

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 057**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/4745** (2006.01)  
**C07D 491/044** (2006.01)  
**A61P 19/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07799520 .7**  
96 Fecha de presentación: **12.07.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2043646**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.04.2009**

54 Título: **(E)-N-{3-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida como modulador del receptor glucocorticoide y procedimientos de uso**

30 Prioridad:  
**14.07.2006 US 831166 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.06.2012**

73 Titular/es:  
**ELI LILLY AND COMPANY  
LILLY CORPORATE CENTER  
INDIANAPOLIS IN 46285, US**

72 Inventor/es:  
**CARSON, Matthew William y  
COGLAN, Michael Joseph**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 384 057 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

(E)-N-{3-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida como modulador del receptor glucocorticoide y procedimientos de uso.

**Campo técnico de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a compuestos tricíclicos que son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios sensibles a glucocorticoides esteroideos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a procedimientos de uso de los compuestos para tratar trastornos inflamatorios e inmunitarios en pacientes, y a intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

**Antecedentes de la invención**

- 10 Los glucocorticoides esteroideos de origen natural así como los sintéticos (por ejemplo, cortisol, cortisona, prednisolona, dexametasona) se han usado ampliamente durante cincuenta años para el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios agudos y crónicos. En particular, se han prescrito glucocorticoides para el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, fiebre reumática, asma, rinitis alérgica, lupus eritematoso sistémico, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria de intestino y colitis ulcerativa. Sin embargo, el uso de glucocorticoide se asocia a menudo con graves y, a veces, irreversibles efectos secundarios, tales como pérdida ósea/osteoporosis, hiperglucemia, diabetes mellitus, hipertensión, glaucoma, atrofia muscular, síndrome de Cushing y psicosis. Así, existe la necesidad de tratamientos alternativos, que posean los efectos benéficos de los glucocorticoides esteroideos, pero con una probabilidad o incidencia reducida de efectos secundarios concomitantes.
- 20 Los glucocorticoides ejercen sus efectos farmacéuticos regulando la transcripción génica después de la formación de un complejo con el receptor glucocorticoide (GR). Este complejo glucocorticoide GR afecta la transcripción de los genes por distintos mecanismos. En primer lugar, después de enlazar el glucocorticoide, el GR complejo cambia de posición al núcleo en el que actúa como un dímero en la unión a los elementos de respuesta de la hormona glucocorticoide (GRE) de ADN en las regiones promotoras de genes particulares. El complejo glucocorticoide GR/GRE después, a su vez, activa (transactivación) o inhibe la transcripción de genes proximalmente localizados. Por el contrario, el complejo glucocorticoide GR puede regular negativamente la transcripción del gen por un proceso que no implica unión a ADN. En este proceso, llamado transrepresión, después de la unión del glucocorticoide, el GR complejo entra en el núcleo, en el que actúa como un monómero para interactuar directamente (interacción vía proteína-proteína) con otros factores de transcripción, que representan su capacidad para inducir transcripción génica y así la expresión de las proteínas.
- 30

- La búsqueda de ligandos GR adecuados como sustitutos de los glucocorticoides esteroideos se ve impedida por el hecho que los otros receptores de hormonas esteroideas, por ejemplo, el receptor de andrógenos (AR), el receptor mineralocorticoide (MR) y el receptor de progesterona (PR), que es mediador de otros procesos fisiológicos, tienen ligandos unidos a dominios homólogos a GR. Como resultado, los ligandos GR tienen un potencial de reactividad cruzada con estos otros receptores. Así, un atributo deseado de un sustituto para glucocorticoides esteroideos es que se unen a GR con mayor afinidad en relación con otros receptores de hormonas esteroideas.
- 35

- Recientes conocimientos han proporcionado una oportunidad para la identificación de ligandos GR con propiedades antiinflamatorias potentes en relación con su propensión para inducir efectos secundarios asociados con el tratamiento con glucocorticoides. Los glucocorticoides se conocen desde hace mucho tiempo por reprimir la producción endógena de proteínas proinflamatorias tales como interleucina-6 (IL-6) y factor-alfa de necrosis del tumor (TNF $\alpha$ ). De forma significativa, se ha informado que ligandos que actúan de forma selectiva a través de la función independiente de unión a ADN del GR debe ser suficiente para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Reichardt et al., EMBO J., 20: 7168-7173 (2001). Además, muchos efectos secundarios de la tratamiento con glucocorticoides (por ejemplo, hiperglucemia, diabetes mellitus, glaucoma y atrofia muscular) se han descrito por ser mediados por mecanismos de transactivación después de la unión de GR a ADN (véase Shackle et al., Pharmacol & Therap., 96(1): 23-43 (2002)). Así, un agente que sea capaz de diferenciar transrepresión medida por GR de transactivación mediada por GR es particularmente deseable. Además, un agente que presente capacidad limitada para modular (es decir, ser agonista, agonista parcial, antagonista o antagonista parcial) la actividad de transcripción de los otros receptores de hormonas esteroideas es también particularmente deseable.
- 40
- 45

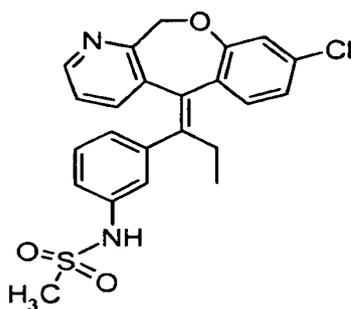
- Así, es un objetivo de la presente invención proporcionar un agente, que se une a GR con mayor afinidad en relación con otros receptores de hormonas esteroideas. Más particularmente, es un objeto proporcionar un agente, que se une a GR con 30 veces mayor afinidad en relación con AR, MR y PR. Es un objetivo adicional de la presente invención proporcionar un agente que posee propiedades anti-inflamatorias potentes en relación con su propensión para inducir efectos secundarios asociados con terapia de glucocorticoide. Más particularmente, es un objetivo proporcionar un agente que posee propiedades antiinflamatorias potentes en relación con su propensión para inducir pérdida ósea u osteoporosis. En un objetivo adicional de la presente invención proporcionar un agente, que presenta capacidad limitada para modular la actividad de otros receptores de hormonas esteroideas.
- 50
- 55

Se conocen en la técnica moduladores GR tricíclicos. Por ejemplo el documento WO 04/052847 describe un género

de moduladores de receptor de hormonas esteroideas tricíclicos, que es útil para tratar trastornos susceptibles de modulación del receptor mineralocorticoide o del receptor glucocorticoide. El documento WO 99/33786 describe compuestos derivados de trifetilpropanamida que unen el receptor glucocorticoide y tienen propiedades antiinflamatorias.

## 5 Sumario de la invención

Ahora se ha encontrado que seleccionando un compuesto que pertenece al ámbito del documento WO 04/052847, que se proporciona como Compuesto (I) en el presente documento más adelante, se ha identificado un nuevo agente terapéutico que posee un perfil particular de actividad que sugiere que es particularmente útil en el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios sensibles a glucocorticoides esteroideos. Por lo tanto, la presente invención proporciona el Compuesto (I):



Compuesto (I)

((E)-N-{3-[1-(8-Chloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Como una realización particular, la presente invención proporciona el Compuesto (I) en forma cristalina.

En otra realización, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar un trastorno inflamatorio o inmunitario, particularmente artritis reumatoide, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En otra realización, la presente invención proporciona el uso del Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio o inmunitario, particularmente artritis reumatoide. Además, la presente invención proporciona el Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia.

25 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Como una realización preferente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de artritis reumatoide que comprende el Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Además, la presente invención también proporciona nuevos intermedios y procedimientos para la síntesis del Compuesto (I).

## 30 Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona el Compuesto (I) que posee un perfil de actividad, que lo hace particularmente útil en el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios sensibles a glucocorticoides esteroideos. Como es evidente por las pruebas *in vitro* e *in vivo*, el Compuesto (I) se une a GR con mayor afinidad en relación con otros receptores de hormonas esteroideas y presenta potentes propiedades antiinflamatorias en relación con su propensión para inducir efectos secundarios asociados con el tratamiento de glucocorticoides. Además, el Compuesto (I) presenta solo una capacidad limitada para modular la actividad de los otros receptores de hormonas esteroideas AR, MR y PR. Adicionalmente, el Compuesto (I) posee además efectos técnicos adicionales o propiedades ventajosas, como se describe adicionalmente en el presente documento, lo cual solventa otros problemas en el campo del tratamiento del paciente y desarrollo farmacéutico.

40 La presente invención también proporciona el uso del Compuesto (I) para el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios sensibles a glucocorticoides esteroideos. Tales trastornos incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, osteoartritis, fiebre reumática, asma, rinitis alérgica, lupus eritematoso sistémico, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria de intestino y colitis ulcerativa. Un trastorno particular para el que se utiliza el Compuesto (I) es artritis reumatoide. La artritis reumatoide (RA) es un trastorno crónico caracterizado por inflamación del tejido sinovial de las articulaciones persistente con una edad típica de inicio entre

los 30 y los 50 años. La RA es la forma más común de artritis inflamatoria con una prevalencia estimada de aproximadamente 0,8 por ciento de la población mundial, siendo en mujeres dos veces más probable que hombres que desarrollen la enfermedad. Rindfleisch et al., Am. Fam. Physician, 72(6): 1037-1047 (2005).

5 También se cree que el uso del Compuesto (I) para el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios está asociado con una propensión, probabilidad o incidencia reducida de efectos secundarios típicamente asociados con el tratamiento con glucocorticoide. Alguno de los efectos secundarios del tratamiento con glucocorticoides es la pérdida ósea/osteoporosis o la osteoporosis inducida por glucocorticoides (GIOP). La GIOP es la causa más común de osteoporosis inducida por fármacos, y se ha informado que se origina en hasta el cincuenta por ciento de pacientes que se someten a tratamiento con glucocorticoides crónico (es decir, durante más de seis meses).  
10 Feldstein et al., Osteoporos. Int., 16: 2168-2174 (2005). En particular, se cree que el uso del Compuesto (I) está asociado con una propensión, probabilidad o incidencia reducida de pérdida ósea u osteoporosis.

A menos que se defina de otra forma, esta invención incluye sales farmacéuticamente aceptables del Compuesto (I), así como solvatos de la base libre del Compuesto (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El término "sal farmacéuticamente aceptable" tal como se usa en el presente documento, se refiere a sales del Compuesto (I),  
15 que son sustancialmente no tóxicas para los organismos vivos. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables y procedimientos para su preparación son convencionales en la técnica. Véase por ejemplo, Sthal et al., "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use", VCHA/Wiley-VCH, (2002); Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); y Bastin et al., "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435  
20 (2000). Hay que hacer mención especial a la sal de cloruro de hidrógeno, la sal de bromuro de hidrógeno y la sal hemisulfato, sin embargo se entenderá que se prefiere la base libre del Compuesto (I).

Tal como se usa en el presente documento el término "paciente" se refiere a un ser humano, un mamífero no humano tal como un perro, gato, vaca, mono, caballo u oveja. Más particularmente, el término "paciente" se refiere a un ser humano. El término "tratar" (o "trato" o "tratamiento") tal como se usa en el presente documento, incluye impedir, prevenir, limitar, disminuir, detener o invertir el progreso o intensidad de un síntoma o trastorno.  
25

El compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede ser formulado para administración como parte de una composición farmacéutica. Como tal, composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables son una realización importante de la invención. Ejemplos de composiciones farmacéuticas y procedimientos para su preparación son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, A. Gennaro, et al., eds., 19ª. Ed., Mack Publishing (1995). Composiciones ilustrativas que comprenden el Compuesto (I) incluyen, por ejemplo: Compuesto (I) en suspensión con carboximetilcelulosa de sodio al 1%, polisorbato 80 al 0,25% y Antifoam 1510™ al 0,05% (Dow Corning); Compuesto (I) en nanosuspensión con carboximetilcelulosa de sodio al 1%, polisorbato 80 al 0,25% y Antifoam 1510 al 0,05%; y Compuesto (I) en suspensión con metilcelulosa al 0,5%, lauril sulfato de sodio al 1% y Antifoam 1510 al 0,1% en HCl 0,01 N. Composiciones particulares que comprenden el Compuesto (I) se proporcionan a continuación:  
30  
35

Compuesto (I) formulado en solución oral

| Ingrediente        | Concentración |
|--------------------|---------------|
| Compuesto (I)      | 0,1 mg/ml     |
| HP-p-CD            | 10%(p/v)      |
| Aroma de menta     | 0,03% (v/v)   |
| Irrigación de agua | c.s.p. 100%   |

40 Por ejemplo, se añaden 50,0 g de hidroxipropil-(3-ciclodextrina (HP-(3-CD) (Roquette) a un vaso de precipitados de 500 ml seguido durante aproximadamente 400 ml de agua para irrigación y la mezcla se agita magnéticamente durante aproximadamente 30 minutos para disolver la HP-β-CD. Se añaden 50,0 mg del Compuesto (I), particularmente en forma micronizada a la solución HP-β-CD y la mezcla se cubre con agitación continua (aproximadamente 2 horas) para disolver el Compuesto. Se añaden aroma de menta (0,15 ml) a la mezcla con  
45 agitación continua para dispersar el aroma. La solución se transfiere a un matraz volumétrico y se añaden más agua para irrigación para llevar al volumen final a 500 ml.

Compuesto (I) formulado en vehículo en suspensión oral

| Ingrediente del vehículo en suspensión | Concentración |
|----------------------------------------|---------------|
| Metocel E5-LV                          | 1,5% (p/v)    |

|                      |             |
|----------------------|-------------|
| Sorbitol líquido     | 10%(p/v)    |
| Sacarina de sodio    | 0,08% (p/v) |
| Tween 80             | 0,25% (p/v) |
| Antifoam 1510        | 0,05% (v/v) |
| Aroma de meta        | 0,03% (v/v) |
| Agua para irrigación | c.s.p. 100% |

Por ejemplo, se añaden 1,25 g de Tween 80 (Fluka) a un vaso de precipitados de 500 ml seguido por 7,5 g de hidroxipropilmetil celulosa (Methocel E5-LV, Colorcon) y 0,4 g de sacarina de sodio (Sigma). Se añaden aproximadamente 300 ml de agua para irrigación al vaso de precipitados y la mezcla se cubre y se agita magnéticamente hasta que se disuelve totalmente el contenido. Se pesan 50,0 g de sorbitol líquido (Fluka) en un vaso de precipitados y luego se añaden a la solución de hidroxipropil metil celulosa (el vaso de precipitados de 100 ml se aclara con agua y el aclarado se añade a la solución de hidroxipropil metilcelulosa). Se añaden 0,15 ml de aroma de menta a la mezcla con agitación, seguido por 0,25 ml de Antifoam 1510 (Dow Corning) con agitación continua durante aproximadamente 10 minutos. La solución se transfiere a continuación a un matraz volumétrico de 500 ml y se añade más agua para irrigación para llevar el volumen final a 500 ml. El vehículo en suspensión final se sella seguidamente en frascos con tapa de rosca hasta que se usan.

Para preparar la suspensión que contiene el Compuesto (I), se añade en primer lugar a un frasco nuevo la cantidad requerida del Compuesto (I) (por ejemplo 1-200 mg, particularmente en forma micronizada). El volumen del vehículo en suspensión se agita suavemente, después se añaden 10 ml del vehículo al frasco que contiene el Compuesto (I). El frasco se sella seguidamente y se agita vigorosamente para dispersar el Compuesto, después se deja durante aproximadamente 1 minuto antes de usar. De forma alternativa, la cantidad deseada del Compuesto (I) se puede añadir a un frasco nuevo que contiene 10 ml del vehículo en suspensión, sellándose y agitándose el frasco a continuación como se ha descrito antes.

Se entenderá, sin embargo, que una composición preferente de la presente invención comprende el Compuesto (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo formulado en una cápsula o comprimido.

El compuesto (I), o las composiciones que comprenden el Compuesto (I) se pueden administrar por cualquier vía que haga el Compuesto (I) biodisponible, que incluyen las vías oral o parenteral. Por ejemplo, el Compuesto (I), o las composiciones que comprenden el Compuesto (I) se pueden administrar por las vías oral, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, tópica, intranasal, rectal, bucal y similares. De forma alternativa, el compuesto se puede administrar por infusión continua. Se entenderá, sin embargo, que la administración oral es una vía preferente de administración.

Tal como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a las cantidades o dosis del Compuesto (I) que, tras administrarse en una forma de monodosis o de dosis múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento. Una cantidad eficaz puede ser fácilmente determinada por el especialista encargado, como experto en la técnica, considerando una serie de factores tales como especies de mamíferos; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad específica implicada; el grado o intensidad de la enfermedad, la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; la forma de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; la pauta de dosificación seleccionada; y el uso de cualquier medicación concomitante. Aunque no se considerará limitante de la presente invención en modo alguno, 1-200 mg/día representan una cantidad eficaz típica del Compuesto (I).

