

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 474 992**

51 Int. Cl.:

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2009 E 09792493 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.04.2014 EP 2331538**

54 Título: **Formas cristalinas de un derivado de 2-tiazolil-4-quinolinil-oxi, un potente inhibidor de HCV**

30 Prioridad:

16.09.2008 US 97291 P
09.03.2009 US 150826 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.07.2014

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (100.0%)
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim, DE**

72 Inventor/es:

**BERKENBUSCH, THILO;
BUSACCA, CARL ALAN;
JAEGER, BURKHARD y
VARSOLONA, RICHARD J.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 474 992 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

Formas cristalinas de un derivado de 2-tiazolil-4-quinolinil-oxi, un potente inhibidor de HCV

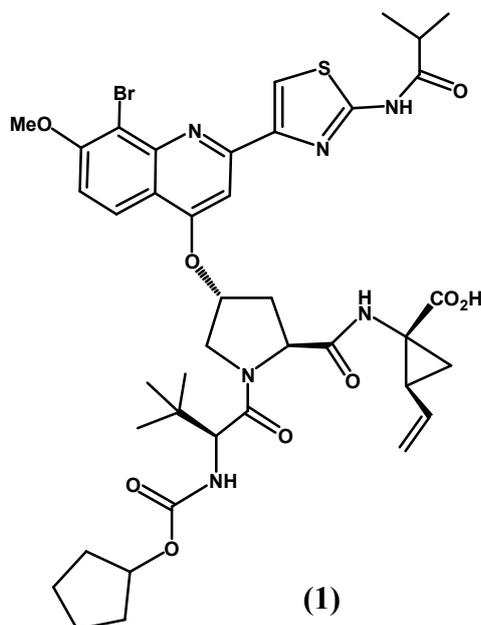
5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a la sal de sodio del Compuesto (1) como se describe en este documento, a métodos para su preparación, a sus composiciones farmacéuticas, y a su uso en el tratamiento de la infección por la Hepatitis C Viral (HCV).

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El siguiente Compuesto (1):



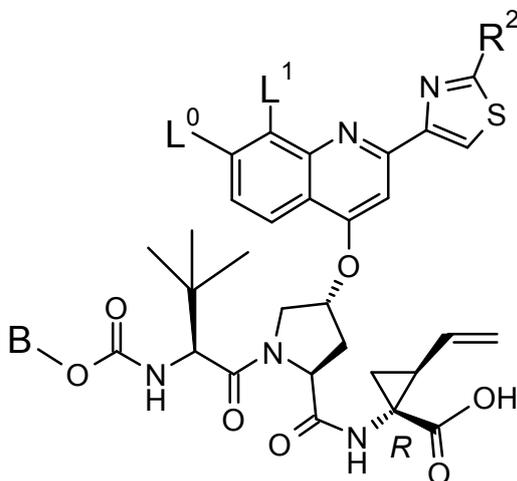
15

se conoce como un potente y selectivo inhibidor de la serina proteasa NS3 de HCV. El Compuesto (1) se encuentra dentro del alcance de las series de péptidos acíclicos de inhibidores de HCV descritos en las patentes de EE.UU. 6.323.180, 7.514.557 y 7.585.845. El Compuesto (1) se describe específicamente como el Compuesto N° 1055 en la patente de EE.UU. 7.585.845, y como el Compuesto N° 1008 en la patente de EE.UU. 7.514.557. El Compuesto (1) puede prepararse de acuerdo con los procedimientos generales encontrados en las anteriormente citadas referencias.

20

El Compuesto (1) también se conoce por la siguiente representación alternativa de su estructura química, que es equivalente a la estructura anteriormente descrita:

25





5 Cuando se sintetiza de acuerdo con los procedimientos generales expuestos en las referencias anteriormente citadas, el Compuesto (1) se prepara como un sólido amorfo que es una forma que generalmente es menos adecuada para el procesamiento farmacéutico a escala real. Así, se requiere producir el Compuesto (1) en una forma cristalina que proporcione formulaciones que satisfagan precisos requerimientos farmacéuticos y especificaciones. Además, el procedimiento por el cual el Compuesto (1) se produce, se requiere que sea uno que sea susceptible de su producción a gran escala. Además, se desea que el producto esté en una forma que sea fácilmente filtrable y de fácil secado. Finalmente, es deseable económicamente que el producto sea estable durante 10 extensos periodos de tiempo sin requerir condiciones de almacenamiento especiales.

SUMARIO DE LA INVENCION

15 Los inventores han encontrado, sorprendente e inesperadamente, por primera vez que el Compuesto (1) puede prepararse en forma de la sal de sodio cristalina. Así, la presente invención proporciona una nueva sal de sodio cristalina del Compuesto (1), superando las dificultades inherentes del procesamiento farmacéutico en el uso de una forma amorfa y tiene otras propiedades que la hacen particularmente ventajosa en procesamientos de formulación farmacéutica como son los descritos con detalle más abajo.

20 La sal de sodio cristalina del Compuesto (1) exhibe un modelo de difracción de rayos X en polvo (XRPD) característico con picos característicos expresados en grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) a 5,4, 6,5, 8,7, 10,1, 11,9, 13,0, 18,2, 20,2 y 24,7 medidos usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

25 Otra realización se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de sodio del Compuesto (1), y al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Incluso otra realización se refiere a un método para tratar la infección por HCV en un mamífero que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de la sal de sodio del Compuesto (1).

30 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es un modelo de difracción de rayos X en polvo (XRPD) característico para el Tipo A.

35 La FIG. 2 es la curva térmica DSC para los cristales Tipo A donde la DSC se realiza a una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto en un vaso a presión.

La FIG. 3 es un modelo de difracción de rayos X en polvo (XRPD) característico para la sal de sodio cristalina del Compuesto (1).

40 La FIG. 4 es la curva térmica DSC para cristales de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) donde la DSC se realiza a una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto en un vaso abierto.

45 La FIG. 5 muestra los modelos XRPD de la forma cristalina Tipo A del Compuesto (1) (abajo); la forma cristalina Tipo A del Compuesto (1) después de ser mezclada en propilenglicol (medio); y la forma cristalina Tipo A del Compuesto (1) después de ser mezclada en etanol (arriba).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

50 Los términos que no se definen de forma específica en la presente memoria deben tener el significado que le dan los expertos en la técnica a la luz de la descripción y el contexto. Tal como se utilizan en toda la presente solicitud, no obstante, a menos que se especifique lo contrario, los siguientes términos y expresiones tienen el significado que se indica:

55 El término "aproximadamente" significa dentro del 5%, y más preferiblemente dentro del 1% de un valor o intervalo determinado. Por ejemplo, "aproximadamente 3,7%" significa entre 3,5 y 3,9%, preferiblemente entre 3,66 y 3,74%. Cuando el término "aproximadamente" se asocia con un intervalo de valores, por ejemplo, "aproximadamente entre X% e Y%", con el término "aproximadamente" se pretende modificar tanto el valor superior (X) como el inferior (Y) del intervalo definido. Por ejemplo, "entre aproximadamente 20% y 40%" es equivalente a "entre aproximadamente 20% y aproximadamente 40%".

La expresión “farmacéuticamente aceptable” con respecto a una sustancia, tal como se utiliza en la presente, significa que esa sustancia que es, dentro del alcance del criterio médico seguro, adecuada para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica indebida y similares, con una relación razonable de riesgo/beneficio, y eficaz para el uso que se tiene como fin cuando la sustancia se utiliza en una composición farmacéutica.

El término “tratar” con respecto al tratamiento de un estado de enfermedad en un paciente incluye

- (i) inhibir o aliviar el estado de enfermedad en un paciente, p. ej., interrumpiendo o demorando su desarrollo; o
- (ii) aliviar el estado de enfermedad en un paciente, es decir, causar la regresión o cura del estado de enfermedad. En el caso de HCV, el tratamiento incluye reducir el nivel de HCV viral soportado en un paciente.

Compuesto (1) cristalino

El Compuesto (1) se ha aislado como una forma polimórfica cristalina denominada en este documento “Tipo A”. En general, el Tipo A exhibe un modelo de difracción de rayos X en polvo (XRPD) característico con picos expresados en grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) a 4,8, 6,8, 9,6, 13,6, 17,3, 19,8 y 24,5.

La FIG. 2 muestra la curva térmica de la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para los cristales Tipo A donde la DSC se realiza a una velocidad de calentamiento de 10 °C por minuto en un vaso a presión.

Se ha encontrado que el Tipo A del Compuesto (1) puede prepararse por un procedimiento que comprenda las siguientes etapas:

(i) disolver el Compuesto (1) en un disolvente de alcohol alifático, que contiene opcionalmente agua como co-disolvente, calentando la mezcla a una temperatura entre aproximadamente 65 y 75 °C para obtener una disolución;

(ii) añadir agua a la solución obtenida en la etapa (i) mientras se mantiene la solución a una temperatura entre aproximadamente 70 y 75 °C para obtener una mezcla;

(iii) enfriar la mezcla obtenida en la etapa (ii) para obtener material sólido;

(iv) recuperar el material sólido de la etapa (iii) y secar dicho material a una temperatura entre aproximadamente 65 y 80 °C para obtener el Tipo A del Compuesto (1).

Alcoholes alifáticos que pueden emplearse en este procedimiento incluyen, por ejemplo, etanol (por ejemplo, desnaturalizado, 200 prueba o 100% puro), 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, alcohol iso-butílico y alcohol iso-pentílico, preferiblemente etanol. Los cristales resultantes del Tipo A pueden recuperarse por cualquier método convencional conocido en la técnica.

En la etapa final (iv), los sólidos resultantes obtenidos en la etapa (iii) pueden recuperarse y secarse a alta temperatura usando técnicas de recuperación y de secado a alta temperatura convencionales, por ejemplo, filtración y estufa al vacío.

En una realización preferida, el Compuesto (1) amorfo se disuelve en un disolvente de alcohol alifático (por ejemplo, etanol), que contiene hasta aproximadamente 10% v/v de agua como co-disolvente, agitando y calentando la mezcla a una temperatura entre aproximadamente 72 y 74 °C hasta que el Compuesto (1) se disuelva completamente. Se prepara una disolución de adición de agua separada, que contiene agua y hasta aproximadamente 10% v/v de alcohol alifático (por ejemplo, etanol), y esta disolución de adición de agua se añade aproximadamente linealmente en el tiempo a la solución del Compuesto (1), mientras se mantiene la mezcla a una temperatura entre aproximadamente 72 y 74 °C. El Tipo A del Compuesto (1) comienza a cristalizar durante la adición de la solución acuosa. La mezcla cristalina resultante se enfría y se agita, y los cristales se filtran después, se lavan y se secan a una temperatura entre aproximadamente 65 y 75 °C usando técnicas convencionales.

Las etapas del procedimiento pueden, por supuesto, estar facilitadas por técnicas de agitación convencionales, por ejemplo, el agitado, y otras técnicas convencionales que se entiendan que facilitan el procedimiento.

Sal de sodio del Compuesto (1)

Se ha encontrado que la sal de sodio del Compuesto de fórmula (1) es especialmente adecuada para el procesamiento farmacéutico debido al hecho de que puede prepararse como una forma cristalina estable. En general, la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) exhibe un modelo de difracción de rayos X en polvo (XRPD) característico con picos característicos expresados en grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) a 5,4, 6,5, 8,7, 10,1, 11,9, 13,0, 18,2, 20,2 y 24,7.

El modelo XRPD de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) se muestra en la FIG. 3. Las posiciones del pico característico y las intensidades relativas para el modelo XRPD en la FIG. 3 se muestran en la Tabla 2 más abajo.

Tabla 2:

Compuesto (1) Sal de Na cristalina	
Ángulo 2-Theta °	Intensidad Rel. %
5,4	42
6,5	29
8,7	43
10,1	100
11,9	39
13,0	52
18,2	51
20,2	42
24,7	30

La FIG. 4 muestra la curva térmica de la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para los cristales de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) donde la DSC se realiza a una velocidad de calentamiento de 10 °C por minuto en un vaso abierto.

La forma de sal de sodio se ha encontrado inesperadamente que tiene propiedades únicas que la hacen particularmente ventajosa en procesamientos de formulación farmacéutica. En particular, la forma de sal de sodio tiene diversas propiedades que la hacen particularmente adecuada para formularlas en un Sistema de Administración de Fármacos Lipídico (LBDDS).

