

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 021**

51 Int. Cl.:

**C07C 237/22** (2006.01)

**A61K 31/197** (2006.01)

**A61P 1/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.12.2007 E 07859033 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 2091910**

54 Título: **Formas cristalinas del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico**

30 Prioridad:

**06.12.2006 US 868748 P**

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

**03.12.2014**

73 Titular/es:

**CONATUS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
16745 W. Bernardo Drive, Suite 200  
San Diego, CA 92127, US**

72 Inventor/es:

**DIMOCK, STUART;  
HAGEN, ERIC y  
HANKO, JASON**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 524 021 T3

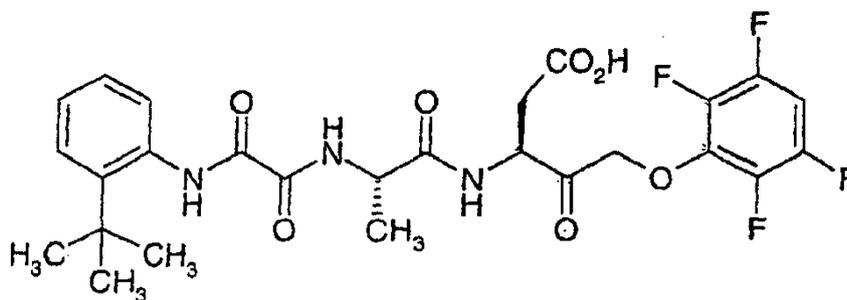
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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 del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-*tert*-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico

5 La presente invención se refiere a formas cristalinas del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-*tert*-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico. La invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden dichas formas cristalinas y a dichas composiciones farmacéuticas y dichas formas cristalinas para el uso en métodos de tratamiento de varias condiciones, en particular la fibrosis hepática.

10 El compuesto ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-*tert*-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (también conocido como ácido (3S)-3[(2S)-2-({N[2-*tert*-butil]fenil}carbomoil)carbonilamino)propanoilamino]-4-oxo-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)pentanoico) tiene la estructura indicada por la fórmula (I). Este compuesto, y su preparación, se describen en la solicitud publicada de documento de patente internacional WO-A-00/01666 (véase el Ejemplo 75). En el proceso de múltiples pasos descrito, el compuesto se libera por la desprotección del éster *tert*-butílico correspondiente usando ácido trifluoroacético. Después de cromatografía sobre sílice, el compuesto se aísla como un cristal incoloro.



(I)

15 Si un compuesto se va a desarrollar como un fármaco, es importante proporcionar una forma de ese compuesto (comúnmente conocida como una sustancia de fármaco) que se pueda preparar de forma fiable y purificarse a gran escala y que no se degrade durante el almacenamiento. Una forma del compuesto cristalina, y preferiblemente de alto punto de fusión, es por lo tanto deseable, ya que los sólidos de alto punto de fusión cristalinos tienden a ser fáciles de purificar por recristalización y a ser estables durante el almacenamiento.

20 Esta invención proporciona, por primera vez, una forma cristalina del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-*tert*-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico. Varios polimorfos específicos se describen, junto con los procesos por los que se pueden preparar.

25 La invención proporciona además: una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de un compuesto de fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable; una forma cristalina de un compuesto de fórmula (I) para uso como un medicamento; una forma cristalina de un compuesto de fórmula (I) para uso en el tratamiento de la fibrosis hepática; y una combinación de una forma cristalina de un compuesto de fórmula (I) y un compuesto adicional farmacológicamente activo.

30 En un aspecto preferido, la invención proporciona varias formas polimorfas específicas de un compuesto de fórmula (I). Cada una de estas formas polimorfas tiene una configuración cristalina tridimensional única y se puede caracterizar por, entre otras cosas, la forma en que la red cristalina difracta la radiación electromagnética (por ejemplo, difracción de polvo de rayos X, espectroscopia infrarroja, espectroscopia de Raman), sus características de fusión (por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido) y análisis de RMN de estado sólido. Para mayor comodidad, a cada una de estas formas polimorfas se le ha asignado un número romano, aunque estos descriptores no tienen ninguna importancia técnica inherente.

35 La Forma I muestra un pico endotérmico agudo a 156° C ( $\pm$  2° C) cuando se analiza por calorimetría diferencial de barrido (DSC), debido a su fusión. El termograma de DSC observado se reproduce en la Figura 1. La Forma I da picos únicos a 7,7, 14,1, 21,4, 26,6 y 29,4 grados dos theta ( $\pm$  0,1 grados) cuando se analiza por difracción de rayos X en polvo (PXRD). El patrón de PXRD observado se reproduce como la Figura 2 y el listado de picos completo se proporciona en la Tabla 1 a continuación.

## ES 2 524 021 T3

Tabla 1 - datos de PXRD de la Forma I

Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)
4,0	100,0	17,9	8,9	24,0	18,1
7,4	10,1	18,8	19,0	24,1	15,3
7,7	10,1	19,4	31,0	24,6	7,0
11,9	9,3	19,5	25,0	25,5	9,3
12,0	11,0	20,3	24,8	26,6	7,6
14,1	8,6	21,4	10,9	29,4	8,0
14,9	8,6	21,8	13,9	29,6	6,7
15,4	6,4	22,8	8,2	36,1	6,6
16,0	22,7	23,3	17,6		

5 La Forma I muestra desplazamientos químicos únicos a 135,6, 127,5 y 18,8 ppm cuando se analiza por <sup>13</sup>C RMN de fase sólida utilizando una muestra externa de adamantina en fase sólida a 29,5 ppm como referencia. El espectro de <sup>13</sup>C RMN observado se reproduce en la Figura 3 (los picos marcados con un asterisco son bandas laterales de giro) y el listado de picos completo se proporciona en la Tabla 2 a continuación. Los valores de intensidad son una medida de la altura del pico y estos pueden variar de acuerdo con los parámetros experimentales establecidos durante la adquisición de datos y la historia térmica de la muestra - no están por lo tanto destinados a tener un significado cuantitativo.

10

Tabla 2 - Datos de <sup>13</sup>C RMN para la Forma I

Desplazamiento químico de <sup>13</sup> C (ppm)	Intensidad	Desplazamiento químico de <sup>13</sup> C (ppm)	Intensidad	Desplazamiento químico de <sup>13</sup> C (ppm)	Intensidad
204,9	4,1	139,9	1,5	102,2	2,3
204,1	3,9	138,5	3,4	101,2	2,2
175,3	5,9	135,6	2,3	76,7	2,5
173,1	5,0	133,7	2,6	57,4	4,4
160,4	9,4	132,9	3,1	57,0	4,1
159,3	2,7	131,6	1,6	48,8	4,9
148,0	4,0	130,4	3,4	35,2	7,3
147,2	3,2	128,8	2,5	32,0	12,0
146,2	1,8	127,5	9,5	31,0	10,7
145,2	1,9	127,0	7,9	18,8	5,1
141,8	1,2	126,2	4,6	17,9	3,5

15 La Forma I muestra un desplazamiento químico único a -141,9 ppm cuando se analiza por <sup>19</sup>F RMN de fase sólida usando una muestra externa de ácido trifluoroacético (50% en volumen/volumen en agua) a -76,54 ppm como referencia. El espectro de <sup>19</sup>F RMN observado se reproduce en la Figura 4 (sólo se muestra la parte de la banda central del espectro). La lista completa de picos es -138,4, -139,1, -139,4 (hombro), -140,9, -141,9, -151,8, -152,9, -154,2, -154,7 (hombro), -156,1 y -156,5 (hombro) ppm.

20 Cuando se analiza por espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier la Forma I muestra picos característicos a longitud de onda de 3354 (débil), 3243 (medio), 3089 (débil), 2962 (débil), 1741 (medio), 1718 (medio), 1668 (medio), 1646 (fuerte), 1517 (fuerte), 1497 (fuerte), 1419 (débil), 1394 (medio), 1335 (débil), 1320 (débil), 1280 (medio), 1260 (débil), 1212 (medio), 1179 (medio), 1174 (débil), 1127 (medio), 1111 (fuerte), 1089 (débil), 1032 (débil), 1011 (medio), 973 (medio), 941 (fuerte), 926 (débil), 897 (débil), 885 (medio), 829 (medio), 759 (fuerte), 735 (medio), 715 (medio), 687 (débil) y 653 (medio) cm<sup>-1</sup> (± 2 cm<sup>-1</sup> excepto por el pico a 3243 donde los límites de error pueden ser considerablemente mayores). Las asignaciones de intensidad (débil, medio, fuerte) son en relación con el pico principal del espectro. El espectro se reproduce en la Figura 5.

## ES 2 524 021 T3

5 Cuando se analiza por espectroscopia de Raman de transformada de Fourier la Forma I muestra picos característicos a longitud de onda de 3356 (débil), 3262 (medio), 3086 (medio), 2959 (fuerte), 2939 (fuerte), 1742 (medio), 1695 (medio fuerte), 1647 (débil), 1601 (débil), 1541 (medio), 1451 (débil), 1399 (débil), 1336 (medio), 1271 (medio fuerte), 1135 (débil), 1054 (medio), 1031 (débil), 977 (medio), 930 (débil), 888 (medio), 859 (débil), 817 (débil), 716 (medio), 688 (medio), 568 (medio), 479 (medio), 439 (débil), 398 (medio), 340 (débil), 223 (débil)  $\text{cm}^{-1}$  ( $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$  excepto para los picos a 2959, 1541, 1451, 1271, 1135, 1054, 1031, 977, 930, 888, 859, 716, 688, 568, 479, 439, 398 y 223 donde los límites de error son ( $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ ). Las asignaciones de intensidad (débil, medio, medio fuerte, fuerte) son en relación con el pico principal del espectro. El espectro se reproduce en la Figura 6.

10 La Forma II muestra un pico endotérmico agudo a  $157^\circ \text{C}$  ( $\pm 2^\circ \text{C}$ ) cuando se analiza por DSC (véase la Figura 7). La Forma II muestra picos únicos de difracción a 14,5, 17,3, 22,5, 25,0 y 26,8 grados dos theta ( $\pm 0,1$  grados) cuando se analiza por PXRD (véase la Figura 8). Un listado de picos se proporciona a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3 - Datos de PXRD de la Forma II

Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)
4,0	100,0	21,7	27,4	30,9	10,7
7,4	27,2	21,8	28,5	31,7	15,0
12,0	16,6	22,5	15,9	32,5	12,6
14,5	12,9	23,3	31,2	33,0	12,2
14,8	13,7	23,8	36,2	33,3	14,1
15,6	31,2	24,2	32,1	35,2	12,2
16,1	35,0	25,0	24,6	36,0	20,1
17,3	21,9	25,5	16,0	36,6	12,6
17,9	14,1	25,7	14,3	37,1	15,7
18,1	11,3	26,3	13,0	37,3	14,1
18,8	44,1	26,8	15,6	37,7	15,9
19,4	37,4	28,9	17,3	38,1	13,8
20,2	33,8	29,1	19,3	39,0	17,2
20,4	36,5	30,0	22,5		
21,1	14,2	30,5	13,2		

15 La Forma II muestra desplazamientos químicos únicos a 136,2, 131,6, 126,1, 30,4 y 17,7 ppm cuando se analiza por  $^{13}\text{C}$  RMN de fase sólida utilizando una muestra externa de adamantina de fase sólida a 29,5 ppm como referencia. El espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN observado se reproduce en la Figura 9 (los picos marcados con un asterisco son bandas laterales de giro) y el listado de picos completo se proporciona en la Tabla 4 a continuación. Los valores de intensidad son una medida de la altura del pico y éstos pueden variar según los parámetros experimentales establecidos durante la adquisición de datos y la historia térmica de la muestra - no están por lo tanto destinados a tener un significado cuantitativo.

20

Tabla 4 - Datos de  $^{13}\text{C}$  RMN para la Forma II

Desplazamiento químico de $^{13}\text{C}$ (ppm)	Intensidad	Desplazamiento químico de $^{13}\text{C}$ (ppm)	Intensidad	Desplazamiento químico de $^{13}\text{C}$ (ppm)	Intensidad
204,8	4,1	141,8	1,2	102,1	2,5
204,0	4,0	139,9	1,5	101,1	2,4
175,5	5,8	138,5	3,4	76,6	2,9
175,3	5,9	136,2	3,0	57,5	4,8
173,0	4,4	133,9	2,5	56,9	4,4
172,7	4,4	132,9	3,3	48,7	5,3
160,4	9,4	131,6	3,8	35,1	7,4
159,1	2,7	130,4	1,0	32,0	12,0
148,0	5,0	128,5	3,1	31,0	10,3

## ES 2 524 021 T3

147,1	2,6	127,5	7,4	30,4	3,8
146,2	1,6	127,0	8,5	17,7	9,0
145,1	1,9	126,1	8,0		

5 Cuando se analiza por  $^{19}\text{F}$  RMN de fase sólida la Forma II muestra desplazamientos químicos únicos a -142,2 y -153,4 ppm usando una muestra externa de ácido trifluoroacético (50% volumen/volumen en agua) a -76,54 ppm como referencia. El espectro observado de  $^{19}\text{F}$  RMN se reproduce en la Figura 10 (sólo se muestra la parte de la banda central del espectro). La lista completa de picos es -138,4, -139,2, -140,9, -142,2, -151,8, -153,0, -153,4, -154,4, -154,9 (hombro), -156,2 y -156,7 (hombro) ppm.

10 Cuando se analiza por espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier la Forma II muestra picos característicos a longitudes de onda de 3355 (débil), 3244 (medio), 3089 (débil), 2962 (débil), 1741 (medio), 1719 (medio), 1669 (medio), 1646 (fuerte), 1517 (fuerte), 1498 (fuerte), 1394 (medio), 1334 (débil), 1320 (débil), 1279 (medio), 1260 (débil), 1211 (medio), 1180 (medio), 1174 (débil), 1127 (medio), 1112 (fuerte), 1089 (débil), 1031 (débil), 1011 (medio), 973 (medio), 941 (fuerte), 926 (débil), 896 (débil), 885 (medio), 829 (medio), 759 (fuerte), 734 (medio), 715 (medio), 687 (débil) y 653 (medio)  $\text{cm}^{-1}$  ( $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$  excepto el pico fuerte a 3244 donde los límites de error pueden ser considerablemente más grandes). Las asignaciones de intensidad (débil, medio, fuerte) son en relación con el pico principal del espectro. El espectro se reproduce en la Figura 11.