#### Actividad Biológica:

El compuesto (I) posee un perfil particular de actividad en pruebas *in vitro*, lo cual sugiere que es particularmente adecuado para el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunitarios sensibles a glucocorticoides clásicos. Por ejemplo, en estudios de unión a ligandos radiomarcados llevados a cabo en células HEK293 que expresan GR, MR, AR y RP humanos, el Compuesto (I) se une a GR con una  $K_i$  de al menos aproximadamente 0,50 nM. Además, el Compuesto (I) se une a GR con una afinidad aproximadamente 30 veces o más mayor en relación con cada uno de MR, AR y PR. En ensayos de transrepresión mediados por el receptor glucocorticoide de célula completa, llevados a cabo en células CCD-39 SK de fibroblasto de piel humana y monocitos U937, el Compuesto (I) es un transrepressor potente y completo (mayor de aproximadamente 90% de inhibición máxima) de la producción endógena de IL-6 y  $TNF\alpha$ . De forma significativa, en un ensayo funcional de transactivación mediada por GR, el Compuesto (I) presenta únicamente actividad agonista parcial (menos de aproximadamente 50% de eficacia máxima) en transcripción génica mediada por GR/GRE. Así, el Compuesto (I) presenta un perfil diferenciado que induce la transrepresión medida por GR completa, induciendo solo parcialmente la transactivación medida por GR/GRE. Además, en ensayos que examinan los efectos sobre la modulación funcional de otros receptores esteroideos, el Compuesto (I) presenta solo una actividad limitada en la modulación génica mediada por AR, MR y PR.

En modelos animales tanto agudos como crónicos de inflamación, que comparan los efectos del Compuesto (I) con un glucocorticoide esteroideo, el Compuesto (I) presenta potentes propiedades antiinflamatorias. Por ejemplo, en un modelo de rata con edema agudo en la pata inducido por carragenano (CPE), el Compuesto (I), en administración oral, inhibe, de forma dependientemente de la dosis, el edema de la pata inducido por carragenano e inhibe la producción interleucina-1-beta (IL- $\beta$ ), una citocina generada durante la respuesta inflamatoria. Estos resultados se comparan favorablemente con los resultados provocados por prednisolona que es aproximadamente 5 veces menos potente bajo condiciones similares.

Por el contrario, el Compuesto (I) presenta una propensión reducida para provocar efectos óseos mediados por GR, cuando se examina en modelos animales de formación ósea. Por ejemplo, en un ensayo de osteocalcina de suero en el ratón que compara los efectos del Compuesto (I) con prednisolona (en dosis que se aproximan a los valores de ED<sub>50</sub> respectivos para el Compuesto (I) y prednisolona en un modelo animal de inflamación), el Compuesto (I) induce menor reducción en la producción de osteocalcina de suero, un marcador reconocido en la formación ósea.

Se proporcionan abajo procedimientos típicos para los ensayos *in vitro* y modelos de animal *in vivo* mencionados anteriormente. Tal como se usa en el presente documento, "Kd" se refiere a la constante de disociación en equilibrio para un complejo ligando-receptor; "Ki" se refiere a la constante de disociación en equilibrio para el complejo fármaco-receptor, y es una indicación de la concentración del fármaco que se unirá a la mitad de los sitios de unión en equilibrio; "CI<sub>50</sub>" se refiere a la concentración de un agente que produce un 50% de la posible respuesta inhibitoria máxima para dicho agente o, de forma alternativa, a la concentración de un agente que produce un 50% de desplazamiento del ligando unido al receptor; "CE<sub>50</sub>" se refiere a la concentración de un agente que produce un 50% de la posible respuesta máxima para dicho agente; y "DE<sub>50</sub>" se refiere a la dosis de un agente terapéutico administrado que produce un 50% de la respuesta máxima para dicho agente.

Ensayos de unión al receptor de la hormona nuclear:

Se usan lisados celulares de células HEK293 de riñón embrionario humano que sobrexpresan GR humano (receptor glucocorticoide), AR (receptor andrógeno), MR (receptor mineralocorticoide) o PR (receptor de progesterona) para ensayos de unión competitivos receptor-ligando para determinar valores de Ki.

De forma resumida, los ensayos de unión competitivos del receptor esteroideo se llevan a cabo en un tampón que contiene 20 mM de tampón Hepes (pH =7,6), EDTA 0,2 mM, NaCl 75 mM NaCl, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, 20% de glicerol, 20 mM de molibdato de sodio, DDT 0,2 mM (ditiotreitól), 20 µg/ml de aprotinina y 20 µg/ml de leupeptina. De forma típica, ensayos de unión al receptor esteroideo incluyen ligandos radiomarcados, tal como [<sup>3</sup>H]-dexametasona 0,3 nM para unión de GR, [<sup>3</sup>H]-metiltienolona 0,36 nM para unión de AR, [3H]-aldosterona 0,25 nM para unión de MR y [<sup>3</sup>H]-metiltienolona 0,29 nM para unión de PR, y bien 20 µg de lisado de 293-GR, 22 µg de lisado de 293-AR, 20 µg de lisado de 293-MR o 40 µg de lisado de 293-PR por pocillo. Los ensayos se llevan a cabo de forma típica en formato de 96 pocillos. Se añaden compuestos de prueba de competencia en diversas concentraciones que varían de aproximadamente 0,01 nM hasta 10 µM. Se determinan uniones no específicas en presencia de 500 nM de dexametasona para unión de GR, 500 nM de aldosterona para unión de MR, o 500 nM de metiltienolona para unión de AR y PR. Las reacciones de unión (140 µl) se incuban durante la noche a 4 °C, después se añaden 70 µl de tampón de carbón mineral-dextrano frío (que contiene por cada 50 ml de tampón de ensayo, 0,75 g de carbón mineral y 0,25 g de dextrano) a cada reacción. Las placas se mezclan durante 8 minutos en un agitador orbital a 4 °C. Las placas se centrifugan seguidamente a 3,000 rpm a 4 °C durante 10 minutos. Después se transfiere una alícuota de 120 µl de la mezcla de reacción de unión a otra placa de 96 pocillos y se añaden 175 µl de líquido de centelleo Wallac Optiphase Hisafe 3™ a cada pocillo. Las placas se sellan y se agitan vigorosamente en un agitador orbital. Después de una incubación de 2 horas, las placas se leen en un contador Wallac Microbeta.

Los datos se usan para calcular una CI<sub>50</sub> estimada y el porcentaje de inhibición a 10 µM. La Kd para [<sup>3</sup>H]-dexametasona para unión a GR, [<sup>3</sup>H]-metiltienolona para unión a AR, [<sup>3</sup>H]-aldosterona para unión a MR o [<sup>3</sup>H]-metiltienolona para unión a PR, se determinan por unión a saturación. Los valores de CI<sub>50</sub> para compuestos se convierten a Ki usando la ecuación Cheng-Prusoff.

Se pueden diseñar fácilmente protocolos de ensayo de unión similares a los descritos antes por el experto medio en la técnica. Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el Compuesto (I) presenta el siguiente perfil de unión al receptor:

| Ki de GR(nM) | Ki de AR(nM) | Ki de MR(nM) | Ki de PR(nM) |
|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 0,35         | 16,20        | 116,76       | 31,00        |

(los valores de Ki representan una media de 5 determinaciones individuales)

Para demostrar la capacidad de los compuestos de la presente invención para modular la actividad de receptores de hormonas esteroideas (es decir, agonista, agonista parcial, antagonista parcial o antagonista), se realizan bioensayos que detectan la modulación funcional de expresión génica objetivo en células recién transfectadas con una proteína del receptor nuclear y una construcción de elemento de respuesta de la hormona-gen informador. Los disolventes, reactivos y ligandos empleados en el ensayo funcional están fácilmente disponibles de suministradores

comerciales, o se pueden preparar por un experto medio en la técnica.

Ensayos de modulación funcional del receptor de hormona nuclear:

Se transfectan células HEK2 93 de riñón embrionario humano con plásmidos del gen informador y el receptor de hormonas esteroideas usando reactivo de transfección Fugene™ (Roche Diagnostics). De forma resumida, el plásmido informador que contiene dos copias de probasina ARE (elemento de respuesta de andrógeno 5'GGTCTTGAGTACT3' (SEC ID N°: 1)) y promotor TK (timidina cinasa) cadena arriba del ADNc informador de la luciferasa, se transfecta en células HEK293 con un receptor andrógeno (AR) humano que expresa constitutivamente plásmido usando el promotor CMV (citomegalovirus) viral. El plásmido informador que contiene dos copias de GRE (elemento de respuesta de glucocorticoide 5'TGTACAGGATGTTCT'3 (SEC ID N°: 2)) y el promotor TK cadena arriba del ADNc informador de la luciferasa es transfectado con un plásmido que expresa constitutivamente, bien el receptor glucocorticoide humano (GR), el receptor mineralocorticoide humano (MR) o el receptor de progesterona humano (PR) usando un promotor CMV viral. Las células se transfectan en matraces T150 cm en medio DMEM con Suero Bovino Fetal (FBS) destilado en carbón mineral al 5%. Después de una noche de incubación, las células transfectadas se tripsinizan, se colocan en placas en forma de disco de 96 pocillos en medio DMEM que contiene 5% de FBS destilado en carbón mineral, se incuban durante 4 horas y después se expone a varias concentraciones de los compuestos de prueba que varían de aproximadamente 0,01 nM a 10 µM. En el modo antagonista para los ensayos, se añaden concentraciones bajas de agonista para cada receptor respectivo al medio (0,25 nM de dexametasona para GR, 0,3 nM de metiltrienolona para AR, 0,05 nM de promegestona para PR y 0,05 nM de aldosterona para MR), y se determina la capacidad del compuesto de prueba para antagonizar la respuesta agonista. Después de 24 horas de incubación con los compuestos de prueba, las células se lisan y se determina la actividad de luciferasa usando técnicas convencionales.

Los datos se ajustan a una curva logística de cuatro parámetros fijos para determinar los valores de CE<sub>50</sub>. Se determina el porcentaje de eficacia (compuesto con respuestas máximas saturadas) o el porcentaje de estimulación máxima (compuestos con respuestas máximas que no se saturan) en relación con la estimulación máxima obtenida con los siguientes agonistas de referencia: 100 nM de metiltrienolato para el ensayo de AR, con 30 nM de promegestona para el ensayo de PR, con 30 nM de aldosterona para el ensayo de MR y con 100 nM de dexametasona para el ensayo de GR. Se pueden determinar los valores de CI<sub>50</sub> similarmente usando datos del ensayo en modo antagonista. También se puede determinar el porcentaje de inhibición en relación con la respuesta en presencia de agonista solo, como se describe anteriormente.

Se pueden diseñar fácilmente ensayos funcionales para la modulación del receptor de hormonas nucleares similares a los descritos anteriormente por el experto medio en la técnica. Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describen anteriormente, el Compuesto (I) presenta el siguiente perfil en activación de transcripción mediada por GR humano, AR humano, MR humano y PR humano:

| GR                    |           | AR                    |           | MR                    |           | PR                    |           |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| CE <sub>50</sub> (nM) | % de Ef.* |
| 1,9                   | 45,7      | nd                    | 2,4       | nd                    | 8,5       | nd                    | 40,1      |

"nd" indica valores que son mayores que 10 µM  
 \* porcentaje de eficacia a 10 µM  
 (valores EC50 y % de eficacia representan media de 3 determinaciones individuales)

Ensayos de transrepresión mediada por el receptor glucocorticoide:

1. Producción de IL-6 estimulada por IL-1β en células CCD-39SK de fibroblasto de la piel humana:

De forma resumida, se siembran células CCD-39SK de fibroblasto de piel humana (20.000 células/pocillo), obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA. U.S.A. (ATCC Catálogo n° CRL-1501) en placas de 96 pocillos en medio SF-GM (MEM) (ATCC Catálogo n° 30-20030), suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomocina y 2 mmol/l de L-glutamina. Las células se mantienen en una cámara humidificada con CO<sub>2</sub> al 5% a 37 °C. Se añaden los compuestos de prueba a los pocillos en diversas concentraciones que varían de una concentración final de aproximadamente 4,65 pM hasta 4,64 µM. Se usan 0,1 µM de dexametasona como control positivo. 1 hora después del tratamiento con el compuesto de prueba, se añade IL-1β a una concentración final de 1 ng/ml y la mezcla de reacción se incuban durante la noche. Se miden las concentraciones de IL-6 con un Kit ELISA (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, U.S.A.) usando técnicas convencionales. De forma resumida, se toman 10 µl de líquido sobrenadante de cada pocillo y se añaden 90 µl de tampón de ensayo. Se cuantifican las concentraciones de IL-6 por lectura de la absorbancia a 450 nm. Se construye una curva patrón de absorbancia frente a la concentración de IL-6 y se usa para determinar la concentración de IL-6 en las muestras experimentales.

2. Producción de TNF- $\alpha$  estimulada por LPS en células U937 diferenciadas por PMA:

- Se reproducen células premonocíticas U937 humanas (ATCC Catálogo nº CRL-1593-2) en medio RPMI 1640 completo (ATCC Catálogo nº 30-2001) que contiene suero bovino fetal al 10% (FBS). Para permitir que los monocitos se diferencien a macrófagos adherentes, se lavan las células U937 en PBS (exento de calcio, magnesio) y se suspende nuevamente en medio RPMI nuevo que contiene 2 0 nM de 12-miristato-13-acetato de forbol (PMA) durante la noche. Después de la diferenciación, se añaden los compuestos de prueba a las células en la placa de 96 pocillos en diversas concentraciones que varían de aproximadamente 4,65 pM hasta 4,64  $\mu$ M. 1 hora después del tratamiento con el compuesto de prueba, se añade LPS a una concentración final de 100 ng/ml y la mezcla de reacción se incuba durante la noche.
- 5 Se mide la producción de TNF- $\alpha$  con un kit ELISA (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, U.S.A.) usando técnicas convencionales. De forma resumida, se transfieren 25  $\mu$ l del sobrenadante exento de células a otra placa de 96 pocillos y se añaden 75  $\mu$ l del tampón de ensayo. Se cuantifica TNF- $\alpha$  leyendo la absorbancia a 450 nm. Se construye una curva patrón de absorbancia frente a la concentración de TNF- $\alpha$  y se usa para determinar la concentración de TNF- $\alpha$  en muestras experimentales.
- 10 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el Compuesto (I) induce aproximadamente un 90% o más de la inhibición máxima de la expresión endógena de IL-6 y TNF- $\alpha$  con valores de CE<sub>50</sub> de aproximadamente 4,8 y 30 nM, respectivamente (con datos del ensayo IL-6 que representan una media de 22 determinaciones individuales; y datos del ensayo TNF- $\alpha$  que representan una media de 6 determinaciones individuales).

## 20 Modelos Animales:

## 1. Modelo de Edema de la Pata (CPE) inducido por carragenano.

- Los carragenanos son un grupo de polisacáridos que pueden inducir una respuesta inflamatoria aguda en animales. Signos esenciales de inflamación incluyen edema, hiperalgesia y eritema se desarrollan en el sitio de inyección inmediatamente después de la inyección. El modelo CPE (Winter et al., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111, 544-547, 1962) es un modelo reconocido de inflamación y se puede usar para evaluar los efectos antiinflamatorios de los ligandos del receptor glucocorticoide.
- 25

- Para evaluar los efectos antiinflamatorios del Compuesto (I), se formula el Compuesto (I) en un vehículo que comprende, 0,5% de carboximetil celulosa y 0,25% de Tween 80, después se administra oralmente mediante sonda gástrica a ratas Sprague-Dawley macho (180-200 g) (Harlan Industries, Indianápolis, IN). Para la comparación, se administra prednisolona oralmente en el mismo vehículo. Dos horas más tarde, se inyecta 1% de carragenano en 50  $\mu$ l de solución salina al 0,9% apirógena en las regiones subplantar de la pata trasera derecha. Las ratas se sacrifican por CO<sub>2</sub> a las 3 horas después de la inyección de carragenano. Las patas se extirpan, después se pesan usando una microbalanza. Las patas se sumergen inmediatamente después en nitrógeno líquido hasta congelación. Las patas congeladas se seccionan haciendo varios cortes en la superficie de la pata, después se centrifugan para extraer los exudados. Los niveles de exudado de IL-1 $\beta$ , generan una citocina durante la respuesta inflamatoria, después se mide por ELISA (R&D Systems, Inc., Catálogo Nº RLBOO) usando técnicas convencionales. También se mide la proteína total de la pata usando un kit de ensayo de proteína (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A., Catálogo nº 1856210) y se normaliza el nivel absoluto de IL-1 para proporcionar un valor de concentración de ng IL-1 $\beta$ /mg de proteína total.
- 30
- 35

- El Compuesto (I) inhibe el aumento de peso de la pata inducido por carragenano con una DE<sub>50</sub> de aproximadamente 1,2 mg/kg. El Compuesto (I) también reduce los niveles de exudado de IL-1 $\beta$  de la pata con una DE<sub>50</sub> de aproximadamente 0,31 mg/kg. Contrariamente, el tratamiento con prednisolona en este modelo, inhibe el aumento de peso de la pata con una DE<sub>50</sub> de aproximadamente 6,6 mg/kg, y reduce los niveles de IL-1 $\beta$  con una DE<sub>50</sub> de menos de aproximadamente 1 mg/kg (con valores de DE<sub>50</sub> que representan una media de 5 determinaciones individuales).
- 40
- 45

## 2. Ensayo de osteocalcina sérica

- La pérdida ósea/osteoporosis y el mayor riesgo resultante de fractura es un efecto adverso común y significativo originado por el tratamiento con glucocorticoides. La osteoporosis inducida por glucocorticoides se cree que resulta, al menos en parte, de una inhibición de la formación ósea. La medición de osteocalcina sérica, un marcador biológico de la síntesis ósea, es una herramienta reconocida para valorar los efectos adversos del tratamiento con glucocorticoides en los huesos, (véase, Pearce et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 83: 801-806, (1998)).
- 50

- Para valorar los efectos del Compuesto (I) sobre la formación ósea, se formula el Compuesto (I) en un vehículo que comprende 5% de carboximetil celulosa y 0,25% de Tween 80 y se administra oralmente mediante sonda gástrica a ratones Swiss-Web machos de dieciséis semanas (Harlan Industries, Indianápolis, IN) durante siete días. Para la comparación, se administra oralmente prednisolona en el mismo vehículo. Se recoge el suero 24 horas después de la última dosis y se determinan los niveles de osteocalcina usando un kit de radioinmunoensayo competitivo (RIA)
- 55

(Biomedical Technologies, Inc., Stoughton, MA) modificado a un formado de 96 pocillos. De forma resumida, cada pocillo de una placa Multiscreen™ (MAHV N45, Millipore, Bedford, MA) que contiene 2,5 µl de suero de ratón, 2,5 µl de osteocalcina anti-ratón de cabra, 0,625 µl de suero de cabra normal y 119,375 µl de tampón RIA (0,1225 M de NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,01 M, pH 7,4, EDTA tetrasódico 0,025 M, 0,1% (p/v) de BSA y 0,1% (p/v) de Tween-20) se incuban a 4 °C durante 18 horas en un agitador orbital a 80 rpm. Después de la adición de 0,2 µCi/ml de osteocalcina de ratón [<sup>125</sup>I] en 25 µl de tampón RIA a cada pocillo, las placas se incuban durante 14 h a 4 °C en un agitador orbital a 80 rpm. El complejo se precipita durante 2 horas a 25 °C durante la adición de IgG anti-cabra de burro (1:30) en Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M, pH 7,4 5% (p/v) de polietilenglicol, 125 µl/pocillo. El precipitado se recoge por filtración a vacío y se lava una vez con 100 µl/pocillo de dH<sub>2</sub>O. Los filtros se perforan y la radioactividad se cuantifica en un contador gamma (Cobra II, Packard Instruments, Meriden, CT). La radioactividad detectada en los filtros de las muestras de prueba es inversamente proporcional a la concentración de osteocalcina de suero. Se usa una curva patrón de osteocalcina de ratón purificada para calcular la concentración de osteocalcina de suero en las muestras de prueba.

