

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 080**

51 Int. Cl.:

C07D 243/24 (2006.01)

A61K 31/5513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2012** **E 12711102 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.01.2015** **EP 2688873**

54 Título: **Compuestos de bis(fluoroalquil)-1,4-benzodiazepinona**

30 Prioridad:

22.03.2011 US 201161466238 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2015

73 Titular/es:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543-4000, US

72 Inventor/es:

QUESNELLE, CLAUDE;
KIM, SOONG-HOON;
LEE, FRANCIS y
GAVAL, ASHVINIKUMAR

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 534 080 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

Compuestos de bis(fluroalquil)-1,4-benzodiazepinona

- 5 La presente invención se refiere, en general, a compuestos de benzodiazepinona útiles como inhibidores de Notch. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden, al menos, un compuesto de acuerdo con la invención que es útil para el tratamiento de afecciones relacionadas con la vía de Notch, tales como cáncer y otras enfermedades proliferativas.
- 10 La señalización de Notch está involucrada en una variedad de procesos celulares, tales como especificación, diferenciación, proliferación, apoptosis y angiogénesis del destino celular. (Bray, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7:678-689 (2006); Fortini, *Developmental Cell* 16:633-647 (2009)). Las proteínas Notch son moléculas transmembranales heterodiméricas de una sola pasada. La familia Notch incluye 4 receptores, NOTCH 1-4, que se activa en la unión a ligandos de la familia DSL (tipo Delta 1, 3, 4, y Dentado 1 y 2).
- 15 La activación y maduración de NOTCH requiere una serie de etapas de procesamiento, incluida una etapa de escisión proteolítica mediada por gamma secretasa, un complejo de multiproteínas que contiene Presenilina 1 o Presenilina 2, nicastrina, APH1 y PEN2. Cuando NOTCH se escinde, el dominio intracelular de NOTCH (NICD) se libera de la membrana. El NICD liberado se trasloca al núcleo, donde funciona como un activador transcripcional junto con los miembros de la familia CSL (RBPSUH, "supresor de hairless" y LAG1). Los genes diana de NOTCH incluyen miembros de la familia HES, tales como HES-1. HES-1 funciona como un represor transcripcional de genes, tales como HERP1 (también conocido como HEY2), HERP2 (también conocido como HEY1) y HATH1 (también conocido como ATOH1).
- 20 La activación aberrante de la vía de Notch contribuye con la tumorigénesis. La activación de la señalización de Notch está involucrada en la patogénesis de varios tumores sólidos, incluidos el de ovarios, páncreas y mama, y tumores hematológicos, tales como leucemias, linfomas y mieloma múltiple. La función de la inhibición de Notch y su utilidad en el tratamiento de varios tumores sólidos y hematológicos se describe en Miele, L. et al., *Current Cancer Drug Targets*, 6:313-323 (2006); Bolos, V. et al., *Endocrine Reviews*, 28:339-363 (2007); Shih, I.-M. et al., *Cancer Research*, 67:1879-1882 (2007); Yamaguchi, N. et al., *Cancer Research*, 68:1881-1888 (2008); Miele, L., *Expert Review Anti-cancer Therapy*, 8:1197-1201 (2008); Purow, B., *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10:154-160 (2009); Nefedova, Y. et al., *Drug Resistance Updates*, 11:210-218 (2008); Dufraine, J. et al., *Oncogene*, 27:5132-5137 (2008); and Jun, H.T. et al., *Drug Development Research*, 69:319-328 (2008).
- 30 Continúa existiendo la necesidad de obtener compuestos que sean útiles como inhibidores de Notch y que tengan una suficiente estabilidad metabólica para proporcionar niveles eficaces de exposición al fármaco. Además, continúa existiendo la necesidad de obtener compuestos útiles como inhibidores de Notch que se puedan administrar al paciente en forma oral o intravenosa.
- 40 La patente estadounidense Nº 7.053.084 B1 describe compuestos de succinoilamino benzodiazepina útiles para tratar trastornos neurológicos, tales como la enfermedad de Alzheimer. La referencia describe que estos compuestos de succinoilamino benzodiazepina inhiben la actividad gamma secretasa y el procesamiento de la proteína precursora de amiloide vinculada a la formación de depósitos neurológicos de proteína amiloide. La referencia no describe el uso de estos compuestos en el tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como el cáncer.
- 45 El documento WO 97/36879 y la patente de Estados Unidos Nº 5 852 010 desvelan compuestos de benzodiazepinona sustituidos que inhiben la proteína farnesil-transferasa (FTasa) y la farnesilación de la proteína del oncogén Ras. Estas referencias desvelan adicionalmente composiciones quimioterapéuticas que contienen estos compuestos de benzodiazepinona sustituidos y métodos para inhibir la proteína farnesil-transferasa y la farnesilación de la proteína del oncogén Ras.
- 50 Los solicitantes descubrieron compuestos potentes que tienen actividad como inhibidores de Notch y suficiente estabilidad metabólica para brindar niveles eficaces de exposición al fármaco con la administración oral o intravenosa. Estos compuestos se proporcionan para ser útiles como compuestos farmacéuticos con valores deseables de estabilidad, biodisponibilidad, índice terapéutico y toxicidad que son importantes para su accesibilidad a fármacos.

Sumario de la invención

- 60 La presente invención satisface la necesidad anterior, dado que proporciona compuestos de bis(fluroalquil)-1,4-benzodiazepinona que son útiles como inhibidores selectivos de la vía de señalización de Notch.
- La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico; y al menos un compuesto de Fórmula (I).

65

La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar una enfermedad o trastorno relacionado con la actividad del receptor Notch.

La presente invención también proporciona procesos e intermedios para fabricar los compuestos de Fórmula (I).

La presente invención también proporciona los compuestos de Fórmula (I), para usar en la terapia.

La presente invención también proporciona el uso de los compuestos de Fórmula (I), para fabricar un medicamento para el tratamiento del cáncer.

Los compuestos de Fórmula (I) y las composiciones que comprenden los compuestos son inhibidores de Notch; se pueden usar en el tratamiento, la prevención o la curación de varias afecciones relacionadas con el receptor Notch. Las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos son útiles en el tratamiento, la prevención o el enlentecimiento de la progresión de las enfermedades o trastornos en una variedad de áreas terapéuticas, como el cáncer.

Se expondrán en forma amplia estas y otras características de la invención en toda la descripción.

Breve descripción de los dibujos

La invención se ilustra con referencia a los dibujos que la acompañan y que se describen a continuación.

La Figura 1 muestra los patrones PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) experimentales (aproximadamente a 25 °C) y simulados (aproximadamente a 25 °C) de la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 1.

La Figura 2 muestra los patrones PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) experimentales (aproximadamente a 25 °C) y simulados (aproximadamente a 25 °C) de la Forma A-2 del compuesto del Ejemplo 1.

La Figura 3 muestra los patrones PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) experimentales (aproximadamente a 25 °C) y simulados (aproximadamente a 25 °C) de la Forma EA-3 del compuesto del Ejemplo 1.

La Figura 4 muestra los patrones PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) experimentales (aproximadamente a 25 °C) y simulados (aproximadamente a 50 °C) de la Forma THF-2 del compuesto del Ejemplo 1.

La Figura 5 muestra los patrones PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) experimentales (aproximadamente a 25 °C) y simulados (aproximadamente a 25 °C) de la Forma M2-1 del compuesto del Ejemplo 2.

La Figura 6 muestra la eficacia antitumoral del Ejemplo 1 contra la leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T humana TALL1. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) Control; (■) Ejemplo 1, 5 mg/kg/adm, QD x 3, IV.

La Figura 7 muestra la actividad antitumoral *in vivo* del Ejemplo 2 en la línea celular TALL1 de leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (Δ) Ejemplo 2, 12 mg/kg, QD x 15; (■) Ejemplo 2, 6 mg/kg, QD x 15; (□) Ejemplo 2, 3 mg/kg, QD x 15; (▲) Ejemplo 2, 1,5 mg/kg, QD x 15; (o) Ejemplo 2, 0,75 mg/kg, QD x 15.

La Figura 8 muestra la actividad antitumoral *in vivo* del Ejemplo 2 en la línea celular MDA-MB-157 del carcinoma de mama humano. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (o) control; (▲) Ejemplo 2, 24 mg/kg; (■) Ejemplo 2, 18 mg/kg; (●) Ejemplo 2, 12 mg/kg.

La Figura 9 muestra la eficacia antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y dasatinib en la leucemia linfoblástica de linfocitos T ALL-SIL. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (◆) Ejemplo 1, 3,75 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO; (■) dasatinib, 10 mg/kg/adm, QD x 49, PO; (□) Ejemplo 1, 3,75 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO + dasatinib 10 mg/kg/adm, QD x 49, PO. Cuando se administraron el mismo día, los dos agentes se administraron prácticamente de manera simultánea (en el Ejemplo 1, dasatinib se administró menos de 1 h antes).

La Figura 10 muestra la eficacia antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y dasatinib en la leucemia linfoblástica de linfocitos T ALL-SIL. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (◆) Ejemplo 1, 7,5 mg/kg/adm QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO; (■) dasatinib, 10 mg/kg/adm, QD x 49, PO; (□) Ejemplo 1, 7,5 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO + dasatinib 10 mg/kg/adm, QD x 49, PO. Cuando se administraron el mismo día, los dos agentes se administraron prácticamente de manera simultánea (en el Ejemplo 1, dasatinib se administró menos de 1 h antes).

La Figura 11 muestra la eficacia antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y Paclitaxel en el carcinoma de mama humano MDA-MB-468. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (◆) Paclitaxel, 12 mg/kg/adm, Q7D x 6, IV; (▲) Ejemplo 1, 3,75 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO; (□) Combinación del Ejemplo 1 y Paclitaxel.

La Figura 12 muestra la eficacia antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y Paclitaxel en el carcinoma de mama humano MDA-MB-468. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (◆) Paclitaxel, 12 mg/kg/adm, Q7D x 6, IV; (▲) Ejemplo 1, 7,5 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 7 semanas, PO; (□) Combinación del Ejemplo 1 y Paclitaxel.

La Figura 13 muestra la actividad antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y

Tamoxifen en el carcinoma de mama humano MCF7. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (■) Tamoxifen, 20 mg/kg/adm, Q2D x 12, IP; (◆) Ejemplo 1, 3,75 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 3 semanas, PO; (□) Combinación del Ejemplo 1 y Tamoxifen.

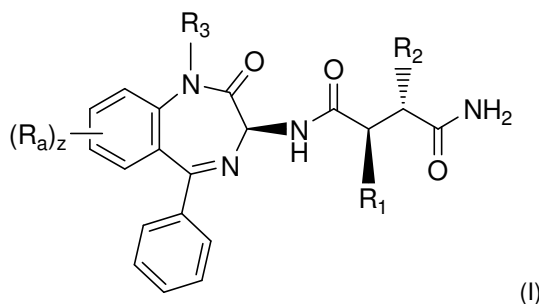
La Figura 14 muestra la actividad antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y Tamoxifen en el carcinoma de mama humano MCF7. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (■) Tamoxifen, 20 mg/kg/adm, Q2D x 12, IP; (◆) Ejemplo 1, 7,5 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 3 semanas, PO; (□) Combinación del Ejemplo 1 y Tamoxifen.

La Figura 15 muestra la actividad antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y dexametasona (Dexa) en xenoinjertos de leucemia T-ALL humana HPB-ALL. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 6-8 ratones. (●) control; (◆) dexametasona, 7,5 mg/kg/adm, QD x 14, IP; (□) Ejemplo 1, 3,75 mg/kg/adm, QD x 3, por semana durante 3 semanas, PO; (□) Combinación del Ejemplo 1 y dexametasona.

La Figura 16 muestra la eficacia antitumoral sinérgica mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y carboplatino en teratocarcinoma de ovario humano PA-1. Cada símbolo representa la carga tumoral mediana de un grupo de 8 ratones. (●) control; (□) carboplatino, 90 mg/kg/adm, Q7D x 3, IV; (□) Ejemplo 1, 1 mg/kg/adm, QD x 21, PO; (◆) Combinación del Ejemplo 1 y carboplatino.

Descripción detallada

En un primer aspecto, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (I)



en donde:

R₁ es -CH₂CF₃ o -CH₂CH₂CF₃;

R₂ es -CH₂CF₃, -CH₂CH₂CF₃ o -CH₂CH₂CH₂CF₃;

R₃ es H, -CH₃, -CD₃, -CHD₂, o -CH₂D;

cada R_a es, independientemente, F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃; y z es 0, 1 o 2.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₁ es -CH₂CF₃; y R₂, R₃, R_a, y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₂ es -CH₂CF₃ o -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃; y R₂, R₃, R_a y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₂ es -CH₂CF₃ o -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₂ es -CH₂CF₃; y R₁, R₃, R_a, y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₂ es -CH₂CH₂CF₃; y R₁, R₃, R_a, y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₂ es -CH₂CH₂CH₂CF₃; y R₁, R₃, R_a y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₃ es H; y R₁, R₂, R_a y z se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃, y R₂ es -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R₃ es -CH₃; y R₁, R₂, R_a y z se definen en el primer aspecto. R₃ incluye grupos de metilo en donde uno o más átomos de hidrógeno se sustituyen de manera isotópica con deuterio (D). En un ejemplo de esta forma de realización, R₃ es -CD₃. Asimismo, en esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R₁ es -CH₂CH₂CF₃, y R₂ es -CH₂CH₂CF₃.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde z es 2, y cada R_a es, independientemente, F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃; y R_1 , R_2 y R_3 se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃, y R_2 es -CH₂CH₂CF₃.

- 5 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde z es 1 y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃ o -NHCH₂CH₂OCH₃; y R_1 , R_2 y R_3 se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃, y R_2 es -CH₂CH₂CF₃.

- 10 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde z es cero; y R_1 , R_2 y R_3 se definen en el primer aspecto. En esta forma de realización, se incluyen compuestos en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃, y R_2 es -CH₂CF₃ o -CH₂CH₂CF₃.

- 15 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

- Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

- 20 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

- 25 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

- 30 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; y z es 0.

- Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

- 35 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃, y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

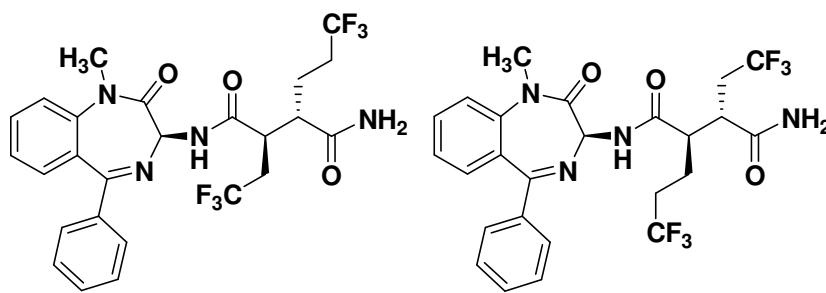
Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃, y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

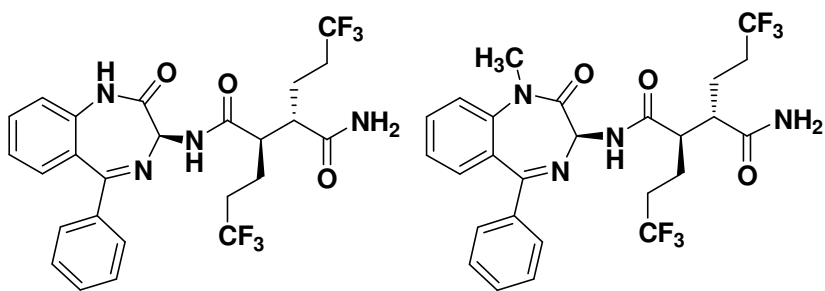
- 40 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

- 45 Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

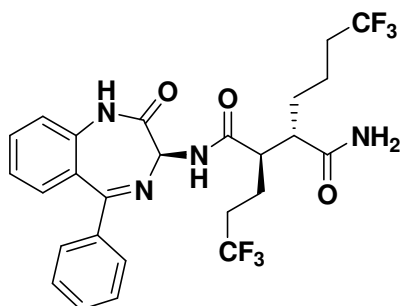
- Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), en donde R_1 es -CH₂CH₂CF₃; R_2 es -CH₂CH₂CH₂CF₃; R_3 es H o -CH₃; z es 1; y R_a es F, Cl, -CN, -OCH₃ y/o -NHCH₂CH₂OCH₃.

- 50 Una forma de realización proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionados de:



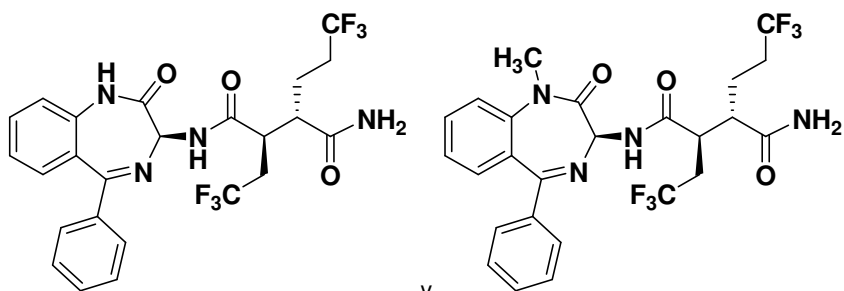


y



5

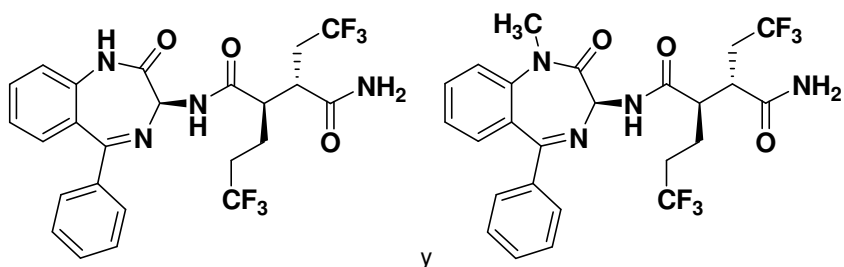
Una forma de realización proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionados de:



y

10

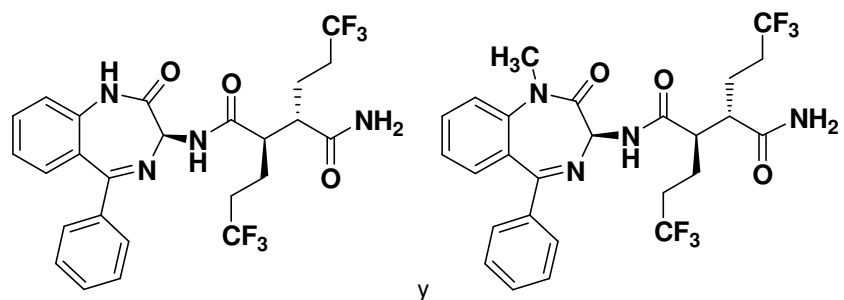
Una forma de realización proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionados de:



y

Una forma de realización proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionados de:

15



y

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) seleccionado de: (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (1); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (2); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2-(2,2,2-trifluoroetil)-3-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (3); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(2,2,2-trifluoroetil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (4); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-(²H₃)metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (5); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-7-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (6); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (7); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (8); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-7-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (9); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-7-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (10); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (11); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (12); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (13); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-7-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (14); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-ciano-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (15); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8,9-dicloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (16); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-9-fluoro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (17); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-9-cloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (18); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (19); (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (20); y (2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-9-((2-metoxietil)amino)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (21).

La presente invención se puede realizar en otras formas específicas. Esta invención abarca todas las combinaciones de los aspectos y/o formas de realización de la invención expuestas en la presente. Cabe destacar que todas las formas de realización de la presente invención pueden tomarse en conjunto con cualquier otra forma de realización, a fin de describir la adición de más formas de realización. Asimismo, cabe destacar que cada elemento individual de las formas de realización tiene como fin que se lo combine con cualquier otro elemento de cualquiera de las formas de realización para describir una forma de realización adicional.

Definiciones

Las características y ventajas de la invención pueden comprenderlas con más facilidad los expertos en la técnica mediante la lectura de la siguiente descripción detallada. Debe tenerse en cuenta que ciertas características de la invención que, a fin de que resulten más claras, se describen más atrás y más adelante en el contexto de formas de realización separadas, también pueden combinarse para formar una sola forma de realización. Por otra parte, varias características de la invención que, a fin de expresar brevedad, se describen en el contexto de una sola forma de realización, también se pueden combinar, a fin de formar subcombinaciones de estas. Las formas de realización identificadas en la presente como de ejemplo o de preferencia tienen como objetivo ser ilustrativas y no taxativas.

A menos que, en la presente, se establezca específicamente lo contrario, las referencias en singular también pueden incluir el plural. Por ejemplo, "un" puede referirse a uno o más de uno.

A menos que se indique lo contrario, debe asumirse que cualquier heteroátomo con valencias insatisfechas tiene suficientes átomos de hidrógeno como para satisfacer las valencias.

A continuación, se enumeran definiciones sobre varios términos usados para describir la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos como se usan en toda la memoria descriptiva (a menos que se limiten en momentos específicos), ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

En toda la memoria descriptiva, el experto en la técnica puede elegir los grupos y sus sustituyentes, para proporcionar compuestos y restos estables.

De acuerdo con una convención usada en la técnica,



se usa en fórmulas estructurales en la presente para representar el enlace que es el punto de unión del resto o el sustituyente con la estructura principal o núcleo.

La frase "aceptable desde el punto de vista farmacéutico" se emplea en la presente para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico

sensato, son adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica ni otros problemas o complicaciones proporcionales con una relación riesgo/beneficio razonable.

- 5 Los compuestos de Fórmula (I) pueden proporcionarse como sólidos amorfos o sólidos cristalinos. Puede emplearse la liofilización para proporcionar los compuestos de Fórmula (I) como un sólido.

Además, los compuestos de Fórmula (I), después de la preparación, preferentemente, se aíslan y se purifican para obtener una composición que contiene una cantidad en peso igual o superior a 99 % de un compuesto de Fórmula (I) ("considerablemente puro"), que luego se usa o se formula como se describe en la presente. Tales compuestos "considerablemente puros" de la Fórmula (I) también se contemplan en la presente como parte de la presente invención.

15 Las expresiones "compuesto estable" y "estructura estable" se refieren a un compuesto que es lo suficientemente potente para sobrevivir al aislamiento a un grado útil de pureza de una mezcla de reacción, y a la formulación en un agente terapéutico eficaz. La presente invención pretende comprender compuestos estables.

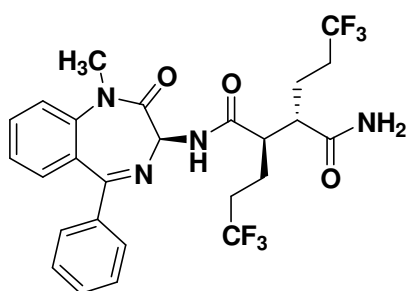
La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende incluir una cantidad de un compuesto de la presente invención solo, una cantidad de la combinación de compuestos reivindicados o una cantidad de un compuesto de la presente invención en combinación con otros ingredientes activos eficaces para actuar como inhibidores de un receptor NOTCH, o eficaces para tratar o prevenir enfermedades proliferativas, tales como el cáncer.

25 Como se usan en la presente, "tratar" o "tratamiento" abarcan el tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente, en un ser humano, e incluyen: (a) evitar que ocurra la enfermedad en un mamífero, en particular, cuando el mamífero tiene predisposición a la enfermedad, pero aún no se le ha diagnosticado; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo y/o (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

30 Los compuestos de la presente invención pretenden incluir todos los isótopos de átomos que se producen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. A fin de brindar ejemplos generales y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio (D) y tritio (T). Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Por lo general, los compuestos de la invención rotulados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los que se describen en la presente, usando un reactivo adecuado rotulado de manera isotópica en lugar de un reactivo no rotulado.

Formas cristalinas del Compuesto del Ejemplo 1

40 En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 1



45 se proporciona como un material cristalino que comprende una o más formas cristalinas. Los ejemplos de las formas cristalinas adecuadas del compuesto del Ejemplo 1 incluyen las Formas N-1, A-2 y EA-3.

En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 1 se proporciona como un material cristalino que comprende la primera forma cristalina. Una primera forma cristalina del compuesto del Ejemplo 1 comprende una forma cristalina pura que, en la presente, se denomina "Forma N-1" o "N-1 Forma".

50 En una forma de realización, la N-1 Forma del compuesto del Ejemplo 1 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

55 $a = 9,41 \text{ \AA}$
 $b = 17,74 \text{ \AA}$

$c = 31,94 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 98,4^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 1/unidad asimétrica: 4

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $659 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,402 \text{ g/cm}^3$,

en donde los parámetros de celda unitaria de la Forma N-1 se miden a una temperatura de alrededor de -10°C .

En otra forma de realización, la N-1 Forma del compuesto del Ejemplo 1 se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) simulado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 1 y/o por un patrón PXRD observado considerablemente de acuerdo con el patrón PXRD de la Figura 1

Aun en otra forma de realización, la N-1 Forma del compuesto del Ejemplo 1 se caracteriza por un patrón PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ a una temperatura de alrededor de 25°C) que comprende cuatro o más, preferentemente, cinco o más, valores 2θ seleccionados de: $5,7 \pm 0,2$, $7,5 \pm 0,2$, $10,3 \pm 0,2$, $10,7 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $16,8 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$ y $20,7 \pm 0,2$, en donde el patrón PXRD de la Forma N-1 se mide a una temperatura de alrededor de 20°C .

Aun en otra forma de realización, la N-1 Forma del Ejemplo 1 se caracteriza por coordenadas atómicas fraccionarias considerablemente como se enumera en la Tabla 1.

Tabla 1

Coordenadas atómicas fraccionarias de la Forma N-1 del Ejemplo 1 calculadas a una temperatura de alrededor de 25°C ; coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)				
	x	y	z	U(eq)
N(7)	10824(5)	7415(3)	1732(1)	39(1)
N(3)	4985(5)	565(2)	1293(1)	33(1)
O(3)	7152(4)	45(2)	1509(1)	45(1)
N(8)	9981(6)	10557(3)	1329(2)	60(2)
O(7)	12033(5)	10000(2)	1229(1)	55(1)
O(6)	8697(5)	7992(2)	1768(1)	53(1)
F(4)	11039(5)	8541(3)	79(1)	76(1)
C(17)	5836(7)	8(3)	1469(1)	30(1)
N(11)	3979(5)	1500(3)	3735(1)	35(1)
N(2)	5338(6)	2530(3)	994(1)	41(1)
C(8)	7012(6)	1237(3)	77(2)	35(1)
N(15)	9277(5)	4606(3)	3230(1)	37(1)
C(39)	9990(7)	8020(3)	1739(2)	36(1)
O(2)	3365(5)	1827(2)	1076(1)	49(1)
N(6)	10513(6)	5383(3)	1910(2)	46(1)
C(41)	10028(6)	9204(3)	1300(2)	36(1)
C(18)	5094(6)	-692(3)	1616(2)	33(1)
C(22)	5502(6)	-1369(3)	1360(2)	34(1)
C(23)	4828(7)	-2081(3)	1501(2)	35(1)
C(2)	6832(7)	2584(3)	978(2)	44(2)
C(14)	5639(7)	1198(3)	1113(2)	37(1)
C(36)	10130(7)	6682(3)	1698(2)	37(1)
C(15)	4647(7)	1875(3)	1071(2)	37(1)
O(14)	3524(5)	-2130(3)	1484(2)	63(1)
O(9)	5867(5)	1970(2)	3461(1)	46(1)
C(64)	4608(7)	2008(3)	3517(2)	35(1)
C(49)	7025(7)	893(4)	5004(2)	47(2)
O(12)	7212(5)	3943(2)	3143(1)	57(1)
F(5)	8960(5)	8082(2)	93(1)	73(1)
C(33)	8030(8)	6274(4)	-21(2)	55(2)
N(5)	9704(5)	6528(3)	1249(1)	36(1)
C(42)	10783(8)	9965(4)	1287(2)	46(2)
O(5)	12472(5)	6155(3)	1945(1)	62(1)
C(37)	11163(8)	6062(4)	1872(2)	46(2)
F(7)	9290(6)	2987(3)	5202(1)	94(2)
C(65)	3707(6)	2688(3)	3341(2)	33(1)

ES 2 534 080 T3

N(4)	5716(6)	-2636(3)	1628(2)	53(1)
C(7)	6778(6)	1429(3)	518(2)	34(1)
O(8)	2612(5)	231(2)	3943(1)	53(1)
O(11)	10584(6)	5864(3)	3001(1)	61(1)
C(89)	8963(6)	2807(3)	3658(2)	41(1)
C(70)	4269(7)	3355(4)	4041(2)	47(2)
N(13)	8438(5)	5493(3)	3689(1)	37(1)
C(20)	5588(7)	-808(3)	2089(2)	38(1)
C(85)	9369(8)	5946(4)	3070(2)	46(2)
N(14)	8611(7)	6593(3)	3016(2)	55(1)
N(16)	8948(7)	1437(3)	3656(2)	68(2)
N(9)	5416(5)	1109(3)	4375(1)	37(1)
C(71)	4930(8)	4055(3)	4280(2)	51(2)
N(12)	4314(6)	4592(3)	3189(2)	68(2)
C(1)	7546(7)	2068(3)	746(2)	41(2)
O(13)	11084(5)	2050(3)	3796(2)	67(1)
C(73)	7471(7)	6206(4)	4209(2)	46(2)
C(6)	9033(7)	2147(4)	744(2)	51(2)
C(88)	9391(7)	3239(3)	3270(2)	44(2)
C(40)	10716(7)	8794(3)	1708(2)	41(1)
C(54)	7871(7)	381(4)	5261(2)	47(2)
C(67)	3574(8)	4095(4)	3382(2)	51(2)
F(6)	8838(6)	3995(2)	4842(1)	84(1)
C(79)	7137(9)	6649(4)	3054(2)	56(2)
C(24)	8991(7)	5283(3)	1841(2)	45(2)
C(31)	8282(6)	5837(3)	703(2)	37(1)
C(47)	9570(7)	9167(4)	501(2)	46(2)
C(63)	4839(6)	898(3)	3940(2)	34(1)
C(90)	9762(7)	2060(3)	3707(2)	45(2)
C(55)	6443(6)	715(3)	4559(2)	39(1)
C(68)	3723(8)	2732(4)	2864(2)	60(2)
C(59)	8345(10)	-1056(5)	3924(2)	70(2)
C(75)	7821(8)	5880(5)	4945(2)	68(2)
C(32)	8425(7)	6417(3)	405(2)	50(2)
O(10)	2312(5)	4203(3)	3420(2)	75(2)
C(48)	9694(8)	8740(4)	112(2)	57(2)
N(10)	4682(6)	-430(3)	4071(1)	46(1)
C(60)	9196(10)	-525(5)	4132(3)	78(3)
C(72)	7560(6)	5996(3)	3766(2)	38(1)
C(11)	7228(8)	906(5)	-774(2)	65(2)
C(95)	9510(8)	3334(4)	4845(2)	56(2)
C(86)	8534(6)	5301(3)	3249(2)	36(1)
C(16)	4463(10)	3237(4)	980(2)	75(3)
C(62)	3917(7)	205(4)	3981(2)	43(2)
C(46)	10181(7)	8747(4)	901(2)	44(2)
C(57)	6210(8)	-445(3)	4106(2)	51(2)
C(30)	8759(6)	5995(3)	1157(2)	35(1)
C(66)	4345(6)	3404(3)	3568(2)	37(1)
C(87)	8540(6)	3940(3)	3212(2)	40(1)
C(93)	9371(7)	3266(3)	4063(2)	46(2)
C(58)	6870(9)	-1041(4)	3907(2)	60(2)
F(2)	11777(9)	10008(4)	2879(2)	151(3)
C(74)	7871(7)	5699(4)	4528(2)	55(2)
C(25)	8132(7)	5566(3)	1483(2)	41(1)
C(4)	9061(10)	3259(5)	1173(2)	76(2)
C(26)	6645(7)	5450(3)	1443(2)	48(2)
C(12)	7727(9)	1590(5)	-595(2)	66(2)
C(56)	7085(7)	83(4)	4344(2)	45(2)
C(34)	7488(7)	5600(4)	-167(2)	55(2)
C(9)	6519(7)	574(4)	-101(2)	49(2)
C(3)	7607(10)	3182(4)	1190(2)	66(2)
C(81)	5158(10)	6468(4)	3438(2)	76(2)
C(45)	11099(16)	9317(7)	2895(3)	121(4)

C(43)	10543(9)	9268(4)	2103(2)	64(2)
F(3)	9787(11)	9550(9)	2938(2)	245(7)
C(53)	8327(8)	558(5)	5683(2)	66(2)
C(29)	8344(10)	4873(4)	2138(2)	61(2)
C(5)	9774(10)	2734(5)	964(2)	76(2)
C(80)	6621(7)	6399(3)	3417(2)	53(2)
C(94)	9050(7)	2877(4)	4460(2)	51(2)
C(38)	11435(9)	4768(4)	2102(2)	71(2)
C(13)	7606(7)	1760(3)	-179(2)	48(2)
C(61)	3913(9)	-1147(4)	4095(2)	71(2)
C(52)	8010(10)	1214(6)	5841(2)	79(2)
C(10)	6633(9)	406(4)	-526(2)	68(2)
C(35)	7696(8)	5160(4)	553(2)	57(2)
C(84)	9357(12)	7262(4)	2869(3)	91(3)
C(91)	9330(8)	2785(4)	2864(2)	59(2)
C(27)	6019(9)	5060(4)	1739(2)	69(2)
C(44)	11196(10)	8906(4)	2495(2)	78(2)
C(69)	3191(8)	2018(4)	2628(2)	61(2)
C(78)	7034(8)	6922(4)	4311(2)	64(2)
C(83)	6199(12)	7012(5)	2740(3)	87(3)
C(82)	4221(10)	6784(6)	3121(4)	100(3)
C(51)	7187(10)	1748(5)	5591(2)	79(2)
C(76)	7428(9)	6592(6)	5047(2)	80(3)
F(1)	11661(10)	8983(5)	3228(2)	186(4)
C(50)	6711(8)	1571(4)	5174(2)	58(2)
C(77)	7057(9)	7114(5)	4734(3)	85(3)
N(1)	5875(5)	999(2)	684(1)	34(1)
C(102)	5582(7)	-1953(3)	630(2)	49(2)
C(101)	5084(7)	-1277(3)	879(2)	44(2)
C(100)	5214(10)	-152(4)	2344(2)	73(2)
C(104)	7326(8)	5036(4)	115(2)	70(2)
C(28)	6897(11)	4774(4)	2086(3)	75(2)
F(40)	9173(5)	9112(2)	-241(1)	74(1)
C(105)	8587(8)	41(4)	4352(2)	60(2)
C(124)	2922(10)	2104(6)	2165(3)	82(3)
F(42)	4029(8)	2397(5)	2012(2)	142(3)
F(43)	1850(8)	2595(5)	2046(2)	134(2)
F(41)	2570(8)	1475(4)	1965(2)	139(2)
C(122)	5045(7)	3962(4)	4744(2)	51(2)
F(44)	5920(5)	3370(2)	4887(1)	74(1)
F(45)	5616(5)	4563(2)	4959(1)	75(1)
F(46)	3833(5)	3823(2)	4879(1)	75(1)
C(108)	4748(13)	7054(5)	2773(3)	100(3)
F(47)	8547(9)	2143(4)	2026(2)	152(3)
F(48)	6731(8)	1653(4)	2180(2)	145(2)
F(49)	10919(5)	3510(3)	4901(1)	81(1)
C(123)	7913(9)	2494(5)	2683(2)	73(2)
C(121)	7997(12)	1902(6)	2341(3)	89(3)
C(120)	5377(8)	-1834(4)	184(2)	53(2)
C(109)	5564(11)	-282(5)	2811(2)	79(3)
F(55)	3970(4)	-1704(2)	15(1)	70(1)
F(54)	6048(5)	-1235(2)	59(1)	67(1)
F(56)	5748(5)	-2425(2)	-34(1)	69(1)
F(53)	4868(7)	-845(3)	2948(1)	100(2)
F(51)	5179(13)	300(4)	3035(2)	189(4)
F(52)	6924(8)	-420(6)	2920(2)	181(4)
F(60)	8732(11)	1307(3)	2477(2)	192(4)

*U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{II}.

Aun en otra forma de realización, la N-1 forma del compuesto del Ejemplo 1 es considerablemente pura.

5 Aun en otra forma de realización, la N-1 forma del compuesto del Ejemplo 1 contiene, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, 95 % en peso y, con mayor preferencia, alrededor de 99 % en peso, en función

del peso de la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 1.

Aun en otra forma de realización, una Forma N-1 considerablemente pura del compuesto del Ejemplo 1 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 % y, con mayor preferencia, menos de alrededor de 2 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado. Con máxima preferencia, la Forma N-1 cristalina considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 1 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado.

En otra forma de realización, la forma cristalina del compuesto del Ejemplo 1 consiste esencialmente en la Forma N-1. La forma cristalina de esta forma de realización puede comprender, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, alrededor de 95 % en peso y, con mayor preferencia, al menos, 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 1.

Aun en otra forma de realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 1; y, al menos, un vehículo y/o diluyente aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Aun en otra forma de realización, una composición farmacéutica comprende la Forma N-1 considerablemente pura del compuesto del Ejemplo 1 y, al menos, un vehículo y/o diluyente aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Aun en otra forma de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 1 se combina con, al menos, un vehículo y/o diluyente aceptable desde el punto de vista farmacéutico, a fin de proporcionar, al menos, una composición farmacéutica.

En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 1 se proporciona en una segunda forma cristalina. La segunda forma cristalina es una forma cristalina de solvato de acetona que, en la presente, se denomina "Forma A-2" o "A-2 Forma". La A-2 Forma comprende alrededor de una molécula de acetona por cada molécula del Ejemplo 1.

En una forma de realización, la A-2 Forma se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$\begin{aligned} a &= 9,25 \text{ \AA} \\ b &= 17,11 \text{ \AA} \\ c &= 19,63 \text{ \AA} \\ \alpha &= 90,0^\circ \\ \beta &= 99,2^\circ \\ \gamma &= 90,0^\circ \end{aligned}$$

Grupo espacial: P2₁

Moléculas del Ejemplo 1/unidad asimétrica: 2

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = 767 Å³

Densidad (calculada) = 1,331 g/cm³,

en donde los parámetros de celda unitaria de la Forma A-2 se miden a una temperatura de alrededor de -50 °C.

En otra forma de realización, la A-2 Forma se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) simulado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 2 y/o por un patrón PXRD observado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 2

Aun en otra forma de realización, la A-2 Forma del Ejemplo 1 se caracteriza por coordenadas atómicas fraccionarias considerablemente como se enumera en la Tabla 2.

