

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 805**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2014 PCT/JP2014/056123**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14142056**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2014 E 14762496 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2975035**

54 Título: **Sal de un derivado del ácido pirrolidín-3-ilacético y cristales de esta**

30 Prioridad:

12.03.2013 JP 2013049619

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

20.11.2017

73 Titular/es:

**EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)
4-6-10 Koishikawa Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088, JP**

72 Inventor/es:

**YOSHIDA, KENSHI y
KUSHIDA, IKUO**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 642 805 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sal de un derivado del ácido pirrolidín-3-ilacético y cristales de esta

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una sal de un derivado del ácido pirrolidín-3-ilacético con acción inhibitoria en una vía de fractalcina-CX3CR1, y un cristal de esta.

Técnica anterior

10 Las quimiocinas son factores de migración celular fundamentales y regulan la infiltración de linfocitos en tejidos mediante la estimulación del movimiento celular y la activación de moléculas de adhesión. Las quimiocinas se clasifican en cuatro subfamilias de CC, CXC, C y CX3C según sus secuencias de los dos primeros residuos de cisteína.

15 La fractalcina es el único miembro de las quimiocinas CX3C y presenta dos características distintivas en su estructura y funciones, que no se observan en otras quimiocinas. La fractalcina se une a un receptor, CX3CR1, que puede mediar una adhesión fuerte sin mediación de selectina o integrina, incluso en presencia de un flujo sanguíneo fisiológico. Esto quiere decir que el sistema de fractalcina-CX3CR1 media el mecanismo de infiltración en varias etapas mediado por selectina o integrina mediante una reacción en una única etapa.

20 La expresión de fractalcina en células del endotelio vascular es inducida por las citocinas inflamatorias TNF e IL-1. Por su parte, el CX3CR1 se expresa en monocitos, la mayoría de los linfocitos citolíticos espontáneos (NK) y algunos linfocitos T, pero no se expresa en neutrófilos. Por tanto, el sistema de fractalcina-CX3CR1 se considera un mecanismo extremadamente efectivo para movilizar células inmunitarias sobre las células endoteliales de tejidos dañados o en los tejidos.

25 En lo que respecta a la relación entre el sistema de fractalcina-CX3CR1 y patologías, se sugiere que el sistema de fractalcina-CX3CR1 interviene en el desarrollo y patologías de enfermedades autoinmunitarias tales como la artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, nefritis lúpica y esclerosis múltiple (referencia 1 de la bibliografía no relacionada con patentes). En particular, en lo que respecta a la enfermedad intestinal inflamatoria, hay constancia de que la expresión de la fractalcina aumenta en sitios inflamatorios de tejidos colónicos de pacientes y que el CX3CR1 desempeña una función importante en la infiltración de células inmunitarias en el tejido del colon (referencia 2 de la bibliografía no relacionada con patentes).

30 Los anticuerpos descritos en la referencia 1 de la bibliografía de patentes y los compuestos de bajo peso molecular descritos en las referencias 2-6 de la bibliografía de patentes se han descrito previamente como inhibidores de fractalcina.

Además, se ha descrito la utilidad de los compuestos descritos en la referencia 7 de la bibliografía de patentes como antagonistas del receptor de quimiocinas CCR2, pero difieren en la familia de quimiocinas sobre la que actúan estos inhibidores.

Lista de citas**35 Bibliografía de patentes**

Referencia 1 de la bibliografía de patentes: Solicitud de patente japonesa abierta a inspección pública con N.º de publicación 2002-345454

Referencia 2 de la bibliografía de patentes: Documento WO 2006/107257

Referencia 3 de la bibliografía de patentes: Documento WO 2006/107258

40 Referencia 4 de la bibliografía de patentes: Documento WO 2008/039138

Referencia 5 de la bibliografía de patentes: Documento WO 2008/039139

Referencia 6 de la bibliografía de patentes: Documento WO 2009/120140

Referencia 7 de la bibliografía de patentes: Solicitud de patente de los EE. UU. abierta a inspección pública con N.º de publicación 2010/0210633

45 Bibliografía no relacionada con patentes

Referencia 1 de la bibliografía no relacionada con patentes: Umehara et al., "Fractalkine in Vascular Biology", Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 24, págs. 34-40, 2004

Referencia 2 de la bibliografía no relacionada con patentes: Kobayashi et al., "Exclusive Increase of CX3CR1_CD28_CD4₊ T Cells in Inflammatory Bowel Disease and Their Recruitment as Intraepithelial Lymphocytes", *Inflamm. Bowel. Dis.*, Vol. 13, págs. 837-846, 2007

Compendio de la invención

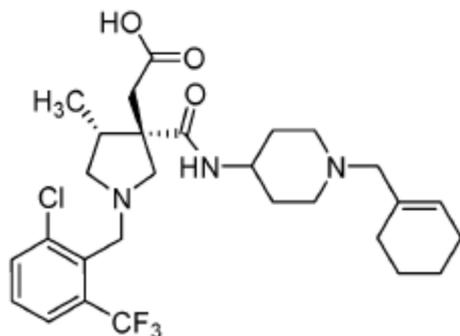
5 Problema técnico

Un objeto de la presente invención es descubrir un compuesto con actividad inhibitoria en una vía de fractalcina-CX3CR1.

Además, debido a que las propiedades físicas de un compuesto, una sal de este o sus cristales y sus formas amorfas empleados como producto farmacéutico afectan en gran medida a la biodisponibilidad de un fármaco, la pureza de un principio activo farmacéutico, la prescripción de un preparado y aspectos similares, es necesario estudiar durante el desarrollo de productos farmacéuticos qué forma del compuesto mencionado anteriormente, una sal, un cristal o una forma amorfa, es más idónea como producto farmacéutico. Es decir, otro objeto de la presente invención es descubrir una sal de un compuesto, sus cristales y sus formas amorfas, que tengan utilidad como principios activos farmacéuticos.

15 Solución al problema

Los presentes inventores han descubierto que el compuesto (1) representado por la siguiente fórmula, a saber, el ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético tiene una actividad inhibitoria en una vía de fractalcina-CX3CR1. Además, los presentes inventores han aislado varios tipos de sales de ácidos carboxílicos orgánicos del compuesto (1), sus cristales y sus formas amorfas, y han llegado a comprender las propiedades físicas o formas de estas y han realizado varios estudios sobre tales parámetros, y de este modo los presentes inventores han descubierto una sal de un ácido carboxílico orgánico, un cristal de esta y una forma amorfa de esta que tienen utilidad como principio activo farmacéutico, lo cual completa la presente invención.



25 Específicamente, la presente invención se refiere a:

- 1) una sal de un ácido carboxílico orgánico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético;
- 2) la sal de acuerdo con el punto 1) anterior, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-mandélico;
- 30 3) la sal de acuerdo con el punto 1) anterior, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-láctico;
- 4) un cristal de la sal de un ácido carboxílico orgánico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético;
- 35 5) el cristal de acuerdo con el punto 4) anterior, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-mandélico;
- 6) el cristal de acuerdo con el punto 4) anterior, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-láctico;
- 7) el cristal de acuerdo con el punto 5) anterior, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 7.2° en difracción de rayos X en polvo;
- 40 8) el cristal de acuerdo con el punto 7) anterior, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 14.4° y 15.7° en difracción de rayos X en polvo;

9) el cristal de acuerdo con el punto 8) anterior, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 10.3° y 23.5° en difracción de rayos X en polvo;

10) el cristal de acuerdo con el punto 9) anterior, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 12.9° , 14.9° , 17.2° , 20.1° y 24.7° en difracción de rayos X en polvo;

5 11) el cristal de acuerdo con el punto 5) anterior, que se caracteriza por tener picos en desplazamientos químicos (ppm) de 14.1, 52.9, 75.2, 144.7 y 174.0 en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C ;

12) el cristal (A) de acuerdo con el punto 6) anterior, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 6.9° en difracción de rayos X en polvo;

10 13) el cristal (A) de acuerdo con el punto 12) anterior, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 15.7° y 17.1° en difracción de rayos X en polvo;

14) el cristal (B) de acuerdo con el punto 6) anterior, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 6.8° en difracción de rayos X en polvo; y

15) el cristal (B) de acuerdo con el punto 14) anterior, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 13.7° y 16.8° en difracción de rayos X en polvo.

15 Efectos ventajosos de la invención

De acuerdo con la presente invención, se puede proporcionar una sal de un ácido carboxílico orgánico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético que es útil como principio activo farmacéutico y un cristal de esta.

Breve descripción de los dibujos

20 [Figura 1] La Figura 1 muestra un espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C de un cristal de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético.

25 [Figura 2] La Figura 2 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético. La abscisa indica el ángulo de difracción 2θ y la ordenada indica la intensidad del pico.

30 [Figura 3] La Figura 3 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de una forma amorfa de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético. La abscisa indica el ángulo de difracción 2θ y la ordenada indica la intensidad del pico.

[Figura 4] La Figura 4 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal (A) de un solvato de una sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético. La abscisa indica el ángulo de difracción 2θ y la ordenada indica la intensidad del pico.

35 [Figura 5] La Figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de un cristal (B) de un solvato de una sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético. La abscisa indica el ángulo de difracción 2θ y la ordenada indica la intensidad del pico.

40 [Figura 6] La Figura 6 es una gráfica que muestra el efecto de supresión-reducción de peso del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético en un modelo de colitis por transferencia de linfocitos T. La abscisa indica los días transcurridos, siempre que el día en el que se administraron células positivas para CD4 y muy positivas para CD45RB (5×10^5 células/ratón), extraídas del bazo de un ratón BALB/c, por vía intravenosa a un ratón SCID se definiera como el día 0.

Descripción de las realizaciones

45 Se describirán en detalle una sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) de la presente invención, un cristal de esta, una forma amorfa de esta y métodos para su producción.

El compuesto (1), a saber, el ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético, se puede producir sobre la base de la descripción del Ejemplo de producción 1 que se menciona más adelante.

En la presente descripción, la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable, y es una sal que comprende un ácido carboxílico orgánico seleccionado del grupo constituido por el ácido acético, ácido succínico, ácido glutámico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido málico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido malónico, ácido L-láctico, ácido L-mandélico y similares, y el compuesto (1). El término "sal" se utiliza en la presente para hacer referencia a un compuesto generado como resultado de una reacción del compuesto (1) con un ácido carboxílico orgánico que tiene un número de equivalentes posible desde un punto de vista químico, donde el compuesto consiste en una parte positiva de bases en las moléculas del compuesto (1) y una parte negativa del ácido carboxílico orgánico.

Los ejemplos de la sal de un ácido carboxílico orgánico incluyen una sal del ácido acético, sal del ácido succínico, sal del ácido glutámico, sal del ácido benzoico, sal del ácido cinámico, sal del ácido málico, sal del ácido oxálico, sal del ácido glicólico, sal del ácido maleico, sal del ácido tártrico, sal del ácido diacetiltátrico, sal del ácido fumárico, sal del ácido cítrico, sal del ácido malónico, sal del ácido L-láctico y sal del ácido L-mandélico. Los ejemplos preferidos de la sal de un ácido carboxílico orgánico incluyen una sal del ácido oxálico, sal del ácido glicólico, sal del ácido L-láctico y sal del ácido L-mandélico, y los ejemplos más preferidos incluyen una sal del ácido L-láctico y una sal del ácido L-mandélico.

La sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) también puede ser un solvato. En la presente descripción, el solvato de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) se refiere a un sólido formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con moléculas de disolvente. Los ejemplos del solvato incluyen: un solvato formado por la sal un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con un disolvente de tipo cetona tal como acetona, cetona etil metílica o ciclohexanona; un solvato formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con un disolvente de tipo éster tal como acetato de etilo o acetato de metilo; un solvato formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con un disolvente de tipo éter tal como 1,2-dimetoxietano o éter tert-butil metílico; un solvato formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con un disolvente de tipo alcohol tal como metanol, etanol, 1-propanol o isopropanol; un solvato formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con un disolvente polar tal como 1-metil-2-pirrolidona, N,N-dimetilformamida o sulfóxido de dimetilo; y un hidrato formado por la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) junto con agua.

La sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) o un solvato de esta puede ser un cristal o una forma amorfa. Los ejemplos específicos preferidos de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) o un solvato de esta incluyen una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) y un solvato de una sal del ácido L-láctico del compuesto (1).

Si se describen específicamente además otras formas preferidas de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) o un solvato de esta, los ejemplos específicos preferidos incluyen los siguientes cristales.