En primer lugar, se ha encontrado inesperadamente que la forma de sal de sodio tiene mucha mejor solubilidad en los excipientes comúnmente usados para la formulación en LBDDS incluyendo, por ejemplo, propilenglicol y etanol. La tabla inferior proporciona datos que demuestran la mucha mejor solubilidad de la forma de sal de sodio del Compuesto (1) según se compara con la forma Tipo A del Compuesto (1) en excipientes particulares:

Comparación de la solubilidad de la sal de Na del Compuesto (1) frente al Tipo A del Compuesto (1) en diversos excipientes

Excipiente	Sal de Na del Compuesto (1) (mg/mL)	Tipo A del Compuesto (1) (mg/mL)
PEG 400	233,6 ± 34%	136,8 ± 3,2%
Propilenglicol	> 468	1,3 ± <0,01
Etanol	187,0 ± 23,9%	0,9 ± 0,1%
Capmul PG8	< 169	172,6 ± 8,3%
Capmul MCM	262,5 ± 2,6%	220,6 ± 7,4%
Transcutol P	430,6 ± 14,7%	24,3 ± 0,3%
Labrasol	174,6 ± 11,8%	146,7 ± 5,1%

La mucha mejor solubilidad de la forma de sal de sodio en propilenglicol y etanol hace que esta forma sea particularmente adecuada para el desarrollo de una formulación LBDDS que emplee uno o más de estos excipientes comunes.

En segundo lugar, la sal de sodio exhibe inesperadamente una mayor estabilidad de la forma en propilenglicol y etanol según se compara con la forma Tipo A. En particular, la forma Tipo A del Compuesto (1) exhibe un claro cambio de forma cuando se mezcla tanto en etanol como en propilenglicol, como se demuestra por un cambio en su modelo XRPD. La FIG. 5 muestra los modelos XRPD de la forma Tipo A cristalina (abajo - Lote A03); la forma Tipo A después de ser mezclada en propilenglicol (medio - sólidos en propilenglicol); y después de ser mezclada en etanol (arriba - sólidos en EtOH), mostrando claramente los cambios de la forma cristalina. En contraste, cuando la forma de sal de sodio cristalina del Compuesto (1) se mezcla tanto en propilenglicol como en etanol, no hay cambio en el modelo XRPD observado para la fase sólida remanente. Esto demuestra la mejor estabilidad de la forma de sal de sodio en estos excipientes que, una vez más, hacen que la forma de sal de sodio sea particularmente adecuada

para el desarrollo de una formulación LBDDS que emplee uno o más de estos excipientes comunes. Los métodos usados para generar estos resultados se describen más abajo en la sección Métodos de Caracterización.

5 Los resultados anteriores obtenidos con la sal de sodio cristalina son inesperados porque generalmente no es posible predecir dichas diferencias de solubilidad y cualquier tendencia en la estabilidad física entre la forma libre y las diferentes formas salinas de un compuesto y, en particular, para el Compuesto (1), incluso después de que dichas formas hayan sido preparadas con éxito.

10 En una realización general, la presente invención se refiere a la sal de sodio del Compuesto (1).

En una realización más específica, la sal de sodio del Compuesto (1) está en forma cristalina.

15 En una realización incluso más específica, la presente invención se refiere a una sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que tiene al menos la siguiente característica: un modelo de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

20 Otra realización se refiere a la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que tiene un modelo XRPD que comprende un pico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) como se describe antes y que comprende además picos a 13,0 y 18,2 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

Otra realización se refiere a la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que tiene un modelo XRPD que comprende un pico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) como se describe antes y que comprende además picos a 5,4, 8,7, 13,0 y 18,2 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

25 Otra realización se refiere a la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que tiene un modelo XRPD que comprende un pico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) como se describe antes y que comprende además picos a 5,4, 6,5, 8,7, 11,9, 13,0, 18,2, 20,2 y 24,7 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

30 Otra realización se refiere a la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que exhibe un modelo XRPD sustancialmente igual al que se muestra en la FIG. 3.

35 Otra realización se refiere a la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que tiene un modelo XRPD con un pico característico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) como se describe antes y que también exhibe una curva térmica DSC sustancialmente igual a la que se muestra en la FIG. 4 a una velocidad de calentamiento de 10 °C por minuto en un vaso abierto.

40 Otra realización se refiere a una cantidad del Compuesto (1) en la que al menos el 50%, preferiblemente al menos el 75%, más preferiblemente al menos el 95%, más preferiblemente al menos el 99%, de dicha sustancia está presente en la forma de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) según se caracteriza por cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas de XRPD. La presencia de tales cantidades de sal de sodio cristalina del Compuesto (1) en una cantidad del Compuesto (1) se mide típicamente usando análisis XRPD del compuesto.

45 Una realización adicional se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de sodio del Compuesto (1) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. En una realización más específica, al menos el 50%, preferiblemente al menos el 75%, más preferiblemente al menos el 95%, más preferiblemente al menos el 99%, de la sal de sodio del Compuesto (1) en la composición está presente en forma cristalina, por ejemplo, en la forma de una sal de sodio cristalina del Compuesto (1) según se caracteriza por cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas de XRPD.

50 La presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) que comprende cristalizar el Compuesto (1) a partir de una disolución en disolventes bajo condiciones que proporcionen la sal de sodio cristalina. Las condiciones precisas bajo las cuales se forma la sal de sodio cristalina pueden ser determinadas empíricamente y sólo es posible proporcionar métodos que se hayan encontrado que son adecuados en la práctica.

55 Se ha encontrado que la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) puede prepararse mediante un procedimiento que comprenda las siguientes etapas:

(i) disolver el compuesto (1) en disolventes de cetonas o acetato, conteniendo opcionalmente agua como co-disolvente, calentando la mezcla como una mezcla u obteniendo una disolución completa

60 (ii) añadir agua a la solución obtenida en la etapa (i) mientras se mantiene la solución a una temperatura entre aproximadamente 50 - 70 °C para obtener una disolución o una mezcla;

(iii) sembrar con la sal de sodio cristalina del Compuesto (1)

(iv) enfriar la mezcla obtenida en la etapa (iii) para obtener material sólido;

65 (iv) recuperar el material sólido de la etapa (iii) y secar dicho material a una temperatura entre aproximadamente 45 y 75 °C para obtener la sal de sodio cristalina del Compuesto (1).

Procedimientos alternativos adicionales para preparar la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) pueden encontrarse en la sección de los Ejemplos más abajo.

Composiciones farmacéuticas y métodos

5 La sal de sodio anteriormente mencionada es útil como agente anti-HCV como consecuencia de la actividad inhibitoria demostrada del Compuesto (1) frente a serina proteasa NS3 de HCV, y es útil en el tratamiento de la infección por HCV en un mamífero y pueden usarse para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una infección por HCV o aliviar uno o más de sus síntomas en un paciente. Además, se ha demostrado que la forma de sal de sodio del Compuesto (1) es efectiva para tratar a pacientes infectados por HCV en ensayos clínicos en humanos. Las cantidades de administración apropiadas y los regímenes para un paciente particular pueden determinarse por los métodos conocidos en la técnica y por referencia a la descripción en las patentes de EE.UU. 6.323.180 B1 y 7.585.845. Generalmente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de infección por HCV en el mamífero. En una realización, se administran aproximadamente entre 50 mg y 1000 mg, más preferiblemente entre aproximadamente 120 mg y aproximadamente 480 mg, por humano adulto por día en dosis simples o múltiples.

Regímenes específicos óptimos de dosis y tratamiento para cualquier paciente particular dependerán, por supuesto, de una variedad de factores, incluyendo la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, el índice de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad y el curso de la infección, la disposición del paciente a la infección y el criterio del médico que lo esté tratando. En general, el compuesto se administra más convenientemente con un nivel de concentración que en general producirá resultados antivíricamente eficaces sin causar ningún efecto colateral perjudicial o deletéreo.

25 La sal de sodio se administra típicamente al paciente vía una composición farmacéutica. Véase, por ejemplo, la descripción en las patentes de EE.UU. 6.323.180 y 7.585.845 para los diversos tipos de composiciones que pueden emplearse en la presente invención. La composición farmacéutica se puede administrar oralmente, parenteralmente o vía un depósito implantado. El término parenteral, tal como se usa en la presente, incluye técnicas subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales e intralesionales o de infusión. Se prefiere la administración oral o la administración vía inyección.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener cualquier portador, diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo convencional no tóxico farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, el pH de la formulación se puede ajustar con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables para aumentar la estabilidad del compuesto formulado o su forma de administración.

40 Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de preparación inyectable estéril, por ejemplo como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con técnicas conocidas en el campo técnico, usando agentes de dispersión o humectación adecuados (como por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión.

Las composiciones farmacéuticas también pueden estar en la forma de una composición farmacéutica oral que comprenda la sal de sodio del Compuesto (1), y al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas orales se pueden administrar oralmente en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, incluyendo, aunque sin limitarse a ello, comprimidos, cápsulas (p. ej., cápsulas de gelatina dura o blanda), incluyendo cápsulas rellenas de líquidos, y suspensiones y disoluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los vehículos que se utilizan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Los ejemplos de cápsulas de gelatina blanda que se pueden utilizar incluyen aquellas descritas en el documento EP 649651 y en la patente de EE.UU. 5.985.321. Cuando las suspensiones acuosas se administran oralmente, el ingrediente activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes y/o saborizantes y/o colorantes.

55 Otros vehículos o portadores adecuados para las formulaciones y composiciones anteriormente mencionadas se pueden hallar en los textos farmacéuticos estándar, p. ej., en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 19 ed., Mack Publishing Company, Easton, Penn., 1995.

60 Ciertamente, cuando se formula la sal de sodio cristalina en un vehículo líquido, por ejemplo, como una solución o suspensión líquida para la administración oral o por inyección, incluyendo, por ejemplo, en cápsulas rellenas de líquidos, la sal de sodio pierde su naturaleza cristalina. Sin embargo, la composición farmacéutica líquida final contiene la nueva sal de sodio del Compuesto (1). Sólo por el descubrimiento de un método para preparar la sal de sodio en una forma cristalina estable los presentes inventores pudieron lograr un eficiente procesamiento farmacéutico y la fabricación de la formulación farmacéutica usando la forma de la sal de sodio. Por lo tanto, la formulación farmacéutica final que contiene la forma de sal de sodio que fue proporcionada por este descubrimiento se considera otro aspecto y realización de la presente invención.

Métodos de caracterización1. Difracción de rayos X en polvo

Los análisis de difracción de rayos X en polvo se realizaron en un difractorómetro de rayos X en polvo AXS de Bruker Modelo D8 Discover, disponible en Bruker AXS, Inc. de Madison, WI, usando radiación $\text{CuK}\alpha$. El instrumento está equipado con un largo tubo de rayos x de foco fino. La potencia del tubo se puso en 40kV y 40mA. El instrumento se hizo funcionar en modo de haz paralelo con un espejo Gobel, usando una ranura de salida de 0,6 mm, una ranura Soller de $0,4^\circ$, un monocromador de haz difractado de cristal plano de LiF y un detector de centelleo de NaI. Un barrido del detector fue realizado usando un ángulo de tubo de $1^\circ 2\theta$. Los barridos de etapa se realizaron de 2 a $40^\circ 2\theta$, a $0,05^\circ$ por etapa, 4 segundos por etapa. Se usó cuarzo de referencia estándar para comprobar la alineación del instrumento. Las muestras se prepararon para su análisis rellenando un soporte de cuarzo de línea de fondo cero.

2. Análisis DSC

El análisis DSC se realizó con instrumentos DSC Q 1000 de TA. La curva de la calorimetría diferencial de barrido se obtuvo sobre una muestra de Tipo calentada a 10 grados C en un vaso a presión bajo un flujo de nitrógeno.