Tabla 2

Coordenadas atómicas fraccionarias de la Forma A-2 del Ejemplo 1 calculadas a una temperatura de alrededor de 25 °C; coordenadas atómicas (x10 ⁴) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes (Å ² x 10 ³)				
	x	y	z	U(eq)
C(7)	6904(4)	4997(2)	5292(2)	48(1)
C(1)	8004(4)	5982(2)	6174(2)	54(1)
C(2)	6800(4)	5545(2)	5859(2)	54(1)
C(8)	6141(4)	4232(2)	5284(2)	54(1)
C(3)	5457(5)	5651(3)	6082(2)	76(1)
C(11)	4844(6)	2766(3)	5230(3)	85(2)

ES 2 534 080 T3

C(6)	7848(6)	6490(3)	6720(2)	71(1)
C(13)	6027(5)	3824(3)	5876(2)	70(1)
C(9)	5582(5)	3890(3)	4653(2)	71(1)
C(12)	5401(6)	3097(3)	5850(3)	83(2)
C(10)	4917(6)	3170(3)	4628(3)	90(2)
C(5)	6489(7)	6573(3)	6912(3)	90(2)
C(4)	5305(7)	6149(4)	6600(3)	97(2)
N(1)	9412(3)	5900(2)	5975(2)	51(1)
N(2)	7595(3)	5151(2)	4788(2)	44(1)
C(14)	10740(5)	5965(3)	6513(2)	74(1)
O(2)	10864(3)	5937(2)	5145(1)	55(1)
C(16)	8251(3)	5933(2)	4786(2)	40(1)
C(15)	9646(4)	5938(2)	5311(2)	44(1)
N(3)	8562(3)	6099(2)	4109(1)	41(1)
C(17)	7467(4)	6272(2)	3606(2)	39(1)
O(3)	6194(2)	6341(2)	3715(1)	51(1)
C(18)	7818(4)	6368(2)	2879(2)	42(1)
C(19)	7150(4)	5692(2)	2427(2)	43(1)
C(20)	7742(4)	5710(2)	1743(2)	47(1)
C(21)	7295(4)	7162(2)	2603(2)	53(1)
C(22)	7920(6)	7834(3)	3079(2)	71(1)
C(23)	7430(10)	8614(3)	2824(3)	107(2)
C(24)	7536(4)	4901(2)	2785(2)	52(1)
C(25)	7093(6)	4206(3)	2330(2)	71(1)
C(26)	7241(8)	3455(3)	2704(3)	94(2)
F(6)	6297(5)	3386(2)	3134(2)	129(1)
F(1)	7959(8)	9176(2)	3262(2)	185(3)
F(5)	8543(6)	3362(2)	3105(3)	150(2)
F(3)	7942(5)	8794(2)	2229(2)	126(1)
F(4)	7086(8)	2841(2)	2316(3)	195(3)
F(2)	5988(6)	8693(2)	2664(3)	144(2)
O(4)	9043(3)	5579(2)	1739(1)	64(1)
N(4)	6801(3)	5840(2)	1174(2)	58(1)
C(28)	3228(5)	5219(2)	-666(2)	58(1)
C(27)	2067(5)	5688(2)	-980(2)	58(1)
C(34)	3784(6)	3921(3)	-46(2)	72(1)
C(33)	3100(5)	4701(2)	-78(2)	58(1)
C(35)	4203(7)	3574(3)	594(3)	97(2)
C(39)	3986(6)	3507(3)	-636(3)	83(2)
C(32)	2285(6)	6154(3)	-1536(2)	75(1)
C(30)	4731(7)	5711(3)	-1475(3)	91(2)
C(38)	4583(7)	2762(3)	-576(3)	98(2)
C(29)	4568(6)	5253(3)	-917(2)	72(1)
C(31)	3577(7)	6155(3)	-1784(3)	87(2)
C(37)	4968(9)	2422(4)	54(4)	118(2)
C(36)	4771(9)	2808(4)	624(4)	128(3)
N(5)	661(4)	5680(2)	-773(2)	60(1)
N(6)	2443(4)	4911(2)	431(2)	54(1)
C(40)	-651(6)	5774(3)	-1302(2)	86(2)
O(5)	-740(3)	5772(2)	72(2)	68(1)
C(41)	469(4)	5735(2)	-103(2)	53(1)
C(42)	1863(4)	5705(2)	419(2)	46(1)
N(7)	1560(3)	5910(2)	1090(1)	45(1)
C(43)	2620(4)	6162(2)	1576(2)	46(1)
O(6)	3897(3)	6255(2)	1483(1)	57(1)
C(44)	2172(4)	6353(3)	2271(2)	52(1)
C(46)	2395(4)	5950(4)	3504(2)	74(1)
C(45)	3085(4)	5884(3)	2850(2)	62(1)
C(48)	1358(6)	7707(3)	1848(3)	83(1)
C(47)	2339(5)	7234(3)	2392(2)	67(1)
C(51)	1858(6)	4543(4)	2518(4)	107(2)
C(50)	3255(4)	5013(3)	2687(2)	70(1)
C(49)	1563(10)	8561(4)	1908(5)	124(2)

C(52)	2084(6)	3715(4)	2468(4)	99(2)
F(12)	3031(5)	3498(3)	2086(3)	142(2)
F(10)	2663(6)	3415(3)	3096(2)	163(2)
F(9)	1342(6)	8818(3)	2530(3)	163(2)
F(11)	888(5)	3295(3)	2278(4)	183(3)
F(8)	2877(7)	8787(3)	1859(4)	207(3)
F(7)	614(7)	8955(3)	1439(3)	173(2)
O(7)	3291(3)	5999(2)	4102(2)	84(1)
N(8)	1075(3)	5907(4)	3480(2)	127(3)
O(1S)	8859(5)	7601(2)	5406(3)	125(2)
C(2S)	9451(6)	8179(2)	5220(3)	93(2)
C(1S)	8949(12)	8987(3)	5332(6)	178(4)
C(3S)	10720(8)	8060(6)	4852(5)	170(4)
C(5S)	894(7)	8038(3)	9719(4)	114(2)
C(6S)	1519(16)	8821(4)	9622(7)	237(7)
C(4S)	-672(9)	7980(10)	9801(11)	366(14)
O(2S)	1390(8)	7390(3)	9852(6)	226(4)

[†]U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U[†].

Aun en otra forma de realización, la A-2 forma del compuesto del Ejemplo 1 es considerablemente pura.

- 5 Aun en otra forma de realización, la A-2 forma del compuesto del Ejemplo 1 contiene, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, 95 % en peso y, con mayor preferencia, alrededor de 99 % en peso, en función del peso de la segunda forma cristalina, Forma A-2.

- 10 Aun en otra forma de realización, una segunda forma cristalina considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 % y, con mayor preferencia, menos de alrededor de 2 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado. Con máxima preferencia, una segunda forma cristalina considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 1 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado.

- 15 En otra forma de realización, la forma cristalina del compuesto del Ejemplo 1 consiste esencialmente en la Forma A-2. La segunda forma cristalina de esta forma de realización puede comprender, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, alrededor de 95 % en peso y, con mayor preferencia, al menos, alrededor de 99 % en peso, en función del peso de la segunda forma cristalina, la Forma A-2.

- 20 En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 1 se proporciona en una tercera forma cristalina. La tercera forma cristalina es una forma cristalina de acetato de etilo que, en la presente, se denomina "Forma EA-3" o "EA-3 Forma". La EA-2 Forma comprende alrededor de una molécula de acetato de etilo por cada molécula del Ejemplo 1.

- 25 En una forma de realización, la EA-3 Forma se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

- 30 a = 8,84 Å
b = 15,95 Å
c = 22,38 Å
α = 90,0°
β = 90,0°
35 γ = 90,0°

Grupo espacial: P2₁2₁2₁

Moléculas del Ejemplo 1/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = 789 Å³

- 40 Densidad (calculada) = 1,357 g/cm³,

en donde los parámetros de celda unitaria de la Forma EA-3 se miden a una temperatura de alrededor de -50 °C.

- 45 En otra forma de realización, la EA-3 Forma se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) simulado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 3 y/o por un patrón PXRD observado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 3

Aun en otra forma de realización, la EA-3 Forma del compuesto del Ejemplo 1 se caracteriza por un patrón PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ a una temperatura de alrededor de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) que comprende cuatro o más, preferentemente, cinco o más, valores 2θ seleccionados de: $6,8 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $10,6 \pm 0,2$, $15,4 \pm 0,2$, $20,5 \pm 0,2$, $21,0 \pm 0,2$ y $24,8 \pm 0,2$, en donde el patrón PXRD de la Forma N-1 se mide a una temperatura de alrededor de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5

Aun en otra forma de realización, la EA-3 Forma del Ejemplo 1 se caracteriza por coordenadas atómicas fraccionarias considerablemente como se enumera en la Tabla 3.

Tabla 3

Coordenadas atómicas fraccionarias de la Forma EA-3 del Ejemplo 1 calculadas a una temperatura de alrededor de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)				
	x	y	z	U(eq)
F(1)	10284(3)	-324(1)	8889(1)	110(1)
F(2)	8491(2)	-284(1)	9520(1)	93(1)
F(3)	10700(3)	44(1)	9784(1)	113(1)
F(4)	10501(3)	5623(1)	9310(1)	130(1)
F(5)	8241(3)	5391(1)	9141(1)	115(1)
F(6)	8839(3)	5780(1)	9997(1)	105(1)
O(1)	11040(2)	2804(1)	6756(1)	47(1)
O(2)	7956(1)	2449(1)	8498(1)	36(1)
O(3)	12740(2)	2982(1)	9716(1)	40(1)
N(1)	8842(2)	2728(1)	6240(1)	33(1)
N(2)	8089(2)	3668(1)	7331(1)	33(1)
N(3)	9769(2)	2708(1)	7813(1)	33(1)
N(4)	10970(2)	2584(1)	10384(1)	35(1)
C(1)	7242(2)	2620(1)	6240(1)	31(1)
C(2)	6305(2)	3136(1)	6588(1)	32(1)
C(3)	4744(2)	2988(1)	6568(1)	41(1)
C(4)	4146(3)	2361(2)	6218(1)	46(1)
C(5)	5082(2)	1865(2)	5875(1)	45(1)
C(6)	6619(2)	1993(2)	5884(1)	41(1)
C(7)	6958(2)	3796(1)	6978(1)	32(1)
C(8)	6335(2)	4667(1)	6961(1)	38(1)
C(9)	6764(3)	5243(2)	7398(1)	49(1)
C(10)	6266(3)	6066(2)	7374(1)	62(1)
C(11)	5332(3)	6325(2)	6919(1)	65(1)
C(12)	4902(3)	5765(2)	6489(1)	61(1)
C(13)	5402(3)	4943(2)	6502(1)	49(1)
C(14)	9661(2)	2771(1)	6748(1)	33(1)
C(15)	8737(2)	2828(1)	7322(1)	31(1)
C(16)	9646(3)	2733(1)	5664(1)	42(1)
C(17)	9303(2)	2523(1)	8366(1)	28(1)
C(18)	10560(2)	2404(1)	8823(1)	28(1)
C(19)	10812(2)	1469(1)	8954(1)	33(1)
C(20)	9417(3)	1000(1)	9175(1)	40(1)
C(21)	9715(3)	119(2)	9337(1)	56(1)
C(22)	10180(2)	2934(1)	9377(1)	28(1)
C(23)	10038(2)	3867(1)	9211(1)	35(1)
C(24)	9480(3)	4403(1)	9721(1)	53(1)
C(25)	9272(3)	5289(2)	9554(1)	62(1)
C(26)	11411(2)	2830(1)	9845(1)	28(1)
O(1S)	3231(2)	3405(1)	7982(1)	68(1)
O(2S)	2969(2)	4783(1)	8077(1)	64(1)
C(1S)	4926(3)	4166(2)	8613(1)	78(1)
C(2S)	3651(3)	4066(2)	8192(1)	54(1)
C(3S)	1698(3)	4746(2)	7661(1)	70(1)
C(4S)	1132(4)	5596(2)	7579(2)	85(1)

^aU(eq) se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado $U^{\dagger}$.

10

Aun en otra forma de realización, la EA-3 forma del compuesto del Ejemplo 1 es considerablemente pura.

Aun en otra forma de realización, la EA-3 forma del compuesto del Ejemplo 1 contiene, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, 95 % en peso y, con mayor preferencia, alrededor de 99 % en peso, en función

del peso de la tercera forma cristalina, Forma EA-3.

Aun en otra forma de realización, una Forma EA-3 considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 % y, con mayor preferencia, menos de alrededor de 2 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado. Con máxima preferencia, la Forma EA-3 considerablemente cristalina tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 1 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado.

En otra forma de realización, la tercera forma cristalina del compuesto del Ejemplo 1 consiste esencialmente en la Forma EA-3. La tercera forma cristalina de esta forma de realización puede comprender, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, alrededor de 95 % en peso y, con mayor preferencia, al menos, 99 % en peso, en función del peso de la tercera forma cristalina, la Forma EA-3.

En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 1 se proporciona en una cuarta forma cristalina. La cuarta forma cristalina es una forma cristalina de solvato de tetrahidrofurano que, en la presente, se denomina "Forma THF-2" o "THF-2 Forma". La THF-2 Forma comprende alrededor de una molécula de tetrahidrofurano por cada molécula del Ejemplo 1.

En una forma de realización, la THF-2 Forma se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$\begin{aligned} a &= 9,34 \text{ \AA} \\ b &= 16,44 \text{ \AA} \\ c &= 20,60 \text{ \AA} \\ \alpha &= 90,0^\circ \\ \beta &= 102,8^\circ \\ \gamma &= 90,0^\circ \end{aligned}$$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 1/unidad asimétrica: 2

Moléculas de tetrahidrofurano/unidad asimétrica: 2

Volumen = $3082 \text{ \AA}^3$,

en donde los parámetros de celda unitaria de la Forma THF-2 se miden a una temperatura de alrededor de -50°C .

En otra forma de realización, la THF-2 Forma se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) simulado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 4 y/o por un patrón PXRD observado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 4

Aun en otra forma de realización, la THF-2 Forma del compuesto del Ejemplo 1 se caracteriza por un patrón PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ a una temperatura de alrededor de 25°C) que comprende cuatro o más, preferentemente, cinco o más, valores 2θ seleccionados de: $6,9 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $11,2 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, $16,6 \pm 0,2$, $21,4 \pm 0,2$ y $24,2 \pm 0,2$, en donde el patrón PXRD de la Forma N-1 se mide a una temperatura de alrededor de 20°C .

Aun en otra forma de realización, la THF-2 Forma del Ejemplo 1 se caracteriza por coordenadas atómicas fraccionarias considerablemente como se enumera en la Tabla 4.

Tabla 4

Coordenadas atómicas fraccionarias de la Forma THF-2 del Ejemplo 1 (no incluidas las moléculas de disolvente) calculadas a una temperatura de alrededor de 50°C ; coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)				
	x	y	z	U(eq)
C(15)	5518(8)	5421(5)	-198(4)	40(2)
C(7)	8183(7)	4416(4)	-230(3)	37(2)
C(1)	6912(8)	5409(5)	-1086(3)	40(2)
C(14)	7026(7)	5430(4)	285(3)	33(2)
C(8)	8844(8)	3587(5)	-216(4)	43(2)
C(10)	9968(13)	2433(7)	425(5)	77(3)
C(3)	9384(9)	5015(5)	-1084(4)	53(2)
C(13)	8784(8)	3143(5)	-809(4)	48(2)
C(9)	9434(11)	3222(6)	378(4)	63(2)

ES 2 534 080 T3

C(2)	8146(8)	4952(5)	-811(3)	39(2)
C(16)	4171(9)	5392(7)	-1345(4)	67(2)
C(11)	9807(11)	1985(6)	-145(5)	65(2)
C(4)	9404(10)	5497(6)	-1633(4)	57(2)
C(12)	9264(9)	2348(5)	-782(4)	53(2)
C(6)	6924(11)	5907(5)	-1633(4)	54(2)
C(5)	8182(12)	5952(6)	-1902(4)	64(3)
N(1)	5578(6)	5360(4)	-848(3)	42(1)
N(3)	6888(6)	5605(4)	938(3)	36(1)
N(2)	7672(6)	4610(4)	275(3)	35(1)
O(1)	4390(5)	5416(4)	-2(3)	52(1)
O(2)	9346(5)	5736(3)	1309(2)	39(1)
C(18)	7891(7)	5843(4)	2128(3)	34(2)
C(19)	8603(6)	5146(4)	2580(3)	32(2)
C(17)	8107(7)	5722(4)	1427(3)	31(2)
C(24)	8791(9)	3596(5)	2706(4)	48(2)
C(23)	8173(8)	4312(5)	2258(3)	39(2)
C(22)	8487(11)	8173(5)	2261(5)	62(2)
C(20)	8557(8)	6655(5)	2400(3)	39(2)
C(21)	7907(9)	7385(5)	1964(4)	49(2)
C(25)	8741(10)	2810(5)	2355(4)	52(2)
C(26)	8152(8)	5186(4)	3247(3)	37(2)
F(1)	9955(6)	8219(4)	2328(4)	93(2)
F(2)	7946(8)	8805(4)	1891(4)	99(2)
F(3)	8223(9)	8310(4)	2860(3)	95(2)
F(6)	9312(8)	2189(3)	2738(3)	85(2)
F(4)	9544(10)	2827(4)	1887(3)	107(3)
F(5)	7371(8)	2601(4)	2055(4)	99(2)
O(3)	6868(5)	5095(4)	3269(2)	53(2)
N(4)	9201(7)	5323(5)	3773(3)	50(2)
C(41)	5606(8)	5376(5)	5015(4)	44(2)
C(33)	2941(8)	4383(5)	5034(4)	44(2)
C(40)	4123(8)	5383(5)	4524(3)	40(2)
C(34)	2252(8)	3558(5)	5001(3)	43(2)
C(35)	1639(9)	3211(5)	4394(4)	50(2)
C(28)	2933(9)	4914(5)	5586(4)	46(2)
C(39)	2268(11)	3105(6)	5556(4)	64(2)
C(36)	1122(10)	2419(6)	4377(4)	63(2)
C(27)	4177(9)	5378(5)	5892(4)	49(2)
C(29)	1675(10)	4985(6)	5845(4)	57(2)
C(30)	1676(13)	5507(7)	6397(5)	73(3)
C(38)	1829(14)	2307(7)	5543(5)	87(3)
C(32)	4177(12)	5857(6)	6447(4)	62(2)
C(37)	1212(13)	1993(6)	4941(5)	78(3)
C(31)	2903(15)	5910(7)	6692(5)	82(3)
N(7)	4371(6)	5572(4)	3879(3)	39(1)
N(5)	3496(6)	4583(4)	4522(3)	40(1)
N(6)	5540(8)	5326(4)	5672(3)	52(2)
C(42)	6922(10)	5333(7)	6176(4)	70(3)
O(4)	6769(6)	5366(4)	4854(3)	61(2)
O(5)	1990(5)	5881(3)	3468(2)	47(1)
C(43)	3254(7)	5799(5)	3385(3)	37(2)
C(44)	3604(7)	5919(5)	2715(3)	38(2)
C(48)	2633(7)	5381(5)	2189(3)	39(2)
C(45)	3372(8)	6832(5)	2508(3)	42(2)
C(47)	4193(9)	8255(6)	2732(6)	68(3)
C(49)	2530(8)	4500(5)	2392(4)	47(2)
C(46)	4402(9)	7411(5)	2964(4)	48(2)
C(50)	3935(11)	4011(6)	2526(5)	64(2)
F(7)	5101(7)	8786(4)	3126(4)	96(2)
F(8)	2886(6)	8555(4)	2680(4)	93(2)
F(9)	4504(7)	8366(4)	2111(3)	82(2)
C(51)	3205(7)	5393(5)	1551(3)	43(2)

N(8)	2237(6)	5343(5)	980(3)	50(2)
O(6)	4529(6)	5406(6)	1582(3)	84(2)
C(52)	3758(13)	3148(6)	2623(6)	75(3)
F(12)	4965(9)	2712(5)	2742(5)	121(3)
F(11)	2916(13)	2808(5)	2068(5)	146(4)
F(10)	3056(12)	2973(5)	3096(5)	148(4)

^aU(eq) se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{||}.

Aun en otra forma de realización, la THF-2 forma del compuesto del Ejemplo 1 es considerablemente pura.

5 Aun en otra forma de realización, la THF-2 forma del compuesto del Ejemplo 1 contiene, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, 95 % en peso y, con mayor preferencia, alrededor de 99 % en peso, en función del peso de la cuarta forma cristalina, la Forma THF-2.

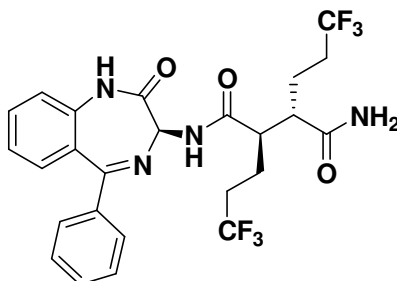
10 Aun en otra forma de realización, una Forma THF-2 considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 % y, con mayor preferencia, menos de alrededor de 2 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado. Con máxima preferencia, la Forma THF-2 cristalina considerablemente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 1 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado.

15 En otra forma de realización, la cuarta forma cristalina del compuesto del Ejemplo 1 consiste esencialmente en la Forma THF-2. La cuarta forma cristalina de esta forma de realización puede comprender, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, alrededor de 95 % en peso y, con mayor preferencia, al menos, 99 % en peso, en función del peso de la cuarta forma cristalina, la Forma THF-2.

20

Forma cristalina del Compuesto del Ejemplo 2

En una forma de realización, el compuesto del Ejemplo 2



25

se proporciona como un material cristalino que comprende una forma cristalina. Un ejemplo de una forma cristalina adecuada del compuesto del Ejemplo 2 es la Forma M2-1. La M2-1 Forma comprende alrededor de dos moléculas de metanol por cada molécula del Ejemplo 2.

30

En una forma de realización, la M2-1 Forma del compuesto del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

35

$$a = 8,44 \text{ \AA}$$

$$b = 21,02 \text{ \AA}$$

$$c = 17,52 \text{ \AA}$$

40

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,88^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Grupo espacial: P2₁

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 2

45

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = 777 Å³

Densidad (calculada) = 1,297 g/cm³,

en donde los parámetros de celda unitaria de la Forma M-1 se miden a una temperatura de alrededor de -100 °C.

En otra forma de realización, la M2-1 Forma se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (PXRD) simulado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 5 y/o por un patrón PXRD observado considerablemente de acuerdo con el patrón de la Figura 5

- 5 Aun en otra forma de realización, la M2-1 Forma del compuesto del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ a una temperatura de alrededor de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) que comprende cuatro o más, preferentemente, cinco o más, valores 2θ seleccionados de: $8,2 \pm 0,2$, $12,2 \pm 0,2$, $14,2 \pm 0,2$, $15,1 \pm 0,2$, $16,8 \pm 0,2$, $17,3 \pm 0,2$ y $23,0 \pm 0,2$, en donde el patrón PXRD de la Forma M2-1 se mide a una temperatura de alrededor de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 10 Aun en otra forma de realización, la M2-1 Forma del Ejemplo 2 se caracteriza por coordenadas atómicas fraccionarias considerablemente como se enumera en la Tabla 5.

Tabla 5

Coordenadas atómicas fraccionarias de la Forma M2-1 calculada a una temperatura de alrededor de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para la Forma M2-1 $U(\text{eq})$ se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{ij} .				
	x	y	z	$U(\text{eq})$
F(1)	2613(2)	-212(1)	2456(1)	77(1)
F(2)	4541(3)	-625(1)	3070(2)	96(1)
F(3)	4934(3)	-161(1)	2004(1)	96(1)
F(4)	7167(3)	3758(1)	3848(1)	77(1)
F(5)	6914(3)	3210(1)	4862(1)	90(1)
F(6)	9215(3)	3403(1)	4441(1)	85(1)
F(7)	7591(2)	3726(1)	11734(2)	119(1)
F(8)	9635(3)	4107(1)	11204(1)	86(1)
F(9)	9848(3)	3673(1)	12297(1)	79(1)
F(10)	12277(3)	-275(1)	10384(1)	91(1)
F(11)	11834(6)	315(1)	9441(2)	176(2)
F(12)	14222(4)	122(1)	9816(2)	133(1)
O(1)	1635(2)	931(1)	4421(1)	37(1)
O(2)	5968(2)	825(1)	4908(1)	47(1)
O(3)	8139(2)	1682(1)	2398(1)	35(1)
O(4)	6559(2)	2497(1)	9963(1)	39(1)
O(5)	10872(2)	2663(1)	9445(1)	39(1)
O(6)	13114(2)	1784(1)	11956(1)	34(1)
N(1)	2751(2)	2232(1)	5319(1)	34(1)
N(2)	1067(2)	1032(1)	5670(1)	33(1)
N(3)	4363(2)	1622(1)	4536(1)	30(1)
N(4)	10420(2)	1368(1)	2964(1)	37(1)
N(5)	7664(2)	1284(1)	8920(1)	33(1)
N(6)	5929(2)	2493(1)	8710(1)	31(1)
N(7)	9312(2)	1845(1)	9778(1)	31(1)
N(8)	15396(2)	2076(1)	11411(1)	40(1)
C(1)	1345(3)	1256(1)	6422(1)	35(1)
C(2)	1849(3)	1874(1)	6578(1)	36(1)
C(3)	2048(3)	2059(2)	7348(2)	45(1)
C(4)	1720(3)	1644(2)	7931(2)	55(1)
C(5)	1161(3)	1038(2)	7766(2)	56(1)
C(6)	981(3)	842(2)	7018(2)	44(1)
C(7)	2098(3)	2347(1)	5969(1)	35(1)
C(8)	1531(3)	3012(1)	6086(2)	40(1)
C(9)	2312(4)	3514(2)	5740(2)	51(1)
C(10)	1764(5)	4131(2)	5823(2)	65(1)
C(11)	428(5)	4245(2)	6243(3)	80(1)
C(12)	-352(5)	3754(2)	6580(3)	80(1)
C(13)	191(4)	3139(2)	6513(2)	56(1)
C(14)	1961(3)	1152(1)	5056(1)	30(1)
C(15)	3364(3)	1594(1)	5200(1)	31(1)
C(16)	5555(3)	1219(1)	4426(1)	30(1)
C(17)	6342(3)	1256(1)	3652(1)	28(1)
C(18)	8095(3)	1450(1)	3748(1)	31(1)
C(19)	8887(3)	1501(1)	2979(1)	29(1)
C(20)	6151(3)	613(1)	3254(2)	36(1)

C(21)	4416(3)	482(1)	3060(2)	39(1)
C(22)	4138(4)	-124(2)	2655(2)	56(1)
C(23)	8335(3)	2081(1)	4176(1)	34(1)
C(24)	7670(3)	2664(1)	3763(2)	39(1)
C(25)	7738(4)	3248(2)	4225(2)	50(1)
C(26)	6216(3)	2346(1)	7935(1)	29(1)
C(27)	6745(3)	1743(1)	7708(1)	29(1)
C(28)	6963(3)	1642(1)	6922(1)	37(1)
C(29)	6629(3)	2113(2)	6398(2)	46(1)
C(30)	6065(3)	2691(2)	6633(2)	46(1)
C(31)	5856(3)	2812(1)	7399(2)	39(1)
C(32)	6994(3)	1217(1)	8261(1)	30(1)
C(33)	6421(3)	571(1)	8051(2)	35(1)
C(34)	7176(4)	43(1)	8360(2)	49(1)
C(35)	6628(4)	-563(2)	8178(2)	62(1)
C(36)	5318(4)	-640(2)	7705(2)	63(1)
C(37)	4561(4)	-123(2)	7405(2)	59(1)
C(38)	5104(3)	486(1)	7577(2)	45(1)
C(39)	6856(3)	2328(1)	9310(1)	30(1)
C(40)	8266(3)	1907(1)	9119(1)	30(1)
C(41)	10484(3)	2259(1)	9915(1)	30(1)
C(42)	11305(3)	2212(1)	10692(1)	29(1)
C(43)	13053(3)	2027(1)	10608(1)	28(1)
C(44)	13850(3)	1958(1)	11389(1)	27(1)
C(45)	11115(3)	2854(1)	11089(1)	33(1)
C(46)	9380(3)	2999(2)	11248(2)	44(1)
C(47)	9111(4)	3620(2)	11616(2)	59(1)
C(48)	13303(3)	1408(1)	10152(1)	37(1)
C(49)	12699(4)	817(1)	10535(2)	46(1)
C(50)	12765(6)	249(2)	10046(2)	71(1)
O(1S)	3445(3)	3322(1)	8972(1)	65(1)
O(2S)	3658(2)	2451(1)	3295(1)	43(1)
O(3S)	8681(2)	1043(1)	1039(1)	51(1)
C(4S)	2039(4)	4719(2)	3916(2)	64(1)
C(1S)	3853(6)	3821(2)	9485(3)	123(2)
C(2S)	2594(4)	2953(2)	3435(2)	59(1)
C(3S)	7938(7)	447(2)	954(3)	107(2)
O(4S)	1606(03)	5269(1)	4324(2)	63(1)

Aun en otra forma de realización, la M2-1 forma del compuesto del Ejemplo 2 es considerablemente pura.

- 5 Aun en otra forma de realización, la M2-1 forma del compuesto del Ejemplo 2 contiene, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, 95 % en peso y, con mayor preferencia, alrededor de 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, Forma M2-1.

- 10 Aun en otra forma de realización, una forma cristalina considerablemente pura de la Forma M2-1 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 % y, con mayor preferencia, menos de alrededor de 2 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado. Con máxima preferencia, la forma cristalina considerablemente pura de M2-1 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de alrededor de 1 % del área pico total del patrón PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes del patrón PXRD simulado.

- 15 En otra forma de realización, la forma cristalina del compuesto del Ejemplo 2 consiste esencialmente en la Forma M2-1. La forma cristalina de esta forma de realización puede comprender, al menos, alrededor de 90 % en peso, preferentemente, al menos, alrededor de 95 % en peso y, con mayor preferencia, al menos, 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma M2-1.

- 20 Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) pueden administrarse por cualquier medio adecuado para la afección que se trata, que puede depender de la necesidad de tratamiento específico del sitio o de la cantidad del compuesto de Fórmula (I) que debe administrarse.

- 25 Esta invención también abarca una clase de composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de Fórmula (I); y uno o más vehículos, diluyentes y/o adyuvantes aceptables desde el punto de vista farmacéutico

(denominados, en forma conjunta, materiales "vehículos") y, si se desea, otros ingredientes activos. Los compuestos de Fórmula (I) pueden administrarse mediante cualquier vía adecuada, preferentemente, en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha vía y en una dosis eficaz para el tratamiento previsto. Los compuestos y las composiciones de la presente invención pueden administrarse, por ejemplo, de manera oral, a través de la mucosa o de manera parenteral, que incluye la administración intravascular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular e intraesternal en formulaciones de unidad de dosis que contienen vehículos, adyuvantes y vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Por ejemplo, el vehículo farmacéutico puede contener una mezcla de manitol o lactosa, y celulosa microcristalina. La mezcla puede contener componentes adicionales, tales como un agente lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, y un agente de desintegración, tal como crospovidona. La mezcla del vehículo puede cargarse en una cápsula de gelatina o puede tener forma de comprimido. La composición farmacéutica puede administrarse en forma de dosificación oral o, por ejemplo, como una infusión.

Para la administración oral, la composición farmacéutica puede ser en forma, por ejemplo, de un comprimido, una cápsula, una suspensión o un líquido. Preferentemente, la composición farmacéutica presenta una forma de unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del ingrediente activo. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un comprimido o una cápsula que comprende una cantidad del ingrediente activo en el rango de alrededor de 1 a 2000 mg, preferentemente, de alrededor de 1 a 500 mg y, con mayor preferencia, de alrededor de 5 a 150 mg. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero puede variar ampliamente, en función de la afección del paciente y de otros factores, pero puede determinarse usando métodos de rutina.

Todas las composiciones farmacéuticas que se contemplan en la presente pueden administrarse, por ejemplo, de manera oral a través de cualquier preparación oral aceptable y adecuada. Las preparaciones orales de ejemplo incluyen, entre otras, comprimidos, caramelos, suspensiones acuosas y aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, jarabes y elixires. Las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para fabricar composiciones farmacéuticas para la administración oral. A fin de proporcionar preparaciones farmacéuticas de sabor agradable, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede contener, al menos, un agente seleccionado de agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes, emolientes, antioxidantes y agentes conservantes.

Por ejemplo, un comprimido puede prepararse mezclando, al menos, un compuesto de Fórmula (I) con, al menos, un excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico no tóxico adecuado para la fabricación de comprimidos. Por ejemplo, los excipientes incluyen, entre otros, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio y fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, tales como celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, almidón de maíz y ácido algínico; agentes de fijación, tales como almidón, gelatina, polivinil-pirrolidona y acacia; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Además, un comprimido puede estar no recubierto o recubierto mediante técnicas conocidas, a fin de disimular el sabor desagradable de un fármaco o de retrasar la desintegración y la absorción del ingrediente activo en el tracto gastrointestinal y, de esa manera, prolongar los efectos del ingrediente activo durante más tiempo. Los ejemplos de materiales hidrosolubles para disimular el sabor, incluyen, entre otros, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. Los ejemplos de materiales demoradores incluyen, entre otros, etilcelulosa y acetato butirato de celulosa.

Los comprimidos duros de gelatina pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) con al menos un diluyente sólido inerte, tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio y caolín.

Los comprimidos blandos de gelatina pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) con al menos un vehículo hidrosoluble, tal como propilenglicol, y al menos un medio oleoso, tal como aceite de maní, parafina líquida y aceite de oliva.

Una suspensión acuosa puede prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) con al menos un ejemplo adecuado para la fabricación de una solución acuosa. Los ejemplos de excipientes adecuados para la fabricación de una suspensión acuosa incluyen, entre otros, agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, ácido algínico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes, tales como una fosfatida natural, por ejemplo, lecitina; productos de condensación de óxido de alquileo con ácidos grasos, tales como estearato de polioxietileno; productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como heptadecaetilen-oxicetanol; productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, tales como monooleato de polioxietileno sorbitol; y productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. Una suspensión acuosa también puede contener, al menos, un conservante, tal como p-hidroxibenzoato de etilo y n-propilo; al menos, un agente colorante; al menos, un agente saborizante; y/o al menos, un agente endulzante, incluidos, entre otros, sacarosa, sacarina y aspartamo.

Las suspensiones oleosas pueden prepararse, por ejemplo, suspendiendo, al menos un compuesto de Fórmula (I) en un aceite vegetal, tal como aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco; o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Una suspensión oleosa también puede contener, al menos, un agente espesante, tal como cera de abejas, parafina sólida y alcohol de cetilo. A fin de obtener una suspensión oleosa de sabor agradable, puede agregarse, al menos, uno de los agentes endulzantes descritos anteriormente y/o, al menos, un agente saborizante a la suspensión oleosa. Una suspensión oleosa también puede contener, al menos, un conservante, incluidos, entre otros, un antioxidante, tal como hidroxianisol butilado y alfa-tocofenol.

Los polvos y gránulos dispersables pueden prepararse, por ejemplo, mezclando, al menos, un compuesto de Fórmula (I) con al menos un agente dispersante y/o humectante, al menos, un agente de suspensión y/o, al menos, un conservante. Los agentes dispersantes, agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados son como se describieron anteriormente. Los ejemplos de conservantes incluyen, entre otros, antioxidantes, por ejemplo, ácido ascórbico. Además, los polvos y gránulos dispersables también pueden contener, al menos, un excipiente, incluido, entre otros, agentes endulzantes, agentes saborizantes y agentes colorantes.

Una emulsión de, al menos, un compuesto de Fórmula (I) puede prepararse, por ejemplo, como una emulsión de aceite en agua. La fase oleosa de las emulsiones que comprenden compuestos de Fórmula (I) puede formarse con ingredientes conocidos en una forma conocida. Por ejemplo, la fase oleosa puede proporcionarse mediante un aceite vegetal, tal como aceite de oliva y aceite de arachis, un aceite mineral, tal como parafina líquida, y mezclas de estos. Si bien la fase puede comprender solo un emulsionante, puede comprender una mezcla de, al menos, un emulsionante con una grasa o con un aceite, o con ambos. Los agentes emulsionantes incluyen, entre otros, fosfátidos naturales, por ejemplo, lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietilén sorbitán. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante que actúa como estabilizador. También se prefiere incluir un aceite y una grasa. Juntos, el emulsionante con o sin el estabilizador constituye la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de ungüento emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones cremosas. Una emulsión también puede contener un agente endulzante, un agente saborizante, un agente conservante y/o un agente antioxidante. Los emulsionantes y los estabilizantes de emulsión adecuados para usar en una formulación de la presente invención incluyen Tween 60, Span 80, alcohol de cetosteárido, alcohol de miristilo, monoestearato de glicerilo, laurilsulfato de sodio, distearato de glicerilo solo o con una cera, u otros materiales conocidos en la técnica.

Los compuestos de Fórmula (I) también se pueden administrar, por ejemplo, de manera intravenosa, subcutánea y/o intramuscular mediante cualquier forma inyectable adecuada y aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Los ejemplos de formas inyectables incluyen, entre otros, soluciones acuosas estériles que comprenden disolventes y vehículos aceptables, tales como agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio; microemulsiones estériles de aceite en agua; y suspensiones acuosas u oleaginosas.

Las formulaciones para la administración parenteral pueden ser en forma de soluciones o suspensiones inyectables isotónicas estériles acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones pueden prepararse de polvos o gránulos estériles usando uno o más de los vehículos o diluyentes mencionados para usar en formulaciones para la administración oral o usando otros agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión. Los compuestos pueden disolverse en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de maní, aceite de sésamo, bencilalcohol, cloruro de sodio, goma tragacanto y/o varios amortiguadores. En las artes farmacéuticas, se conocen ampliamente otros adyuvantes y modos de administración. El ingrediente activo también puede administrarse mediante inyección como una composición con vehículos adecuados, que incluyen solución salina, dextrosa o agua, o con ciclodextrina (es decir, CAPTISOL®), solubilización codisolvente (es decir, propilenglicol) o solubilización micelar (es decir, Tween 80).

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable para la administración parenteral no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse, se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución de cloruro de sodio isotónica. Además, los aceites fijos estériles se emplean de manera convencional como un disolvente o medio de suspensión. Con este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo blando, incluso los monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos, tales como el ácido oleico, pueden usarse en la preparación de inyectables.

Una microemulsión de aceite en agua estéril inyectable puede prepararse, por ejemplo, 1) disolviendo, al menos, un compuesto de Fórmula (I) en una fase oleosa, tal como una mezcla de aceite de soja y lecitina; 2) combinando la Fórmula (I) que contiene la fase oleosa con una mezcla de agua y glicerol; y 3) procesando la combinación para formar una microemulsión.

Una suspensión acuosa u oleaginosa estéril puede prepararse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, una solución o suspensión acuosa estéril puede prepararse con un diluyente o disolvente no tóxico aceptable para la administración parenteral, tal como 1,3-butanodiol; y una suspensión oleaginosa estéril puede

prepararse con un disolvente o medio de suspensión no tóxico estéril, tal como aceites fijos estériles, por ejemplo, monoglicéridos o diglicéridos sintéticos; y ácidos grasos, tales como ácido oleico.

Los vehículos, adyuvantes y vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, entre otros, cambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas autoemulsionantes de administración de fármacos (SEDDS), tales como succinato de d-alfa-tocoferol polietilenglicol 1000, tensioactivos usados en formas de dosificación farmacéutica, tales como Tweens, aceite de ricino polietoxilado, tal como tensioactivo CREMOPHOR (BASF), u otras matrices de administración polimérica, proteínas séricas, tales como albúmina de suero humana, sustancias amortiguadoras, tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros del bloque polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina. Las ciclodextrinas, tales como alfa, beta y gamma-ciclodextrina, o los derivados químicamente modificados, tales como hidroxialquilciclodextrinas, incluidas 2 y 3-hidroxipropil-ciclodextrinas, u otros derivados solubilizados, también pueden usarse de manera beneficiosa para mejorar la administración de compuestos de las fórmulas descritas en la presente.

Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención pueden procesarse de acuerdo con métodos farmacéuticos convencionales, a fin de producir agentes medicinales para la administración a pacientes, incluidos los seres humanos y otros mamíferos. Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, amortiguadores, etc. Las pastillas y las píldoras pueden prepararse de manera adicional con recubrimientos entéricos. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, endulzantes, saborizantes y perfumantes.

Las cantidades de compuestos que se administran y el régimen de dosificación para tratar una afección con los compuestos y/o las composiciones de esta invención dependen de varios factores, que incluyen la edad, el peso, el sexo, la afección médica del sujeto, el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad, la vía y la frecuencia de administración y el compuesto particular que se emplea. Por ello, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de rutina usando métodos estándares. Puede ser adecuada una dosis diaria de alrededor de 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal, preferentemente, de entre alrededor de 0,005 y alrededor de 50 mg/kg de peso corporal y, con máxima preferencia, de entre alrededor de 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria puede administrarse en una a cuatro dosis por día.

Los compuestos activos de esta invención se combinan de manera ordinaria con uno o más adyuvantes adecuados para la vía de administración indicada con fines terapéuticos. Si se administran de manera oral, los compuestos pueden mezclarse con lactosa, sacarosa, almidón en polvo, ésteres de celulosa de ácidos alcanóicos, alquilésteres de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácido fosfórico y sulfúrico, gelatina, goma acacia, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o alcohol de polivinilo, y luego, se producen comprimidos y cápsulas para la administración conveniente. Dichas cápsulas o comprimidos pueden contener una formulación para la liberación controlada en una dispersión del compuesto activo en hidroxipropilmetilcelulosa.