Los ejemplos específicos preferidos de estos incluyen:

(a) un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) caracterizado por que tiene picos de difracción en difracción de rayos X en polvo [ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$)] a unos ángulos de, por ejemplo,

- (1) 7.2° ,
- (2) 10.3° ,
- (3) 12.9° ,
- (4) 14.4° ,
- (5) 14.9° ,
- (6) 15.7° ,
- (7) 17.2° ,
- (8) 20.1° ,
- (9) 23.5° y
- (10) 24.7°

donde los picos de difracción a los ángulos de 7.2° , 10.3° , 14.4° , 15.7° y 23.5° , y entre otros, los picos de difracción a los ángulos de 7.2° , 14.4° y 15.7° , y en particular, el pico de difracción al ángulo de 7.2° es un pico característico del presente cristal, o

un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) caracterizado por tener picos en desplazamientos químicos (ppm) de 14.1, 52.9, 75.2, 144.7 y 174.0 en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C ;

(b) un cristal (A) de un solvato de la sal del ácido L-láctico del compuesto (1) caracterizado por que tiene picos de difracción en difracción de rayos X en polvo [ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$)] a unos ángulos de, por ejemplo,

- (1) 6.9° ,
- (2) 9.2° ,

- 5 (3) 10.0°,
 (4) 10.8°,
 (5) 13.8°,
 (6) 14.8°,
 (7) 15.7°,
 (8) 17.1°,
 (9) 20.5° y
 (10) 23.8°

10 donde los picos de difracción a los ángulos de 6.9°, 14.8°, 15.7°, 17.1° y 23.8°, y entre otros, los picos de difracción a los ángulos de 6.9°, 15.7° y 17.1°, y en particular, el pico de difracción al ángulo de 6.9° es un pico característico del presente cristal; y

(c) un cristal (B) de un solvato de la sal del ácido L-láctico del compuesto (1) caracterizado por que tiene picos de difracción en difracción de rayos X en polvo [ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$)] a unos ángulos de, por ejemplo,

- 15 (1) 6.8°,
 (2) 10.8°,
 (3) 13.7°,
 (4) 15.1°,
 (5) 16.8°,
 20 (6) 18.1°,
 (7) 18.9°,
 (8) 23.5°,
 (9) 24.7° y
 (10) 25.6°

25 donde los picos de difracción a los ángulos de 6.8°, 13.7°, 16.8°, 18.1° y 18.9°, y entre otros, los picos de difracción a los ángulos de 6.8°, 13.7° y 16.8°, y en particular, el pico de difracción al ángulo de 6.8° es un pico característico del presente cristal.

Los picos característicos descritos anteriormente en difracción de rayos X en polvo son únicos para cada uno de entre el cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1), el cristal del solvato (A) de una sal del ácido L-láctico del compuesto (1) y el cristal del solvato (B) de una sal del ácido L-láctico del compuesto (1).

30 En general, en lo que respecta al ángulo de difracción (2θ) en difracción de rayos X en polvo, debido a que se pueden generar errores en el rango de $\pm 0.2^\circ$, es necesario tener en cuenta que el valor de los ángulos de difracción descritos anteriormente incluye valores numéricos en el rango de aproximadamente $\pm 0.2^\circ$. Por consiguiente, en la presente invención no se incluye solamente un cristal en el que el ángulo de difracción del pico en difracción de rayos X en polvo sea exactamente idéntico al del cristal de la presente invención, sino también un cristal en el que el ángulo de difracción del pico sea idéntico al del cristal de la presente invención con un error de aproximadamente $\pm 0.2^\circ$. Por tanto, por ejemplo, la frase "que tiene un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 7.2° " se utiliza en la presente descripción con el significado de "que tiene un pico de difracción a un ángulo de difracción (2θ) comprendido entre 7.0° y 7.4° ". El mismo principio se aplica a otros casos referentes al ángulo de difracción (2θ) en difracción de rayos X en polvo.

40 Los picos característicos descritos anteriormente en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C son particulares para el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C del cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1).

45 La descripción "que tiene picos en desplazamientos químicos (ppm) de 14.1, 52.9, 75.2, 144.7 y 174.0" se utiliza en la presente descripción con el significado de "se mide un espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C en condiciones de medición habituales o en condiciones sustancialmente idénticas a las descritas en la presente descripción y, como resultado, el espectro exhibe picos sustancialmente equivalentes a los que tienen desplazamientos químicos (ppm) de 14.1, 52.9, 75.2, 144.7 y 174.0".

50 Para determinar si el espectro exhibe o no "picos sustancialmente equivalentes", debido a que, en general, se pueden generar errores en el rango de ± 0.5 ppm en lo que respecta a los desplazamientos químicos (ppm) en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C , es necesario tener en cuenta que el valor de los desplazamientos químicos descritos anteriormente incluye valores numéricos en el rango de aproximadamente ± 0.5 ppm. Por consiguiente, en la presente invención se incluye un cristal en el que el desplazamiento químico en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C sea exactamente idéntico al del cristal de la presente invención, sino también un cristal en el que el desplazamiento químico sea idéntico al del cristal de la presente invención con un error de aproximadamente ± 0.5 ppm. Por tanto, por ejemplo, la frase "que tiene un pico en un desplazamiento químico (ppm) de 14.1" se utiliza en la presente descripción con el significado de "que tiene un pico en un desplazamiento químico

(ppm) comprendido entre 13.6 y 14.6". El mismo principio se aplica a otros casos referentes al desplazamiento químico en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C .

5 A continuación, se describirán detalladamente métodos para producir una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1), un cristal de esta, una forma amorfa de esta y un solvato de esta. Cabe destacar que también se pueden producir otras sales de ácidos carboxílicos orgánicos del compuesto (1), sus cristales y sus formas amorfas o sus solvatos de acuerdo con los métodos que se describen detalladamente a continuación o métodos equivalentes a estos. En particular, al producir un solvato de una sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1), es necesario añadir un disolvente para obtener el solvato deseado.

[Método para producir una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)]

10 Se puede obtener una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) mediante un método convencional para producir una sal de un ácido carboxílico orgánico. Específicamente, se puede producir una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1), por ejemplo, como se indica a continuación: se añade directamente el ácido L-mandélico que ha sido disuelto previamente en un disolvente al compuesto (1); o el compuesto (1) se disuelve en un disolvente, según proceda, con calentamiento, y a continuación se añade el ácido L-mandélico que ha sido disuelto previamente en un disolvente a la solución obtenida, después se agita la mezcla obtenida a temperatura ambiente o mientras se enfría en un baño de enfriamiento durante un periodo de aproximadamente varios minutos a 50-60 horas, o después la mezcla se deja reposar a temperatura ambiente o mientras se enfría en un baño de enfriamiento durante un periodo de aproximadamente varios minutos a 50-60 horas. Como alternativa, también se puede producir una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) añadiendo directamente un disolvente al compuesto (1) y al ácido L-mandélico, y después disolviéndolos en el disolvente. Mediante estos métodos de producción, se puede obtener una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) en forma de un cristal o una forma amorfa.

25 Los ejemplos del disolvente utilizado en la presente incluyen un disolvente y un disolvente mixto constituido por dos o más disolventes, que se seleccionan del grupo constituido por: disolventes de tipo cetona alquílica tales como acetona o cetona etil metílica; acetato de etilo; hexano; acetonitrilo; disolventes de tipo éter tales como éter, éter tert-butil metílico o 1,2-dimetoxietano; disolventes de tipo alcohol tales como etanol, 1-propanol, isopropanol o alcohol t-butílico; y agua. Los ejemplos más preferidos del disolvente incluyen acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), etanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:12) e isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 1.5:8 y 1.5:13.5).

30 Es más, se puede seleccionar la cantidad de un disolvente empleado según proceda, siempre que la cantidad de un disolvente en el que se disuelvan el compuesto (1) y el ácido L-mandélico por calentamiento se determine como un límite inferior, y que la cantidad de un disolvente en el que el rendimiento de las sales no se reduzca significativamente se determine como un límite superior. La relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es preferentemente, por ejemplo, de 5 a 100 veces más (v/p); y cuando se utiliza acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), etanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:12), isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 1.5:8 y 1.5:13.5) o similar como disolvente, la relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es más preferentemente, por ejemplo, de 5 a 20 veces más (v/p).

40 La temperatura, a la que el compuesto (1) y el ácido L-mandélico se disuelven en un disolvente, se puede determinar, según proceda, dependiendo del disolvente empleado. La temperatura está comprendida preferentemente, por ejemplo, entre la temperatura de reflujo del disolvente empleado hasta y 15 °C, y más preferentemente, por ejemplo, entre 15 °C y 100 °C.

45 Si se modifica la velocidad de enfriamiento aplicada durante la cristalización, se pueden generar cristales con formas diferentes (polimorfismos). Por tanto, teniendo en cuenta su influencia en la calidad, el tamaño de grano y propiedades similares de un cristal, el enfriamiento se lleva a cabo convenientemente, ajustando la velocidad de enfriamiento, según proceda; y el enfriamiento se puede llevar a cabo preferentemente a una velocidad de enfriamiento comprendida, por ejemplo, entre 5 °C y 40 °C/hora, y más preferentemente a una velocidad de enfriamiento comprendida, por ejemplo, entre 15 °C y 25 °C/hora. Además, la temperatura de cristalización final se puede determinar, según proceda, dependiendo del rendimiento, la calidad y propiedades similares de un cristal, y preferentemente está comprendida, por ejemplo, entre -25 °C y 30 °C.

Durante la cristalización de los cristales, se puede añadir o no un germen cristalino (un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)). La temperatura, a la cual se añade dicho germen cristalino, no está particularmente limitada y está comprendida preferentemente, por ejemplo, entre 0 °C y 60 °C.

55 El cristal cristalizado se separa mediante una operación de filtración habitual y el cristal filtrado se lava posteriormente con un disolvente, según proceda, y el cristal resultante además se seca, para obtener así un cristal de interés. Los ejemplos preferidos del disolvente empleado en el lavado de un cristal incluyen acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, éter tert-butil metílico, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1:9) e isopropanol/éter tert-butil metílico (en

una proporción en volumen de 1:10); y los ejemplos más preferidos del disolvente incluyen acetato de etilo, éter tert-butil metílico, isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:10), acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1) y acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1:9).

- 5 A continuación, se describirán más detalladamente un método para producir un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) y un método para secar el cristal. Cabe destacar que también se pueden producir y secar cristales de otras sales de ácidos carboxílicos orgánicos del compuesto (1) o cristales de sus solvatos de acuerdo con los métodos que se describen detalladamente a continuación o métodos equivalentes a estos.

[Método para cristalizar un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)]

- 10 Un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) se puede cristalizar como se indica a continuación: tras producir el compuesto (1) de acuerdo con el Ejemplo de producción 1, se añade directamente el ácido L-mandélico que ha sido disuelto previamente en un disolvente al compuesto (1); o el compuesto (1) se disuelve en un disolvente, según proceda, con calentamiento, y a continuación se añade el ácido L-mandélico que ha sido disuelto previamente en un disolvente a la solución obtenida, después se agita la mezcla a temperatura ambiente o mientras se enfría en un baño de enfriamiento durante un periodo de aproximadamente varios minutos a 50-60 horas, o después la mezcla se deja reposar a temperatura ambiente o mientras se enfría en un baño de enfriamiento durante un periodo de aproximadamente varios minutos a 50-60 horas, de acuerdo con el [método para producir una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)] descrito anteriormente. Como alternativa, también se puede producir un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) de este tipo añadiendo directamente un disolvente al compuesto (1) y al ácido L-mandélico, y disolviéndolos en el disolvente. Como alternativa, una vez que se obtiene la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1), esta se disuelve a continuación en un disolvente, para que de este modo se pueda cristalizar un cristal.

A continuación se describirá detalladamente un método para recristalizar una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1).

- 25 La sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) empleada en la cristalización puede ser una forma amorfa o un cristal (incluido un cristal que comprende varios polimorfismos cristalinos) y también puede ser una mezcla de estas.

- Los ejemplos preferidos del disolvente empleado en la cristalización incluyen un disolvente y un disolvente mixto constituido por dos o más disolvente, que se seleccionan del grupo constituido por acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetato de isobutilo, hexano, heptano, acetonitrilo, éter tert-butil metílico, tetrahidrofurano, etanol, 1-propanol, isopropanol, sulfóxido de dimetilo y agua; y los ejemplos más preferidos de estos incluyen acetato de etilo, sulfóxido de dimetilo/acetato de isopropilo/heptano (en una proporción en volumen de 3:2:10), sulfóxido de dimetilo/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen comprendida entre 1:8 y 1:16), sulfóxido de dimetilo/isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 3:3:20 y 3:2:25), sulfóxido de dimetilo/acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1.70:3:25), sulfóxido de dimetilo/acetona/heptano (en una proporción en volumen de 1.65:3:25) y sulfóxido de dimetilo/acetato de etilo/heptano (en una proporción en volumen de 2.0:10:10).