3. Estudios de solubilidad y de cambio de forma

La solubilidad del Compuesto (1), tanto en la forma Tipo A como de sal de sodio, se investigó en diversos disolventes no acuosos. Las soluciones se prepararon por la adición de un exceso del Compuesto (1) a de 0,25 ml a 1,0 ml de excipiente en viales ámbar con cierre de rosca con tapas revestidas de Teflón. Las muestras se dejaron rotar a temperatura ambiente hasta 4 días. El muestreo fue realizado centrifugando (14.000 rpm en la centrifugadora de mesa de Eppendorf modelo 5415C) y filtrando a través de un filtro PVDF de $0,45 \mu\text{m}$. El filtrado se sometió a análisis por HPLC para determinar la solubilidad. El análisis HPLC se realizó con un Agilent 1100 usando gradiente o condiciones isocráticas. Ambos métodos usaron acetonitrilo/agua (cada uno con ácido trifluoroacético al 0,1%) y una fase estacionaria de C-18 de ACE con un calentamiento de columna mantenido a $40\text{--}45^\circ\text{C}$. La longitud de onda de detección se ajustó a 220 nm o 264 nm. Los sólidos húmedos se recuperaron y se analizaron según su cambio de forma (estabilidad) por XRPD.

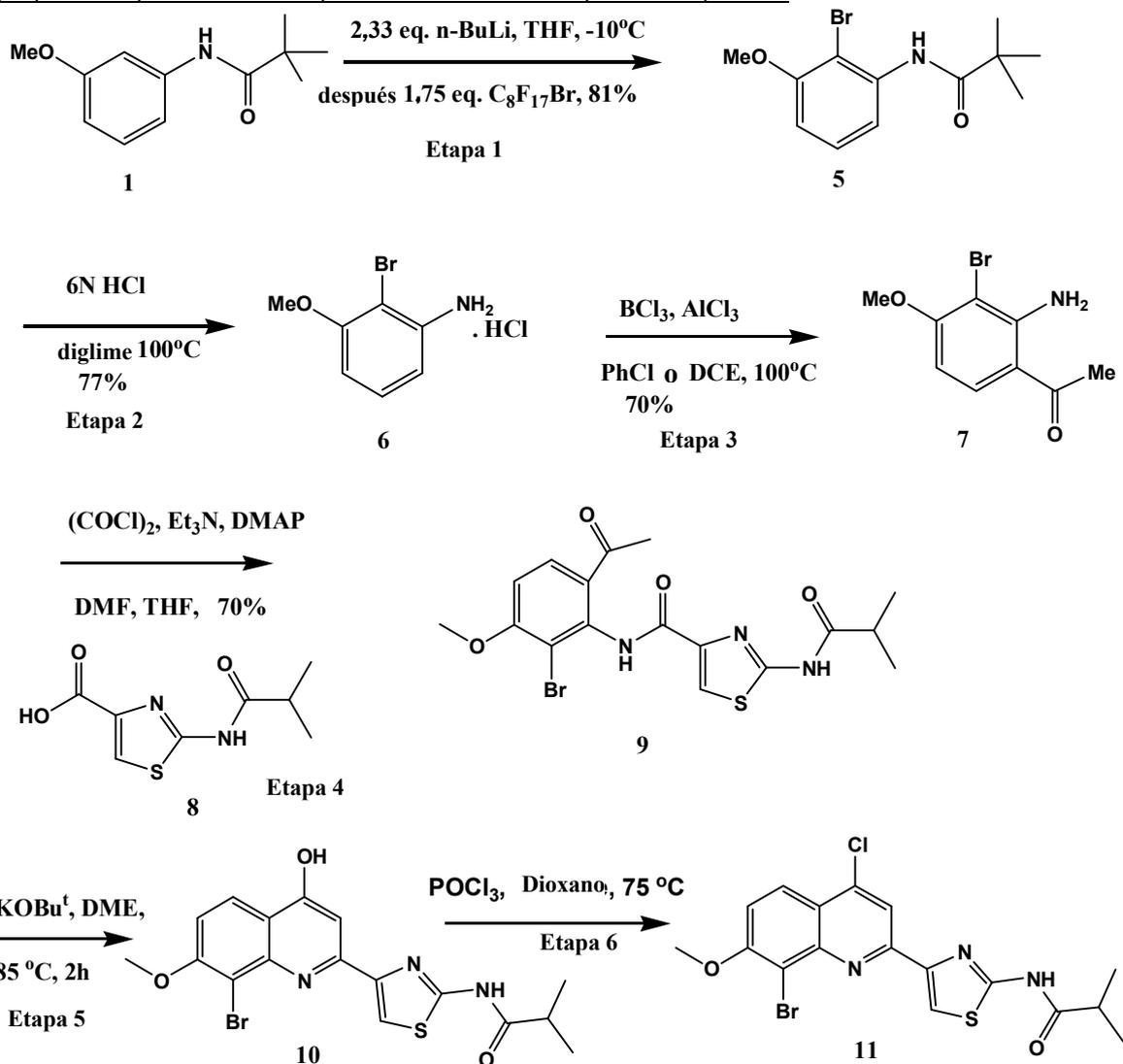
Los análisis XRPD para los estudios de cambio de forma se realizaron en un difractorómetro de rayos X en polvo AXS de Bruker Modelo D8 Discover, disponible en Bruker AXS, Inc. de Madison, WI, usando radiación $\text{CuK}\alpha$. La potencia del tubo se puso tanto a 40kV y 40mA como a 40kV y 30mA. El o los instrumentos se pusieron en marcha en modo de haz paralelo con un espejo Gobel, usando una ranura de salida de 0,6 mm con una ranura Soller de $0,4^\circ$ y monocromador de haz difractado de cristal plano de LiF o usando una ranura de divergencia de 1 mm con ranuras Soller de 0,12 mm. Se usó también la configuración Bragg-Brentano con el D8 Advance para algunos análisis con ranura de divergencia de 1 mm con ranuras soller de 0,12 mm. Cada configuración/instrumento empleaba el detector de centelleo de NaI. Los barridos del detector fueron realizados usando un ángulo del tubo de $1^\circ 2\theta$. Los barridos de etapa se realizaron entre 2 y 35° o $40^\circ 2\theta$, a $0,05^\circ$ por etapa, con 0,6 ó 4 segundos por etapa. Se usó cuarzo de referencia estándar para comprobar la alineación del instrumento. Las muestras se prepararon para su análisis rellenando un soporte de cuarzo de línea de fondo cero o un soporte de placa de Ni.

Con el fin de que la presente invención se entienda más completamente, se exponen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos tienen como fin ilustrar las realizaciones de la invención y no se interpretarán como limitativos del alcance de la misma en modo alguno. Los reactivos usados en los ejemplos siguientes se pueden obtener como se describe en la presente memoria o bien, si no se describe en la presente memoria, están comercialmente disponibles o se pueden preparar a partir de materiales comercialmente disponibles a través de métodos conocidos en la técnica. Ciertos materiales de partida pueden obtenerse, por ejemplo, mediante métodos descritos en las solicitudes de patente internacional WO 00/09543, WO 00/09558, WO 00/59929, las patentes de EE.UU. 6.323.180, 6.608.027, 7.514.557 y 7.585.845.

A menos que se especifique otra cosa, un especialista en la técnica puede elegir fácilmente los disolventes, temperaturas, presiones y otras condiciones de reacción. Típicamente, se puede controlar el avance de la reacción mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), si se desea, y se pueden purificar los intermedios y los productos mediante cromatografía sobre gel de sílice y/o mediante recristalización.

EJEMPLOS

Ejemplo 1- Preparación del Compuesto 11 de material de partida de quinolina

**Etapa 1**

- 10 El dianión de amida **1** (preparado exactamente como se describe antes, a partir de 1,00 g de amida **1**) se enfrió a -78°C, después se añadieron 2,19 mL de bromuro de perfluorooctilo (8,46 mmol, 1,75 eq.) gota a gota vía una jeringuilla en 5 minutos. La mezcla de reacción de color oscuro se puso después en un baño a -10°C. Después de dos horas, se añadieron con cuidado 10 mL de HCl 1N, y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 X 25 mL), se secó (MgSO₄), y los disolventes se eliminaron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía después sobre gel de sílice eluyendo con Hexano:EtOAc 4:1 para dar 1,13 g de la bromoamida **5** (81%) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,12 (s ancho, 1H), 8,04 (dd, J = 1,3, 8,4 Hz, 1H), 7,24 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 6,63 (dd, J = 1,3, 8,3 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 1,33 (s, 9H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ: 176,57 (s), 155,74 (s), 136,98 (s), 128,34 (d), 113,63 (d), 106,86 (d), 103,07 (s), 56,26 (q), 40,20 (s), 27,45 (q).

Etapa 2

- Se calentaron 0,25 g de la bromoamida **5** (0,87 mmol, 1 eq.), 2,0 mL con HCl (24 mmol, 28 eq.), y 1,0 mL de diglyme a 100°C durante 24 horas. La mezcla después se enfrió y se filtró (producto). El filtrado se evaporó in vacuo usando H₂O para eliminar por destilación azeotrópica todos los disolventes. El residuo se trituró con EtOAc para forzar la precipitación de más producto, que también fue filtrado. Los sólidos combinados se secaron para dar 0,16 g (77%)

de la bromoanilina **6.HCl** como un sólido marrón claro. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,09 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,47 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,84 (s ancho, 2H), 3,77 (s, 3H).

Etapa 3

Se cargaron bromoanisidina.HCl (5,73 g, 24,0 mmol), tricloruro de aluminio (3,52 g) y clorobenceno (15,0 mL) en un matraz de tres bocas de 100 mL secado en estufa a t.a. (la temperatura aumentó a 30°C). La mezcla resultante se agita después durante 10 min, después se enfría a $0-5^\circ\text{C}$ seguido de adición lenta de acetonitrilo (1,89 mL, 36,0 mmol) seguido de la adición de BCl_3 (2,82 g), transferido como gas (o líquido) en la mezcla de reacción, manteniendo la temperatura por debajo de 5°C . La mezcla resultante se agita después a temperatura ambiente durante 20 min, después se calienta a $85-100^\circ\text{C}$ durante 16h. La HPLC indica la terminación de la reacción ($\text{SM} < 0,5\%$ a 220 nm). La mezcla se enfría a 50°C , después se añade tolueno (15 mL) seguido de la adición lenta de IPA (11,1 mL), y después la adición lenta de agua (32 mL) a 50°C . La mezcla resultante se agita durante 2h más a esta temperatura, después se añaden 3 g de Celite y la mezcla agitada se enfría a temperatura ambiente. La filtración después del lavado de la fracción orgánica con agua $1 \times 15\text{mL}$, $2 \times 15\text{mL}$: NaHCO_3 al 5%, 1×15 mL agua, después concentración bajo presión reducida proporcionó 3,92-4,4 g del producto deseado con un rendimiento aislado de 68-72%. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,72 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,1 (s ancho, 2H), 6,28 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 2,55 (s, 3H).

Etapa 4

Se añade cloruro de oxalilo (8,15 mL) gota a gota a la mezcla fría ($10 \pm 5^\circ\text{C}$) del tiazol, se disuelve el ácido de tiazol **8** (20,18 g) en THF (300 mL) y DMF (300 μL) en un periodo de ~ 5 min manteniendo la temperatura interna a $10 \pm 5^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción se vuelve amarilla y homogénea. El baño refrigerante se retira y la mezcla se deja alcanzar la temperatura ambiente en un periodo de ~ 30 min. Se observa evolución gaseosa. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 30 min a 1 hora. Una solución de anilina **7** (19,8 g), DMAP (140 mg) y THF (35 mL) se añade a $10 \pm 5^\circ\text{C}$. Se añade Et_3N (13,2 mL) en porciones a $10 \pm 5^\circ\text{C}$ en un periodo de 10 min. El baño de hielo se retira y la mezcla se calienta a $65 \pm 2^\circ\text{C}$ y se agita toda la noche (18 h). La mezcla se dejó que alcanzara la temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (150 mL) y se lavó con agua (150 mL). Se añadió NaHCO_3 (5%, 225 mL) a la porción orgánica y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La porción orgánica se concentró bajo presión reducida a aprox. 40°C . Se añadió EtOAc (150 mL) al material resultante y el agua residual se eliminó y la mezcla se concentró bajo presión reducida a aprox. 40°C (a agua de azeótropo). Se añadió EtOAc (94 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 2-6 h y se filtró. El sólido se lavó con EtOAc (30 mL) seguido de heptano (30 mL) y se secó al aire durante 1 h para dar el producto deseado con un rendimiento del 70%. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,32 (d, 6H, $J = 7,8$ Hz), 2,58 (s, 3H), 2,65-2,72 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 6,83 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,86 (s, 1H), 8,98 (s ancho, 1H), 10,13 (s ancho, 1H).