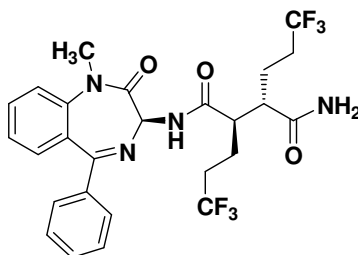
Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden el compuesto de Fórmula (I), y de manera opcional, un agente adicional seleccionado de cualquier vehículo, adyuvante y vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Las composiciones alternativas de esta invención comprenden un compuesto de Fórmula (I) que se describe en la presente, o un profármaco de este, y un vehículo, adyuvante o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Utilidad

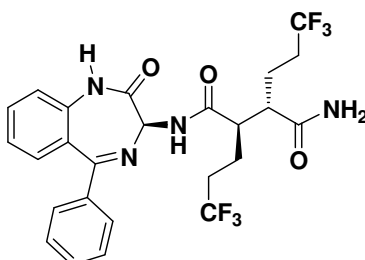
Los compuestos de Fórmula (I) son útiles para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, tipos de cáncer dependientes de la activación de Notch. La activación de Notch está involucrada en la patogénesis de varios tumores sólidos, incluidos el de ovarios, páncreas y mama, y tumores hematológicos, tales como leucemias, linfomas y mieloma múltiple.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero. El compuesto de Fórmula (I) de esta forma de realización se puede usar en el tratamiento de una variedad de tipos de cáncer, incluidos, entre otros, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluido el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de ovarios, cáncer de páncreas, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, rabdomiosarcoma, histiocitoma fibroso maligno (MFH), fibrosarcoma, glioblastomas/astrocitomas, neuroblastoma, melanoma, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL) y mesotelioma. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I) se usa en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon o cáncer de páncreas. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse

una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Esta forma de realización incluye el compuesto que tiene la estructura:



- 5 Esta forma de realización también incluye el compuesto que tiene la estructura:



Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.

- 10 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) método para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es cáncer colorrectal. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 15 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es cáncer de mama triple negativo. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 20 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 25 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es cáncer de páncreas. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 30 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es cáncer de ovarios. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 35 En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde dicho cáncer es melanoma. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración incluyen la administración parenteral y la administración oral.
- 40 En una forma de realización, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. Preferentemente, en la presente forma de realización, los tipos de cáncer que pueden tratarse incluyen uno o más de los siguientes: cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluido el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de ovarios, cáncer de páncreas, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, histiocitoma fibroso maligno (MFH), fibrosarcoma, glioblastomas/astrocitomas, neuroblastoma, melanoma, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL) y mesotelioma. Los medicamentos adecuados de la presente forma de realización incluyen medicamentos para la administración parenteral, tales como soluciones, suspensiones y medicamentos para la
- 45

administración oral, tales como comprimidos, cápsulas, soluciones y suspensiones.

Una forma de realización proporciona un compuesto de Fórmula (I), para usar en la terapia para el tratamiento del cáncer. En la presente forma de realización, los tipos de cáncer que pueden tratarse incluyen uno o más de los siguientes: cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluido el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de ovarios, cáncer de páncreas, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, histiocitoma fibroso maligno (MFH), fibrosarcoma, glioblastomas/astrocitomas, neuroblastoma, melanoma, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL) y mesotelioma.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para usar para tratar el cáncer en un mamífero, en donde el cáncer depende de la activación de Notch. Esta forma de realización se puede usar para tratar una variedad de tipos de cáncer, incluidos, entre otros, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluido el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de ovarios, cáncer de páncreas, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, histiocitoma fibroso maligno (MFH), fibrosarcoma, glioblastomas/astrocitomas, neuroblastoma, melanoma, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (T-ALL) y mesotelioma. Preferentemente, esta forma de realización se usa para tratar cáncer de mama, cáncer de colon o cáncer de páncreas. Preferentemente, el mamífero es un ser humano. Por ejemplo, puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar el cáncer. Las vías de administración adecuadas incluyen la administración parenteral y la administración oral.

En el tratamiento del cáncer, con frecuencia resulta beneficiosa una combinación de agentes quimioterapéuticos y/u otros tratamientos (por ejemplo, radioterapia). El segundo (o tercer) agente puede tener un mecanismo de acción igual o diferente que el agente terapéutico primario. Por ejemplo, pueden emplearse combinaciones de fármacos, en donde dos o más de los fármacos que se administran actúan de diferentes maneras o en diferentes fases del ciclo celular, y/o en donde dos o más de los fármacos tienen toxicidades o efectos secundarios que no se superponen, y/o en donde cada uno de los fármacos que se combinan tienen eficacia demostrada para tratar la enfermedad particular manifestada por el paciente.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) y uno o más agentes adicionales contra el cáncer para usar para tratar el cáncer en un mamífero.

La frase "agente adicional contra el cáncer" se refiere a un fármaco seleccionado de cualquiera de los siguientes: agentes alquilantes (que incluyen mostazas de nitrógeno, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas, derivados de etilennimina y triazenos); antiangiogénicos (que incluyen inhibidores de metaloproteínasa de matriz); antimetabolitos (que incluyen inhibidores de adenosina desaminasa, antagonistas del ácido fólico, análogos de purina y análogos de pirimidina); antibióticos o anticuerpos (que incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos CTLA-4, antraciclinas); inhibidores de aromatasa; modificadores de la respuesta del ciclo celular; enzimas; inhibidores de la proteína farnesil transferasa; esteroides y agentes hormonales y antihormonales (que incluyen análogos sintéticos, glucocorticoides, estrógenos/antiestrógenos [por ejemplo, SERM], andrógenos/antiandrógenos, progestinas, agonistas del receptor de progesterona, y agonistas y antagonistas de liberación de la hormona luteinizante [LHRH]); moduladores del sistema del factor de crecimiento tipo insulina (IGF)/receptor del factor de crecimiento tipo insulina (IGFR) (que incluyen inhibidores de IGFR1); inhibidores de la señalización de integrina; inhibidores de quinasa (que incluyen inhibidores de multiquinasa y/o inhibidores de quinasa Src o Src/abl, inhibidores de quinasa dependiente de ciclina [CDK], anticuerpos panHer, Her-1 y Her-2, inhibidores de VEGF, que incluyen anticuerpos anti-VEGF, inhibidores de EGFR, inhibidores de la proteína activada por mitógenos [MAP], inhibidores de MET, inhibidores de MEK, inhibidores de aurora quinasa, inhibidores de PDGF, y otros inhibidores de tirosina quinasa o inhibidores de serina/treonina quinasa; agentes disruptores de microtúbulos, tales como ecteinascidinas o sus análogos y derivados; agentes de estabilización de microtúbulos, tales como taxanos, y epotilonas naturales y sus análogos sintéticos y semisintéticos; agentes desestabilizantes de unión a microtúbulos (que incluyen alcaloides de la vinca); inhibidores de topoisomerasa; inhibidores de la proteína prenil transferasa; complejos de coordinación de platino; inhibidores de la transducción de señal; y otros agentes usados como agentes contra el cáncer y citotóxicos, tales como modificadores de la respuesta biológica, factores de crecimiento y moduladores inmunitarios.

En consecuencia, los compuestos de la presente invención pueden administrarse en combinación con otros tratamientos contra el cáncer útiles para tratar el cáncer u otras enfermedades proliferativas. La presente invención también comprende el uso de un compuesto de Fórmula (I) para preparar medicamentos para el tratamiento del cáncer, y/o comprende el envoltorio de un compuesto de Fórmula (I) junto con indicaciones de que el compuesto debe usarse en combinación con otros agentes contra el cáncer o citotóxicos y tratamientos contra el cáncer. La presente invención también comprende combinaciones de un compuesto de Fórmula (I) y uno o más agentes adicionales en forma de kit, por ejemplo, cuando se envuelven juntos o se colocan en envoltorios separados para venderlos juntos como un kit, o cuando se envuelven para que se formulen juntos.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), dasatinib; y opcionalmente, uno o más agentes adicionales contra el cáncer, para usar para tratar el cáncer en un mamífero.

En una forma de realización, se proporciona compuesto de Fórmula (I), paclitaxel; y opcionalmente, uno o más agentes adicionales contra el cáncer, para usar para tratar el cáncer en un mamífero.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), tamoxifeno; y opcionalmente, uno o más agentes adicionales contra el cáncer, para usar para tratar el cáncer en un mamífero.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), un glucocorticoide; y opcionalmente, uno o más agentes adicionales contra el cáncer, para usar para tratar el cáncer en un mamífero. Un ejemplo de un glucocorticoide adecuado es dexametasona.

En una forma de realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), carboplatino; y opcionalmente, uno o más agentes adicionales contra el cáncer, para usar para tratar el cáncer en un mamífero.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse o coadministrarse con otros agentes terapéuticos que se seleccionan porque son particularmente útiles para tratar los efectos asociados a las afecciones antes mencionadas. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden formularse con agentes para prevenir náuseas, hipersensibilidad e irritación gástrica, tales como antieméticos, y antihistamínicos H₁ y H₂.

En una forma de realización, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I); uno o más agentes adicionales seleccionados de un agente inhibidor de quinasa (molécula pequeña, polipéptido y anticuerpo), un inmunosupresor, un agente contra el cáncer, un agente antiviral, un agente antiinflamatorio, un agente antifúngico, un antibiótico o un compuesto contra la hiperproliferación vascular; y cualquier vehículo, adyuvante o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Los otros agentes terapéuticos anteriores, cuando se usan en combinación con los compuestos de la presente invención, se pueden emplear, por ejemplo, en las cantidades indicadas en el manual de referencia para médicos *Physicians' Desk Reference* (PDR) o según lo determine un experto en la técnica. En los métodos de la presente invención, dichos otros agentes terapéuticos se pueden administrar antes, durante o después de la administración de los compuestos de la invención.

Sin embargo, el nivel de dosis específico y la frecuencia de dosificación para cualquier sujeto particular pueden modificarse y, en general, esto depende de varios factores, que incluyen, entre otros, la biodisponibilidad del compuesto específico de la Fórmula (I) en la forma administrada, la estabilidad metabólica y la duración de la acción del compuesto específico de la Fórmula (I), la especie, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta del sujeto, el modo y el tiempo de administración, la velocidad de eliminación, la combinación farmacológica y la gravedad de la afección particular. Por ejemplo, puede ser adecuada una dosis diaria de alrededor de 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal, preferentemente, de alrededor de 0,005 a alrededor de 50 mg/kg de peso corporal y, con máxima preferencia, de alrededor de 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria puede administrarse en una a cuatro dosis por día.

La administración puede ser continua, es decir, todos los días, o intermitente. Los términos "intermitente" o "de forma intermitente", como se usan en la presente, significan detener y comenzar en intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente incluye la administración de 1 a 6 días por semana; la administración en ciclos (por ejemplo, la administración diaria durante 2 a 8 semanas consecutivas y, luego, un período de reposo sin administración de hasta 1 semana); o la administración en días alternos.

El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse de forma continua a un paciente que lo necesita, una o más veces al día. Por ejemplo, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula (I) a un paciente que lo necesita, una o más veces al día durante días consecutivos.

El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse de forma intermitente a un paciente que lo necesita, una o más veces al día. Por ejemplo, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula (I) a un paciente que lo necesita, una o más veces al día de acuerdo con un cronograma intermitente.

El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse a un paciente que lo necesita, una o más veces al día durante días consecutivos y, luego, uno o más días sin administración. Preferentemente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula (I). Los ejemplos de la dosificación continua con un reposo farmacológico son ciclos de: 7 días de tratamiento y, luego, 7 días sin tratamiento; 14 días de tratamiento y, luego, 7 días sin tratamiento; y 7 días de tratamiento y, luego, 14 días sin tratamiento. Un ciclo de tratamiento/sin tratamiento puede repetirse varias veces, según sea necesario para tratar a un paciente.

El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse a un paciente que lo necesita, de acuerdo con un cronograma de dosificación intermitente. Los cronogramas de dosificación intermitente son cronogramas de repetición que incluyen días en los que al paciente se le administra el compuesto de Fórmula (I) y días en los que al paciente no se le administra el compuesto de Fórmula (I). Los ejemplos de cronogramas de dosificación intermitente son los siguientes: dosificación 4 días por semana durante 3 semanas consecutivas y, luego, una semana sin dosificación, y

la repetición con un intervalo de 4 semanas; dosificación 5 días por semana durante 2 semanas consecutivas y, luego, 1 semana sin dosificación, y la repetición con un intervalo de 3 semanas; y la dosificación 4 días por semana durante una semana y, luego, 2 semanas sin dosificación, y la repetición con un intervalo de 3 semanas. Preferentemente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula (I).

5 El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse 1 día y, luego, siguen 6 días de reposo, y se repite en un cronograma semanal.

10 El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse 2 días consecutivos y, luego, siguen 5 días de reposo, y se repite en un cronograma semanal.

El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse 3 días consecutivos y, luego, siguen 4 días de reposo, y se repite en un cronograma semanal.

15 El compuesto de Fórmula (I) puede administrarse 1 día y, luego, siguen de 10 a 13 días de reposo.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

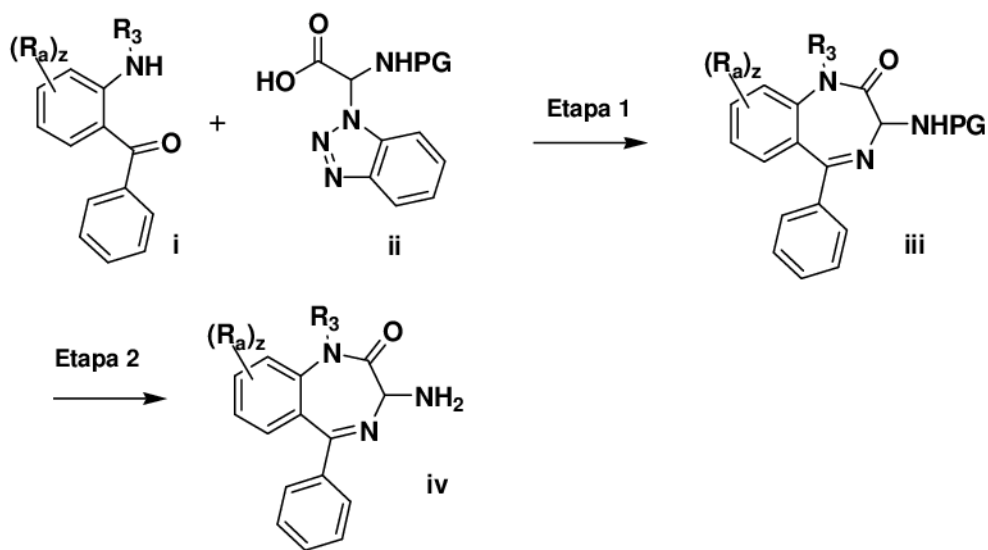
20 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse de varias maneras conocidas por los expertos en la técnica de síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar con los métodos descritos a continuación, junto con los métodos de síntesis conocidos en la técnica de la química orgánica sintética o sus variaciones consideradas por el experto en la técnica. Los métodos preferidos incluyen, entre otros, los que se describen a continuación.

25 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar con las reacciones y técnicas descritas en esta sección. Las reacciones se realizan en disolventes adecuados para los reactivos y materiales usados, y son adecuadas para las transformaciones que se llevan a cabo. Además, en la descripción de los métodos de síntesis indicados a continuación, se debe tener en cuenta que todas las condiciones de reacción propuestas, incluso la elección del disolvente, la atmósfera de reacción, la temperatura de reacción, la duración del experimento y los procedimientos de preparación se eligen por ser las condiciones estándares para esa reacción, que debe reconocer fácilmente un experto en la técnica. Un experto en la técnica de la síntesis orgánica comprenderá que la funcionalidad presente en varias porciones de la molécula debe ser compatible con los reactivos y las reacciones propuestas. Las restricciones a los sustituyentes que son compatibles con las condiciones de reacción serán evidentes para un experto y, por ello, se deben usar métodos alternativos. En ocasiones, esto requerirá cierto criterio para modificar el orden de las etapas de síntesis o para seleccionar un cronograma particular del proceso en lugar de otro, a fin de obtener el compuesto deseado de la invención. Otra consideración importante en la planificación de cualquier vía de síntesis en esta área es la elección prudente del grupo protector que se usa para la protección de los grupos funcionales reactivos presentes en los compuestos descritos en esta invención. Una explicación con autoridad que describe muchas alternativas para el médico experto es Greene et al. (*Protective Groups in Organic Synthesis*, Tercera Edición, Wiley and Sons (1999)).

45 Los compuestos de Fórmula (I) pueden prepararse con referencia a los métodos ilustrados en los siguientes Esquemas. Como puede verse allí, el producto final es un compuesto que tiene la misma fórmula estructural que la Fórmula (I). Cabe destacar que cualquier compuesto de Fórmula (I) puede producirse mediante los esquemas por medio de la selección adecuada de reactivos con sustitución apropiada. Un experto en la técnica puede seleccionar con facilidad los disolventes, las temperaturas, las presiones y otras condiciones de reacción. Los materiales de inicio están disponibles en el comercio, o los expertos en la técnica pueden prepararlos con facilidad. Los constituyentes de los compuestos son como se definen en la presente o en otra sección de la memoria descriptiva.

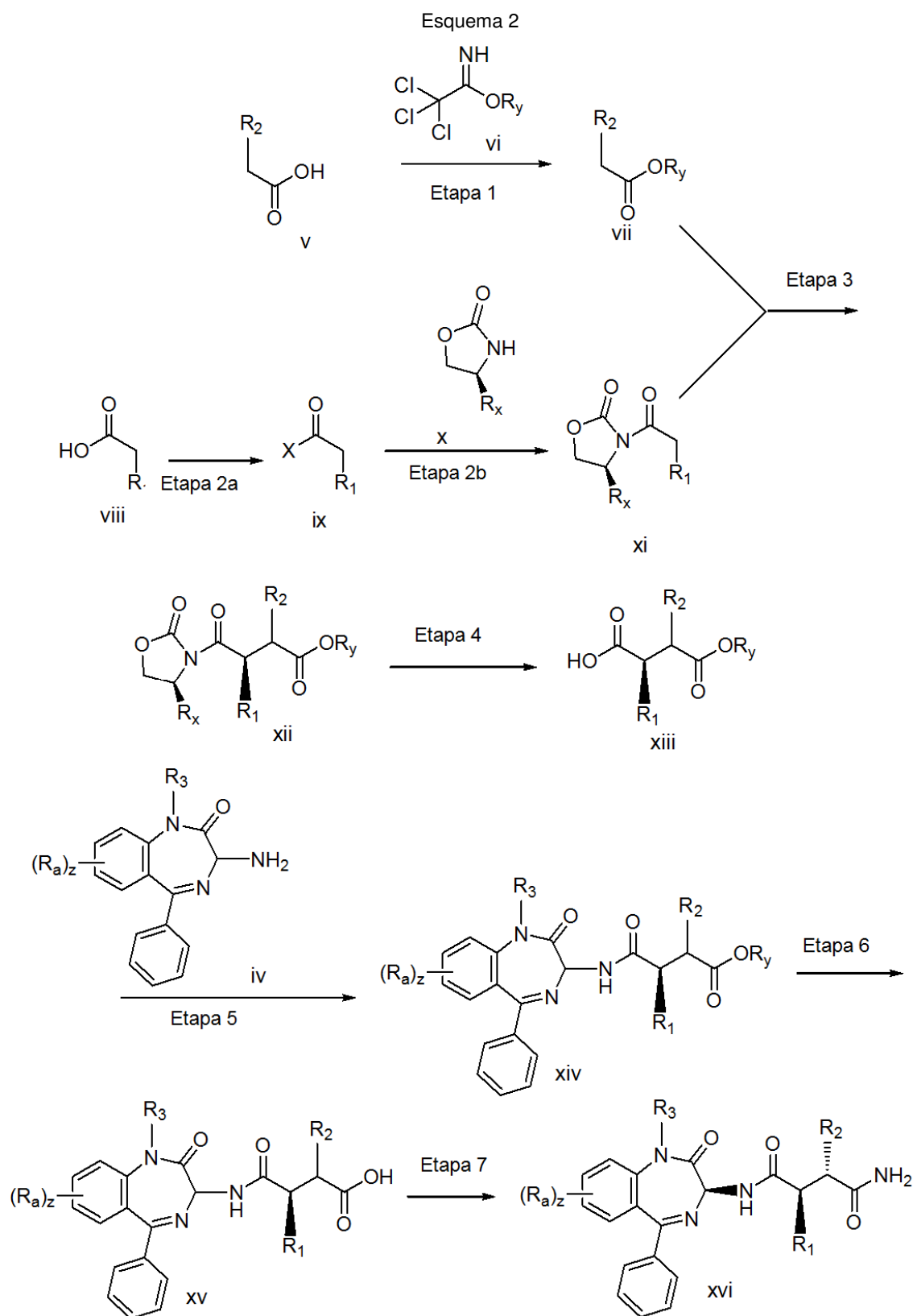
50 La síntesis de los compuestos de Fórmula (I) puede llevarse a cabo usando los métodos resumidos en los Esquemas 1 a 5.

Esquema 1



- 5 La preparación de benzodiazepinona (iv) puede llevarse a cabo mediante múltiples métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, como puede verse en el Esquema 1, una 2-aminobenzofenona sustituida de manera adecuada (i) (por ejemplo, de Walsh, D.A., *Synthesis*, 677 (1980); y las referencias allí citadas u otros métodos conocidos en la técnica) se puede acoplarse al derivado de glicina protegido (ii) (PG = grupo protector, por ejemplo PG = CBz, véase Katritzky, A.R., *J. Org. Chem.*, 55:2206-2214 (1990)), tratado con un reactivo, tal como amoníaco, y sujeto a la ciclización para obtener la benzodiazepinona (iii), de acuerdo con el procedimiento descrito en la literatura (por ejemplo, Sherrill, R.G. et al., *J. Org. Chem.*, 60:730 (1995); u otras vías conocidas por los expertos en la técnica). La mezcla racémica resultante puede separarse (usando los procedimientos conocidos por los expertos en la técnica) para obtener los enantiómeros individuales o puede usarse como racemato. Asimismo, si $R_3=H$, (iii) puede tratarse, por ejemplo, con un reactivo, tal como MeI, y una base, tal como K_2CO_3 , en un disolvente, tal como DMF, a fin de preparar $R_3=Me$.

Etapa 2: La desprotección de (iii) puede llevarse a cabo mediante varias formas conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, con PG = CBz, el Compuesto (iii) puede tratarse con un reactivo, tal como HBr, en un disolvente, tal como AcOH. El Compuesto (iv) puede usarse como racemato. De manera alternativa, el Compuesto (iv) puede someterse a resolución enantiomérica usando métodos estándares (por ejemplo, cromatografía preparativa quiral).



5 Etapa 1: La primera etapa del Esquema 2 se obtiene convirtiendo el Compuesto (v) en el éster (vii) y usando una de las múltiples formas conocidas por los expertos en la técnica, tales como el tratamiento con un acetimidato sustituido, tal como el Compuesto (vi) en presencia de un reactivo, tal como trifluoruro de boro eterato, a una temperatura adecuada en un disolvente, tal como THF.

Etapa 2: El ácido (viii) puede convertirse en el Compuesto (ix) de múltiples formas conocidas por el experto en la técnica. Por ejemplo, el tratamiento del ácido (viii) con un reactivo, tal como cloruro de oxalilo, en un disolvente, tal como DCM, produce el cloruro ácido (ix). El Compuesto (ix) puede tratarse con oxazolidinona (x) en condiciones estándares para producir el Compuesto (xi) (Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 112:4011 (1990)).

Etapa 3: El Compuesto (xi) puede convertirse en el Compuesto (xii) de múltiples maneras (Baran, P. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 130(34):11546 (2008)). Por ejemplo, el Compuesto (vii) se trata con una base, tal como LDA, en un disolvente, tal como tolueno, a baja temperatura, tal como -78 °C, en una atmósfera inerte, tal como N₂. La mezcla resultante se agrega a una solución del Compuesto (xi) tratado con cloruro de litio y una base, tal como LDA, en un disolvente, tal como tolueno, en una atmósfera inerte, tal como N₂. A la mezcla resultante de los enolatos de los Compuestos (vii) y (xi) se agrega un compuesto, tal como bis(2-etilhexanoiloxi)cobre, a baja temperatura, tal como -78 °C, en una atmósfera inerte, tal como N₂, y se calienta a temperatura ambiente para obtener el Compuesto (xii).

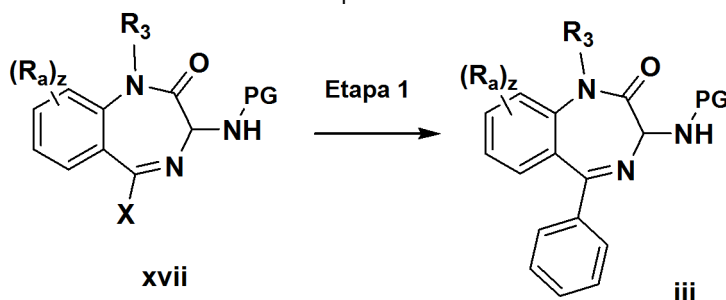
Etapa 4: La conversión del Compuesto (xii) en (xiii) puede llevarse a cabo tratándolo con reactivos, tales como peróxido de hidrógeno e hidróxido de litio, a una temperatura adecuada usando una mezcla de disolventes, tal como THF/agua. Si es necesario, en este punto, pueden separarse los diastereoisómeros mediante cromatografía en gel de sílice o HPLC preparativa. De manera alternativa, la mezcla puede someterse a condiciones de epimerización, por ejemplo, mediante tratamiento con LDA y cloruro de dietilaluminio, y luego la inactivación con metanol o ácido acético, a fin de enriquecer el diastereoisómero deseado.

Etapa 5: El Compuesto (xiii) se puede acoplar con benzodiazepinona (iv) en presencia de un reactivo de acoplamiento, tal como TBTU, y una base, tal como TEA, en un disolvente, tal como DMF, a fin de obtener el Compuesto (xiv).

Etapa 6: El tratamiento del Compuesto (xiv) con un ácido, tal como TFA, a una temperatura adecuada, tal como 0 °C, en un disolvente, tal como DCM, produce el Compuesto (xv).

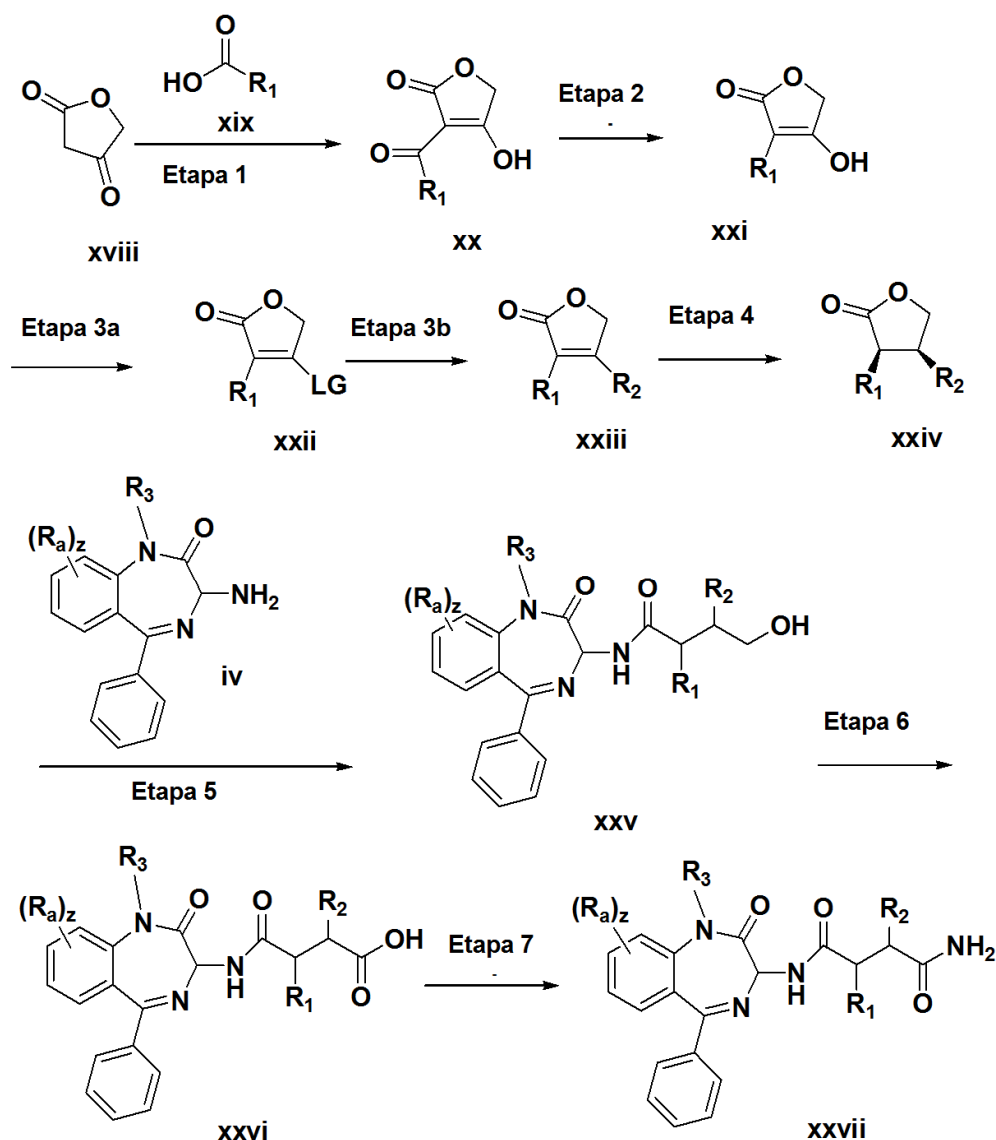
Etapa 7: La conversión del Compuesto (xv) en el Compuesto (xvi) puede llevarse a cabo mediante el acoplamiento del Compuesto (xv) con una fuente de amina adecuada, tal como cloruro de amonio, una carbodiimida, tal como EDC, HOBT y una base, tal como TEA, en un disolvente, tal como DMF. Si es necesario, la mezcla de diastereoisómeros puede separarse usando una técnica de separación adecuada, tal como una cromatografía preparativa quiral.

Esquema 3



Etapa 1: La preparación de benzodiazepinona (iii) también puede lograrse mediante acoplamiento cruzado de benzodiazepinona (xvii) que contiene un átomo de halógeno, tal como cloro (X=Cl), y un grupo protector (PG), tal como Boc, con un compañero de acoplamiento adecuado, tal como ácido borónico, en condiciones conocidas por el experto en la técnica. Por ejemplo, el acoplamiento del resto que contiene halógeno con un ácido borónico ocurre en presencia de un catalizador, tal como tetrakis(trifenilfosfin)paladio(0), una base, tal como carbonato de sodio, y un disolvente, tal como DME, en una atmósfera inerte, tal como N₂.

Esquema 4



5 Etapa 1: La primera etapa del Esquema 4 implica el tratamiento del Compuesto (xviii) con un ácido carboxílico (xix) en presencia de una carbodiimida, tal como DCC, una base, tal como TEA y un catalizador, tal como DMAP en un disolvente, tal como DCM para producir el Compuesto (xx).

10 Etapa 2: La conversión del Compuesto (xx) en el Compuesto (xxi) puede llevarse a cabo mediante el tratamiento con un reactivo, tal como cianoborohidruro de sodio, en presencia de un ácido, tal como HCl, en condiciones atmosféricas que pueden ser inertes, por ejemplo, en N_2 .

15 Etapa 3: La conversión del Compuesto (xxi) en el Compuesto (xxiii) puede llevarse a cabo mediante el Compuesto (xxii) que tiene un grupo saliente (LG) adecuado. Por ejemplo, el tratamiento del Compuesto (xxi) con una base, tal como 2,6-lutidina, y un reactivo, tal como anhídrido trifluorometansulfónico, en un disolvente, tal como DCM, a una temperatura adecuada, tal como -78°C , produce el triflato del Compuesto (xxii). En este momento, el Compuesto (xxii) puede someterse a condiciones de acoplamiento cruzado, a fin de producir el Compuesto (xxiii). Por ejemplo, el tratamiento del Compuesto (xxii) con un compañero de acoplamiento sustituido de manera adecuada, por ejemplo, un ácido borónico, en presencia de un catalizador, tal como tetrakis(trifenilfosfin)paladio(0), una base, tal como fosfato de potasio en un disolvente, tal como dioxano en condiciones atmosféricas que pueden ser inertes, por ejemplo, en N_2 , proporciona el Compuesto (xxiii).

Etapa 4: La conversión del Compuesto (xxiii) en el Compuesto (xxiv) puede llevarse a cabo mediante procedimientos estándares conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, el tratamiento del Compuesto (xxiii) en presencia de

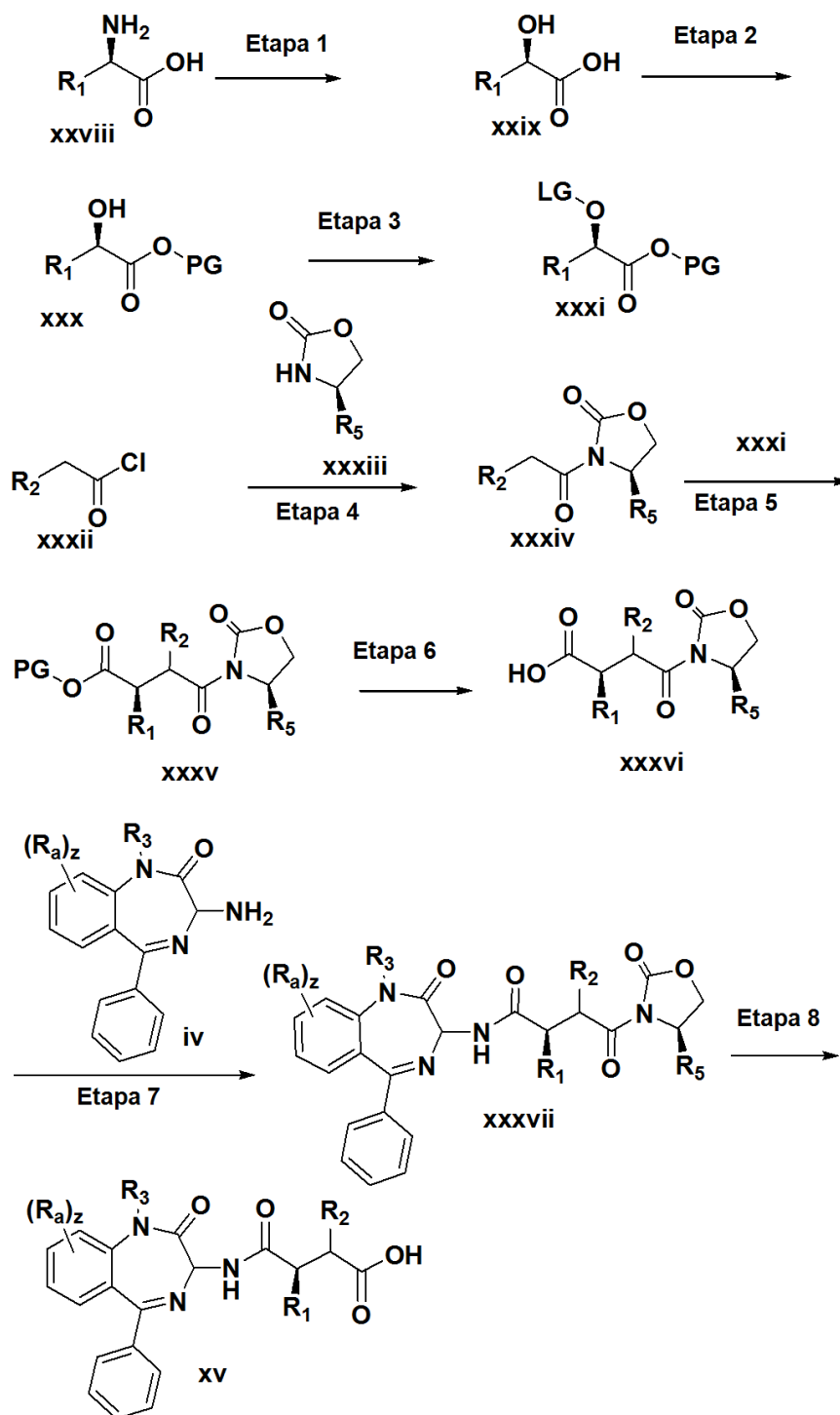
un catalizador, tal como Pd/C en un disolvente, tal como metanol produce el Compuesto (xxiv).

5 Etapa 5: El Compuesto (xxv) puede obtenerse acoplando el Compuesto (xxiv) con el Compuesto (iv). Por ejemplo, la transformación puede lograrse mediante el uso de un reactivo, tal como AlMe_3 , en un disolvente, tal como DCM en una atmósfera inerte, tal como N_2 . En esta instancia, la mezcla de diastereoisómeros obtenida puede usarse como una mezcla o puede separarse mediante un método adecuado, tal como cromatografía quiral.

10 Etapa 6: El Compuesto (xxv) se oxida usando un agente oxidante, tal como el reactivo de Jones, en un disolvente, tal como acetona para obtener el Compuesto (xxvi). Si el compuesto es una mezcla de diastereoisómeros, puede usarse como una mezcla o puede separarse usando un método adecuado, tal como cromatografía quiral.

15 Etapa 7: La conversión del Compuesto (xxvi) en el Compuesto (xxvii) puede llevarse a cabo mediante procedimientos estándares conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, el acoplamiento del Compuesto (xxvi) con una fuente de amina adecuada, tal como cloruro de amonio, una carbodiimida, tal como EDC, HOBT y una base, tal como TEA en un disolvente, tal como DMF produce el Compuesto (xxvii). En esta instancia, el compuesto puede ser enantiopuro o, si es necesario, la mezcla de diastereoisómeros puede separarse usando una técnica de separación adecuada, tal como cromatografía quiral.

Esquema 5



Etapa 1: La primera etapa del Esquema 5 se obtiene tratando el Compuesto (xxviii) con un reactivo, tal como nitrato de sodio, en un ácido, tal como H_2SO_4 , y un disolvente, tal como agua, a fin de producir el Compuesto xxix.

Etapa 2: El ácido (xxix) se convierte en el Compuesto (xxx) (PG = grupo protector). Por ejemplo, el ácido (xxix) se trata con un alcohol, tal como bencilalcohol, en un disolvente, tal como tolueno, y un ácido, tal como H_2SO_4 , a fin de producir el Compuesto xxx.

Etapa 3: El Compuesto (xxxi) que tiene un grupo saliente adecuado puede prepararse tratando el Compuesto (xxx) con una base, tal como 2,6-lutidina, y un reactivo, tal como anhídrido trifluorometansulfónico, en un disolvente, tal como DCM, a una temperatura adecuada.

Etapa 4: El Compuesto (xxxii) puede convertirse en el Compuesto (xxxiv) de múltiples formas conocidas por el experto en la técnica. Por ejemplo, el tratamiento de cloruro ácido (xxxii), ya sea preparado del ácido carboxílico correspondiente con un reactivo, tal como cloruro de oxalilo, en un disolvente, tal como DCM, u obtenido en el comercio, puede realizarse con oxazolidinona (xxxiii) en condiciones estándares para obtener el Compuesto (xxxiv) (Evans, D.A. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 112:4011 (1990)).

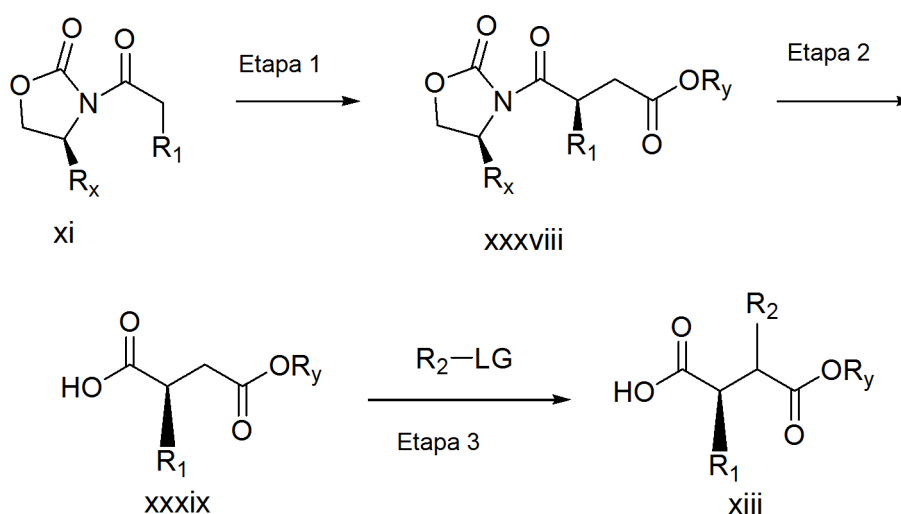
Etapa 5: La preparación del Compuesto (xxxv) puede llevarse a cabo tratando el Compuesto (xxxiv) con una base, tal como LiHMDS, en un disolvente, tal como THF, a una temperatura adecuada, tal como -78 °C, y a la mezcla resultante se agrega el Compuesto (xxxi) en un disolvente, tal como THF.