- Es más, se puede seleccionar la cantidad de un disolvente empleado según proceda, siempre que la cantidad de un disolvente en el que se disuelva la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) por calentamiento se determine como un límite inferior, y que la cantidad de un disolvente en el que el rendimiento de los cristales no se reduzca significativamente se determine como un límite superior.

- La relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es preferentemente, por ejemplo, de 5 a 100 veces más (v/p); y cuando se utiliza acetato de etilo, sulfóxido de dimetilo/acetato de isopropilo/heptano (en una proporción en volumen de 3:2:10), sulfóxido de dimetilo/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen comprendida entre 1:8 y 1:16), sulfóxido de dimetilo/isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 3:3:20 y 3:2:25), sulfóxido de dimetilo/acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1.70:3:25), sulfóxido de dimetilo/acetona/heptano (en una proporción en volumen de 1.65:3:25), sulfóxido de dimetilo/acetato de etilo/heptano (en una proporción en volumen de 2.0:10:10) o similar como disolvente, la relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es más preferentemente, por ejemplo, de 15 a 40 veces más (v/p).

- La temperatura a la que se calienta y se disuelve una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) en un disolvente se puede determinar, según proceda, dependiendo del disolvente empleado. La temperatura está comprendida preferentemente, por ejemplo, entre 15 °C y la temperatura de reflujo de un disolvente empleado para la recristalización, y más preferentemente, por ejemplo, entre 40 °C y 100 °C. Si se modifica la velocidad de enfriamiento aplicada durante la cristalización, se pueden generar cristales con formas diferentes (polimorfismos). Por tanto, teniendo en cuenta su influencia en la calidad, el tamaño de grano y propiedades similares de un cristal, el enfriamiento se lleva a cabo convenientemente, ajustando la velocidad de enfriamiento, según proceda; y el enfriamiento se puede llevar a cabo preferentemente a una velocidad de enfriamiento comprendida, por ejemplo, entre 5 °C y 40 °C/hora, y más preferentemente a una velocidad de enfriamiento comprendida, por ejemplo, entre 15

°C y 25 °C/hora. Además, la temperatura de cristalización final se puede determinar, según proceda, dependiendo del rendimiento, la calidad y propiedades similares de un cristal, y preferentemente está comprendida, por ejemplo, entre -25 °C y 30 °C.

5 Durante la cristalización de los cristales, se puede añadir o no un germen cristalino (un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)). La temperatura, a la que se añade un germen cristalino de este tipo, no está limitada particularmente y es preferentemente, por ejemplo, menor o igual a 60 °C, más preferentemente, por ejemplo, está comprendida entre 0 °C y 60 °C, y más preferentemente, por ejemplo, entre 15 °C y 60 °C.

10 El cristal cristalizado se separa mediante una operación de filtración habitual y el cristal filtrado se lava posteriormente con un disolvente, según proceda, y el cristal resultante además se seca, para obtener así un cristal de interés. Los ejemplos preferidos del disolvente empleado en el lavado de un cristal incluyen acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, éter tert-butil metílico, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:10) y acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen comprendida entre 1:4 y 1:9); y los ejemplos más preferidos de este incluyen acetato de etilo, éter tert-butil metílico, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:10) y acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1:9).

[Método para secar un cristal de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)]

20 Tal como se ha descrito anteriormente, el cristal separado mediante una operación de filtración se puede secar, según proceda, dejándolo reposar al aire o calentándolo. El tiempo requerido para la operación de secado es el tiempo requerido hasta que la cantidad del disolvente residual sea inferior a una cantidad predeterminada y se puede determinar, según proceda, dependiendo de la cantidad de un producto, el dispositivo de secado, la temperatura de secado y parámetros similares. Es más, este secado también se puede llevar a cabo con ventilación o a presión reducida. El grado de presión reducida se puede determinar, según proceda, dependiendo de la cantidad de un producto, el dispositivo de secado, la temperatura de secado y parámetros similares. Una vez finalizada la operación de secado, el cristal obtenido se puede dejar reposar al aire, según proceda.

30 A continuación, se describirán más detalladamente un método para producir una forma amorfa de la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) y un método para secar la forma amorfa. Cabe destacar que también se pueden producir y secar formas amorfas de otras sales de ácidos carboxílicos orgánicos del compuesto (1) o formas amorfas de sus solvatos de acuerdo con los métodos que se describen detalladamente a continuación o métodos equivalentes a estos.

Método para producir una forma amorfa de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)]

35 Se puede obtener una forma amorfa de la sal del compuesto (1) y el ácido L-mandélico mediante un método convencional para la producción de una forma amorfa. Específicamente, la forma amorfa se puede producir como se indica a continuación: el compuesto (1) producido en el Ejemplo de producción 1 se disuelve en un disolvente, según proceda, con calentamiento y a continuación se añade el ácido L-mandélico, después la mezcla obtenida se agita o deja reposar durante un periodo de aproximadamente varios minutos a 50-60 horas y posteriormente se elimina el disolvente por destilación a presión reducida. Como alternativa, la forma amorfa también se puede producir directamente añadiendo un disolvente al compuesto (1) y el ácido L-mandélico, a continuación disolviéndolos en el disolvente y después eliminando el disolvente por destilación a presión reducida. Como alternativa, la forma amorfa también se puede producir liofilizando la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) obtenida de este modo.

45 Los ejemplos del disolvente utilizado en la presente incluyen un disolvente y un disolvente mixto constituido por dos o más disolventes, que se seleccionan del grupo constituido por: disolventes de tipo cetona alquímica tales como acetona o cetona etil metílica; acetato de etilo; hexano; acetonitrilo; disolventes de tipo éter tales como éter, éter tert-butil metílico o 1,2-dimetoxietano; disolventes de tipo alcohol tales como etanol, 1-propanol, isopropanol o alcohol t-butílico; y agua. Los ejemplos más preferidos del disolvente incluyen acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), etanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:12) e isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 1.5:8 y 1.5:13.5).

50 Es más, se puede seleccionar la cantidad de un disolvente empleado según proceda, siempre que la cantidad de un disolvente en el que se disuelvan el compuesto (1) y el ácido L-mandélico por calentamiento se determine como un límite inferior, y que la cantidad de un disolvente en el que el rendimiento de las sales no se reduzca significativamente se determine como un límite superior. La relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es preferentemente, por ejemplo, de 5 a 100 veces más (v/p); y cuando se utiliza acetona, cetona etil metílica, acetato de etilo, acetona/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1), etanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:12), isopropanol/éter tert-butil metílico (en una proporción en volumen comprendida entre 1.5:8 y 1.5:13.5) o similar como disolvente, la relación entre el volumen del disolvente y el peso del compuesto (1) es más preferentemente, por ejemplo, de 5 a 20 veces más (v/p).

La temperatura a la que se disuelven el compuesto (1) y el ácido L-mandélico en un disolvente se puede seleccionar, según proceda, entre temperaturas a las que se disuelven el compuesto (1) y el ácido carboxílico orgánico en un disolvente, dependiendo del disolvente empleado. La temperatura está comprendida preferentemente, por ejemplo, entre 15 °C y la temperatura de reflujo del disolvente empleado, y más preferentemente, por ejemplo, entre 15 °C y 100 °C.

Una forma amorfa de la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) se puede obtener eliminando el disolvente por destilación a presión reducida a partir de la solución obtenida de este modo. Es más, se puede obtener una forma amorfa de la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) cuya solubilidad es excelente liofilizando la sal del ácido L-mandélico del compuesto (1) obtenida, utilizando un disolvente o un disolvente mixto constituido por dos o más disolventes seleccionados del grupo constituido por disolventes de tipo alcohol tales como etanol, 1-propanol, isopropanol o alcohol t-butílico, disolventes de tipo éter tales como dioxano, disolventes polares tales como sulfóxido de dimetilo y agua, o preferentemente utilizando, por ejemplo, agua, alcohol t-butílico, dioxano o sulfóxido de dimetilo.

[Método para secar una forma amorfa de una sal del ácido L-mandélico del compuesto (1)]

La forma amorfa obtenida de este modo se puede secar, según proceda, dejándola reposar al aire o calentándola. El tiempo requerido para la operación de secado es el tiempo requerido hasta que la cantidad del disolvente residual sea inferior a una cantidad predeterminada y se puede determinar, según proceda, dependiendo de la cantidad de un producto, el dispositivo de secado, la temperatura de secado y parámetros similares. Es más, este secado también se puede llevar a cabo con ventilación o a presión reducida. El grado de presión reducida se puede determinar, según proceda, dependiendo de la cantidad de un producto, el dispositivo de secado, la temperatura de secado y parámetros similares. Una vez finalizada la operación de secado, la forma amorfa obtenida se puede dejar reposar al aire, según proceda.

La sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) tiene una acción inhibitoria en una vía de fractalcina-CX3CR1 y es útil como principio activo de agentes terapéuticos para enfermedades intestinales inflamatorias tales como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

Cuando la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) se utiliza como agente farmacéutico, se puede administrar por vía oral o parenteral, por ejemplo, como agente terapéutico para enfermedades intestinales inflamatorias tales como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn, que son provocadas por la fractalcina-CX3CR1. La dosis del agente farmacéutico de la presente invención es generalmente diferente dependiendo de los síntomas, la edad, el sexo, el peso corporal, etc., y puede ser una cantidad suficiente para exhibir un efecto deseado. Por ejemplo, cuando el sujeto es un adulto, el agente farmacéutico se administra en una dosis de aproximadamente 0.1 a 5000 mg (preferentemente de 0.5 a 1000 mg y más preferentemente de 1 a 600 mg) al día, durante uno o varios días, una vez o dividida en 2-6 administraciones al día.

La sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) se puede formular mediante métodos convencionales, y los ejemplos de formas farmacéuticas incluyen formulaciones orales (tales como comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas y jarabes), inyecciones (para la administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea y administración intraperitoneal) y formulaciones externas (tales como formulaciones de absorción transdérmica (tales como pomadas y parches), preparados oftálmicos, preparados nasales y supositorios).

Cuando se produce un preparado sólido para la administración oral, se añaden un excipiente, un aglutinante, un desintegrante, un lubricante, un agente colorante y agentes similares, según proceda, a la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) y se puede producir un comprimido, un gránulo, un agente en forma de polvo o una cápsula de acuerdo con un método convencional. Es más, un comprimido, un gránulo, un agente en forma de polvo, una cápsula o un agente similar de este tipo se puede someter a un recubrimiento pelicular, si procede.

Los ejemplos del excipiente incluyen lactosa, almidón de maíz y celulosa cristalina; los ejemplos del aglutinante incluyen hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa; los ejemplos del desintegrante incluyen carboximetilcelulosa cálcica y croscarmelosa sódica; los ejemplos del lubricante incluyen estearato de magnesio y estearato de calcio; los ejemplos del agente colorante incluyen óxido de titanio; y los ejemplos del agente de recubrimiento peliculígeno incluyen hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa, pero obviamente los ejemplos de los aditivos no se limitan a estos.

Un preparado sólido, tal como un comprimido, una cápsula, un gránulo o un agente en forma de polvo, puede comprender una cantidad de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1) comprendida generalmente, por ejemplo, entre un 0.001% y un 99.5% en peso, y preferentemente entre un 0.001% y un 90% en peso.

Cuando se fabrican inyecciones (para la administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea y administración intraperitoneal), estas se pueden fabricar mediante la adición de reguladores del pH, tampones, agentes de suspensión, agentes solubilizantes, antioxidantes, conservantes (antisépticos), agentes reguladores de la tonicidad o agentes similares a la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1), según proceda, y el tratamiento por métodos convencionales. Las formulaciones liofilizadas que se han de disolver antes

de usarlas también se pueden preparar mediante liofilización. Estas inyecciones se pueden administrar por vía intravenosa, subcutánea e intramuscular, por ejemplo.

Los ejemplos de reguladores del pH y tampones incluyen ácidos orgánicos o inorgánicos y/o sales de estos; los ejemplos de agentes de suspensión incluyen metilcelulosa, polisorbato 80 y carboximetilcelulosa sódica; los ejemplos de agentes solubilizantes incluyen polisorbato 80 y monolaurato de sorbitán polioxietileno; los ejemplos de antioxidantes incluyen α -tocoferol; los ejemplos de conservantes incluyen para-hidroxibenzoato de metilo y para-hidroxibenzoato de etilo; y los ejemplos de agentes reguladores de la tonicidad incluyen glucosa, cloruro de sodio y manitol; sin embargo, los excipientes no se limitan a estos ejemplos, obviamente.

