difusión (Costar, Cambridge, MA). Se insertó la cámara de difusión en el bloque de calentamiento que se encontraba dotado de agua circulante externa termostáticamente regulada a 37°C para el control de la temperatura. El distribuidor de aire administraba 95% de O₂/5% de CO₂ a cada mitad de una cámara de difusión y creaba un patrón de flujo laminar en la monocapa celular que resultaba efectivo para reducir la capa límite no mezclada.

El estudio de permeación se llevó a cabo con concentraciones de compuesto de ensayo de 100 µM y con ¹⁴C-manitol para realizar un seguimiento de la integridad de la monocapa. Todos los experimentos se llevaron a cabo a 37°C durante 60 minutos. Se extrajeron muestras a los 0, 30 y 60 minutos tanto del lado donante como del lado receptor de la cámara. Las muestras se analizaron mediante HPLC o recuento de centelleo líquido para obtener las concentraciones de compuesto de ensayo y de manitol. Se calculó el coeficiente de permeación (K_p) en cm/s.

En este ensayo, un valor de K_p superior a aproximadamente 10x10⁻⁶ cm/s se considera indicativo de una biodisponibilidad favorable. Los compuestos de la invención que se sometieron a ensayo en este ensayo típicamente mostraban valores de K_p de entre aproximadamente 10x10⁻⁶ cm/s y aproximadamente 50x10⁻⁶ cm/s.

Ensayo 6: Estudio farmacocinético en la rata

Se prepararon formulaciones de solución acuosa de compuestos de ensayo en ácido láctico al 0,1% a un pH de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6. Las ratas Sprague-Dawley macho (cepa CD, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) recibieron dosis de los compuestos de ensayo por vía intravenosa (IV) a una dosis de 2,5 mg/kg o mediante sonda oral (PO) a una dosis de 5 mg/kg. El volumen de dosificación fue de 1 ml/kg para IV y de 2 ml/kg para la administración PO. Se recogieron en serie muestras de sangre de los animales antes de la dosificación y a los 2 (únicamente los administrados IV), 5, 15 y 30 minutos, y 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la dosificación. Se determinaron las concentraciones de los compuestos de ensayo en el plasma sanguíneo mediante cromatografía líquida-análisis de espectrometría de masas (LC-MS/MS) (MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA) con un nivel inferior de cuantificación de 1 ng/ml.

Se evaluaron los parámetros farmacocinéticos estándares mediante análisis no compartimental (modelo 201 para la administración IV y modelo 200 para la administración PO) utilizando el programa WinNonlin (versión 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA). El máximo en la curva de la concentración de compuesto de ensayo en el plasma sanguíneo frente al tiempo se indica como C_{max}. Se calculó el área bajo la curva de concentración frente al tiempo entre el momento de la dosificación y la última concentración medible (AUC(0-t)) mediante la regla trapezoidal lineal. Se calculó la biodisponibilidad oral (F(%)), es decir la proporción normalizada para dosis entre la AUC(0-t) para la administración PO y la AUC(0-t) para la administración IV:

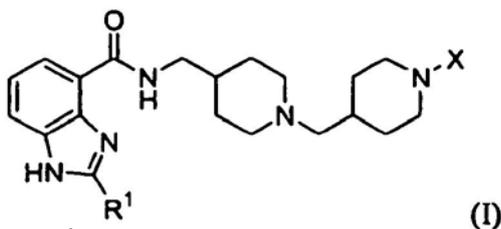
$$F(\%) = \frac{AUC_{PO}}{AUC_{IV}} \times \frac{Dosis_{IV}}{Dosis_{PO}} \times 100\%$$

Los compuestos de ensayo que muestran valores mayores de los parámetros C_{max}, AUC(0-t) y F(%) en este ensayo se espera que presenten una mayor biodisponibilidad al administrarse por vía oral. Los compuestos preferentes de la invención presentaban valores de C_{max} típicamente comprendidos entre aproximadamente 0,06 y aproximadamente 0,8 mg/ml, y valores de AUC(0-t) típicamente comprendidos entre aproximadamente 0,14 y aproximadamente 1,2 mg·h/ml.