Comparando las dosificaciones diarias de aproximadamente los valores DE<sub>50</sub> determinados en el modelo CPE de rata (1 mg/kg/día del Compuesto (I) y 10 mg/kg/día de prednisolona), el Compuesto (I) induce menos reducción en niveles de osteocalcina sérica que la prednisolona (con niveles de osteocalcina sérica que representan una media de 6 determinaciones individuales).

Tal como se indica, el Compuesto (I) posee efectos técnicos adicionales o propiedades ventajosas que sortean otras limitaciones en el campo del tratamiento del paciente y del desarrollo farmacéutico. Por ejemplo, el Compuesto (I) presenta buena biodisponibilidad y buena exposición plasmática después de la administración oral a animales de prueba. Además, el Compuesto (I) muestra un menor metabolismo solo cuando se incuban con cultivos de hepatocito humano *in vitro*. Además, el perfil metabólico de plasma de rata, perro y mono, después de la administración *in vivo* del Compuesto (I), muestra que el Compuesto (I) es la principal entidad circulante, sin metabolitos detectados en plasma de mono. Además, el Compuesto (I) parece ser no genotóxico cuando se examina en ensayos *in vitro* y estudios *in vivo* de potencial genotóxico. En vista de estas y otras propiedades, se cree que el Compuesto (I) es especialmente adecuado para el tratamiento de trastornos inflamatorios o inmunitarios crónicos, que a menudo requieren una dosificación repetida o a largo plazo del agente terapéutico.

Además de las propiedades que benefician el tratamiento del paciente benéfico, el Compuesto (I) posee otras ventajas adicionales, que facilitan su desarrollo farmacéutico. Por ejemplo, el Compuesto (I) se puede aislar en forma cristalina. Además, se apreciará que además de poseer las propiedades biológicas deseadas, también es deseable que un agente terapéutico posea además ciertas características físicas. En particular, se desean compuestos que sean estables, sólidos cristalinos puesto que estos son particularmente adecuados para los paradigmas convencionales de la síntesis química, purificación, almacenaje y formulación o para desarrollar formas de dosificación. "Forma cristalina" o "forma de cristal" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una forma sólida de una especie química que tiene una disposición cristalina característica que distingue la forma sólida de otras formas de la misma composición elemental. "Forma cristalina sustancialmente pura", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una forma cristalina pura de las especies químicas que comprenden más de aproximadamente 95% de la forma cristalina particular y preferiblemente más que aproximadamente 98% de la forma cristalina particular.

Una forma cristalina particular se puede caracterizar y distinguirse de este modo de otras formas sólidas de la misma especie química usando técnicas convencionales, que incluyen difracción en polvo de rayos X (XRPD), procedimientos espectroscópicos (por ejemplo, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) o infrarroja (IR)), y técnicas térmicas (por ejemplo, calorimetría de barrido diferencial (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) o análisis térmico diferencial (DTA)). Aunque el XRPD es un medio particularmente útil para caracterizar formas cristalinas de una especie química, se apreciará que las intensidades reales de los picos en el patrón de rayos X puede variar entre diferentes análisis de la misma forma cristalina dependiendo de la muestra analizada y del instrumento, disolvente o procedimientos empleados. Además, también se entenderá que aunque las ubicaciones exactas de los picos obtenidas de los análisis de una forma cristalina proporcionada, como se mide en  $^{\circ}2\theta$ , puede variar entre diferentes análisis (por ejemplo  $\pm 0,1^{\circ}$ ), el patrón relativo de ubicaciones de los picos permanecerá esencialmente el mismo entre espectro.

La presente invención proporciona el Compuesto (I) en forma cristalina. Más particularmente, la presente invención proporciona la base libre del Compuesto (I) en forma cristalina que tiene picos característicos a  $^{\circ}2\theta$  de aproximadamente 10,9, 18,8 y 22,9 (Forma I en los Ejemplos de este documento). Además, la presente invención proporciona la base libre del Compuesto (I) en forma cristalina que tiene picos característicos a  $^{\circ}2\theta$  de aproximadamente 4,5, 9,0, 11,5 y 14,7 (Forma II en los Ejemplos de este documento). Todavía más particularmente, la presente invención proporciona cada una de las Formas I y III del Compuesto (I) en forma cristalina sustancialmente pura. Además, el Compuesto (I) es no higroscópico y estable bajo las condiciones de temperatura incrementada, humedad relativa y exposición a la luz.

Un experto en la técnica también apreciará que el tamaño de partícula puede afectar la disolución *in vivo* de un agente farmacéutico que, a su vez, puede afectar a la absorción del agente. "Tamaño de partícula" tal como se usa en el presente documento, se refiere al diámetro de una partícula de un agente farmacéutico que se determina por técnicas convencionales tales como dispersión por luz láser, difracción láser, dispersión Mie, fraccionamiento de flujo

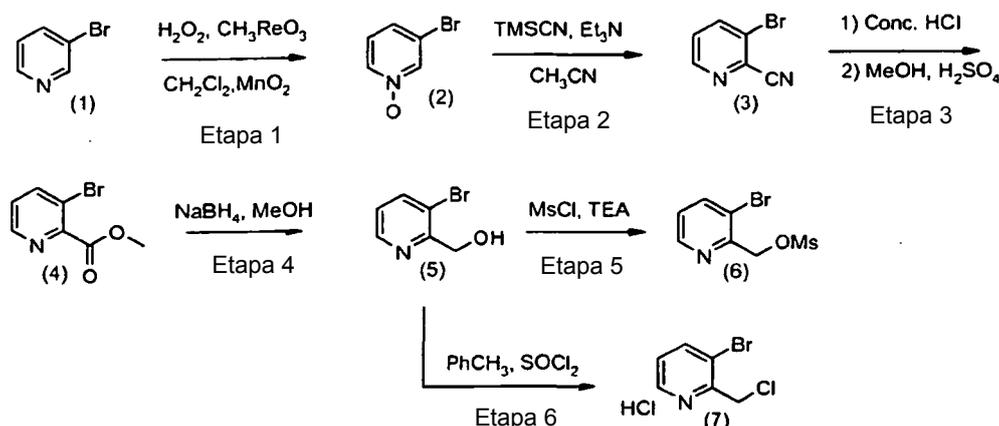
del campo de sedimentación, espectroscopia de correlación de fotón y similares. Cuando los agentes farmacéuticos tienen baja solubilidad, pequeños o reducidos tamaños de partícula pueden ayudar a la disolución y, así, incrementar la absorción del agente. Amidon et al., Pharm. Research, 12; 413-420 (1995). Los procedimientos para reducir o controlar el tamaño de partícula (micronización) son convencionales e incluyen molino de bolas, molino de agujas, molino de chorros, molienda por vía húmeda y similares. Otro procedimiento para controlar el tamaño de partícula conlleva preparar el agente farmacéutico en forma de una nanosuspensión.

Se ha descubierto que las preparaciones químicas del Compuesto (I) proporcionan cristales que tienen tamaños de partícula característicos. En particular, las muestras de la base libre del Compuesto (I), cuando se preparan esencialmente de conformidad con el Ejemplo I(a) como se describe en el presente documento, proporcionan un tamaño de partícula promedio menor de 20  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $d_{90}$  (es decir, el tamaño en el cual el 90% de las partículas son más pequeñas que o igual a) menor de 50  $\mu\text{m}$  (tamaños de partículas determinados usando un Analizador de Tamaño de Partícula de Difracción Láser Beckman Coulter LS13 320). Además, las muestras micronizadas de la base libre del Compuesto (I), cuando se preparan esencialmente como se describe en los Ejemplos 6 y 7 en el presente documento, proporcionan un tamaño de partícula  $x_{50}$  (es decir, el tamaño en el cual el 50% de las partículas son más pequeñas que o igual a) o menores de 10  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $x_{90}$  (es decir, el tamaño en el cual el 90% de las partículas son más pequeñas que o igual a) menor de 20  $\mu\text{m}$  (tamaño de partícula determinado usando un analizador de tamaño de partícula de difracción láser Sympatec (Sistema de Análisis de Tamaño de Partícula HELOS)). Como tal, una realización particular de la presente invención es la base libre del Compuesto (I), o una composición farmacéutica que comprende la base libre del Compuesto (I), en la que el Compuesto (I) tiene un tamaño de partícula promedio menor que 20  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $d_{90}$  menor de 50  $\mu\text{m}$ . Una realización más particular es la base libre del Compuesto (I), o una composición farmacéutica que comprende la base libre del Compuesto (I), en la que el Compuesto (I) tiene un tamaño de partícula promedio menor de 15  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $d_{90}$  menor de 40  $\mu\text{m}$ . Aún más particular es la base libre del Compuesto (I), o una composición farmacéutica que comprende la base libre del Compuesto (I), en la que el Compuesto (I) tiene un tamaño de partícula  $x_{50}$  menor de 10  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $x_{90}$  menor de 20  $\mu\text{m}$ . Más particularmente aún es la base libre del Compuesto (I), o una composición farmacéutica que comprende la base libre del Compuesto (I), en la que el Compuesto (I) tiene un tamaño de partícula  $x_{50}$  menor de 5  $\mu\text{m}$  y un tamaño de partícula  $x_{90}$  menor de 15  $\mu\text{m}$ . Además, un ejemplo del Compuesto (I) en nanosuspensión se proporciona en los Ejemplos, en el presente documento.

Se conocen en la técnica procedimientos para preparar el Compuesto (I). Por ejemplo, el documento WO 04/052847 proporciona procedimientos generales que se pueden emplear. Además, el documento WO 05/066161 proporciona procedimientos generales adicionales que se pueden emplear. Los siguientes Esquemas, Intermedios y Ejemplos adicionales ilustran la invención y representan las síntesis típicas del Compuesto (I). Los reactivos y materiales de partida son fácilmente disponibles, o pueden ser fácilmente sintetizados por un experto medio en la técnica. Se entenderá que los Esquemas, Intermedios y Ejemplos se muestran a modo de ilustración y no de limitación, y que se pueden hacer modificaciones por un experto medio en la técnica.

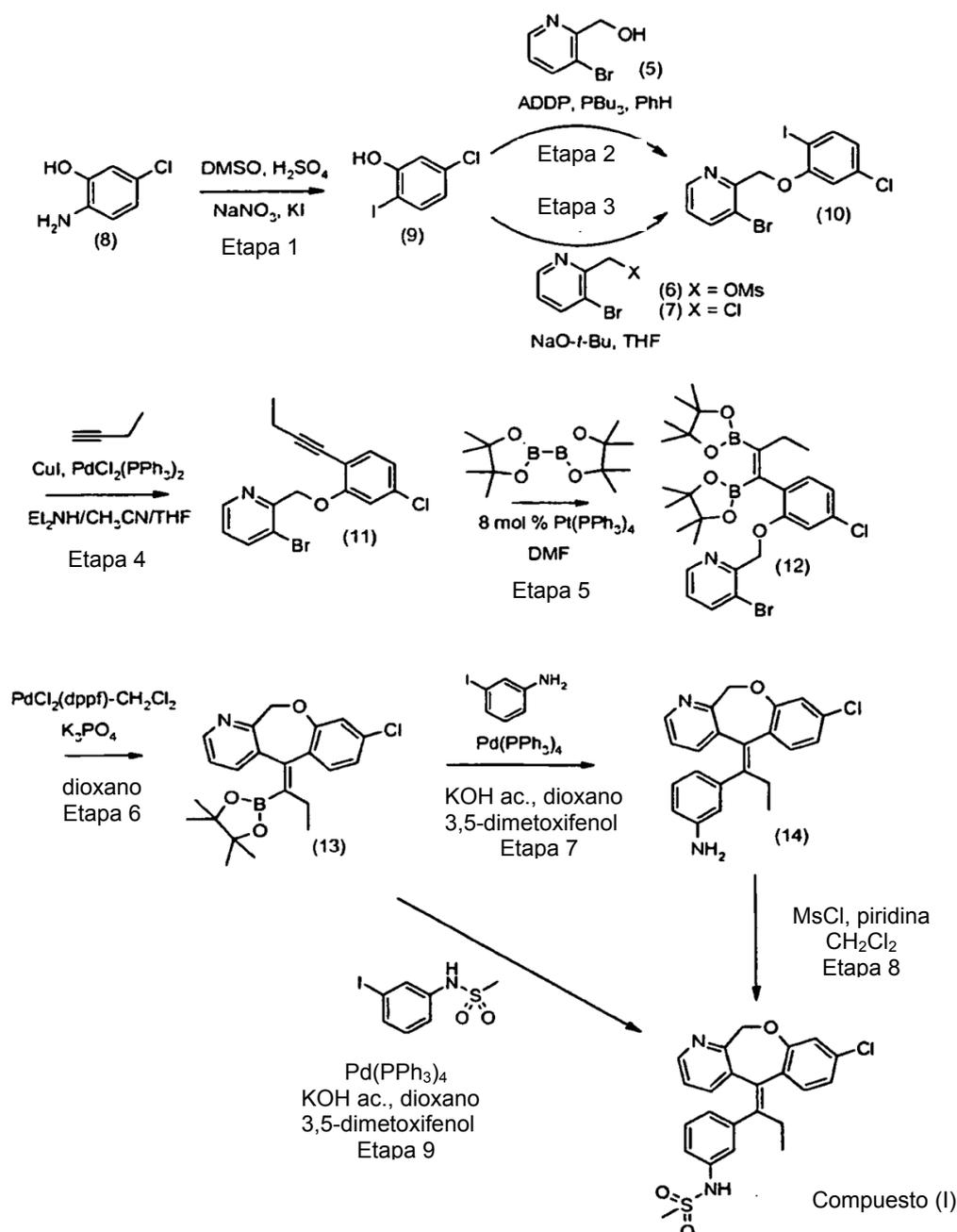
Tal como se usa en el presente documento "DMSO" se refiere a dimetil sulfóxido; "DIAD" se refiere a azodicarboxilato de diisopropilo; "ADDP" se refiere a 1,1'-(azodicarbonil)dipiperidina; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "TMSCN" se refiere a cianuro de trimetilsililo; "TEA" o "Et<sub>3</sub>N" se refiere a trietilamina; "DME" se refiere a 1,2-dimetoxietano; "AcOEt" se refiere a acetato de etilo; "pyr" se refiere a piridina; "MsCl" se refiere a cloruro de metanosulfonylo, "Et<sub>2</sub>NH" se refiere a dietilamina; "MeOH" se refiere a metanol; "PhCH<sub>3</sub>" se refiere a tolueno; "PhH" se refiere a benceno; "PBU<sub>3</sub>" se refiere a tributilfosfina; "PPh<sub>3</sub>" se refiere a trifenilfosfina; "dppf" se refiere a 1,1'-bis(difenilfosfanil)ferroceno, "NaO-*t*-Bu" se refiere a *tert*-butóxido de sodio; "MTBE" se refiere a éter de *tert*-butil metílico.

## Esquema I



En el Esquema I se describe la preparación de los intermedios de piridina (5), (6), y (7). En el Esquema I, Etapa 1, se oxida 1,3-bromopirina (1) a 3-bromo-piridina-N-óxido (2). En el Esquema I, Etapa 2, la sustitución de cianuro proporciona 3-bromo-piridina-2-carbonitrilo (3). El nitrilo de fórmula (3) se hidroliza en la Etapa 3 al ácido carboxílico y se esterifica con catalizador ácido al éster de fórmula (4). En el esquema de reacción I, Etapa 4, el éster se reduce a la piridinilmetanol de fórmula (5) usando borohidruro de sodio. El piridinilmetanol se convierte al mesilato de fórmula (6) con cloruro de metanosulfonilo (Etapa 5) o al cloruro de piridinilmetilo de fórmula (7) usando cloruro de tionilo (Etapa 6).