Etapa 6: El grupo protector del Compuesto (xxxv) puede retirarse mediante muchos métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, puede retirarse un grupo bencilo sometándolo a condiciones de hidrogenación con un catalizador de paladio, tal como el catalizador Pearlman, en un disolvente, tal como metanol, a fin de obtener el Compuesto (xxxvi).

Etapa 7: El Compuesto (iv) se acopla con el Compuesto (xxxvi) en presencia de un reactivo de acoplamiento, tal como TBTU, y una base, tal como TEA, en un disolvente, tal como DMF, a fin de obtener el Compuesto (xxxvii). Si es necesario, los diastereoisómeros pueden separarse usando un método adecuado, tal como cromatografía preparativa quiral.

Etapa 8: La hidrólisis del Compuesto (xxxvii) puede llevarse a cabo tratándolo con peróxido de hidrógeno e hidróxido de litio a una temperatura adecuada usando una mezcla de disolventes, tal como THF/agua, a fin de producir el Compuesto (xv). Si es necesario, los diastereoisómeros pueden separarse usando un método adecuado, tal como cromatografía preparativa quiral.

Esquema 6



El Compuesto (xiii) en el Esquema 2 también puede prepararse del Compuesto (xi) mediante la secuencia de síntesis descrita en el Esquema 6.

Etapa 1: La primera etapa del Esquema 6 se lleva a cabo tratando el Compuesto (xi) con una base, tal como bis(trimetilsilil)amida de sodio, en un disolvente, tal como THF, a baja temperatura, tal como -78 °C, en una atmósfera inerte. El enolato resultante de (xi) se trata con un reactivo, tal como bromoacetato de *tert*-butilo, a fin de producir el Compuesto (xxxviii).

Etapa 2: La conversión del Compuesto (xxxviii) en (xxxix) puede llevarse a cabo tratando el Compuesto (xxxviii) con reactivos, tales como peróxido de hidrógeno e hidróxido de litio, a una temperatura adecuada, usando una mezcla de disolventes, tal como THF/agua.

Etapa 3: El Compuesto (xxxix) puede convertirse en el Compuesto (xiii) generando el enolato de (xxxix) con una base, tal como LDA, en un disolvente, tal como THF, a baja temperatura, tal como -78 °C, en una atmósfera inerte y con un tratamiento adicional con un reactivo (R_2-LG) que tiene un grupo saliente adecuado (por ejemplo, LG = triflato).

Ejemplos

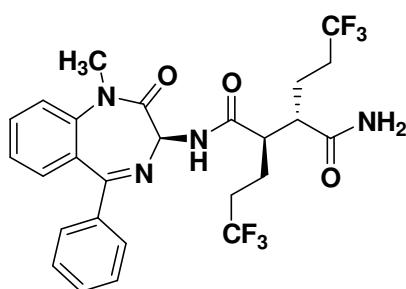
La invención también se define en los siguientes Ejemplos. Debe comprenderse que los Ejemplos solo se incluyen a fines ilustrativos. Mediante el análisis anterior y los Ejemplos, el experto en la técnica puede determinar las características esenciales de la invención y, puede realizar varios cambios y modificaciones, a fin de adaptar la invención a varios usos y condiciones. Como resultado, la invención no se limita a los ejemplos ilustrativos indicados a continuación, sino que se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Abreviaturas

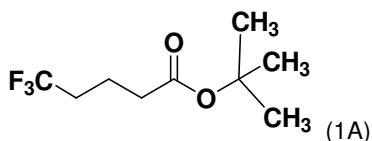
10	AcOH	ácido acético
	ACN	acetonitrilo
	AlMe ₃	trimetilaluminio
	Boc	<i>tert</i> -butiloxycarbonilo
15	DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida
	DCM	diclorometano
	DEA	dietilamina
	DMAP	dimetilaminopiridina
	DME	dimetiléter
20	DMF	dimetilformamida
	DMSO	sulfóxido de dimetilo
	EDC	clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	EDCI	1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	Et ₂ AlCl	cloruro de dietilaluminio
25	EtOAc	acetato de etilo
	H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
	HCl	ácido clorhídrico
	HOBT	hidroxibenzotriazol
	HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
30	h	hora(s)
	IPA	alcohol isopropílico
	LCMS	cromatografía de líquidos-espectroscopía de masa
	LDA	diisopropilamida de litio
	LiHMDS	bis(trimetilsilil)amida de litio
35	Me	metilo
	MeOH	metanol
	min	minuto(s)
	MTBE	metiléter de <i>tert</i> -butilo
	N ₂	nitrógeno
40	NaHMDS	bis(trimetilsilil)amida de sodio
	Pd/C	paladio en carbono
	Ph	fenilo
	RT	tiempo de retención
	sat	saturado
45	TBTU	tetrafluoroborato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
	TEA	triethylamina
	Tf ₂ O	anhídrido trifluorometilsulfónico
	TFA	ácido trifluoroacético
50	THF	tetrahidrofurano

Ejemplo 1

(2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida

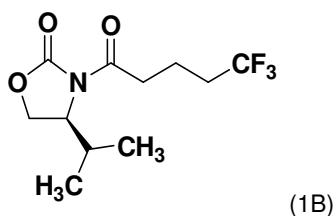


(1)

Preparación 1A: 5,5,5-trifluoropentanoato de *tert*-butilo

- 5 A una solución agitada de ácido 5,5,5-trifluoropentanoico (5 g, 32,0 mmol) en THF (30 ml) y hexano (30 ml) a 0 °C, se agregó 2,2,2-tricloroacetimidato de *tert*-butilo (11,46 ml, 64,1 mmol). La mezcla se agitó durante 15 min a 0 °C. Se agregó trifluoruro de boro eterato (0,406 ml, 3,20 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante la noche. A la mezcla de reacción transparente se agregó NaHCO₃ (5 g) sólido y se agitó durante 30 min. La mezcla se filtró a través de MgSO₄ y se lavó con hexanos (200 ml). La solución se dejó en reposo durante 10 45 min, y el material sólido resultante se retiró mediante filtración en el mismo filtro de MgSO₄ nuevamente, se lavó con hexanos (100 ml) y se concentró a presión reducida sin calentamiento. El volumen se redujo a alrededor de 30 ml, se filtró a través de un embudo de vidrio fritado transparente, se lavó con hexano (5 ml) y luego se concentró a presión reducida sin calentamiento. El aceite puro resultante se filtró a través de un disco de filtro de membrana de nylon de 0,45 µm para obtener 5,5,5-trifluoropentanoato de *tert*-butilo (6,6 g, 31,4 mmol, 98 % de rendimiento) como un aceite incoloro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,38 (s, 9 H) 1,74-1,83 (m, 2 H) 2,00-2,13 (m, 2 H) 2,24 (t, J=7,28 Hz, 2 H).

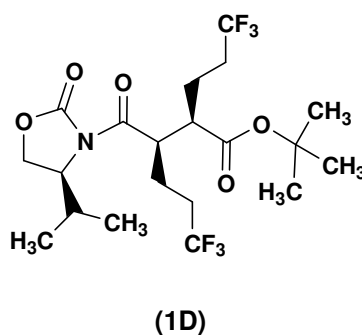
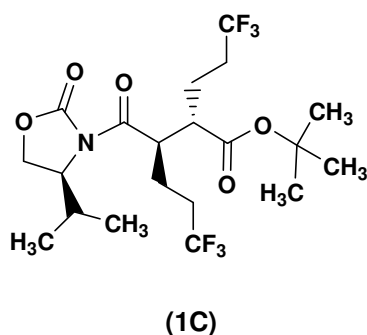
Preparación 1B: (4S)-4-(propan-2-il)-3-(5,5,5-trifluoropentanoil)-1,3-oxazolidin-2-ona



- A una solución agitada de ácido 5,5,5-trifluoropentanoico (5,04 g, 32,3 mmol) en DCM (50 ml) y DMF (3 gotas) se agregó cloruro de oxalilo (3,4 ml, 38,8 mmol) por goteo durante 5 min, y la solución se agitó hasta que el burbujeo disminuyó. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el aceite amarillo pálido. A un 25 recipiente separado cargado con una solución de (4S)-4-(propan-2-il)-1,3-oxazolidin-2-ona (4,18 g, 32,4 mmol) en THF (100 ml) a -78 °C se agregó n-BuLi (2,5 M en hexano) (13,0 ml, 32,5 mmol) por goteo con una jeringa durante 5 min. Después de agitar durante 10 min, se agregó el cloruro ácido anterior disuelto en THF (20 ml) con una cánula durante 15 min. La mezcla de reacción se calentó a 0 °C y luego a temperatura ambiente mientras el baño se calentaba y se agitaba durante la noche. A la mezcla de reacción, se agregó NH₄Cl saturado y, luego, se extrajo con EtOAc (2x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material crudo se purificó mediante cromatografía flash (Teledyne ISCO CombiFlash Rf, 5 % a 60% de disolvente A/B=hexanos/EtOAc, REDISEP® SiO₂ 120 g). La concentración de las fracciones adecuadas proporcionó la Preparación 1B (7,39 g, 86 %) como un aceite incoloro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,44 (1 H, dt, J=8,31, 3,53 Hz), 4,30 (1 H, t, J=8,69 Hz), 4,23 (1 H, dd, J=9,06, 3,02 Hz), 2,98-3,08 (2 H, m), 2,32-2,44 (1 H, m, J=13,91, 7,02, 7,02, 4,03 Hz), 2,13-2,25 (2 H, m), 1,88-2,00 (2 H, m), 0,93 (3 H, d, J=7,05 Hz), 0,88 (3 H, d, J=6,80 Hz).

Preparación 1C: 6,6,6-trifluoro-3-((S)-4-isopropil-2-oxooxazolidin-3-carbonil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de (2S,3R)-*tert*-butilo, y

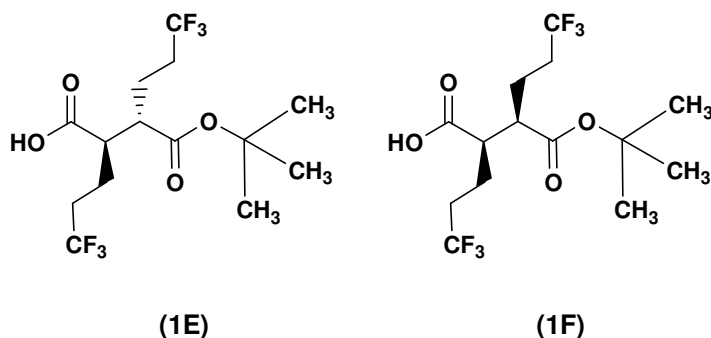
Preparación 1D: 6,6,6-trifluoro-3-((S)-4-isopropil-2-oxooxazolidin-3-carbonil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de (2R,3R)-*tert*-butilo



A una solución fría (-78 °C) agitada de diisopropilamina (5,3 ml, 37,2 mmol) en THF (59 ml) en una atmósfera de nitrógeno se agregó n-BuLi (2,5 M en hexano) (14,7 ml, 36,8 mmol) y luego se calentó a 0 °C para obtener una solución 0,5 M de LDA. Se cargó un contenedor separado con la Preparación 1B (2,45 g, 9,17 mmol), el material se azeotropó dos veces con benceno (la entrada de aire del evaporador rotatorio se ajustó con la entrada de nitrógeno para excluir por completo la humedad) y, luego, se agregó tolueno (15,3 ml). Esta solución se agregó a un recipiente que contenía cloruro de litio seco (1,96 g, 46,2 mmol). A la mezcla resultante, que se enfrió a -78 °C, se agregó una solución de LDA (21,0 ml, 10,5 mmol) y se agitó a 78 °C durante 10 min, se calentó a 0 °C durante 10 min, luego se volvió a enfriar a -78 °C. A un recipiente de reacción separado que contenía la Preparación 1A (3,41 g, 16,07 mmol), que también se azeotropó dos veces con benceno, se agregó tolueno (15,3 ml), se enfrió a -78 °C y se agregó LDA (37,0 ml, 18,5 mmol), la solución resultante se agitó a 78 °C durante 25 min. En ese momento, el enolato que se derivó del éster se transfirió con una cánula a la solución de enolato de oxazolidinona, se agitó a -78 °C durante 5 min adicionales, en cuyo momento se retiró el tabique y se agregó rápidamente bis(2-etilhexanoiloxi)cobre en polvo sólido (9,02 g, 25,8 mmol) al recipiente de reacción, y se reemplazó el tabique. El recipiente se retiró de inmediato del baño frío y se sumergió en un baño de agua caliente (40 °C) con agitación rápida y un cambio de color concomitante del turquesa inicial a marrón. La mezcla de reacción se agitó durante 20 min, se vertió en 5 % de NH₄OH acuoso (360 ml) y se extrajo con EtOAc (2x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (Teledyne ISCO CombiFlash Rf, 0 % a 60 % de disolvente A/B=hexanos/EtOAc, REDISEP® SiO₂ 120 g). La concentración de las fracciones adecuadas proporcionó la Preparación 1C (2,87 g, 66 %) como un aceite viscoso amarillo pálido: ¹H NMR mostró que el producto era una mezcla 1,6:1 de diastereoisómeros 1C:1D según se determinó mediante la integración de los multipletes a 2,74 y 2,84 ppm: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,43-4,54 (2 H, m), 4,23-4,35 (5 H, m), 4,01 (1 H, ddd, J=9,54, 6,27, 3,51 Hz), 2,84 (1 H, ddd, J=9,41, 7,28, 3,64 Hz), 2,74 (1 H, ddd, J=10,29, 6,27, 4,02 Hz), 2,37-2,48 (2 H, m, J=10,38, 6,98, 6,98, 3,51, 3,51 Hz), 2,20-2,37 (3 H, m), 1,92-2,20 (8 H, m), 1,64-1,91 (5 H, m), 1,47 (18 H, s), 0,88-0,98 (12 H, m).

Preparación 1E: Ácido (2*R*,3*S*)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

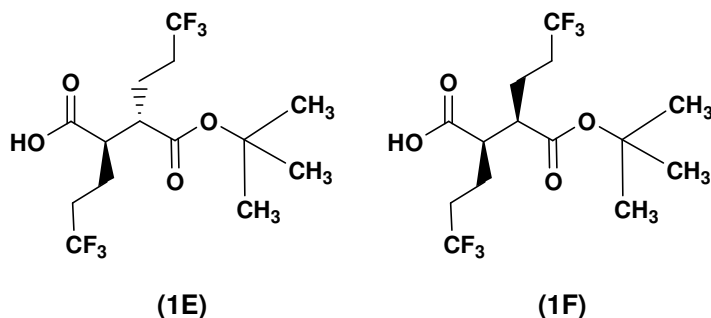
Preparación 1F: Ácido (2*R*,3*R*)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



A una solución fría (0 °C) agitada de las Preparaciones 1C y 1D (4,54 g, 9,51 mmol) en THF (140 ml) y agua (42 ml) se agregó de manera secuencial peróxido de hidrógeno (30 % en agua) (10,3 g, 91 mmol) y LiOH (685,3 mg, 28,6 mmol), y la mezcla se agitó durante 1 h. En ese momento, el recipiente de reacción se retiró del baño frío y, luego, se agitó durante 1,5 h. La reacción se consideró completa mediante HPLC. A la mezcla de reacción, se agregaron NaHCO₃ saturado (45 ml) y Na₂SO₃ saturado (15 ml), y luego se concentró parcialmente a presión reducida. La solución cruda resultante se extrajo con DCM (3x). La fase acuosa se acidificó a pH~1-2 con HCl 1 N, y se extrajo con DCM (3x) y EtOAc (1x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener una mezcla de las Preparaciones 1E y 1F (3,00 g, 86 %) como un aceite incoloro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,76-2,84 (1 H, m, diastereoisómero 2), 2,64-2,76 (3 H, m), 2,04-2,35 (8 H, m), 1,88-2,00 (4 H, m), 1,71-1,83 (4 H, m), 1,48 (9 H, s, diastereoisómero 1), 1,46 (9 H, s, diastereoisómero 2); ¹H NMR mostró una mezcla 1,7:1 de 1E:1F mediante la integración de los picos de los grupos de *t*-butilo.

Preparación 1E: Ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

Preparación 1F: Ácido (2*R*,3*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



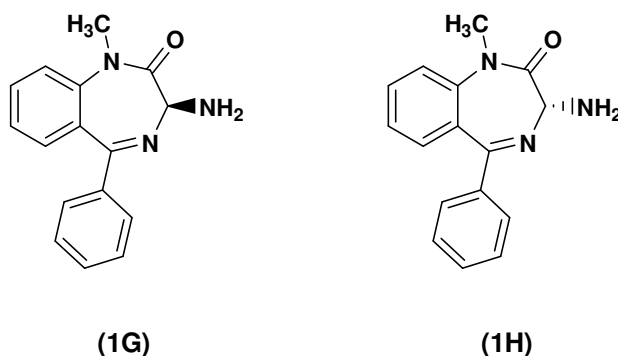
5

A una solución fría (-78 °C) agitada de diisopropilamina (1,7 ml, 11,93 mmol) en THF (19 ml) en una atmósfera de nitrógeno se agregó n-BuLi (2,5 M en hexanos) (4,8 ml, 12,00 mmol). La mezcla se agitó durante 5 min y, luego, se calentó a 0 °C. En un contenedor separado, a una solución fría (-78 °C) agitada de la mezcla de la Preparaciones 1E y 1F (1,99 g, 5,43 mmol) en THF (18 ml) se agregó la solución de LDA preparada anteriormente con una cánula lentamente durante 25 min. La mezcla se agitó durante 15 min, luego se calentó a temperatura ambiente (se colocó en un baño de agua a 24 °C) durante 15 min y, a continuación, se volvió a enfriar a -78 °C durante 15 min. A la mezcla de reacción, se agregó Et₂AlCl (1 M en hexano) (11,4 ml, 11,40 mmol) con una jeringa, se agitó durante 10 min, se calentó a temperatura ambiente durante 15 min y luego se volvió a enfriar a -78 °C durante 15 min. Se agregó metanol (25 ml) rápidamente, se agitó de manera vigorosa mientras se calentaba a temperatura ambiente y, luego, se concentró a ~1/4 del volumen original. La mezcla se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl 1 N (50 ml) y hielo (75 g). La fase acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una mezcla de KF (2,85 g en 75 ml de agua) y HCl 1 N (13 ml) [solución resultante a pH 3-4], luego con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener una mezcla diastereoisomérica enriquecida 9:1 (1E:1F) (según se determinó mediante ¹H NMR) de la Preparación 1E y la Preparación 1F (2,13 g, > 99 %) como un aceite viscoso amarillo pálido: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,64-2,76 (2 H, m), 2,04-2,35 (4 H, m), 1,88-2,00 (2 H, m), 1,71-1,83 (2 H, m), 1,48 (9 H, s).

25

Preparación 1G: (3*S*)-3-amino-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-ona, y

Preparación 1H: (3*R*)-3-amino-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-ona



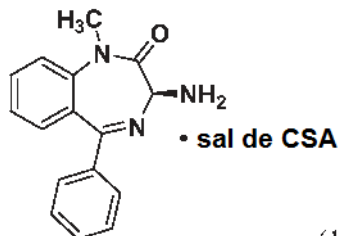
3-amino-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-ona racémica (Rittle, K.E. et al., *Tetrahedron Letters*, 28(5):521-522 (1987)) se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en la literatura. Los enantiómeros se separaron en condiciones de SFC quiral usando el siguiente método: CHIRALPAK® AS-H 5x25; fase móvil: 30 % de MeOH+ 0,1% de DEA en CO₂; velocidad de flujo: 280 ml/min; presión: 100 bar; temperatura: 35 °C.

Se obtuvo el enantiómero S (Preparación 1G): HPLC: RT = 1,75 min (30 % de MeOH + 0,1 % de DEA en CO₂ en CHIRALPAK® AS-H 4,6 x 250 mm, 3 ml/min, 35 °C, 100 bar, 230 nm, inyección de 10 µl); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,58-7,63 (2 H, m), 7,55 (1 H, ddd, J=8,50, 7,11, 1,76 Hz), 7,40-7,47 (1 H, m), 7,34-7,40 (3 H, m), 7,31 (1 H, dd, J=7,81, 1,51 Hz), 7,14-7,22 (1 H, m), 4,46 (1 H, s), 3,44 (3 H, s), 3,42 (2 H, s); [α]_D = -155° (c=1,9, MeOH) (Lit. Rittle, K.E. et al., *Tetrahedron Letters*, 28(5):521-522 (1987): [α]_D = -236°).

También se obtuvo el enantiómero R (Preparación 1H): HPLC: RT = 1,71 min; [α]_D = +165° (c=2,1, MeOH) (Lit [α]_D = +227°).

Procedimiento alternativo para elaborar la Preparación 1G:

Preparación 1G• sal de CSA: (3S)-3-amino-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona, sal del ácido (1S)-(+)-10-camforsulfónico



(1G•CSA)

5

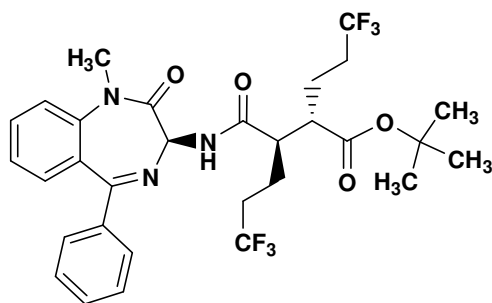
La preparación 1G•CSA se elaboró de 3-amino-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona racémica (9,98 g, 37,6 mmol) (preparada conforme la literatura, como se indicó anteriormente) de acuerdo con el procedimiento de la literatura (Reider, P.J. et al., *J. Org. Chem.*, 52:955-957 (1987)). La preparación 1G•CSA (16,91 g, 99 %) se obtuvo como un sólido incoloro: Rotación óptica: $[\alpha]_D = -26,99^\circ$ (c=1, H₂O) (Lit. $[\alpha]_D = -27,8^\circ$ (c=1, H₂O))

10

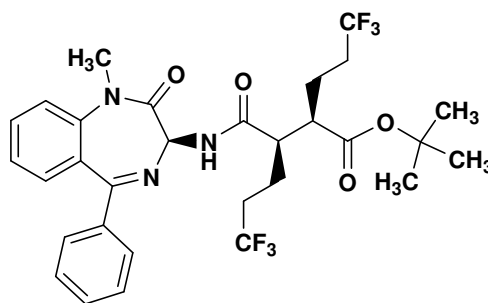
Preparación 1I: (2S,3R)-6,6,6-trifluoro-3-(((3S)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de *tert*-butilo, y

15

Preparación 1J: (2R,3R)-6,6,6-trifluoro-3-(((3S)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de *tert*-butilo



(1I)



(1J)

20

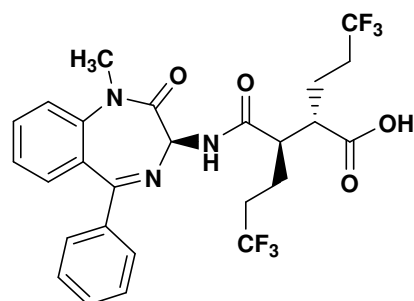
A una solución agitada de la Preparación 1G (1,45 g, 5,47 mmol) y una mezcla 9:1 de la Preparación 1E y 1F (1,989 g, 5,43 mmol) en DMF (19 ml), se agregó tetrafluoroborato de o-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetra-metiluronio (1,79 g, 5,57 mmol) y trietilamina (3,0 ml, 21,52 mmol) y se agitó durante la noche. La reacción se completó mediante LCMS. La mezcla de reacción se vertió en agua (125 ml), y el sólido precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con agua y se secó con aire para proporcionar una mezcla 8:1 de la Preparación 1I y de la Preparación 1J (2,95 g, 89 %)

25

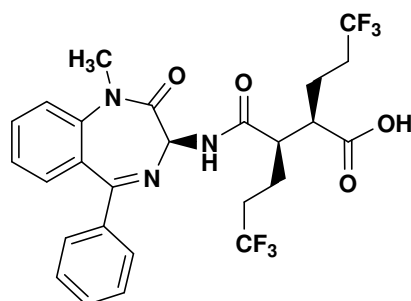
como un sólido cremoso: MS (ES): $m/z = 614$ $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,55-7,65 (3 H, m), 7,44-7,52 (2 H, m), 7,35-7,45 (4 H, m), 5,52 (1 H, d, $J=8,03$ Hz), 3,48 (3 H, s), 2,63 (2 H, ddd, $J=9,35, 3,95, 3,76$ Hz), 2,14-2,25 (4 H, m), 1,90-2,03 (3 H, m), 1,69-1,82 (1 H, m), 1,51 (9 H, s).

Preparación 1K: ácido (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

Preparación 1L: ácido (2*R*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



(1K)



(1L)

A una solución fría (0 °C), agitada de la mezcla anterior de la Preparación 1I y la Preparación 1J (2,95 g, 4,81 mmol) en DCM (20 ml), se agregó TFA (20 ml, 260 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2,5 h. La reacción se completó mediante LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (50 ml) y se concentró a presión reducida. La mezcla de residuo se volvió a disolver en tolueno (50 ml) y se concentró a presión reducida; luego, se secó en alto vacío. El producto crudo se disolvió en DCM, se agregó SiO₂ (15 g), se concentró, luego se purificó mediante cromatografía flash (Teledyne ISCO CombiFlash Rf, 0 % a 45 % de disolvente A/B=DCM/EtOAc, REDISEP® SiO₂ 80 g). La concentración de las fracciones adecuadas produjo una mezcla de la Preparación 1K y de la Preparación 1L (2,00 g, 75 %) como un sólido cremoso: HPLC: RT = 2,770 min (CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos y contiene 0,1 % de TFA, 4 ml/min, control a 254 nm); MS (ES): *m/z* = 558 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,32 (1 H, d, *J*=8,03 Hz), 7,65-7,71 (1 H, m), 7,50-7,60 (3 H, m), 7,41-7,49 (2 H, m), 7,39 (1 H, dd, *J*=7,91, 1,63 Hz), 7,23-7,35 (2 H, m), 5,59 (1 H, d, *J*=8,03 Hz), 3,51 (3 H, s), 2,81 (1 H, ddd, *J*=10,54, 6,90, 3,64 Hz), 2,67-2,76 (1 H, m), 2,22-2,33 (3 H, m), 1,99-2,12 (3 H, m), 1,85-1,94 (1 H, m), 1,79 (1 H, ddd, *J*=13,87, 7,84, 3,64 Hz).

Ejemplo 1:

A una solución agitada de una mezcla 8:1 de la Preparación 1K y de la Preparación 1L (3,46 g, 6,21 mmol) en DMF (25 ml) en una atmósfera de nitrógeno, se agregaron cloruro de amonio (3,32 g, 62,1 mmol), EDC (3,55 g, 18,52 mmol), HOBT (2,85 g, 18,61 mmol) y trietilamina (16 ml, 115 mmol), y se agitó durante la noche. La reacción se completó mediante LCMS. La mezcla de reacción se vertió en agua (200 ml) mientras se agitaba vigorosamente y, luego, se dejó reposar. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con agua y se dejó secar para obtener 3,6 g de sólido incoloro. El sólido se purificó mediante cromatografía SFC preparativa (Lux-Cellulose-2 (3 x 25 cm), 8 % de metanol en CO₂, 140 ml/min a 220 nm y 35 °C; muestra: 3,6 g en 50 cc de metanol, conc.= 70 mg/ml, inyección superpuesta: 0,5 cc/9,2 min). Las fracciones que contenían el producto se concentraron y se secaron al vacío durante la noche. El Ejemplo 1 (2,74 g, 79 %) se obtuvo como un sólido incoloro (forma de cristal N-1): HPLC: RT = 9,601 min (H₂O/CH₃CN con TFA, Sunfire C18 3,5 μm, 4,6 x 150 mm, 4,6 x 150 mm, gradiente = 15 min, longitud de onda = 220 y 254 nm). MS (ES): *m/z* = 557 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,54 (1 H, d, *J*=7,28 Hz), 7,71-7,80 (1 H, m), 7,68 (2 H, d, *J*=8,78 Hz), 7,50-7,62 (3 H, m), 7,45 (2 H, t, *J*=7,28 Hz), 7,29-7,40 (2 H, m), 7,15 (1 H, br. s.), 5,30 (1 H, d, *J*=7,28 Hz), 3,39 (3 H, s), 2,74-2,86 (1 H, m), 2,02-2,32 (3 H, m), 1,45-1,79 (4 H, m); [α]_D = -107,0° (5,73 mg/ml, DMSO).

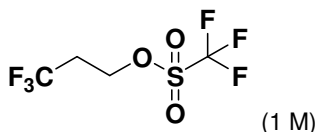
La forma de cristal A-2 se preparó agregando aproximadamente 1 mg de Ejemplo 1 a aproximadamente 0,7 ml de solución de acetona/acetonitrilo/agua (2:2:1). Se obtuvo una mezcla de agujas incoloras y cristales de hoja delgada después de un día de evaporación lenta de la solución a temperatura ambiente. Los cristales de hoja delgada se separaron para proporcionar la forma de cristal A-2.

La forma de cristal EA-3 se preparó agregando aproximadamente 1 mg del Ejemplo 1 a aproximadamente 0,7 ml de solución de acetato de etilo/heptano (1:1). Los cristales de hoja incoloros se obtuvieron después de tres días de evaporación lenta de la solución a temperatura ambiente.

La forma de cristal THF-2 se obtuvo agregando aproximadamente 5 mg del Ejemplo 1 a aproximadamente 0,7 ml de solución de THF/agua (4:1). Los cristales tipo hoja incoloros se obtuvieron después de un día de evaporación del disolvente a temperatura ambiente.

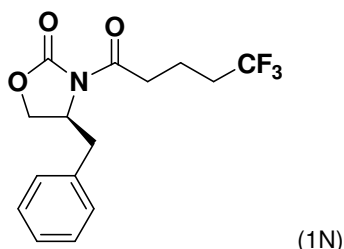
Procedimiento alternativo para elaborar el Ejemplo 1:

Preparación 1M: trifluorometansulfonato de 3,3,3-trifluoropropilo



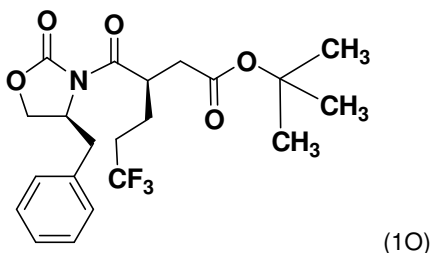
A una solución fría (-25 °C), agitada de 2,6-lutidina (18,38 ml, 158 mmol) en CH₂Cl₂ (120 ml), se agregó Tf₂O (24,88 ml, 147 mmol) durante 3 min y se agitó durante 5 min. A la mezcla de reacción, se agregó 3,3,3-trifluoropropan-1-ol (12 g, 105 mmol) durante un intervalo de 3 min. Después de 2 h, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a medio volumen, luego se purificó al cargarse directamente en una columna de gel de sílice (330 g de ISCO) y se eluyó con CH₂Cl₂. La preparación 1M (13,74 g, 53 %) se obtuvo como un aceite incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,71 (2 H, t, J=6,15 Hz), 2,49-2,86 (2 H, m).

Preparación 1N: (4S)-4-bencil-3-(5,5,5-trifluoropentanoil)-1,3-oxazolidin-2-ona



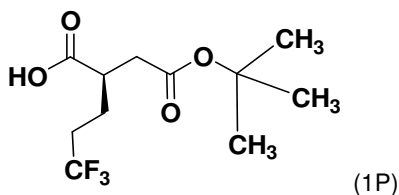
La Preparación 1N se preparó de ácido 5,5,5-trifluoropentanoico (3,35 g, 21,46 mmol) y (4S)-4-bencil-1,3-oxazolidin-2-ona (3,80 g, 21,46 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1B. La Preparación 1N (5,67 g, 84 %) se obtuvo como un aceite viscoso incoloro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,32-7,39 (2 H, m), 7,30 (1 H, d, J=7,05 Hz), 7,18-7,25 (2 H, m), 4,64-4,74 (1 H, m), 4,17-4,27 (2 H, m), 3,31 (1 H, dd, J=13,35, 3,27 Hz), 3,00-3,11 (2 H, m), 2,79 (1 H, dd, J=13,35, 9,57 Hz), 2,16-2,28 (2 H, m), 1,93-2,04 (2 H, m).

Preparación 1O: (3R)-3-(((4S)-4-bencil-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-il)carbonil)-6,6,6-trifluorohexanoato de *tert*-butilo



A una solución fría (-78 °C), agitada de la Preparación 1N (3,03 g, 9,61 mmol) en THF (20 ml), se agregó NaHMDS (1,0 M en THF) (10,6 ml, 10,60 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, se agregó 2-bromoacetato de *tert*-butilo (5,62 g, 28,8 mmol) puro mediante una jeringa a -78 °C y se continuó agitando a la misma temperatura. Después de 6 horas, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dividió entre NH₄Cl saturado y EtOAc. Se separó la fase orgánica, y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (Teledyne ISCO CombiFlash Rf, 5 % a 100 % de disolvente A/B=hexanos/EtOAc, REDISEP® SiO₂ 120 g). La concentración de las fracciones adecuadas produjo la Preparación 1O (2,79 g, 67,6 %) como un aceite viscoso incoloro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,34 (2 H, d, J=7,30 Hz), 7,24-7,32 (3 H, m), 4,62-4,75 (1 H, m, J=10,17, 6,89, 3,43, 3,43 Hz), 4,15-4,25 (3 H, m), 3,35 (1 H, dd, J=13,60, 3,27 Hz), 2,84 (1 H, dd, J=16,62, 9,57 Hz), 2,75 (1 H, dd, J=13,35, 10,07 Hz), 2,47 (1 H, dd, J=16,62, 4,78 Hz), 2,11-2,23 (2 H, m), 1,90-2,02 (1 H, m), 1,72-1,84 (1 H, m), 1,44 (9 H, s).

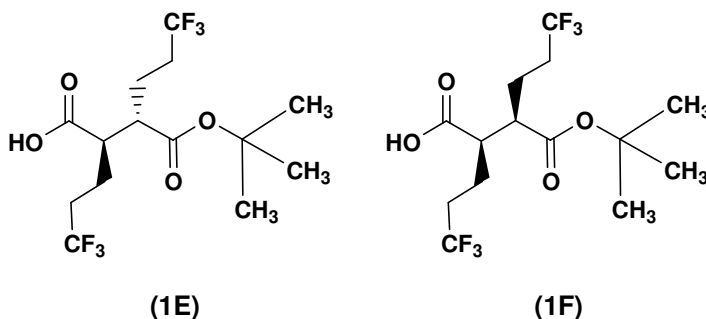
Preparación 1P: ácido (2*R*)-2-(2-*tert*-butoxi-2-oxoetil)-5,5,5-trifluoropentanoico



- 5 La Preparación 1P se obtuvo de la Preparación 1O (2,79 g, 6,50 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1E. La Preparación 1P (1,45 g, 83 %) se obtuvo como un aceite incoloro: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,83-2,95 (1 H, m), 2,62-2,74 (1 H, m), 2,45 (1 H, dd, $J=16,62$, 5,79 Hz), 2,15-2,27 (2 H, m), 1,88-2,00 (1 H, m), 1,75-1,88 (1 H, m), 1,45 (9 H, s).

- 10 Preparación 1E: ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

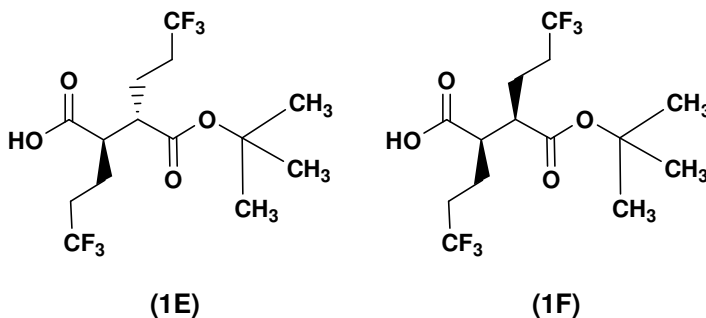
Preparación 1F: ácido (2*R*,3*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



- 15 A una solución fría (-78 °C) agitada de la Preparación 1P (5,44 g, 20,13 mmol) en THF (60 ml) se agregó lentamente LDA (24,60 ml, 44,3 mmol) durante 7 min. Después de agitar durante 2 h, se agregó la Preparación 1M (6,44 g, 26,2 mmol) a la mezcla de reacción durante 3 min. Después de 45 min, la mezcla de reacción se calentó en un baño a 25 °C (hielo/MeOH/hielo seco) durante 1 h, y luego se calentó a 0 °C. Después de 45 min, se agregó la Preparación 1M (1g), y la mezcla de reacción se agitó durante 20 min. La reacción se inactivó con agua, y se extrajo NaOH 1 N con CH_2Cl_2 . La capa orgánica se volvió a extraer con NaOH 1 N (2x), y las capas acuosas se combinaron. La capa acuosa se enfrió en un baño de hielo/agua y luego se acidificó con HCl concentrado a pH 2. A continuación, la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se secó en alto vacío para proporcionar una mezcla
- 20 1:5 (1E:1F) (según se determinó mediante ^1H NMR) de la Preparación 1E y de la Preparación 1F (5,925 g, 80 %) como un sólido amarillo pálido. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,81 (1 H, ddd, $J=10,17$, 6,32, 3,85 Hz), 2,63-2,76 (1 H, m), 2,02-2,33 (4 H, m), 1,86-1,99 (2 H, m), 1,68-1,85 (2 H, m), 1,47 (9 H, s).
- 25

Preparación 1E: ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

Preparación 1F: ácido (2*R*,3*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



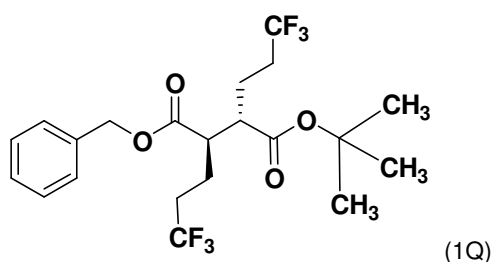
- 35 Una mezcla de la Preparación 1E y de la Preparación 1F (64 mg, 1,758 mmol) se absorbió en THF (6 ml) para obtener una solución incolora que se enfrió a -78 °C. Luego, se agregó lentamente LDA (2,149 ml, 3,87 mmol) (1,8 M en heptano/THF/etilbenceno) a la mezcla de reacción durante 10 min. Después de agitar durante 15 min, la mezcla de reacción se colocó en un baño de agua a temperatura ambiente. Después de 15 min, la mezcla de reacción se

colocó en un baño a -78°C y, luego, se agregó lentamente cloruro de dietilaluminio (3,87 ml, 3,87 mmol) (1 M en hexano) durante 5 min. La mezcla de reacción se agitó a -78°C . Después de 15 min, la mezcla de reacción se colocó en un baño de agua a temperatura ambiente durante 10 min y se volvió a enfriar en un baño a -78°C . Después de 15 min, la reacción se inactivó con MeOH (8 ml, 198 mmol), se retiró del baño a -78°C y se concentró.

- 5 A la mezcla de reacción, se agregó hielo y HCl (16 ml, 16,00 mmol) y, luego, se extrajo con EtOAc (2x). La capa orgánica se lavó con fluoruro de potasio (920 mg, 15,84 mmol) (en 25 ml H_2O) y HCl (4,5 ml, 4,50 mmol). Las capas orgánicas se secaron en sulfato de magnesio anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener una mezcla enriquecida 9:1 (1E:1F) de la Preparación 1E y de la Preparación 1F (540 mg, 1,583 mmol, 90 % de rendimiento) como un sólido amarillo/naranja claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,64-2,76 (2 H, m), 2,04-2,35 (4 H, m), 1,88-2,00 (2 H, m), 1,71-1,83 (2 H, m), 1,48 (9 H, s). Se convirtió en el Ejemplo 1 mediante la secuencia de reacciones descrita anteriormente.