A título de ejemplo, el compuesto del Ejemplo 1 presentaba un valor de C_{max} de 0,8 mg/ml, un valor de AUC(0-t) de 1,2 mg·h/ml y una biodisponibilidad oral (F(%)) en el modelo de la rata de aproximadamente 75%.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



5 en la que:

R^1 es alquilo C_{3-5} , opcionalmente sustituido con -OH, y X se selecciona de entre:

(a) $-C(O)OR^2$, en donde R^2 es alquilo C_{1-4} o $-(CH_2)_n$ -fenilo en el que n es 0 ó 1,

(b) $-C(O)R^3$ en donde R^3 se selecciona de entre:

fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ y $-CN$, alquilo C_{1-5} , cicloalquilo C_{4-5} , y $-(CH_2)_m$ -A, en el que m es 0 ó 1 y A se selecciona de entre aminofuranilo, tiofenilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, piridinilo y naftalenilo,

(c) $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ y $-OCHF_2$,

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ en el que R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^7 es hidrógeno, -OH o alquilo C_{1-3} , o R^6 y R^7 conjuntamente forman oxo o $-(CH_2)_{2-}$, y R^8 es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ y $-CN$,

(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, en el que R^9 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^{10} es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ y $-OCHF_2$, y

(f) $-S(O)_2R^{11}$, en el que R^{11} se selecciona de entre alquilo C_{1-3} , $-CH_2$ -fenilo, 2,4-dimetilisoxazolilo y fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, OCF_3 , $-OCHF_2$ y $-CN$,

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^1 es alquilo C_{3-5} .

30 3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R^1 es isopropilo o *tert*-butilo.

4. Compuesto según la reivindicación 2, en el que X es $-C(O)OR^2$.

35 5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que R^2 es alquilo C_{1-3} o fenilo.

6. Compuesto según la reivindicación 2, en el que X es $-C(O)R^3$.

7. Compuesto según la reivindicación 6, en el que R^3 es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo, alcoxi C_{1-4} , $-CF_3$, $-OCF_3$ y $-OCHF_2$.

40 8. Compuesto según la reivindicación 2, en el que X es $-C(O)NR^4R^5$.

9. Compuesto según la reivindicación 2, en el que:

45 R^1 es alquilo C_{3-4} , y
X se selecciona de entre:

(a) $-C(O)OR^2$, en el que R^2 es alquilo C_{1-3} o fenilo,

(b) $-C(O)R^3$ en el que R^3 es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} , halo y $-CF_3$, furanilo o tiofenilo,

(c) $-C(O)NR^4R^5$ en el que R^4 es hidrógeno y R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} y halo,

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ en el que R^6 es hidrógeno y R^7 es hidrógeno, -OH o metilo, o R^6 y R^7 conjuntamente forman oxo o $-(CH_2)_{2-}$, y R^8 es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} y halo,

(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ en el que R^9 es hidrógeno o metilo y R^{10} es fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-4} y halo, y

(f) $-S(O)_2R^{11}$ en el que R^{11} es metilo o fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes

seleccionados de entre alquilo C₁₋₄ y halo.

10. Compuesto según la reivindicación 9, en el que:

- 5 R¹ es isopropilo o *terc*-butilo, y X se selecciona de entre:
 (a) -C(O)OR² en el que R² es metilo o fenilo,
 (b) -C(O)R³, en el que R³ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre: metilo, cloro, fluoro y -CF₃, furán-2-ilo o tiofén-2-ilo, y
 10 (c) -C(O)NR⁴R⁵ en el que R⁴ es hidrógeno y R⁵ es fenilo opcionalmente sustituido con 1 fluoro o cloro.

11. Compuesto según la reivindicación 2, en el que el compuesto se selecciona de entre:

- 15 metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,
 fenil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,
 {1-[1-(2-chlorobenzoi)] piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil} amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 20 {1-[1-(2,4-difluorobenzoi)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 {1-[1-(furán-2-carbonil)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 25 {1-[1-(tiofén-2-carbonil)piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 {1-[1-(2-fluoro-5-trifluorometilbenzoi)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 {1-[1-(2-fluoro-fenilcarbomoi)]piperidín-4-ilmetil}piperidín-4-ilmetil}-amida de ácido 2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 30 metil-éster de ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,
 {1-[1-(2-fluoro-benzoi)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico,
 35 {1-[1-(3-metil-benzoi)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico y
 {1-[1-(4-fluorobenzoi)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico.