Estas inyecciones pueden contener normalmente entre un 0.000001 y un 99.5% p, preferentemente entre un 0.00001 y un 90% p o un porcentaje similar de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1).

Cuando se produce un agente externo, se añade un material base a la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1), según proceda, por ejemplo, se añaden el conservante, estabilizante, regulador del pH, antioxidante y agente colorante descritos anteriormente, y posteriormente, de acuerdo con un método convencional, por ejemplo, se pueden producir un preparado de absorción percutánea (una pomada, un parche, etc.), un colirio, unas gotas nasales, un supositorio y formas similares.

Como materiales base empleados, se pueden utilizar varios tipos de materias primas que se utilizan habitualmente en productos farmacéuticos, productos parafarmacéuticos, productos cosméticos, etc. Específicamente, los ejemplos del material base incluyen materias primas tales como aceites animales y vegetales, aceite mineral, aceite de tipo éster, ceras, emulsionante, alcoholes superiores, ácidos grasos, aceites silícónicos, surfactante, fosfolípidos, alcoholes, alcoholes polihídricos, polímeros hidrosolubles, minerales arcillosos y agua purificada.

Estas formulaciones externas pueden contener normalmente entre un 0.000001 y un 99.5% p, preferentemente entre un 0.00001 y un 90% p o un porcentaje similar de la sal de un ácido carboxílico orgánico del compuesto (1).

Ejemplo

A continuación, la presente invención se describirá detalladamente con los ejemplos de producción y los ejemplos. Sin embargo, no se pretende que la presente invención se limite a estos ejemplos.

Ejemplo de producción 1

Preparación del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Ejemplo de producción 1a

(2E)-But-2-enoato de bencilo

Se disolvió ácido crotónico (70 g, 812 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (467 mL), que se enfrió en un baño de hielo en atmósfera de nitrógeno, y se añadió carbonato de potasio (61.6 g, 447 mmol). Se añadió bromuro de bencilo (91.7 mL, 772 mmol) gota a gota a la mezcla de reacción en 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción, la cual se filtró a través de Celite. La solución de acetato de etilo filtrada se lavó con agua, una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (142 g, rendimiento: 99.4%).

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.87-1.90 (3H, m), 5.17 (2H, s), 5.87-5.92 (1H, m), 6.98-7.07 (1H, m), 7.26-7.39 (5H, m).

Ejemplo de producción 1b

(3RS,4SR)-1-Bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo

El (2E)-but-2-enoato de bencilo obtenido en el Ejemplo de producción 1a (20.5 g, 116 mmol) se disolvió en diclorometano (5 mL) y la mezcla se enfrió en un baño de hielo con agitación. Se añadió ácido trifluoroacético (257 μL , 3.47 mmol) y se añadió *N*-(metoximetil)-*N*-(trimetilsililmetil)bencilamina (33.1 g, 139 mmol) gota a gota al líquido de reacción en 15 minutos de tal modo que la temperatura interna no excediera 62 °C, mientras se lavaba con diclorometano (25 mL). El líquido de reacción se dejó reposar hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. El líquido de reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para obtener el compuesto del título (38 g).

$^1\text{H-RMN}$ (400MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.14 (3H, d, $J=6\text{Hz}$), 2.18-2.22 (1H, m), 2.48-2.65 (2H, m), 2.75-2.85 (2H, m), 2.90-2.94 (1H, m), 3.54-3.66 (2H, m), 5.13 (2H, s), 7.20-7.40 (10H, m).

Ejemplo de producción 1c

(3RS,4SR)-1-Bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metil

- El (3RS,4SR)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenido en el Ejemplo de producción 1b (30 g, 97.4 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (300 mL) y se enfrió hasta -70 °C con agitación en atmósfera de nitrógeno. Se añadió una solución 1.11 M de diisopropilamida de litio/*n*-hexano-tetrahidrofurano (105 mL, 116 mmol) gota a gota en 20 minutos de tal modo que la temperatura interna no excediera -64.3 °C. La mezcla se agitó a -70 °C durante 1 hora, y a continuación se añadieron tetrahidrofurano (30 mL) y bromoacetato de *tert*-butilo (26.6 g, 136 mmol) gota a gota en 10 minutos de tal modo que la temperatura interna no excediera -60 °C. La mezcla de reacción se agitó a -70 °C durante una hora más y a continuación se añadió una solución acuosa saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción. Justo después, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se añadió acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera y una solución acuosa de ácido clorhídrico 5 N, y después se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano). El residuo se purificó de nuevo mediante cromatografía en columna de gel de sílice de tipo NH (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo = 98/2) para obtener el compuesto del título (6 g, rendimiento: 14.5%).
- ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.86 (3H, d, J=6Hz), 1.34 (9H, s), 2.05-2.15 (2H, m), 2.53 (1H, d, J=17Hz), 2.91-3.00 (3H, m), 3.28 (1H, d, J=10Hz), 3.59-3.72 (2H, m), 5.08-5.16 (2H, m), 7.19-7.39 (10H, m).

Se obtuvieron 18.1 g del compuesto del título mediante el mismo método que se ha descrito anteriormente.

Ejemplo de producción 1d

(3RS,4SR)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo

- El (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenido de una forma similar al Ejemplo de producción 1c (11.7 g, 27.6 mmol) se disolvió en diclorometano (117 mL) y se añadió cloroformiato de bencilo (23.7 mL, 166 mmol) gota a gota al líquido de reacción en 20 minutos de tal modo que la temperatura interna no excediera 22 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y después el disolvente se eliminó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice de tipo NH (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para obtener el compuesto del título (9.1 g, rendimiento: 70.5%).
- ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.84-0.90 (3H, m), 1.32-1.46 (9H, m), 2.09-2.16 (1H, m), 2.21-2.27 (1H, m), 3.04-3.14 (2H, m), 3.33-3.38 (1H, m), 3.60-3.68 (1H, m), 4.32 (1H, t, J=12 Hz), 5.07-5.20 (4H, m), 7.26-7.36 (10H, m).

Análisis por HPLC:

- (Condiciones del análisis 1) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), flujo: 1 mL/min, detección: UV (210 nm)
- (Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones de análisis 1 anteriores, y se observaron un pico con un tiempo de retención de 8.56 y un pico con un tiempo de retención de 10.85 minutos.
- El compuesto del título obtenido por separado se analizó en una columna quiral diferente a la columna anterior.
- (Condiciones del análisis 2) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), flujo: 1 mL/min, detección: UV (210 nm)
- (Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones de análisis 2 anteriores, y se observaron un pico con un tiempo de retención de 6.78 y un pico con un tiempo de retención de 8.20 minutos.

Ejemplo de producción 1e

Ácido (3S,4R)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

El (3RS,4SR)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo obtenido en el Ejemplo de producción 1d (9.1 g) se resolvió ópticamente de forma reiterada en los dos tipos de condiciones A o B siguientes.

Resolución óptica por HPLC;

- (Condiciones de fraccionamiento A) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (2 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol = 85/15 (v/v), flujo: 8-10 mL/min.
- (Condiciones de fraccionamiento B) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (3 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), flujo: 22 mL/min.

El pico con un tiempo de retención menor se fraccionó y los tres lotes resultantes se analizaron posteriormente en las siguientes condiciones de análisis.

Análisis por HPLC:

(Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), flujo: 1 mL/min, detección: UV (210 nm)

5 (Resultado del análisis) El tiempo de retención fue de 9.0 minutos a 9.3 minutos, y el exceso enantiomérico fue >99% de ee para todos los lotes.

10 Se combinaron los tres lotes, la forma quiral resultante (4.04 g) se disolvió en metanol (121 mL), se añadió Pd/C al 10% (0.77 g) y la atmósfera de reemplazó con hidrógeno gaseoso. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 13 horas y a continuación se agitó con la adición de agua caliente (de 30 a 40 °C, 122 mL), y el precipitado sólido se disolvió. Después se eliminó el Pd/C por filtración, el disolvente se concentró y se secó para obtener el compuesto del título (2.1 g).

¹H-RMN (400 MHz, D₂O) δ ppm; 0.97 (3H, d, J=7 Hz), 1.42 (9H, s), 2.15-2.22 (1H, m), 2.30 (1H, d, J=17 Hz), 2.93 (1H, d, J=17 Hz), 3.04 (1H, t, J=12 Hz), 3.18 (1H, d, J=12 Hz), 3.49 (1H, dd, J=8, 12 Hz), 4.03 (1H, d, J=12 Hz).

Cada desplazamiento químico indica un valor que se ha corregido ajustando el desplazamiento químico de un pico residual del disolvente en agua pesada a 4.79.

15 Ejemplo de producción 1f

Ácido (3S,4R)-1-bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

20 Una mezcla del ácido (3*R*^{*},4*S*^{*})-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo de producción 1e (1.8 g, 7.4 mmol), benzaldehído (1.51 mL, 14.8 mmol), ácido acético (0.635 mL, 11.1 mmol), triacetoxiborohidruro sódico (3.14 g, 14.8 mmol) y metanol (35 mL) se calentó a 40 °C durante 38 horas y 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gel de sílice ODS, disolvente de elución: agua/metanol) para obtener el compuesto del título como un Lote A (584 mg) y un Lote B (708 mg).

25 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) del Lote A δ ppm; 1.02 (3H, d, J=7 Hz), 1.38 (9H, s), 2.14 (1H, d, J=17 Hz), 2.15-2.28 (1H, a), 2.97 (1H, d, J=17 Hz), 3.10-3.42 (3H, m), 4.00-4.10 (1H, m), 4.30-4.40 (1H, a), 4.46 (1H, d, J=12 Hz), 7.45-7.53 (5H, m).

¹H-RMN del Lote B: idéntico al RMN del Lote A.

Ejemplo de producción 1g

4-[(3S,4R)-1-Bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

30 Se añadieron 4-aminopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (849 mg, 4.24 mmol), trietilamina (1.18 mL, 8.48 mmol) y PyBOP (2.21 g, 4.24 mmol) a una solución de ácido (3*R*^{*},4*S*^{*})-1-bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al del Ejemplo de producción 1f (942 mg, 2.83 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (20 mL), y a continuación se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se añadió acetato de etilo al líquido de reacción, que se lavó con una solución acuosa 1 N de hidróxido de sodio y salmuera. Este líquido se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (1.33 g, rendimiento: 91.1%).

35 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.92 (3H, d, J=7Hz), 1.20-1.40 (2H, m), 1.40 (9H, s), 1.48 (9H, s), 1.78-1.88 (1H, m), 1.92-1.98 (1H, m), 1.96 (1H, d, J=16Hz), 2.03-2.09 (1H, m), 2.36 (1H, d, J=10Hz), 2.58-2.68 (2H, m), 2.89-2.95 (2H, m), 3.10 (1H, d, J=16Hz), 3.59 (1H, d, J=10Hz), 3.66 (2H, s), 3.83-4.00 (3H, m), 7.23-7.35 (5H, m), 8.65 (1H, d, J=7 Hz).

MS(ESI) m/z: 538.2 (M+Na)⁺.

Ejemplo de producción 1h

4-[(3S,4R)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

45 Se añadió hidróxido de paladio al 20% (724 mg) a una solución de 4-[(3*R*^{*},4*S*^{*})-1-bencil-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo obtenido en el Ejemplo de producción 1g (1.33 g, 2.58 mmol) en metanol (30 mL), la cual se agitó en atmósfera de hidrógeno durante toda la noche. El líquido de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (1.04 g, rendimiento: 94.7%).

50 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.92 (3H, d, J=7Hz), 1.20-1.52 (2H, m), 1.41 (9H, s), 1.43 (9H, s), 1.80-2.10 (5H, m), 2.00 (1H, d, J=16Hz), 2.55-2.61 (1H, m), 2.80-3.06 (2H, m), 2.92 (1H, d, J=10Hz), 3.12 (1H, d, J=16Hz), 3.35 (1H, d, J=9Hz), 3.70 (1H, d, J=10Hz), 3.80-4.00 (3H, m), 8.30 (1H, d, J=7Hz).

MS(ESI) m/z: 426.1 (M+H)⁺

Ejemplo de producción 1i

4-[(3S,4R)-3-[2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amida]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

5 Se añadieron 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (443 mg, 1.62 mmol) y carbonato de potasio (244 mg) a una solución de 4-[(3R,4S)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo obtenido en el Ejemplo de producción 1h (345 mg, 0.811 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (deshidratada) (10 mL), la cual se agitó a 45 °C durante seis horas a 40 °C durante dos días. Se añadió acetato de etilo al líquido de reacción, que se lavó con una solución acuosa 1 N de hidróxido de sodio y salmuera. Este líquido se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (320 mg, rendimiento: 63.8%).