15 Cuando se analiza por espectroscopia de Raman de transformada de Fourier la Forma II muestra picos característicos a longitudes de onda de 3356 (débil), 3262 (medio), 3087 (medio), 2960 (fuerte), 2938 (fuerte), 1743 (medio), 1696 (medio fuerte), 1647 (débil), 1602 (débil), 1541 (medio), 1451 (débil), 1400 (débil), 1336 (medio), 1272 (medio fuerte), 1136 (débil), 1056 (medio), 1032 (débil), 979 (medio), 930 (débil), 888 (medio), 861 (débil), 818 (medio), 718 (medio), 689 (medio), 570 (medio), 480 (medio), 441 (débil), 400 (medio), 340 (débil), 223 (débil)  $\text{cm}^{-1}$  ( $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$  excepto para los picos a 2960, 1541, 1451, 1272, 1136, 1056, 1032, 979, 930, 888, 861, 718, 689, 570, 480, 441, 400 y 223 donde los límites de error son  $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ ). Las asignaciones de intensidad (débil, medio, medio fuerte, fuerte) son en relación con el pico principal del espectro. El espectro se reproduce en la Figura 12.

25 La Forma III muestra un amplio pico endotérmico a  $82^\circ \text{C}$  ( $\pm 2^\circ \text{C}$ ), con un pico de hombro a  $66^\circ \text{C}$  ( $\pm 2^\circ \text{C}$ ) cuando se analiza por DSC (véase la Figura 13). La Forma III muestra un pico de difracción único a 7,2 grados dos theta ( $\pm 0,1$  grados) cuando se analiza por PXRD (véase la Figura 14). Un listado de picos se proporciona a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5 - Datos de PXRD de la Forma III

Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-Theta (grados)	Intensidad relativa (%)
4,0	100,0	12,4	47,0	19,6	64,2
7,2	42,5	14,4	60,8	20,4	88,0
8,1	33,4	16,5	45,0	25,6	56,4
8,4	28,8	18,0	75,4	38,5	36,2

30 En los experimentos llevados a cabo con el fin de acumular los datos de DSC descritos anteriormente, las muestras de las Formas I y III se calentaron desde 25 hasta  $240^\circ \text{C}$  y la muestra de la forma II se calentó de 25 a  $200^\circ \text{C}$  a  $20^\circ \text{C}$  por minuto, empleando un Perkin Elmer Pyris Diamond DSC con platillos de aluminio de 50 microlitros con agujeros y tapas, con nitrógeno como gas de purga.

35 En los experimentos llevados a cabo con el fin de acumular los datos de PXRD descritos anteriormente, el patrón de difracción de polvo de rayos X para la Forma I se determinó usando un difractor de polvo de rayos X Bruker-AXS Ltd D8 Avance equipado con una etapa capilar, un goniómetro theta-theta, un monocromador primario K- $\alpha_1$  de cobre y un detector sensible a la posición Braun. La muestra se montó en un capilar de cuarzo de 1,0 mm. La muestra se hizo girar, mientras se irradiaba con rayos X K- $\alpha_1$  de cobre (longitud de onda = 1,5406 Angstroms), con el tubo de rayos X funcionando a 40 kV/40 mA. Los análisis se realizaron con el goniómetro funcionando de modo continuo puesto a un recuento de 6 segundos por  $0,007^\circ$  de paso en un intervalo de dos theta de  $2^\circ$  a  $40^\circ$ .

40 El patrón de difracción de polvo de rayos X para la Forma II se determinó usando un difractor de polvo de rayos X Bruker-AXS Ltd D4 equipado con un cambiador automático de muestras, un goniómetro theta-theta, hendidura de divergencia del haz automática, y un detector PSD Vantec-1. La muestra se preparó para el análisis llenando la cavidad de la oblea de silicio del montaje de muestra. La muestra se hizo girar mientras se irradiaba con rayos X de cobre K- $\alpha_1$  (longitud de onda = 1,5406 Angstroms), con el tubo de rayos X funcionando a 40 kV/30 mA. Los

análisis se realizaron con el goniómetro funcionando de modo continuo puesto a un recuento de 0,6 segundos por 0,018° de paso en un intervalo de dos theta de 2° a 40°.

5 El patrón de difracción de polvo de rayos X para la Forma III se determinó usando un difractómetro de polvo de rayos X Bruker-AXS Ltd D4 equipado con un cambiador automático de muestras, un goniómetro theta-theta, hendidura de divergencia del haz automática, y un detector PSD Vantec-1. La muestra se preparó para el análisis llenando la cavidad de la oblea de silicio del montaje de muestra. La muestra se hizo girar mientras se irradiaba con rayos X de cobre K-alfa<sub>1</sub> (longitud de onda = 1,5406 Angstroms) con el tubo de rayos X funcionando a 40 kV/40 mA. Los análisis se realizaron con el goniómetro funcionando de modo continuo puesto a un recuento de 0,2 segundos por 0,018° de paso en un intervalo de dos theta de 2° a 40°. Los picos obtenidos fueron alineados frente a un estándar de referencia de silicio.

10 Como se apreciará por la persona experta, las intensidades relativas de los diversos picos dentro de las tablas 1, 3 y 5 pueden variar debido a una serie de factores tales como, por ejemplo efectos de orientación de los cristales en el haz de rayos X o la pureza del material que está siendo analizado o el grado de cristalinidad de la muestra. Las posiciones de los picos también pueden cambiar debido a variaciones en la altura de la muestra, pero las posiciones de los picos permanecerán sustancialmente como se define en las Tablas 1, 3 y 5. La persona experta también apreciará que las mediciones con una longitud de onda diferente darán como resultado diferentes desplazamientos de acuerdo con la ecuación de Bragg ( $n\lambda = 2d \sin \theta$ ). Dichos patrones de PXRD adicionales generados por el uso de longitudes de onda alternativas son representaciones alternativas de los patrones de PXRD de los materiales cristalinos de la presente invención.

15 20 Con el fin de acumular los datos de RMN en estado sólido descritos anteriormente, aproximadamente 80 mg de cada muestra se empaquetó ajustadamente en un spinner de 4 mm de ZrO<sub>2</sub>. Los espectros se recogieron en condiciones ambientales en una Sonda Bruker-Biospin de 4 mm BL HFX CPMAS colocada en un espectrómetro de RMN de gran calibre Bruker-Biospin Avance DSX 500 MHz. Las muestras se orientaron en el ángulo mágico y se hicieron girar a 15,0 kHz. La rápida velocidad de giro minimizó las intensidades de las bandas laterales de giro. El número de exploraciones se ajustó para obtener una relación de señal a ruido adecuada.

25 Los espectros de <sup>19</sup>F en estado sólido se tomaron utilizando un experimento de giro de ángulo mágico (MAS) con desacoplamiento de protón. Los espectros fueron adquiridos con un ancho espectral de 200 ppm. Se aplicó un campo de desacoplamiento de protones de aproximadamente 80 kHz y se recogieron 64 exploraciones en cada espectro MAS <sup>19</sup>F. El retardo de reciclaje se estableció a 400 segundos para garantizar la adquisición de espectros cuantitativos. Los espectros fueron referenciados usando una muestra externa de ácido trifluoroacético (50% en volumen/volumen en agua), estableciendo su resonancia a -76,54 ppm.

30 Los espectros de <sup>13</sup>C en estado sólido se recogieron usando un experimento de giro de ángulo mágico (MAS) con desacoplamiento de protón de polarización cruzada (CPMAS). El tiempo de contacto Hartman-Hahn se estableció en 2 ms. Se aplicó un campo de desacoplamiento de protones de aproximadamente 80 kHz y se recogieron 8.192 exploraciones. El retardo de reciclaje se ajustó a 3 segundos. Los espectros fueron referenciados utilizando un patrón externo de adamantano cristalino, estableciendo su resonancia campo arriba a 29,5 ppm.

35 Los espectros de infrarrojo de transformada de Fourier descritos anteriormente fueron adquiridos utilizando un espectrómetro FTIR ThermoNicolet Avatar equipado con un accesorio ATR de reflexión única 'Golden Gate™' (placa superior de diamante y lentes de seleniuro de zinc) y detector de DTGS KBr. Los espectros se recogieron a una resolución de 2 cm<sup>-1</sup> con una co-adición de 256 exploraciones. Se utilizó apodización Happ-Genzel. Debido a que los espectros FT-IR se registraron utilizando ATR de reflexión única, no se requirió preparación de la muestra. El uso de ATR FT-IR hace que las intensidades relativas de las bandas de infrarrojo difieran de las observadas en un espectro de transmisión de FT-IR usando una preparación de la muestra de disco de KBr o pasta de nujol. Debido a la naturaleza de ATR FT-IR, las bandas a longitudes de onda más baja son más intensas que las de longitud de onda más alta. El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de ± 2 cm<sup>-1</sup>.

40 Los espectros de Raman de transformada de Fourier descritos anteriormente se recogieron usando un espectrómetro ThermoNicolet 960 FT-Raman equipado con un láser 1064 NdYAG y detector de germanio. El espectro de la Forma I se tomó utilizando una potencia de láser de 460 mW en la muestra con 4.112 exploraciones co-añadidas a 2 cm<sup>-1</sup> de resolución. El espectro de la Forma II se recogió utilizando una potencia de láser de 510 mW en la muestra con 8.000 exploraciones co-añadidas a 2 cm<sup>-1</sup> de resolución. Se utilizó apodización Happ-Genzel. Cada muestra se colocó en un vial de vidrio y se expuso a la radiación láser. Los datos se presentan como la intensidad Raman como una función del desplazamiento Raman. El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de ± 2 cm<sup>-1</sup>.

45 Las formas cristalinas de la invención se pueden preparar mediante los procedimientos descritos a continuación. La persona experta comprenderá que la preparación de formas polimorfas particulares de un compuesto a veces puede ser problemática, y que pequeños cambios en las condiciones de reacción a veces pueden resultar en un producto inesperado. En particular, la presencia de semillas en la atmósfera bajo la cual se lleva a cabo el experimento puede tener una influencia decisiva en el resultado. Los procedimientos descritos a continuación, sin embargo, son

5 generalmente fiables. El polimorfo de la Forma II es el más estable termodinámicamente a temperatura ambiente y su formación se fomenta con la cristalización lenta. El polimorfo de la Forma I es el producto más favorecido cinéticamente a temperatura ambiente y su formación se fomenta mediante técnicas de cristalización rápida tales como el enfriamiento rápido. La siembra con el producto deseado, obviamente, aumentará el éxito en estas preparaciones. La preparación del material de la Forma I es particularmente fomentada por el uso de una semilla de la Forma I que contenga una mezcla de diastereómeros debido a la epimerización en el residuo de aspartato modificado.

Preparación de una mezcla de la Forma I y de la Forma II.

10 Se puede preparar una mezcla de Formas cristalinas I y II por cristalización del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico amorfo (o como cualquier otra forma del compuesto) a partir de una mezcla de ácido acético y agua. Este proceso da ocasionalmente producto puro de la Forma I.

15 Por ejemplo, se cargó ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (15,033 g) en un matraz equipado con una barra agitadora magnética. Se añadió ácido acético (200 ml), con agitación, para dar una solución a la que se añadió carbón activo (1,512 g). La suspensión de color negro resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se filtró bajo vacío, y el residuo sólido se lavó dos veces con ácido acético (2 x 40 ml). El filtrado combinado se diluyó con agua desionizada (155 ml) para dar una solución turbia que se convirtió en transparente con calentamiento a aproximadamente 42° C. Se añadió una porción adicional de agua desionizada (225 ml), restaurando la turbidez y se dejó enfriar lentamente la solución a temperatura ambiente con agitación, dando un material cristalino de color blanco (mezcla de las Formas I y II).

Preparación de la Forma II pura a partir de una mezcla de las Formas I y II sin siembra

25 Se puede preparar Forma II pura suspendiendo una mezcla de las Formas I y II en acetonitrilo a temperatura ambiente hasta que haya tenido lugar la conversión completa (típicamente unos pocos días, por ejemplo, 3 días). El producto se filtra a continuación y se seca (por ejemplo, en un horno de vacío). Los siguientes procedimientos son ilustrativos.

Una mezcla 40:60 (en peso) de las Formas I y II se suspendió en acetonitrilo y se dejó durante tres días. Después, el producto sólido se filtró y se secó en un horno de vacío para dar la Forma II pura, cristalina. Este material puede ser utilizado como semilla, en caso necesario, en otros experimentos descritos a continuación.

30 Una suspensión de ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (1,5 g, aproximadamente 40:60 de Forma I:Forma II en peso) en acetonitrilo (13 ml) se agitó durante 3 días a temperatura ambiente (22° C). La fase sólida se separó por filtración y se secó durante 16 horas a vacío (22° C y 25 mbar) para dar la Forma II pura como el producto con un rendimiento del 86%.

35 La Forma II pura también se puede generar mediante la suspensión de una mezcla de las Formas I y II a 4° C durante un periodo de días (por ejemplo durante aproximadamente 5 días) en un disolvente seleccionado de acetato de etilo, tolueno, acetato de etilo/agua, acetato de etilo/acetonitrilo y alcohol isopropílico (IPA). La Forma II pura también se puede preparar suspendiendo una mezcla de las Formas I y II a aproximadamente 50° C en diclorometano o metiletilcetona.

Preparación de la Forma II pura a partir de una mezcla de las Formas I y II utilizando la siembra

40 Se preparó una suspensión de ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (40 g, aproximadamente 90:10 de la Forma I:Forma II en peso) en una mezcla de alcohol isopropílico y agua (400 ml, 93:7 en volumen). La suspensión se calentó desde 22° C a 60° C durante 30 minutos y la solución resultante se mantuvo a 60° C durante un periodo de 30 minutos para permitir que se alcanzara el equilibrio. En este punto se había producido la disolución completa. La solución se enfrió a 25° C durante un periodo de 30 minutos y, una vez a 25° C, la solución sobresaturada se sembró con cristales de la Forma II. La concentración de semilla usada fue de 0,4 g o 1% p/p de la concentración inicial de alimentación. La suspensión se mantuvo a 25° C durante un periodo de 4 horas, se enfrió desde 25° C a 0° C durante un periodo de 4 horas y se mantuvo a 0° C durante un periodo de 12 horas. La suspensión se filtró al vacío y el producto sólido se secó en un horno de vacío a 50° C durante 60 horas. El producto se aisló con un rendimiento del 80% (32 g). Análisis de PXRD de ambas muestras antes y después del secado fue consistente con la Forma II.

50 Preparación de la Forma II pura a partir de la Forma I utilizando la siembra

Se preparó una suspensión de ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (22,5 g, 100% de la Forma I) en una mezcla de alcohol isopropílico y agua (300 ml, 93:7 en volumen) en un matraz equipado con un impulsor de curva de retiro de 3 cuchillas, operando a 250 rpm. La suspensión se calentó desde 25° C a 50° C durante 30 minutos. La solución se mantuvo a 50° C durante un

período de 30 minutos para permitir que se alcanzara el equilibrio. Se aseguró que la disolución completa se había producido en este punto. La solución se enfrió a 35° C durante un período de 30 minutos. Una vez a 35° C, la solución sobresaturada se sembró con PF-3.491.390 de la Forma II. La concentración de semilla utilizada fue de 0,225 g o 1% p/p de la concentración inicial. La semilla usada en este experimento se micronizó. La suspensión se mantuvo a temperatura de siembra es decir, 35° C durante un período de 3 horas. La suspensión se enfrió desde 35° C a -5° C durante un período de 24 horas. La suspensión se mantuvo a -5° C durante un período de 18 horas. La suspensión se filtró al vacío y se secó en un horno de vacío a 50° C para dar 21,6 g de PF-3.491.390 (95%). El análisis de PXRD de ambas muestras antes y después del secado fue consistente con la Forma II.