12. Compuesto según la reivindicación 2, en el que el compuesto se selecciona de entre:

- 40 metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico,
 metil-éster de ácido 4-(4-[(2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)-amino]-metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico;
 45 {1-[1-(2-fluoro-benzoi)-piperidín-4-ilmetil]piperidín-4-ilmetil}amida de ácido 2-*terc*-butil-1*H*-benzoimidazol-4-carboxílico y
 sales y solvatos farmacéuticamente aceptables y estereoisómeros de los mismos.

50 13. Metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1*H*-benzoimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino o un solvato del mismo.

55 14. Compuesto cristalino según la reivindicación 13, en el que el compuesto cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos que presenta dos o más picos de difracción en valores de 2θ seleccionados de entre 15.0860.20, 15.4160.20, 19.0060.20, 19.7060.20 y 23.6860.20.

60 15. Compuesto cristalino según la reivindicación 14, en el que el compuesto cristalino se caracteriza por un perfil de calorimetría de escaneo diferencial que muestra un máximo de flujo de calor endotérmico a una temperatura comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 146°C y aproximadamente 148°C.

65 16. Compuesto cristalino según la reivindicación 13, en el que el compuesto cristalino se caracteriza por un perfil de calorimetría de escaneo diferencial que muestra un máximo de flujo de calor endotérmico a una temperatura comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 146°C y aproximadamente 148°C.

17. Compuesto cristalino según la reivindicación 13, en el que el compuesto cristalino es un monohidrato.

18. Compuesto cristalino según la reivindicación 17, en el que el compuesto cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de los polvos que presenta dos o más picos de difracción en 20 valores seleccionados de entre 9.1460.20, 12.4160.20, 12.7460.20, 17.7560.20, 18.4760.20, 20.6360.20, 21.1360.20 y 27.0560.20.

5 19. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 y un portador farmacéuticamente aceptable.

20. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para la utilización en terapia.

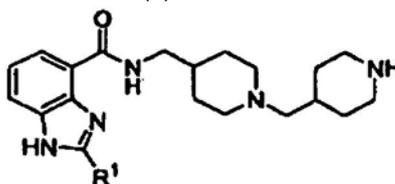
10 21. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, para la utilización en el tratamiento de un trastorno de motilidad reducida del tracto gastrointestinal en un mamífero.

15 22. Compuesto para la utilización en el tratamiento de un trastorno de motilidad reducida del tracto gastrointestinal en un mamífero según la reivindicación 21, en el que el trastorno se selecciona de entre estreñimiento crónico, síndrome del intestino irritable con predominio de estreñimiento, gastroparesis diabética e idiopática y dispepsia funcional.

20 23. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, para la utilización en el tratamiento del síndrome del intestino irritable, el estreñimiento crónico, la dispepsia funcional, el retardo del vaciado gástrico, la enfermedad de reflujo gastroesofágico, la gastroparesis, el íleo post-operatorio, la pseudo-obstrucción intestinal o el retardo del tránsito intestinal inducido por un fármaco.

25 24. Procedimiento para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, comprendiendo el procedimiento:

(i) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):

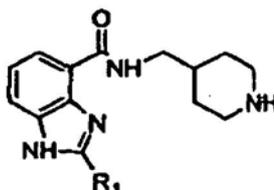


(II)

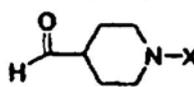
con un reactivo de fórmula (III): L-X (III), en el que L es un grupo saliente,

30 (ii) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII):

con un compuesto de fórmula (XIII):



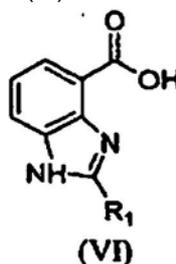
(VIII)



(XIII)

;

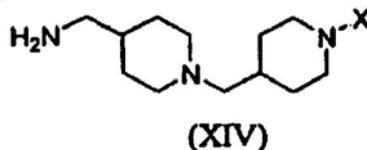
o (iii) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VI):



(VI)

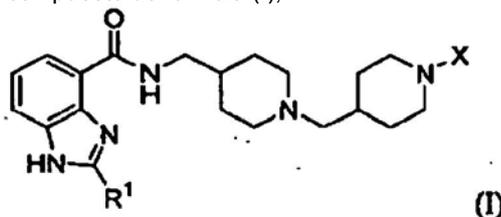
35

con un compuesto de fórmula (XIV):



R¹ y X presentan los significados según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.