Etapa 5

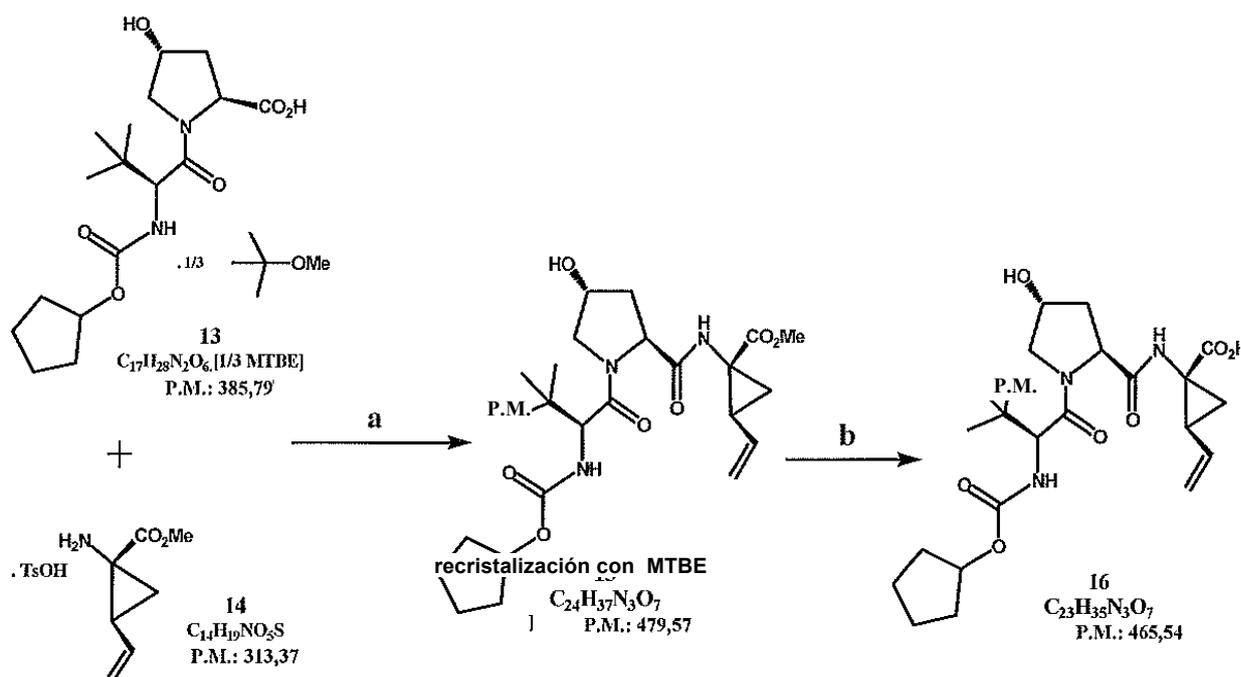
En un matraz de 2L se puso t-butóxido de potasio (112 g). Se añadió DME seco a temperatura ambiente (exotérmico: la temperatura fue hasta 35°C). La solución resultante se calienta a aprox. 80°C , y se añadió la amida (88 g) en 10 porciones lentamente de modo que la temperatura se mantuvo entre $80-85^\circ\text{C}$. Una vez terminada, la mezcla de reacción se agitó a 85°C durante 2 horas. El sólido precipitó durante la reacción. El análisis HPLC indicó que la reacción se terminó en este punto (conversión: 100%). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después a 10°C con un baño frío. Se añadió solución HCl 2N acuosa (aprox. 500 ml) lentamente de modo que la temperatura se mantuviera bajo los 25°C para inactivar la mezcla de reacción. El pH se ajustó a 4-5. Se añadieron aprox. 100 ml de agua (Nota: la cantidad de agua puede requerir un ajuste para facilitar la filtración), y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5-10 horas. El producto se aisló por filtración, lavando con THF y secando bajo el vacío. Rendimiento: 81 g, rendimiento 96%. $^1\text{H-RMN}$ (400 M Hz, DMSO-d_6): 1,14 (6H, d, $J = 6,8$ Hz, i-Pr), 2,48 (1H, hept., $J = 6,8$ Hz, i-Pr), 3,99 (3H, s, MeO), 6,75 (1H, s, H-3), 7,24 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-6), 8,10 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H5), 8,22 (1H, s, H-5'), 9,87 (1H, s, OH), 12,40 (1H, s, NH amida).

Etapa 6

En un matraz de 100 ml se puso el material de partida quinolona (4,22 g) y dioxano (40 ml). Se añadió POCl_3 (4,6 g), y la mezcla se calentó a 75°C . Después de 2 horas, la HPLC mostró que la reacción había finalizado (conversión 99,7%). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y después se vertió en 100 ml de solución de NaHCO_3 saturada y 20 ml de EtOAc. La suspensión resultante se agitó durante 3 horas. El producto se aisló por filtración, lavando con EtOAc y secando bajo el vacío. Rendimiento: 4,0 g, 90,9%. $^1\text{H-RMN}$ (400 M Hz, CDCl_3): 1,14 (6H, d, $J = 6,8$ Hz, i-Pr), 2,76 (1H, hept., $J = 6,8$ Hz, i-Pr), 4,05 (3H, s, MeO), 7,68 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-6), 8,07 (1H, s, H-3), 8,13 (1H, s, H-5'), 8,20 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H5), 12,30 (1H, s, NH amida).

5

Ejemplo 2 – Preparación del material de partida del Compuesto 13 de ácido dipéptido (referencia)



a) EDC, HOBT, THF

b) LiOH, H₂O, THF, MeOH

10

15

20

25

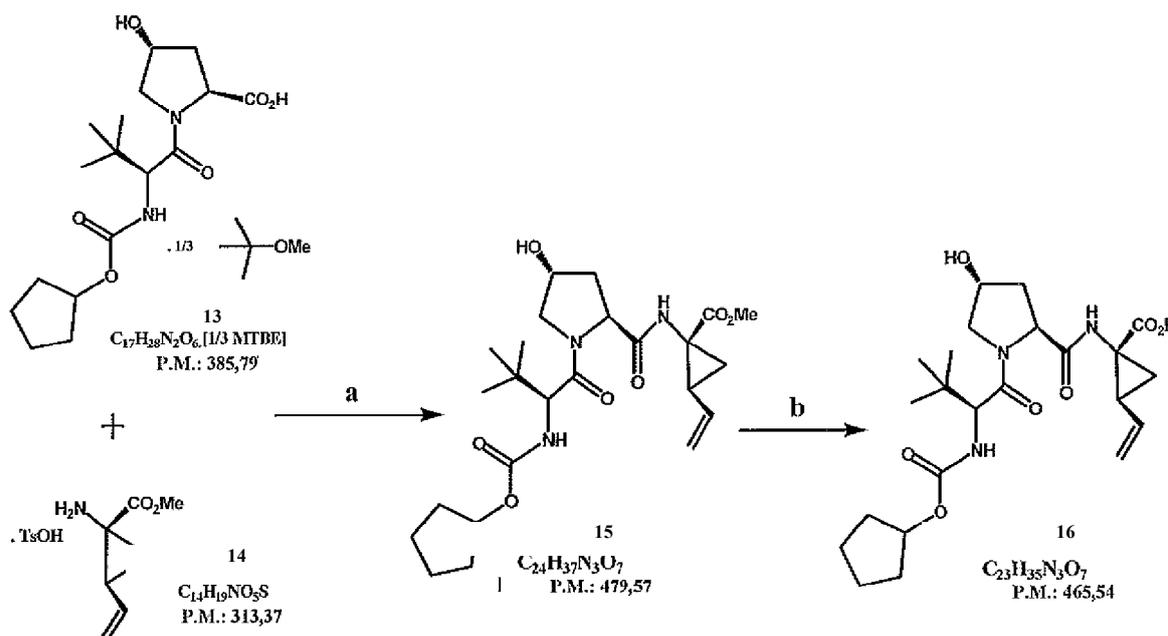
30

35

Un matraz de 250 mL de tres bocas con un termopar, entrada de nitrógeno, y barra de agitación magnética se cargó con N-ciclopentiloxi carbonil-*terc*-L-leucina (20,0 g, 82,2 mmol, 1,0 eq.), 1-hidroxi-benzotriazol (12,73 g, 90,42 mmol, 1,1 eq), e hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (17,33 g, 90,42 mmol, 1,1 eq.) El matraz se purgó con nitrógeno, y se inició la agitación. Se añadió DMF anhidro (62 mL) al matraz y la mezcla se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 24 ° C). La reacción era suavemente exotérmica, la temperatura interna aumentó a 29 ° C. Se añadió el éster de HCl de *trans*-4-hidroxi-prolin-metilo sólido (14,93 g, 82,2 mmol, 1,0 eq) a la reacción en una porción. Usando una jeringuilla, se añadió diisopropil-etil-amina (14,36 mL, 82,2 mmol, 1,0 eq) a la reacción gota a gota en 25 min. La temperatura interna aumentó a 34,5 ° C desde 29 ° C. La reacción se agitó durante 1,75 h, formando **12**. La reacción después se inactivó con HCl 0,1 M (100 mL), la temperatura interna aumentó a 34 ° C. La reacción se extrajo tres veces con 75 mL de acetato de etilo, y las capas orgánicas se combinaron. La capa orgánica se lavó con 75 mL de H₂O, y 2 x 75 mL de NaHCO₃ sat. La capa orgánica (aproximadamente 235 mL) se transfirió a un matraz de 500 mL ajustado con un agitador mecánico, cabeza de destilación con trayectoria corta, termopares interno y externo, y se destiló al mínimo volumen agitable bajo un vacío doméstico (~110 mm Hg,) por debajo de la temperatura interna 35 ° C con una temperatura del baño de aceite de 40 ° C. A esta mezcla sin purificar de **12** se añadió después tetrahidrofurano (150 mL) y se destiló en el mínimo volumen agitable. Se añadió tetrahidrofurano (100 mL) al matraz, y se destiló de nuevo en el mínimo volumen agitable. La cabeza de destilación se sustituyó por un embudo de adición. Se añadieron tetrahidrofurano, (100 mL) y metanol (50 mL) al matraz, y la solución se agitó durante aproximadamente 15 minutos. Una solución 3,2 M de LiOH (77 mL, 246,6 mmol, 3 eq.) se cargó en el embudo de adición, y se añadió en 45 minutos. La temperatura aumentó de 22 ° C a 29 ° C, y la mezcla de reacción se volvió ligeramente turbia. La mezcla se enfrió en un baño de agua fría, después la reacción se inactivó por adición lenta (45 min.) de HCl 4 M (58-65 mL) para ajustar el pH a 3,5, originando un ligero aumento de la temperatura a 27 ° C. El matraz se ajustó con una cabeza de destilación, y se eliminaron el metanol y el tetrahidrofurano por destilación a presión reducida, con una temperatura del baño de 40 ° C, temperatura interna por debajo de 30 ° C. La mezcla se extrajo dos veces con 150 mL de MTBE. La solución de

MTBE se concentró a presión reducida, (350 mmHg) en el mínimo volumen agitable. Se añadieron 50 mL de MTBE, se eliminaron por destilación, temp. interna por debajo de 35 °C. La reacción era un líquido viscoso claro, se añadieron 20 mL de MTBE, la mezcla se calentó a 50 °C, la solución era clara, el baño de aceite se apagó, y la solución se enfrió a t.a., ~24 °C en 1,5h. A la mezcla resultante se añadieron después 60 mL de MTBE, se agitó 2h, después la mezcla se filtró, usando ~20 mL MTBE para transferir la mezcla. El sólido después se secó bajo el vacío a 35°C a peso constante, 16,4 g (52%), para dar el solvato de 1/3 MTBE compuesto **13** como un sólido incoloro, p.f. 117-124°C; $\alpha_D = -58,6$ (c 2,17, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO, rotámero principal publicado) δ : 6,76 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,92 (m, 1H), 4,31 (s ancho, 1H), 4,26 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,19 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,63 (m, 2H), 3,06 (s, 1H, (MTBE)), 2,08 (m, 1H), 1,87-1,48 (m, 9H), 1,09 (s, 3H, (MTBE)), 0,92 (s, 9H).