Preparación de la Forma I pura a partir de una mezcla de la Forma I y Forma II

La Forma I pura se puede preparar mediante la disolución de una mezcla de las Formas I y II en la mínima cantidad de un disolvente polar orgánico (típicamente alcohol isopropílico (IPA), tetrahidrofurano (THF) o ácido acético) a una temperatura elevada (típicamente a aproximadamente 50° C) y permitiendo que se produzca la cristalización por enfriamiento a una temperatura más baja (típicamente a aproximadamente 4° C, durante la noche). Se puede añadir un disolvente orgánico no polar tal como n-heptano o trifluorotolueno (por lo general referido como un anti-disolvente) con el fin de ayudar a la cristalización. Los experimentos siguientes son ilustrativos.

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (300 mg, aproximadamente 40:60 de la Forma I:Forma II) en la cantidad mínima de alcohol isopropílico (4 ml) a 50° C. Después, esta solución se enfrió a 4° C a 0,5° C/minuto y se agitó a 4° C durante la noche para dar la Forma I pura como el producto.

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (200 mg, aproximadamente 40:60 de la Forma I:Forma II) en 0,3 ml de tetrahidrofurano a 50° C. Se añadió n-heptano (0,9 ml) como un anti-disolvente para provocar la precipitación. La suspensión resultante se enfrió a 4° C a 0,5° C/minuto y se agitó a 4° C durante la noche para dar la Forma I pura como el producto.

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (200 mg, aproximadamente 40:60 de la Forma I:Forma II) en 0,3 ml de tetrahidrofurano a 50° C. Se añadió trifluorotolueno (1,5 ml) como un anti-disolvente para provocar la precipitación. La suspensión resultante se enfrió a 4° C a 0,5° C/minuto y se agitó a 4° C durante la noche para dar la Forma I pura como el producto.

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (200 mg, aproximadamente 40:60 de la Forma I:Forma II) en 0,8 ml de ácido acético a 50° C. Se añadió n-heptano (3,5 ml) como un anti-disolvente para provocar la precipitación. La suspensión resultante se enfrió a 4° C a 0,5° C/minuto y se agitó a 4° C durante la noche para dar la Forma I pura como el producto.

Preparación de la forma III pura a partir de una mezcla de las formas I y II

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (41 mg, aproximadamente 75:25 de la Forma I:Forma II) en metiletilcetona (1 ml). La solución se filtró y se dejó evaporar lentamente durante 19 días, resultando en un gel. Se añadió tolueno (10 µl) en este punto. Después de otros 3 días, se añadió una cantidad adicional de tolueno (100 µl). Después de otros 4 días, se aisló un material cristalino correspondiente a la Forma III.

Preparación de la Forma III pura a partir de la Forma I

Se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (50 mg, Forma I) en metiletilcetona (1 ml). La solución transparente resultante se filtró, se diluyó con tolueno (3 ml) y se dejó evaporar a temperatura ambiente durante dos días hasta que se formó un material opaco. El sólido opaco se recogió por filtración a vacío y se secó al aire a presión reducida durante aproximadamente 10 minutos para dar 47,5 mg de la Forma III como el producto.

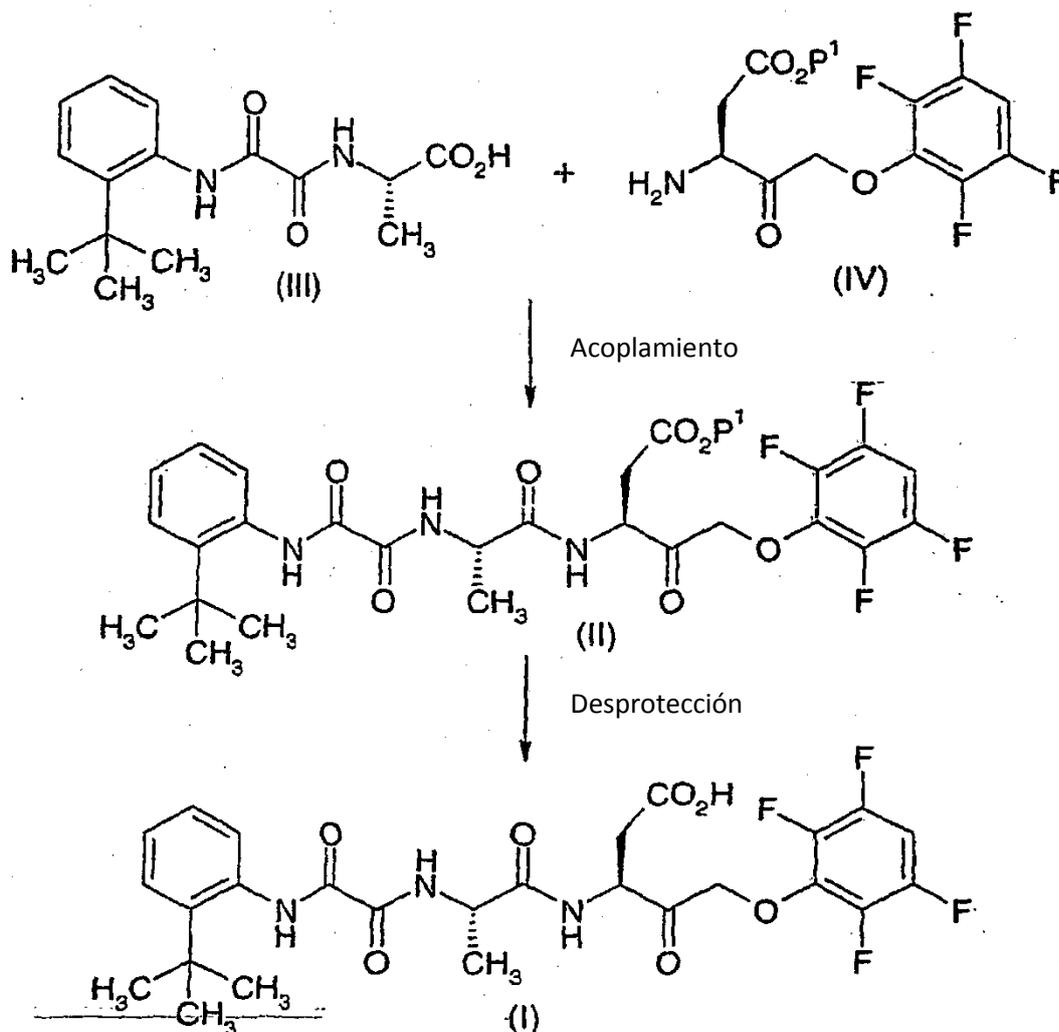
En otro experimento, se disolvió el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (700 mg, Forma I) en 14 ml de 2-butanona (metiletilcetona) con sonicación. La solución transparente resultante se filtró en un vaso de precipitados y se diluyó con tolueno (42 ml). La solución se mezcló bien y se dejó evaporar a temperatura ambiente durante 6 días hasta que se formó un material opaco similar a un gel. El material de tipo gel se filtró al vacío a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos para producir 633 mg de la Forma III. En otro experimento similar la solución de 2-butanona/tolueno se dejó evaporar a temperatura ambiente durante 6 días. El sólido producido no se filtró al vacío o se secó adicionalmente en el aire. El producto fue la Forma III (700 mg).

Preparación de la Forma II pura por deshidrogenación de un precursor de éster de bencilo (con siembra)

Se añadió el éster bencilico del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico (500 g, 0,758 moles) a tetrahidrofurano (2,5 litros), con agitación, a 20° C. Después se añadió paladio sobre carbono (10%, 50 g) y se aplicó hidrógeno al espacio de cabeza por encima del líquido a 20 libras por pulgada cuadrada (psi). Después de cuatro horas, se eliminó el catalizador por filtración a través de un lecho de Celite® y la torta del filtro se lavó con tetrahidrofurano (2 x 1 litro). El filtrado se concentró por evaporación a 30° C al vacío hasta un volumen de 2 litros y luego se añadió n-heptano, con agitación, durante un período de una hora. Se añadió una semilla de la forma II (4,32 g), y se continuó agitando durante 3 horas a 20° C. A continuación, se añadió adicionalmente n-heptano (2,35 litros) y la suspensión se agitó a 20° C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a -5° C durante seis horas, se agitó a esta temperatura durante aproximadamente una hora y se filtró. El producto se lavó con n-heptano (2 x 1 litro) y se secó en un horno de vacío a 40° C durante 16 horas para dar la Forma II pura (389 g).

Como se indicó anteriormente, la forma amorfa del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico se puede preparar mediante los procesos específicos y generales descritos en el documento de patente internacional WO-A/00/01666. El compuesto también se puede preparar mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 a continuación. Naturalmente, los procedimientos específicos empleados en el aislamiento del producto pueden resultar en la preparación de la forma amorfa o en una de las formas cristalinas de esta invención.

### Esquema 1

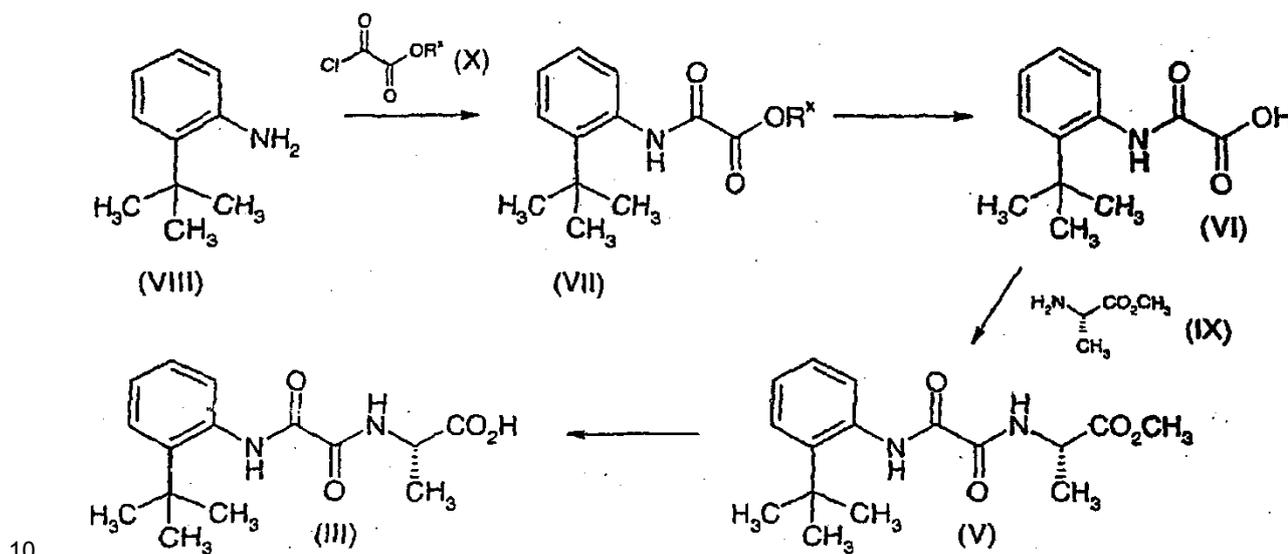


En el esquema 1, P<sup>1</sup> representa un grupo protector de carboxilo adecuado, tal como bencilo. Otros ejemplos de grupos protectores adecuados se pueden encontrar en "Protective Groups in Organic Synthesis" por Theorora Greene y Peter Wuts (tercera edición, 1999, John Wiley and Sons). Por consiguiente, un compuesto de fórmula (II) se desprotege para proporcionar el compuesto de fórmula (I), usando condiciones seleccionadas apropiadamente de acuerdo con la elección del grupo protector P<sup>1</sup>. Por ejemplo, si P<sup>1</sup> es bencilo, se puede tratar una solución del

5 compuesto de fórmula (II) en un disolvente adecuado (tal como tetrahidrofurano) con un catalizador de hidrogenación (tal como paladio sobre carbono) y se le expone a una atmósfera de hidrógeno gaseoso. Un compuesto de fórmula (II) se puede preparar por acoplamiento de un ácido de fórmula (III) con una amina de fórmula (IV). La amina (IV) puede usarse opcionalmente en forma de una sal tal como el hidrocloreto. Puede utilizarse cualquier agente de acoplamiento de péptidos adecuado. En un procedimiento preferido, una solución de la amina (IV) y el ácido (III) en un disolvente adecuado (tal como tetrahidrofurano) se trata con un cloroformiato (tal como cloroformiato de isobutilo) y una base (tal como N-metilmorfolina).

Un compuesto de fórmula (III) se puede preparar por la ruta mostrada en el esquema 2 a continuación, en el que R<sup>x</sup> es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente metilo o etilo.

Esquema 2



El compuesto de fórmula (III) se puede preparar por tratamiento de un compuesto de fórmula (V) con una base adecuada con el fin de hidrolizar la funcionalidad éster. En un procedimiento preferido, una solución del compuesto de fórmula (V) en un disolvente adecuado (preferiblemente tetrahidrofurano) se trata con un hidróxido de metal alcalino (preferiblemente hidróxido de litio).

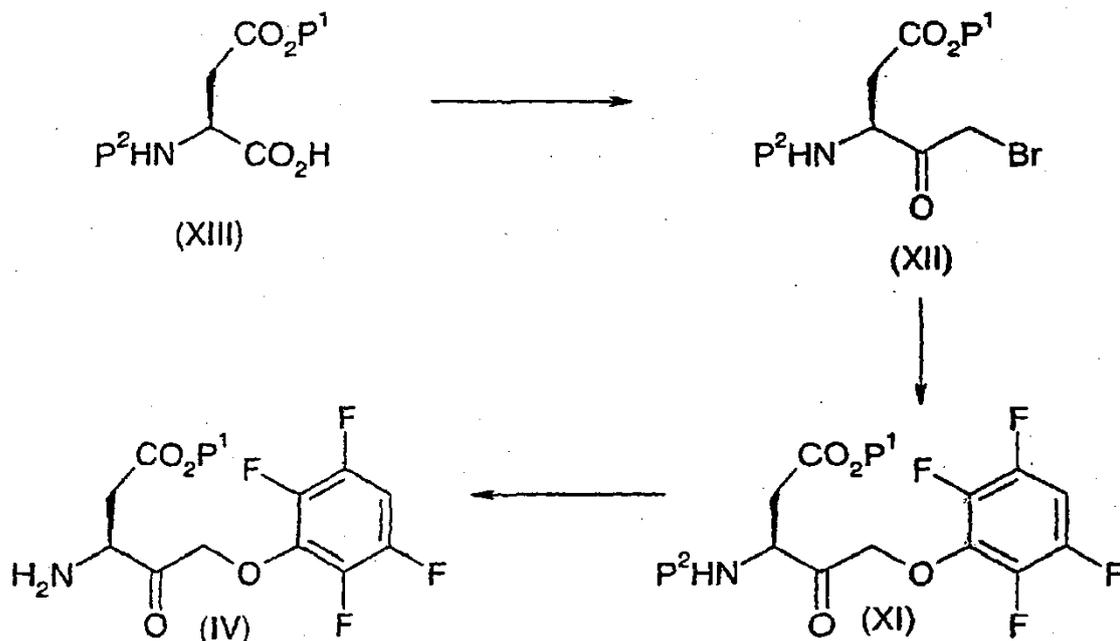
15 El compuesto de fórmula (V) se puede preparar por acoplamiento de un ácido de fórmula (VI) con una amina de fórmula (IX). La amina de fórmula (IX) se puede usar opcionalmente como una sal, particularmente como la sal de hidrocloreto. Cualquier agente de acoplamiento de péptidos adecuado puede ser utilizado. En un procedimiento preferido, una solución del ácido (VI) y la amina (IX) en un disolvente adecuado (preferiblemente dimetilformamida) se trata con un agente de acoplamiento de carbodiimida en presencia de una base tal como N-metilmorfolina.