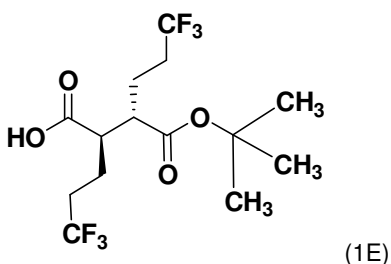
Procedimiento alternativo para elaborar la Preparación 1E:

- 15 Preparación 1Q: 4-*tert*-butil 2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinato de (2*R*,3*S*)-1-bencilo



- 20 Un recipiente de fondo redondo, de cuatro cuellos, de 5 L limpio y seco equipado con un agitador mecánico, soporte para termómetro y borboteador a temperatura ambiente se cargó con N,N-dimetil formamida (2,07 L), una mezcla 1,2:1 de la Preparación 1E y de la Preparación 1F (207 g, 0,5651 moles), carbonato de potasio (117,1 g, 0,8476 moles) y, luego, bromuro de bencilo (116 g, 0,6781 moles) durante 15-20 min. La mezcla de reacción se agitó durante 2-3 h. Después de completarse la reacción, la mezcla de reacción se concentró hasta secarse a $50-55^{\circ}\text{C}$ al vacío. Se cargó acetato de etilo (3,1 L, 30 Vol.) en la masa de reacción concentrada y, luego, se lavó con agua (2,07 L), salmuera (0,6 L), después se secó en sulfato de sodio anhidro (207 g), se filtró y se concentró hasta secarse a $40-45^{\circ}\text{C}$ al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (1,035 L, 5 vol.) y, luego, se absorbió en gel de sílice (60-120) (607 g, 3,0 p/p), después se purificó con cromatografía de columna usando éter de petróleo y acetato de etilo como disolventes. Después de agrupar varios lotes, se obtuvo la Preparación 1Q (235 g). Pureza mediante HPLC: 99,77 %.

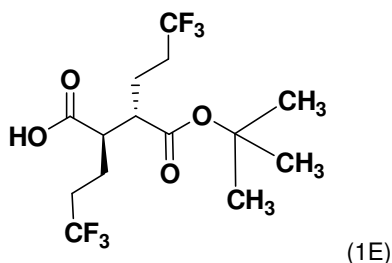
- 30 Preparación 1E: ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



- 35 Un autoclave limpio y seco de 2 L se cargó con metanol (540 ml) y se purgó con nitrógeno durante 5-10 minutos. Al autoclave se agregó 10 % de paladio en carbono (12 g, 20 %), se purgó una vez más con nitrógeno durante 5-10 min, luego se cargó con la Preparación 1Q (60 g, 0,1315 moles), el autoclave se purgó con metanol (60 ml) y se agitó durante 4-6 h a $20-25^{\circ}\text{C}$ a una presión de hidrógeno de 5 Kg. Después de completarse la reacción, la masa de reacción se filtró a través de CELITE®, se lavó con metanol (180 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro (60 g), se filtró y se concentró hasta secarse a $45-50^{\circ}\text{C}$ al vacío. La Preparación 1E (45,8 g, 95 %) se obtuvo como un sólido incoloro: Pureza mediante HPLC: 98,9 %.

Procedimiento alternativo para elaborar la Preparación 1E:

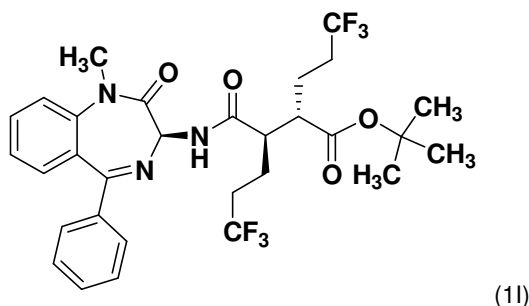
Preparación 1E: Ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



La Preparación 1E se preparó en un procedimiento idéntico al anterior, de una mezcla de las Preparaciones 1E y 1F (200 g, 0,5460 moles) usando LDA (solución 1,8 M en THF, etilbenceno y heptano) (698 ml, 2,3 equiv.) y cloruro de dietilaluminio (solución 1,0 M en hexano) (1256 ml, 2,3 equiv.) en THF (2,0 L). Después de la preparación explicada anteriormente, el residuo resultante se trató de la siguiente manera: Se agregó el material crudo a un recipiente de fondo redondo y cuatro cuellos de 2 L; luego, se agregó MTBE (1,0 L) cargado por debajo de 30 °C. La mezcla resultante se agitó durante 5-10 minutos para obtener una solución transparente. Se cargaron hexanos (600 ml) a la mezcla de reacción a una temperatura por debajo de 30 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 10 min. A continuación, se cargó lentamente *tert*-butilamina (43,8 g, 1,1 eq.) durante un período de 15 minutos por debajo de 30 °C. Se observó que esta adición era exotérmica. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h por debajo de 30 °C y se filtró. El material sólido se lavó con 5:3 MTBE: hexano (200 ml), el filtrado se concentró y se transfirió a una botella color ámbar. El sólido filtrado se disolvió en diclorometano (2,0 L), se lavó con HCl 1 N (2,0), la capa orgánica se lavó con salmuera (1,0 L x 2), luego se concentró a presión reducida por debajo de 45 °C. Se descubrió que este material era 91,12 % puro. El material se purificó nuevamente mediante el procedimiento de purificación por cristalización de *t*-butilamina. Se obtuvo la Preparación 1E (78 g, 39 %): Pureza mediante HPLC: 99,54 %.

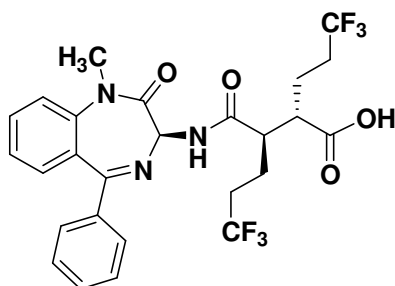
Procedimiento alternativo para elaborar el Ejemplo 1:

Preparación 1I: (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de *tert*-butilo



Un recipiente limpio y seco de 2 L de fondo redondo, de cuatro cuellos equipado con un agitador mecánico, soporte para termómetro y borboteador a temperatura ambiente se cargó con N,N-dimetilformamida (457 ml), la Preparación 1E (45,7 g, 0,1248 moles) y la Preparación 1G-CSA (62,08 g, 0,1248 moles) en una atmósfera de nitrógeno a 20-25 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 15-20 minutos para preparar la solución transparente a 20-25 °C. A la mezcla de reacción, se agregó TBTU (48,16 g, 0,1498 moles) a 20-25 °C y, luego, trietilamina (50,51 g, 0,4992 moles) durante 15-20 minutos a 20-25 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 60-120 minutos a 20-25 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción, esta se inactivó en agua (1,37 L, 30 Vol.) a 20-25 °C mientras se agitaba. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 20-25 °C. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con agua (228 ml). El material sólido resultante se disolvió en acetato de etilo (457 ml), se lavó con agua (2 x 137 ml), salmuera (137 ml) y luego se secó con sulfato de sodio anhidro (45,7 g). Se cargó carbón activado (9,14 g, 20 %) en la mezcla de reacción y se agitó durante 30 minutos. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de CELITE® y paño de filtro de 1 micrómetro, se lavó en una almohadilla de carbón con acetato de etilo (137 ml), se concentró a 1,0 de vol. de etapa, y luego se cargó éter de petróleo (457 ml, 10 Vol.) y se agitó durante 30 minutos a 20-25 °C. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con éter de petróleo (137 ml) y luego se secó al vacío a 40-45 °C durante 8 h hasta que la pérdida en el secado fue menor que 3,0 %. Se obtuvo la Preparación 1I (65,2 g, 85 %): Pureza mediante HPLC: 98,26 %.

Preparación 1K: ácido (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



(1K)

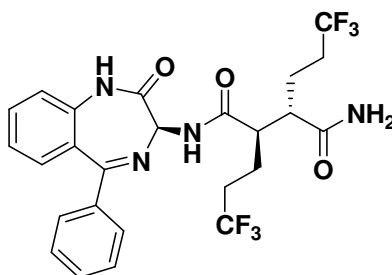
- 5 Un recipiente limpio y seco de 3 L de fondo redondo de cuatro cuellos equipado con un agitador mecánico, soporte para termómetro y borboteador a temperatura ambiente se cargó con diclorometano (980 ml) en una atmósfera de nitrógeno y, después, la Preparación 1I (140 g, 0,2282 moles) a 20-25 °C. La mezcla de reacción se enfrió a 0-5 °C y se cargó lentamente ácido trifluoroacético (980 ml) durante 30-40 minutos. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 0-5 °C en una atmósfera de nitrógeno. La temperatura de reacción se elevó a 20-25 °C, y la mezcla de reacción se agitó durante 1-2 h a 20-25 °C. Después de que se completó la reacción, la mezcla de reacción se concentró hasta secarse a 50-55 °C al vacío. Se cargó tolueno (3 x 700 ml) en la masa de reacción concentrada, y luego se destiló a 50-55 °C al vacío. Después de la concentración completa de tolueno, se cargó acetato de etilo (280 ml) en la masa de reacción a 20-25 °C, se agitó durante 60 minutos, luego se recolectó el sólido mediante filtración, se lavó con acetato de etilo (140 ml), se secó al vacío a 50-55 °C durante 12 h hasta que la pérdida en el secado fue menor de 2,0 %. Se obtuvo la Preparación 1K (106 g, 84 %): Pureza mediante HPLC: 98,43 %.

Ejemplo 1:

- 20 Se cargó un recipiente de reacción con la Preparación 1K (30 g, 53,81 mmol), HOBt (8,7 g, 64,38 mmol) y THF (150 ml) a temperatura ambiente. A una solución homogénea se agregó EDCI (12,4 g, 64,68 mmol), se agitó durante 15 min, luego se enfrió a 8 °C. A la mezcla de reacción se agregó amoníaco (2 M en IPA) (81 ml, 162 mmol) durante 5 min, a fin de mantener la temperatura por debajo de 10 °C. La suspensión espesa resultante se agitó durante 10 min, se calentó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se agitó durante 4 h. Cuando se completó la reacción, se agregó agua (230 ml) lentamente durante 15 min para mantener una temperatura por debajo de 20 °C, y luego se agitó durante 2 h. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con agua (3 X 60 ml), luego se secó al vacío 48 h a 55 °C. El producto crudo anterior se cargó en un recipiente redondo de tres cuellos de 1 L. Se agregó IPA (200 ml), luego se calentó a 80 °C, lo que dio como resultado una solución homogénea. Se agregó agua (170 ml) lentamente (15 min) para mantener una temperatura interna >75 °C. La suspensión resultante se agitó y se enfrió a temperatura ambiente durante 2 h. El sólido se recolectó mediante filtración, se lavó con agua (2 X 50 ml), luego se secó al vacío (55 °C durante 24 h, y 30 °C durante 48 h). Se obtuvo el Ejemplo 1 (23,4 g, 78 % de rendimiento): Pureza mediante HPLC: 99,43 %.

Ejemplo 2

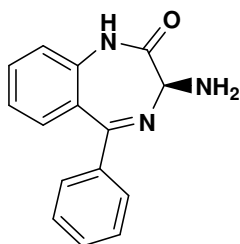
(2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida



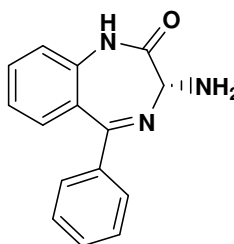
(2)

Preparación 2A: (3S)-3-amino-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona, y

Preparación 2B: (3R)-3-amino-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona



(2A)



(2B)

5

3-amino-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona racémica (*J. Med. Chem.*, 49:2311-2319 (2006), compuesto N° 5) se preparó de acuerdo con el procedimiento de la literatura. Los enantiómeros se separaron en columna Berger SFC MGIII: Lux 25 X 3 cm, 5 cm; fase móvil: 30 % de MeOH + 0,1 % de DEA en CO₂; velocidad de flujo: 150 ml/min; temperatura: 40 °C; longitud de onda del detector: 250 nm. El enantiómero S, Preparación 2A se obtuvo como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,67 (1 H, br. s.), 7,58 (1 H, td, *J*=7,65, 1,76 Hz), 7,37-7,53 (5 H, m), 7,23-7,30 (2 H, m), 7,14-7,22 (1 H, m), 4,23 (1 H, s), 2,60 (2 H, br. s.); HPLC: RT = 3,0625 min (30 % de MeOH + 0,1 % de DEA en CO₂ en columna OD-H, 3 ml/min, 35 °C, 96 bar, 230 nm, inyección de 10 μl); [α]_D = -208,3° (5,05 mg/ml, MeOH). También se obtuvo el enantiómero R, Preparación 2B como un sólido blancuzco: HPLC: RT = 3,970 min; [α]_D = 182,1° (2,01 mg/ml, MeOH).

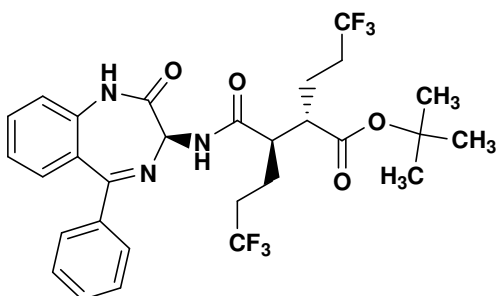
10

15

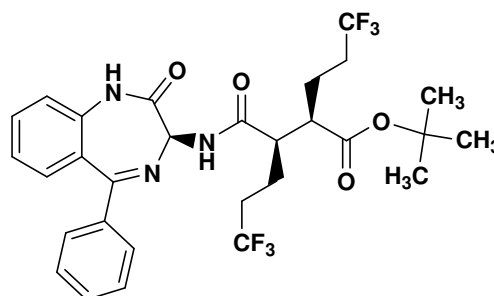
Preparación 2C: (2S,3R)-6,6,6-trifluoro-3-(((3S)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de *tert*-butilo, y

Preparación 2D: (2R,3R)-6,6,6-trifluoro-3-(((3S)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoato de *tert*-butilo

20



(2C)



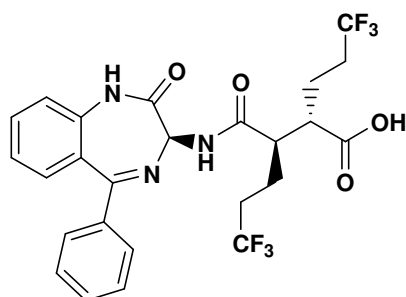
(2D)

La Preparación 2C se obtuvo de la Preparación 2A (564 mg, 2,244 mmol) y de una mezcla de la Preparación 1E y de la Preparación 1F (822 mg, 2,244 mmol) de acuerdo con el procedimiento general que se indicó para la Preparación 1I. Se obtuvieron la Preparación 2C y la Preparación 2D (1,31 g, 97 %): HPLC: RT = 3,443 min (CHROMOLITH® ODS 4,6 x 50 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos, y contiene 0, % de TFA, 4 ml/min, control a 220 nm); MS (ES): *m/z* = 600,3 [M+H]⁺.

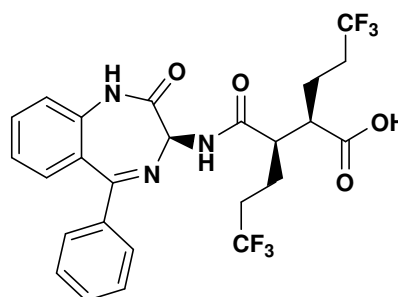
30

Preparación 2E: ácido (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico, y

Preparación 2F: ácido (2*R*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)hexanoico



(2E)



(2F)

Una mezcla de la Preparación 2E y de la Preparación 2F se obtuvo de una mezcla de la Preparación 2C y de la Preparación 2D (1,31 g, 2,185 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1K. Se obtuvo una mezcla de la Preparación 2E y de la Preparación 2F (1,18 g, 99 %): HPLC: RT = 2,885 min (CHROMOLITH® ODS 4,6 x 50 mm (grad. de 4 mín.) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos, y contiene 0, % de TFA, 4 ml/min, control a 220 nm). MS (ES): m/z = 544,2 $[M+H]^+$.

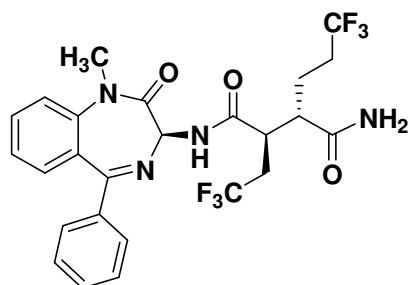
Ejemplo 2:

El Ejemplo 2 se preparó de una mezcla de la Preparación 2E y de la Preparación 2F (354 mg, 0,651 mmol) mediante los métodos generales indicados para el Ejemplo 1. Después de la separación de los diastereoisómeros, se obtuvo el Ejemplo 2 (188 mg, 52 %) como un sólido blanco: HPLC: RT = 9,063 min (H_2O/CH_3CN con TFA, Sunfire C18 3,5 um, 4,6 x 150 mm, 4,6 x 150 mm, gradiente = 15 min, longitud de onda = 220 y 254 nm); MS (ES): m/z = 543 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 10,87 (1 H, br. s.), 9,50-9,55 (1 H, m), 7,62-7,69 (2 H, m), 7,40-7,57 (5 H, m), 7,29-7,36 (2 H, m), 7,22-7,28 (1 H, m), 7,16 (1 H, br. s.), 5,25 (1 H, d), 3,30-3,32 (1 H, m), 2,75-2,86 (1 H, m), 2,44-2,48 (1 H, m), 2,06-2,34 (3 H, m), 1,51-1,77 (4 H, m); $[\alpha]_D^{25}$ = -114,4° (8,04 mg/ml, DMSO).

La forma de cristal M2-1 se preparó agregando aproximadamente 1 mg del Ejemplo 2 a aproximadamente 0,7 ml de solución MeOH/fluorobenceno (3:1). Se obtuvieron cristales tipo placa incoloros después de 2 días de evaporación del disolvente a temperatura ambiente.

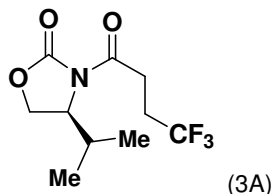
Ejemplo 3

(2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2-(2,2,2-trifluoroetil)-3-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida



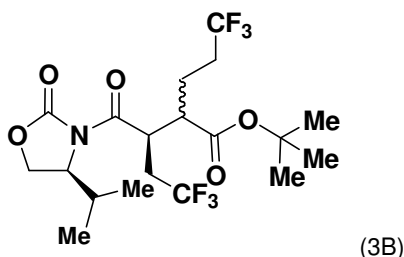
(3)

Preparación 3A: (4S)-4-(propan-2-il)-3-(4,4,4-trifluorobutanoil)-1,3-oxazolidin-2-ona



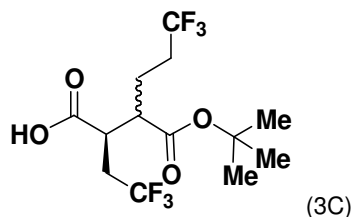
La Preparación 3A se obtuvo de ácido (4S)-4-(propan-2-il)-1,3-oxazolidin-2-ona (4,66 g, 36,1 mmol) y 4,4,4-trifluorobutanoico (5,02 g, 35,3 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1B. La Preparación 3A se obtuvo como un aceite incoloro (3,64 g, 40 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,44 (1 H, ddd, $J=8,41, 3,51, 3,39$ Hz), 4,31 (1 H, t, $J=8,66$ Hz), 4,25 (1 H, dd, $J=9,03, 3,26$ Hz), 3,13-3,32 (2 H, m), 2,47-2,59 (2 H, m), 2,38 (1 H, dddd, $J=13,96, 7,01, 3,89$ Hz), 0,93 (3 H, d, $J=7,28$ Hz), 0,88 (3 H, d, $J=6,78$ Hz).

Preparación 3B: (3R)-5,5,5-trifluoro-3-(((4S)-2-oxo-4-(propan-2-il)-1,3-oxazolidin-3-il)carbonil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)pentanoato de *tert*-butilo



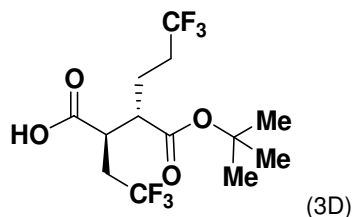
La Preparación 3B se obtuvo de la Preparación 3A (1,04 g, 4,12 mmol) y 5,5,5-trifluoropentanoato de *tert*-butilo (Preparación 1A) (1,55 g, 7,28 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1C. La Preparación 3B (528,3 mg, 28 %) se obtuvo como un aceite viscoso amarillo pálido: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,57 (1 H, ddd, $J=10,54, 5,02, 1,76$ Hz), 4,41-4,50 (2 H, m), 4,20-4,32 (4 H, m), 2,77-2,88 (3 H, m), 2,70 (1 H, dt, $J=9,79, 4,89$ Hz), 2,38 (1 H, dddd, $J=10,38, 6,87, 3,64, 3,45$ Hz), 2,23-2,34 (4 H, m), 2,06-2,18 (2 H, m), 1,93-2,05 (2 H, m), 1,69-1,81 (4 H, m), 1,46 (9 H, s), 1,43 (9 H, s), 0,85-0,97 (12 H, m).

Preparación 3C: ácido (2R)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)hexanoico



La Preparación 3C se obtuvo de la Preparación 3B (528,3 mg, 1,140 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1D. La Preparación 3C (306,7 mg, 76 %) se obtuvo como un sólido ceroso incoloro (306,7 mg, 76 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 3,08 (1 H, ddd, $J=8,72, 4,20, 3,89$ Hz), 3,00 (1 H, ddd, $J=9,66, 7,03, 2,89$ Hz), 2,70-2,82 (4 H, m), 2,36 (1 H, ddd, $J=15,25, 10,73, 3,64$ Hz), 2,18-2,30 (2 H, m), 2,12 (2 H, dd, $J=10,16, 5,65$ Hz), 1,90-2,02 (2 H, m), 1,70-1,81 (3 H, m), 1,45-1,51 (18 H, m).

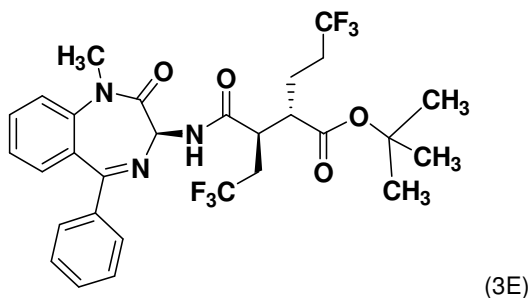
Preparación 3D: ácido (2R,3S)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6,6,6-trifluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)hexanoico



La Preparación 3D se obtuvo de la Preparación 3C (306,7 mg, 0,871 mmol) mediante los métodos generales indicados para enriquecer la mezcla de la Preparación 1E y de la Preparación 1F. La Preparación 3D (297,0 mg,

97 %) se obtuvo como un sólido ceroso amarillo (297,0 mg, 97 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,99 (1 H, ddd, $J=9,47, 6,96, 2,89$ Hz), 2,69-2,82 (2 H, m), 2,18-2,31 (2 H, m), 2,06-2,18 (1 H, m), 1,91-2,03 (1 H, m), 1,68-1,80 (1 H, m), 1,46-1,51 (9 H, m).

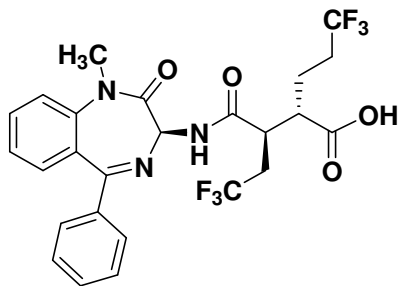
- 5 Preparación 3E: (2*S*,3*R*)-5,5,5-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)pentanoato de *tert*-butilo



(3E)

- 10 La Preparación 3E se obtuvo de la Preparación 3D (297,0 mg, 0,843 mmol) y de la Preparación 1G (212,0 mg, 0,799 mmol), mediante los métodos generales indicados para la Preparación 11. La Preparación 3E (471,7 mg, 98 %) se obtuvo como un sólido color tostado (471,7 mg, 98 %). MS (ES): $m/z = 600$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,75 (1 H, d, $J=7,78$ Hz), 7,54-7,64 (3 H, m), 7,43-7,51 (1 H, m), 7,34-7,43 (4 H, m), 7,22-7,31 (1 H, m), 5,50 (1 H, d, $J=7,53$ Hz), 3,48 (3 H, s), 2,87-2,96 (1 H, m), 2,73-2,83 (1 H, m), 2,60 (1 H, td, $J=10,10, 3,89$ Hz), 2,13-2,25 (3 H, m), 1,86-2,05 (2 H, m), 1,52 (9 H, s).

Preparación 3F: ácido (2*S*,3*R*)-5,5,5-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)pentanoico



(3F)

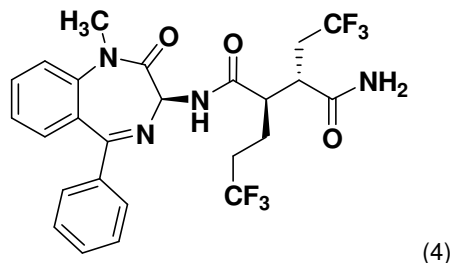
- 20 La Preparación 3F se obtuvo de la Preparación 3E (466,1 mg, 0,777 mmol) mediante los métodos generales indicados para la Preparación 1H. La Preparación 3F (451 mg, >99 %) se obtuvo como un sólido color tostado. MS (ES): $m/z = 544$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,29 (1 H, d, $J=7,53$ Hz), 7,64 (1 H, td, $J=7,84, 1,63$ Hz), 7,53-7,60 (2 H, m), 7,49 (1 H, t, $J=7,40$ Hz), 7,33-7,46 (4 H, m), 7,22-7,33 (2 H, m), 5,53 (1 H, d, $J=7,53$ Hz), 3,49 (3 H, s), 3,04-3,21 (2 H, m), 2,69-2,81 (2 H, m), 2,23-2,33 (2 H, m), 2,07-2,19 (2 H, m).

Ejemplo 3:

- 30 El Ejemplo 3 se obtuvo de la Preparación 3F (446 mg, 0,821 mmol) mediante los métodos generales indicados para el Ejemplo 1. Después de la separación de los diastereoisómeros, se obtuvo el Ejemplo 3: HPLC: RT = 3,17 min ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ con TFA, Sunfire C18 3,5 μm , 4,6 x 150 mm, 4,6 x 150 mm, gradiente = 15 min, longitud de onda = 220 y 254 nm). MS (ES): $m/z = 543,3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,72 (1 H, d, $J=8,53$ Hz), 7,71-7,77 (1 H, m), 7,66-7,71 (1 H, m), 7,64 (1 H, d, $J=1,25$ Hz), 7,48-7,57 (3 H, m), 7,39-7,47 (2 H, m), 7,30-7,39 (2 H, m), 7,23 (1 H, s), 5,36 (1 H, d, $J=8,53$ Hz), 3,39 (3 H, s), 3,12-3,23 (1 H, m), 2,53-2,61 (1 H, m), 2,43 (1 H, td, $J=10,10, 3,89$ Hz), 2,16-2,28 (1 H, m), 2,02-2,16 (1 H, m), 1,82-1,96 (1 H, m), 1,68-1,82 (1 H, m).

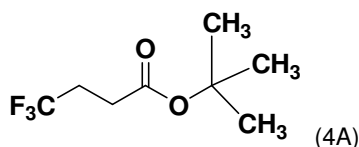
Ejemplo 4

(2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(2,2,2-trifluoroetil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida



(4)

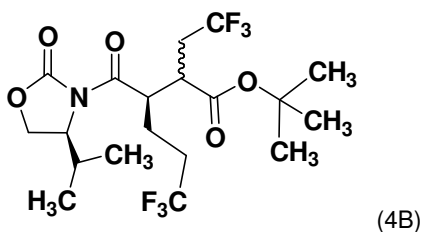
Preparación 4A: 4,4,4-trifluorobutanoato de *tert*-butilo



(4A)

La Preparación 4A se obtuvo de ácido 4,4,4-trifluorobutanoico (4,99 g, 35,1 mmol) usando el procedimiento general indicado para la Preparación 1A. La Preparación 4A (5,58 g, 80 %) se obtuvo como un aceite incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,47-2,52 (2 H, m), 2,37-2,45 (2 H, m), 1,46 (9 H, s).

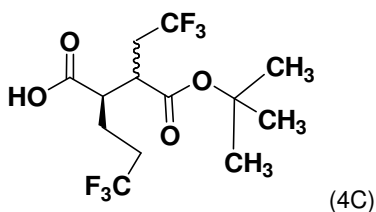
Preparación 4B: (3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((4*S*)-2-oxo-4-(propan-2-il)-1,3-oxazolidin-3-il)carbonil)-2-(2,2,2-trifluoroetil)hexanoato de *tert*-butilo



(4B)

La Preparación 4B se obtuvo de la Preparación 4A (1058,3 mg, 5,34 mmol) y de la Preparación 1B (809,2 mg, 3,03 mmol), de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1C. La Preparación 4B (690,1 mg, 49 %) se obtuvo como un aceite viscoso amarillo pálido. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,45-4,52 (1 H, m), 4,23-4,40 (1 H, m), 4,05-4,12 (1 H, m), 3,70 (1 H, t, *J*=6,7 Hz), 3,05 (1 H, ddd, *J*=9,9, 5,0, 2,3 Hz), 2,99 (1 H, ddd, *J*=11,2, 5,8, 1,8 Hz), 2,58-2,91 (2 H, m), 2,38-2,49 (1 H, m), 2,27-2,36 (1 H, m), 2,07-2,26 (1 H, m), 1,96-2,04 (1 H, m), 1,85-1,94 (1 H, m), 1,72-1,82 (1 H, m), 1,46 (3 H, s), 0,88-0,98 (3 H, m); HPLC: RT = 3,36 min (MeOH/H₂O/0,1 % de TFA, CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm, gradiente de 4 min, longitud de onda = 220 nm).

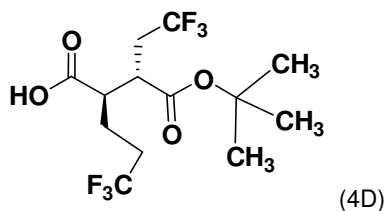
Preparación 4C: ácido (2*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-5,5,5-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)pentanoico



(4C)

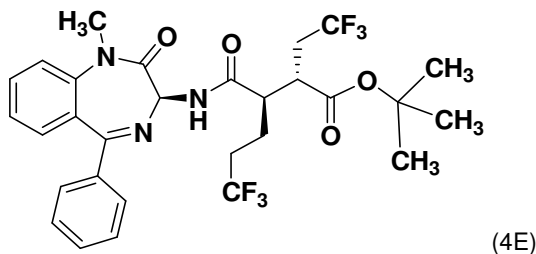
La Preparación 4C se obtuvo de la Preparación 4B (690,1 mg, 1,489 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1E. La Preparación 4C (335,9 mg, 64 %) se obtuvo como un aceite incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,91-3,03 (1 H, m), 2,63-2,88 (2 H, m), 2,50 (1 H, t, *J*=7,3 Hz), 2,07-2,43 (4 H, m), 1,89-2,05 (2 H, m), 1,73-1,88 (1 H, m), 1,47 (5 H, s), 1,47 (4 H, s).

Preparación 4D: ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-5,5,5-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)pentanoico



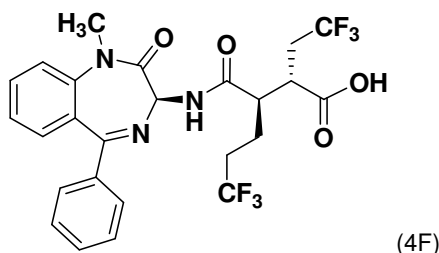
- 5 La Preparación 4D se obtuvo de la Preparación 4C (335,9 mg, 0,954 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para enriquecer la mezcla de la Preparación 1E y de la Preparación 1F. La Preparación 4D (277,8 mg, 83 %) se obtuvo como un aceite marrón. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,90-3,03 (1 H, m), 2,64-2,88 (2 H, m), 2,50 (1 H, t, *J*=7,3 Hz), 2,06-2,43 (3 H, m), 1,89-2,03 (1 H, m), 1,73-1,88 (1 H, m), 1,47 (9 H, s).

- 10 Preparación 4E: (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(2,2,2-trifluoroetil)hexanoato de *tert*-butilo



- 15 La Preparación 4E se obtuvo de la Preparación 4D (277,8 mg, 0,789 mmol) y de la Preparación 1G (210,2 mg, 0,792 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1I. La Preparación 4E se obtuvo como un sólido cremoso (420,2 mg, 89 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,55-7,65 (3 H, m), 7,48 (1 H, d, *J*=7,5 Hz), 7,36-7,45 (4 H, m), 5,51 (1 H, d, *J*=7,8 Hz), 3,49 (3 H, s), 2,87-2,92 (1 H, m), 2,63 (1 H, s), 2,47-2,58 (1 H, m), 2,16-2,36 (2 H, m), 1,93-2,06 (1 H, m), 1,80 (1 H, s), 1,51 (9 H, s); LCMS: RT = 4,02 min (MeOH/H₂O/0,1 % de TFA, CHROMOLITH® RP-18e 2,0 x 50 mm, gradiente de 4 min., longitud de onda = 254 nm); MS (ES): *m/z* = 600 [M+H⁺].
- 20

Preparación 4F: ácido (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(2,2,2-trifluoroetil)hexanoico



- 25
- La Preparación 4F se obtuvo de la Preparación 4E (417,2 mg, 0,696 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1K. La Preparación 4F se obtuvo como un solvato de TFA como un sólido color ámbar (476,0 mg, 96 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,25 (1 H, d, *J*=8,0 Hz), 7,73-7,82 (1 H, m), 7,56-7,67 (2 H, m), 7,34-7,54 (3 H, m), 5,67 (1 H, d, *J*=8,3 Hz), 3,49-3,60 (2 H, m), 3,05-3,13 (1 H, m), 2,81-2,97 (1 H, m), 2,39-2,60 (1 H, m), 2,18-2,33 (1 H, m), 1,95-2,13 (1 H, m); LCMS: RT = 3,43 min (MeOH/H₂O/0,1 % de TFA, CHROMOLITH® RP-18e 2,0 x 50 mm, gradiente de 4 min, longitud de onda = 254 nm); MS (ES): *m/z* = 544 [M+H⁺].
- 30

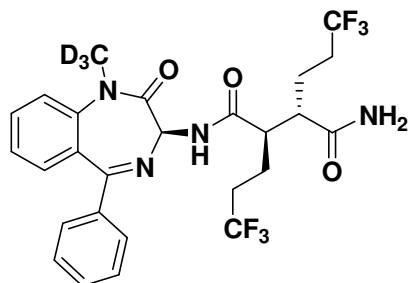
Ejemplo 4:

- 35 El Ejemplo 4 se obtuvo de la Preparación 4F (476,3 mg, 0,667 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para el Ejemplo 1. Después de la separación de los diastereoisómeros, el Ejemplo 4 se obtuvo como un sólido cremoso (120,3 mg, 32 %). HPLC: RT = 9,446 min (H₂O/CH₃CN con TFA, Sunfire C18 3,5μm, 4,6 x 150 mm, 4,6 x 150 mm, gradiente = 15 min, longitud de onda = 220 y 254 nm); MS (ES): *m/z* = 543 [M+H⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,56 (1 H, d, *J*=7,03 Hz), 7,82 (1 H, s), 7,70-7,78 (1 H, m), 7,64-7,70 (1 H, m), 7,50-7,63 (3 H, m), 7,47 (2 H, d, *J*=7,78 Hz), 7,30-7,42 (2 H, m), 7,21 (1 H, s), 5,30 (1 H, d, *J*=7,03 Hz), 3,39 (3 H, s), 2,67-2,80 (2 H, m), 2,51-2,62 (2 H, m), 2,19-2,29 (1 H, m), 2,07-2,21 (1 H, m), 1,60-1,72 (2 H, m).
- 40

Ejemplo 5

(2,3*S*)-*N*-((3*S*)-1-(²H₃)metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida

5



(5)

En un vial de tapa a rosca de 5 ml, se agregó el Ejemplo 2 (50 mg, 0,092 mmol), carbonato de cesio (60,1 mg, 0,184 mmol) y iodometano-d₃ (6,88 µL, 0,111 mmol) en DMF (2 ml) para obtener una suspensión. La mezcla se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante la noche. La LCMS indicó que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se disolvió en 2 ml de 1:1 DMF/AcOH y se purificó mediante HPLC preparativa en Luna ODS 5 µm 21,2 x 100 mm, que se eluyó con un gradiente de 7 min de 10 % a 100 % ACN/agua 0,1 % de TFA a 100 %. Se concentraron las fracciones adecuadas para obtener el Ejemplo 5 (35 mg, 65 %): HPLC: RT = 3,04 min (columna CHROMOLITH® S5 ODS 4,6 x 50 mm, 10-90 % de metanol acuoso durante 4 minutos, y contiene 0,1 % de TFA, 4 ml/min, control a 220 nm); MS (ES): *m/z* = 599 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,55 (1 H, d, *J*=7,5 Hz), 7,71-7,80 (1 H, m), 7,67 (2 H, d, *J*=8,3 Hz), 7,51-7,60 (3 H, m), 7,42-7,49 (2 H, m), 7,30-7,39 (2 H, m), 7,15 (1 H, s), 5,30 (1 H, d, *J*=7,3 Hz), 2,75-2,87 (1 H, m), 2,40-2,48 (1 H, m), 2,04-2,31 (4 H, m), 1,46-1,76 (4 H, m).

Ejemplos 6 a 11

Los compuestos enumerados a continuación se prepararon de acuerdo con el procedimiento sintético general descrito en el Ejemplo 1, usando la benzodiazepinona adecuada obtenida con los métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, Carter, M.C. et al., *J. Med. Chem.*, 49:2311-2319 (2006).

Tabla 6

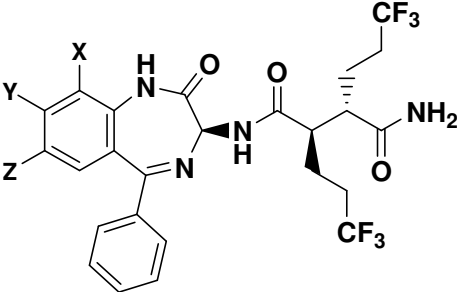
Ej. N°	Y	Z	Nombre del compuesto	[M+H] ⁺	Tiempo de ret. de HPLC (min)
6	H	Cl	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- <i>N</i> -((3 <i>S</i>)-7-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	591	17,21 ^a
7	OCH ₃	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- <i>N</i> -((3 <i>S</i>)-8-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	[M-H]=585	15,86 ^a
8	F	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- <i>N</i> -((3 <i>S</i>)-8-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	575	10,317 ^b
9	H	OCH ₃	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- <i>N</i> -((3 <i>S</i>)-7-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	587	15,92 ^a
10	H	F	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- <i>N</i> -((3 <i>S</i>)-7-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	575	16,15 ^a

11	Cl	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-8-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	591	17,58 ^a
^a Xbridge Phenyl (4,6 X 150 mm), 3,5 micrómetros; 1 ml/min de velocidad de flujo; gradiente 10-100 % B durante 30 min (A:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (95:5), B:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (5:95) a 220 y 250 nm); ejecución de 30 min.					
^b Xbridge Phenyl (4,6X150 mm), 3,5 micrómetro; 1mL/min de velocidad de flujo; gradiente 10-100 % B durante 15 min (A:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (95:5), B:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (5:95) a 220 y 250 nm); ejecución de 15 min.					

Ejemplos 12 a 18

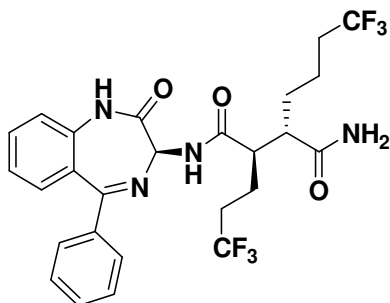
- 5 Los compuestos enumerados a continuación se prepararon de acuerdo con el procedimiento sintético general descrito en el Ejemplo 1, usando la benzodiazepinona adecuada obtenida con los métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, Carter, M.C. et al., *J. Med. Chem.*, 49:2311-2319 (2006).