## Esquema II



10 En el esquema de reacción II se describe la síntesis de la benzopiridil-10-oxepina final del Compuesto I. En el esquema de reacción II, Etapa 1, una reacción de Sandmeyer modificada de una anilina de fórmula (8) proporciona 5-cloro-2-yodofenol de fórmula (9).

En el Esquema II, Etapa 2, una reacción de Mitsunobu entre 5-cloro-2-yodofenol y una piridinilmetanol de fórmula (5) proporciona el éter de yodoarilo de fórmula (10). Otros reactivos adecuados incluyen DIAD y trifenilfosfina en THF. De forma alternativa, en la Etapa 3, al éter de yodoarilo de fórmula (10) se accede por medio de alquilación con un mesilato o cloruro de piridinmetilo de fórmula (6) o (7) usando una base tal como *t*-butóxido de sodio, *t*-butóxido de

potasio o carbonato de potasio en un disolvente inerte tal como THF o acetonitrilo.

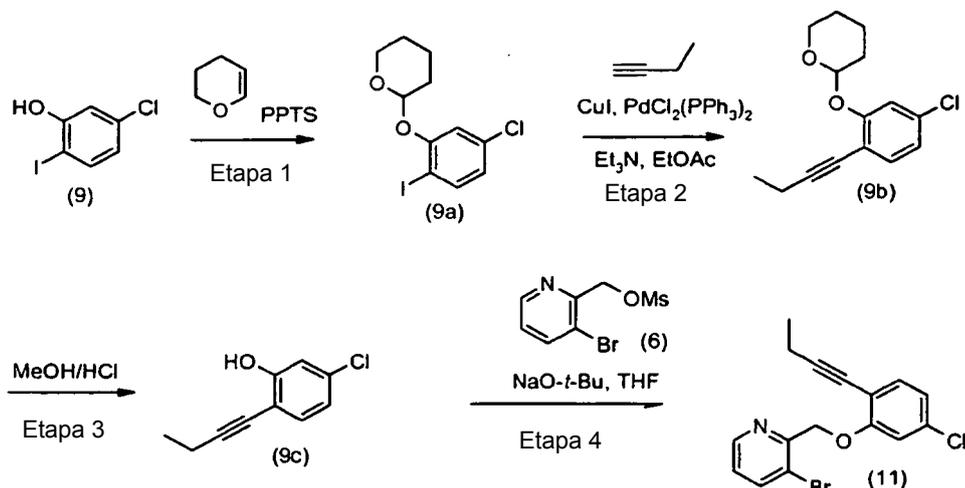
5 En el Esquema II, Etapa 4 se trata el éter de yodoarilo de fórmula (10) con 1-butino en un acoplamiento de Sonagashira para proporcionar de éter de alquilarilo de fórmula (11). La reacción se lleva a cabo usando una mezcla de dietilamina/acetonitrilo/THF; y se burbujea 1-butino en la mezcla de reacción. De forma alternativa, la reacción se lleva a cabo usando trietilamina como base y se trata con 24% p/p de solución de 1-butino en DMF.

En el Esquema II, Etapas 5 y 6, la diboronación catalizada por platino del éter de alquilarilo de fórmula (11) proporciona un éter diborónico de fórmula (12) que forma un éster vinil borónico de fórmula (13) tras el acoplamiento de Suzuki intramolecular.

10 En el Esquema II, Etapa 7, un acoplamiento de Suzuki intermolecular entre éster vinil borónico (13) y 3-yodoanilina proporciona la anilina de fórmula (14). Para mejorar la purificación de la anilina de fórmula (14), la anilina se puede tratar con un ácido apropiado para formar una sal. Por ejemplo, la anilina de fórmula (14) se puede tratar con ácido toluenosulfónico para proporcionar la anilina de fórmula (14) como la sal de ácido ditoluenosulfónico.

15 En el Esquema II, Etapa 8, se sulfonila la anilina con cloruro de metanosulfonylo para proporcionar la benzopiridil-10-oxepina final del Compuesto (I). De forma alternativa, en el Esquema II, Etapa 9, se accede a la benzopiridil-10-oxepina del Compuesto (I) directamente llevando a cabo un acoplamiento de Suzuki con *N*-(3-yodo-fenil)-metanosulfonamida. El compuesto (I) se puede purificar por recristalización en, por ejemplo, metanol.

### Esquema IIa



En el Esquema IIa se describe una síntesis alternativa del éter de alquilarilo de fórmula (11).

20 En el Esquema IIa, Etapa 1, se protege 5-cloro-2-yodofenol de fórmula (9) como el éter de tetrahidropirano (THP) de fórmula (9a). La reacción se lleva a cabo en un disolvente inerte tal como diclorometano, en presencia de un catalizador ácido, tal como p-toluenosulfonato de piridinio. Se añaden 3,4-dihidro-2*H*-pirano a, o por debajo de aproximadamente 30 °C y después se lleva a cabo la reacción durante 10 a 24 horas a temperatura ambiente.

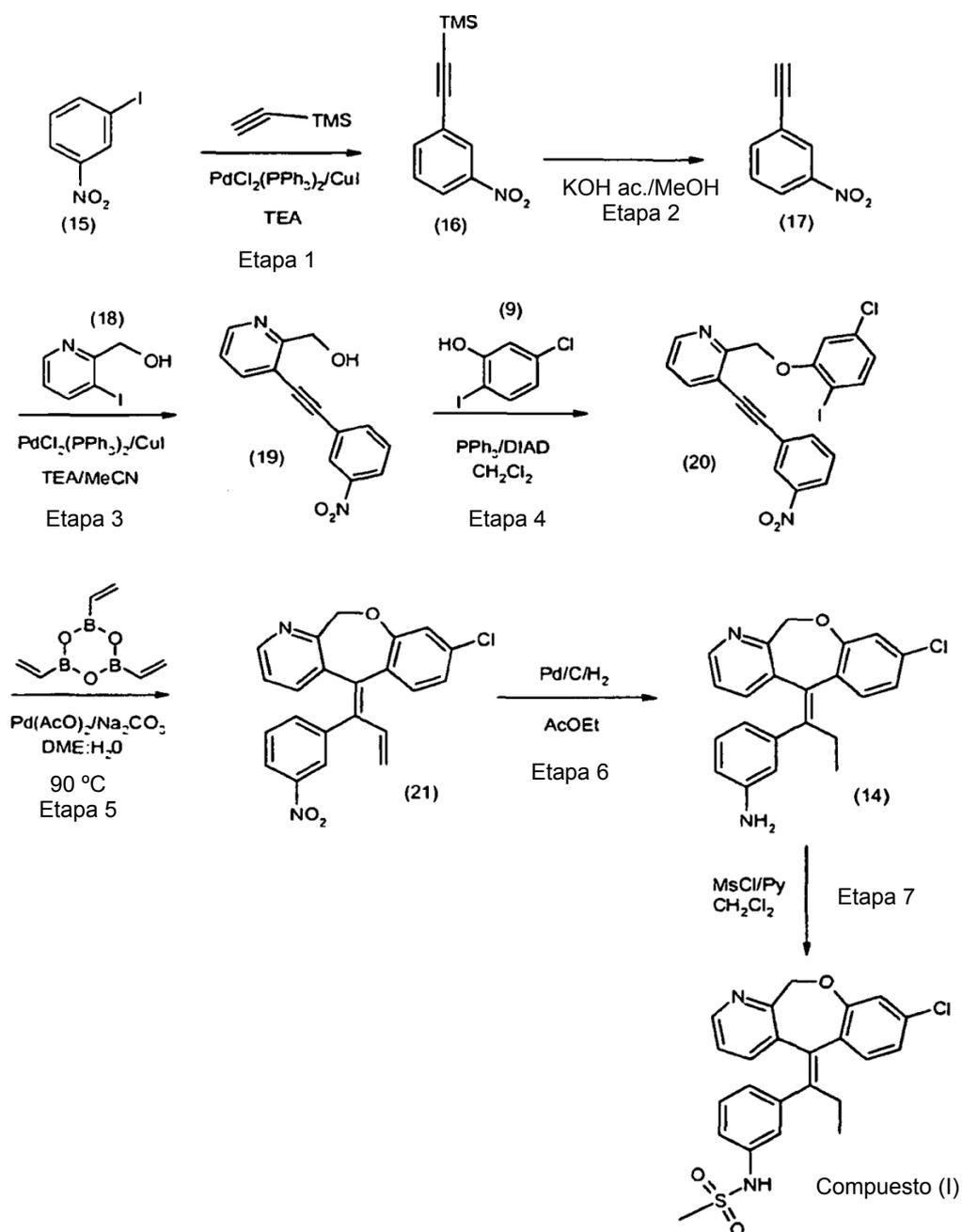
25 En el Esquema IIa, Etapa 2, el yodobenceno de fórmula (9a) se trata con 1-butino en un acoplamiento de Sonagashira para proporcionar el alquilarilbenceno de fórmula (9b). La reacción se lleva a cabo usando trietilamina con un disolvente inerte, tal como acetato de etilo, y un catalizador de paladio, tal como diclorobis(trifenilfosfina)paladio (II), y yoduro de cobre (I). Se añade 1-butino a una temperatura de aproximadamente 0 a 10 °C y la reacción se lleva a cabo durante aproximadamente 10 a 24 horas a temperatura ambiente. Después del procesamiento, el producto se puede purificar por cromatografía sobre gel de sílice y recristalización de heptano/trietilamina.

30 En la Etapa 3, el éter THP de fórmula (9b) se desprotege usando condiciones acidas para el alquilarilfenol de fórmula (9c). Condiciones particulares usan una cantidad catalítica de un ácido mineral, tal como ácido clorhídrico, en un disolvente alcohol tal como metanol. La reacción se lleva a cabo durante 30 minutos hasta 6 horas de 0 °C a temperatura ambiente.

35 En el Esquema IIa, Etapa 4, el alquilarilfenol de fórmula (9c) se alquila con un mesilato de piridinmetilo de fórmula (6), usando una base tal como *t*-butóxido de sodio, *t*-butóxido de potasio, o carbonato de potasio en un disolvente inerte tal como THF o acetonitrilo. Condiciones particulares usan *t*-butóxido de sodio en THF que se añade a una solución del mesilato y fenol a una temperatura durante debajo de 0 °C, y a continuación, se agita a temperatura ambiente durante 24 a 72 horas. Después del procesamiento extractivo, el producto se recristaliza en etanol.

40

## Esquema III



En el Esquema III se describe una síntesis alternativa de benzopiridil-10-oxepina final del Compuesto (I). En el Esquema III, Etapa 1, una reacción de Sonogashira entre trimetilsilil-(acetileno) y 3-yodonitroanilina de fórmula (15) proporciona trimetilsililalquino de fórmula (16) que, tras la desililación, se convierte al alquino de fórmula (17) en el Esquema III, Etapa 2.

En el Esquema III, Etapa 3, usando condiciones de reacción de Sonogashira típicas (17) se acopla con piridinilmetanol de fórmula (18) para proporcionar el diaril alquino de fórmula (19). En el Esquema III, Etapa 4, una reacción Mitsunobu entre el diaril alquino (19) y 5-cloro-2-yodofenol de fórmula (9) proporciona el éter biaril alquilil yodoarílico de fórmula (20). Condiciones típicas incluyen trifenilfosfina y DIAD en cloruro de metileno.

En el Esquema III, Etapa 5, se convierte biaril alquilil yodoarilo (20) a oxepina de piridilo de fórmula (21) en presencia de anhídrido vinil borónico trimérico mediante una reacción en cascada de Heck-Suzuki intramolecular catalizada por paladio. Las condiciones optimizadas incluyen adición lenta del anhídrido borónico a una mezcla de biaril alquilil yodoarilo (20), 2% en moles de acetato de paladio (II), 2 equivalentes de carbonato de sodio en 4:1 en volumen de DME/agua a 90 °C.

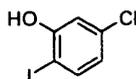
En el Esquema III, Etapa 6, un hidrogenación sobre Pd/C en un recipiente del doble enlace y del grupo nitro de oxepina de piridilo (21) proporcionan la anilina de fórmula (14). En el Esquema III, Etapa 7, la anilina se sulfonila con cloruro de metanosulfonilo usando base de piridina para proporcionar la benzopiridil-10-oxepina final del compuesto (I).

## 5 Análisis Instrumental

Se lleva a cabo el análisis de CG-EM en un equipo HP 6890 Series GC-MS (70 eV) equipado con una columna Agilent de 0,25 mm x 15 m x 0,25  $\mu$ m capilar, usando programación de temperatura (60-280 °C en 7,3 minutos, después 280 °C durante 2 minutos). El análisis de CL-EM se lleva a cabo en un equipo Agilent 1100 Series HPLC usando una columna Waters Xterra™ MS C18 de 4,6 mm x 50 mm 3,5  $\mu$ m e ionización química a presión atmosférica (IQPA). De forma típica, el análisis se lleva a cabo usando 80% de metanol:agua hasta el 100% de gradiente de metanol. De forma alternativa, el análisis CL-EM se puede llevar a cabo con una columna Waters Xterra C18 de 2,1 x 50 mm 3,5  $\mu$ m e ionización por electropulverización. El sistema de disolvente es 5-100% de acetonitrilo/MeOH (50/50) con 0,2% de formiato de NH<sub>4</sub>. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H se puede registrar en un espectrómetro Varian 400 MHz a temperatura ambiente. Los datos se expresan como sigue: desplazamiento químico en ppm en trimetilsilano como patrón interno en la escala  $\delta$ , multiplicidad (b = ancho, s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuatriplete, q = quintuplete y m = multiplete), integración, constante de acoplamiento (Hz) y asignación. Los patrones de difracción en polvo de rayos X (XRPD) se pueden obtener en un difractómetro en polvo Bruker D8 Advance XRPD, equipado con una fuente de CuK $\alpha$  ( $\lambda$  = 1,54056 angstrom) y un detector en estado sólido electrónico, que opera a 40 kV y 40 mA. Cada muestra se somete a exploración entre 4° y 40° en  $2\theta$ , con un tamaño de etapa de 0,02° en  $2\theta$  y una velocidad de exploración de 3 segundos/etapa, con divergencia variable controlada (v12) y rendijas de recepción y una rendija de detección de 0,2 mm. De forma alternativa, el análisis de difracción en polvo de rayos X se puede llevar a cabo usando un difractómetro Advance Bruker D8, siendo exploradas las muestras entre 2° y 45° en  $2\theta$ , con un tamaño de etapa de 0,02° en  $2\theta$  y una velocidad de exploración de 5 segundos/etapa, con rendija de divergencia de 0,6 mm, rendijas antidisipación de 0,6 mm, rendija de recepción de 0,1 mm y una rendija de detección de 0,6 mm. Se puede llevar a cabo el análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC) en una unidad DCS Mettler-Toledo (Modelo 822). Las muestras se calientan en cubetas de aluminio cerradas perforadas de 30 a 300 °C a 5 °C/minutos con una purga de nitrógeno de 50 ml/minuto. Se lleva a cabo el análisis térmico diferencial (DTA) y el análisis termogravométrico (TGA) en una unidad DTA y TGA Mettler Toledo (Modelo TGA/SDTA 851). Las muestras se calientan en cubetas de aluminio selladas perforadas de 25 hasta 300-350 °C a 10 °C/minutos con purga de nitrógeno de 50 ml/minutos. La temperatura TGA se calibra con patrón de indio/aluminio, p.f. = 156,6 y 660,3 °C. La calibración del peso se realiza con patrones proporcionados por el fabricante y se verifican frente a la desolvatación de citrato de sodio deshidratado. Los nombres de los compuestos de la presente invención generalmente se obtienen de ChemDraw Ultra™, versión 7.0.1.

## Intermedio 1

### 35 5-Cloro-2-yodo-fenol



Se disuelve 2-amino-5-clorofenol (5,7 g, 40 mmol) en DMSO/agua/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200/60/140 ml) y se enfría hasta 0 °C. A esta solución se añade nitrito de sodio (4,1 g, 60 mmol) en agua (20 ml) y la mezcla se agita durante 1 hora a 0 °C. A la mezcla se añaden yoduro de potasio (19,9 g, 120 mmol) en agua (20 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añade otro lote de yoduro de potasio (19,9 g, 120 mmol) en agua (20 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se diluye con acetato de etilo, se lava con agua, sulfato de sodio acuoso saturado y salmuera. La porción orgánica se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía ultrarrápida (Biotage™ Si65M, 20% de acetato de etilo/hexano) proporcionando 8,09 g (79%) del compuesto del epígrafe como un sólido rosado. EMCG m/e 254 [M].