20 El compuesto de fórmula (VI) se puede preparar por tratamiento de un compuesto de fórmula (VII) con una base para hidrolizar la funcionalidad éster. En un procedimiento preferido, una solución del compuesto de fórmula (VII) en un disolvente adecuado (preferiblemente tolueno) se trata con un hidróxido de metal alcalino (preferiblemente hidróxido de sodio).

25 Un compuesto de fórmula (VII) se puede preparar por tratamiento de una amina de fórmula (VIII) con un compuesto de fórmula (X) en presencia de una base de amina. En un procedimiento preferido, una solución de los compuestos (VIII) y (X) en un disolvente adecuado (preferiblemente tolueno) se trata con trietilamina.

30 Un compuesto de fórmula (IV) (véase el esquema 1) se pueden preparar por la ruta mostrada en el esquema 3 a continuación, en la que P<sup>1</sup> es como se definió anteriormente y P<sup>2</sup> es un grupo protector de amina adecuado (preferiblemente un grupo *terc*-butiloxicarbonilo, BOC). Ejemplos de grupos protectores de amina adecuados se pueden encontrar en "Protective Groups in Organic Synthesis" por Theorora Greene y Peter Wuts (tercera edición, 1999, John Wiley and Sons).

## Esquema 3



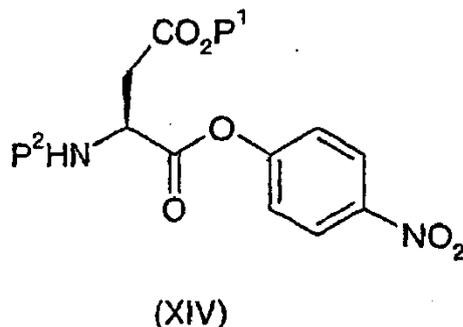
El compuesto de fórmula (IV) puede prepararse por desprotección de un compuesto de fórmula (XI), usando condiciones seleccionadas apropiadamente de acuerdo con la elección del grupo protector P<sup>2</sup>. Por ejemplo, si P<sup>1</sup> es *tert*-butiloxycarbonilo entonces una solución del compuesto de fórmula (XI) en un disolvente adecuado (preferiblemente acetato de etilo) se trata con un ácido (preferiblemente ácido clorhídrico). Se debe tener cuidado en la elección de los grupos protectores P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup>, de manera que las condiciones necesarias para eliminar el grupo protector P<sup>2</sup> no quite también el grupo protector P<sup>1</sup>.

Un compuesto de fórmula (XI) se puede preparar mediante el desplazamiento del grupo de bromuro en un compuesto de fórmula (XII) con el anión fenolato derivado de la desprotonación de 2,3,5,6-tetrafluorofenol. Preferiblemente, se usa una sal de metal alcalino del fenol, más preferiblemente la sal de potasio. Agentes de desprotonación adecuados son, por tanto, los hidruros de sodio o de potasio. En un procedimiento preferido, una solución del compuesto de fórmula (XII) en un disolvente adecuado (preferiblemente acetona) se trata con el fenol desprotonado en presencia de un catalizador nucleófilo (preferiblemente yoduro de sodio).

Un compuesto de fórmula (XII) se puede preparar por homologación de un ácido de fórmula (XIII) mediada por diazometano. En un procedimiento típico, una solución del compuesto de fórmula (XIII) en un disolvente adecuado (preferiblemente tetrahidrofurano) se trata sucesivamente con (a) un cloroformiato (preferiblemente isobutilcloroformiato) y una base (preferiblemente N-metilmorfolina), (b) diazometano y (c) ácido bromhídrico.

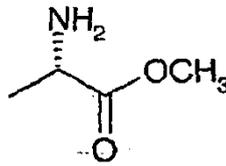
Los compuestos usados en los procedimientos anteriores cuya preparación no se ha descrito, tales como los compuestos de fórmula (VIII), (IX), (X) y (XIII) están disponibles comercialmente y/o se pueden preparar por procedimientos de rutina dentro de los conocimientos generales del experto común.

Un compuesto de fórmula (XII) también se puede preparar por tratamiento de un compuesto de fórmula:



en la que P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son como se definieron anteriormente, con óxido de trimetilsulfonio ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>S=O) en presencia de una base y posterior adición de una fuente de bromuro (por ejemplo, de ácido bromhídrico o bromuro de litio).

Un compuesto de fórmula (V) también puede prepararse convenientemente en un procedimiento de un solo recipiente mediante el tratamiento secuencial de un compuesto de fórmula:



(XV)

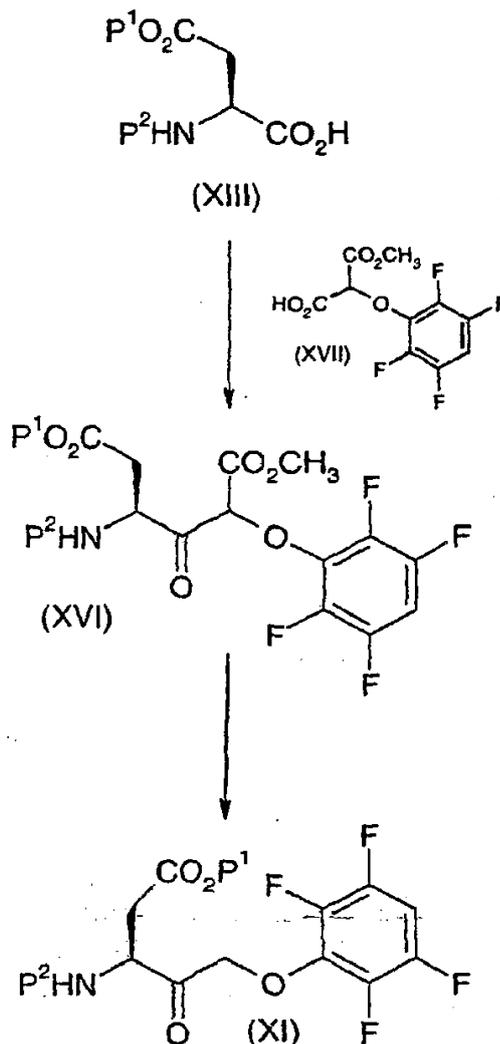
5

o una sal de ácido del mismo (particularmente la sal de hidrocloreuro) en primer lugar con cloruro de oxalilo (ClCOCOCI) y en segundo lugar con 2-*tert*-butilanilina.

Un compuesto de fórmula (XI) se puede preparar alternativamente por la ruta mostrada en el esquema 4 a continuación. P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son grupos protectores como se definió anteriormente. En una realización preferida, P<sup>1</sup> es bencilo y P<sup>2</sup> es *tert*-butiloxicarbonilo.

10

**Esquema 4**



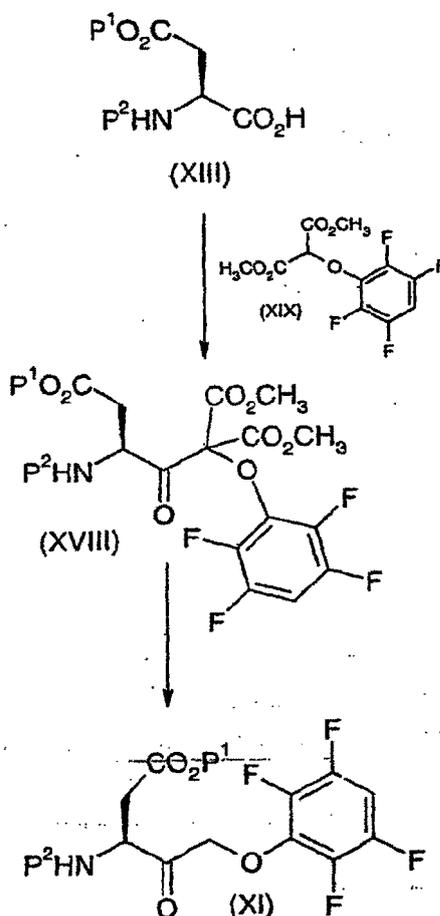
Un compuesto de fórmula (XI) puede así ser preparado por hidrólisis selectiva y descarboxilación de un compuesto de fórmula (XVI). Se debe tener cuidado para asegurar que el resto de éster de metilo del compuesto (XVI) sea más reactivo y por lo tanto más fácilmente hidrolizado que el grupo carbonilo protegido  $-\text{CO}_2\text{P}^1$ , especialmente cuando el último grupo es también un éster. Un agente hidrolizante típico es el hidróxido de sodio.

- 5 Un compuesto de fórmula (XVI) se puede preparar mediante la activación de un compuesto de fórmula (XIII) y el tratamiento de las especies activadas con una forma doblemente desprotonada de un compuesto de fórmula (XVII). Se produce la adición nucleófila seguida por descarboxilación. La activación puede conseguirse por tratamiento de un compuesto de fórmula (XIII) con un agente de acoplamiento de amida tal como una carbodiimida.

- 10 Un compuesto de fórmula (XVII) se puede preparar por tratamiento de  $\alpha$ -cloro-dimetilmalonato con una forma desprotonada de 2,3,5,6-tetrafluorobenceno y selectivamente hidrolizando uno de los grupos éster de metilo del producto.

Un compuesto de fórmula (XI) se puede preparar también por la ruta mostrada en el Esquema 5.  $\text{P}^1$  y  $\text{P}^2$  son grupos protectores como se definió anteriormente. En una realización preferida,  $\text{P}^1$  es bencilo y  $\text{P}^2$  es terc-butiloxicarbonilo.

Esquema 5

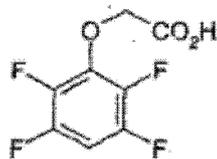


- 15 Un compuesto de fórmula (XI) puede así ser preparado por la doble hidrólisis selectiva y descarboxilación de un compuesto de fórmula (XVIII). Se debe tener cuidado para asegurar que los restos éster de metilo del compuesto (XVIII) sean más reactivos y por lo tanto más fácilmente hidrolizados que el grupo carbonilo protegido  $-\text{CO}_2\text{P}^1$ , especialmente cuando el último grupo es también un éster. Un agente hidrolizante típico es hidróxido de sodio.

- 20 Un compuesto de fórmula (XVIII) se puede preparar mediante la activación de un compuesto de fórmula (XIII) y el tratamiento de las especies activadas con una forma desprotonada de un compuesto de fórmula (XIX). La activación puede conseguirse por tratamiento de un compuesto de fórmula (XIII) con un agente de acoplamiento de amida tal como una carbodiimida.

- 25 Un compuesto de fórmula (XIX) se puede preparar por tratamiento de  $\alpha$ -cloro-dimetilmalonato con una forma desprotonada de 2,3,5,6-tetrafluorobenceno.

Un compuesto de fórmula (XI) se pueden preparar también mediante la activación de un compuesto de fórmula (XIII) (en la que P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son grupos protectores, como se definió anteriormente, preferiblemente bencilo y terc-butiloxicarbonilo respectivamente) y el tratamiento de estas especies activadas con una forma doblemente desprotonada de un compuesto de fórmula:



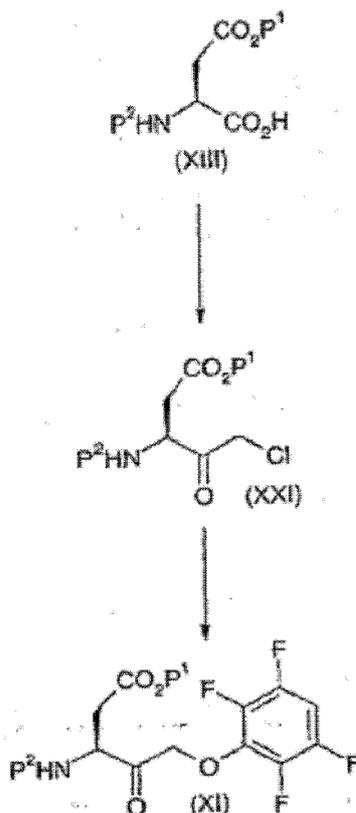
(XX)

5

La activación puede conseguirse por tratamiento de un compuesto de fórmula (XIII) con un agente de acoplamiento de amida tal como una carbodiimida.

Un compuesto de fórmula (XX) se puede preparar por tratamiento de un derivado de ácido acético con un grupo saliente en la posición 2 (por ejemplo, ácido 2-cloroacético) con una forma desprotonada de 2,3,5,6-tetrafluorofenol.

10 Un compuesto de fórmula (XI) también se puede preparar como se muestra en el Esquema 6. P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son grupos protectores como se definió anteriormente. En una realización preferida, P<sup>1</sup> es bencilo y P<sup>2</sup> es terc butiloxicarbonilo.

**Esquema 6**

15 Un compuesto de fórmula (XI) puede preparare mediante el desplazamiento del grupo cloro en el compuesto de la fórmula (XXI) con el anión fenolato derivado por desprotonación de 2,3,5,6-tetrafluorofenol. Preferiblemente se usa una sal de metal alcalino del fenol, más preferiblemente la sal de potasio. Agentes de desprotonación adecuados son por lo tanto hidruro de sodio y de potasio. En un procedimiento preferido, una solución del compuesto de fórmula (XXI) en un disolvente adecuado (preferiblemente acetona) se trata con el fenol desprotonado en la presencia de un

20 catalizador nucleófilo (preferiblemente yoduro sódico).

Un compuesto de fórmula (XXI) se puede preparar mediante la activación de un compuesto de fórmula (XIII) y el tratamiento de las especies activadas con una forma doblemente desprotonada de ácido 2-cloroacético. La activación se puede lograr mediante la conversión a un éster o por tratamiento con un agente de acoplamiento de amida tal como una carbodiimida. En un procedimiento preferido, una solución de cloroacetato de sodio en un disolvente adecuado (tal como tetrahidrofurano) se trata con cloruro de zinc y cloruro de diisopropilaminomagnesio y después se añade a una solución del éster de metilo de un compuesto de fórmula (XIII).