Tabla 7

						
Ej. N°	X	Y	Z	Nombre del compuesto	[M+H] ⁺	Tiempo de ret. de HPLC (min)
12	OCH ₃	H	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	573	14,741 ^a
13	H	OCH ₃	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	[M-H]=571	9,38 ^b
14	H	H	OCH ₃	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-7-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	[M-H]=571	9,14 ^b
15	OCH ₃	CN	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-8-ciano-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	598	0,95 ^c
16	Cl	Cl	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-8,9-dicloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	611	2,095 ^d
17	F	H	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-9-fluoro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	561	2,698 ^e
18	Cl	H	H	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-N-((3 <i>S</i>)-9-cloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida	577	1,982 ^d
^a Xbridge Phenyl (4,6 X 150 mm), 3,5 micrómetros; 1 ml/min de velocidad de flujo; gradiente 10--100 % B durante 12 min (A:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (95:5), B:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (5:95) a 220 y 250 nm); ejecución de 25 min.						
^b Xbridge Phenyl (4,6 X 150 mm), 3,5 micrómetros; 1 ml/min de velocidad de flujo; gradiente 10--100 % B durante 12 min (A:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (95:5), B:0,05 % de TFA en agua/CH ₃ CN (5:95) a 220 y 250 nm); ejecución de 15 min.						
^c LCMS: MeOH/H ₂ O/0,1 % de TFA, BEH C18 2,1 x 50 mm 1,7 u, gradiente de 2 min, longitud de onda = 254 nm.						
^d MeOH/H ₂ O/0,1 % de TFA, Waters Sunfire C ₁₈ 2,1 x 30 mm, gradiente de 2 min, longitud de onda = 254 nm.						
^e CHROMOLITH® ODS 4,6 x 50 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos y contiene 0, % de TFA, 4 ml/min, control a 220 nm.						

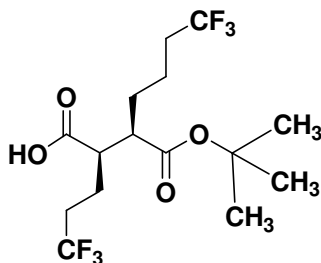
Ejemplo 19

(2*R*,3*S*)-*N*-((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida



(19)

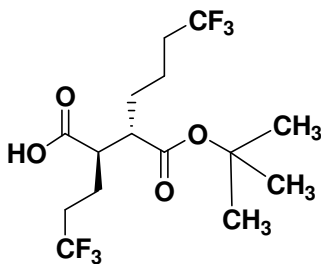
Preparación 19A: ácido (2*R*,3*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-7,7,7-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)heptanoico



(19A)

La Preparación 19A se obtuvo de la Preparación 9A (674 mg, 2,59 mmol) y de la Preparación 1P (500 mg, 1,850 mmol) de acuerdo con el procedimiento alternativo indicado para la Preparación 1E. Se obtuvo la Preparación 19A (521 mg, 28 %): MS (ES): m/z = 379 [M-H]⁻.

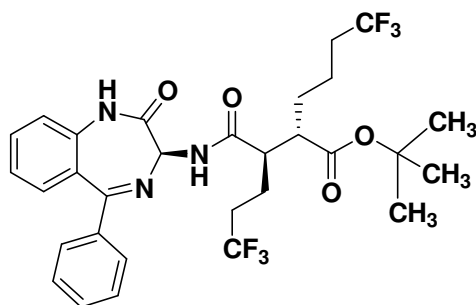
Preparación 19B: ácido (2*R*,3*S*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-7,7,7-trifluoro-2-(3,3,3-trifluoropropil)heptanoico



(19B)

La Preparación 19B se obtuvo de la Preparación 19A (198 mg, 0,521 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para enriquecer la mezcla de la Preparación 1E y de la Preparación 1F. Se obtuvo la Preparación 19B (192 mg, 98 %): MS (ES): m/z = 379 [M-H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,65-2,72 (1 H, m), 2,60 (1 H, ddd, J =10,33, 8,81, 3,61 Hz), 2,19-2,30 (2 H, m), 2,06-2,16 (3 H, m), 1,85-1,96 (1 H, m), 1,70-1,81 (2 H, m), 1,51-1,67 (3 H, m), 1,47 (7 H, s).

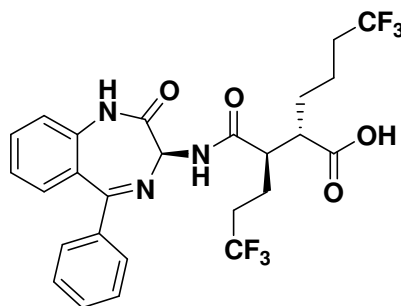
Preparación 19C: (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(4,4,4-trifluorobutil)hexanoato de *tert*-butilo



(19C)

La Preparación 19C se obtuvo de la Preparación 19B (45,4 mg, 0,119 mmol) y de la Preparación 2A (30 mg, 0,119 mmol), de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1I. Se obtuvo la Preparación 19C (82 mg, 100 %): HPLC: RT = 3,475 min (CHROMOLITH® 5u C18 4,6 x 30 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos y contiene 0,1 % de TFA, control a 220 nm); MS (ES): m/z = 614 $[M+H]^+$.

Preparación 19D: ácido (2*S*,3*R*)-6,6,6-trifluoro-3-(((3*S*)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)carbamoil)-2-(4,4,4-trifluorobutil)hexanoico



(19D)

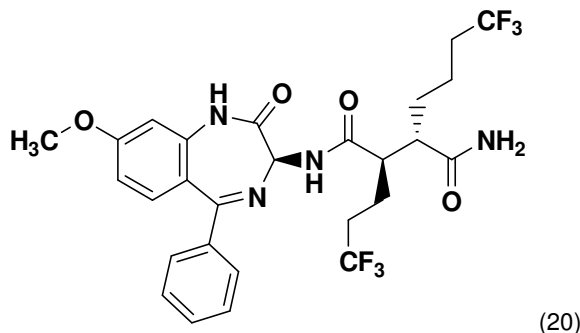
La Preparación 19D se obtuvo de la Preparación 19C (73 mg, 0,119 mmol), de acuerdo con el procedimiento general indicado para la Preparación 1K. Se obtuvo la Preparación 19D (80 mg, 100 %) como un solvato de TFA: HPLC: RT = 2,926 min (CHROMOLITH® 5u C18 4,6 x 30 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos y contiene 0,1 % de TFA, control a 220 nm).

Ejemplo 19:

El Ejemplo 19 se obtuvo de la Preparación 19D (80 mg, 0,119 mmol) de acuerdo con el procedimiento general indicado para el Ejemplo 1. Después de la separación de los diastereoisómeros, se obtuvo el Ejemplo 19 (35 mg, 49 %). HPLC: RT = 2,731 min (CHROMOLITH® 5u C18 4,6 x 30 mm (gradiente de 4 min) que se eluye con 10-90 % de MeOH acuoso durante 4 minutos, y contiene 0,1 % de TFA, control a 220 nm); MS (ES): m/z = 557 $[M+H]^+$; 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 10,82 (1 H, s), 9,42 (1 H, d, J =7,21 Hz), 7,65 (1 H, ddd, J =8,32, 7,07, 1,53 Hz), 7,60 (1 H, d, J =2,22 Hz), 7,49-7,57 (3 H, m), 7,42-7,49 (2 H, m), 7,29-7,35 (2 H, m), 7,20-7,28 (1 H, m), 7,03 (1 H, s), 5,23 (1 H, d, J =7,21 Hz), 2,70-2,79 (1 H, m), 2,57-2,69 (1 H, m), 2,39-2,47 (1 H, m), 2,05-2,32 (3 H, m), 1,50-1,67 (3 H, m), 1,40-1,49 (1 H, m), 1,24-1,39 (2 H, m).

Ejemplo 20

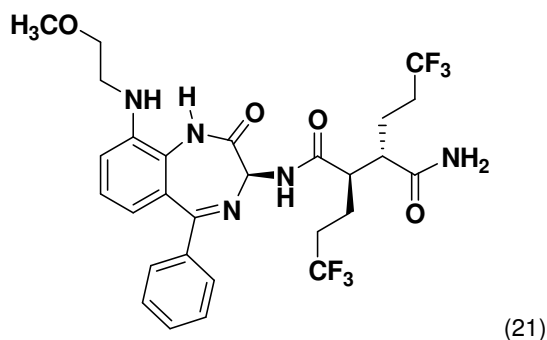
(2*R*,3*S*)-N1-((3*S*)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida



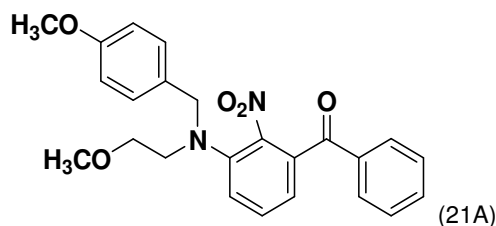
El Ejemplo 20 se preparó mediante una secuencia de reacciones descrita para el Ejemplo 19 usando la Preparación 19B en lugar de la Preparación 1E. La mezcla de diastereoisómeros obtenida se separó mediante HPLC quiral para obtener el Ejemplo 20. RT de HPLC = 0,89 min (BEH C18 2,1 X 50 mm, 1,7 u, 0 a 100 B en 1 min con 0,5 min de tiempo de mantenimiento; velocidad de flujo = 1 ml/min, detección a 254 nm, disolvente A: 100 % de agua / 0,1 % de TFA; Solvente B: 100 % de ACN / 0,1 % de TFA). MS (ES): m/z = 587,2 $[M+H]^+$.

Ejemplo 21

(2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-9-((2-metoxietil)amino)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida

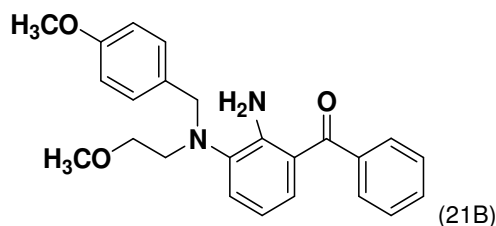


Preparación 21A: (3-((4-metoxibencil)(2-metoxietil)amino)-2-nitrofenil)(fenil)metanona



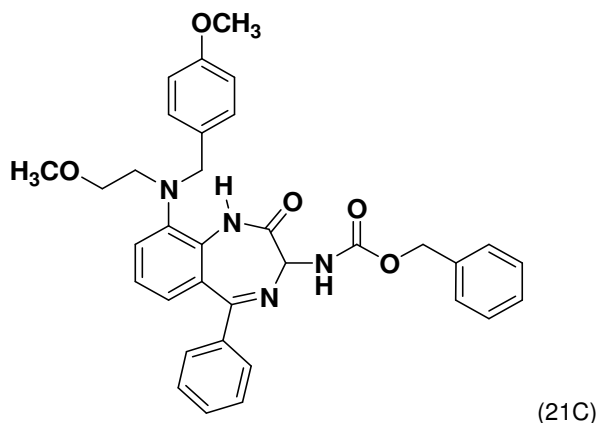
Se calentó una mezcla de (3-cloro-2-nitrofenil)(fenil)metanona (850 mg, 3,25 mmol) y 2-metoxi-N-(4-metoxibencil)etanamina (3171 mg, 16,24 mmol) a 100 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se dividió en agua (50 ml) y DCM (50 ml), se extrajo con DCM (3 X 50 ml), se secó en Na₂SO₄ y se purificó usando cromatografía en gel de sílice (gradiente paso por paso: 30 a 50 % de acetato de etilo/hexanos) para aislar la Preparación 21A (780 mg, 57,1 % de rendimiento) como un aceite marrón: LC/MS (PHENOMENEX® Luna 5 micrómetros C18 4,6 X 30 mm, B al 0-100 en 2 min con 1 min de tiempo de mantenimiento, velocidad de flujo = 5 ml/min, detección a 254 nm, Solvente A: 10 % de metanol / 90 % de agua / 0,1 % de TFA; Solvente B: 10 % de agua / 90 % de metanol / 0,1 % de TFA) RT = 2,32; MS (ES) m/z = 443,10 $[M+Na]^+$.

Preparación 21B: (2-amino-3-((4-metoxibencil)(2-metoxietil)amino)fenil)(fenil)metanonona



- 5 Se calentó la Preparación 21A (700 mg, 1,665 mmol), zinc (1089 mg, 16,65 mmol) y cloruro de amonio (891 mg, 16,65 mmol) en EtOH (40 ml) y agua (20 ml) a 90 °C durante 5 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de CELITE®, se dividió en agua/DCM, se extrajo con 3 X 10 ml de DCM, se secó en Na₂SO₄ y se concentró para aislar la Preparación 21B (580 mg, 89 % de rendimiento): LC/MS (PHENOMENEX® Luna 5 micrómetros C18 4,6 X 30 mm, B al 30-100 en 4 min con 1 min de tiempo de mantenimiento, velocidad de flujo = 5 ml/min, detección a 254 nm,
- 10 Solvente A: 10 % de metanol / 90 % de agua / 0,1 % de TFA; Solvente B: 10 % de agua / 90 % de metanol / 0,1 % de TFA): RT = 2,47 min; MS (ES): *m/z* = 391,16 [M+H]⁺.

Preparación 21C: 9-((4-metoxibencil)(2-metoxietil)amino)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-3-ilcarbamato de bencilo



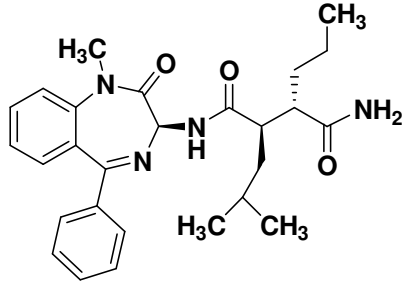
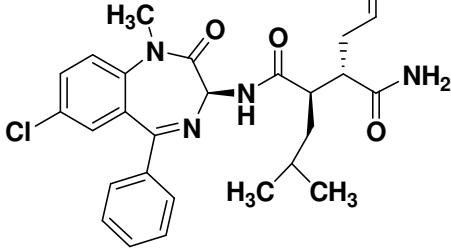
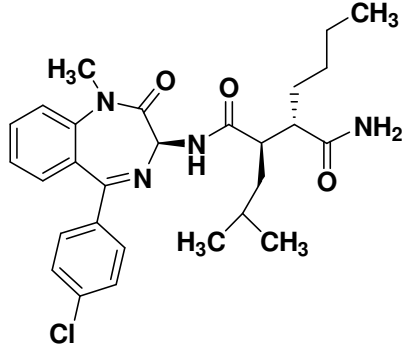
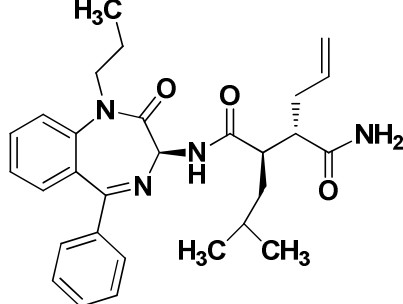
- La Preparación 21C se obtuvo de la Preparación 21B de acuerdo con el procedimiento general para la Preparación 50D (38,6 % de rendimiento): LC/MS (PHENOMENEX® Luna 5 micrómetros C18 4,6 X 30 mm, B al 30-100 en 4 min con 1 min de tiempo de mantenimiento, velocidad de flujo = 5 ml/min, detección a 254 nm, Solvente A: 10 % de metanol/ 90 % de agua / 0,1 % de TFA; Solvente B: 10 % de agua / 90 % de metanol / 0,1 % de TFA) RT = 2,42 min; MS (ES): *m/z* = 579,22 [M+H]⁺.
- 20

Ejemplo 21:

- 25 El Ejemplo 21 se obtuvo de la Preparación 21C mediante el uso de la secuencia general de reacciones, como se describió en el Ejemplo 1. La mezcla de diastereoisómeros obtenida se separó mediante HPLC quiral para obtener el Ejemplo 21: LC/MS (PHENOMENEX® Luna 5 micrómetros C18 4,6 X 30 mm, B al 30-100 en 4 min con 1 min de tiempo de mantenimiento, velocidad de flujo = 5 ml/min, detección a 254 nm, Solvente A: 10 % de metanol / 90 % de agua / 0,1 % de TFA; Solvente B: 10 % de agua / 90 % de metanol / 0,1 % de TFA) RT = 2,13 min; MS (ES): *m/z* = 616,22 [M+H]⁺.
- 30

Compuestos comparativos 22 a 25

- 35 Los Compuestos comparativos 22 a 25 se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en la patente estadounidense N° 7.053.084 para los Ejemplos 8, 12a, 38 y 45a, respectivamente.

Compuesto Comparativo	US 7.053.084	Estructura
22	Ej. 8	
23	Ej. 12a	
24	Ej. 38	
25	Ej. 45a	

Ejemplo 26

- 5 Composición farmacéutica que comprende (2R,3S)-N-((3S)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida

Se formuló un producto farmacológico inyectable que comprende 2R,3S)-N-((3S)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida, Ejemplo 1, como una solución estéril de un
 10 único uso lista para usar para administración intravenosa (IV) usando combinaciones 50:50 (v/v) de aceite de ricino polioxietilado (un tensioactivo) y alcohol deshidratado (un disolvente). El producto farmacológico era una solución estéril incolora a amarilla pálida, transparente a apenas turbia (opalescente), almacenada en viales de cristal de roca de 5 ml, cerrados con tapones de 20 -mm y sellados con sellos de aluminio de 20 mm. La formulación concentrada
 15 se puede diluir antes de la administración con diluyentes intravenosos de uso habitual, tales como solución salina normal (NS) o 5 % de dextrosa, a fin de obtener un producto diluido fisiológicamente aceptable.

Tabla 11

Composición farmacéutica concentrada		
Componente		Cantidad (mg/ml)
Ejemplo 1	ingrediente farmacéutico activo	1,2
Aceite de ricino polioxietilado purificado	solubilizante	0,5
Alcohol deshidratado	disolvente	0,5
Aceite de ricino polioxietilado purificado: CREMOPHOR (BASF Corp.)		

Se descubrió que la formulación farmacéutica concentrada es estable cuando se almacena a 25 °C/60 % de humedad relativa, 40 °C/75 % de humedad relativa y 50 °C por un período de tres meses. Asimismo, un estudio de fotoestabilidad (HIL/UVA) indicó que no era necesario proteger el producto de la luz. La formulación concentrada del Ejemplo 1 presentó estabilidad de almacenamiento a largo plazo, incluida la estabilidad química y física.

Antes de la administración IV, la formulación farmacéutica concentrada se diluyó con solución salina normal (NS) o 5 % de dextrosa en agua (D5W) para concentraciones de 0,01 mg/ml a 0,06 mg/ml. Los resultados de tiempo de uso/compatibilidad indicaron que el producto diluido en NS o D5W a concentraciones en el rango de 0,01 mg/ml a 0,06 mg/ml era compatible con bolsas de infusión IV que no eran de PVC ni de DEHP. Prácticamente no hubo cambios en los resultados durante 24 horas de almacenamiento a 2 °C-8 °C o a temperatura ambiente/luz ambiente (25 °C y aproximadamente 5000 lux).

Ensayos biológicos

Las propiedades farmacológicas de los compuestos de esta invención se pueden confirmar mediante varios ensayos biológicos. Los ensayos biológicos ejemplificados a continuación se realizaron con compuestos de la invención.

Ensayo de transactivación de Notch-CBF1

El ensayo de transactivación celular Notch-CBF1 (factor de unión I del promotor C) se basa en la capacidad que tienen los fragmentos del dominio intracelular de Notch liberados (NICD) para funcionar como factores de transcripción junto con CBF1 y otros factores nucleares. Los ensayos de luciferasa se usaron para medir el antagonismo de la actividad transcripcional de Notch-CBF1. Las células de cáncer de cuello uterino HeLa se cotransfectan transitoriamente con pCDNA3.1/Higro plásmidos que contienen receptores Notch 1, Notch 2, Notch 3 o Notch 4 truncados y un vector indicador de luciferasa PGL3 que contiene 4 copias del sitio de unión a CBF1. Las células se evaluarán para determinar la actividad de Notch-CBF1 en ausencia o presencia de compuestos de prueba. Las células HeLa, mantenidas en DMEM (alta glucosa con HEPES), 1X glutamina/penicilina/estreptomicina y 10 % de suero bovino fetal, se transfectaron transitoriamente en un recipiente T175 (4,5 x 10⁶ células/recipiente) usando el kit de transfección Monster (Mirus #MIR2906) de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La Tabla 12 denota la cantidad correspondiente de ADN para las transfecciones.

Tabla 12

	ADN (μg)	CBF1 (μg)	Vector (μg)	ADN total (μg)
Notch 1 humano	6	14,4	15,6	36,0
Notch 2 humano	2	14,4	19,6	36,0
Notch 3 humano	0,3	14,4	21,3	36,0
Notch 4 humano	4	14,4	17,6	36,0

Seis horas después de la transfección, las células se tripsinizaron y se colocaron en una placa negra de cultivo de tejido recubierta con poli-d-lisina de 384 cavidades con una densidad de 5 x 10³ células/cavidad en medios de ensayo de 95 μL (DMEM (alta glucosa con HEPES), 1X glutamina/penicilina/estreptomicina, 0,0125 % de BSA, 1X aminoácidos no esenciales). Los medios de ensayo (5 μL) que contienen los compuestos de prueba en concentraciones finales que varían de 5 μM a 8,4 x 10⁻⁵ μM (diluciones en serie de 3 veces) se agregaron las células, y las placas de células luego se incubaron durante 18 horas a 37 °C y 5 % de CO₂. Las cavidades de control contenían vehículo de DMSO (recuentos totales) o 0,5 μM de un inhibidor de moléculas pequeñas propio (recuentos de fondo). Se usaron duplicados para cada muestra. La actividad de luciferasa se midió después de una incubación de 20 minutos con 50 μL de reactivos de luciferasa STEADY-GLO®, de acuerdo con las especificaciones del fabricante (Promega, Cat. #: E2550) y se analizó con el lector de placas Envision (PerkinElmer, Boston, MA).

El efecto antagonista de los compuestos se expresó como 100 x [1-(muestra promedio - fondo promedio)/(total promedio - fondo promedio)], en donde la muestra es la actividad de luciferasa en presencia del compuesto de prueba, el fondo es igual a la actividad de luciferasa en presencia del control del inhibidor de moléculas pequeñas, y el total es una señal inducida en cavidades de DMSO. Los datos se representaron gráficamente usando una

ecuación logística ideal de cuatro parámetros, y el valor C_{50} se definió como la concentración del compuesto que inhibió el 50 % de la actividad de luciferasa.

La Tabla 13, a continuación, enumera los valores IC_{50} de Notch 1 y Notch 3 para los Ejemplos 1 a 21 de esta invención y los Compuestos comparativos 22 a 25 medidos en el ensayo de transactivación de Notch-CBF1 antes mencionado. Los resultados en la Tabla 13 se redondearon a 2 dígitos. Los compuestos de la presente invención, como se ejemplifica en los Ejemplos 1 a 21, mostraron valores de Notch 1 de 6,6 nM o menos y valores IC_{50} de Notch 3 de 13 nM o menos.

Tabla 13

Ejemplo	Notch 1 (IC_{50} , nM)	Notch 3 (IC_{50} , nM)
1	1,6	3,4
2	1,7	3,3
3	3,1	4,7
4	1,5	2,5
5	1,2	5,9
6	6,5	10
7	1,5	2,8
8	4,9	8,1
9	4,4	8,2
10	2,9	4,6
11	1,3	2,0
12	2,5	4,2
13	2,1	3,8
14	5,2	13
15	12	16
16	4,2	6,4
17	3,6	7,1
18	0,53	2,3
19	1,3	3,8
20	2,9	4,2
21	1,5	4,2
Compuesto comparativo 22	64	48
Compuesto comparativo 23	42	75
Compuesto comparativo 24	5,1	13
Compuesto comparativo 25	12	12

Panel de estabilidad metabólica de alto rendimiento (HT)

Los compuestos administrados de manera parenteral ingresan en el torrente sanguíneo y experimentan una o más pasadas a través del hígado. Los compuestos que no se metabolizan fácilmente mediante el hígado se pueden administrar en niveles de plasma terapéuticamente eficaces durante períodos terapéuticamente eficaces.

Generalmente, los compuestos administrados de manera oral se absorben a través de las paredes intestinales en el torrente sanguíneo y experimentan una primera pasada a través del hígado. Los compuestos que no se metabolizan fácilmente en la primera pasada a través del hígado se pueden distribuir a otras áreas del cuerpo en cantidades terapéuticamente eficaces.

El ensayo de estabilidad metabólica evaluó la estabilidad metabólica mediada por CYP *in vitro* usando microsomas de seres humanos, rata, ratón, perrón y/o mono después de una incubación de diez minutos. Cada compuesto se evaluó en duplicado.

Los resultados de estos ensayos se expresaron como la fracción del compuesto de origen que permaneció en la mezcla de reacción después de una incubación de diez minutos (porcentaje remanente). En general, estos resultados se usaron para evaluar solo el alcance del metabolismo mediado por CYP o dependiente de NADPH del compuesto de prueba. Cuando el compuesto se metabolizaba significativamente (<40-50 % remanente), esto

indicaba una alta depuración del compuesto *in vivo* debido al metabolismo mediado por CYP. Sin embargo, si el compuesto demostraba un metabolismo moderado (50-80 %) o bajo (>85 %) en estos ensayos *in vitro*, una alta depuración era posible *in vivo* mediante otras vías de metabolismo y eliminación.

- 5 Los resultados de porcentaje remanente de estos ensayos se utilizaron para predecir la depuración del compuesto *in vivo*, suponiendo que el metabolismo mediado por CYP era una vía de eliminación predominante. En diferentes especies microsómicas, los rangos de resultados fueron aproximadamente como se indicaron en la Tabla 14.

Tabla 14

Estabilidad metabólica - Pautas para la interpretación de resultados					
Depuración mediada por CYP	Porcentaje remanente después de 10 minutos				
	Ser humano	Rata	Ratón	Perro	Mono
Baja	>90	>85	>85	>90	>85
Media	60-90	40-85	50-85	55-90	40-85
Alta	<60	<40	<50	<55	<40

- 10 La Tabla 15 a continuación enumera la estabilidad metabólica mediada por CYP para los Ejemplos 1 a 21 de esta invención y los Compuestos comparativos 22 a 25 medidos en ensayos de estabilidad metabólica en seres humanos y ratones. Los resultados en la Tabla 15 se redondearon a 2 dígitos. En los ensayos de microsomas hepáticos, un valor remanente de 0 % indicaba un metabolismo mediado por CYP completo de un compuesto de prueba, y un valor de 100 % indicaba que no había metabolismo mediado por CYP detectable de un compuesto de prueba.
- 15 Los compuestos de la presente invención, como se ejemplifica en los Ejemplos 1 a 21, tuvieron valores de estabilidad metabólica de 80 % o más remanente para los microsomas hepáticos de ser humano (HLM) y 72 % o más remanente para microsomas hepáticos de ratón (MsLM). Por el contrario, los Compuestos comparativos 22 a 25 tuvieron valores de estabilidad metabólica de 39 % o menos remanente para microsomas hepáticos y de 15 % o menos remanente para los microsomas hepáticos de ratón.
- 20

Tabla 15

Ejemplo	0,5 μ M de HLM (% remanente)	0,5 μ M de MsLM (% remanente)
1	97	91
2	88	86
3	84	91
4	100	91
5	100	98
6	100	100
7	93	72
8	96	100
9	100	87
10	96	98
11	97	98
12	100	100
13	100	97
14	100	95
15	100	93
16	80	91
17	100	96
18	100	100
19	96	97
20	100	100
21	98	82
Compuesto comparativo 22	39	15
Compuesto comparativo 23	19	9,0
Compuesto comparativo 24	21	13
Compuesto comparativo 25	2,7	0,18

Los compuestos de la presente invención (Ejemplos 1 a 21) se compararon con los Compuestos comparativos 22 a 25 descritos en la patente estadounidense N° 7.456.172, y se descubrió que son especialmente beneficiosos. Los compuestos de la presente invención tenían la sorprendente ventaja de la combinación de actividad como inhibidores de Notch 1 y Notch 3, y mayor estabilidad metabólica que los microsomas hepáticos. Como se muestra en las Tablas 13 y 15, en las pruebas informadas, los Ejemplos 1 a 21 de esta invención tuvieron valores IC₅₀ de Notch 1 de 6,6 nM o menos y valores IC₅₀ de Notch 3 de 13 nM o menos; y valores de estabilidad metabólica de 80 % o más remanente para los microsomas hepáticos de ser humano (HLM) y 72 % o más remanente para microsomas hepáticos de ratón (MsLM). Por el contrario, en pruebas similares, los Compuestos comparativos 22 a 25 tuvieron valores IC₅₀ de Notch 1 de 5,1 nM o más y valores IC₅₀ de Notch 3 de 13 nM o más; y valores de estabilidad metabólica de 39 % o menos remanente para microsomas hepáticos humanos y 15 % o menos remanente para microsomas hepáticos de ratón.

Métodos y materiales

Incubación con microsomas hepáticos

El compuesto de prueba se recibió como una solución de reserva de 3,5 mM en 100 % de DMSO. El compuesto de prueba se diluyó para crear una solución de acetonitrilo de 50 µM (ACN) que contenía 1,4 % de DMSO, y que luego se usó como una reserva de 100 x para la incubación con microsomas. Cada compuesto se probó en duplicado en forma separada en cada una de las tres especies en el grupo de ensayos de estabilidad metabólica en seres humanos, ratas y ratones; o como especies individuales en los grupos de ensayos de estabilidad metabólica en perros o de estabilidad metabólica en monos. Las soluciones de compuesto, NADPH y microsomas hepáticos se combinaron para la incubación en tres etapas:

1. Se calentaron previamente a 37 °C 152 µl de suspensión de microsomas hepáticos, concentración proteica de 1,1 mg/ml en 100 mM de NaPi, pH 7,4, 5 mM de amortiguador MgCl₂.
2. Se agregaron 1,7 µl de 50 µM de compuesto (98,6 % de ACN, 1,4 % de DMSO) al mismo tubo y se preincubaron a 37 °C durante 5 minutos.
3. La reacción se inició con la adición de 17 µl de solución de 10 mM de NADPH precalentada en 100 mM de NaPi, pH 7,4.

Los componentes de la reacción se mezclaron adecuadamente, y se transfirieron inmediatamente 75 µl de la mezcla de reacción a 150 µl de solución de inactivación/detención (punto de tiempo cero, T₀). Las reacciones se incubaron a 37 °C durante 10 minutos, y luego, se transfirió una alícuota adicional de 75 µl en 150 µl de solución de inactivación. Se usó acetonitrilo que contenía 100 µM de DMN (un estándar de UV para el control de calidad de inyección), como la solución inactivadora, a fin de terminar las reacciones metabólicas.

Las mezclas inactivadas se centrifugaron a 1500 rpm (~500 X g) en un rotor centrífugo SX4750 ALLEGRA® X-12 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) durante 15 minutos hasta obtener pellets de microsomas desnaturalizados. Se transfirió un volumen de 90 µl de extracto de sobrenadante, que contenía la mezcla de un compuesto de origen y sus metabolitos a una placa separada de 96 cavidades para análisis de UV-LC/MS-MS, a fin de determinar el porcentaje de compuesto de origen que permaneció en la mezcla.

Tabla 16

Ensayo de estabilidad metabólica - Componentes de reacción	
Componentes de reacción	Concentración final en el ensayo de estabilidad metabólica
Compuesto (sustrato)	0,5 µM
Amortiguador NaPi, pH 7,4	100 mM
DMSO	0,014 %
Acetonitrilo	0,986 %
Microsomas (ser humano, rata, ratón) (BD/Gentest)	1 mg/ml de proteína
NADPH	1,0 mM
MgCl ₂	5,0 mM
Tiempo de incubación a 37 °C	0 minutos y 10 minutos
Solución de inactivación/detención (ACN+100 µM de DMN)	150 µl
Muestra de reacción	75 µl
Sedimentación de microsomas desnaturalizados	15 minutos
Análisis de UV-LC/MS del sobrenadante	0,17 µM

Análisis de muestras - Instrumentación

HPLC: Bomba - Thermo Surveyor; Cargador automático de muestra - CTC/LEAP HTS; detector de UV - Thermo Surveyor PDA plus; Columna - Varian C18, 3 μ m, 2 x 20 mm con un filtro en línea de 0,5 μ m; fase móvil para el análisis previo de la integridad estructural: (A) 98 % de agua, 2 % de acetonitrilo con 10 mM de acetato de amonio; (B) 10 % de agua, 90 % de acetonitrilo con 10 mM de acetato de amonio; análisis de muestra de reacción de fase móvil: (A) 98 % de agua, 2 % de acetonitrilo con 0,1 % de ácido fórmico; (B) 2 % de agua, 98 % de acetonitrilo con 0,1 % de ácido fórmico; (C) 0,1 % de hidróxido de amonio en agua; (D) 0,1 % de hidróxido de amonio en acetonitrilo.

Espectrómetro de masa: Espectrómetro de masa cuadrupolo triple Thermo TSQ Quantum Ultra;

Análisis de muestras: Análisis previo de integridad estructural.

El análisis de integridad estructural de estabilidad metabólica se usó para evaluar la pureza de los compuestos que se analizan. Los compuestos se recibieron en placas de 96 cavidades como 57 μ l de una solución de 3,5 mM de DMSO. Los de soluciones de reserva del compuesto de 3,5 mM en DMSO se diluyeron 18 veces con una solución que contenía iguales volúmenes de acetonitrilo, isopropanol y MilliQ-H₂O. Las soluciones resultantes (200 μ M) se analizaron para determinar la integridad estructural mediante LC-UV/MS en un espectrómetro de masa de trampa de iones Thermo LCQ Deca XP Plus, usando una columna Waters XBridge C18, de 5 μ m, 2 x 50 mm con una precolumna Waters Sentry de 2,1 mm, y las condiciones de LC descritas en la tabla que aparece a continuación, con una inyección de 5 μ l y una velocidad de flujo de 1 ml/min. Los datos adquiridos reflejaron pureza mediante absorbancia UV a 220 nm. Solo se informaron los resultados de los compuestos con una pureza superior al 50 %.

Tabla 17

Estabilidad metabólica - Gradiente de integridad estructural		
Tiempo de gradiente (min)	% de A	% de B
0,00	100	0
4,00	0	100
5,00	0	100
5,10	100	0
6,00	100	0

Análisis de muestras - Muestras incubadas

La optimización de las condiciones mediante MS/MS se realizó en un espectrómetro de masa cuadrupolo triple Thermo TSQ Quantum equipado con una fuente de electrospray calentada (H-ESI) mediante infusión automatizada para obtener transiciones de SRM y sus correspondientes valores de energía de colisión. Las soluciones de compuesto en una concentración de 20 μ M en 1:1 metanol:agua se sometieron a infusión a una velocidad de flujo de 90 μ L/min; luego, se combinaron con la fase móvil a una velocidad de flujo de 50 μ L/min antes de introducirse en la fuente. Todos los compuestos se optimizaron usando primero las fases móviles A y B (50 % de A y 50 % de B) y, de ser necesario, usando la fase móvil C y D (también con una composición 50:50). Los parámetros optimizados, que incluyen polaridad, transición de SRM y energía de colisión, se almacenaron en una base de datos de Microsoft Access.

Las condiciones de espectrometría de masa obtenidas de la infusión automatizada se usaron para analizar las muestras de incubación del ensayo de estabilidad metabólica. El volumen de inyección fue de 5 μ l, y la velocidad de flujo fue de 0,8 ml/min. El gradiente utilizado se indica en la tabla que aparece a continuación. Se inyectaron todas las muestras con gradiente usando primero las fases móviles A y B. De ser necesario (por ejemplo, por motivos de cromatografía), se volvieron a inyectar las muestras con el mismo gradiente, pero usando las fases móviles C y D. Todos los parámetros del análisis mediante LC-MS/MS se capturaron en forma electrónica en los archivos de datos sin procesar.

Tabla 18

Estabilidad metabólica - Gradiente de análisis de muestras		
Tiempo de gradiente (min)	% de A (o % de C)	% de B (o % de D)
0,00	95	5
0,20	95	5
0,30	0	100
1,05	0	100
1,10	95	5
1,50	95	5

Análisis de datos

La integración pico se logró con el software XCALIBUR®. El cálculo del porcentaje remanente se realizó comparando las áreas pico de LC-MS/MS de las muestras de $T_{10\text{minutos}}$ con las muestras de $T_{0\text{minutos}}$ de cada compuesto.

Control de calidad

Se evaluó un conjunto de tres compuestos junto con el compuesto de prueba en cada placa del ensayo. Los datos se aceptaban y se cargaban solo si los resultados para los tres compuestos de control se encontraban dentro de los rangos esperados que se indican a continuación.

Tabla 19

Ensayo de estabilidad metabólica - Valores de compuestos de control por especie de microsoma					
Compuesto	Porcentaje promedio remanente $\pm$ SD				
	Ser humano	Rata	Ratón	Perro	Mono
Nefazodone	$0,4 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,3$	$0,4 \pm 0,4$	$0,6 \pm 0,5$
Verapamil	$13,3 \pm 3,5$	$4,4 \pm 2,1$	$13,0 \pm 4,2$	$5,6 \pm 1,8$	$0,5 \pm 0,5$
Carbamezepine	96 ± 6	84 ± 9	90 ± 10	81 ± 7	89 ± 13
SD = Desviación típica					

Panel de vida media de la estabilidad metabólica

Las tasas de metabolismo y vida media determinadas *in vitro* en microsomas hepáticos de ser humano o de animal se utilizaron para determinar la depuración intrínseca (CL_{int}) y la depuración hepática ($CL_{h,b}$) de un compuesto. Estos parámetros fueron útiles para predecir la depuración en seres humanos *in vivo*, que define el nivel de exposición al fármaco *in vivo* (Obach et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 283:46-58 (1997); Obach, *Drug Metab. Dispos.*, 27:1350-1359 (1999)).

El panel de ensayo de vida media de la estabilidad metabólica evalúa el curso de tiempo y la tasa del metabolismo mediado por CYP (dependiente de NADPH) *in vitro* en microsomas de ser humano, rata, ratón, perro y mono. El curso de tiempo se extiende durante una incubación de 45 minutos e incluye puntos temporales a los 0, 5, 10, 15, 30 y 45 minutos, en cada uno de los cuales se midió la cantidad del compuesto de prueba remanente en la mezcla.

Pautas para la interpretación de resultados

Los resultados de estos ensayos se expresaron como una vida media ($T_{1/2}$, min), y también se informó la fracción del compuesto de origen remanente en la mezcla de reacción en cada punto temporal (porcentaje remanente). En general, estos resultados deberían usarse para evaluar solo el alcance del metabolismo mediado por CYP o dependiente de NADPH del compuesto de prueba. Cuando el compuesto se metabolizó significativamente ($T_{1/2} < 8-14$ min), esto indicó una alta depuración *in vivo* debido al metabolismo mediado por CYP. Sin embargo, si el compuesto demostraba un metabolismo moderado (50-80 %) o bajo (>85 %) en estos ensayos *in vitro*, una alta depuración era posible *in vivo* mediante otras vías de metabolismo y eliminación.

Los resultados de estos ensayos predijeron la depuración del compuesto *in vivo*, suponiendo que el metabolismo mediado por CYP era una vía de eliminación predominante. En diferentes especies microsómicas, los rangos de resultados fueron aproximadamente como se indica en la siguiente tabla:

Tabla 20

Vida media de la estabilidad metabólica - Pautas para la interpretación de resultados					
Depuración mediada por CYP	$T_{1/2}$, minutos				
	Ser humano	Rata	Ratón	Perro	Mono
Baja	>70	>40	>50	>65	>40
Media	14-70	8-40	10-50	12-65	8-40
Alta	<14	<8	<10	<12	<8

Métodos y materiales

Los microsomas hepáticos se compraron en BD-Biosciences (Woburn, MA) y NADPH, en AppliChem Inc; todos los otros reactivos se obtuvieron de Sigma.

Incubación con microsomas hepáticos

El compuesto de prueba se recibió como una solución de reserva de 3,5 mM en 100 % de DMSO. El compuesto de prueba se diluyó para crear una solución de 50 µM de acetonitrilo (ACN) que contenía 1,4 % de DMSO, que se usó luego como una reserva de 100 veces para la incubación con microsomas. Cada compuesto se probó en microsomas hepáticos de ser humano, rata, ratón, perro y mono. Las soluciones de compuesto, NADPH y microsomas hepáticos se combinaron para la incubación en tres etapas:

1. Se calentaron previamente a 37 °C, 450 µl de suspensión de microsomas hepáticos, concentración proteica de 1,1 mg/ml en 100 mM de NaPi, pH 7,4, 5 mM de amortiguador MgCl₂.
2. Se agregaron 5 µl de 50 µM de compuesto (98,6 % de ACN, 1,4 % de DMSO) al mismo tubo y se preincubaron a 37 °C durante 5 minutos.
3. La reacción se inició con la adición de 50 µl de solución de 10 mM de NADPH precalentada en 100 mM de NaPi, pH 7,4.