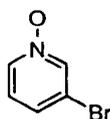
### 45 Procedimiento alternativo:

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno, tubo de secado y termopar colocado en un tubo de refrigeración. Se carga agua (4,5 l) en el matraz, se inicia la agitación y la reacción se enfría hasta 0 °C. Se añade ácido sulfúrico (3,7 l) gota a gota manteniendo la temperatura  $\leq$  30 °C. Se carga 2-amino-5-clorofenol (1500 g) en el matraz manteniendo la temperatura  $\leq$  30 °C durante 2 minutos. Se añade DMSO (12 l) gota a gota manteniendo la temperatura  $\leq$  30 °C durante una hora. La mezcla de reacción se enfría hasta -5 hasta 0 °C. Se añade una solución de nitrito de sodio (1082 g) en agua (6 l) gota a gota manteniendo la temperatura  $\leq$  0 °C durante una hora y 45 minutos. Después de completarse la adición, la mezcla de reacción se agita durante un mínimo de una hora a temperatura de  $\leq$  0 °C. Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno y termopar colocado en una manta de calentamiento. Se cargan yoduro de potasio (6,9 kg) y agua (7,5 l) en el matraz, se inicia la agitación y la reacción se calienta a 48 hasta 50 °C. Se carga la solución diazotada de 2-amino-5-clorofenol en el matraz en porciones manteniendo la temperatura de 48 hasta 50 °C, usando dos condensadores para ventilar los

gases. La mezcla de reacción se calienta durante 2 horas de 48 hasta 50 °C. Después de este tiempo el calentamiento se detiene y la reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. El progreso de reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 9:1). El material de partida se observa a  $R_f = 0,3$  y el producto a  $R_f = 0,6$ . La reacción se considera completa cuando no se observa material de partida. Una vez que la reacción se completa, la mezcla de reacción se diluye con MTBE (16 l) y se agita durante 20 minutos. La mezcla de reacción se transfiere a un embudo de separación y la fase orgánica se separa de la fase acuosa. La fase orgánica se lava con una solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (3 kg) y agua (12 l) y se agita durante 5-10 minutos. La fase orgánica se separa y se repite dos veces más la misma secuencia de lavado. La fase orgánica se separa de las fases acuosas y todos los lavados acuosos se desechan. La fase orgánica se lava con una solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada (4 l). La fase orgánica se separa de la fase acuosa y la fase orgánica se lava con salmuera (4 l). La fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio, se trata con carbón mineral, se filtra y se concentra. El residuo resultante se evapora junto con heptano (1 l) usando una bomba de aceite para eliminar disolventes residuales. El aceite marrón residual (2880 g) se disuelve en heptano (1 ml/g) y la solución se coloca en un congelador durante la noche. Los sólidos se recogen por filtración, se lavan con heptano frío (2 x 600 ml, 0 °C), y se secan en un horno a vacío a temperatura ambiente durante la noche. Se obtienen los sólidos de color tostado.

## Intermedio 2

### 1-Óxido de 3-bromo-piridina



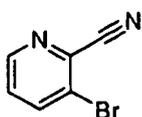
Se disuelve metiltrioxorenio (100 mg, 0,401 mmol) en diclorometano (40 ml) y se añade 3-bromopiridina (15,8 g, 100 mmol) seguida por  $\text{H}_2\text{O}_2$  acuoso al 30% (22,7 ml). La mezcla bifásica se agita a temperatura ambiente. Después de 18 horas se añade  $\text{MnO}_2$  (25 mg, 0,29 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se extrae con diclorometano y los extractos combinados se lavan con salmuera, se secan sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtran y se concentran a presión reducida proporcionando 9,52 g (55%) del compuesto del epígrafe como un aceite naranja. EMCG m/e 174 [M-H]<sup>+</sup>.

25 Procedimiento alternativo:

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 22 l con un agitador mecánico y termopar. El matraz se carga con 3-bromopiridina (3169 g, 20 mol), diclorometano (8,2 l) y metoxitrioxorenio (10 g). La mezcla de reacción se enfría hasta 18 °C usando un baño de agua corriente fría y se añade en porciones solución acuosa al 30% de peróxido de hidrógeno (3,07 l, 30 mol) durante aproximadamente 15 minutos. La reacción es ligeramente exotérmica y se añade hielo al tubo de enfriamiento para mantener la temperatura a 20-25 °C. La mezcla de reacción se deja agitar durante la noche en un baño a temperatura ambiente (no vaciar el baño). El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc). Se observa que la 3-bromopiridina tiene una  $R_f = 0,6$  y el producto una  $R_f = 0,1$ . Puede haber presentes restos del material de partida después de la agitación durante la noche y la reacción se puede procesar o agitar durante otras 8-24 horas más. Una vez que la reacción se cree completa, se añade dióxido de manganeso (31 g, < 10 micrómetros) en porciones pequeñas a una velocidad para controlar la espuma y mantener la temperatura a 20-25 °C. Se puede añadir hielo al tubo de agua de enfriamiento si la temperatura empieza a aumentar. Si se observa formación de espuma, se puede añadir más dióxido de manganeso. Cuando no se observa más formación de espuma después de la adición de una nueva porción de dióxido de manganeso, se añade cloruro de sodio sólido (860 g) y la mezcla de reacción se agita durante unos 30 minutos más a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se transfiere a un embudo de separación y la fase orgánica se separa. La fase acuosa se extrae con diclorometano (3 x 2,5 l). La extracción de cada fase orgánica se puede controlar usando TLC. Si el producto está presente después de la extracción, la fase acuosa se puede filtrar, después se puede añadir cloruro de sodio adicional (500 g), y la mezcla se agita para disolver la sal. La fase acuosa se extrae seguidamente con diclorometano (3 x 2 l). La porción orgánica reunida se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. En el matraz hay un aceite amarillo pálido. Este material se puede usar directamente para preparar el 3-bromopiridin-2-carbonitrilo.

## Intermedio 3

### 3-Bromo-piridin-2-carbonitrilo



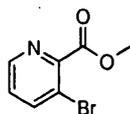
Se disuelve 1-óxido de 3-bromo-piridina (9,4 g, 54 mmol) en acetonitrilo (60 ml) y se añaden trietilamina (15 ml) seguido por cianuro de trimetilsililo (21,7 ml, 163 mmol). La mezcla se calienta a 100 °C y se agita durante 16 horas. La mezcla se enfría hasta 0 °C, se vierte en 250 ml de NaOH acuoso 5M, y se extrae con diclorometano. Los extractos reunidos se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtran y se concentran a presión reducida. El material resultante se purifica usando cromatografía ultrarrápida (Biotage® Si65M, acetato de etilo/hexano al 20%), proporcionando 7,8 g (79%) del compuesto del epígrafe como un sólido amarillo. EMCG *m/e* 182, 184 [M].

#### Procedimiento alternativo:

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, termopar, entrada de nitrógeno, condensador de reflujo eficiente y tubo de secado (no colocar el tubo de secado durante la adición de cianuro de trimetil sililo). El matraz se carga con 3778 g (aproximadamente 20 mol) de 3-bromopiridin-N-óxido bruto (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo para el Intermedio 2), acetonitrilo (19 l) y trietilamina (6,667 l, 50 mol). La mezcla de reacción se calienta a reflujo suave de aproximadamente 70-73 °C, después, se añaden cianuro de trimetilsililo puro (6,667 l, 50 mol), mediante un embudo de adición en intervalos de 10-15 minutos, durante un total de 3 horas. Después de la adición de cada porción de cianuro de trimetilsililo, la reacción procede hasta fuerte reflujo (si se escapan vapores, puede ser necesario cianuro de trimetilsililo adicional para derivar la reacción hasta finalización). Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se agita a reflujo durante 20 horas con ajuste de la velocidad de calentamiento como sea necesario para mantener el reflujo. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano EtOAc 1:1). Una vez que la reacción se considerada finalizada, la mezcla de reacción se enfría hasta 0-10 °C. Se añade una solución de NaOH acuoso al 15% (7,2 kg) en agua (9 l), en una corriente durante 30 minutos y se produce exotermia. La temperatura se eleva a 20-25 °C y la reacción se agita durante 30 minutos a 15-25 °C. La mezcla de reacción se transfiere a un embudo de separación y se separa la fase orgánica. La fase orgánica se lava con salmuera (4 l) y las fases acuosas combinadas se extraen con EtOAc (3 x 3 l). Las fases orgánicas reunidas se lavan con salmuera (3 l), se tratan con carbón mineral, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentran. Los sólidos resultantes (aproximadamente 3,8 kg) se disuelven en EtOAc (25 l, usando algo de calor), se secan sobre sulfato de magnesio, carbón mineral, se filtran y concentran. Los sólidos resultantes tostados/marrones, se disuelven en etanol (7 l) con calentamiento. La solución resultante se transfiere a un cubo y se deja reposar a temperatura ambiente durante la noche. Después de este tiempo, los sólidos se recogen por filtración y se lavan con etanol frío en un filtro (2x1 l, -20 °C). Los sólidos se disuelven en EtOAc (20 a 25 l), la solución se seca sobre sulfato de magnesio, se trata con carbón mineral para eliminar el color y después se filtra. La torta del filtro se lava con EtOAc (2 x 3 l) y los filtrados se reúnen y concentran hasta sequedad. Los sólidos residuales (2,7 kg), se evaporan junto con EtOH (1 l). A continuación, los sólidos se disuelven en EtOH (6 l) usando calentamiento. Se forma una solución transparente a aproximadamente 70 °C y la solución se enfría entonces a 0-5 °C y se agita durante 2 h a esta temperatura. Los sólidos se recogen por filtración, se lavan con etanol frío (2 x 1 l, 0-5 °C) y después heptano (11, 0-5 °C), y se seca en un horno a vacío a 40 °C.

#### Intermedio 4

##### Ester metílico del ácido 3-bromo-piridin-2-carboxílico



Se disuelve 3-bromo-piridin-2-carbonitrilo (14,7 g, 80,3 mmol), en HCl concentrado (50 ml) y se calienta a 110 °C durante 18 horas. La mezcla se enfría a 0 °C, se filtra, se aclara con una cantidad pequeña de éter, y se seca en un horno a presión reducida. El sólido marrón resultante se disuelve en metanol (80 ml), se añade H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (6,6 ml), y la solución se calienta a 90 °C durante 16 horas. El metanol se elimina a presión reducida, se añade bicarbonato de sodio acuoso saturado para obtener un pH básico, y la mezcla se extrae con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtran y se concentran a presión reducida dando 12,8 g (74%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. EMCG *m/e* 215, 217 [M].

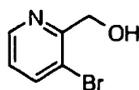
#### Procedimiento alternativo

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, termopar, entrada de nitrógeno y condensador de reflujo. El matraz se carga con HCl (20 l) y 3-bromopiridin-2-carbonitrilo (6790 g, 37,1 mol) (preparado por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo para el Intermedio 3). La mezcla de reacción se calienta a reflujo y el material de partida se disuelve y se forma una suspensión rosada. La mezcla de reacción se agita durante 20 horas a reflujo. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 1:1). No hay presente material de partida a R<sub>f</sub> = 0,5 o amida intermedia a R<sub>f</sub> = 0,15. Una vez que la reacción se considera que ha finalizado, la mezcla de reacción se enfría hasta 0-5 °C, y después se agita a esta temperatura durante 3 horas. Después de este tiempo, los sólidos se recogen por filtración (no lavar y presionar en el filtro). Los sólidos (ácido 3-bromopiridin-2-carboxílico), se secan en un horno a vacío a 50 °C usando una trampa

apropiadas puesto que hay presente en el producto húmedo HCl. Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, termopar y condensador de reflujo. El matraz se carga con MeOH (25,5 l), y ácido 3-bromopiridin-2-carboxílico (5,098 kg), seguido por HCl (15 ml). La mezcla de reacción se calienta a reflujo a aproximadamente 64-65 °C y se agita a esta temperatura durante 9 horas. La mezcla de reacción se deja enfriar a 40-50 °C y después se concentra hasta una pasta. Se carga un embudo de separación de 50 l con agua (12 l) y NaHCO<sub>3</sub> sólido (2338 g), y la mezcla se agita durante 10-15 minutos. El residuo de la pasta concentrada se añade en porciones a la solución agitada de bicarbonato de sodio a una relación para controlar la formación de espuma. Después de añadir todo el residuo, se carga EtOAc (10 l) en el embudo y se agita durante 10-15 minutos. La fase acuosa se separa y la fase orgánica se lava con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (1 l), después se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y concentra. Las fases acuosas reunidas se extraen con EtOAc (2 x 2 l), y las fases orgánicas reunidas se lavan con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (1 l), después se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran junto con el primer extracto. Se obtiene un aceite amarillo pálido que solidifica al enfriarse. El material resultante se seca en un horno a vacío durante la noche a temperatura ambiente.

## 15 Intermedio 5

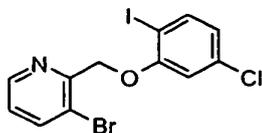
### (3-Bromo-piridin-2-il)-metanol



Se disuelve éster metílico del ácido 3-bromo-piridin-2-carboxílico (12-8 g, 59,2 mmol) en metanol (150 ml) y se enfría hasta 0 °C. A la mezcla se añade NaBH<sub>4</sub> (11,2 g, 296 mmol) en porciones de 1,0 g. La mezcla se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 3 h. El metanol se elimina a presión reducida, se añade acetato de etilo y la solución se lava con cloruro de amonio acuoso, saturado y salmuera. La porción orgánica se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a presión reducida proporcionando 6,8 g (62%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. EMCG *m/e* 187, 189 [M].

#### Procedimiento alternativo:

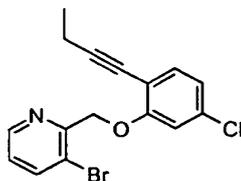
Se equipan dos matraces de fondo redondo de tres bocas de 50 l cada uno con un agitador mecánico, termopar, entrada de nitrógeno y tubo de secado. Cada matraz se carga con éster metílico del ácido 3-bromo-piridin-2-carboxílico (1886 g, 8,73 mol) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo para el Intermedio 4) y MeOH (19 l). La mezcla de reacción se enfría de -5 a 5 °C usando baños de MeOH/hielo seco, añadiéndose el hielo seco siendo en porciones teniendo cuidado de no sobreenfriar. Se carga en cada matraz borohidruro de sodio (aproximadamente 1651 g, 43,64 mol) en porciones de 100 g, manteniendo la temperatura de -5 a 5 °C y permitiendo que la temperatura se estabilice antes de añadir cada porción. Después de completarse la adición, el baño con MeOH se reemplaza con agua helada. La mezcla de reacción se agita durante 6-8 h a 0-5 °C, siendo cuidadosos para mantener la temperatura a 0-5 °C con la adición de hielo al baño cuando sea necesario. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 1:1). No debe estar presente material de partida a R<sub>f</sub> = 0,6 y se observa producto a R<sub>f</sub> = 0,1-0,5. Una vez que la reacción se considera completa, el baño de agua helada se reemplaza con hielo/MeOH o baño de MeOH/hielo seco. Se añade acetona (4,5 l a cada matraz) a dicha relación para mantener la temperatura por debajo de 10 °C durante la primera mitad de la adición y a 10-20 °C durante la segunda parte. Una vez que se completa la adición de acetona, la reacción se puede dejar agitando durante la noche en un baño de agua helada o proceder a al procesamiento. Cada mezcla de reacción se diluye con agua (5 l a cada matraz) y la mezcla de reacción se concentra casi hasta sequedad. El residuo sólido resultante se diluye con agua (total 15 l) y EtOAc (20 l) y las mezclas son transferidas a una vasija de barro de 68,25 litros. Se carga solución de hidróxido de sodio al 50% en la mezcla (2 kg) y la mezcla/suspensión se agita durante 20-30 min a temperatura ambiente. La mezcla se filtra y la torta del filtro se lava con EtOAc (2 x 2 l), guardando los sólidos. Los filtrados reunidos se reúnen en un embudo de separación y las fases orgánicas se separan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. La fase acuosa se guarda. Los sólidos de la filtración y la fase acuosa se cargan en una vasija de barro de 68,25 litros con agua (15 l) y EtOAc (15 l). La mezcla se agita durante 20-30 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la mezcla se filtra, la fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y concentra junto con el primer extracto. La extracción se repite como sea necesario. El filtrado concentrado reunido (3,12 kg de aceite rosado) se puede almacenar en un cuarto frío o se puede purificar directamente. El residuo filtrado concentrado (3,12 kg) se disuelve en EtOAc (6 l), aplicando calor cuando sea necesario. La solución rosada resultante se diluye con heptano (6 l) y la solución resultante se carga sobre un lecho corto de gel de sílice (5,5 kg, d = 60,96 cm, h = 5,08 cm, precargada en una mezcla de heptano (9 l) y EtOAc (1 l)) y eluye con mezcla 8:2 de heptano:EtOAc, (aproximadamente 30 l) y después mezcla 7:3 de heptano:EtOAc, (aproximadamente 40 l). Las fracciones se controlan por TLC (heptano:EtOAc, 1:1). Las fracciones del producto se concentran a un estado de suspensión, pero no hasta sequedad. La suspensión se enfría hasta 0-5 °C y se agita a esta temperatura durante una hora. Después de este tiempo, los sólidos se recogen por filtración, se lavan con heptano (0-5 °C, 2 l) y luego se secan en un horno a vacío a 25 °C hasta peso constante.

**Intermedio 6****3-Bromo-2-(5-cloro-2-yodo-fenoximetil)-piridina**

5 Se disuelven (3-bromo-piridin-2-il)-metanol (3,4 g, 18 mmol) y 2-yodo-5-clorofenol (4,5 g, 18 mmol) en benceno (60 ml) y se enfría hasta 0 °C. A la solución se añaden tributilfosfina (15 ml, 90 mmol) y 1,1'-(azodicarbonil)dipiperidina (ADDP) (6,6 g, 18 mmol) y la mezcla se calienta hasta 40 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo, se lava con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado y salmuera, se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía ultrarrápida (Biotage® Si65M, 15% de acetato de etilo/hexano) proporcionando 3,77 g (51%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. EMCG *m/e* 296, 298 [M-I].