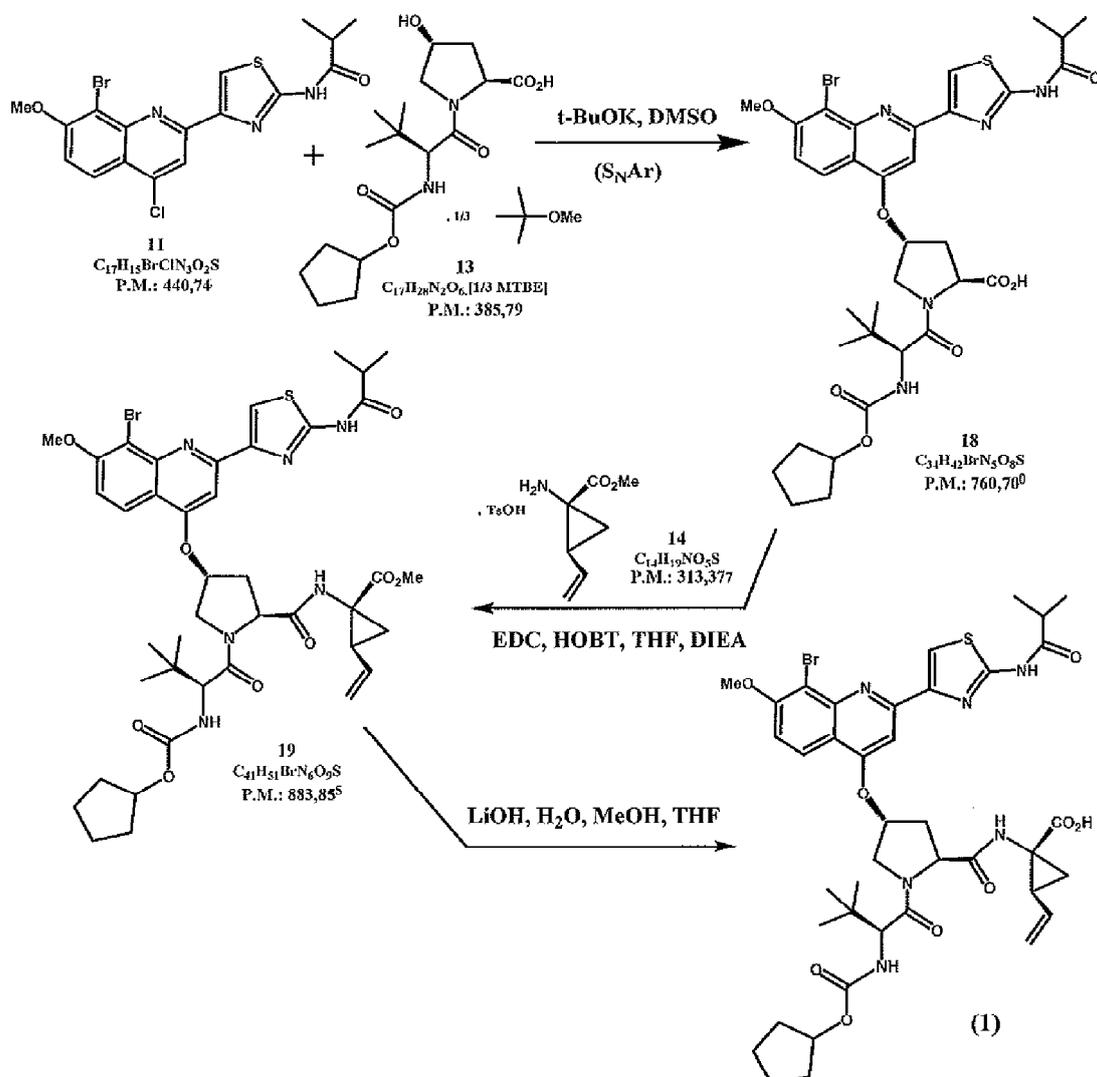
Ejemplo 3 – Preparación del material de partida del Compuesto 16 de ácido tripéptidico



a) EDC, HOBT, THF
b) LiOH, H₂O, THF, MeOH

En un matraz de 25 ml se disolvió **14** en 3 ml de DMF. Se añadieron HOBT (149 mg, 1,1 mmol), EDC (211 mg, 1,1 mmol), **13** (290 mg, 1,0 mmol) e *i*-Pr₂NEt (129 mg, 1,0 mmol) en el orden dado a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se vertió en 15 ml de NaHCO₃ acuoso y se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lavó con HCl (0,5 N, 2x10 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml). Después de eliminar el disolvente por rota-evaporación, se obtuvo **15** como un sólido blanco. 0,46 g (rendimiento 95%). ^1H -RMN (400 M Hz, CDCl₃): 0,96 (s, 9H), 1,35 (1H, dd, $J = 3,0, 4,5$ Hz), 1,45-1,90 (m, 9H), 1,77 (1H, dd, $J = 3,0, 4,0$ Hz), 2,00-2,09 (1H, m), 2,45-2,52 (1H, m), 3,02 (1H, ancho), 3,50 (1H, dd, $J = 11,0, 3,0$ Hz), 3,58 (3H, s), 3,99 (1H, d, $J = 11,0$ Hz), 4,18 (1H, d, $J = 9,0$ Hz), 4,43 (1H, ancho), Hz), 4,63 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 4,93-5,00 (1H, m), 5,04 (1H, dd, $J = 10,5, 2,0$ Hz), 5,20 (1H, d, $J = 18,0$ Hz), 5,20-5,25 (1H, m), 5,65-5,77 (1H, ddd, $J = 18,0, 10,5, 2,0$ Hz), 7,78 (1H, ancho) ppm.

Se disolvieron 320 mg del éster **15** (0,667 mmol, 1 eq.) en 6,7 mL de THF + 3,4 mL de MeOH a temperatura ambiente bajo N₂. A esta disolución se añadieron después 3,34 mL de LiOH 1,6 M (5,34 mmol, 8 eq.) gota a gota en 5 minutos. Después de 1,5 horas, los disolventes se eliminaron in vacuo, y el residuo se diluyó con 15 mL de EtOAc + 10 mL de NaCl sat., después se añadió HCl 1N hasta que se alcanzó un pH de 3,45. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con 15 mL de EtOAc. La capas de EtOAc combinadas se lavaron con H₂O (1 X 50 mL), se secaron (MgSO₄), y los disolventes se eliminaron in vacuo para dar un aceite. El aceite se sometió a destilación azeotrópica con MTBE (1 X 15 mL), y el residuo se secó bajo alto vacío para dar 320 mg de **16** (100%) como una espuma incolora. Masa exacta calc. para C₂₃H₃₅N₃O₇: 465,25; Encontrado (ES-): 464,29; ^1H RMN (400 MHz, DMSO, rotámero principal publicado) δ : 12,40 (s ancho, 1H), 8,49 (s, 1H), 6,77 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,71 (m, 1H), 5,22-4,85 (m, 4H), 4,36-4,10 (m, 3H), 3,80-3,21 (m, 4H), 2,00-1,42 (m, 11H), 0,92 (s, 9H).

Ejemplo 4 – Aproximación del dipéptido S_NAr al Compuesto (1) amorfo (referencia)

- 5 Protocolo de S_NAr 1: Un matraz de 100 mL de fondo redondo de tres bocas se cargó con 1,93 g de **13** (5,00 mmol, 1 eq.), después se evacuó/rellenó con Ar (3X), después se añadieron 17,0 mL de DMSO *via* jeringuilla para dar una solución incolora clara. El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X) de nuevo, después se añadieron 2,53 g de *t*-BuOK (22,5 mmol, 4,5 eq.) puro, en una vez. Se observó una exotermia a un máximo de 31,5°C. El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X), después se agitó bajo un vacío doméstico (~60 mm) durante una hora, y se observó algo de espuma (*t*-BuOH). El vacío se liberó a Ar, después se añadieron 2,20 g de **11** (5,00 mmol, 1 eq.) puro, en una vez. Se observó una exotermia a 28,6°C. El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X), después se agitó bajo un vacío doméstico protegido de la luz a temperatura ambiente. Después de 6,5h el vacío se relevó con Ar y se retiró una muestra para el HPLC, que mostró <2% de **11** sin reaccionar. El matraz después se enfrió en un baño de agua fría a 18°C, y se añadieron después 1,72 mL de HOAc glacial (30 mmol, 6 eq.) *via* jeringuilla en ~10 minutos. Se observó una exotermia a 20,5°C. La mezcla se agitó durante 10 minutos, después se añadió gota a gota en 15 minutos en un segundo matraz que contenía una solución bien agitada de 30 mL a pH 3,5 de H₂O (HCl ~0,001M) a 18°C, originando un precipitado que se formó inmediatamente, y proporcionando una exotermia a 21,0°C. Se usaron 2,0 mL de DMSO para lavar el residuo en la mezcla acuosa, seguido de un lavado de 5,0 mL de HCl ~0,001M. La suspensión resultante se agitó durante 15 minutos, después se añadieron 30 mL de una mezcla 1:1 de EtOAc:MTBE, y la mezcla se agitó fuertemente durante 15 minutos. La agitación se paró y las fases se dejaron separarse. Se observó una rápida separación de fases y la formación de 2 fases claras sin ninguna capa fragmentada. La fase acuosa inferior se extrajo de nuevo después con 30 mL de EtOAc:MTBE 1:1 (la misma separación rápida), y los extractos orgánicos se combinaron y se guardaron. La fase acuosa se desechó como residuo.
- 10
- 15
- 20
- 25

La solución orgánica se lavó después con H₂O (3X30 mL), de nuevo todas las extracciones dieron una separación rápida de fases y ninguna capa fragmentada, después el EtOAc se destiló al mínimo volumen agitable. El residuo se sometió después a destilación azeotrópica con 30 mL de THF (2X), destilando de nuevo al mínimo volumen agitable. La mezcla resultante de **18** sin purificar se usó inmediatamente en el acoplamiento peptídico. Masa exacta calc. para C₃₄H₄₂BrN₅O₈S: 759,19; Encontrado (MS-): 757,92.

Protocolo de S_NAr 2: Se cargó 1,00 g de **13** (2,59 mmol, 1 eq.) y 1,35g de **11** (2,59 mmol, 1 eq.) en un matraz seco. El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X) después, y entonces se añadieron 10 mL de DMSO seco vía una jeringuilla. El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X) una vez más, después se enfrió a 19°C con un baño de agua fría. A esta mezcla se añadió después una solución 2M de KDMO/heptano (5,71 mL, 11,7 mmol, 4,5 eq.) gota a gota en 30 minutos. Después de seis horas, la HPLC mostró que la reacción había terminado. La reacción se inactivó con 0,89 mL de HOAc (6 eq.), y se añadió lentamente a 25 mL de H₂O agitando, originando que se formara un precipitado. La mezcla después se extrajo con IPAc (2 X 25 mL). Las fases de IPAc combinadas se lavaron con H₂O (1 X 25 mL), se secaron (MgSO₄), y los disolventes se eliminaron in vacuo para dar un sólido, que se sometió a destilación azeotrópica con MeCN (1 X 25 mL), y después se diluyó con heptano para dar una mezcla. La mezcla se filtró y se secó para dar 1,80 g de **18** (91%).