5 **25.** Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I),



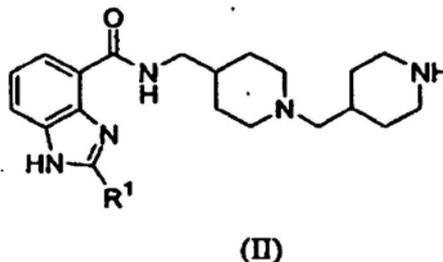
en el que:

10 R¹ es alquilo C₃₋₅, y X se selecciona de entre (b) -C(O)R³, en el que R³ se selecciona de entre: fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ y -OCHF₂, alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₄₋₅, y -(CH₂)_m-A, en el que m es 0 ó 1, y A se selecciona de entre furanilo, tiofenilo, morfolinilo, tetrahydrofuranilo, piridinilo y naftalenilo, (d) -C(Q)C(R⁶R⁷)R⁸, en el que R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃, y R⁷ es hidrógeno, -OH, alquilo C₁₋₃ ó oxo, o R⁶ y R⁷ forman -(CH₂)₂-, y R⁸ es fenilo o ciclohexilo, en el que fenilo o ciclohexilo se sustituyen opcionalmente con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ y -CN, y

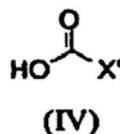
15 (e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰ en el que R⁹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R¹⁰ es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁₋₄, halo, alcoxi C₁₋₄, -CF₃, -OCF₃ y -OCHF₂,

20 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo, comprendiendo el procedimiento:

hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)

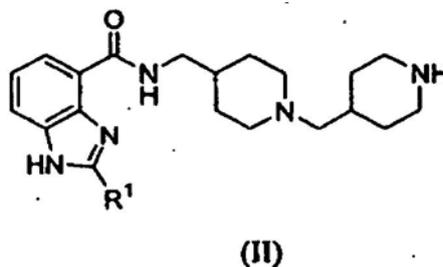


25 con un compuesto de fórmula (IV):



en la que X' se selecciona de entre R³, C(R⁶R⁷)R⁸ y C(HR⁹)OR¹⁰, proporcionando un compuesto de fórmula (I) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable o solvato o estereoisómero del mismo.

30 **26.** Compuesto de fórmula (II):



en la que R¹ es alquilo C₃₋₅, o una sal o estereoisómero o derivado protegido del mismo.

27. Procedimiento para preparar metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico, comprendiendo el procedimiento:

- 5
- (a) dispersar metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico en un diluyente inerte seleccionado de entre acetonitrilo, éter, ciclohexano y acetato de etilo en una proporción de entre aproximadamente 15 mg y 25 mg de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico por mililitro de diluyente con el fin de formar una mezcla, y
- 10
- (b) dejar que la mezcla se evapore, proporcionando metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico.

28. Procedimiento para preparar metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico, comprendiendo el procedimiento:

- 15
- (a) hacer reaccionar (piperidín-4-ilmetil)amida de ácido 2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carboxílico con metil-éster de ácido 4-formilpiperidín-1-carboxílico en un diluyente aprótico polar,
- 20
- (b) añadir acetonitrilo bajo destilación del producto de la etapa (a) con el fin de eliminar el diluyente aprótico polar del producto de la etapa (a),
- (c) preparar una mezcla del residuo de la destilación de la etapa (b) en acetonitrilo a una concentración de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 125 mg de metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico por cada mililitro de acetonitrilo a una temperatura suficiente para disolver el residuo, y
- 25
- (d) enfriar la mezcla de la etapa (c) hasta una temperatura no superior a aproximadamente 20°C, proporcionando metil-éster de ácido 4-(4-[(2-isopropil-1H-benzimidazol-4-carbonil)amino]metil)piperidín-1-ilmetil)piperidín-1-carboxílico cristalino.