Procedimiento de alquilación alternativo:

15 Se combinan (3-bromo-piridin-2-il)-metanol (7,39 g, 39,30 mmol) y trietilamina (7,15 ml, 51,3 mmol) en tetrahidrofurano (70 ml) bajo nitrógeno. La solución se congela a 0,6 °C con un baño de hielo. Se añade cloruro de metanosulfonilo (3,35 ml, 43,28 mmol) gota a gota durante 20 min, controlando la exotermia de forma que la temperatura interna no supere 5 °C. Después de la adición, la reacción se agita sobre un baño de hielo. Después de 20 min, el análisis por HPLC mostró que el (3-bromo-piridin-2-il)-metanol se había consumidos completamente. Se filtra clorhidrato de trietilamina usando embudo de vidrio con fritas, lavando con THF frío (50 ml). El THF filtrado que contiene el mesilato se coloca bajo nitrógeno y se congela en un baño de hielo. Se añade 2-yodo-5-clorofenol (10,00 g, 39,30 mmol), seguido por adición de *t*-butóxido de sodio (4,10 g, 41,38 mmol) en dos porciones iguales con un exotermia media de aproximadamente 5 °C por cada adición. El baño de hielo se retira y la reacción se deja agitando durante la noche. La reacción se inactiva con agua (50 ml) y la fase acuosa inferior se deja separar lentamente. La porción orgánica se lava con salmuera (25 ml) y después se vuelven a extraer la salmuera y las porciones acuosas con THF (10 ml). Las porciones orgánicas se reúnen y se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran proporcionando un sólido naranja oxidado. El sólido se disuelve en diclorometano (25 ml) y se somete a cromatografía en un aparato de cromatografía automatizado AnaLogix Inc., Intelliflash 180, versión 1.8.0, usando un gradiente de 10 - 20% de acetato de etilo/hexanos durante 35 min, proporcionando 11,0 g (65% ) del producto como un sólido amarillo. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO) δ 5,31 (2H, s), 6,85 (1H, dd), 7,25 (1H, m), 7,39 (1H, dd), 7,77 (1H, d), 8,17 (1H, d), 8,59 (1H, d).

**Intermedio 7****3-Bromo-2-(2-but-1-ynil-5-cloro-fenoximetil)-piridina**

35 Se coloca 3-bromo-2-(5-cloro-2-yodo-fenoximetil)-piridina (3,8 g, 8,9 mmol) en un matraz a presión, se disuelve en dietilamina:acetonitrilo:THF (18 ml:4 ml:4 ml) y se desgasifica con nitrógeno durante 15 min. Se burbujea un exceso de 1-butino a través de la solución seguido por la adición de CuI (507 mg, 2,66 mmol) y PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (623 mg, 0,888 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluye seguidamente con éter y se lava con cloruro de amonio acuoso saturado y salmuera. La porción orgánica se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida (Biotage® Si65M, 30% hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> después 20% de acetato de etilo/hexano) proporcionando 2,3 g (75%) del compuesto del epígrafe como un sólido naranja pálido. EMCL *m/e* 351 [M]<sup>+</sup>.

40 Procedimiento alternativo:

45 Se suspende 3-bromo-2-(5-cloro-2-yodo-fenoximetil)-piridina (5,00 g, 11,54 mmol) en trietilamina (60 ml, 430,5 mmol) y se desgasifica. Se añade 1-butino (2,6 g, 11,54 mmol) (24% p/p en DMF) seguido por cloruro de bis (trifenilfosfina)paladio (II) (410 mg, 0,584 mmol) y yoduro de cobre (I) (220 mg, 1,16 mmol). La reacción se deja agitando durante la noche. La reacción se diluye con *tert*-butilmetil éter (50 ml) y se inactiva con solución de NH<sub>4</sub>Cl (50 ml), que va acompañado por una ligera exotermia de 3 °C, y se agita durante 30 min. La fase acuosa se elimina y los orgánicos se lavan con HCl 5N (80 ml) para eliminar de la fase orgánica la TEA. La capa acida (pH =2) se elimina

y la fase orgánica se lava con salmuera, se seca, se filtra y se evapora hasta un aceite marrón oscuro. El aceite se somete a cromatografía en un aparato de cromatografía automatizado AnaLogix Inc., Intelliflash 180, versión 1.8.0, usando un gradiente de 0% a 10% de acetato de etilo en heptano durante 5 min, mantenido durante 5 min, y un gradiente de 10% a 20% de acetato de etilo en heptano durante 10 min. Se obtiene un sólido naranja (4,0 g) que es una mezcla de material de partida y producto esperado. El material se recristaliza en heptano proporcionando 3,1 g de una mezcla de material de partida (6% por HPLC) y producto del epígrafe. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO)  $\delta$  1,05 (3H, t), 2,33 (2H, q), 5,31 (2H, s), 6,96 (1H, dd), 7,22 (1H, m), 7,31 (1H, d), 7,37 (1H, dd), 8,15 (1H, dd), 8,57 (1H, dd). El material contiene 6% de material de partida como se determina por HPLC: columna - Zorbax Eclipse XDB-C8; disolvente - gradiente de 50% de acetonitrilo/agua (con TFA al 0,01%) a 80% de acetonitrilo.  $T_R$  de producto = 6,15 min.

Síntesis alternativa:

#### A. Preparación de 2-(5-cloro-2-yodo-fenoxi)-tetrahidropirano

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 22 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno, tubo de secado y termopar colocado en un recipiente de enfriamiento. Se cargan en el matraz 5-cloro-2-yodofenol (2290 g, 9 mol) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo por el Intermedio 1), diclorometano (11,45 l) y *p*-toluenosulfonato de piridinio (45,2 g, 0,18 mol) y se añade 3,4-dihidro-2H-pirano (1211 g, 14,4 mol) gota a gota durante aproximadamente una hora en el matraz. Se observa una exotermia media durante la adición, y se añade agua corriente fría al baño de enfriamiento para mantener la temperatura  $\leq 30$  °C. Después de completarse la adición, la mezcla de reacción se agita durante un mínimo de 12 h a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 9:1). El material de partida se observa a  $R_f = 0,2$  y el producto a  $R_f = 0,5$ . Si hay presentes más que indicios de material de partida, entonces la reacción se puede agitar durante otras 4 h más. Una vez que la reacción se completa, la mezcla se lava con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (1,5 l), la fase orgánica se separa de la fase acuosa, la fase acuosa se extrae con diclorometano (1 l) y las fases orgánicas reunidas se secan sobre sulfato de sodio, se tratan con carbón mineral, se filtran y se concentran. El aceite marrón resultante se evaporado junto con tolueno para eliminar el 3,4-dihidro-2H-pirano residual posible. El producto se disuelve en trietilamina (4,5 l) para formar una solución turbia, se filtra, y la torta del filtro se lava con trietilamina (200 ml). El producto se usa seguidamente como una solución en trietilamina en la siguiente reacción.

#### B. Preparación de 2-(2-but-1-inil-5-cloro-fenoxi)-tetrahidropirano

El producto en solución de trietilamina de la reacción previa anterior se carga a un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l, equipado con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno, tubo de secado y termopar, colocado en un recipiente de enfriamiento. Se cargan en el matraz trietilamina (4,28 l), acetato de etilo (8,78 l), diclorobis(trifenilfosfina) paladio (126,3 g, 0,18 mol) y yoduro de cobre (I) (34,3 g, 0,18 mol) y la mezcla de reacción se agita y enfría a 0-10 °C bajo una capa de nitrógeno (Nota: el producto se puede disolver también inicialmente en 9 l de trietilamina en la Parte A sin la adición posterior de trietilamina adicional como se describe anteriormente). Después de este tiempo, se interrumpe el flujo de nitrógeno y se carga 1-butino (681,5 g, 12,6 mol) en el matraz usando un recipiente de inmersión en cristal, colocado por debajo de la superficie de la mezcla de reacción, manteniendo la temperatura  $\leq 10$  °C durante las tres horas de adición. Después de completarse la adición, el baño de enfriamiento se retira y la mezcla de reacción se agita durante un mínimo de 12 h a temperatura ambiente. La reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 9:1). Se observa material de partida a  $R_f = 0,6$  y producto a  $R_f = 0,5$ . Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se filtra, la torta del filtro se lava con EtOAc (3 \* 1 l), liberando el vacío en cada lavado. Todas las porciones orgánicas se reúnen y se concentran hasta un aceite marrón. El residuo se diluye con heptano (5 l) y trietilamina (25 ml). El producto se purifica usando una columna de gel de sílice (3 kg de gel de sílice precargado en heptano (5 l) y trietilamina (60 ml),  $d = 20,32$  centímetros,  $h = 45,72$  centímetros). El producto bruto se carga en solución, y eluye secuencialmente con heptano (9 l/0,2 % de EtOAc, heptano (9 l)/3% de EtOAc, y heptano (9 l)/4% de EtOAc. Las fracciones apropiadas se reúnen proporcionando un aceite marrón (2644 g, sin limpiar). El aceite se disuelve en heptano (1 ml/g) y trietilamina (20 ml) y la solución se coloca en un congelador. Los sólidos se separan después de aproximadamente 12 h. El sobrenadante se decanta, los sólidos se pesan y se disuelven en heptano (1 ml/g) y trietilamina (20 ml). La cristalización se repite para obtener producto puro (2003 g).

Purificación adicional:

Los sólidos se disuelven en diclorometano (2 ml/g) y la solución resultante se carga en un matraz apropiado de fondo redondo de tres bocas equipado con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se añade de sílice derivatizado en Si-tiol (cargando 1,33 mmol/g) y la suspensión resultante se agita durante un mínimo de 12 h a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la suspensión se filtra, la torta del filtro se lava con diclorometano (3 \* 500 ml) y los filtrados reunidos se concentran proporcionando un aceite ámbar. El aceite se disuelve en heptano (1 ml/g) y se coloca en un congelador durante la noche. Los sólidos se decantan y luego se secan en un horno a vacío a temperatura ambiente, 1 mm Hg durante un mínimo de 18 h.

## C. Preparación de 2-but-1-inil-5-cloro-fenol

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 22 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se cargan MeOH (2,3 l) y HCl (9 ml) en el matraz, se inicia la agitación y la reacción se enfría a 10-20 °C. Se equipa un matraz de fondo redondo de boca ancha de 20 l con un agitador mecánico colocado en una manta de calentamiento y se cargan en el matraz 2-(2-but-1-inil-5-cloro-fenoxi)-tetrahidropirano (2313 g, 8,736 mol) y MeOH (3,47 l). Se aplica calentamiento suave para disolver los sólidos y el matraz se aclara con MeOH (70 ml). Esta solución se carga en el matraz de fondo redondo de tres bocas a través de un embudo de adición manteniendo la temperatura a  $\leq 20$  °C durante 45 min. El enfriamiento se interrumpe y la mezcla de reacción se agita durante un mínimo de 30 min. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 9:1). Se observa material de partida a  $R_f = 0,6$  y producto a  $R_f = 0,5$ . Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se diluye con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (300 ml) y agita durante 5-10 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo la mezcla de reacción se concentra para eliminar el MeOH. El aceite residual (2118 g) se diluye con MTBE (4 l) y se lava con una solución de salmuera (1,5 l). La fase orgánica se separa y la fase acuosa se extrae con MTBE (2 x 1 l). Las porciones orgánicas reunidas se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran. El producto se evapora seguidamente junto con tolueno (2 x 800 ml) y usado directamente como tal.

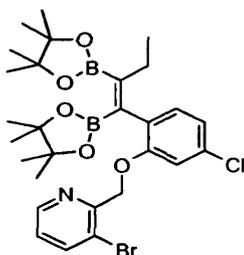
## D. Preparación de 3-bromo-2-(2-but-1-inil-5-cloro-fenoximetil)-piridina (Intermedio 7)

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se cargan (3-bromo-piridin-2-il)-metanol (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo por el Intermedio 5) (1837 g, 9,769 mol), THF (14,7 l) y trietilamina (1,53 l, 11,01 mol) en el matraz y la mezcla de reacción se enfría a -5 a 5 °C. Se añade cloruro de metanosulfoniilo puro (1155 g, 10,09) gota a gota durante 1,5 h, manteniendo la temperatura  $\leq 5$  °C para formar una suspensión blanca. La suspensión resultante se agita durante una hora a -5 a 0 °C y el progreso de reacción se controla por TLC (diclorometano:MeOH, 20:1). Se observa material de partida a  $R_f = 0,5$  y mesilato producto a  $R_f = 0,95$ . Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se filtra y la torta del filtro se lava con THF frío (0-5 °C, 3 x 2l).

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, embudo de adición, entrada de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Los filtrados combinados que contienen éster 3-bromo-piridin-2-ilmetílico del ácido metanosulfónico y 2-but-1-inil-5-cloro-fenol (8,736 mol, 0,95 eq) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en la Etapa C, anterior) se cargan en el matraz, usando THF (70 ml) para aclarar el matraz. Se inicia la agitación y la mezcla de reacción enfriada a -15 hasta 0 °C. Se añade *tert*-butóxido de sodio (969,7 g, 10,09 mol) en porciones durante 40 min manteniendo la temperatura  $\leq 0$  °C. La reacción se deja calentar a temperatura ambiente con agitación durante un mínimo de 48 h hasta que se presenta una solución turbia tostada/amarilla. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc, 1:1). El mesilato se observa a  $R_f = 0,1$  y el producto a  $R_f = 0,5$ . Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se diluye con agua (5 l), la fase orgánica se separa de la fase acuosa, y la orgánica se concentra hasta una suspensión espesa. La fase acuosa se extrae con MTBE (2 x 2 l) y la fase orgánica se separa. La suspensión concentrada se disuelve en MTBE (12 l), se combina con las extracciones previas (4 l) y se agita hasta que todos los sólidos se disuelven. La fase orgánica se lava con salmuera (3 l), se separa, se seca sobre sulfato de magnesio, se trata con carbón mineral, se filtra y concentra. El producto se evapora seguidamente junto con EtOH (1 l), dando lugar a sólidos blanquecinos (3581 g). Los sólidos se recristalizan en EtOH (2,5 l, 0,7 ml/g), con agitación y enfriamiento a -5 hasta 5 °C durante una hora. Los sólidos se recogen por filtración y se lavan con EtOH frío (2 x 900 ml, -20 a -10 °C). El producto se seca en un horno a vacío a 30 °C usando una bomba de aceite.

## Intermedio 8

45 **(Z)-2-{2-[1,2-Bis-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-but-1-enil]-5-cloro-fenoximetil}-3-bromo-piridina**



Se disuelve 3-bromo-2-(2-but-1-inil-5-cloro-fenoximetil)-piridina (2,3 g, 6,6 mmol) en DMF (65 ml) y se desgasifica burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 15 min. Se añaden a la solución bis(pinacolato)diboro (1,8 g, 7,2 mmol) y Pt(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (653 mg, 0,525 mmol). La mezcla se calienta a 80 °C durante 24 h, se enfría hasta temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, se lava con salmuera, se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se

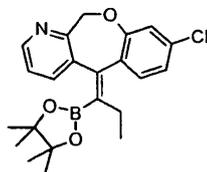
concentra a presión reducida dando un sólido. El sólido se disuelve en éter, se filtra y concentra a presión reducida dando 3,61 g (91%) del compuesto del epígrafe como un sólido amarillo que se usa sin purificación adicional. EMCL *m/e* 605 [M]<sup>+</sup>.

Procedimiento alternativo:

- 5 Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, tubo de inmersión de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se carga en el matraz DMF (27 l), 3-bromo-2-(2-but-1-enil-5-cloro-fenoximetil)-piridina (3381 g, 9,642 mol) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en la Síntesis alternativa para el Intermedio 7) y la solución resultante se agita a temperatura ambiente mientras se burbujea un flujo fuerte de nitrógeno gas durante un tiempo mínimo de una hora. Después de este tiempo, se carga bis(pinacolato)diboro (2522 g, 9,93 mol) en una porción en el matraz y la solución resultante se agita a temperatura ambiente mientras se burbujea un flujo fuerte de nitrógeno gas durante al menos 15 min. Se carga tetraquis (trifenilfosfina)platino (0) (24 g, 0,019 mmol) en el matraz y el tubo de inmersión se reemplaza por una entrada normal de nitrógeno. La mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se agita a esta temperatura durante 8-10 h. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc). No debe haber presente material de partida a  $R_f = 0,4$  y se observa producto a  $R_f = 0,35$ . Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se enfría hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluye con MTBE (20 l) seguido por una solución acuosa de NaCl al 10% (25 l). La fase orgánica se separa de la fase acuosa y se lava con una solución acuosa de NaCl al 10% (10 l). La fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. Las fases acuosas se combinan y se extraen con MTBE (5 l). Los extractos de MTBE se lavan con una solución acuosa de NaCl al 10% (3 l), se secan con sulfato de magnesio, se filtran y se concentran junto con el primer extracto hasta una pasta espesa. Se añade alcohol isopropílico (7 l) y se continua la concentración para eliminar el MTBE residual. La suspensión resultante se agita en un baño de enfriamiento durante un tiempo mínimo de una hora a temperatura ambiente. Después de este tiempo los sólidos se recogen por filtración y la torta del filtro se lava con alcohol isopropílico (2 x 1,5 l). Los sólidos se secan en un horno a vacío a 40 - 45 °C durante un mínimo de 18 h usando una bomba de aceite.