Protocolo de acoplamiento peptídico 1: A la mezcla de THF de **18** sin purificar del Protocolo de S_NAr 1 (tomada como 5,00 mmol, 1 eq.) bajo Ar a temperatura ambiente en un matraz protegido de la luz se añadieron 1,72 g de **14** (5,5 mmol, 1,1 eq.) y 25 mL de THF. La solución después se enfrió a 5°C bajo Ar, después se añadieron gota a gota 0,958 mL de DIEA (5,50 mmol, 1,1 eq.) vía jeringuilla en 5 minutos. 5 minutos después de que hubo terminado la adición de DIEA, se añadieron después puros 0,85 g de hidrato de HOBT (6,00 mmol, 1,2 eq.), y 1,05 g de EDC (5,50 mmol, 1,1 eq.), en una vez. El matraz se retiró después del baño frío y la mezcla resultante se agitó después a temperatura ambiente bajo Ar durante 4 horas. Se retiró una muestra de la HPLC que mostró que quedaba <2% de **18** sin reaccionar. La mezcla se enfrió a 5°C, después se añadieron gota a gota 40 mL de HCl 0,1N vía un embudo de adición en 5 minutos, seguido de 40 mL de EtOAc. La mezcla se agitó bien durante 15 minutos, después se paró la agitación y las fases se dejaron separarse. La fase acuosa inferior se extrajo de nuevo después con 40 mL de EtOAc y las fases orgánicas se combinaron y guardaron. La fase acuosa se desechó como residuo. La solución orgánica se lavó después con H₂O (1X40 mL), NaHCO₃ sat. (2X40 mL), y de nuevo H₂O (1X40 mL), después se destiló al mínimo volumen agitable. El residuo se sometió después a destilación azeotrópica con MTBE (2X40 mL), y de nuevo se destiló al mínimo volumen agitable. El residuo se secó bajo alto vacío para dar 4,70 g de **19** sin purificar como un sólido naranja, con una pureza por HPLC de 78,3%. Este material después se sometió a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 2:1 EtOAc:Hexano para dar 3,01 g (68% en 2 etapas) de **19** puro como un polvo amarillo. Masa exacta calc. para C₄₁H₅₁BrN₆O₉S: 882,26, MS+ : 883,30. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, rotámetro principal publicado) δ: 12,32 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,14 (d, J= 9,2 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,33 (d, J= 9,4 Hz, 1H), 6,97 (d, J= 8,6 Hz, 1H), 5,65 (m, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,20 (dd, J= 1,5, 17 Hz, 1H), 5,06 (dd, J= 1,6, 10,2 Hz, 1H), 5,56 (s, 1H), 4,46 (m, 1H), 4,37 (d, J= 9 Hz, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,90 (m, 1H), 3,56 (s, 3H), 2,81 (m, 1H), 2,51 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 1,70-1,32 (m, 7H), 1,30 (m, 3H), 1,15 (d, J= 8,1 Hz, 6H), 0,95 (s, 9H).

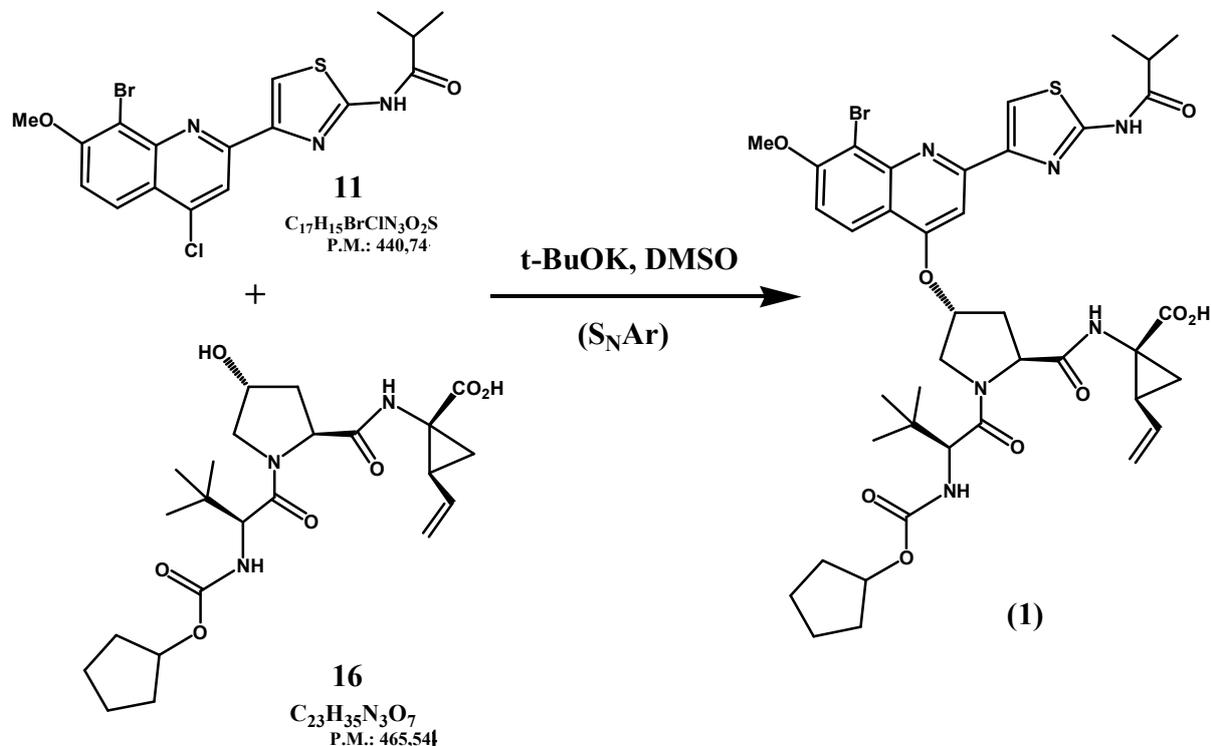
Protocolo de acoplamiento peptídico 2: Un matraz de fondo redondo de 5L de 4 bocas equipado con agitador mecánico, embudo de adición, y termopar se cargó con 69,57 g de **14** (222 mmol, 1,3 eq.), después se evacuó/rellenó con Ar (3X). A esto se añadió después una solución de 200 mL de THF de **18** (contiene 129,85 g, 171 mmol, 1 eq.), después se cargó con 523 mL de THF para alcanzar un volumen final de THF de 1L. La mezcla después se enfrió a 4,0°C bajo Ar. Después se añadieron gota a gota 38,67 mL de DIEA (222 mmol, 1,3 eq.) vía un embudo de adición en 10 minutos, cuando la temperatura interna cayó a 2,4°C. La mezcla se dejó reposar 5 minutos, después se añadieron 29,98 g de HOBT H₂O (222 mmol, 1,3 eq.), seguido de 42,57 g de EDC (222 mmol, 1,3 eq.). La temperatura interna fue después 3,6°C. El baño se retiró después. La temperatura interna aumentó a 20,5°C en 90 minutos. 4h después de que terminara la adición de EDC, la HPLC mostró que la reacción había terminado. La mezcla se enfrió a 4,0°C, después se añadieron 750 mL de HCl 0,1N en 30 minutos vía un embudo de adición, dando una exoterma a 9,5°C. A esta mezcla se añadieron después 250 mL de NaCl sat., seguido de 1L de IPAc. Después de 5 min de fuerte agitación, la mezcla se añadió a un embudo de separación, y las fases se separaron. La fase ac. inferior se extrajo de nuevo después con 500 mL de IPAc, y las fases de IPAc se combinaron. Estas se lavaron después sucesivamente con H₂O (1 X 1L), NaHCO₃ sat. (1 X 1L), y después H₂O (1 X 1L). La mezcla después se agitó mecánicamente durante 12h precipitando la quinolona **7**. La mezcla después se filtró a través de un embudo de fritta media, y el filtrado se destiló hasta que se alcanzó el mínimo volumen agitable. El residuo se sometió después a destilación azeotrópica con MTBE (2X400 mL), y se destiló de nuevo al mínimo volumen agitable. El residuo se secó bajo alto vacío para dar 128 g de **19** como un sólido amarillo, con una pureza por HPLC del 89%.

Se disolvieron 140 mg de **19** (0,158 mmol, 1 eq.) en 1,6 mL de THF + 0,80 mL de MeOH a temperatura ambiente bajo N₂. A esta disolución se añadieron después 0,79 mL de LiOH 1,6 M (1,27 mmol, 8 eq.) gota a gota en 5 minutos. Después de 1,5h, los disolventes orgánicos se eliminaron in vacuo, y el residuo se diluyó con 10 mL de EtOAc + 10 mL de NaCl sat. El pH se ajustó después a 5,75 con HCl 1N. La mezcla se agitó fuertemente durante una hora, después se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo de nuevo con 10 mL de EtOAc. Las fases de

EtOAc combinadas se lavaron después con H₂O (2 X 25 mL), se secaron (MgSO₄), y los disolventes se eliminaron in vacuo para dar 125 mg del Compuesto (1) (91%) como un polvo amarillo amorfo.

Ejemplo 5 - Aproximación del tripéptido S_NAr al Compuesto (1) amorfo (referencia)

5



Se cargaron 233 mg del ácido tripeptídico **16** (0,50 mmol) en un matraz, después el matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X). Se añadieron después 1,7 mL de DMSO, y la mezcla se evacuó/rellenó con Ar (3X). La mezcla se enfrió después en un baño de agua fría, después se añadieron 317 mg de t-BuOK (2,82 mmol, 5,63 eq.). El matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X) de nuevo, después se agitó bajo un vacío de 60 mm durante una hora. Se añadieron después 220 mg de la quinolina **11** (0,50 mmol, 1 eq.), y el matraz se evacuó/rellenó con Ar (3X), después se agitó bajo 60 mm de vacío en la oscuridad a temperatura ambiente durante 3 horas. Después se añadieron 0,30 mL de HOAc, entonces la solución resultante se añadió a 25 mL de HCl 0,001 M, originando que se formara un precipitado. La mezcla se filtró, lavando los sólidos con 25 mL de H₂O. El sólido se secó bajo N₂ durante 2 horas, después se sometió a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc para dar 226 mg (52%) del Compuesto (**1**) como un sólido amarillo.

Métodos adicionales para preparar el Compuesto (**1**) amorfo pueden encontrarse en las patentes de EE.UU. 6.323.180 B1, 7.514.557 y 7.585.845, que se incorporan en este documento como referencia.

Ejemplo 6 – Preparación del Tipo A del Compuesto (1) (Ejemplo de Referencia)

El Compuesto (**1**) amorfo (Lote 7, 13,80 g) se añadió a un matraz de tres bocas de 1000 ml. Se añadió al matraz etanol absoluto (248,9 g). Mientras se agitaba, el contenido del matraz se calentó a 60 grados C/h a ~ 74 grados C. (Los sólidos no se disuelven a 74 grados C). Después se añadió agua (257,4 g) linealmente en 4 h a la mezcla resultante con agitación y manteniendo la temperatura a 74 grados C. Después de que la adición del agua terminara, la temperatura se redujo linealmente a la temperatura ambiente a 8 grados C/h y después se mantuvo a temperatura ambiente durante 6 h con agitación. Los sólidos resultantes se recuperaron por filtración y se lavaron con 50 ml de EtOH/Agua 1/1 (p/p). Los sólidos húmedos se secaron en el embudo durante 30 minutos por succión con N₂ a través de la torta. (El análisis XRPD en esta muestra indica que el modelo es similar al solvato de EtOH). Los sólidos se secaron después a 65-70 grados C bajo el vacío (P = 25 en Hg) y una purga de nitrógeno durante 1,5 h. Los sólidos resultantes (12,6 g, 95,5 % rendimiento corregido) se confirmaron por XRPD que eran del Compuesto (**1**) del Tipo A.

El único modelo XRPD y la curva DSC del Compuesto (**1**) del Tipo A se muestran en las Figuras 1 y 2.

Ejemplo 7 - Preparación de la sal de sodio del Compuesto (1) - Método 1

Se añadieron 2,1 g de sal de sodio del Compuesto (**1**) amorfo y 8,90 g de acetona a un vial y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se filtró de las aguas madre y los sólidos resultantes se secaron durante 20

minutos bajo flujo de nitrógeno durante 20 minutos. Se recuperaron 1,51 g de sal de sodio del Compuesto (1) cristalina como sólidos.

Ejemplo 8 - Preparación de la sal de sodio del Compuesto (1) - Método 2

Se añadieron 15,6 g del Compuesto (1) del Tipo A, 175 ml de acetona y 3,6 ml de agua a un reactor de 250 ml y se calentó a 53 grados C para disolver los sólidos. Se añadieron 900 ul de NaOH 10,0 N al reactor y la solución se sembró con Tipo A. La solución sembrada se agitó a 53 grados C durante 10 minutos. Se añadió una segunda porción de 900 ul de NaOH 10,0 N y el sistema se agitó a 53 grados C durante 30 minutos bajo lo cual se desarrolló una mezcla. La mezcla se enfrió a 19 grados C a una velocidad de enfriamiento de 15 grados C por hora y se mantuvo toda la noche a 19 grados C. La mezcla final resultante se filtró y los sólidos húmedos se lavaron con 15 ml de acetona. Los sólidos se secaron durante 1 h a 52 grados C bajo el vacío con flujo de nitrógeno y después se expusieron los sólidos al aire del laboratorio durante una hora.

Se recuperaron 12,1 g de los sólidos de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1).