15 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.92 (3H, d, J=7Hz), 1.13-1.18 (2H, m), 1.39 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.53-1.65 (1H, m), 1.76-1.86 (1H, m), 1.98 (1H, d, J=16Hz), 2.02-2.10 (1H, m), 2.51 (1H, d, J=10Hz), 2.60-2.80 (3H, m), 2.88 (1H, t, J=10Hz), 3.12 (1H, d, J=16Hz), 3.53 (1H, d, J=10Hz), 4.09-4.25 (5H, m), 7.38 (1H, t, J=8Hz), 7.63 (2H, d, J=8Hz), 7.96 (1H, d, J=8Hz).

MS(ESI) m/z: 640.2 (M+Na)⁺.

Ejemplo de producción 1j

Ácido 2-[(3S,4R)-1-[2-Cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[(piperidin-4-il)carbamoil]pirrolidin-3-il]acético

20 Se añadió ácido trifluoroacético (8 mL) a una solución de 4-[(3R,4S)-3-[2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil]-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo obtenido en el Ejemplo de producción 1i (320 mg, 0.518 mmol) en diclorometano (deshidratado) (8 mL) enfriada con hielo, y a continuación se agitó a temperatura ambiente durante 2.5 horas. El líquido de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol) para obtener una mezcla que contenía el compuesto del título (344 mg).

25 ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0.83 (3H, d, J=5Hz), 1.43-1.63 (2H, m), 1.76-1.89 (1H, m), 1.92-2.00 (1H, m), 2.03-2.19 (2H, m), 2.55-2.68 (2H, m), 2.91-3.10 (4H, m), 3.25-3.36 (2H, m), 3.45-3.59 (1H, m), 3.75-4.18 (3H, m), 7.41-7.76 (3H, m).

MS(ESI) m/z: 462.3 (M+H)⁺

30 Ejemplo de producción 1k

Ácido 2-[(3S,4R)-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

35 Se añadieron ciclohex-1-en-1-carbaldehído (423 μL, 3.73 mmol), ácido acético (300 μL) y triacetoxiborohidruro de sodio (789 mg, 3.73 mmol) a una solución de la mezcla de ácido 2-[(3R,4S)-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[(piperidin-4-il)carbamoil]pirrolidin-3-il]acético obtenida mediante el método del Ejemplo de producción 1j (344 mg, 0.745 mmol) en tetrahidrofurano (deshidratado) (10 mL), y a continuación se agitó durante toda la noche. Se añadieron agua y metanol al líquido de reacción, que se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol). El producto purificado se disolvió en diclorometano, se suspendió añadiendo hexano y se concentró para obtener el compuesto del título (180 mg, rendimiento: 43.4%).

40 ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0.89 (3H, d, J=7Hz), 1.23-1.38 (2H, m), 1.44-1.82 (6H, m), 1.82-1.96 (1H, m), 1.96-2.25 (5H, m), 2.30-2.45 (2H, m), 2.55-2.68 (2H, m), 2.92-3.20 (5H, m), 3.54 (1H, d, J=10Hz), 3.64-3.78 (1H, m), 3.95 (1H, d, J=10Hz), 4.05 (1H, d, J=10Hz), 5.76 (1H, s), 7.47-7.52 (1H, m), 7.72 (1H, d, J=7Hz), 7.77 (1H, d, J=8Hz).

45 MS(ESI) m/z: 578.3 (M+Na)⁺

Ejemplo 1

Preparación de un cristal de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

50 Se añadió una solución en acetato de etilo del ácido L-mandélico (20 mg/mL) en una cantidad de 1407 μL (1 equivalente) al ácido 2-[(3S,4R)-1-[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (102.8 mg) y a continuación la solución mezclada obtenida se sometió

posteriormente a un tratamiento con ultrasonidos, después del cual la solución mezclada se agitó con un agitador magnético a temperatura ambiente. Tras agitar la solución mezclada durante toda la noche, debido a la presencia de un sólido en la solución, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato de etilo y después se secó para obtener el cristal del título (49.3 mg).

- 5 ^1H -RMN (600 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 0.90 (3H, d, $J=7\text{Hz}$), 1.58-1.64 (2H, m), 1.64-1.76 (4H, m), 1.82-1.89 (1H, m), 1.97-2.07 (3H, m), 2.08-2.14 (2H, m), 2.19 (1H, d, $J=17\text{Hz}$), 2.15-2.23 (1H, m), 2.62 (1H, d, $J=10\text{Hz}$), 2.67 (1H, dd, $J=10, 7\text{Hz}$), 2.72-2.84 (2H, m), 3.00 (1H, dd, $J=10, 10\text{Hz}$), 3.10 (1H, d, $J=17\text{Hz}$), 3.25-3.32 (2H, m), 3.43 (2H, s), 3.53 (1H, d, $J=10\text{Hz}$), 3.77-3.85 (1H, m), 3.98 (1H, d, $J=13\text{Hz}$), 4.07 (1H, d, $J=13\text{Hz}$), 4.91 (1H, s), 5.91 (1H, ds a), 7.23 (1H, t, $J=7\text{Hz}$), 7.29 (2H, dd, $J=7, 7\text{Hz}$), 7.46 (2H, d, $J=7\text{Hz}$), 7.51 (1H, dd, $J=8, 8\text{Hz}$), 7.73 (1H, d, $J=8\text{Hz}$), 7.79 (1H, d, $J=8\text{Hz}$).

El espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C del cristal de la sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método descrito anteriormente se midió en las condiciones que se indican a continuación.

[Condiciones de medición]

- 15 Dispositivo empleado: AVANCE 400 (fabricado por BRUKER)

Temperatura de medición: temperatura ambiente (22 °C)

Sustancia patrón: glicina (patrón externo: 176.03 ppm)

Núcleo de medición: ^{13}C (100.6248425 MHz)

Tiempo de repetición del pulso: 6 segundos

- 20 Modo del pulso: medición TOSS

El espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C se muestra en la Figura 1 y el desplazamiento químico se muestra a continuación.

- 25 ^{13}C -RMN (100 MHz, estado sólido) δ (ppm): 13.8, 14.1, 21.0, 22.8, 24.3, 26.8, 27.8, 30.5, 40.5, 41.6, 42.4, 46.0, 50.9, 51.4, 52.9, 53.3, 54.7, 55.7, 59.5, 60.3, 63.6, 64.4, 75.2, 124.0, 124.4, 126.2, 127.2, 128.1, 133.3, 133.9, 135.5, 137.8, 144.7, 171.5, 174.0, 175.5, 175.8.

- 30 El cristal de la sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método descrito anteriormente se introdujo en una plataforma para muestras de un difractor de rayos X en polvo y a continuación se analizó en las condiciones de medición que se indican a continuación. El patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido se muestra en la Figura 2.

[Tabla 1]

Condiciones de medición

Diana	Cobre
Detector	Contador de centelleo
Voltaje del tubo	50 kV
Corriente del tubo	300 mA
Rendija	Rendija de divergencia de 0.5 mm, rendija de dispersión abierta, rendija receptora abierta
Velocidad de barrido	5°/min
Intervalo de muestreo	0.02
Rango de barrido	5°-35°
Portamuestras	Portamuestras hecho de aluminio

Ejemplo 2

- 35 Preparación de una forma amorfa de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se pesó la sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (53.61 mg), después se introdujo en un vaso de precipitados de 200 mL, y a continuación se añadieron alcohol *tert*-butílico (tBA) (20 mL) y agua (4 mL) al vaso de

precipitados. Un matraz con forma de pera de 100 mL (matraz de recuperación) se hizo rotar mientras se sumergía en etanol enfriado con hielo seco. La solución de muestra se introdujo por goteo en el matraz y después se congeló. Tras congelar la cantidad total de la solución de muestra, se cubrió el orificio del matraz con un paño de limpieza y después se liofilizó. De este modo se obtuvieron 48.60 mg de la forma amorfa del título.

5 ¹H-RMN (600 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0.90 (3H, d, J=7Hz), 1.58-1.64 (2H, m), 1.64-1.76 (4H, m), 1.82-1.90 (1H, m), 1.98-2.07 (3H, m), 2.08-2.15 (2H, m), 2.15-2.23 (1H, m), 2.19 (1H, d, J=17Hz), 2.62 (1H, d, J=10Hz), 2.67 (1H, dd, J=10, 7Hz), 2.74-2.85 (2H, m), 3.00 (1H, dd, J=10, 10Hz), 3.10 (1H, d, J=17Hz), 3.25-3.33 (2H, m), 3.44 (2H, s), 3.53 (1H, d, J=10Hz), 3.78-3.85 (1H, m), 3.98 (1H, d, J=13Hz), 4.07 (1H, d, J=13Hz), 4.91 (1H, s), 5.91 (1H, ds a), 7.23 (1H, t, J=7Hz), 7.29 (2H, dd, J=7, 7Hz), 7.46 (2H, d, J=7Hz), 7.51 (1H, dd, J=8, 8Hz), 7.73 (1H, d, J=8Hz), 7.79 (1H, d, J=8Hz).

La forma amorfa obtenida mediante el método descrito anteriormente se colocó sobre una plataforma para muestras de un difractor de rayos X en polvo, y después se analizó en las condiciones de medición descritas en el Ejemplo 1. El patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido se muestra en la Figura 3.

Ejemplo 3

15 Preparación de un cristal de un solvato (A) una sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se añadió una solución en acetato de etilo del ácido L-láctico (10 mg/mL) en una cantidad de 1296 μL (1 equivalente) al ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (81.38 mg) y la solución obtenida se sometió posteriormente a un tratamiento con ultrasonidos, después del cual la solución de reacción se agitó con un agitador magnético a temperatura ambiente. Debido a la presencia de un sólido en la solución, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato de etilo y después se secó para obtener el cristal del título (78.93 mg).

20 El cristal del solvato de la sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método descrito anteriormente se introdujo en una plataforma para muestras de un difractor de rayos X en polvo y a continuación se analizó en las condiciones de medición descritas en el Ejemplo 1. El patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido se muestra en la Figura 4.

Ejemplo 4

30 Preparación de un cristal de un solvato (B) de una sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se añadió una solución en cetona etil metílica del ácido L-láctico (10 mg/mL) en una cantidad de 1318 μL (1 equivalente) al ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (79.99 mg) y la solución obtenida se sometió posteriormente a un tratamiento con ultrasonidos, después del cual la solución de reacción se agitó con un agitador magnético a temperatura ambiente. Debido a la presencia de un sólido en la solución, el sólido se recogió por filtración y se lavó con cetona etil metílica y después se secó para obtener el cristal del título (67.56 mg).

35 El cristal del solvato de la sal del ácido L-láctico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método descrito anteriormente se introdujo en una plataforma para muestras de un difractor de rayos X en polvo y a continuación se analizó en las condiciones de medición descritas en el Ejemplo 1. El patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido se muestra en la Figura 5.

Ejemplo 5

45 Preparación de un cristal de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se añadió ácido L-mandélico (60.2 mg) disuelto en un disolvente mixto constituido por acetona (0.5 mL) y éter *tert*-butil metílico (0.5 mL) gota a gota al ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (230 mg, contenido: 200 mg) disuelto en un disolvente mixto constituido por acetona (0.75 mL) y éter *tert*-butil metílico (0.75 mL), y además la mezcla obtenida se lavó posteriormente con un disolvente mixto constituido por acetona (0.25 mL) y éter *tert*-butil metílico (0.25 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante dos noches. A continuación, el cristal obtenido se filtró y después se lavó con acetona/éter *tert*-butil metílico (en una proporción en volumen de 1:1) (0.4 mL × 3) y éter *tert*-butil metílico (0.4 mL × 3), para obtener así 223.0 mg del cristal del título (rendimiento: 88%) en forma de un cristal blanco.

Ejemplo 6

Recristalización de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se añadieron sulfóxido de dimetilo (1.65 mL) y acetona (2.0 mL) a un cristal de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (1.00 g), y el cristal se disolvió en ellos calentando la mezcla a 60 °C. Posteriormente, se añadieron más sulfóxido de dimetilo (0.05 mL) y acetona (1.0 mL) a la solución obtenida. A la solución obtenida se añadió acetato de isopropilo (10 mL) y, una vez finalizada la adición, la solución resultante se calentó a 45 °C. A continuación, se añadió más acetato de isopropilo (15 mL) a la solución de reacción a 45 °C. La solución obtenida se enfrió hasta -20 °C, y después el cristal generado se filtró y seguidamente se lavó con un disolvente mixto constituido por acetona/acetato de isopropilo (en una proporción en volumen de 1:9, 5 mL), y el resultante se secó a continuación a temperatura ambiente para obtener así 907.1 mg del cristal del título (rendimiento: 90.7%) en forma de un cristal blanco.