Un fármaco debe ser adecuado para la formulación en una forma de dosificación elegida según la ruta de administración que se pretende. El tipo más popular de formulación farmacéutica es un comprimido o cápsula, dicha forma de dosificación se administra fácilmente y convenientemente a través de la ruta oral. Para la formulación como un comprimido o cápsula, un fármaco no debe ser higroscópico y ser compresible. La higroscopicidad puede conducir a problemas con el procesamiento y una vida de almacenamiento corta, la potencia del material puede cambiar durante las etapas de procesamiento debido a la absorción de agua y la absorción de agua puede dar lugar a características de flujo malas (por ejemplo pegajosidad). Un fármaco adecuado también debe poseer una solubilidad y velocidad de disolución que conduzca a una biodisponibilidad rápida en la exposición al ambiente gástrico. Las formas cristalinas del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamilo)alaninilo]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico descritas anteriormente tienen excelentes propiedades de este tipo y son adecuadas para formulación en comprimidos y cápsulas. La Forma II es particularmente adecuada.

Se evaluó la higroscopicidad para las Formas I y II mediante la absorción de vapor dinámica (DVS). Las muestras se caracterizaron usando un equipo de absorción de vapor dinámica, modelo DVS-1 de Surface Measurement System Ltd. El análisis se llevó a cabo a 30° C con un flujo de gas de nitrógeno de 200 cc/min. La absorción y desorción de agua se determinaron en el intervalo de 0 a 90% de humedad relativa (RH) utilizando intervalos de RH del 15%. La exposición fue por un mínimo de dos horas en cada humedad, o hasta que la tasa de cambio de peso fue menor de 0,0005%/minuto (promedio durante 10 minutos). Los pesos de las muestras estaban en el intervalo de 23-36 mg. Las muestras se pesaron utilizando, una balanza de grabación digital de siete cifras CAHN D-200 que es una parte integral del equipo. Los resultados están tabulados a continuación en las Tablas 6 y 7 y representados gráficamente en las figuras 15 y 16.

Tabla 6 - Datos de absorción de agua para la Forma I

%RH	Absorción de agua (peso/peso seco %)	
	Absorción	Desorción
15	0,018	0,015
30	0,028	0,025
45	0,049	0,037
60	0,072	0,055
75	0,110	0,105
90	0,208	0,208

Tabla 7 - Datos de absorción de agua para la Forma II

%RH	Absorción de agua (peso/peso seco %)	
	Absorción	Desorción
15	0,007	0,009
30	0,014	0,015
45	0,020	0,021
60	0,029	0,031
75	0,042	0,044
90	0,057	0,057

La presente invención incluye todas las variantes farmacéuticamente aceptables marcadas isotópicamente de las formas cristalinas proporcionadas por la presente invención. En una variante de marcado isotópico, uno o más átomos están reemplazados por un átomo o átomos que tienen el mismo número atómico, pero un número de masa o masa atómica diferente de la masa atómica o número de masa que predomina en la naturaleza.

- 5 Isótopos adecuados incluyen isótopos de hidrógeno, tales como  $^2\text{H}$  y  $^3\text{H}$ ; de carbono, tales como  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}$ ; nitrógeno, tales como  $^{13}\text{N}$  y  $^{15}\text{N}$ ; oxígeno, tales como  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$  y  $^{18}\text{O}$ ; y azufre, tal como  $^{35}\text{S}$ .

10 Ciertos compuestos marcados con isótopos, tales como los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución en tejidos y/o sustrato del fármaco. Los isótopos radiactivos tritio, es decir,  $^3\text{H}$ , y carbono-14, es decir,  $^{14}\text{C}$ , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medios rápidos de detección.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir,  $^2\text{H}$ , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida *in vivo* o requerimientos de dosificación reducidos, y por lo tanto puede preferirse en algunas circunstancias.

15 La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$  y  $^{13}\text{N}$ , puede ser útil en los estudios de tomografía por emisión de protones (PET) para examinar la ocupación del receptor por el sustrato.

Los compuestos marcados isotópicamente pueden prepararse por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica usando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado empleado anteriormente.

20 El ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico es un inhibidor pan-caspasa irreversible que inhibe la apoptosis celular, como se describe en el documento de patente internacional WO-A-00/01666, y las formas cristalinas del compuesto proporcionados por la presente invención son por lo tanto potencialmente útiles en el tratamiento de una serie de trastornos, incluyendo enfermedades infecciosas (por ejemplo, la meningitis, salpingitis), shock séptico, enfermedades respiratorias, enfermedades inflamatorias (por ejemplo, la artritis, colangitis, colitis, encefalitis, hepatitis, atresia biliar, cicatrización de la lente, pancreatitis, lesión por reperfusión), enfermedades isquémicas (por ejemplo, el infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad renal isquémica), enfermedades de base inmunitaria (por ejemplo, la hipersensibilidad), enfermedades autoinmunes (por ejemplo, la esclerosis múltiple), las enfermedades de los huesos, la diabetes de tipo II (a través de la reducción de la resistencia a la insulina) y las enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson). También son potencialmente útiles para la repoblación de las células hematopoyéticas después de la quimioterapia o la terapia de radiación y para prolongar la viabilidad del órgano para uso en un trasplante (especialmente del hígado). Los inhibidores de caspasa se pueden usar además para expandir o aumentar la supervivencia de una población celular *in vitro* y por lo tanto tienen aplicación en el aumento de la eficiencia de la biorreproducción.

35 Las formas cristalinas de la presente invención son particularmente útiles en el tratamiento y prevención de la fibrosis hepática. La fibrosis hepática es el resultado de los intentos del cuerpo de hacer frente a diversas formas de hepatitis (inflamación del hígado) y conduce a insuficiencia hepática, cirrosis y eventualmente la muerte. La fibrosis (cicatrización) es causada por la deposición de colágeno, dando lugar a una función hepática reducida, y eventualmente a cirrosis. Si el hígado cirrótico no se trasplanta entonces puede darse como resultado la muerte. La hepatitis que origina la fibrosis puede ser causada por una variedad de diferentes insultos al hígado, incluyendo infecciones víricas (especialmente la hepatitis B y hepatitis C), deposición de exceso de grasa (esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)) y el alcohol.

40 Las formas cristalinas del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico proporcionadas por la presente invención (en adelante, referidas como los compuestos de la invención) pueden administrarse solas pero generalmente se administrarán como una formulación en asociación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se usa en el presente documento para describir cualquier ingrediente distinto del compuesto de la invención. La elección del excipiente en gran medida dependerá de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma de dosificación.

45 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración de los compuestos de la invención y métodos para su preparación serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Tales composiciones y métodos para su preparación pueden encontrarse, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 19ª edición (Mack Publishing Company, 1995).

50 Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral. La administración oral puede implicar tragarse el compuesto, de modo que el compuesto entre en el tracto gastrointestinal, o se puede emplear la administración bucal o sublingual por las cuales el compuesto entra en el torrente sanguíneo directamente desde la boca.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen formulaciones sólidas tales como comprimidos, cápsulas que contienen partículas, líquidos o polvos, grageas (incluyendo llenas de líquido), chicles, multi- y nanopartículas, geles, soluciones de sólidos, liposomas, películas, óvulos, pulverizaciones y formulaciones líquidas.

5 Las formulaciones líquidas incluyen suspensiones, soluciones, jarabes y elixires. Tales formulaciones pueden emplearse como rellenos en cápsulas blandas o duras y típicamente comprenden un vehículo, por ejemplo, el agua, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, metilcelulosa, o un aceite adecuado, y uno o más agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión. Las formulaciones líquidas también pueden prepararse mediante la reconstitución de un sólido, por ejemplo, de una bolsita.

10 Los compuestos de la invención también pueden usarse en formas de dosificación de disolución rápida, y de desintegración rápida tales como las descritas en Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11 (6), 981-986, por Liang y Chen (2001).

Para las formas de dosificación en comprimidos, dependiendo de la dosis, los compuestos de la invención pueden constituir desde el 1% en peso a 80% en peso de la forma de dosificación, más típicamente de 5% en peso a 60% en peso de la forma de dosificación.

15 Además, los comprimidos generalmente contienen un disgregante. Los ejemplos de disgregantes incluyen glicolato sódico de almidón, carboximetilcelulosa sódica, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, crospovidona, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilcelulosa sustituida con alquilo inferior, almidón, almidón pregelatinizado y alginato de sodio. Generalmente, el disgregante comprenderá de 1% en peso a 25% en peso, preferiblemente de 5% en peso a 20% en peso de la forma de dosificación.

20 También se utilizan aglutinantes generalmente para impartir cualidades cohesivas a una formulación de comprimido. Aglutinantes adecuados incluyen celulosa microcristalina, gelatina, azúcares, polietilenglicol, gomas naturales y sintéticas, polivinilpirrolidona, almidón pregelatinizado, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Los comprimidos también pueden contener diluyentes, tales como la lactosa (monohidrato, monohidrato secado por pulverización, anhidra y similares), manitol, xilitol, dextrosa, sacarosa, sorbitol, celulosa microcristalina, almidón y fosfato cálcico dibásico dihidratado.

25 Los comprimidos también pueden comprender opcionalmente agentes tensioactivos, tales como el lauril sulfato de sodio y polisorbato 80, y deslizantes tales como el dióxido de silicio y talco. Cuando están presentes, los agentes tensioactivos pueden comprender de 0,2% en peso a 5% en peso del comprimido, y los deslizantes pueden comprender de 0,2% en peso a 1% en peso del comprimido.

30 Los comprimidos también contienen generalmente lubricantes tales como el estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, estearil fumarato sódico, y mezclas de estearato de magnesio con lauril sulfato de sodio. Los lubricantes generalmente comprenden de 0,25% en peso a 10% en peso, preferiblemente de 0,5% en peso a 3% en peso del comprimido.

35 Otros ingredientes de comprimidos posibles incluyen antioxidantes, agentes colorantes, agentes saborizantes, conservantes y agentes de enmascaramiento del sabor.

Los comprimidos ejemplares contienen hasta aproximadamente 80% del fármaco, de aproximadamente 10% en peso a aproximadamente 90% en peso de aglutinante, de aproximadamente 0% en peso a aproximadamente 85% en peso de diluyente, de aproximadamente 2% en peso a aproximadamente 10% en peso de disgregante, y de aproximadamente 0,25 % en peso a aproximadamente 10% en peso de lubricante.

40 Las mezclas de comprimidos pueden comprimirse directamente o mediante compactación por rodillo para formar comprimidos. Las mezclas de comprimidos o porciones de mezclas pueden ser granuladas alternativamente en húmedo, en seco o en estado fundido, en estado fundido congelado, o extruido antes de la formación de comprimidos. La formulación final puede comprender una o más capas y puede estar recubierta o sin recubrir; incluso puede estar encapsulada.

45 La formulación de comprimidos se analiza en Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, vol. 1, por H. Lieberman y L. Lachman (Marcel Dekker, Nueva York, 1980).

50 Los compuestos de la invención también se pueden administrar por vía oral en forma de una película oral consumible para uso humano o veterinario. Dicha película es típicamente una forma de dosificación flexible soluble en agua o película delgada hinchable en agua que puede ser de disolución rápida o mucoadhesiva y típicamente comprende el compuesto de la invención, un polímero formador de película, un aglutinante, un disolvente, un humectante, un plastificante, un estabilizador o emulsionante, un agente modificador de la viscosidad y un disolvente. Algunos componentes de la formulación pueden realizar más de una función.

55 El polímero formador de película puede seleccionarse de polisacáridos naturales, proteínas o hidrocoloides sintéticos y está presente típicamente en el intervalo de 0,01 a 99% en peso, más típicamente en el intervalo de 30 a 80% en peso.

Otros ingredientes posibles de la película incluyen anti-oxidantes, agentes colorantes, aromatizantes y potenciadores del sabor, conservantes, agentes estimulantes de la saliva, agentes de enfriamiento, codisolventes (incluyendo aceites), emolientes, agentes para el aumento de volumen, agentes antiespumantes, agentes tensioactivos y enmascarantes del sabor.

- 5 Las películas según la invención se preparan típicamente mediante el secado por evaporación de películas acuosas finas recubiertas sobre un soporte o papel de respaldo despegable. Esto puede hacerse en un horno de secado o túnel, típicamente en un secador recubridor combinado, o por liofilización o secado al vacío.

Las formulaciones sólidas para administración oral pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o liberación modificada retrasada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

- 10 Las formulaciones de liberación modificada adecuadas para los propósitos de la invención se describen en el documento de patente de los Estados Unidos No. 6.106.864. Los detalles de otras tecnologías de liberación adecuadas tales como dispersiones de alta energía y partículas osmóticas y recubiertas se encuentran en Pharmaceutical Technology On-line, 25 (2), 1-14, por Verma *et al* (2001). El uso de goma de mascar para lograr la liberación controlada se describe en el documento de patente internacional WO-A-00/35298.

- 15 Los compuestos de la invención también pueden administrarse directamente en el torrente sanguíneo, en el músculo o en un órgano interno. Tal administración parenteral puede ser a través de la vía intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea. Los dispositivos adecuados para administración parenteral incluyen inyectores de aguja (incluyendo microagujas), inyectores sin aguja y técnicas de infusión.

- 20 Las formulaciones parenterales son típicamente soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes tamponantes (se prefiere un pH de 3 a 9), pero, para algunas aplicaciones, pueden formularse más adecuadamente como una solución no acuosa estéril o como, forma seca para ser utilizado en conjunción con un vehículo adecuado tal como agua estéril libre de pirógenos.

- 25 La preparación de formulaciones parenterales en condiciones estériles, por ejemplo, por liofilización, puede fácilmente llevarse a cabo usando técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.

- 30 Las formulaciones para administración parenteral pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o de liberación modificada. La liberación modificada incluye, liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada. Así, los compuestos de la invención pueden formularse como un sólido, semi-sólido o líquido tixotrópico para administración como un depósito implantado que proporciona liberación modificada del compuesto de la invención. Los ejemplos de tales formulaciones incluyen cánulas recubiertos de fármaco y microesferas de ácido poli(*D*-láctico-coglicólico) (PGLA).

- 35 Los compuestos de la invención también se pueden administrar por vía tópica a la piel o mucosa, es decir, por vía dérmica o transdérmica. Las formulaciones típicas para este propósito incluye geles, hidrogeles, lociones, soluciones, cremas, ungüentos, polvos de espolvoreo, apósitos, espumas, películas, parches cutáneos, obleas, implantes, esponjas, fibras, vendas y microemulsiones. Los liposomas también pueden ser utilizados. Los vehículos típicos incluyen alcohol, agua, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, glicerina, polietilenglicol y propilenglicol. Se pueden incorporar potenciadores de la penetración - véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci., 88 (10), 955-958, Finnin y Morgan (octubre de 1999). Otros medios de administración tópica incluyen administración por electroporación, iontoforesis, fonoforesis, sonoforesis e inyección con microaguja o sin aguja (por ejemplo Powderject™, Bioject™).