Ejemplo 9 - Preparación de la sal de sodio del Compuesto (1) - Método 3

Se añadieron a un reactor 25,4 kg de Compuesto (1) amorfo, 228 L de THF y 11,1 kg de NaOH (ac) al 10 % en peso. Los componentes se mezclaron a 25 grados C para disolver todos los sólidos. La solución resultante se filtró y el reactor y el filtro se lavaron con 23 L de THF. Se retiraron 180 L del disolvente usando destilación atmosférica a 65 grados C. Se añadieron 195 L de MIBK y se retiraron 166 L de disolvente por destilación al vacío a ~ 44 grados C. Se devolvieron 161 L de MIBK y se devolvieron 0,41 kg de agua al reactor y el contenido se calentó a 70 grados C. Se añadieron 255 g de semillas de la sal de sodio del Compuesto (1) a 70 grados C y se añadieron 1,42 L de agua en 1,5 horas. Después de la adición de agua, la mezcla se mantuvo a 70 grados C durante 45 minutos y después se enfrió a 45 grados C en 1 h. La mezcla resultante se filtró y se lavó con 64 L de MIBK que contenían ~0,8 % en peso de agua. La torta húmeda se secó a 55 grados C para dar ~ 25 kg de sal de sodio cristalina del Compuesto (1).

Ejemplo 10 - Preparación de la sal de sodio del Compuesto (1) - Método 4

Se añadieron 2,00 g de Compuesto (1) amorfo, 9,96 g de THF y 0,11 g de agua a un reactor y se agitó a temperatura ambiente para disolver los sólidos. Se añadieron gota a gota 0,820ml de NaOEt al 21 % en peso en etanol agitando la solución para conseguir la disolución A. 15,9 g de n-BuAc y 160 ul de agua se añadieron a un segundo reactor y se calentó a 65 grados C (disolución B). Se añadieron 2,56 g de la Disolución A a la Disolución B a 65 grados C y la mezcla resultante se sembró con 40 mg de semillas de la sal de sodio del Compuesto (1). La mezcla sembrada se dejó reposar a 65 grados C durante 45 minutos. Se añadieron 2,56 g de la Disolución A y se dejó reposar durante 45 minutos en cuatro intervalos separados. Después de la adición final y del reposo, la mezcla se enfrió a 50 grados C en 1 hora y se filtró. La torta húmeda se lavó con 6 ml de n-BuAc que contenía agua al 0,5 % en peso. Los sólidos finales se secaron a 50 grados C bajo el vacío usando una purga de nitrógeno. Se recuperaron los sólidos de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1).

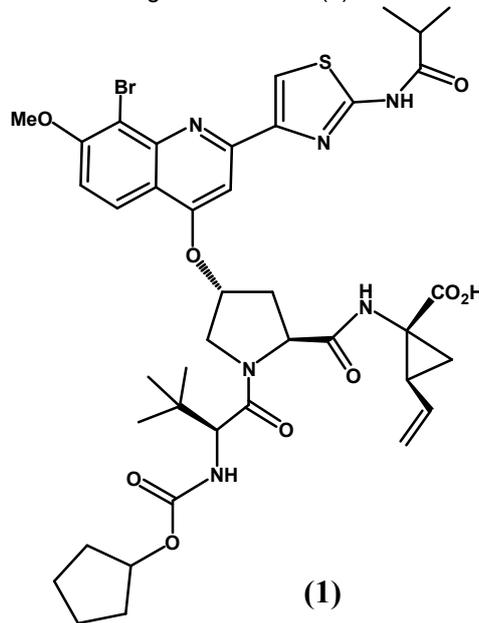
Ejemplo 11 - Preparación de la sal de sodio del Compuesto (1) - Método 5

A temperatura ambiente, se añadió una solución de etóxido de sodio en etanol (21 % en peso; 306 ml) a una solución del Compuesto (1) (745 g) en THF (2000 ml) y agua (76,5 ml) con agitación. Después de la agitación durante 30 minutos, la mezcla se filtró y el filtro se lavó con THF (85 ml). La solución resultante se calentó a 65°C y se trató con acetato de butilo filtrado (6640 ml, opcionalmente pre-calentado a 65°C) en 30 minutos. Se añadieron cristales sembrantes (0,50 g), y la mezcla se agitó a 65°C durante 2 horas, comenzando la cristalización después de aproximadamente 30 minutos. La suspensión se enfrió a 50°C en menos de 1 hora y se agitó a esta temperatura durante una hora más. El compuesto del título se aisló por filtración, se lavó con acetato de butilo filtrado (765 ml, opcionalmente pre-calentado a 50°C) y se secó a 65°C durante aproximadamente 16 h dando sal de sodio cristalina del Compuesto (1) (~ 725 g).

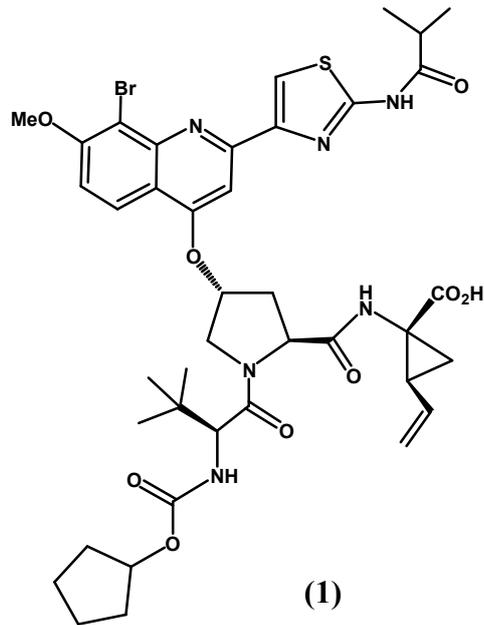
El modelo XRPD único y la curva DSC de la sal de sodio cristalina del Compuesto (1) se muestran en las Figuras 3 y 4.

REIVINDICACIONES

1. Una sal de sodio del compuesto de la siguiente fórmula (1):



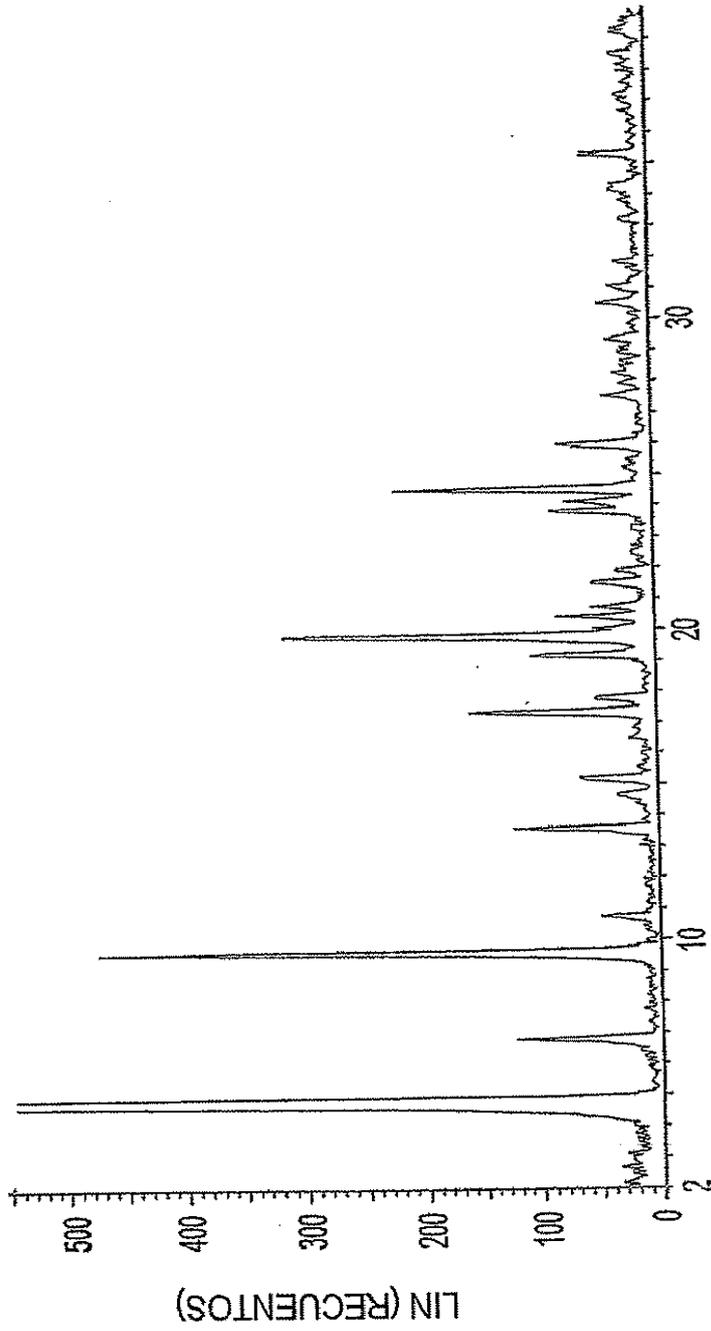
- 5
2. La sal de sodio de acuerdo con la reivindicación 1 en forma cristalina.
3. La sal de sodio cristalina de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene un modelo de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 10,1 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.
- 10
4. La sal de sodio cristalina de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el modelo de difracción de rayos X en polvo comprende, además, picos a 13,0 y 18,2 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.
- 15
5. La sal de sodio cristalina de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el modelo de difracción de rayos X en polvo comprende picos a 5,4 y 8,7 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.
6. La sal de sodio cristalina de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el modelo de difracción de rayos X en polvo comprende, además, picos a 5,4, 6,5, 8,7, 11,9, 13,0, 18,2, 20,2 y 24,7 grados 2θ ($\pm 0,2$ grados 2θ) cuando se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.
- 20
7. La sal de sodio cristalina de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene un modelo de difracción de rayos X en polvo usando radiación $\text{CuK}\alpha$ que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la FIG. 3.
- 25
8. Un compuesto de la siguiente fórmula (1):



(1)

en donde al menos el 50% de dicho compuesto está presente en la forma de la sal de sodio del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7.

- 5
9. Una composición farmacéutica que comprende la sal de sodio de la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
10. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en donde al menos el 50% de la sal de sodio del compuesto de fórmula (1) en la composición está presente en forma de un compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación 2, 3, 4, 5, 6 ó 7.
11. Uso de la sal de sodio del compuesto de fórmula (1) de acuerdo con la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para tratar una infección por virus de la hepatitis C en un mamífero.
- 15