Los componentes de la reacción se mezclaron adecuadamente, y se transfirieron inmediatamente 65 µl a 130 µl de solución de inactivación/detención (punto de tiempo cero, T₀). Las reacciones se incubaron a 37 °C durante 5, 10, 15, 30 y 45 minutos, y en cada punto temporal, se transfirió una alícuota de 65 µl a 130 µl de solución de inactivación. Se usó un estándar interno que contenía acetonitrilo (100 ng/ml) como la solución de inactivación para terminar las reacciones metabólicas.

Las mezclas inactivadas se centrifugaron a 1500 rpm (~500 X g) en un rotor centrífugo SX4750 ALLEGRA® X-12 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) durante 15 minutos hasta obtener pelets de microsomas desnaturalizados. Luego, un volumen de 90 µl de extracto de sobrenadante que contenía la mezcla del compuesto de origen y sus metabolitos se transfirió a una placa separada de 96 cavidades para análisis mediante LC/MS-MS, a fin de determinar el porcentaje de compuesto de origen que permanecía en la mezcla.

Tabla 21

Ensayos de vida media de la estabilidad metabólica - Componentes de reacción	
Componentes de reacción	Concentración final en el ensayo de estabilidad metabólica
Compuesto (sustrato)	0,5 µM
Amortiguador NaPi, pH 7,4	100 mM
DMSO	0,014 %
Acetonitrilo	0,986 %
Microsomas (ser humano, rata, ratón) (BD/Gentest)	1 mg/ml de proteína
NADPH	1,0 mM
MgCl ₂	5,0 mM
Tiempo de incubación a 37 °C	0, 5, 10, 15, 30 y 45 minutos
Solución de inactivación/detención (ACN+100 µM de DMN)	130 µl
Muestra de reacción	65 µl
Sedimentación de microsomas desnaturalizados	15 minutos

Análisis de muestras - Instrumentación

HPLC: Bomba - bombas binarias Shimadzu LC-20, serie AD; Cargador automático - CTC/LEAP HTS.

Los compuestos de ejemplo de la invención mostraron la sorprendente ventaja de una depuración baja debido al metabolismo mediado por CYP tanto en los ensayos de estabilidad metabólica en seres humanos (HLM) como en ratones (MsLM). Los compuestos de la presente invención, como se ejemplifica en los Ejemplos 1-2, 5-7, 9-14, 16, 18, 21-23 y 26, tuvieron valores de porcentaje remanente en el rango de 60 % a 100 % para el ensayo de microsomas hepáticos en seres humanos, y 25 % a 100 % para el ensayo de microsomas hepáticos en ratones. Por el contrario, los compuestos comparativos 60-61 tuvieron valores de porcentaje remanente de 7,0 % o menos en los ensayos de microsomas hepáticos tanto en seres humanos como en ratones. Los compuestos comparativos 61-62 mostraron una alta depuración en los ensayos de estabilidad metabólica en seres humanos y en ratones, lo que indicó que los compuestos fueron eliminados por el metabolismo mediado por CYP en el hígado.

Modelos de xenoinjerto tumoral humano en ratones

Todos los roedores se obtuvieron de Harlan Sprague Dawley Co. (Indianapolis, Indiana) y se mantuvieron en un ambiente libre de amoníaco, en una colonia definida y libre de patógenos. Todos los ratones se pusieron en cuarentena aproximadamente 1 semana antes de su uso para las pruebas de propagación tumoral y eficacia farmacológica. Se les administró comida y agua a los ratones *ad libitum*. El programa de cuidado de animales del

Instituto de investigaciones farmacéuticas de Bristol-Myers Squibb cuenta con la completa acreditación de la American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC). Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los métodos y las pautas para pruebas en animales de Bristol-Myers Squibb (BMS).

- 5 Los xenoinjertos tumorales se cultivaron y se mantuvieron de manera subcutánea (SC) en ratones NOD-SCID, nu/nu desnudos o balb/c inmunodeprimidos (Harlan Sprague Dawley). Los tumores se propagaron como trasplantes subcutáneos en la cepa de ratones adecuada (Tabla 22) usando fragmentos tumorales obtenidos de los ratones donantes.

10 Tabla 22

Tipos histológicos y requisito de cepa/género de los ratones huésped para la propagación de varios xenoinjertos tumorales humanos en ratones			
Tipo de tumor	Histología	Cepa de ratón	Sexo
TALL-1	TODAS	NOD-SCID	hembra
HPB-ALL	TODAS	NOD-SCID	hembra
ALL-SIL	TODAS	NOD-SCID	hembra
MDA-MB-157	de mama	NOD-SCID	hembra
MDA-MB-468	de mama	NOD-SCID	hembra
PAT-34	de ovarios	desnudo	hembra
PAT-50	de ovarios	desnudo	hembra
PAT-26	de páncreas	desnudo	hembra
PAT-27	de páncreas	desnudo	hembra

Ensayos de quimioterapia preclínica

- 15 Las cantidades de animales necesarias para detectar una respuesta significativa se agruparon al comienzo del experimento, y a cada uno se le administró un implante subcutáneo de un fragmento tumoral (~ 20 mg) con un trocar de calibre 13. Los tumores se cultivaron hasta obtener el tamaño predeterminado de la ventana (se excluyeron los tumores fuera del rango), y los animales se distribuyeron de manera pareja en distintos grupos de tratamiento y de control. Había, por lo general, 8 ratones por grupo de tratamiento y de control, con la excepción de los experimentos llevados a cabo en el modelo tumoral SAL-IGF (esto no está incluido en la Tabla 22), en el cual había generalmente
- 20 5 ratones por grupo de tratamiento y de control. El tratamiento de cada animal se basó en el peso corporal individual. Los animales que recibieron tratamiento se controlaron a diario para determinar la toxicidad/mortalidad relacionadas con el tratamiento. Cada grupo de animales se pesó antes del inicio del tratamiento (W_{t1}) y nuevamente después de la última dosis de tratamiento (W_{t2}). La diferencia en peso corporal ($W_{t2}-W_{t1}$) proporciona una medida de la toxicidad relacionada con el tratamiento.

- 25 La respuesta del tumor se determinó mediante la medición de los tumores con un calibre dos veces por semana, hasta que los tumores alcanzaron un tamaño "objetivo" predeterminado de 0,5 mg o 1 mg, según el tipo de tumor. Los pesos tumorales (mg) se calcularon de la fórmula:

30
$$\text{Peso tumoral} = (\text{longitud} \times \text{ancho}^2) \div 2$$

- Los criterios de respuesta del tumor se expresan en términos de inhibición del crecimiento del tumor (% de TGI). La demora del crecimiento del tumor se define como la diferencia en tiempo (días) necesaria para que los tumores sometidos a tratamiento (T) alcancen un tamaño objetivo predeterminado, en comparación con los del grupo de control (C). Con este fin, el peso tumoral de un grupo se expresa como peso tumoral medio (MTW).
- 35

La inhibición del crecimiento del tumor se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ de inhibición del crecimiento del tumor} = \frac{\left(1 - \frac{T_t}{T_0} * \frac{C_0}{C_t}\right)}{\left(1 - \frac{C_0}{C_t}\right)}$$

- 40 en donde,

C_t = tamaño medio del tumor de control al final del tratamiento

C_0 = tamaño medio del tumor de control al inicio del tratamiento

T_t = tamaño medio del tumor del grupo tratado al final del tratamiento

- 45 T_0 = tamaño medio del tumor del grupo tratado al inicio del tratamiento

La actividad se define como el logro de una inhibición duradera del crecimiento del tumor de 50 % o más (por ejemplo, $TGI \geq 50\%$) durante un período equivalente a, al menos, 1 tiempo de duplicación del volumen del tumor,

y el tratamiento farmacológico debe ser durante un período equivalente a, al menos, 2 tiempos de duplicación del volumen del tumor.

La respuesta del tumor también se expresó en términos de demora del crecimiento del tumor (valor de TGD), que se define como la diferencia en tiempo (días) necesaria para que los tumores sometidos a tratamiento (T) alcancen un tamaño objetivo predeterminado, en comparación con los del grupo de control (C).

Siempre que fue posible, la actividad antitumoral se determinó en un rango de niveles de dosis hasta la dosis máxima tolerada (MTD), que se define como el nivel de dosis inmediatamente por debajo del cual ocurrió la toxicidad excesiva (es decir, más de una muerte). Cuando se produjo la muerte, se registró el día de la muerte. Se consideró que los ratones sometidos al tratamiento que murieron antes de que sus tumores alcanzaran el tamaño objetivo murieron por la toxicidad del fármaco. No murió ningún ratón de control con un tumor que tuviera un tamaño menor al tamaño objetivo. Se consideró que los grupos de tratamiento con más de una muerte causada por la toxicidad del fármaco tuvieron tratamientos excesivamente tóxicos, y sus datos no se incluyeron en la evaluación de la eficacia antitumoral de un compuesto.

La posible interacción de la toxicidad del fármaco que afecta la tolerabilidad del tratamiento es una consideración importante en los ensayos de quimioterapia combinada. La interpretación de los resultados de terapias combinadas debe basarse en la comparación de la actividad antitumoral de la mejor respuesta posible para los agentes individuales con la combinación en dosis toleradas de manera comparable. Por lo tanto, el sinergismo terapéutico se definió como el efecto terapéutico alcanzado con un régimen tolerado de los reactivos combinados que superó el efecto óptimo alcanzado en cualquier dosis tolerada de monoterapia. Las evaluaciones estadísticas de los datos se realizaron usando la prueba generalizada Wilcoxon de Gehan. La significancia estadística se declaró en $P < 0,05$.

Administración del fármaco

En estudios *in vitro*, todos los agentes se disolvieron en 100 % de DMSO y se diluyeron en serie en medios/10 % de suero bovino fetal. Para la administración de inhibidores de Notch a roedores, se usaron dos excipientes diferentes: [1] 94 % de Labrafil/5 % de ETOH/ 1 % de TW80 o [2] ETOH/TPGS/PEG300 (10:10:80). Generalmente, los inhibidores de Notch se administraron de manera oral en un cronograma de QD x 15, durante 10 días, con 2 días de descanso, aunque también se habían evaluado otros cronogramas que demostraron ser eficaces. Por ejemplo, el régimen de dosificación que consistía en QD x 12, durante 4 días, con 3 días de descanso, demostró tener la misma eficacia que el de QD x 15, durante 10 días, con 2 días de descanso.

Actividad antitumoral *in vivo*

La actividad antitumoral del Ejemplo 1 administrado por vía intravenosa (IV) se evaluó en xenoinjertos tumorales humanos implantados en ratones. Como se muestra en la Figura 6, el Ejemplo 1 indicó actividad antitumoral.

La Tabla 23 a continuación enumera la actividad antitumoral de los ejemplos de esta invención medida en los modelos de xenoinjertos tumorales humanos en ratones. Los compuestos de la presente invención, como se ejemplifican mediante los Ejemplos 1 y 2, indicaron actividad antitumoral con administración oral (PO).

Tabla 23

Cronograma: QD x 15, durante 10 días, con 2 días de descanso; administración oral				
Ejemplo	Dosis (mg/kg)	Actividad antitumoral		
		TALL1 (LCK)	MDA-MB-157 (% de TGI)	MDA-MB-468 (% de TGI)
1	7,5-10	>4,7	89	78
2	24	2,4	85	87
QD - una vez por día LCK - Capacidad de destrucción celular				

El Ejemplo 1 demuestra actividad antineoplásica de amplio espectro contra una amplia variedad de xenoinjertos de cáncer en seres humanos cultivados en ratones. Se demostró una actividad antitumoral significativa en 16 xenoinjertos de cáncer en seres humanos, que incluye leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T humana, carcinoma de mama, carcinoma de páncreas, carcinoma de ovarios, glioblastoma, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de colon, sarcoma osteogénico y neuroblastoma (Tabla 24).

Tabla 24

Tumor	Histología	Actividad antitumoral (% TGI) ^a
TALL1	Leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T	112
Pat-24	Cáncer pancreático	111
BT-474	Cáncer de mama HER2+	96

Pat-26	Cáncer pancreático	93
MDA-MB468	Cáncer de mama TN	91
Pat-50	Cáncer de ovarios	91
Pat-34	Cáncer de ovarios	89
U-87	glioblastoma multiforme (GBM)	82
MDA-MB157	Cáncer de mama TN	81
Calu-6	Cáncer de pulmón de células no pequeñas	81
HCT116	Cáncer de colon	75
G292	Sarcoma osteogénico	75
Pat-21/Abx R	Cáncer de mama TN (abx R)	73
MCF7	Cáncer de mama dependiente de estrógenos	73
SK-N-AS	neuroblastoma	67
MCF7i	Cáncer de mama independiente de estrógenos	63
^a Todos los tratamientos fueron PO, QD x 15, 10 días, con 2 días de descanso, en dosis de 5-10 mg/kg/adm.		

Quimioterapia de combinación

Se realizó una serie de estudios para evaluar la capacidad de combinación del Ejemplo 1 con varios agentes contra el cáncer, que incluyen dasatinib, paclitaxel, Tamoxifen, dexametasona y carboplatino

I. Ejemplo 1 y dasatinib

Se usó la leucemia linfoblástica humana de linfocitos T para evaluar la eficacia combinada del Ejemplo 1 y dasatinib. El tratamiento solo con dasatinib produjo un efecto antitumoral de 1,7 LCK (10 mg/kg/adm, QD x 49, PO). El compuesto del Ejemplo 1 produjo solo una actividad moderada de 0,1-0,5 LCK en un rango de dosis de 3,75-7,5 mg/kg. Sin embargo, la combinación de dos agentes produjo actividad antitumoral sinérgica, lo cual generó una eficacia antitumoral de >>2,6 LCK que fue considerablemente superior a solo dasatinib como único agente (P<0,05). Además, el régimen de combinación produjo una respuesta completa (CR) en el 100 % de los ratones, mientras que ninguno de los únicos agentes produjeron CR (Figuras 7-8 y Tabla 25).

Tabla 25

Eficacia antitumoral mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y dasatinib en leucemia linfoblástica de linfocitos T ALL-SIL						
Tratamiento		Eficacia				
Ejemplo 1 Dosis ^a (mg/kg)	Dasatinib Dosis ^b (mg/kg)	Demora del crecimiento del Tumor ^c		PR (%)	CR (%)	P
		(LCK)	(días)			
7,5	-	0,1	1,9	0	0	-
3,75	-	0,5	8,7	0	0	-
-	10	1,7	30,2	0	0	1
7,5	10	>>2,6	44	0	100	<0,05
3,75	10	>>2,6	44	0	100	<0,05
^a Régimen = PO, QD x 3, x 7 por semana						
^b Régimen = PO, QD x 49						
^c Tamaño del tumor diana = 1000 mg						

II. Ejemplo 1 y Paclitaxel

Se evaluó la eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en combinación con paclitaxel en el carcinoma de mama MDA-MB-468. El Ejemplo 1 como único agente produjo 0,5-1,4 LCK en un rango de dosis de 3,75-7,5 mg/kg/adm. Se administró paclitaxel semanalmente en una dosis de 12 mg/kg/adm que produjo 0,5 LCK (Figuras 9-10 y Tabla 26). La combinación del Ejemplo 1 en un rango de dosis de 3,75-7,5 mg/kg/adm y paclitaxel produjo 3,4-4,1 LCK de efectos antitumorales que fue considerablemente superior al compuesto del Ejemplo 1 como único agente solo (P=0,0006 y 0,0002, respectivamente).

Tabla 26

Eficacia antitumoral mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y paclitaxel en el carcinoma de mama humana MDA-MB-468						
Tratamiento		Eficacia				
Ejemplo 1 Dosis ^a (mg/kg)	Paclitaxel Dosis ^b (mg/kg)	Demora del crecimiento del Tumor ^c		PR (%)	CR (%)	P
		(LCK)	(días)			
7,5	-	1,4	21,2	0	0	1
3,75	-	0,5	7,8	0	0	-

-	12	0,5	7,8	0	0	-
7,5	12	4,1	61,8	50	0	0,0002
3,75	12	3,4	51,2	0	0	0,0006
^a Régimen = PO, QD x3, x7 por semana						
^b Régimen = IV, Q7D x 6						
^c Tamaño del tumor diana = 500 mg						

III. Ejemplo 1 y tamoxifen

- Se evaluó la eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en combinación con tamoxifen en el xenoinjerto de carcinoma de mama humana positivo del receptor ER MCF7 cultivado en ratones hembra nu/nu. El Ejemplo 1 como único agente produjo una inhibición del crecimiento tumoral (TGI) de 43-58 % en un rango de dosis de 3,75-7,5 mg/kg/adm sin CR o PR. Tamoxifen, administrado en una dosis MTD de 20 mg/kg/adm, IP, Q2D X 12, produjo 78 % de TGI, sin CR o PR. Las combinaciones del compuesto del Ejemplo 1 y tamoxifen fueron claramente sinérgicas y produjeron 101 y 99 % de TGI, respectivamente, en dosis de 7,5 y 3,75 mg/kg/adm del Ejemplo 1. Además, aproximadamente el 50 % de los ratones que recibieron las combinaciones experimentaron disminución del tumor, ya sea como PR o CR (Figuras 11-12 y Tabla 27).

Tabla 27

Eficacia antitumoral mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y tamoxifen en el carcinoma de mama humana MCF7					
Tratamiento		Eficacia			
Ejemplo 1 Dosis ^a (mg/kg)	Tamoxifen Dosis ^b (mg/kg)	Inhibición del crecimiento del tumor TGI ^c	PR (%)	CR (%)	P
7,5	-	58	0	0	0
3,75	-	43	0	0	-
-	20	78	0	0	1
7,5	20	101	43	0	0,0012
3,75	20	99	43	14	0,0087
^a Régimen = PO, QD x3, x3 por semana					
^b Régimen = IP, Q2D x 10					
^c Tamaño del tumor diana = 500 mg					

IV. Ejemplo 1 y dexametasona

- Se evaluó la eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en combinación con el glucocorticoide dexametasona en los xenoinjertos de leucemia T-ALL humana HPB-ALL desarrollados en ratones NOD-SCID. El Ejemplo 1 como único agente fue activo en este modelo que produjo 1,1 LCK a 7,5 mpk. La dexametasona fue modestamente activa como único agente que produjo 0,7 LCK con un MTD de 7,5 mpk. La combinación del Ejemplo 1 y dexametasona produjo 1,9 LCK, considerablemente superior a cualquiera de los únicos agentes individuales solos (Figura 13 y Tabla 28).

Tabla 28

Eficacia antitumoral mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y dexametasona en leucemia linfoblástica aguda humana HPB-ALL						
Tratamiento		Eficacia				
Ejemplo 1 Dosis ^a (mg/kg)	Dexametasona Dosis ^b (mg/kg)	Demora del crecimiento del Tumor ^c		PR (%)	CR (%)	P
		(LCK)	(días)			
7,5	-	1,1	9,5	0	0	0,0007
3,75	-	0,9	7,8	0	0	0,0007
-	7,5	0,7	5,8	0	0	0,0007
-	3,75	0,6	5,6	0	0	0,0007
3,75	7,5	1,9	16,5	0	0	1

^aRégimen = PO, QD x 3, x 3 por semana

^bRégimen = IP, QD x 14

^cTamaño del tumor diana = 3000 mg

V. Ejemplo 1 y carboplatino

- Se evaluó la eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en combinación con carboplatino en el xenoinjerto de teratocarcinoma de ovario humano PA-1 desarrollado en ratones hembra nu/nu. El Ejemplo 1 como único agente produjo 0,2 LCK en una dosis de 1 mg/kg/adm. Se administró carboplatino semanalmente en una dosis de 90 mg/kg/adm que produjo 2,1 LCK (Figura 14 y Tabla 29). La combinación del Ejemplo 1 en una dosis de 1 mg/kg/adm y carboplatino produjo >3,1 LCK de efectos antitumorales, que fue considerablemente superior al compuesto del

Ejemplo 1 como único agente solo (P=0,004).

Tabla 29

Eficacia antitumoral mediante quimioterapia combinada con el Ejemplo 1 y carboplatino en teratocarcinoma de ovario humano PA-1							
Tratamiento		Eficacia					
Ejemplo 1 Dosis ^a (mg/kg)	Dexametasona Dosis ^b (mg/kg)	Demora del crecimiento del Tumor ^c		CR (%)	PR (%)	Cura (%)	P
		(LCK)	(días)				
1	-	0,2	4	0	0	0	-
-	90	2,1	34,7	13	71	13	1
1	90	>3,1	>51,4	67	33	67	0,004
^a Régimen = PO, QD x 21 (1 mg/kg)							
^b Régimen = IV, Q7D x 3							
^c Tamaño del tumor diana = 500 mg							

5 Difractometría de rayos X de monocristal

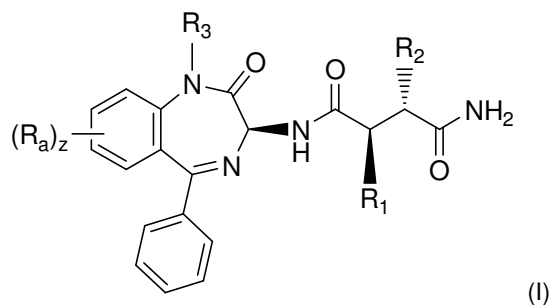
Los datos del monocristal se recolectaron en un sistema Bruker-AXS APEX2 CCD usando radiación Cu K α ($\lambda=1,5418$ Å). La indexación y el procesamiento de los datos de intensidad medidos se realizaron con el software APEX2. Donde se indica, los cristales se enfriaron en el flujo frío de un sistema criogénico Oxford durante la recolección de datos. Las estructuras se resolvieron mediante los métodos directos y se refinaron sobre la base de las reflexiones observadas usando SHELXTL. Los parámetros atómicos derivados (coordenadas y factores de temperatura) se refinaron mediante mínimos cuadrados de matriz completos. La función que se minimizó en los refinamientos fue $\sum_w(|F_o| - |F_c|)^2$. R se define como $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$ mientras $R_w = [\sum_w(|F_o| - |F_c|)^2 / \sum_w |F_o|^2]^{1/2}$ en donde w es una función de peso adecuada que se basa en los errores de las intensidades observadas. En general, todos los átomos que no son H se refinaron de manera anisotrópica, y todos los átomos H que no eran los que estaban unidos a los átomos N y O se calcularon mediante métodos geométricos y se refinaron con un modelo de cabalgata.

Difractometría de rayos X en polvo

Los datos de la difracción de rayos X en polvo (PXRD) se obtuvieron usando un goniómetro de plataforma chi manual Bruker GADDS (General Area Detector Diffraction System). Las muestras de polvo se colocaron en capilares de vidrio de paredes delgadas de 0,7 mm de diámetro; los capilares se rotaron durante la recolección de datos. La distancia entre la muestra y el detector se mantuvo a 17 cm. Los datos se recolectaron con radiación Cu K α ($\lambda = 1,5418$ Å) en el rango $2,5 < 2\theta < 35^\circ$ con un tiempo de exposición de la muestra de 600 segundos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



en donde:

R_1 es $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$;

R_2 es $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$;

R_3 es H, $-\text{CH}_3$, $-\text{CD}_3$, $-\text{CHD}_2$ o $-\text{CH}_2\text{D}$;

cada R_a es, independientemente, F, Cl, $-\text{CN}$, $-\text{OCH}_3$ y/o $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$; y

z es 0, 1 o 2.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

R_1 es $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$; y

R_2 es $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

z es 0 o 1.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

R_1 es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$; y

R_2 es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que:

z es 0 o 1.

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

z es 1 o 2.

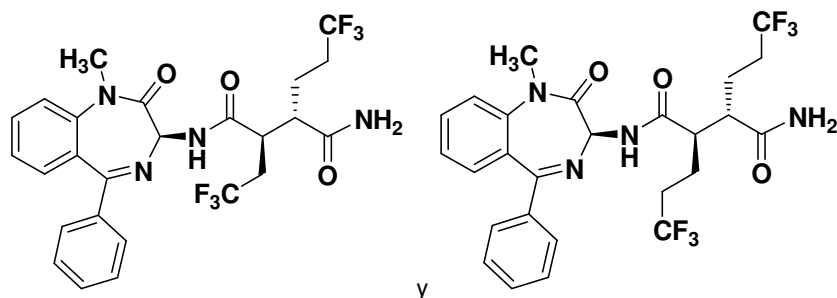
7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de: (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (1); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-2-Oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (2); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2-(2,2,2-trifluoroetil)-3-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (3); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(2,2,2-trifluoroetil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (4); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-1-(²H₃)metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (5); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-7-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (6); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (7); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (8); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-7-metoxi-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (9); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-7-fluoro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (10); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8-cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (11); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (12); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (13); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-7-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (14); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8-ciano-9-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (15); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-8,9-dicloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (16); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-9-fluoro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (17); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-9-

cloro-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (18); (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-2-Oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (19); (2*R*,3*S*)-N1-((3*S*)-8-metoxi-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-3-(4,4,4-trifluorobutil)-2-(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (20); y (2*R*,3*S*)-N-((3*S*)-9-((2-metoxietil)amino)-2-oxo-5-fenil-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il)-2,3-bis(3,3,3-trifluoropropil)succinamida (21).

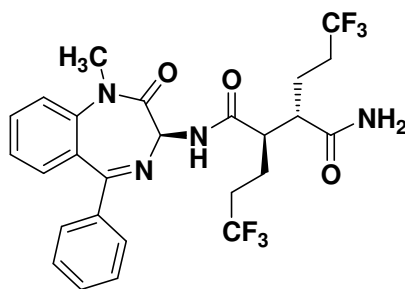
8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

R_3 es H o $-CH_3$.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, seleccionado de:



10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho compuesto es:



11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicho compuesto se encuentra en la Forma cristalina N-1, que se **caracteriza por** uno de los siguientes:

a) un patrón de difracción de rayos X en polvo simulado considerablemente como se muestra en la Figura 1 y/o mediante un patrón PXRD observado sustancialmente como se muestra en la Figura 1;

b) un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende cuatro o más, preferentemente cinco o más, valores 2θ ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) seleccionados de los siguientes: $5,7\pm0,2$, $7,5\pm0,2$, $10,3\pm0,2$, $10,7\pm0,2$, $15,2\pm0,2$, $16,8\pm0,2$, $20,2\pm0,2$ y $20,7\pm0,2$, en donde el patrón PXRD de la Forma N-1 se mide a una temperatura de alrededor de 20°C ;

c) parámetros de celda unitaria considerablemente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 9,41 \text{ \AA}$

$b = 17,74 \text{ \AA}$

$c = 31,94 \text{ \AA}$

$\alpha = 90,0^\circ$

$\beta = 98,4^\circ$

$\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: P21

Moléculas de dicho compuesto/unidad asimétrica: 4

en donde los parámetros de la celda unitaria de la Forma N-1 se miden a una temperatura de alrededor de -10°C ; y/o

d) coordenadas atómicas fraccionales sustancialmente como se enumeran en la Tabla 1 a una temperatura de alrededor de 25°C ,

Tabla 1

Coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)				
	x	y	z	U(eq)
N(7)	10824(5)	7415(3)	1732(1)	39(1)
N(3)	4985(5)	565(2)	1293(1)	33(1)
O(3)	7152(4)	45(2)	1509(1)	45(1)
N(8)	9981(6)	10557(3)	1329(2)	60(2)
O(7)	12033(5)	10000(2)	1229(1)	55(1)
O(6)	8697(5)	7992(2)	1768(1)	53(1)
F(4)	11039(5)	8541(3)	79(1)	76(1)
C(17)	5836(7)	8(3)	1469(1)	30(1)
N(11)	3979(5)	1500(3)	3735(1)	35(1)
N(2)	5338(6)	2530(3)	994(1)	41(1)
C(8)	7012(6)	1237(3)	77(2)	35(1)
N(15)	9277(5)	4606(3)	3230(1)	37(1)
C(39)	9990(7)	8020(3)	1739(2)	36(1)
O(2)	3365(5)	1827(2)	1076(1)	49(1)
N(6)	10513(6)	5383(3)	1910(2)	46(1)
C(41)	10028(6)	9204(3)	1300(2)	36(1)
C(18)	5094(6)	-692(3)	1616(2)	33(1)
C(22)	5502(6)	-1369(3)	1360(2)	34(1)
C(23)	4828(7)	-2081(3)	1501(2)	35(1)
C(2)	6832(7)	2584(3)	978(2)	44(2)
C(14)	5639(7)	1198(3)	1113(2)	37(1)
C(36)	10130(7)	6682(3)	1698(2)	37(1)
C(15)	4647(7)	1875(3)	1071(2)	37(1)
O(14)	3524(5)	-2130(3)	1484(2)	63(1)
O(9)	5867(5)	1970(2)	3461(1)	46(1)
C(64)	4608(7)	2008(3)	3517(2)	35(1)
C(49)	7025(7)	893(4)	5004(2)	47(2)
O(12)	7212(5)	3943(2)	3143(1)	57(1)
F(5)	8960(5)	8082(2)	93(1)	73(1)
C(33)	8030(8)	6274(4)	-21(2)	55(2)
N(5)	9704(5)	6528(3)	1249(1)	36(1)
C(42)	10783(8)	9965(4)	1287(2)	46(2)
O(5)	12472(5)	6155(3)	1945(1)	62(1)
C(37)	11163(8)	6062(4)	1872(2)	46(2)
F(7)	9290(6)	2987(3)	5202(1)	94(2)
C(65)	3707(6)	2688(3)	3341(2)	33(1)
N(4)	5716(6)	-2636(3)	1628(2)	53(1)
C(7)	6778(6)	1429(3)	518(2)	34(1)
O(8)	2612(5)	231(2)	3943(1)	53(1)
O(11)	10584(6)	5864(3)	3001(1)	61(1)
C(89)	8963(6)	2807(3)	3658(2)	41(1)
C(70)	4269(7)	3355(4)	4041(2)	47(2)
N(13)	8438(5)	5493(3)	3689(1)	37(1)
C(20)	5588(7)	-808(3)	2089(2)	38(1)
C(85)	9369(8)	5946(4)	3070(2)	46(2)
N(14)	8611(7)	6593(3)	3016(2)	55(1)
N(16)	8948(7)	1437(3)	3656(2)	68(2)
N(9)	5416(5)	1109(3)	4375(1)	37(1)
C(71)	4930(8)	4055(3)	4280(2)	51(2)
N(12)	4314(6)	4592(3)	3189(2)	68(2)
C(1)	7546(7)	2068(3)	746(2)	41(2)
O(13)	11084(5)	2050(3)	3796(2)	67(1)
C(73)	7471(7)	6206(4)	4209(2)	46(2)
C(6)	9033(7)	2147(4)	744(2)	51(2)
C(88)	9391(7)	3239(3)	3270(2)	44(2)
C(40)	10716(7)	8794(3)	1708(2)	41(1)
C(54)	7871(7)	381(4)	5261(2)	47(2)
C(67)	3574(8)	4095(4)	3382(2)	51(2)
F(6)	8838(6)	3995(2)	4842(1)	84(1)
C(79)	7137(9)	6649(4)	3054(2)	56(2)

ES 2 534 080 T3

C(24)	8991(7)	5283(3)	1841(2)	45(2)
C(31)	8282(6)	5837(3)	703(2)	37(1)
C(47)	9570(7)	9167(4)	501(2)	46(2)
C(63)	4839(6)	898(3)	3940(2)	34(1)
C(90)	9762(7)	2060(3)	3707(2)	45(2)
C(55)	6443(6)	715(3)	4559(2)	39(1)
C(68)	3723(8)	2732(4)	2864(2)	60(2)
C(59)	8345(10)	-1056(5)	3924(2)	70(2)
C(75)	7821(8)	5880(5)	4945(2)	68(2)
C(32)	8425(7)	6417(3)	405(2)	50(2)
O(10)	2312(5)	4203(3)	3420(2)	75(2)
C(48)	9694(8)	8740(4)	112(2)	57(2)
N(10)	4682(6)	-430(3)	4071(1)	46(1)
C(60)	9196(10)	-525(5)	4132(3)	78(3)
C(72)	7560(6)	5996(3)	3766(2)	38(1)
C(11)	7228(8)	906(5)	-774(2)	65(2)
C(95)	9510(8)	3334(4)	4845(2)	56(2)
C(86)	8534(6)	5301(3)	3249(2)	36(1)
C(16)	4463(10)	3237(4)	980(2)	75(3)
C(62)	3917(7)	205(4)	3981(2)	43(2)
C(46)	10181(7)	8747(4)	901(2)	44(2)
C(57)	6210(8)	-445(3)	4106(2)	51(2)
C(30)	8759(6)	5995(3)	1157(2)	35(1)
C(66)	4345(6)	3404(3)	3568(2)	37(1)
C(87)	8540(6)	3940(3)	3212(2)	40(1)
C(93)	9371(7)	3266(3)	4063(2)	46(2)
C(58)	6870(9)	-1041(4)	3907(2)	60(2)
F(2)	11777(9)	10008(4)	2879(2)	151(3)
C(74)	7871(7)	5699(4)	4528(2)	55(2)
C(25)	8132(7)	5566(3)	1483(2)	41(1)
C(4)	9061(10)	3259(5)	1173(2)	76(2)
C(26)	6645(7)	5450(3)	1443(2)	48(2)
C(12)	7727(9)	1590(5)	-595(2)	66(2)
C(56)	7085(7)	83(4)	4344(2)	45(2)
C(34)	7488(7)	5600(4)	-167(2)	55(2)
C(9)	6519(7)	574(4)	-101(2)	49(2)
C(3)	7607(10)	3182(4)	1190(2)	66(2)
C(81)	5158(10)	6468(4)	3438(2)	76(2)
C(45)	11099(16)	9317(7)	2895(3)	121(4)
C(43)	10543(9)	9268(4)	2103(2)	64(2)
F(3)	9787(11)	9550(9)	2938(2)	245(7)
C(53)	8327(8)	558(5)	5683(2)	66(2)
C(29)	8344(10)	4873(4)	2138(2)	61(2)
C(5)	9774(10)	2734(5)	964(2)	76(2)
C(80)	6621(7)	6399(3)	3417(2)	53(2)
C(94)	9050(7)	2877(4)	4460(2)	51(2)
C(38)	11435(9)	4768(4)	2102(2)	71(2)
C(13)	7606(7)	1760(3)	-179(2)	48(2)
C(61)	3913(9)	-1147(4)	4095(2)	71(2)
C(52)	8010(10)	1214(6)	5841(2)	79(2)
C(10)	6633(9)	406(4)	-526(2)	68(2)
C(35)	7696(8)	5160(4)	553(2)	57(2)
C(84)	9357(12)	7262(4)	2869(3)	91(3)
C(91)	9330(8)	2785(4)	2864(2)	59(2)
C(27)	6019(9)	5060(4)	1739(2)	69(2)
C(44)	11196(10)	8906(4)	2495(2)	78(2)
C(69)	3191(8)	2018(4)	2628(2)	61(2)
C(78)	7034(8)	6922(4)	4311(2)	64(2)
C(83)	6199(12)	7012(5)	2740(3)	87(3)
C(82)	4221(10)	6784(6)	3121(4)	100(3)
C(51)	7187(10)	1748(5)	5591(2)	79(2)
C(76)	7428(9)	6592(6)	5047(2)	80(3)
F(1)	11661(10)	8983(5)	3228(2)	186(4)

C(50)	6711(8)	1571(4)	5174(2)	58(2)
C(77)	7057(9)	7114(5)	4734(3)	85(3)
N(1)	5875(5)	999(2)	684(1)	34(1)
C(102)	5582(7)	-1953(3)	630(2)	49(2)
C(101)	5084(7)	-1277(3)	879(2)	44(2)
C(100)	5214(10)	-152(4)	2344(2)	73(2)
C(104)	7326(8)	5036(4)	115(2)	70(2)
C(28)	6897(11)	4774(4)	2086(3)	75(2)
F(40)	9173(5)	9112(2)	-241(1)	74(1)
C(105)	8587(8)	41(4)	4352(2)	60(2)
C(124)	2922(10)	2104(6)	2165(3)	82(3)
F(42)	4029(8)	2397(5)	2012(2)	142(3)
F(43)	1850(8)	2595(5)	2046(2)	134(2)
F(41)	2570(8)	1475(4)	1965(2)	139(2)
C(122)	5045(7)	3962(4)	4744(2)	51(2)
F(44)	5920(5)	3370(2)	4887(1)	74(1)
F(45)	5616(5)	4563(2)	4959(1)	75(1)
F(46)	3833(5)	3823(2)	4879(1)	75(1)
C(108)	4748(13)	7054(5)	2773(3)	100(3)
F(47)	8547(9)	2143(4)	2026(2)	152(3)
F(48)	6731(8)	1653(4)	2180(2)	145(2)
F(49)	10919(5)	3510(3)	4901(1)	81(1)
C(123)	7913(9)	2494(5)	2683(2)	73(2)
C(121)	7997(12)	1902(6)	2341(3)	89(3)
C(120)	5377(8)	-1834(4)	184(2)	53(2)
C(109)	5564(11)	-282(5)	2811(2)	79(3)
F(55)	3970(4)	-1704(2)	15(1)	70(1)
F(54)	6048(5)	-1235(2)	59(1)	67(1)
F(56)	5748(5)	-2425(2)	-34(1)	69(1)
F(53)	4868(7)	-845(3)	2948(1)	100(2)
F(51)	5179(13)	300(4)	3035(2)	189(4)
F(52)	6924(8)	-420(6)	2920(2)	181(4)
F(60)	8732(11)	1307(3)	2477(2)	192(4)
U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U ^{II} .				

12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 11; y un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

5 13. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para usar en terapia.

14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para usar en el tratamiento del cáncer.

10 15. Combinación de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y uno o más agentes adicionales seleccionados de dasatinib, paclitaxel, tamoxifen, dexametasona y carboplatino, para usar en el tratamiento del cáncer, para uso secuencial o concurrente.