- 40 Las formulaciones para administración tópica pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Liberación modificada incluye retrasada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

- 45 Los compuestos de la invención también se pueden administrar por vía intranasal o por inhalación, típicamente en la forma de un polvo seco (tanto solo, como una mezcla, por ejemplo, en una mezcla seca con lactosa, o como una partícula de componente mezclado, por ejemplo, mezclado con fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina) desde un inhalador de polvo seco o como una pulverización de aerosol desde un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador (preferiblemente un atomizador que usa electrohidrodinámica para producir una niebla fina), o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor adecuado, tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano. Para uso intranasal, el polvo puede comprender un agente bioadhesivo, por ejemplo, quitosano o ciclodextrina.

- 50 El recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador contiene una solución o suspensión del compuesto de la invención que comprende, por ejemplo, etanol, etanol acuoso o un agente alternativo adecuado para dispersar, solubilizar o extender la liberación del principio activo, un propelente(s) como disolvente y un tensioactivo opcional, tal como trioleato de sorbitán, ácido oleico o un ácido oligoláctico.

- 55

Antes de su uso en una formulación de polvo seco o suspensión, el fármaco se microniza a un tamaño adecuado para el suministro por inhalación (típicamente menos de 5 micras). Esto puede conseguirse por cualquier método de trituración apropiado, tal como molienda de chorro en espiral, molienda de chorro en lecho fluido, procesamiento de fluido supercrítico para formar nanopartículas, homogeneización de alta presión o secado por pulverización.

5 Las cápsulas (hechas, por ejemplo, de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), ampollas y cartuchos para uso en un inhalador o insuflador se pueden formular para contener una mezcla en polvo del compuesto de la invención, una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón y un modificador del rendimiento tal como L-leucina, manitol o estearato de magnesio. La lactosa puede ser anhidra o en forma del monohidrato, preferiblemente el último. Otros excipientes adecuados incluyen dextrano, glucosa, maltosa, sorbitol, xilitol, fructosa, sacarosa y trehalosa.

10 Una formulación de solución adecuada para uso en un atomizador que usa electrohidrodinámica para producir una niebla fina puede contener de 1 µg a 20 mg del compuesto de la invención por actuación y el volumen de actuación puede variar de 1 µl a 100 µl. Una formulación típica puede comprender un compuesto de la invención, propilenglicol, agua estéril, etanol y cloruro sódico. Los disolventes alternativos que pueden usarse en lugar de propilenglicol incluyen glicerol y polietilenglicol.

15 Agentes saborizantes adecuados, tales como mentol y levomentol, o edulcorantes, tales como sacarina o sacarina sódica, pueden añadirse a las formulaciones de la invención destinadas para la administración por inhalación/intranasal.

Las formulaciones para administración por inhalación/intranasal pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada usando, por ejemplo, PGLA. La liberación modificada incluye retrasada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

20 En el caso de inhaladores de polvo seco y aerosoles, la unidad de dosificación se determina por medio de una válvula que suministra una cantidad medida. La dosis diaria total se puede administrar en una sola dosis o, más habitualmente, como dosis divididas durante todo el día.

25 Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía rectal o vaginal, en forma, por ejemplo, de un supositorio, pesario o enema. La manteca de cacao es una base de supositorio tradicional, pero varias alternativas se pueden utilizar según sea apropiado.

Las formulaciones para administración rectal/vaginal pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Liberación modificada incluye retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

30 Los compuestos de la invención también pueden administrarse directamente en el ojo o el oído, típicamente en forma de gotas de una suspensión micronizada o solución en solución salina estéril isotónica, de pH ajustado. Otras formulaciones adecuadas para administración ocular y aural incluyen ungüentos, implantes biodegradables (por ejemplo, esponjas de gel absorbibles, colágeno) y no biodegradables (por ejemplo, de silicona), obleas, lentes y sistemas particulados o vesiculares, tales como niosomas o liposomas. Un polímero tal como el ácido poliacrílico reticulado, alcohol polivinílico, ácido hialurónico, un polímero celulósico, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa o metilcelulosa o un polímero heteropolisacárido, por ejemplo, goma de gelan, se puede incorporar junto con un conservante, tal como cloruro de benzalconio. Tales formulaciones también pueden administrarse por iontoforesis.

35 Las formulaciones para administración ocular/aural pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o de liberación modificada. La liberación modificada incluye liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

40 Los compuestos de la invención se pueden combinar con una entidad macromolecular soluble, tal como una ciclodextrina o un derivado adecuado de la misma o un polímero que contiene polietilenglicol, con el fin de mejorar la solubilidad, velocidad de disolución, enmascaramiento del sabor, biodisponibilidad y/o estabilidad para su uso en cualquiera de los modos de administración mencionados anteriormente.

45 Se sabe que los complejos de ciclodextrina de fármacos, por ejemplo, son generalmente útiles para la mayoría de formas de dosificación y vías de administración. Tanto los complejos de inclusión como los de no inclusión pueden usarse. Como una alternativa a la complejación directa con el fármaco, la ciclodextrina puede usarse como aditivo auxiliar, es decir, como un vehículo, diluyente, o solubilizante. Lo más comúnmente utilizado para estos fines son alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas, ejemplos de los cuales se pueden encontrar en los documentos de patente internacional WO-A-91/11172, WO-A-94/02518 y WO-A-98/55148.

50 Para la administración a pacientes humanos, la dosis diaria total del compuesto de la invención estará típicamente en el intervalo de 0,01 mg/kg a 100 mg/kg dependiendo, por supuesto, del modo de administración. La dosis diaria total por sujeto por vía oral estará típicamente en el intervalo de 1 a 100 mg. La dosis diaria total se puede administrar como una dosis única o como dosis divididas y puede, a discreción del médico, caer fuera de los intervalos típicos que figuran en el presente documento.

55

Para evitar dudas, las referencias en este documento a "tratamiento" incluyen referencias a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

5 Un inhibidor de pan-caspasa (particularmente el ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-*terc*-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico, más particularmente una de las formas cristalinas de la presente invención) puede combinarse de manera útil con otro compuesto farmacológicamente activo, o con dos o más de otros compuestos farmacológicamente activos, en particular en el tratamiento de la fibrosis hepática. Por ejemplo, un inhibidor de este tipo se puede administrar simultánea, secuencial o por separado en combinación con uno o más agentes seleccionados de:

- Un agente antivírico tal como ribaviron o interferon;
- 10 • Un antagonista de CCR-5;
- un sensibilizador a la insulina como la metformina;
- un protector hepático tal como la vitamina E, pentoxifilina, betaína o ácido ursodesoxicólico;
- un agente reductor de lípidos, tales como accomplia, orlistat, fibratos o colestiramina;
- un inhibidor de la reductasa de la HMG-CoA como atorvastatina;
- 15 • una glitasona;
- un agente biológico tal como un anticuerpo anti-TNF $\alpha$  o un anticuerpo anti-MAcAM; y
- un inmunosupresor como ciclosporina o tacrolimus;

y, en su caso, las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 En la medida de lo que puede ser deseable para administrar una combinación de compuestos activos, está dentro del alcance de la presente invención que dos o más composiciones farmacéuticas, al menos una de las cuales contiene el compuesto de la invención, puedan combinarse convenientemente en la forma de un kit adecuado para la coadministración de las composiciones.

25 Tal kit comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de los cuales contiene el compuesto de la invención, y medios para retener por separado dichas composiciones, tales como un recipiente, botella dividida o paquete de aluminio dividido. Un ejemplo de tal kit es el envase blíster familiar usado para el envasado de comprimidos, cápsulas y similares.

30 Dicho kit es particularmente adecuado para administrar diferentes formas de dosificación, por ejemplo, formas de dosificación orales y parenterales, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para valorar las composiciones separadas una frente a la otra. Para ayudar al cumplimiento, el kit comprende típicamente instrucciones para la administración y puede estar provisto de una denominada ayuda de memoria.

## REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina del ácido (3S)-3-[N-(N'-(2-terc-butilfenil)oxamil)alaninil]amino-5-(2',3',5',6'-tetrafluorofenoxi)-4-oxopentanoico.
- 5 2. Una forma cristalina según la reivindicación 1, conocida como la Forma I, que comprende picos a 7,7, 14,1, 21,4, 26,6 y 29,4 grados dos theta ( $\pm 0,1$  grados) cuando se analiza por difracción de polvo de rayos X usando radiación de cobre K-alfa<sub>1</sub> (longitud de onda = 1,5406 Ångstroms).
3. Una forma cristalina según la reivindicación 1, conocida como la Forma II, que comprende picos a 14,5, 17,3, 22,5, 25,0 y 26,8 grados dos theta ( $\pm 0,1$  grados) cuando se analiza por difracción de polvo de rayos X usando radiación de cobre K-alfa<sub>1</sub> (longitud de onda = 1,5406 Ångstroms).
- 10 4. Una forma cristalina según la reivindicación 1, conocida como la Forma III, que comprende picos a 7,2 grados dos theta ( $\pm 0,1$  grados) cuando se analiza por difracción de polvo de rayos X usando radiación de cobre K-alfa<sub>1</sub> (longitud de onda = 1,5406 Ångstroms).
- 15 5. Una forma cristalina según la reivindicación 1, conocida como la Forma I, que comprende un pico a -141,9 ppm cuando se analiza por <sup>19</sup>F RMN de fase sólida utilizando una muestra de referencia externa de ácido trifluoroacético (50% volumen/volumen en agua) a -76,54 ppm.
6. Una forma cristalina según la reivindicación 1, conocida como la Forma II, que comprende un pico a -142,2 y -153,4 ppm cuando se analiza por <sup>19</sup>F RMN de fase sólida utilizando una muestra de referencia externa de ácido trifluoroacético (50% volumen/volumen en agua) a -76,54 ppm.
- 20 7. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina según la reivindicación 1, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
8. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina según la reivindicación 3, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
9. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina según la reivindicación 5, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 10. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina según la reivindicación 6, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, que comprende además una segunda sustancia farmacológicamente activa.
- 30 12. Una forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, para uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas, choque séptico, enfermedades respiratorias, afecciones inflamatorias, enfermedades isquémicas, enfermedades de base inmune, enfermedades autoinmunes, enfermedades óseas, la diabetes de tipo II (a través de la reducción de la resistencia a la insulina), enfermedades neurodegenerativas o para la repoblación de células hematopoyéticas después de la quimioterapia o la terapia de radiación o para prolongar la viabilidad del órgano para uso en trasplantes o para expandir o aumentar la supervivencia de una población de células in vitro, o en el tratamiento y
- 35 prevención de la fibrosis hepática.

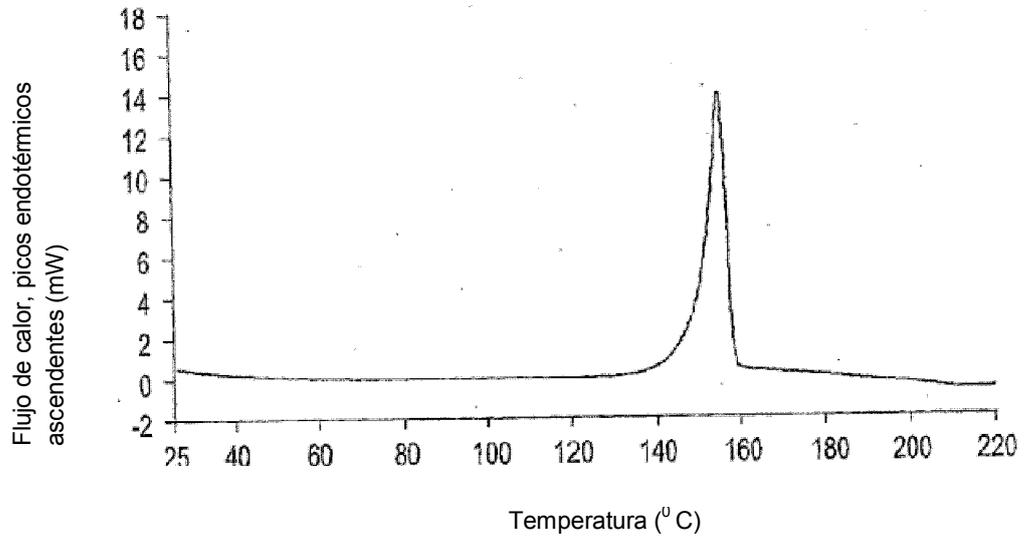


FIG. 1

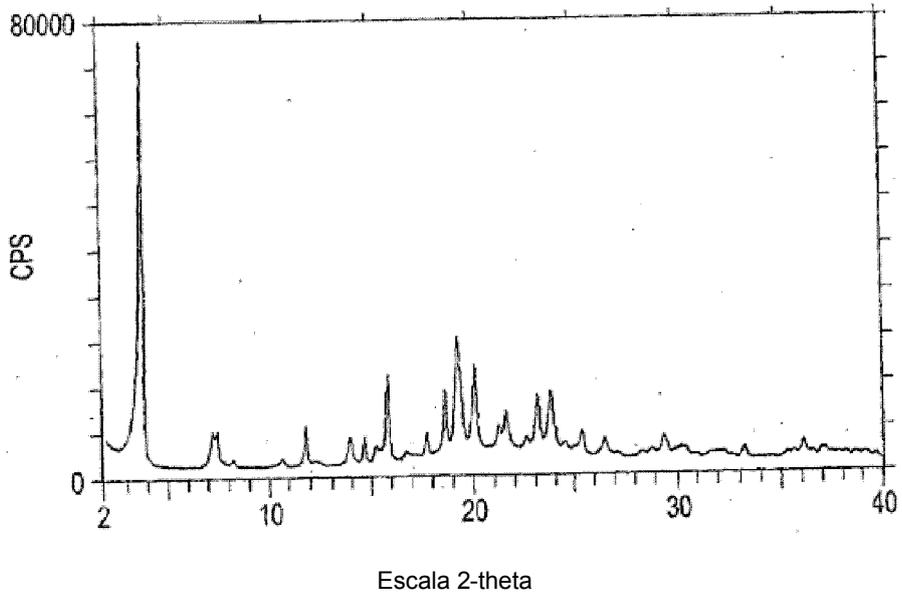
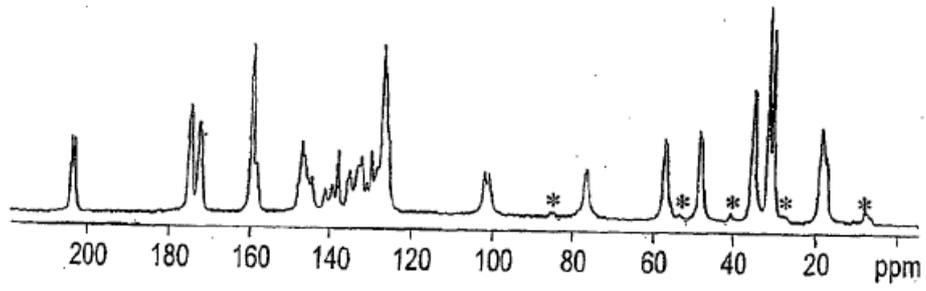
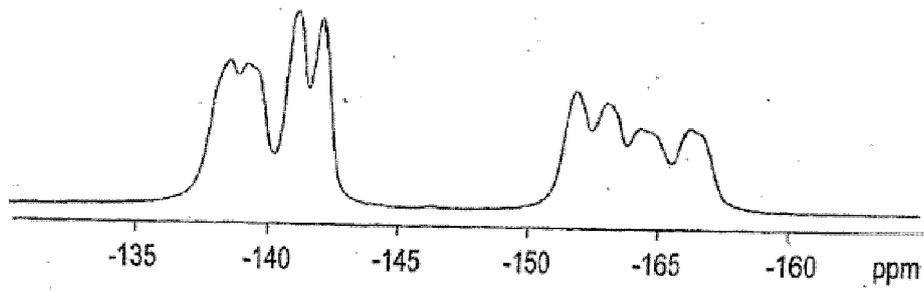