Ejemplo 7

Cristalografía de rayos X de una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se pesó una sal del ácido L-mandélico del ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético (5.28 mg) en un vial de vidrio, y se añadió metanol (1.0 mL) al vial para disolver la sustancia mencionada anteriormente en metanol. Este vial de vidrio se introdujo dentro de un vial de vidrio más grande lleno de una cantidad adecuada de acetato de etilo, y el vial de vidrio externo se cerró herméticamente con un tapón (método de difusión de vapor). Tres semanas después, se descubrió que un cristal había precipitado dentro del cristal de vidrio. Utilizando el único cristal obtenido (0.50 × 0.20 × 0.10 mm), se realizó un experimento de difracción de rayos X empleando R-AXIS RAPID II (Rigaku Corporation). Los datos cristalográficos y los resultados del análisis estructural se muestran en la Tabla 2, y los datos de las coordenadas atómicas se muestran en la Tabla 3. A partir de estos resultados, se especificó la configuración absoluta del compuesto del título.

[Tabla 2]

Temperatura	100 K
Longitud de onda	1.5418 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	Sistema monoclinico, P1
Parámetro de red	a = 10.5120 (7) Å
	b = 12.516 (1) Å
	c = 13.749 (1) Å
	$\alpha = 97.466(5)^\circ$
	$\beta = 91.637(4)^\circ$
	$\gamma = 100.997(5)^\circ$
Volumen	1758.0 (3) Å ³
valor de Z, densidad calculada	2, 1.338 g/cm ³
Coeficiente de absorción	15.193 cm ⁻¹
Tamaño del cristal	0.50 × 0.20 × 0.10 mm
Medida máxima 2 θ	136.4°
Número de reflexiones totales/ Número de reflexiones únicas	16527/9183 [R (Intensidad) = 0.0734]
Integridad	95.80%
Determinación de la fase	Método directo (SHELX97)
Método de precisión	método de los mínimos cuadrados referente a F ²
Dato/parámetro	9183/915
Bondad del ajuste	1.12
Valor de R (datos totales)	0.1193
Valor de R (>2 σ (I))	0.0766
Parámetro de Flack	-0.01 (4)

ES 2 642 805 T3

Diferencia entre el pico máximo y el mínimo	0.57 y -0.55 e/Å ³
---	-------------------------------

[Tabla 3-1]

Átomo	x	y	z	B (eg)
Cl1	0.4119(2)	0.7216(2)	0.2017(2)	3.77(5)
Cl2	1.0126(2)	0.1242(2)	0.8268(2)	3.88(5)
F1	0.6822(5)	0.5796(5)	0.5686(5)	3.9(2)
F2	0.4752(5)	0.5604(5)	0.5619(5)	4.1(2)
F3	0.5696(6)	0.4670(5)	0.4542(5)	4.9(2)
F4	1.2722(6)	0.3815(5)	0.5804(5)	4.4(2)
F5	1.3124(6)	0.2702(5)	0.4582(5)	4.4(2)
F6	1.1195(5)	0.3018(5)	0.4727(5)	4.6(2)
O1	0.1661(6)	0.7584(5)	0.6521(5)	2.8(2)
O2	-0.0333(6)	0.6958(7)	0.7021(6)	3.7(2)
O3	-0.0086(6)	0.8003(5)	0.4720(5)	3.0(2)
O4	0.7323(6)	0.0841(5)	0.3764(5)	3.1(2)
O5	0.5656(6)	0.1418(6)	0.3084(6)	3.2(2)
O6	0.5324(6)	0.0500(5)	0.5451(5)	3.0(2)
O7	0.2472(7)	0.8855(6)	0.0505(6)	3.1(2)
O8	0.0090(6)	0.9111(6)	0.0180(5)	3.2(2)
O9	-0.0080(6)	0.8224(6)	-0.1360(5)	3.6(2)
O10	0.7535(6)	-0.0752(6)	0.9744(5)	2.8(2)
O11	0.5020(6)	-0.0893(5)	0.9973(5)	3.0(2)
O12	0.5310(6)	0.0028(6)	1.1492(5)	3.4(2)
N1	0.2565(6)	0.5984(6)	0.3596(6)	2.8(2)
N2	0.1600(7)	0.7980(6)	0.3731(6)	2.8(2)
N3	0.1570(7)	1.0437(7)	0.1848(7)	2.2(2)
N4	0.8943(6)	0.2493(6)	0.6668(6)	2.7(2)
N5	0.7005(7)	0.0555(7)	0.6545(6)	2.9(2)
N6	0.5917(6)	-0.2088(6)	0.8249(6)	2.4(2)
C1	0.4952(8)	0.6468(8)	0.3650(7)	2.6(2)
C2	0.5120(8)	0.7310(8)	0.3065(7)	2.8(2)
C3	0.6126(8)	0.8222(8)	0.3237(8)	3.4(2)
C4	0.6979(8)	0.8277(8)	0.4026(8)	3.1(2)
C5	0.6874(9)	0.7435(9)	0.4592(8)	3.4(2)
C6	0.5857(8)	0.6555(8)	0.4412(8)	2.8(2)
C7	0.5777(9)	0.5675(8)	0.8043(8)	3.0(2)
C8	0.3753(8)	0.5567(8)	0.3399(8)	3.1(2)
C9	0.1384(9)	0.5269(8)	0.3104(8)	3.1(2)
C10	0.0233(8)	0.5488(7)	0.3708(7)	2.6(2)
C11	0.0865(8)	0.6378(7)	0.4574(7)	2.5(2)

ES 2 642 805 T3

[Tabla 3-2]

C12	0.2265(8)	0.6211(8)	0.4627(7)	2.4(2)
C13	-0.0890(9)	0.5750(9)	0.3129(8)	3.4(2)
C14	0.0145(8)	0.6162(8)	0.5494(7)	2.7(2)
C15	0.0583(8)	0.6970(8)	0.6371(8)	3.0(2)
C16	0.0769(7)	0.7553(7)	0.4356(7)	2.2(2)
C17	0.1495(7)	0.9031(7)	0.3397(7)	2.4(2)
C18	0.0375(8)	0.8917(8)	0.2626(7)	2.8(2)
C19	0.0328(8)	0.9990(7)	0.2266(7)	2.7(2)
C20	0.2679(8)	1.0581(8)	0.2568(7)	2.7(2)
C21	0.2767(8)	0.9531(8)	0.2974(8)	2.9(2)
C22	0.1485(8)	1.1456(8)	0.1405(8)	2.9(2)
C23	0.2704(8)	1.1993(8)	0.0993(8)	3.0(2)
C24	0.338(2)	1.297(1)	0.141(2)	7.0(5)
C25	0.457(2)	1.354(2)	0.102(2)	9.9(6)
C26	0.500(2)	1.296(2)	0.016(2)	7.3(5)
C27	0.412(2)	1.208(2)	-0.047(1)	5.7(3)
C28	0.306(1)	1.1450(9)	0.0063(8)	4.0(3)
C29	1.1103(8)	0.2009(7)	0.6631(7)	2.5(2)
C30	1.0966(8)	0.1154(8)	0.7214(8)	2.9(2)
C31	1.1552(9)	0.0232(8)	0.6983(8)	3.1(2)
C32	1.2291(9)	0.0162(8)	0.6186(8)	3.4(2)
C33	1.2512(8)	0.1033(8)	0.5625(8)	3.0(2)
C34	1.1924(8)	0.1936(8)	0.5838(7)	2.7(2)
C35	1.2235(8)	0.2844(9)	0.5233(8)	3.3(2)
C36	1.0351(8)	0.2910(8)	0.6858(8)	2.9(2)
C37	0.8142(8)	0.3275(9)	0.7115(8)	3.3(2)
C38	0.6879(9)	0.3027(9)	0.6470(7)	3.2(2)
C39	0.7039(8)	0.2127(8)	0.5636(7)	2.6(2)
C40	0.8521(8)	0.2246(8)	0.5627(7)	2.6(2)
C41	0.568(1)	0.2831(9)	0.7055(9)	4.2(3)
C42	0.6434(8)	0.2283(8)	0.4665(7)	2.7(2)
C43	0.6513(8)	0.1407(8)	0.3822(7)	2.7(2)
C44	0.6374(8)	0.0972(8)	0.5857(7)	2.9(2)
C45	0.6489(9)	-0.0532(8)	0.6813(8)	3.1(2)
C46	0.5365(8)	-0.0506(8)	0.7504(8)	2.9(2)
C47	0.4846(8)	-0.1669(8)	0.7744(7)	2.7(2)
C48	0.7044(8)	-0.2121(8)	0.7584(7)	2.6(2)
C49	0.7547(8)	-0.0983(8)	0.7300(8)	3.1(2)

ES 2 642 805 T3

[Tabla 3-3]

C50	0.5404(9)	-0.3241(8)	0.8498(8)	3.4(2)
C51	0.6373(8)	-0.3622(8)	0.9137(8)	2.9(2)
C52	0.7227(9)	-0.4184(8)	0.8752(8)	3.4(2)
C53	0.828(1)	-0.4492(9)	0.9352(8)	3.6(2)
C54	0.821(2)	-0.410(2)	1.043(1)	6.6(4)
C55	0.741(2)	1-0.351(2)	1.080(1)	12.3(9)
C56	0.626(1)	-0.3309(9)	1.0217(7)	3.4(2)
C57	0.1875(8)	0.7110(8)	-0.0513(7)	2.7(2)
C58	0.1750(9)	0.6515(8)	0.0274(8)	3.3(2)
C59	0.175(1)	0.5404(9)	0.0160(8)	3.6(2)
C60	0.188(1)	0.484(1)	-0.0740(9)	4.2(3)
C61	0.1991(9)	0.5406(9)	-0.1553(8)	3.4(2)
C62	0.1993(8)	0.6546(8)	-0.1443(7)	2.8(2)
C63	0.1880(8)	0.8313(8)	-0.0423(7)	2.8(2)
C64	0.0513(9)	0.8567(8)	-0.0548(8)	3.0(2)
C65	0.7830(8)	0.1032(8)	1.0765(7)	2.6(2)
C66	0.8163(8)	0.1620(8)	1.1705(8)	2.9(2)
C67	0.8731(9)	0.2726(8)	1.1802(9)	3.6(2)
C68	0.898(1)	0.3241(9)	1.0990(9)	4.1(3)
C69	0.866(1)	0.2675(8)	1.0071(9)	3.9(3)
C70	0.8061(9)	0.1562(8)	0.9943(8)	3.3(2)
C71	0.7217(7)	-0.0192(7)	1.0641(7)	2.3(2)
C72	0.5727(8)	-0.0338(8)	1.0709(7)	2.6(2)
H2	-0.0067	0.7391	0.7396	0.06
H2A	0.2223	0.7565	0.3396	3.76
H3	0.1623	1.0065	0.1437	0.00
H3A	0.6220	0.8783	0.2825	4.05
H4	0.7652	0.8907	0.4185	3.78
H5	0.5766	0.0892	0.2461	5.51
H5A	0.7659	0.0835	0.6906	12.08
H58	0.7508	0.7463	0.5106	4.03
H6	0.6367	-0.1489	0.8990	2.67
H7	0.3077	0.8856	0.0380	3.75
H8A	0.3734	0.5262	0.2697	3.69
H8B	0.3797	0.4966	0.3794	3.69
H9A	0.1455	0.4488	0.3069	3.71
H9B	0.1262	0.5436	0.2427	3.71
H10	0.8221	-0.0844	0.9746	4.22

ES 2 642 805 T3

[Tabla 3-4]

H10A	-0.0108	0.4803	0.3996	3.10
H12A	0.2853	0.6880	0.4961	2.88
H12B	0.2342	0.5585	0.4982	2.88
H13A	-0.1584	0.5862	0.3569	4.09
H13B	-0.122	0.5137	0.2609	4.09
H13C	-0.0593	0.6419	0.2833	4.09
H14A	-0.0789	0.6140	0.5351	3.20
H14B	0.0233	0.5427	0.5647	3.20
H17	0.1337	0.9548	0.3979	2.85
H18A	0.0482	0.8368	0.2063	3.33
H18B	-0.0457	0.8647	0.2917	3.33
H19A	-0.0388	0.9882	0.1757	3.20
H19B	0.0151	1.0524	0.2818	3.20
H20A	0.2592	1.1154	0.3116	3.21
H20B	0.3493	1.0837	0.2248	3.21
H21A	0.3472	0.9685	0.3495	3.52
H21B	0.2988	0.8993	0.2444	3.52
H22A	0.0790	1.1267	0.0875	3.49
H22B	0.1224	1.1994	0.1915	3.49
H24	0.3077	1.3317	0.1995	8.43
H25A	0.4432	1.4261	0.0872	11.90
H25B	0.5279	1.3681	0.1545	11.90
H26A	0.5735	1.2645	0.0373	8.80
H26B	0.5347	1.3518	-0.0262	8.80
H27A	0.4637	1.1565	-0.0789	6.89
H27B	0.3722	1.2405	-0.0992	6.89
H28A	0.2272	1.1243	-0.0386	4.75
H28B	0.3323	1.0760	0.0189	4.75
H31	1.1431	-0.034	0.7384	3.77
H32	1.2652	-0.0472	0.6012	4.05
H33	1.3070	0.1005	0.5094	3.60
H36A	1.0528	0.3233	0.7557	3.51
H36B	1.0641	0.3497	0.6450	3.51
H37A	0.8595	0.4045	0.7114	3.99
H37B	0.7963	0.3157	0.7800	3.99
H38	0.6850	0.3701	0.6158	3.84
H40A	0.8762	0.1555	0.5325	3.13
H40B	0.8907	0.2850	0.5264	3.13