### Intermedio 9

#### (Z)-8-Cloro-5-[1-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-propiliden]-5,11-dihidro-10-oxa-1-azadibenzo[a,d]cicloheptano



- 30 Se disuelve (Z)-2-[2-[1,2-bis-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-but-1-enil]-5-cloro-fenoximetil]-3-bromo-piridina (3,6 g, 6,0 mmol) se disuelve en dioxano (600 ml) y se desgasifica burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 15 min. Se añade  $K_3PO_4$  triturado (3,8 g, 18 mmol) seguido por  $PdCl_2dppf \cdot CH_2Cl_2$  (488 mg, 0,598 mmol). La suspensión se calienta a 80 °C durante 22 h, se enfría hasta temperatura ambiente, se lava con salmuera, se seca sobre  $MgSO_4$ , y se concentra a presión reducida dando un sólido. El sólido se disuelve en acetato de etilo, se filtra por gravedad y se concentra a presión reducida dando 2,37 g (aproximadamente 100%) del compuesto del epígrafe que se usa sin purificación adicional. EMCL *m/e* 398 [M+H]<sup>+</sup>.

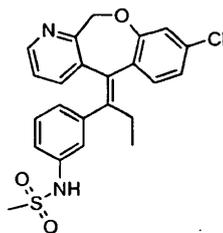
Síntesis Alternativa:

- Se equipan dos matraces de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, tubo de inmersión de nitrógeno, termopar, condensador de reflujo y tubo de secado dispuestos en mantas de calentamiento. Se cargan en los matraces 1,4-dioxano (26 l en cada uno), (Z)-2-[2-[1,2-bis-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-but-1-enil]-5-cloro-fenoximetil]-3-bromo-piridina (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en el Procedimiento alternativo de Intermedio 8) (2610 g en cada uno) y carbonato de potasio en polvo (1790 g en cada uno). La suspensión resultante se agita a temperatura ambiente mientras se burbujea en un flujo fuerte de nitrógeno gas durante al menos 2 h. Después de este tiempo se carga en el matraz complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno]dicloropaldio (II), con diclorometano (1:1), (176,3 g en cada uno) y el tubo de inmersión se reemplaza por una entrada normal de nitrógeno. La mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se agita a esta temperatura durante un mínimo de 20 h. Se observa una suspensión marrón oscura. El progreso de la reacción se controla por TLC (heptano:EtOAc 1: 1). Hay presentes indicios de material de partida a  $R_f = 0,7$  y se observa el producto a  $R_f = 0,6$ . Si hay presentes más indicios de material de partida, entonces se añade carbonato de potasio adicional (596,5 g en cada uno, en total 1193 g). La mezcla de reacción se agita durante 4 h a 80 °C. Una vez que las reacciones se consideran completas, las mezclas de reacción se enfrían a 60 °C se agitan hasta temperatura ambiente. Las mezclas de reacción se filtran y las tortas de filtro se lavan con 1,4-dioxano (3 x 3 l) y EtOAc (3 x 3 l). Los filtrados combinados se concentran hasta sólidos. Los sólidos oscuros se disuelven en EtOAc (20 l), y la solución resultante se lava con una solución acuosa de NaCl al 15% (5 l). La mezcla se agita (usando un embudo de separación). No se

produce separación. La mezcla se recoge en bandejas y se añade tierra de diatomeas (1 kg a cada bandeja), las bandejas se agitan y la mezcla completa se filtra para separar los sólidos que obstruyen la separación de capas. La torta del filtro se lava con EtOAc (3 x 1 l). Los filtrados se combinan y la fase orgánica se separa. La fase orgánica se lava con una solución acuosa de NaCl al 15% (5 l). Las fases orgánicas se combinan seguidamente, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran. Se evapora junto con 1,4-dioxano (2 l) para obtener un residuo de sólidos marrones.

### Ejemplo 1

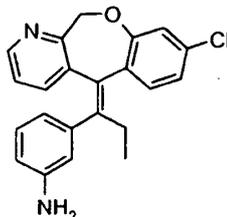
#### (E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida



10 Se disuelven (Z)-8-Cloro-5-[1-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-propilideno]-5,11-dihidro-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]cicloheptano (2,37 g, 5,96 mmol), N-(3-yodofenil)metanosulfonamida (2,66 g, 8,94 mmol), 3,5-dimetoxifenol (4,6 g, 30 mmol) y KOH (5,0 g, 89 mmol) en dioxano/agua (40 ml/15 ml) y se desgasifican burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 15 min. A la mezcla se añade Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (689 mg, 0,596 mmol), y la solución se calienta a 80 °C durante 18 h. La solución se enfría hasta temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, se lava con agua, cloruro de amonio acuoso saturado y salmuera, se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía ultrarrápida (Biotage® Si65M, 3% de etanol/CHCl<sub>3</sub>) seguido por cromatografía de intercambio iónico (dividido en dos porciones, BondElut® SCX, se lavado a chorro con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol 80/20, eluyendo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/NH<sub>3</sub> 2,0M 80/20 en metanol) y otra purificación por cromatografía ultrarrápida (Biotage® Si40M, 40% de acetato de etilo/hexano hasta 80% de acetato de etilo/hexano) proporcionando 1,01 g (38%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. EMCL *m/e* 441 [M+H]<sup>+</sup>.

### Intermedio 10

#### (E)-3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenilamina



25 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se carga una solución de hidróxido de potasio (500 g, 8,91 moles) en agua (1,50 l) en un matraz de fondo redondo de 4 bocas de 12 l, equipado con un agitador mecánico, condensador de reflujo y termopar. A la solución se añaden 3-yodoanilina (128 g, 585 mmol), (Z)-8-cloro-5-[1-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-propilideno]-5,11-dihidro-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]cicloheptano (232 g, 583 mmol), 1,4-dioxano (2,40 l) y 3,5-dimetoxifenol (454 g, 2,92 moles), dando lugar a la formación de una mezcla marrón oscura. La mezcla se desgasifica a través de una válvula de tres vías colocada en el condensador de reflujo. Se aplica vacío de la instalación a través de una válvula de tres vías durante aproximadamente 3 min. Se aplica entonces una purga de nitrógeno en el matraz evacuado. Esto se repite durante un total de tres veces. Se añade tetraquis(trifenilfosfina)paladio sólido (20,4g, 17,5 mmol) y se repite el procedimiento de desgasificación. La mezcla marrón oscura se calienta hasta 80 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfría hasta 40 °C y se carga en un matraz de salida de fondo de 22 l que contiene solución de NaCl al 15% (2,5 l). La mezcla se agita durante 10 min y se separan las fases. La fase orgánica se lava con solución de NaCl al 15% (2,5 l) una segunda vez. La fase orgánica se aísla y concentra a vacío proporcionando un aceite oscuro espeso. Se añaden dos litros de heptano y se concentra a vacío para eliminar el dioxano residual. El producto se purifica por cromatografía de gel de sílice a escala mayor usando un embudo de vidrio sinterizado (aproximadamente de 25 cm), relleno con 3 kg de gel de sílice húmedo con heptano. El material se disuelve en heptano (aproximadamente 500 ml) y aplica al sílice. Usando vacío suave, el material se carga en el sílice con 3 l de heptano como eluyente. La fase móvil se cambia a 9:1 heptano:EtOAc y se usa un gradiente de 1:1 heptano: EtOAc, mientras se recogen fracciones de 3,5 l. Las fracciones se controlan usando TLC (1:1 EtOAc:heptano, SiO<sub>2</sub>, R<sub>f</sub> = 0,45). Las fracciones que contienen producto deseado, se combinan y se concentran a vacío proporcionando un aceite verde oscuro. Al aceite se añade heptano

(2 l) y después se concentra el material a vacío proporcionando 201,3 g (95%) de un sólido verde oscuro. CL-IEP/EM *m/e* 363,2 [M+H]<sup>+</sup>.

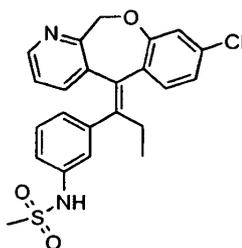
Procedimiento alternativo:

5 Se suspende sal de ácido ditoluenosulfónico de (*E*)-3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[*a,d*]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenilamina, (5765 g) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe para el Intermedio 11 más adelante, usando la Síntesis alternativa), en agua (12 l) y EtOAc (12 l) usando un embudo de separación de 40 l. Se añade una solución de NaOH al 50% (4,8 kg, ) en una porción. La suspensión se agita hasta que todos los sólidos se disuelven. La fase orgánica se separa y se lava con una solución acuosa de NaOH al 5% (1 l). Las fases acuosas reunidas se extraen con EtOAc (2 x 2 l). La fase orgánica se separa y se lava con una solución acuosa de NaOH al 5% (500 ml). Las fases orgánicas reunidas se secan sobre sulfato de magnesio, se tratan con carbón mineral y se filtran. El filtrado se diluye con heptano (16 l) generando una solución de heptano:EtOAc, 1:1. El producto se purifica usando un lecho corto de gel de sílice (6 kg de gel de sílice precargado en heptano:EtOAc, 1:1, (8 l), diámetro = 45,72 centímetros, altura - 7,62 centímetros). El producto bruto se carga en la solución, y eluye con heptano:EtOAc, 1:1, (aproximadamente 40-50 l), después heptano:EtOAc, 1:3, (aproximadamente 20-30 l) y después heptano:EtOAc, 1:9, (10-20 l). Las fracciones que contienen producto se determinan por TLC (EtOAc, 100%). La impureza se observa a R<sub>f</sub> = 0,0, El producto se observa a R<sub>f</sub> = 0,4. Las fracciones que contienen producto se reúnen y se concentran para formar una pasta. El residuo resultante se diluye con heptano (2-3 l). La suspensión se agita durante 30 min a temperatura ambiente y los sólidos se recogen por filtración, lavando con heptano (2 x 1,5 l). Los sólidos se secan en un horno a vacío a 40 - 45 °C durante la noche.

## 20 Ejemplo I(a)

(a partir del Intermedio 10)

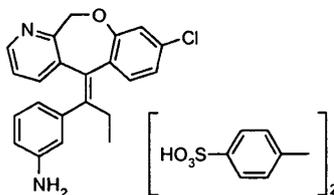
### (*E*)-*N*-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[*a,d*]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida



25 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se cargan (*E*)-3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[*a,d*]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenilamina sólida (198 g, 545 mmol), piridina (67,0 ml, 828 mmol) y diclorometano (1,6 l), en un matraz de 5 litros de fondo redondo de 4 bocas equipado con un agitador mecánico y termopar. A la mezcla de reacción verde oscura se añade una solución de cloruro de metanosulfonilo (51,0 ml, 658 mmol) en diclorometano (400 ml) gota a gota durante 20 min desde un embudo de adición. Se observa una exotermia de 6,9 °C durante el curso de la adición. Después de terminar la adición, la reacción se agita durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se carga en un matraz de salida de fondo de 22 l, que contiene solución de ácido cítrico al 10% (2 l). La mezcla se agita durante 15 min y las capas se separan después de reposar. La fase orgánica se lava con una solución de NaCl al 15%. La fase orgánica se carga en un matraz de 4 bocas de 5 l, equipado con un agitador mecánico bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución rojo intenso se trata con carbón mineral activado DARCO® (200 g), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200 g) y TMT (hidrato de sal trisódica del ácido tritiocianúrico) (50 g). La mezcla se agita durante 18 h a temperatura ambiente y después se filtra sobre una almohadilla de 2 pulgadas (5,08 centímetros) de tierra de diatomeas (Hy-flo Supercel®). El filtrado se concentra a vacío proporcionando una espuma blanca dura. Se añade alcohol isopropílico (1 l, 5 volúmenes) a la espuma y la suspensión se agita a 40 °C durante una hora. La mezcla espesa se enfría hasta temperatura ambiente. Los sólidos se filtran a vacío sobre una almohadilla de polipropileno en un embudo de succión. El material se seca a 70 °C durante 16 h, bajo vacío de la instalación proporcionando 171,85 g (71,4%) de producto cristalino blanco. CL-EP/EM *m/e* 441,2 [M+H]<sup>+</sup>, 439,1 [M-H]<sup>-</sup>. Análisis Calculado para C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>ClO<sub>3</sub>S: C, 62,65; H, 4,80; N, 6,35. Encontrado: C, 62,81; H, 4,82; N, 6,20.

## Intermedio 11

**(E)-3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo [a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenilamina, sal del ácido ditoluenosulfónico**



5 El compuesto del epígrafe se prepara esencialmente como se describe para el Intermedio 10 usando 3-yodoanilina (13,72 g, 62,64 mmol) y (Z)-8-cloro-5-[1-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-propilideno]-5,11-dihidro-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]cicloheptano (24,91 g, 62,64 mmol). Después que la reacción se completa, se enfría hasta 40 °C. Se añaden agua (250 ml), solución de salmuera al 15% (50 ml) y *t*-butilmetil éter (250 ml). La fase orgánica superior se separa y la fase acuosa se extrae con *t*-butilmetil éter (100 ml). La solución orgánica se hace pasar sobre una  
10 almohadilla de sílice en un embudo de succión previamente relleno de 70 mm SUPELCO®. El filtrado se concentra proporcionando 42,45 g de un aceite. Al aceite se añade EtOAc (200 ml) seguido por monohidrato de ácido toluenosulfónico (23,83 g) con agitación durante 18 h. Se filtra el precipitado color tostado y se lava con EtOAc (100 ml) seguido por heptano (50 ml) y EtOAc/heptano 1:1 (50 ml). El material se seca bajo vacío de la instalación a 50 °C durante 18 h proporcionando 34,43 g (77,7% en peso de rendimiento). CL-EP/EM *m/e* 362 [M<sup>+</sup>]; RMN de <sup>1</sup>H DMSO (δ) 0,8 (tripleto, 3H), 2,22 (s, 6H), 2,6 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 5,1 (d, 1H), 5,88 (d, 1H), 7-7,5 (Ar y NH<sub>3</sub>, 21H), 8,2 (d, 1H).

## Síntesis alternativa:

Se equipan dos matraces de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno, termopar, condensador de reflujo y tubo de secado colocado en bandejas de enfriamiento. Se cargan agua (8,5 l en cada matraz) e hidróxido de potasio (2422 g en cada matraz) en los matraces y las mezclas se agitan durante 5-15  
20 min para dejar disolver los sólidos y estabilizar la temperatura (aproximadamente 40 °C). Las mezclas se enfrían hasta 20-30 °C bajo una capa de nitrógeno. Después de este tiempo, los matraces se colocan en mantas de calentamiento y se cargan en cada matraz 1,4-dioxano (3 l en cada matraz), 3-yodoanilina (945,5 g, 4,317 mol en cada matraz) y una solución uniformemente dividida de (Z)-8-cloro-5-[1-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-propilideno]-5,11-dihidro-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]cicloheptano (considerando 8,634 mol, 1 eq) (preparado esencialmente como se describe en la Síntesis alternativa del Intermedio 9) en 1,4-dioxano (15 l, 7,5 l en cada matraz), seguido por 3,5-dimetoxifenol (3328 g, 21,585 mol en cada matraz) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (149,58 g, 0,26 mol en cada matraz). Las mezclas de reacción se calientan hasta 80 °C y se agitan a esta temperatura durante 2 h. Se observa una solución oscura. El progreso de la reacción se controla por TLC heptano:EtOAc, 1:1. No debe haber presente material de partida a R<sub>f</sub> = 0,6. Se observa producto a R<sub>f</sub> = 0,2. Una vez  
30 que las reacciones se consideran completas, las mezclas de reacción se dejan enfriar a temperatura ambiente. Las mezclas de reacción se diluyen con agua y MTBE (8 l). La fase orgánica se separa y la fase acuosa se extrae con MTBE (4 x 2 l). Las fases orgánicas reunidas se lavan con una solución de salmuera (5 l), se secan sobre sulfato de magnesio, se tratan con carbón mineral, se filtran y se concentran. Se evapora junto con EtOAc (1,5 l) para obtener un aceite marrón claro (4080 g).

35 Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se cargan en el matraz monohidrato del ácido *p*-toluenosulfónico (4106 g, 21,585 mol, 2,5 eq) y EtOAc (15 l), se inicia la agitación y se observa una suspensión blanca. El aceite marrón se disuelve en EtOAc (16,3 l, 4 ml/g) y esta solución se añade en forma de porciones (rápido primero, después lento, cuando aparecen los sólidos) a la suspensión de monohidrato del ácido *p*-toluenosulfónico en EtOAc. La suspensión gris-marrón resultante, se agita durante 12 h a temperatura ambiente. Después de este tiempo los sólidos se recogen por filtración y se lavan con EtOAc (3 x 2 l, temperatura ambiente). Los sólidos se transfieren a una bandeja y se someten a suspensión a suspensión con EtOAc (14 l), seguidamente los sólidos se recogen por filtración. Los sólidos se transfieren a una bandeja y se someten a suspensión una vez más con alcohol isopropílico (14 l), después se recogen por filtración. Se equipa un matraz de fondo redondo de tres  
45 bocas de 50 l con un agitador mecánico, condensador de reflujo, entrada de nitrógeno y tubo de secado colocado en una manta de calentamiento. Los sólidos y alcohol isopropílico (12 l) se cargan en el matraz. La suspensión resultante se calienta a reflujo durante 30 min, se enfría hasta temperatura ambiente y los sólidos se recogen por filtración. Los sólidos se lavan seguidamente a temperatura ambiente con alcohol isopropílico (2 x 2 l), EtOAc (2 x 2 l) y heptano (2 x 2 l) y a continuación se secan en un horno de vacío de 40 hasta 45 °C durante la noche. Se obtienen sólidos color gris-marrón.