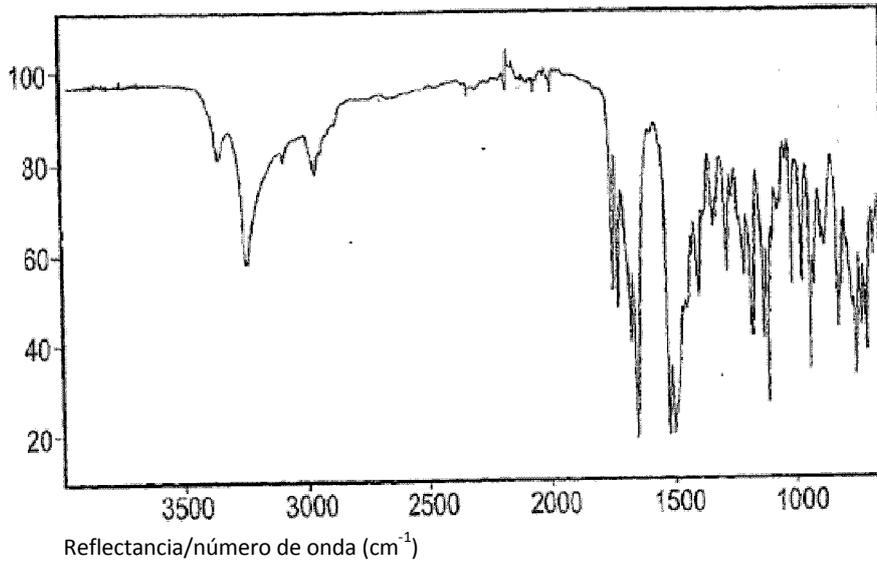
FIG. 2



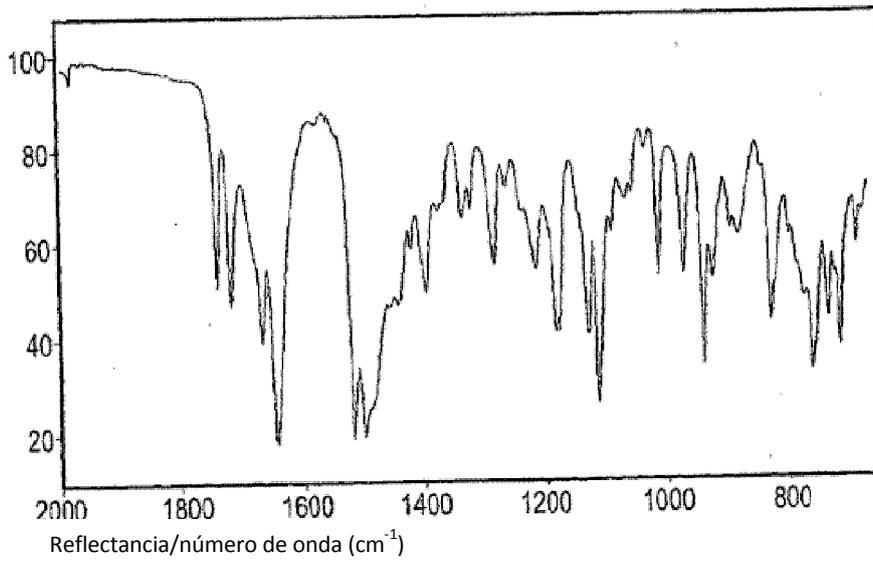
**FIG. 3**



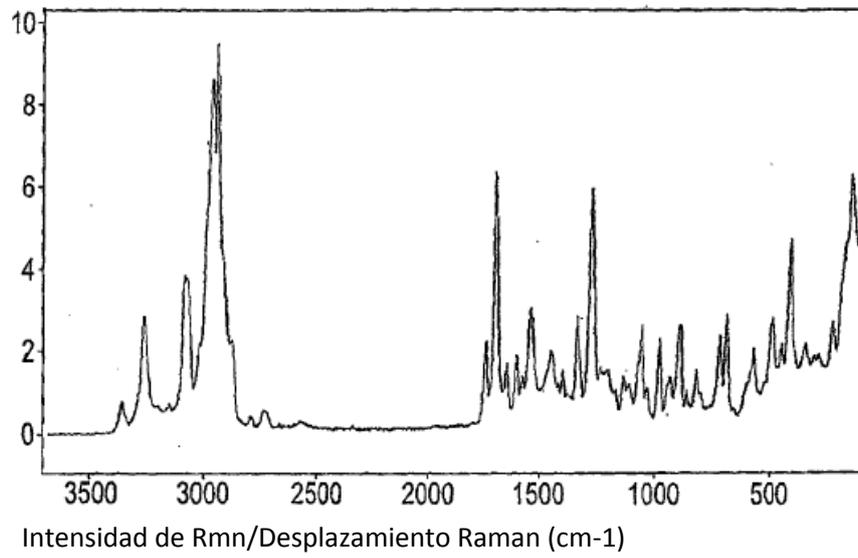
**FIG. 4**



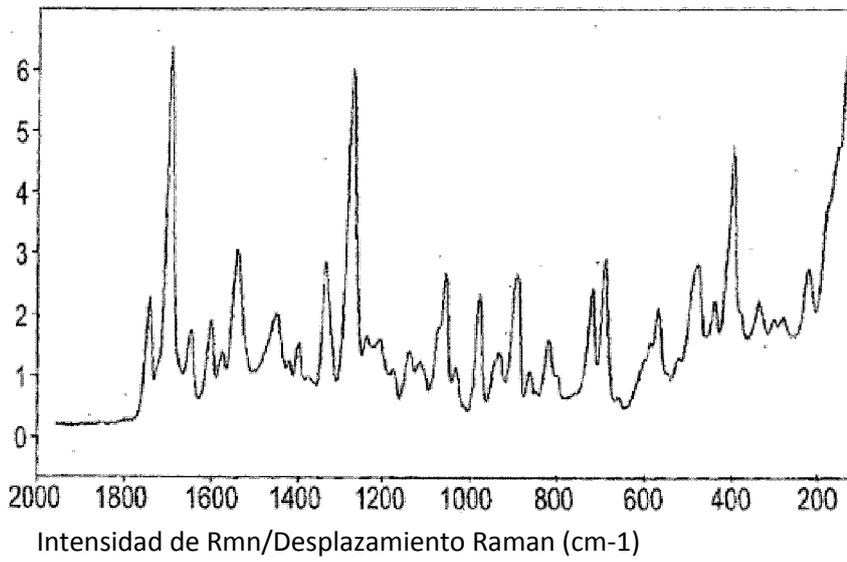
**FIG. 5A**



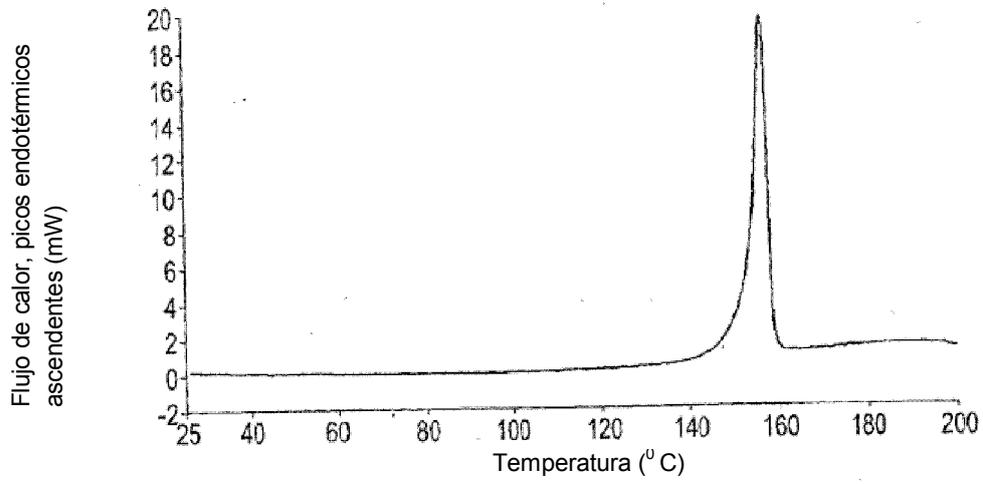
**FIG. 5B**



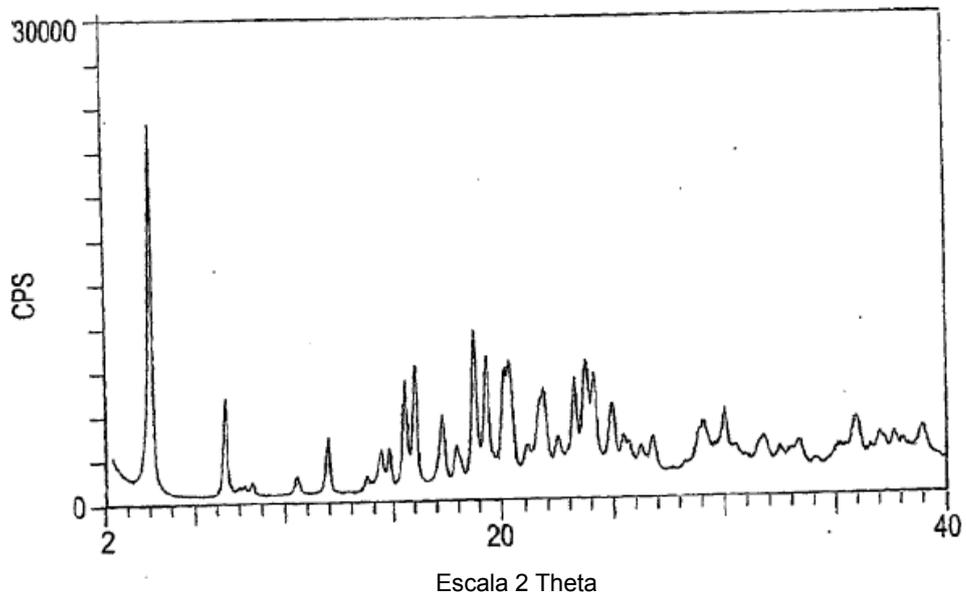
**FIG. 6A**



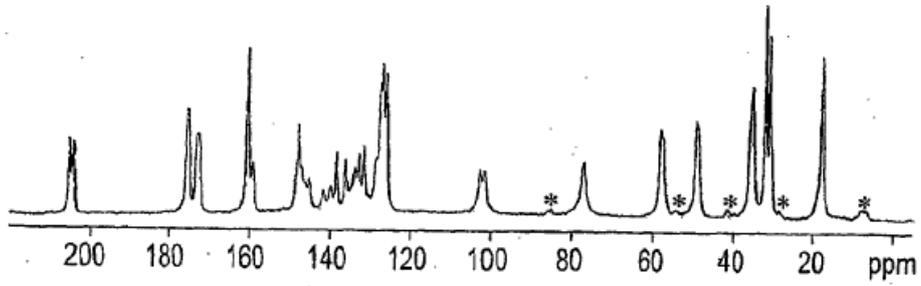
**FIG. 6B**



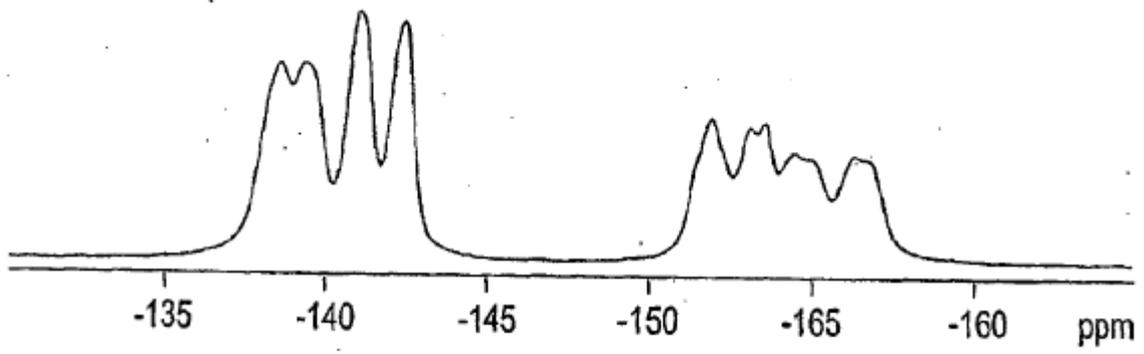
**FIG. 7**



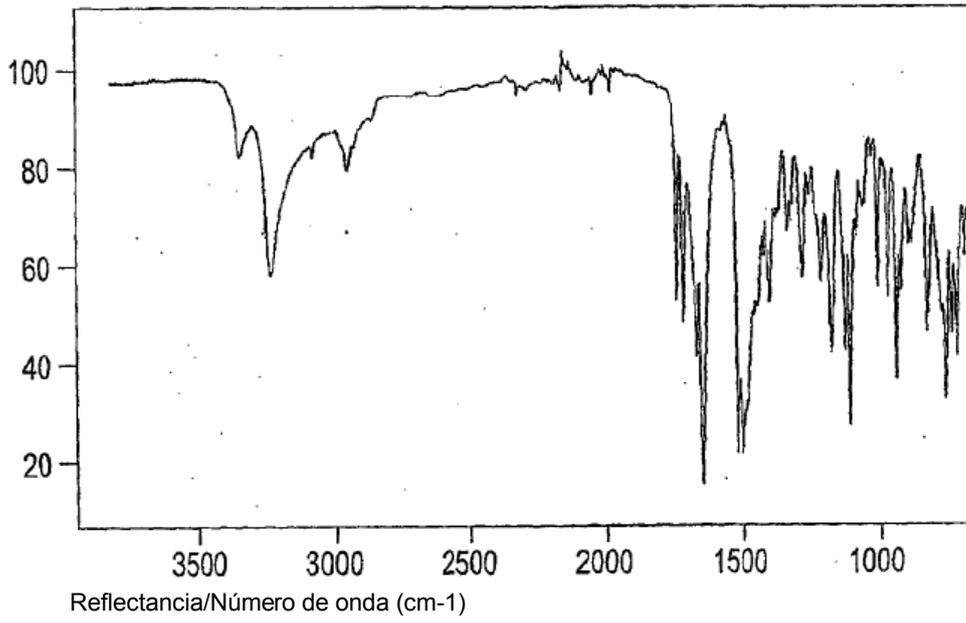