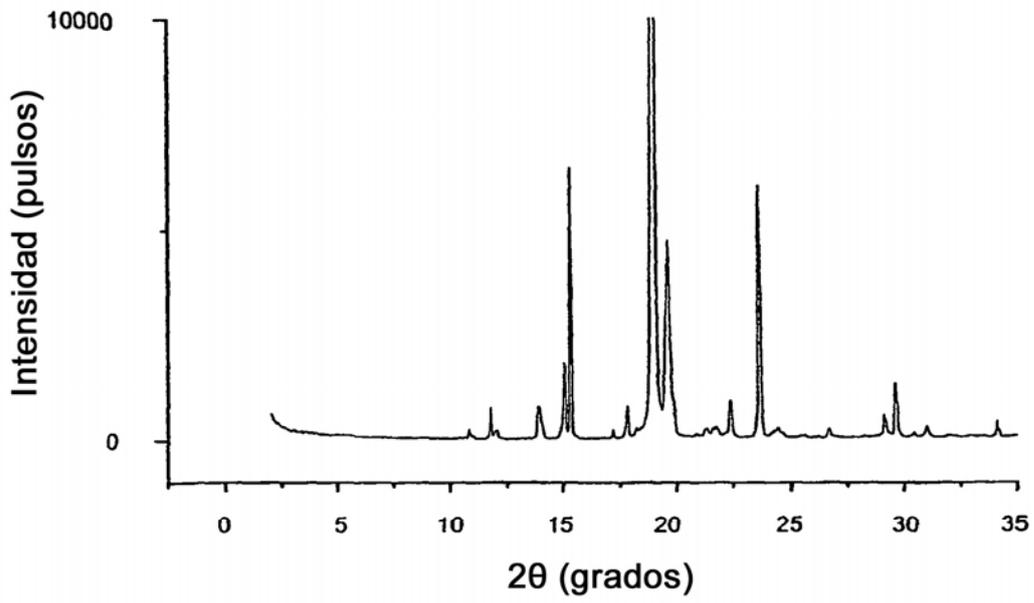


Figura 1

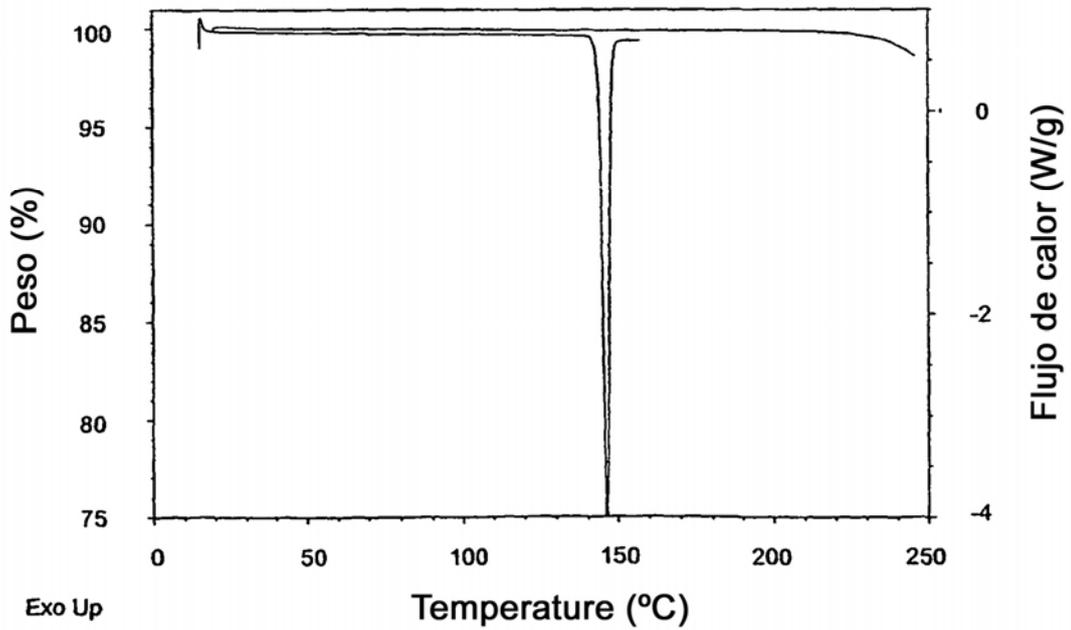


Figura 2