[Tabla 3-5]

H41A	4.5676	0.3482	0.7535	5.00
H41B	0.5686	0.2194	0.7399	5.00
H41C	0.4905	0.2692	0.6609	5.00
H42A	0.5509	0.2312	0.4752	3.22
H42B	0.6866	0.3002	0.4490	3.22
H45	0.6152	-0.104	0.6199	3.76
H46A	0.5675	-0.0005	0.8118	3.42
H46B	0.4661	-0.0228	0.7185	3.42
H47A	0.4112	-0.1657	0.8178	3.21
H47B	0.4525	-0.2167	0.7130	3.21
H48A	0.6755	-0.2652	0.6985	3.10
H48B	0.7751	-0.2369	0.7930	3.10
H49A	0.7912	-0.0473	0.7896	3.69
H49B	0.8254	-0.1025	0.6845	3.69
H50A	0.4590	-0.3244	0.8843	4.12
H50B	0.5201	-0.3762	0.7882	4.12
H52	0.7168	-0.4404	0.8061	4.05
H53A	0.9139	-0.4161	0.9129	4.34
H53B	0.8202	-0.53	0.9249	4.34
H54A	0.8072	-0.4773	1.0754	7.89
H54B	0.9094	-0.369	1.0655	7.89
H55A	0.7935	-0.2778	1.1053	14.82
H55B	0.7061	-0.3841	1.1375	14.82
H56A	0.5454	-0.3744	1.0427	4.09
H56B	0.6211	-0.2522	1.0351	4.09
H58	0.1659	0.6884	0.0910	4.00
H59	0.1666	0.5025	0.0717	4.35
H60	0.1888	0.4079	-0.0811	5.05
H61	0.2067	0.5022	-0.2185	4.06
H62	0.2074	0.6927	-0.2	3.35
H63	0.2413	0.8619	-0.095	3.35
H66	0.8000	0.1264	1.2272	3.43
H67	0.8947	0.3130	1.2438	4.38
H68	0.9388	0.3996	1.1065	4.95
H69	0.8844	0.3040	0.9512	4.65
H70	0,7817	0.1176	0.9303	3.92
H71	0.7565	-0.0519	1.1192	2.75

Los ejemplos de prueba siguientes se realizaron para examinar los efectos farmacológicos del compuesto (1).

Ejemplo de prueba 1) Inhibición de la migración celular en un ensayo de quimiotaxis inducida por fractalcina

(1) Método

Se examinaron los efectos inhibitorios de los compuestos ilustrativos sobre la migración inducida por fractalcina utilizando células B300 en las que se transfectó CX3CR1.

5 Tras equilibrar la placa Transwell (agrupaciones de 24 pocillos, tamaño de poro: 5 μm , fabricada por Corning Incorporated), se añadió una solución de fractalcina (0.3 nM, fabricada por R&D Systems, Inc.) a los pocillos inferiores. Se colocaron células B300 que expresaban CX3CR1, las cuales se preincubaron con el compuesto de prueba (0.001, 0.003, 0.01 o 0.03 μM) durante 30 minutos, en los pocillos de la capa superior y a continuación se incubaron en unas condiciones de un 5% de CO_2 durante 3.5 horas a 37 °C. Se evaluó el número de células que migraron hasta los pocillos inferiores utilizando CellTiter (fabricado por Promega Corporation).

10 La tasa de inhibición del compuesto de prueba sobre la migración de células inducida por fractalcina se calculó mediante la siguiente fórmula, donde [A] es el número de células que migraron en presencia de tanto fractalcina como el compuesto de prueba, [B] es el número de células que migraron en presencia de fractalcina y en ausencia del compuesto de prueba, y [C] es el número de células que migraron en ausencia de tanto fractalcina como el compuesto de prueba; la concentración de inhibición del 50% (CI_{50}) se calculó en función de la tasa de inhibición.

$$\text{Tasa de inhibición (\%)} = [1 - \{(A-C)/(B-C)\}] \times 100$$

15 (2) Resultados

Como resultado del presente ejemplo de prueba, se descubrió que la CI_{50} del compuesto (1) era de 4 nM.

(Ejemplo de prueba 2) Mejora de la pérdida de peso corporal en el modelo de colitis inducida por transferencia de linfocitos T

(1) Método

20 Utilizando ratones SCID con colitis inducida en los que se inyectaron células CD4(+), CD45RB(alto) aisladas de esplenocitos de ratones BALB/c, se evaluó la eficacia de los compuestos ilustrativos por cambios en el peso corporal. El experimento se realizó durante el transcurso de 31 días. El Día 1, se administraron por vía intravenosa células CD4(+), CD45RB(alto) aisladas del bazo de ratones BALB/c (5×10^5 células/ratón) a ratones SCID. Desde el Día 16 al 31, se administró el compuesto ilustrativo por vía oral a los ratones SCID una vez al día, posteriormente se midieron los pesos corporales de todos los animales los Días 19, 22, 24, 26, 29 y 31.

25 La eficacia se evaluó por cambios en el peso corporal el Día 19, 22, 24, 26, 29 o 31. El cambio en el peso corporal (%) se determinó mediante la fórmula que se muestra a continuación, donde [A] es el peso corporal el Día 16 y [B] es el peso corporal cada día en el que se midió el peso corporal (Día 19, 22, 24, 26, 29 o 31).

$$\text{Cambio en el peso corporal (\%)} = B/A \times 100$$

30 (2) Resultados

Los resultados se muestran en la Figura 6. La abscisa en las figuras indica el número de días transcurridos, donde el día en el que se administraron las células CD4(+), CD45RB(alto) aisladas del bazo de ratones BALB/c (5×10^5 células/ratón) por vía intravenosa a ratones SCID es el Día 0.

35

REIVINDICACIONES

1. Una sal del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético y un ácido carboxílico orgánico.
- 5 2. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-mandélico.
3. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-láctico.
4. Un cristal de la sal del ácido 2-[(3*S*,4*R*)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético y un ácido carboxílico orgánico.
- 10 5. El cristal de acuerdo con la reivindicación 4, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-mandélico.
6. El cristal de acuerdo con la reivindicación 4, que se caracteriza por que el ácido carboxílico orgánico es el ácido L-láctico.
7. El cristal de acuerdo con la reivindicación 5, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 7.2° en difracción de rayos X en polvo medido con irradiación de cobre; detector: contador de centelleo; voltaje del tubo: 50kV; corriente del tubo: 300mA; rendija: rendija de divergencia de 0.5mm, rendija de dispersión abierta, rendija receptora abierta; velocidad de barrido: $5^\circ/\text{min}$; intervalo de muestreo: 0.02; rango de barrido: $5^\circ\text{-}35^\circ$; portamuestras hecho de aluminio.
- 15 8. El cristal de acuerdo con la reivindicación 7, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 14.4° y 15.7° en difracción de rayos X en polvo.
- 20 9. El cristal de acuerdo con la reivindicación 8, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 10.3° y 23.5° en difracción de rayos X en polvo.
10. El cristal de acuerdo con la reivindicación 9, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 12.9° , 14.9° , 17.2° , 20.1° y 24.7° en difracción de rayos X en polvo.
- 25 11. El cristal de acuerdo con la reivindicación 5, que se caracteriza por tener picos en desplazamientos químicos (ppm) de 14.1, 52.9, 75.2, 144.7 y 174.0 en el espectro de RMN en estado sólido de ^{13}C .
12. Un cristal (A) de acuerdo con la reivindicación 6, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 6.9° en difracción de rayos X en polvo medido con irradiación de cobre; detector: contador de centelleo; voltaje del tubo: 50kV; corriente del tubo: 300mA; rendija: rendija de divergencia de 0.5mm, rendija de dispersión abierta, rendija receptora abierta; velocidad de barrido: $5^\circ/\text{min}$; intervalo de muestreo: 0.02; rango de barrido: $5^\circ\text{-}35^\circ$; portamuestras hecho de aluminio.
- 30 13. El cristal (A) de acuerdo con la reivindicación 12, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 15.7° y 17.1° en difracción de rayos X en polvo.
14. Un cristal (B) de acuerdo con la reivindicación 6, que se caracteriza por tener un pico de difracción a un ángulo de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 6.8° en difracción de rayos X en polvo medido con irradiación de cobre; detector: contador de centelleo; voltaje del tubo: 50kV; corriente del tubo: 300mA; rendija: rendija de divergencia de 0.5mm, rendija de dispersión abierta, rendija receptora abierta; velocidad de barrido: $5^\circ/\text{min}$; intervalo de muestreo: 0.02; rango de barrido: $5^\circ\text{-}35^\circ$; portamuestras hecho de aluminio.
- 35 15. El cristal (B) de acuerdo con la reivindicación 14, que se caracteriza por tener otros picos de difracción a unos ángulos de difracción ($2\theta \pm 0.2^\circ$) de 13.7° y 16.8° en difracción de rayos X en polvo.
- 40