**FIG. 8**



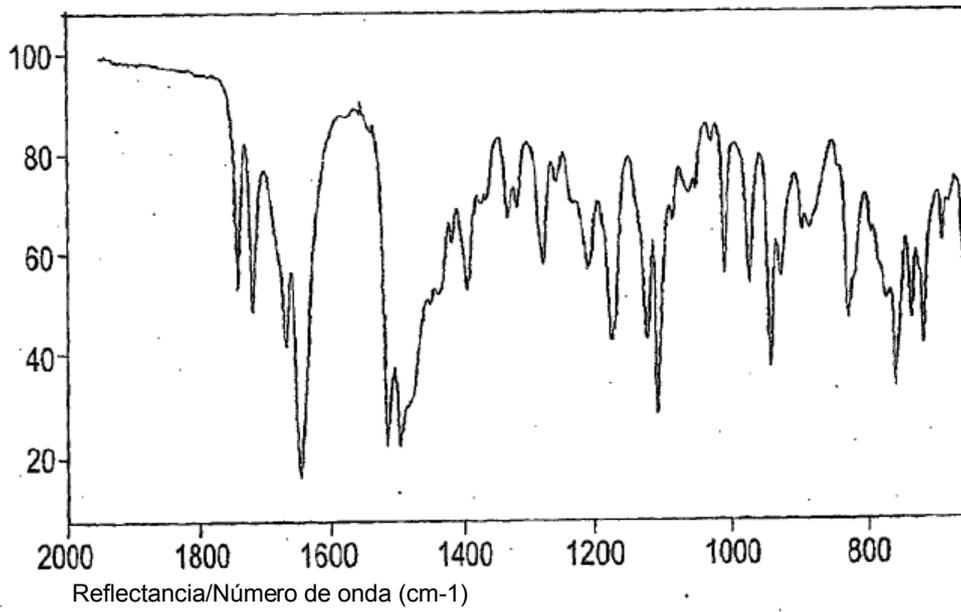
**FIG. 9**



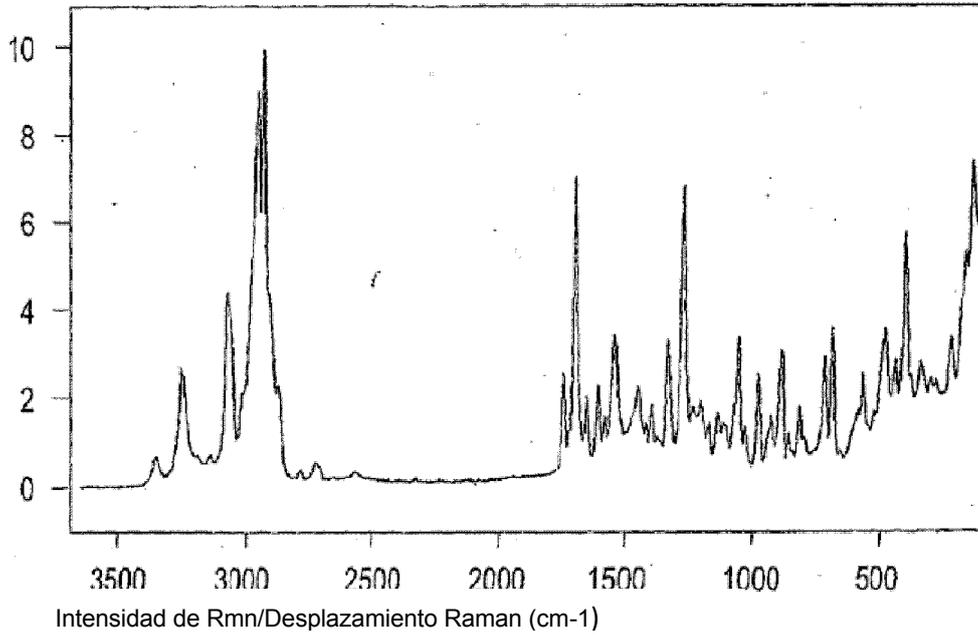
**FIG. 10**



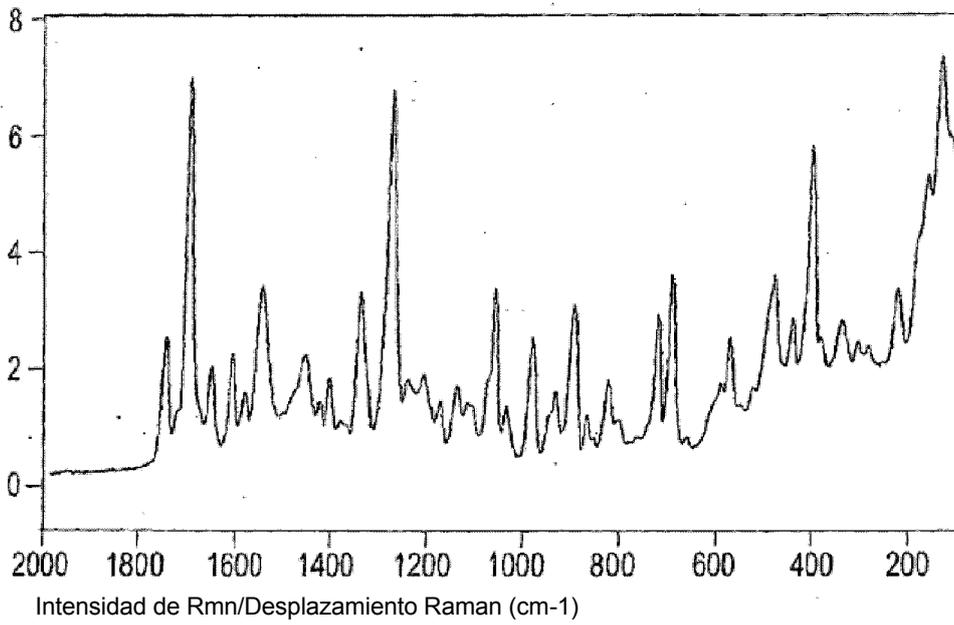
**FIG. 11A**



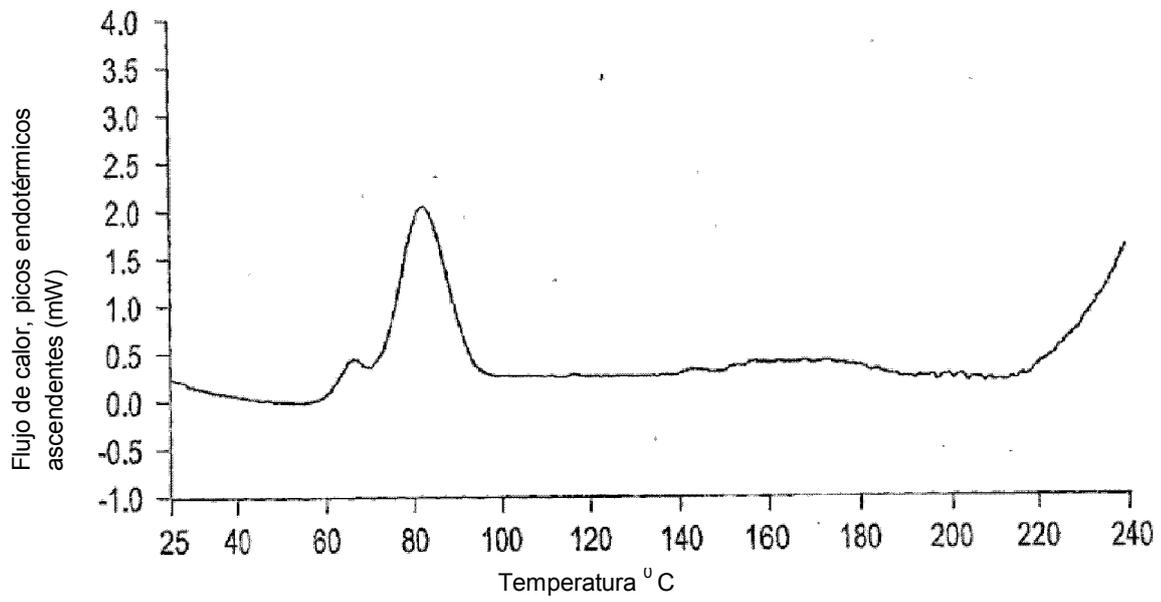
**FIG. 11B**



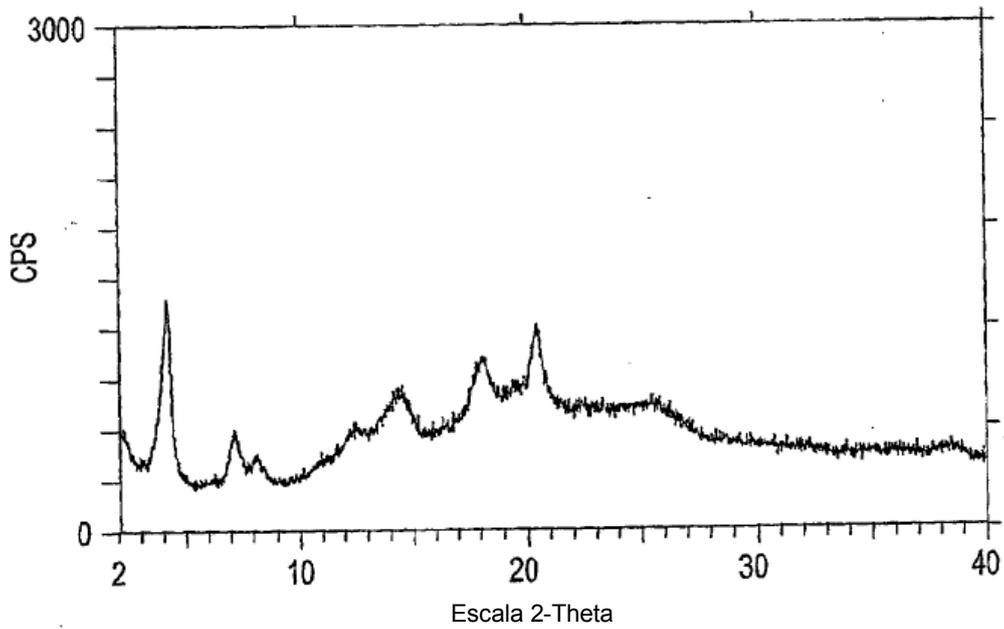
**FIG. 12A**



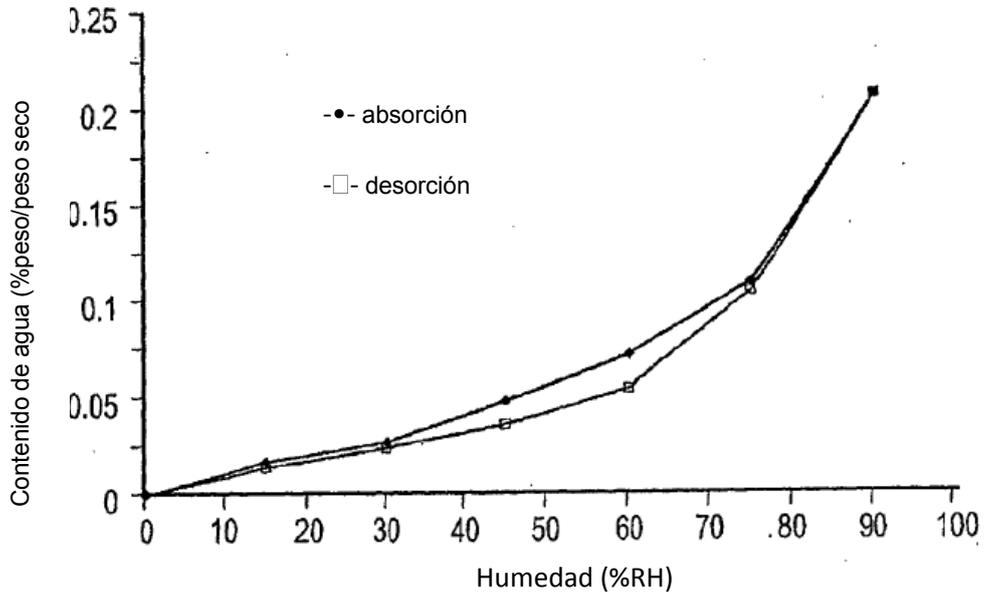
**FIG.12B**



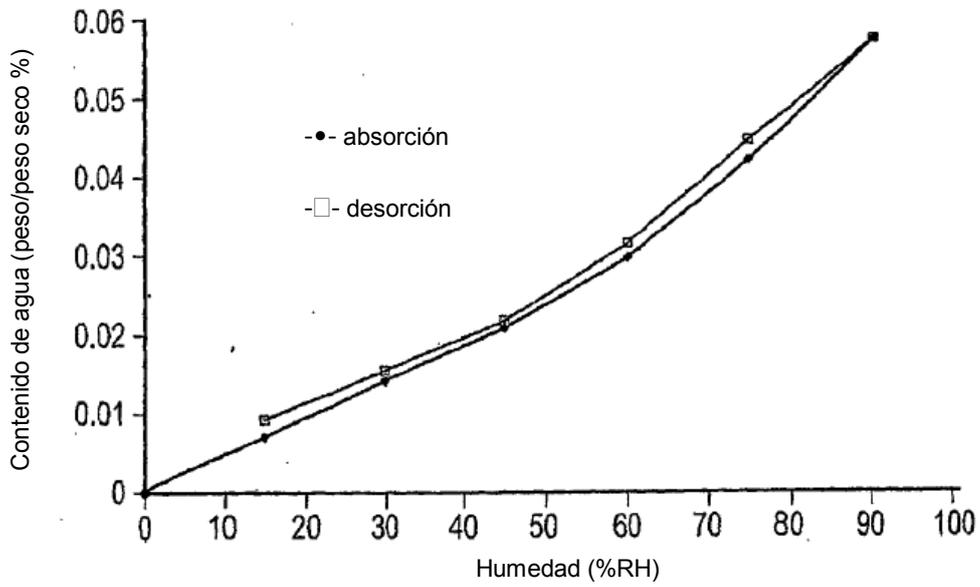
**FIG. 13**



**FIG. 14**



**FIG. 15**



**FIG. 16**