## Ejemplo I(b)

**(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida**

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. Se añaden en el matraz (E)-3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a, d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenilamina (1800 g, 4,96 mol) (preparado esencialmente como se describe para el Intermedio 10 usando el Procedimiento alternativo), diclorometano (18 l) y piridina (588,5 g, 7,44 mol). La mezcla de reacción se enfría de 0 hasta 5 °C y se añade cloruro de metanosulfonilo puro (681,8 g, 5,952 mol) gota a gota durante aproximadamente 20-30 min, manteniendo la temperatura ≤ 5 °C. Después de completarse la adición, la mezcla de reacción se agita a 0 hasta 5 °C durante una hora. El baño de enfriamiento se retira y la reacción se agita a temperatura ambiente durante un mínimo de 12 h. El progreso de la reacción se controla por TLC (EtOAc directo). Una vez que la reacción se considera completa, la mezcla de reacción se lava con una solución acuosa de ácido cítrico al 10% (14 l) usando un embudo de separación de 40 l. La fase acuosa se extrae de nuevo con diclorometano (1,5 l). Las fases orgánicas reunidas se lavan con una solución acuosa de ácido cítrico al 10% (2 l). La fase acuosa se extrae de nuevo con diclorometano (1,5 l). Las fases orgánicas reunidas se lavan con una solución acuosa de cloruro de sodio al 15% (5 l) y la fase acuosa se extrae de nuevo con diclorometano (1,5 l). Las fases orgánicas reunidas se lavan con la mitad de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (5 l). El lavado con bicarbonato de sodio se debe realizar durante un tiempo mínimo de 30 min. La fase acuosa se extrae de nuevo con diclorometano (1,5 l). Las fases orgánicas reunidas se secan sobre sulfato de sodio y se filtran. Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. La solución de diclorometano que contiene el producto se carga en el matraz, seguida por ácido tritiocianúrico, sal trisódica (630 g, 0,35 g/g de material de partida), sulfato de sodio (3,6 kg, 2 g/g de material de partida) y carbón mineral (180 g, 0,1 g/g de material de partida) en el matraz. La suspensión se agita durante 12 h a temperatura ambiente. La suspensión se filtra y la torta del filtro se somete a suspensión con diclorometano (3 x 3 l). Los filtrados se reúnen y se concentran a un sólido blancuzco. El producto se seca en un horno a vacío a 40 °C durante la noche.

**25 Ejemplo 1(c)**

(a partir del Intermedio 11)

**(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida**

Parte A.

Se carga un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un agitador magnético con Intermedio 11 (3,14 g, 5,09 mmol) y cloruro de metileno (70 ml). A la mezcla se añade solución de carbonato de sodio al 15% en porciones durante un periodo de 5 min. La mezcla se agita durante 30 min. La fase orgánica inferior se separa y se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro. La mezcla se filtra y la torta se lava con cloruro de metileno (10 ml). El filtrado se concentra en un evaporador rotatorio a una temperatura de baño de 50 °C obteniendo 1,85 g de un aceite.

Parte B.

35 En un recipiente de reacción de 3 bocas, separado, de 250 ml, se añade una solución del aceite (1,85 g) de la Parte A disuelta en cloruro de metileno (65 ml) y piridina (0,62 ml, 7,64 mmol). La solución de reacción se agitada seguidamente durante 5 min. Se añade cloruro de metanosulfonilo (0,46 ml, 6,12 mmol) disuelto en cloruro de metileno (5 ml) durante un periodo de 5 min. La mezcla de reacción se agita durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se controla por HPLC y se inactiva con solución de ácido cítrico al 10% (10 ml) después de la separación del Intermedio 11. La mezcla de reacción se agita durante 5 min. Se añade agua desionizada (20 ml) y la fase orgánica inferior se separa después de 20 min de agitación. La fase orgánica se trata con carbón mineral activado DARCO® (2,0 g) durante 20 min. La mezcla se filtra sobre tierra de diatomeas y la torta se lava con cloruro de metileno (20 ml). El filtrado se concentra en un evaporador rotatorio proporcionando 1,84 g del compuesto del epígrafe. CL-EP/EM *m/e* 440 [M<sup>+</sup>]; RMN de <sup>1</sup>H DMSO (δ) 0,8 (triplete, 3H), 2,45 (m, 1H), 2,55 (m, 4H), 5,0 (d, 1H), 5,85 (d, 1H), 6,9-7,1 (m, 7H), 7,2 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 8,24 (d, 1H), 9,45 (s, 1H) .

**Ejemplo 2****(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2:1)**

50 Se combina (E)-N-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (251 mg, 0,57 mmol) con acetona (4 ml) en un vial de centelleo. La muestra se calienta hasta aproximadamente 55 °C con agitación. Se añade una equivalencia 1 molar de ácido sulfúrico (0,25 M). Después de algunas horas de calentamiento elevado y agitación, la muestra se deja enfriar hasta aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. No se produce precipitación y la muestra se evapora hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Al residuo resultante, se añade acetona (2 ml), mientras se agita y calienta hasta aproximadamente 55 °C proporcionando una suspensión. Se añade más acetona (1 ml) que da lugar a una solución transparente. La muestra se evapora hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Se añade acetona (2 ml) al residuo resultante, mientras se agita y calienta hasta aproximadamente 55 °C proporcionando una suspensión. La muestra se deja enfriar a

aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. La suspensión se aísla por filtración a vacío y el sólido se deja secar al aire. Las características de punto de fusión del material se determinan por análisis térmico diferencial (DTA). Comienzo de la fusión = 139 °C; pico de fusión = 148 °C. Se determina que el material es la sal hemisulfato por PHLC (autoinyector modelo Waters 2695 (Alliance), columna RP-18 de Chromolith Performance eluyendo con 5% de acetonitrilo/agua (con TFA al 0,1%) hasta 100% de acetonitrilo (con TFA al 0,1%) a 1 ml/min) con un detector ESA Corona™ para cuantificar el contenido y se encuentra que contiene 56,7% de la monosal teórica. La base libre se detecta por UV (245 nm, detector PDA Waters 996) y se encuentra que está a una potencia de 89,5%, al comparar con una curva patrón. Esto corresponde a una estequiometría de 2 moles de base libre: 1 mol de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sal hemisulfato).

#### 10 Ejemplo 3

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida. HBr**

Se combina (E)-N-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (183 mg, 0,42 mmol) con etanol (5 ml) en un vial de centelleo. La muestra se calienta hasta aproximadamente 75 °C con agitación. Se añade una equivalencia 1 molar de HBr (0,25 M). Después de algunas horas de calentamiento elevado y agitación, la muestra se deja enfriar hasta aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. No se produce precipitación y la muestra se evapora hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Al residuo resultante se añaden EtOAc "húmedo" (6 ml) que se prepara lavando el EtOAc con agua en un embudo de separación dando aproximadamente 3% de agua/EtOAc. La suspensión resultante se agita y se calienta hasta aproximadamente 65 °C durante varias horas. La muestra se deja enfriar hasta aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. El sólido se aísla de la suspensión por filtración a vacío y se deja secar al aire. Las características de punto de fusión del material se determinan por análisis térmico diferencial (DTA). Comienzo de la fusión = 227 °C; Pico de fusión = 233 °C.

#### Ejemplo 4

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida. HCl**

Se combina (E)-N-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (218 mg, 0,49 mmol) con etanol (5 ml) en un vial de centelleo. La muestra se calienta hasta aproximadamente 75 °C con agitación. Se añade una equivalencia 1 molar de HCl (1N). Después de algunas horas de calentamiento elevado y agitación, la muestra se deja enfriar hasta aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. No se produce precipitación y la muestra se evapora hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Al residuo resultante se añade EtOAc "húmedo" (6 ml) que se prepara lavando el EtOAc con agua en un embudo de separación dando aproximadamente 3% de agua/EtOAc. La suspensión resultante se agita y se calienta hasta a aproximadamente 65 °C durante varias horas. La muestra se deja enfriar hasta aproximadamente 25 °C con agitación durante la noche. El sólido se aísla de la suspensión por filtración a vacío y se deja secar al aire. Las características de punto de fusión del material se determinan por análisis térmico diferencial (DTA). Descomposición = 180 °C.

#### 35 Ejemplo 5

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (cristalina) (Forma I)**

Análisis Inicial:

Una muestra de (E)-N-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d] ciclohepten-5-iliden) - propil]-fenil}-metanosulfonamida, preparada esencialmente como se describe en Ejemplo 1(a) se analiza por calorimetría de barrido diferencial y por difracción en polvo de rayos X. (antes y después de tamizar la luz). DSC: comienzo 189,79 °C; pico 109,91 °C.

Recristalización:

Se disuelven muestras de la metanosulfonamida del Ejemplo 1 (a) (aproximadamente 50 mg) en alcohol isopropílico, acetato de isopropilo, acetonitrilo, metanol, etanol (absoluto), etanol (96%) y acetona, añadiendo los disolventes etapa por etapa bajo agitación a temperatura ambiente hasta que se completa la disolución. En los casos en los que permanecen partículas no disueltas, la solución se calienta hasta aproximadamente 50 °C. Cada solución se deja seguidamente en un vial abierto a temperatura ambiente bajo agitación hasta que se produce cristalización (de varias horas a toda la noche). La evaporación se continúa para permitir una formación de cristal suficiente hasta que quedan aproximadamente 0,5 ml de solución (aproximadamente 0,2 ml para la solución de acetona). Una vez que se han formado suficientes cristales, se filtran las soluciones y los polvos resultantes se secan en placas de vidrio durante la noche al aire a temperatura ambiente. Se analizan entonces por difracción en polvo de rayos X muestras de los polvos obtenidos de cada una de las recristalizaciones.

Los patrones de rayos-X se obtienen de las muestras en los análisis iniciales (antes y después de la trituración), y también para las muestras recristalizadas y revelan una forma de cristal común (Forma I), que tienen posiciones de

picos características (valores  $^{\circ}2\theta$ ) en común con los siguientes obtenidos a partir de la muestra inicial después de tamizar la luz:

| Pico nº | $^{\circ}2\theta$ | I / I <sub>0</sub> |
|---------|-------------------|--------------------|
| 1       | 10,9              | 0,51               |
| 2       | 15,8              | 0,28               |
| 3       | 16,9              | 0,43               |
| 4       | 18,8              | 1,00               |
| 5       | 20,5              | 0,41               |
| 6       | 22,9              | 0,96               |
| 7       | 29,7              | 0,27               |
| 8       | 31,8              | 0,19               |

#### 5 Ejemplo 6

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (recristalización en metanol)**

Se equipa un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l con un agitador mecánico, condensador de reflujo, termopar y tubo de secado y se coloca en una manta de calentamiento. Se cargan en el matraz 2263 g de material sólido, preparado esencialmente como se describe en Ejemplo I(b) y MeOH (30 l). Se inicia la agitación y la mezcla se calienta a reflujo con calentamiento continuado hasta que todos los sólidos se disuelven. Una vez que se obtiene una solución transparente, se añade cuidadosamente en el matraz carbón mineral (180 g). La mezcla se filtra mientras se calienta y el filtrado se carga en un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 l equipado con un agitador mecánico, termopar y tubo de secado colocado en un recipiente de enfriamiento. La solución resultante se enfría lentamente primero, después de  $-10$  a  $0$   $^{\circ}\text{C}$  y se agita a esta temperatura durante un tiempo mínimo de una hora. Después de este tiempo los sólidos se recogen por filtración y se lavan con MeOH frío ( $2 \times 600$  ml,  $-40$   $^{\circ}\text{C}$ ). El producto se seca en un horno de vacío a  $70$   $^{\circ}\text{C}$  durante la noche proporcionando 1942 g.

#### Ejemplo 7

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (micronizada)**

Se reduce el tamaño de partícula (micronizan) de muestras del Compuesto (I) (preparado, por ejemplo, esencialmente como se describe en Ejemplo 6), usando un Jet-O-Mizer series 0101 (molino de bucles) (Fluid Energy Processing and Equipment Company) y gas de molienda de nitrógeno comprimido (punto de rocío  $> 40$   $^{\circ}\text{C}$ ). La distribución del tamaño de partícula se mide en un analizador de tamaño de partícula de difracción láser Sympatec (HELOS Particle Size Analysis System) y se determinan los tamaños de partículas  $x_{50}$  y  $x_{90}$ ,  $x_{50} < 5$   $\mu\text{m}$ ;  $x_{90} < 15$   $\mu\text{m}$ .

#### Ejemplo 8

##### **(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida (cristalina) (Forma II)**

Se someten a análisis de difracción en polvo de rayos X muestras de Compuesto (I) no micronizado, preparado, por ejemplo esencialmente como se describe en el Ejemplo 6, y Compuesto (I) micronizado, preparado, por ejemplo esencialmente como se describe en el Ejemplo 7, usando un difractómetro Bruker D8 Advance, explorándose las muestras entre  $2^{\circ}$  y  $45^{\circ}$  en  $^{\circ}2\theta$ , con un tamaño de etapa de  $0,02^{\circ}$  en  $2\theta$  y una velocidad de exploración de 5 segundos/etapa, con  $0,6$  mm de rendija de divergencia,  $0,6$  mm de rendija antidispersión,  $0,1$  mm de rendija de recepción y  $0,6$  mm de rendija de detector. Los patrones de rayos X para las muestras micronizadas y no micronizadas, revelan una forma cristalina común (Forma II) que tiene posiciones de pico característicos a los siguientes valores  $^{\circ}2\theta$ :

| Pico nº | $^{\circ}2\theta$ |
|---------|-------------------|
| 1       | 4,5               |
| 2       | 9,0               |
| 3       | 11,5              |
| 4       | 14,7              |

|   |      |
|---|------|
| 5 | 16,4 |
| 6 | 17,2 |
| 7 | 24,5 |
| 8 | 27,7 |

**Ejemplo 9**

**(E)-N-{3-[1-(8-Cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida en nanosuspensión**

5 Se suspenden aproximadamente 579 mg del Compuesto I que tienen un tamaño de partícula inicial d90 = 32 µm (tamaño de partícula inicial determinado usando un Analizador de Tamaño de Partícula de Difracción Láser Beckman Coulter LS13 320) en 174 ml de un vehículo que comprende, carboximetilcelulosa de sodio al 1%, polisorbato 80 al 0,25% y Antifoam 1510 al 0,05% en un frasco medio de 250 ml Pyrex nº 1395. La formulación se somete entonces a ultrasonidos con un Sonicador Branson 250 durante 46 min usando una sonda de 1,27 centímetros a una potencia de salida que es aproximadamente un 86% del máximo. El tamaño de partícula del  
10 compuesto I en la formulación sometida a ultrasonidos de sonda, se determina usando un analizador de tamaño de partícula Horiba LA-920: tamaño de partícula promedio: 3,8 µm; tamaño de partícula d90: 6,5 µm.

15 La formulación de sonda sometida a ultrasonidos se homogeniza seguidamente proporcionando una nanosuspensión usando un Microfluidizador Microfluidics M-110S equipado con una cámara de interacción, de 75 micrómetros, JR30, y un serpentín de enfriamiento. El serpentín de enfriamiento se mantiene en un baño de agua a una temperatura de 20-30 °C, excepto por excursiones breves mínimas de 14 °C y máximas de 39 °C. El calibrador de presión se ajusta 6,89 x 10<sup>5</sup> Pa, que aplica una presión de 1584,8 x 10<sup>5</sup> Pa en la formulación. La formulación está contenida en una tolva de 1 l y se extrae en el Microfluidizador de la parte inferior de la tolva y se devuelve a la parte superior del líquido en la tolva a través del drenaje del producto y un tramo de tubo flexible de silicona. La  
20 formulación también se agita en la tolva con mezclador de propulsor convencional. El volumen total de la formulación se hace pasar a través de la cámara de interacción 81 veces. El tamaño de partícula final del Compuesto I en la formulación de nanosuspensión se determina usando un analizador de tamaño de partícula Horiba LA-920; tamaño de partícula promedio: 0,430 µm; tamaño de partícula d90: 0,594 µm.

**Listado de secuencias**

- <110> Eli Lilly and Company
- 25 <120> Modulador del receptor glucocorticoide y procedimientos de uso
- <130> P-17352
- <140> PCTUS0773345
- <141> 2007-07-12
- <160> 2
- 30 <170> Patentin version 3.3
- <210> 1
- <211> 15
- <212> ADN
- <213> Artificial
- 35 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 1
- ggttcttgga gtact 15
- <210> 2
- 40 <211> 15
- <212> ADN
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética
- 45 <400> 2
- tgtacaggat gtct 15

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es (*E*)-*N*-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es (*E*)-*N*-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida.
3. Una sal de acuerdo con la reivindicación 1 que es (*E*)-*N*-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil} - metanosulfonamida·Hbr, (*E*)-*N*-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida·HCl o (*E*)-*N*-{3-[1-(8-cloro-11H-10-oxa-1-aza-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-iliden)-propil]-fenil}-metanosulfonamida·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2:1).
- 10 4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en combinación con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
5. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en terapia.
- 15 6. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, fiebre reumática, asma, rinitis alérgica, lupus eritematoso sistémico, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria de intestino, o colitis ulcerativa.
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, para uso en el tratamiento de artritis reumatoide.