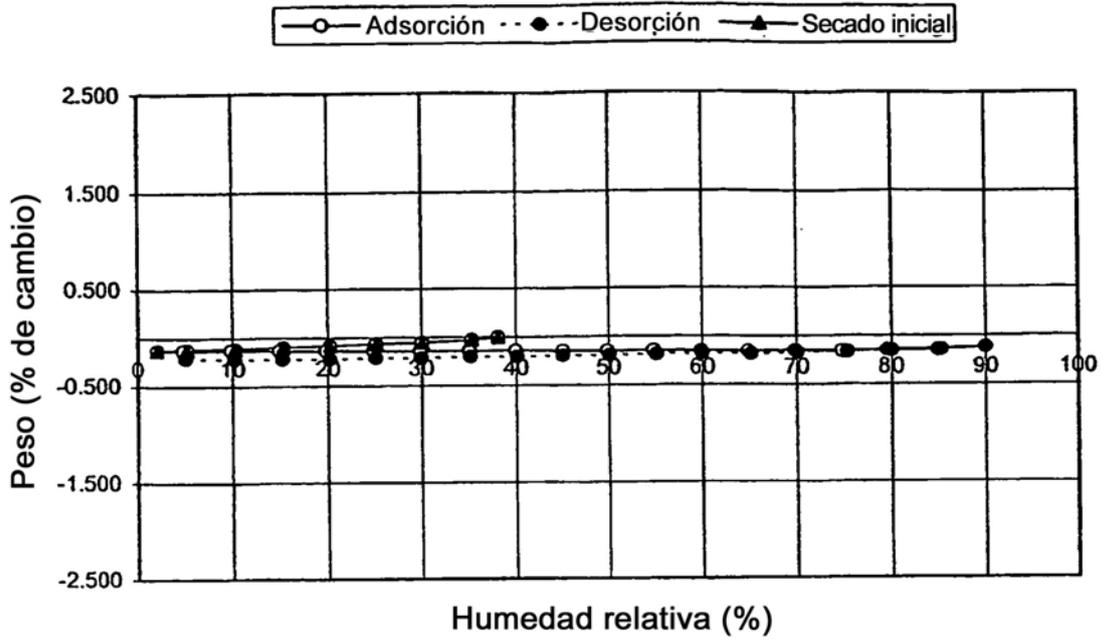


Figura 3

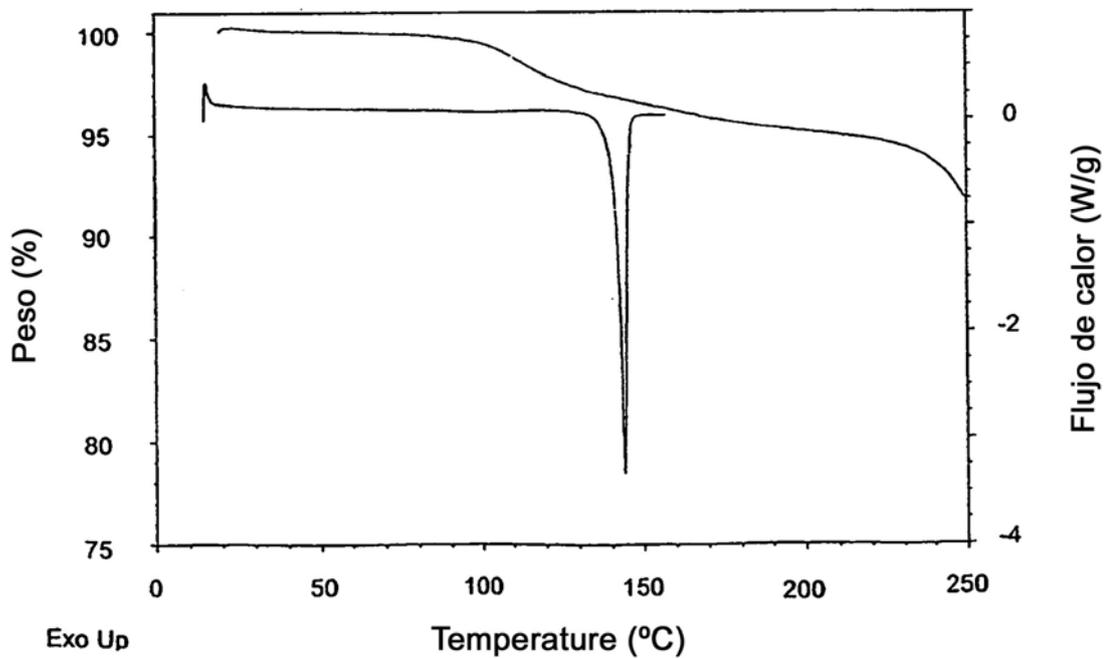


Figura 4