Fig.1

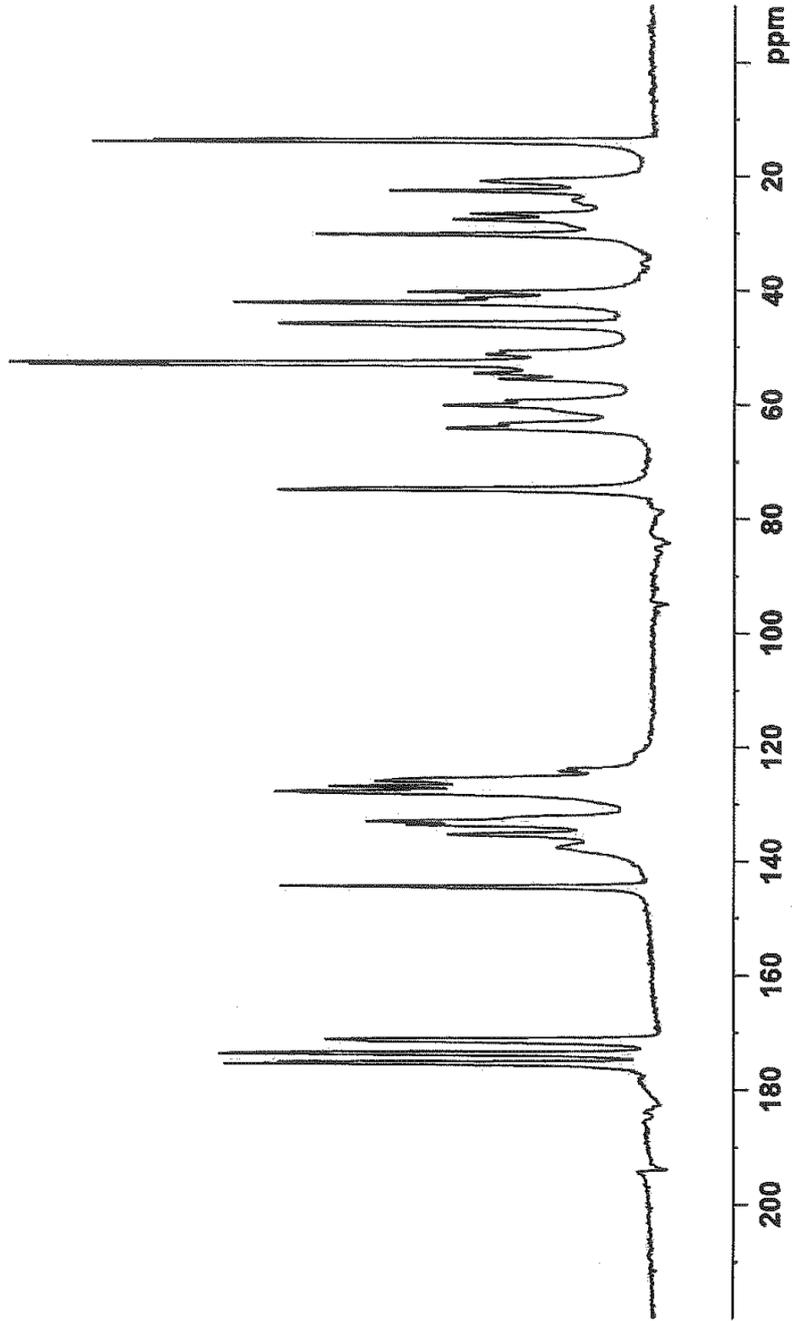


Fig.2

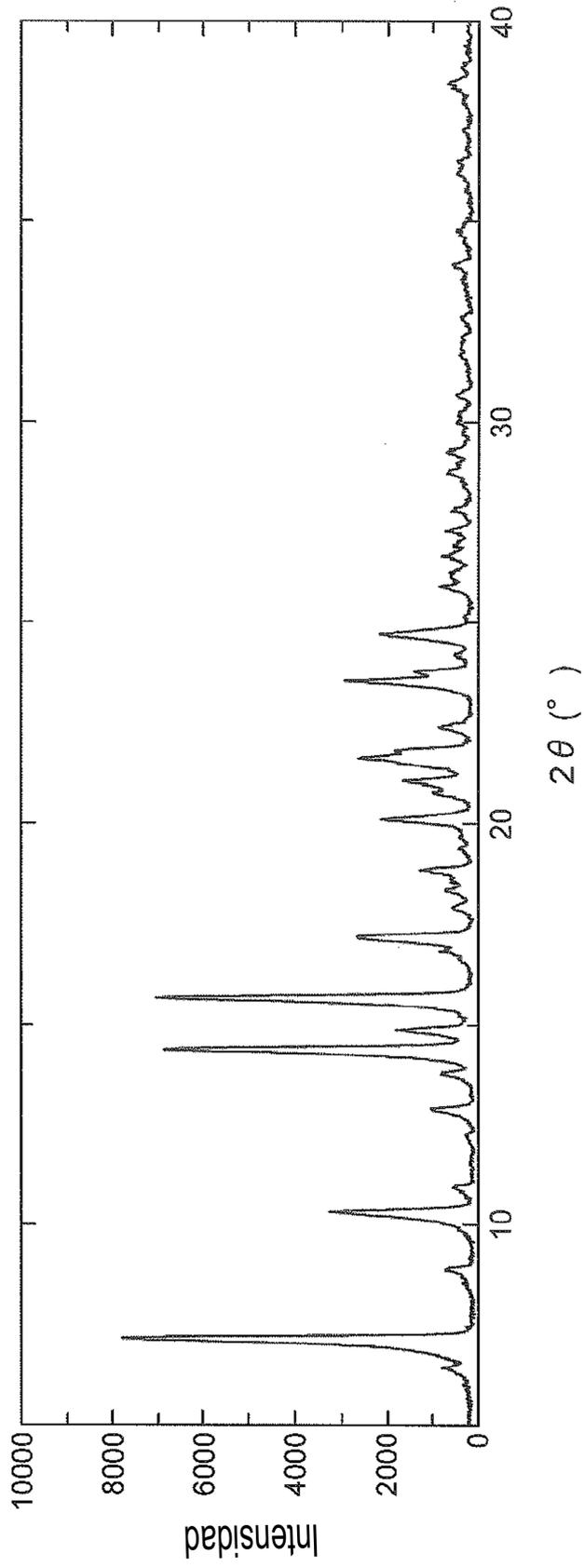


Fig.3

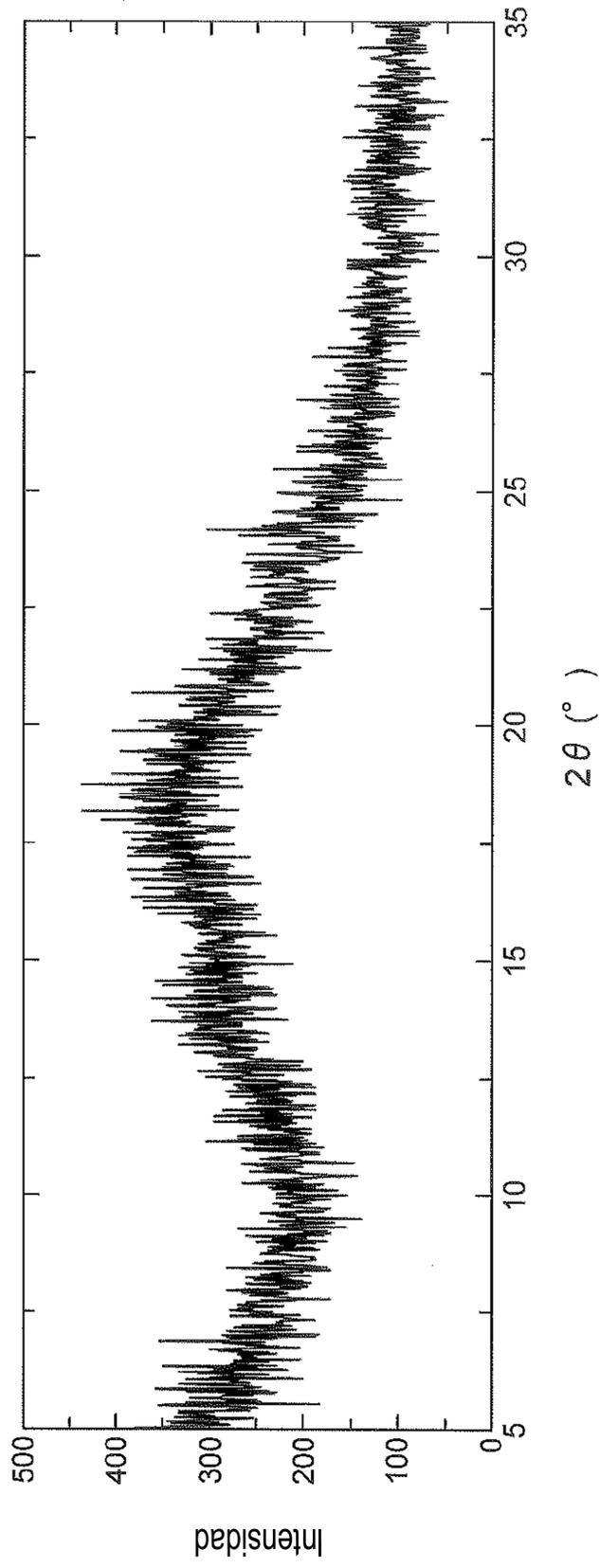


Fig.4

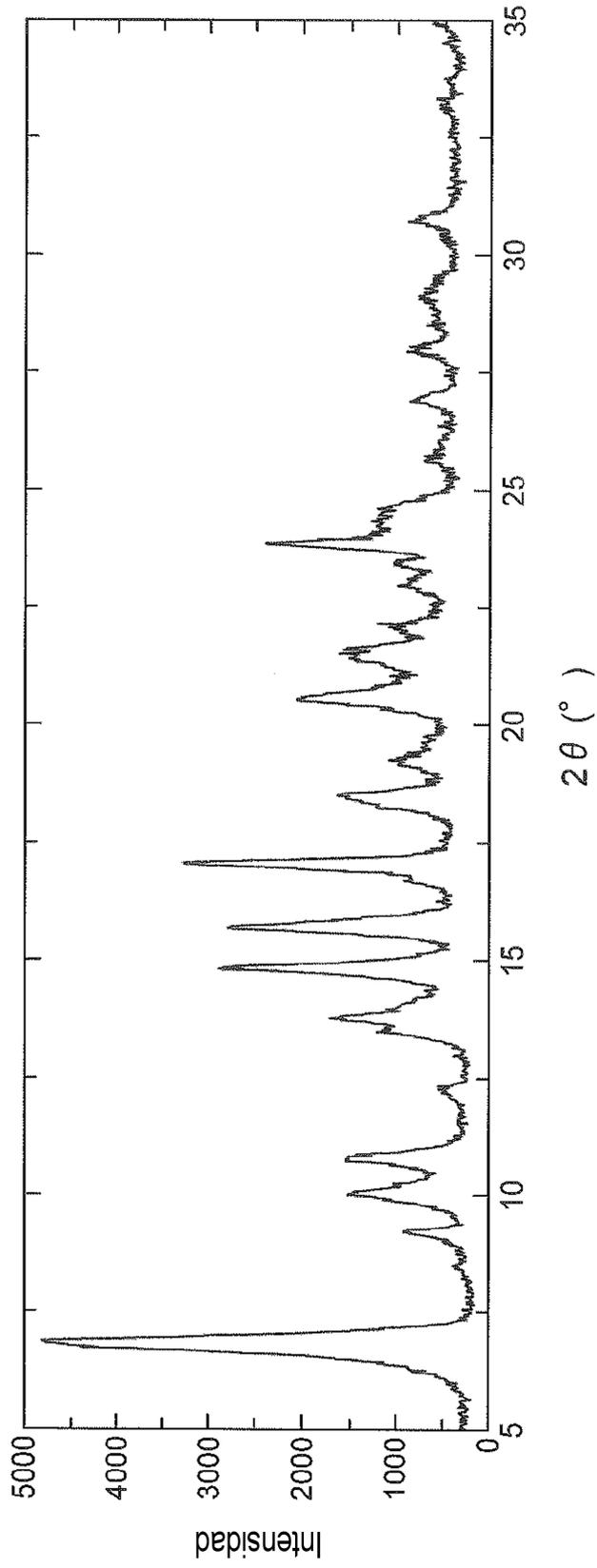


Fig.5

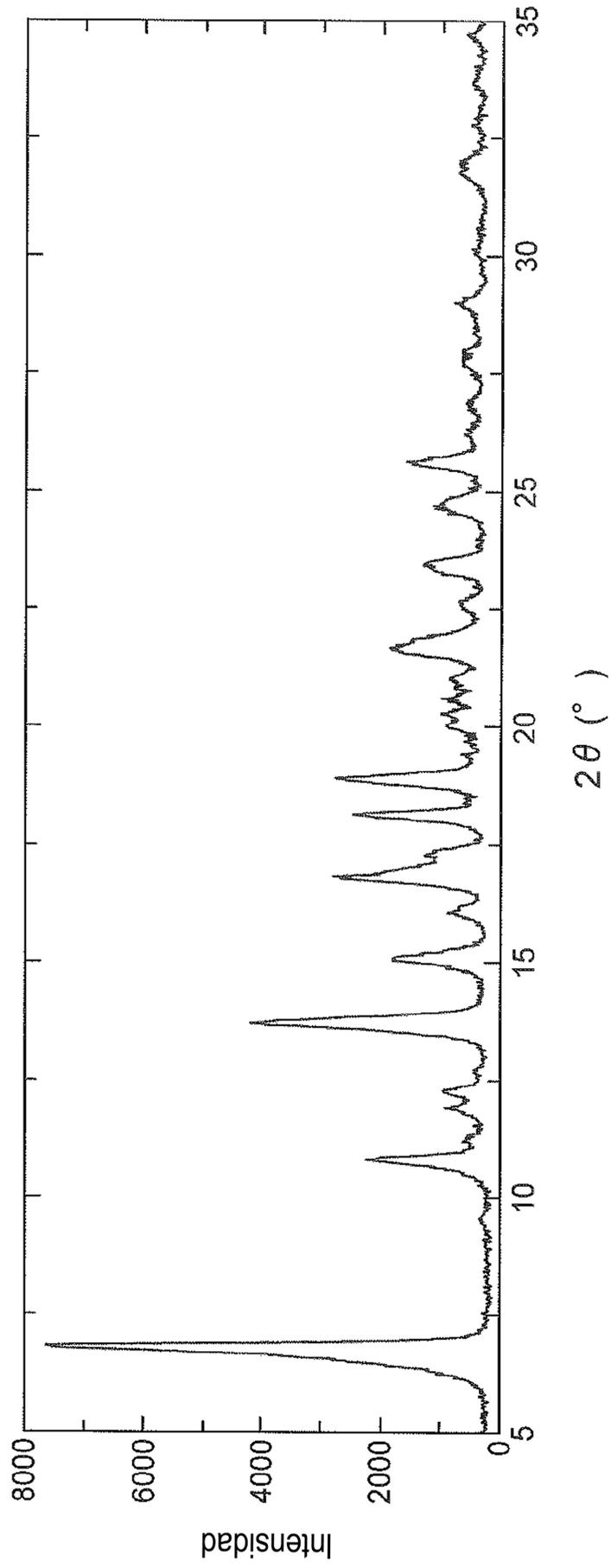


Fig.6