ESCALA 2-TETA

FIG. 1

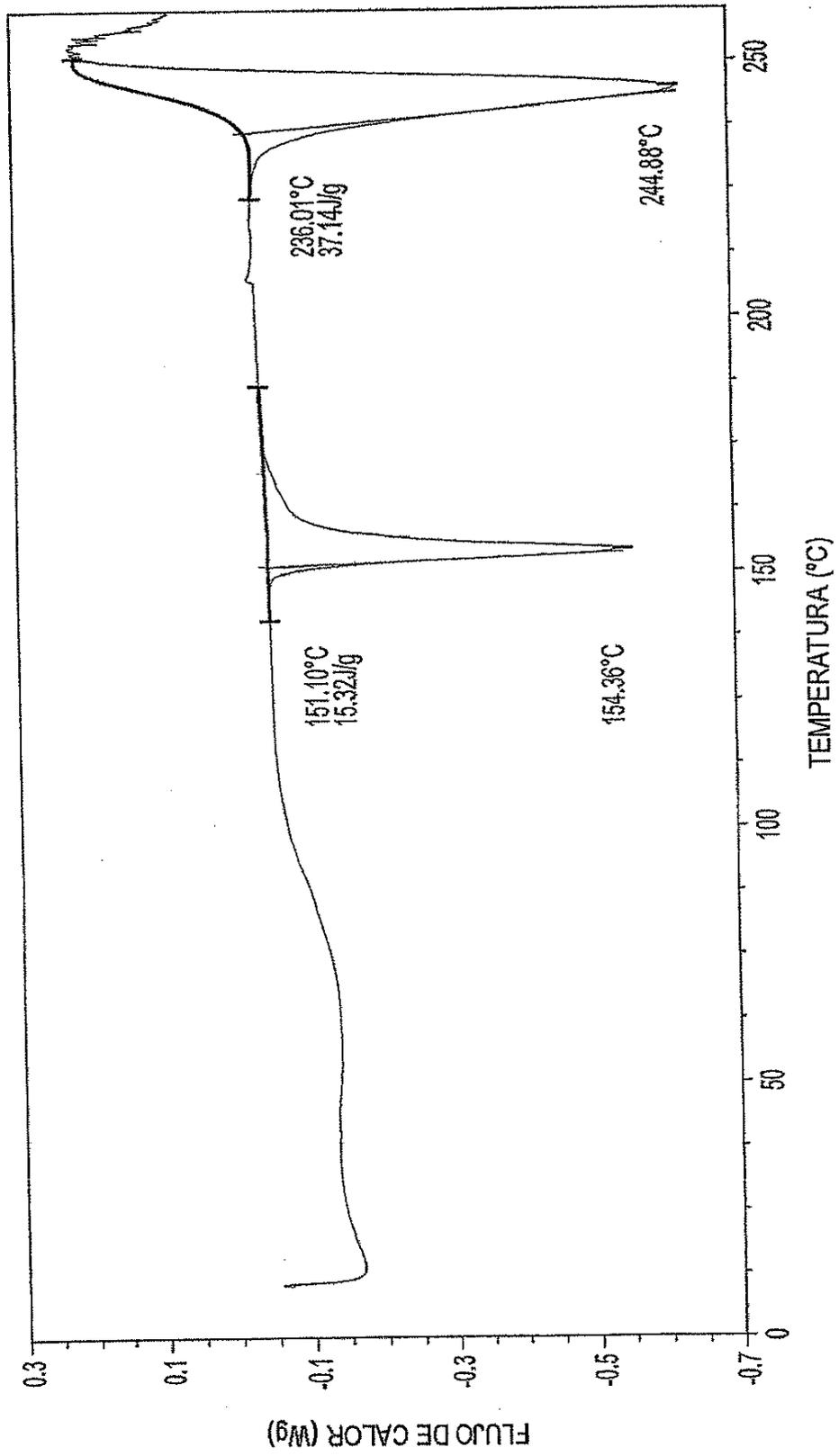


FIG. 2

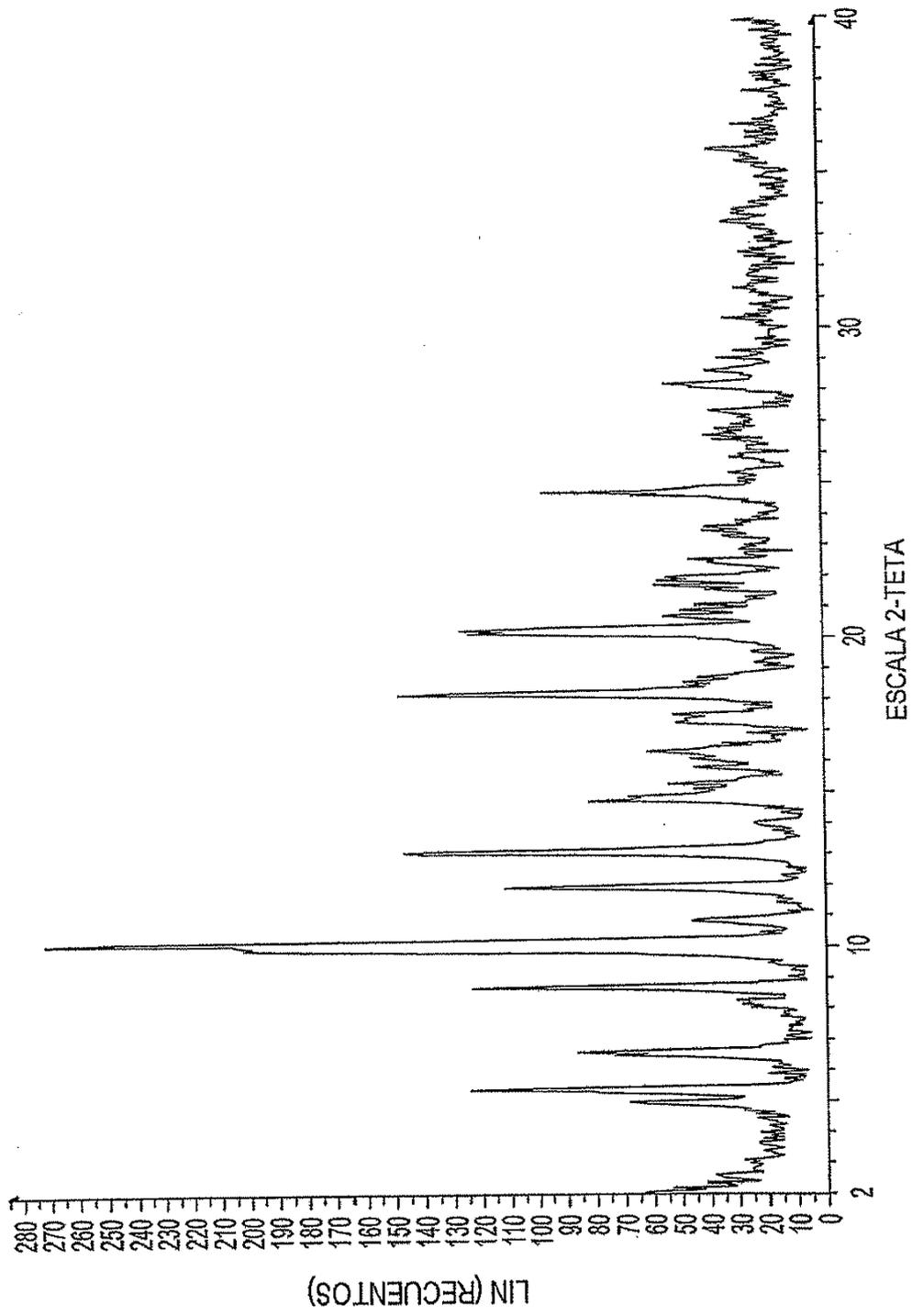


FIG. 3

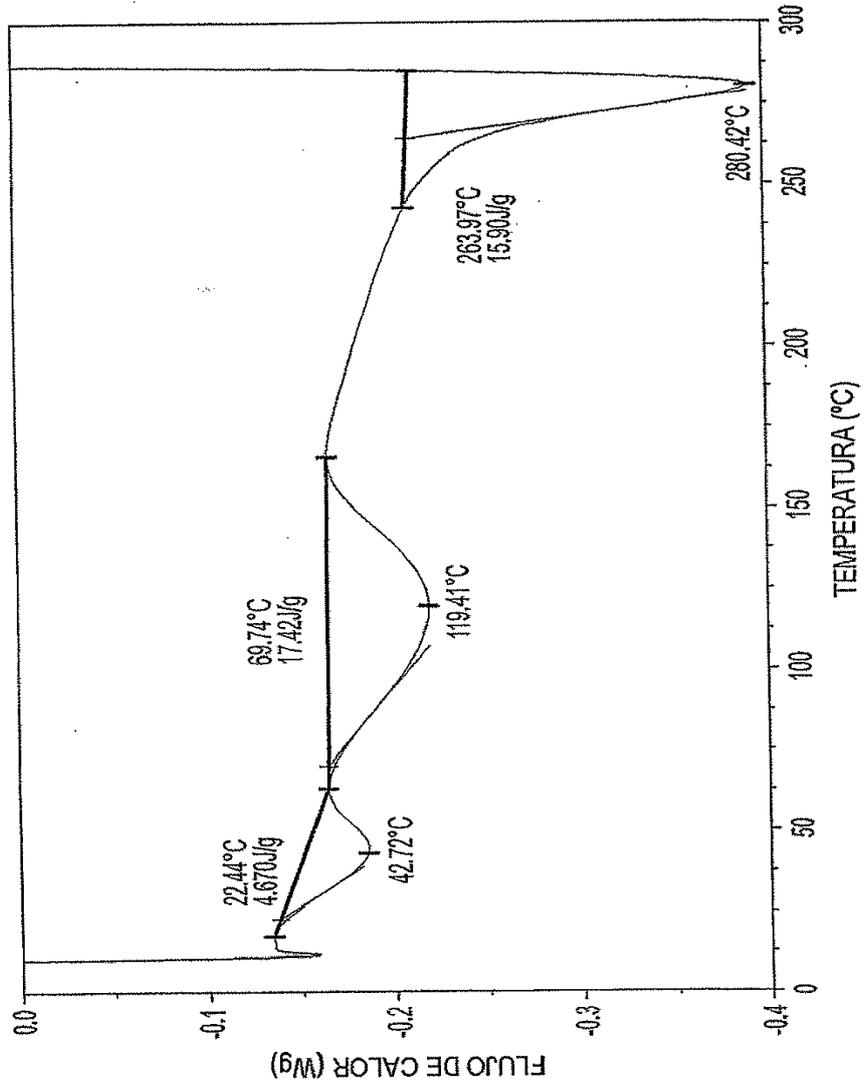


FIG. 4

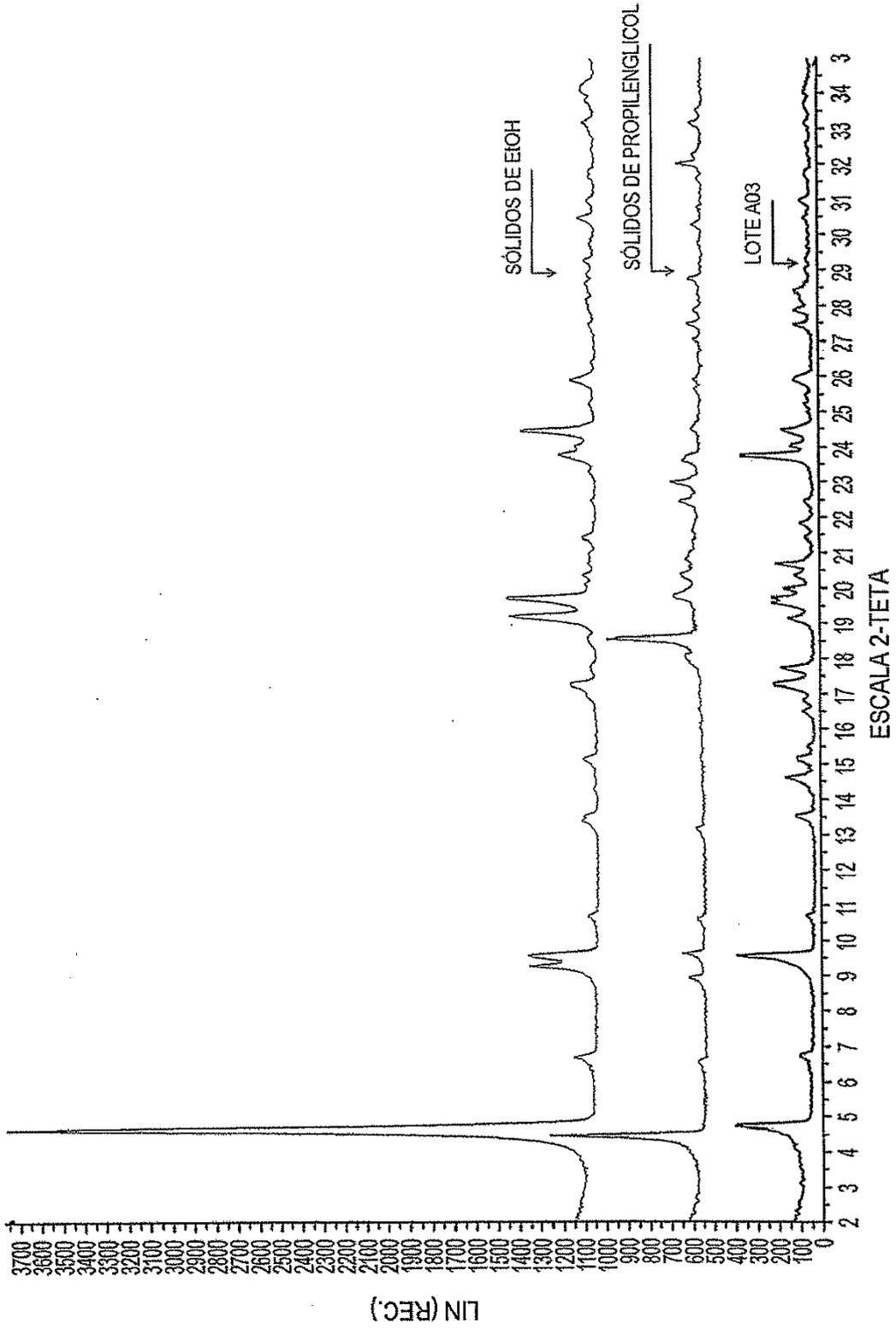


FIG. 5