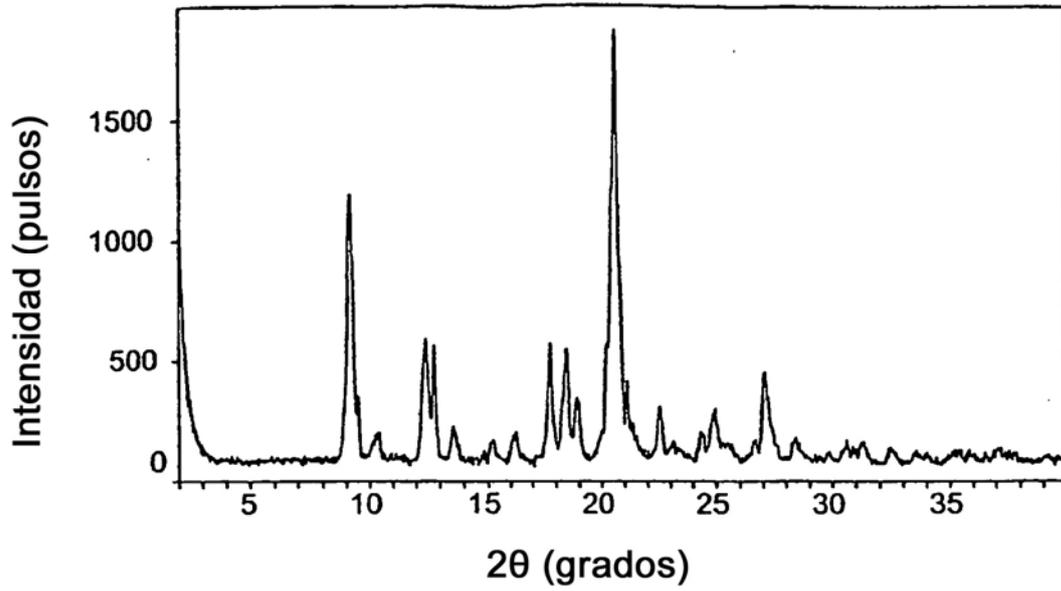


Figura 5

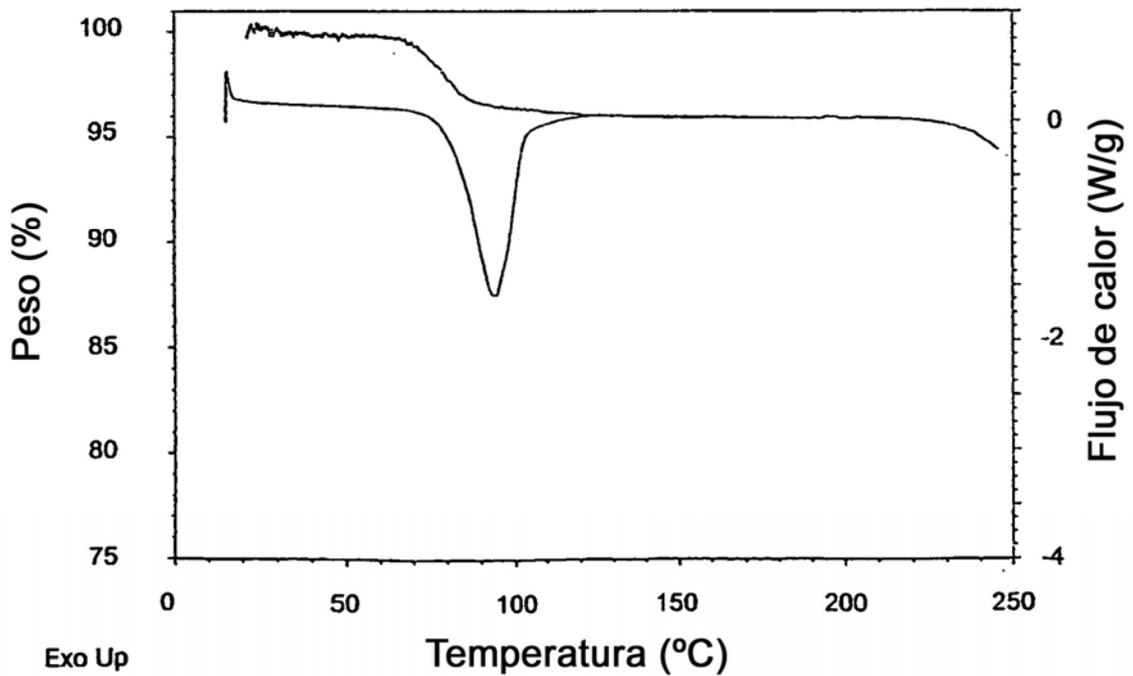


Figura 6