FIG. 1

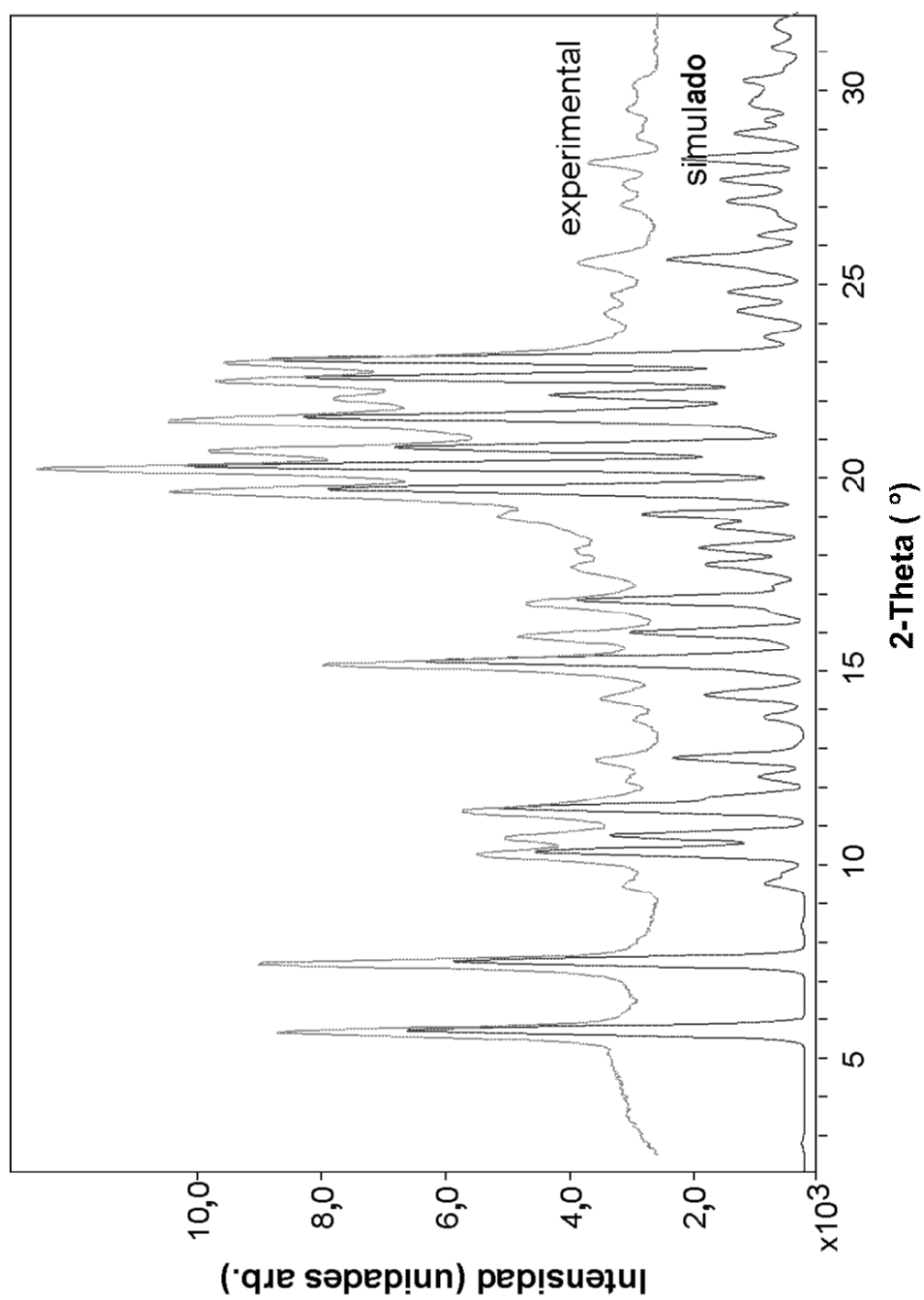


FIG. 2

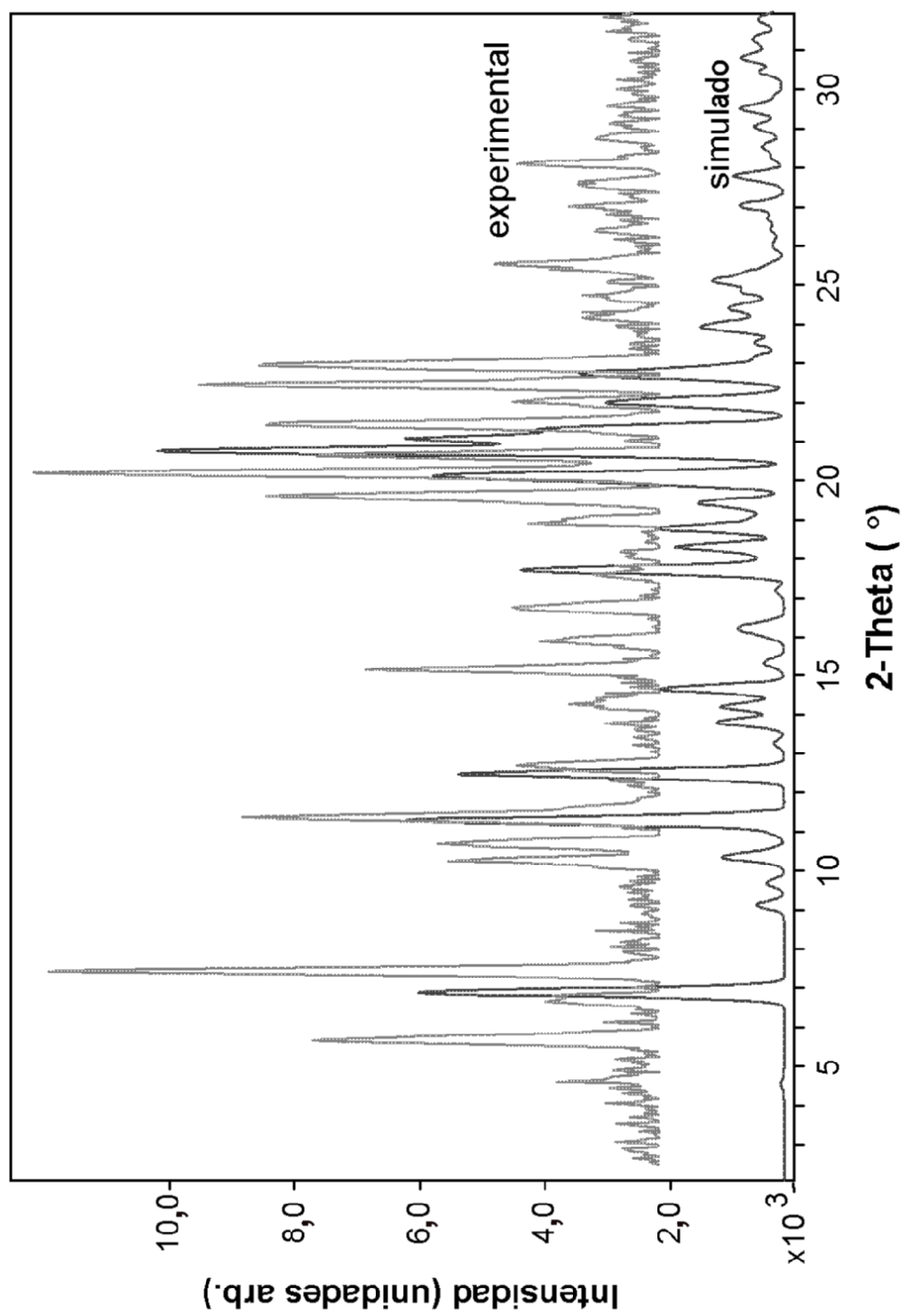


FIG. 3

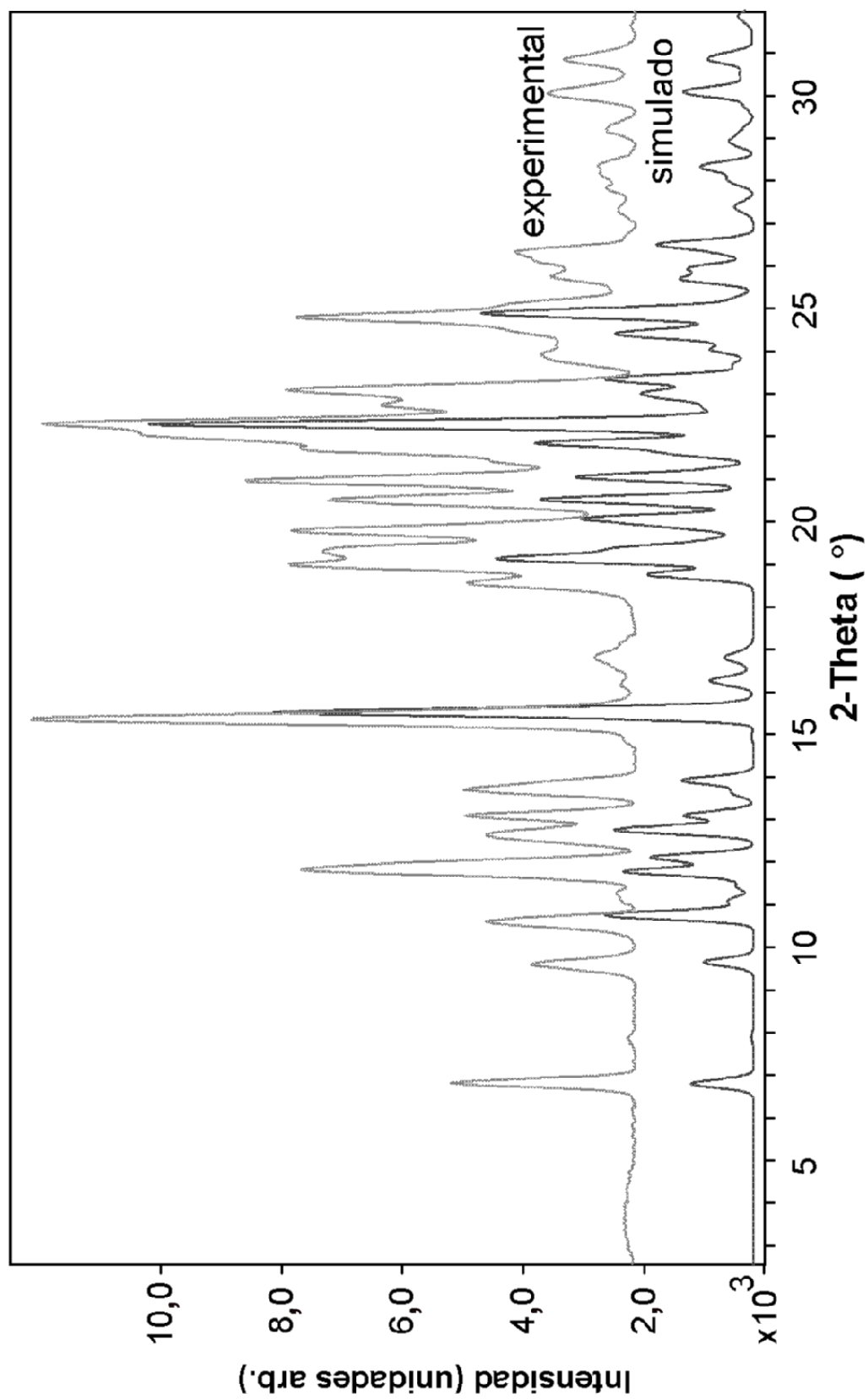


FIG. 4

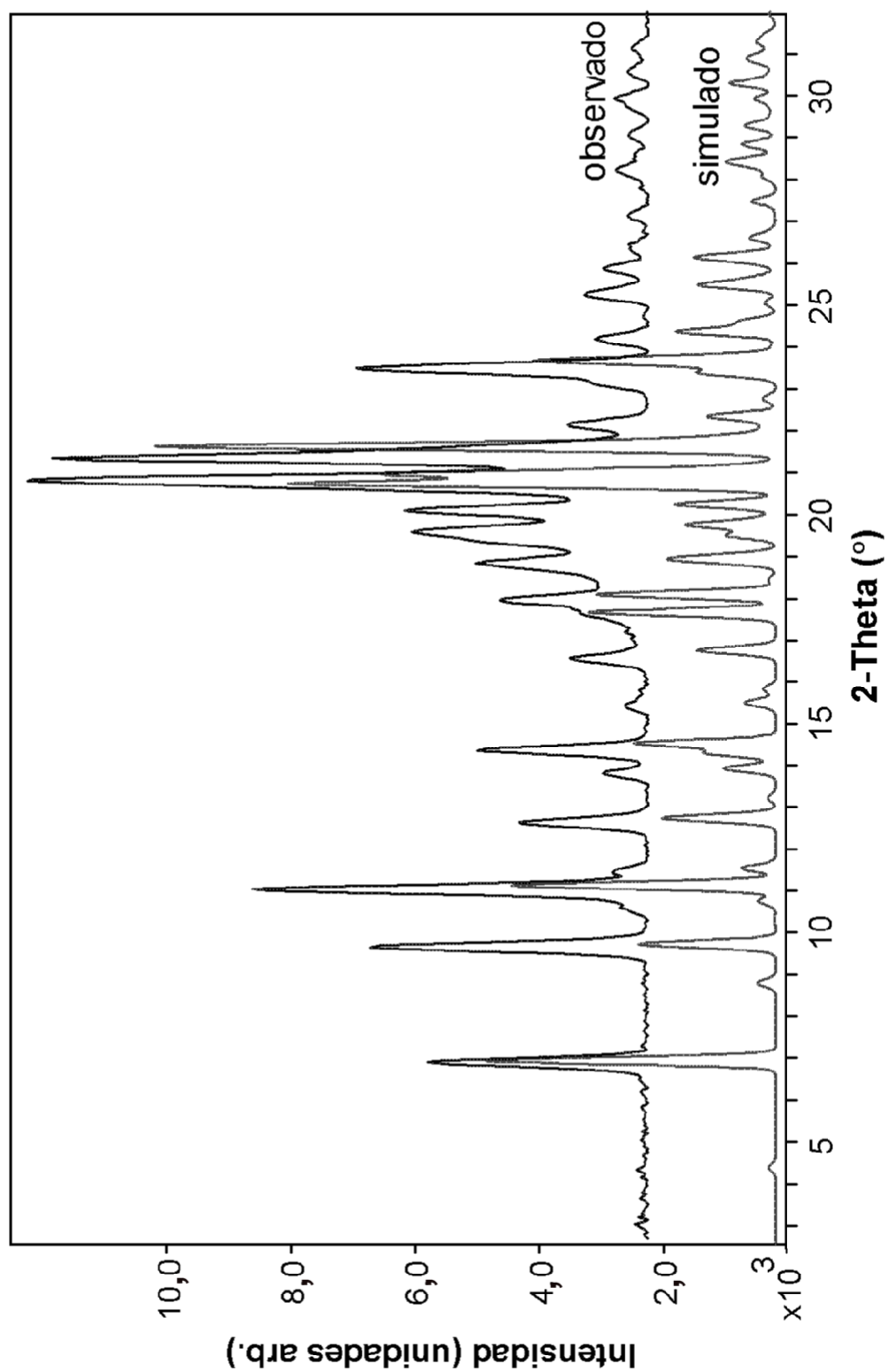


FIG. 5

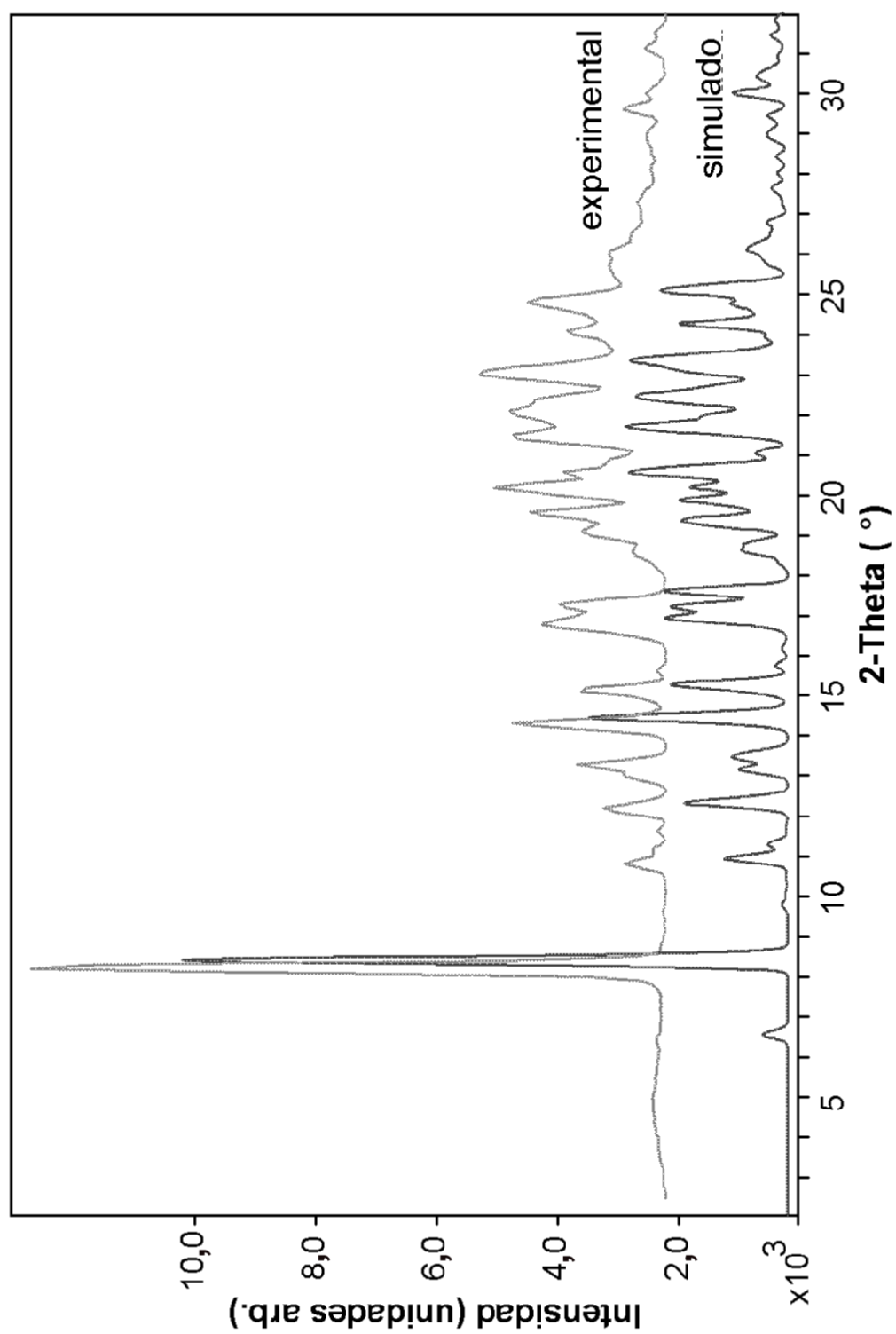


FIG. 6

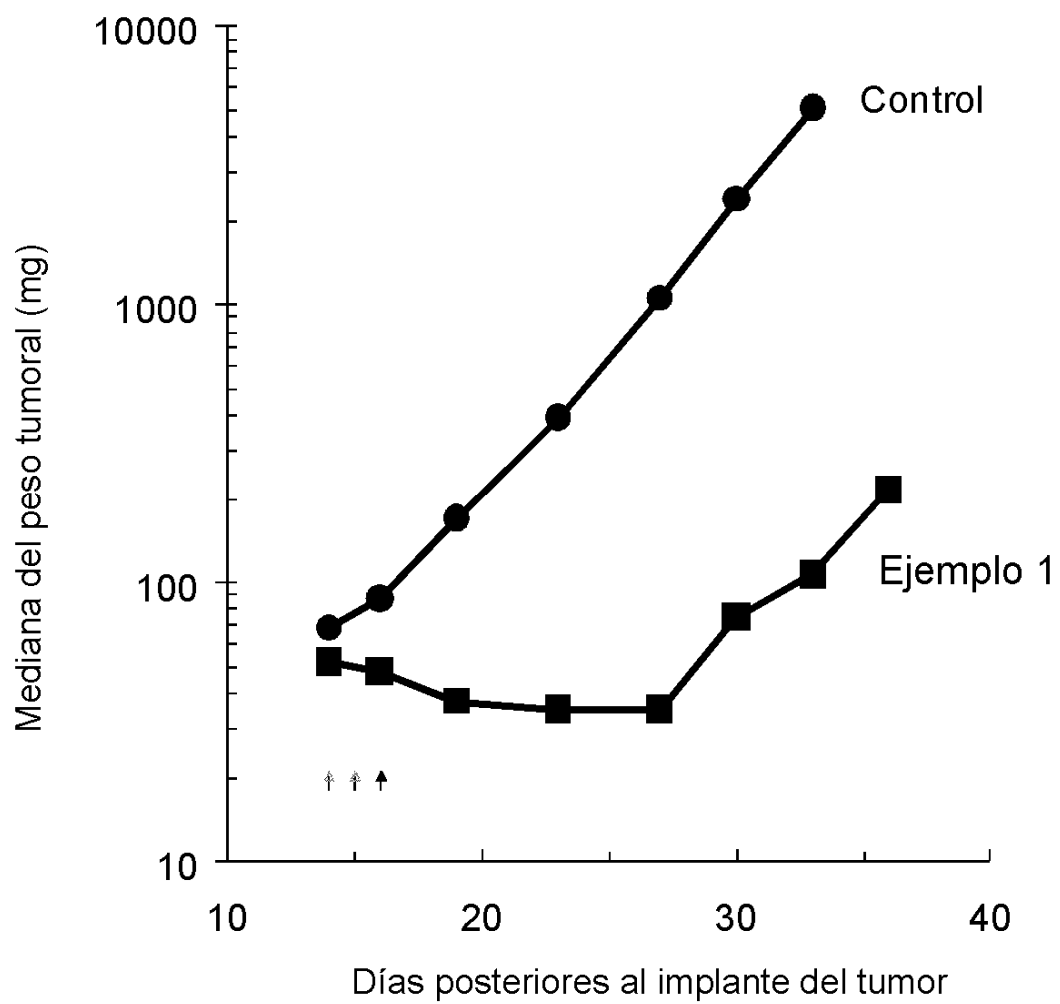


FIG. 7

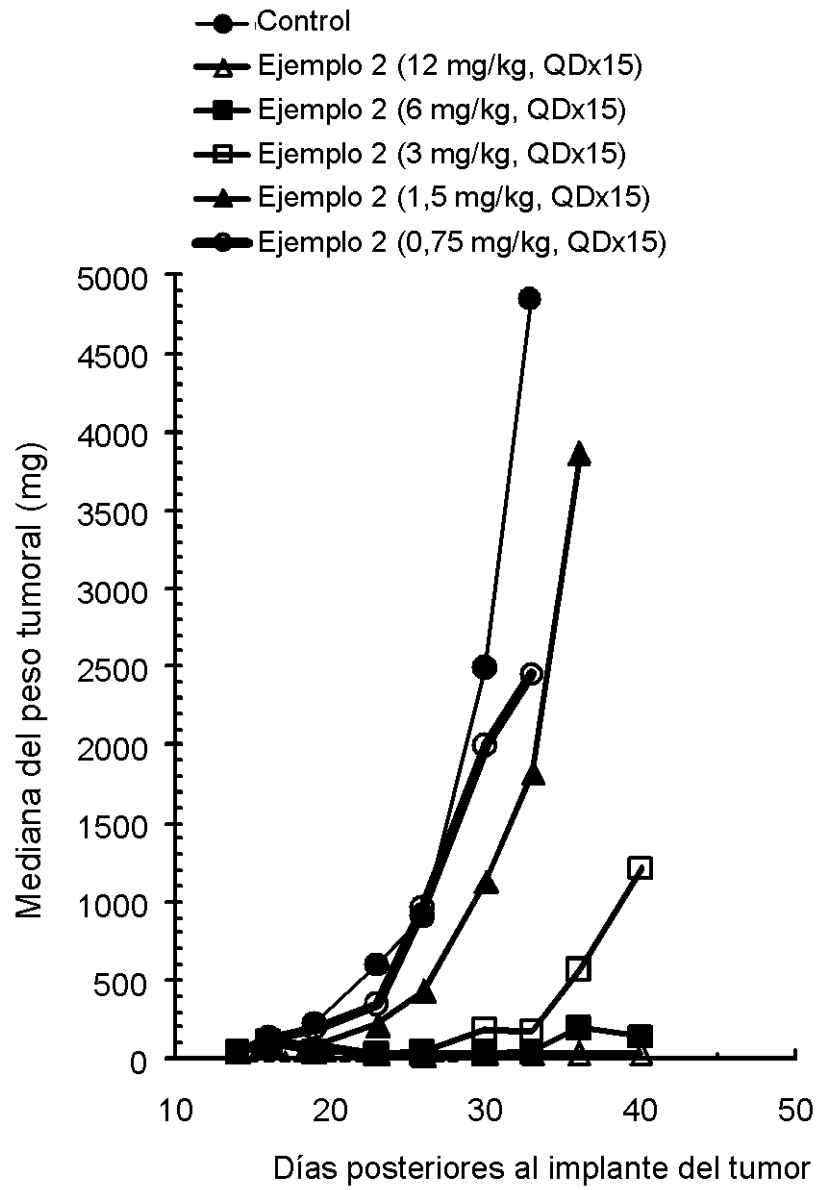
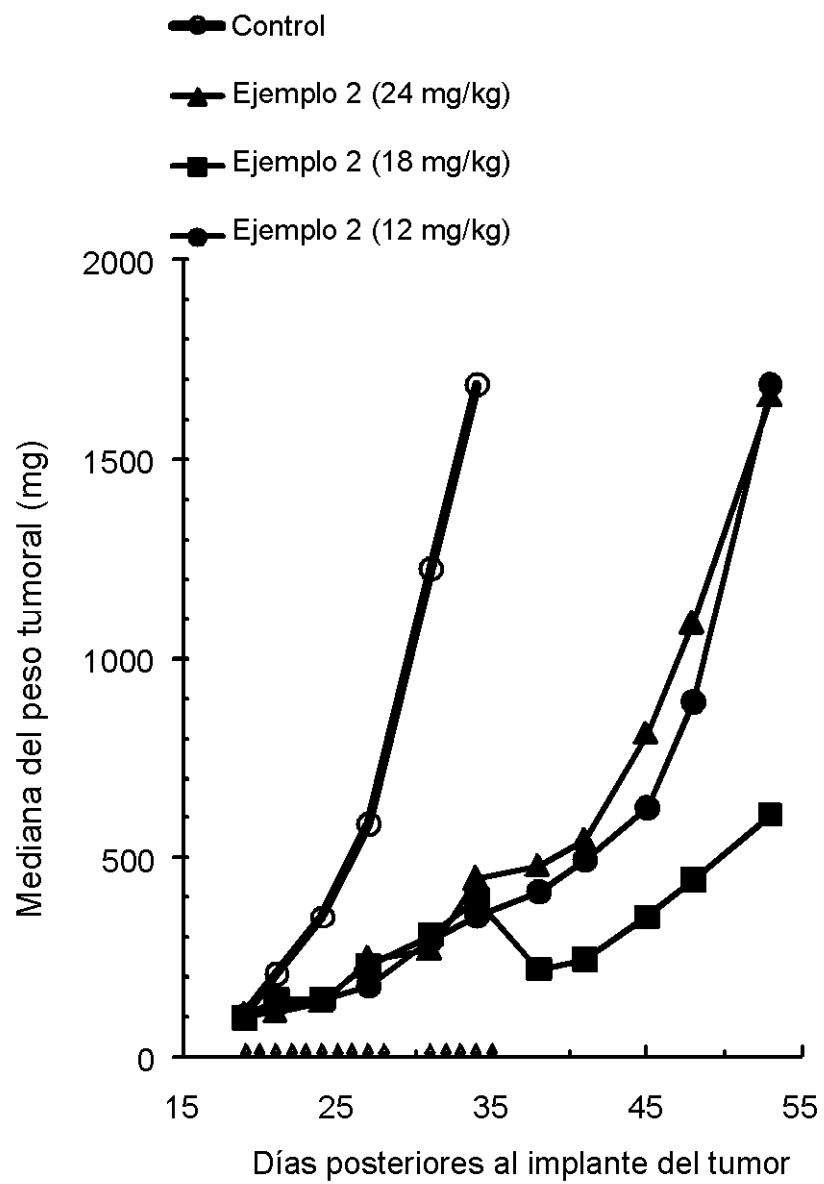
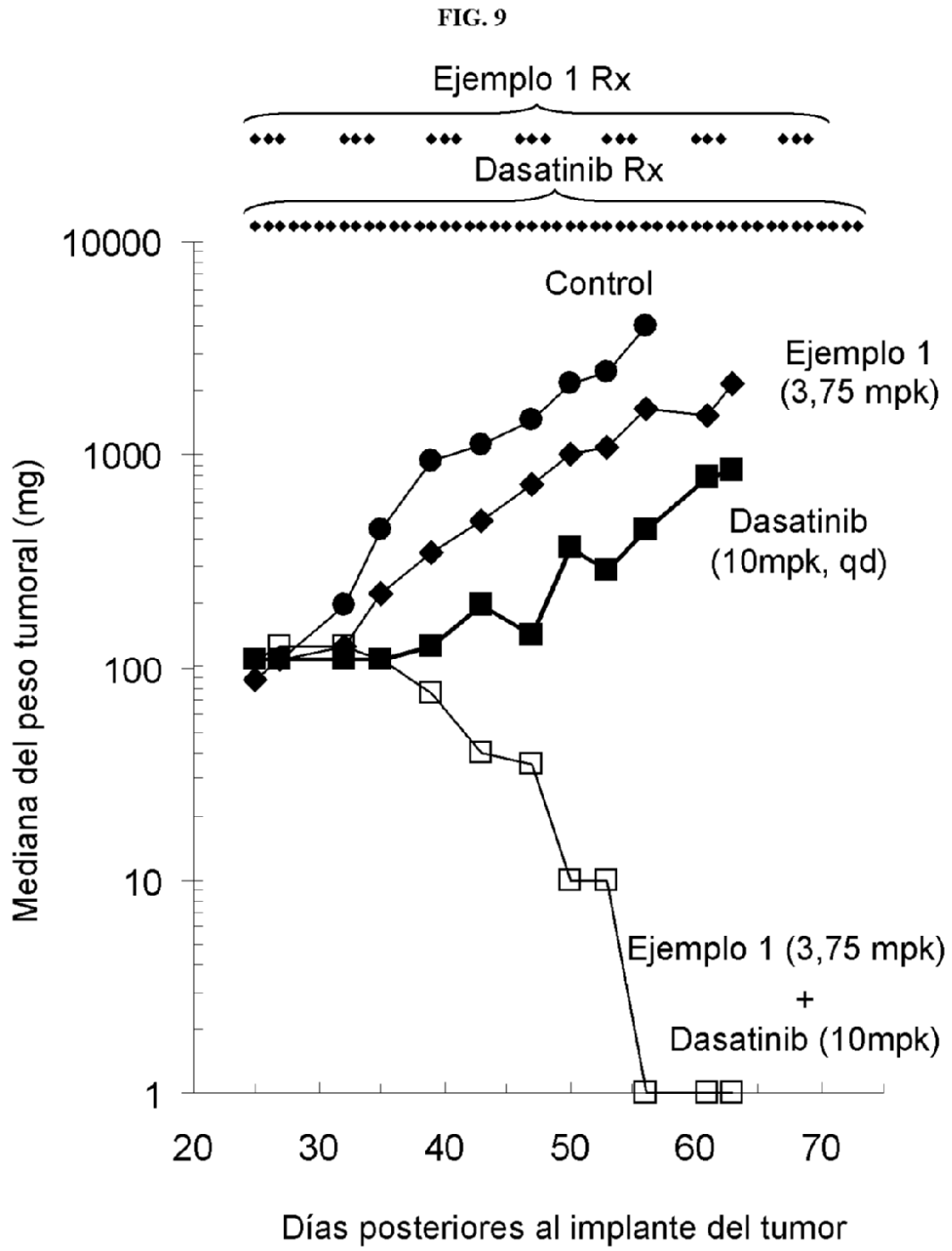


FIG. 8





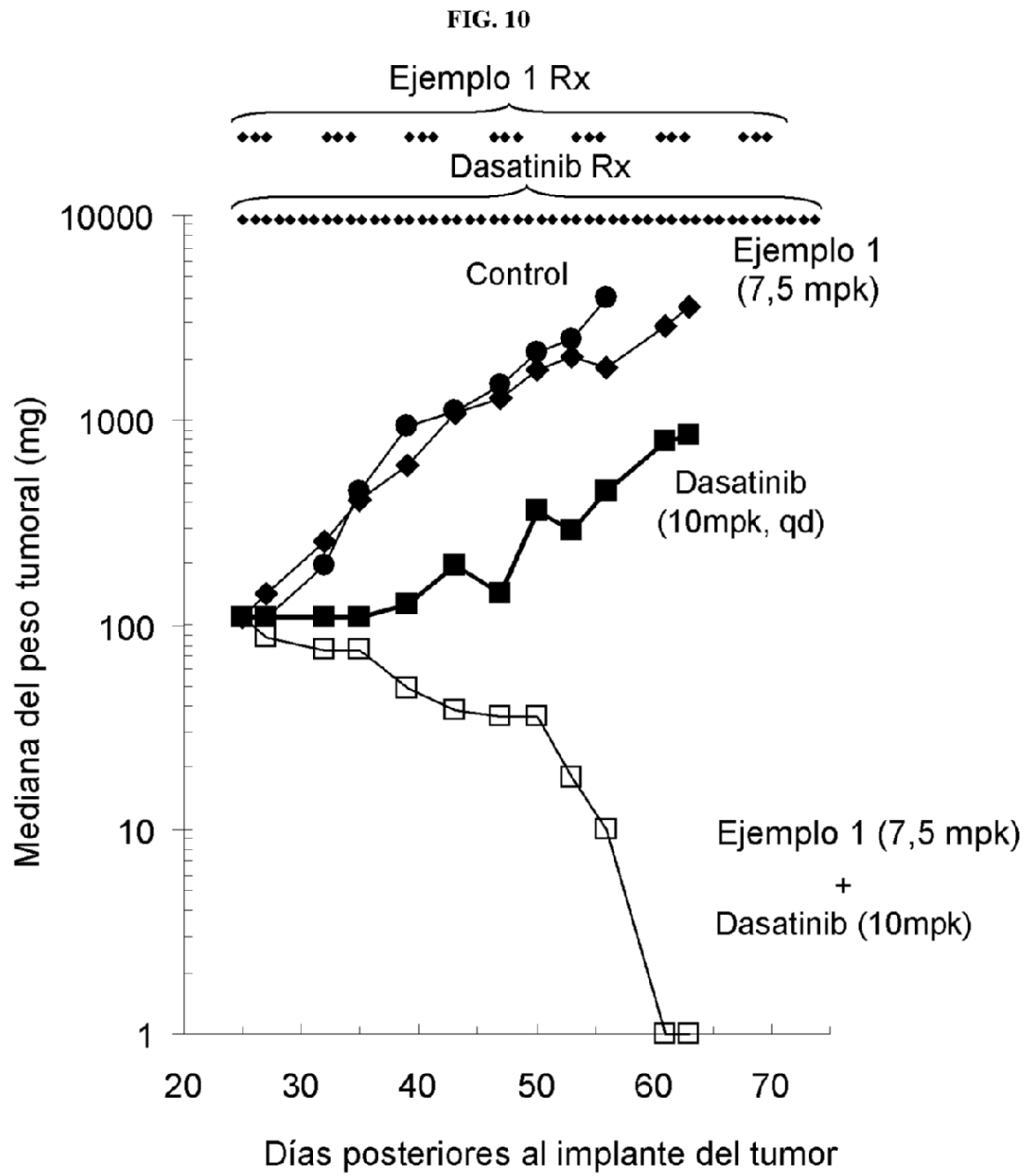


FIG. 11

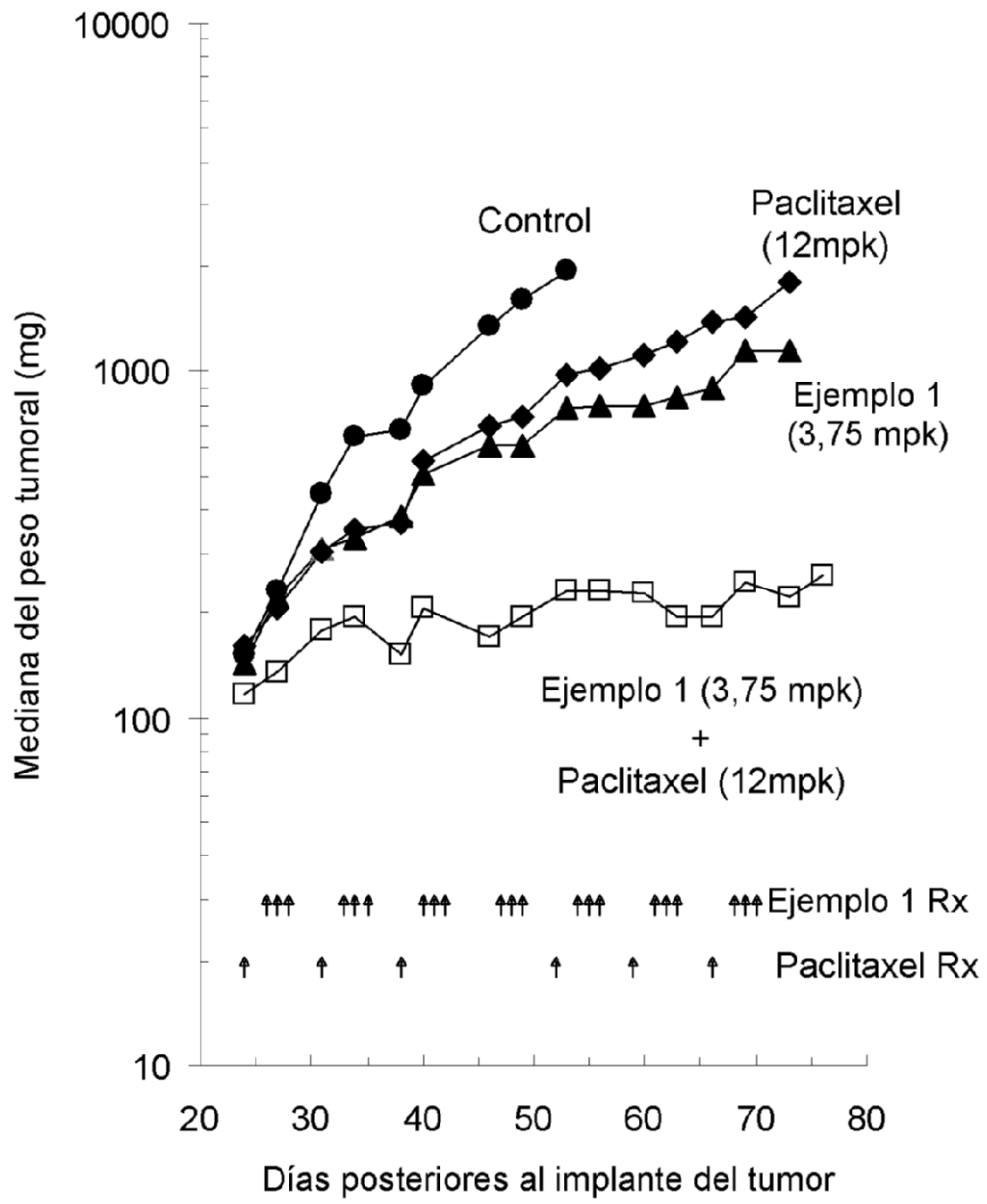


FIG. 12

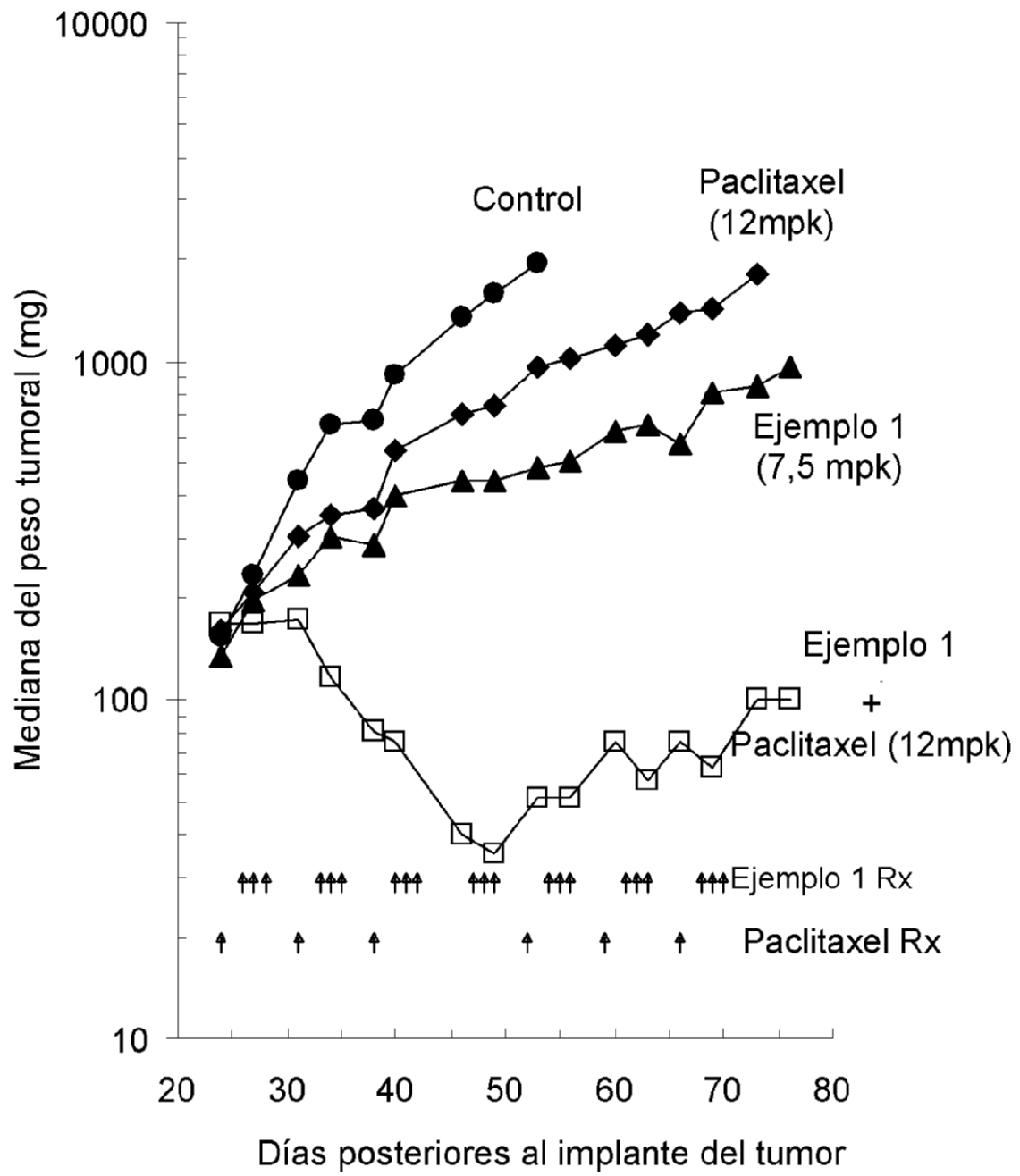


FIG. 13

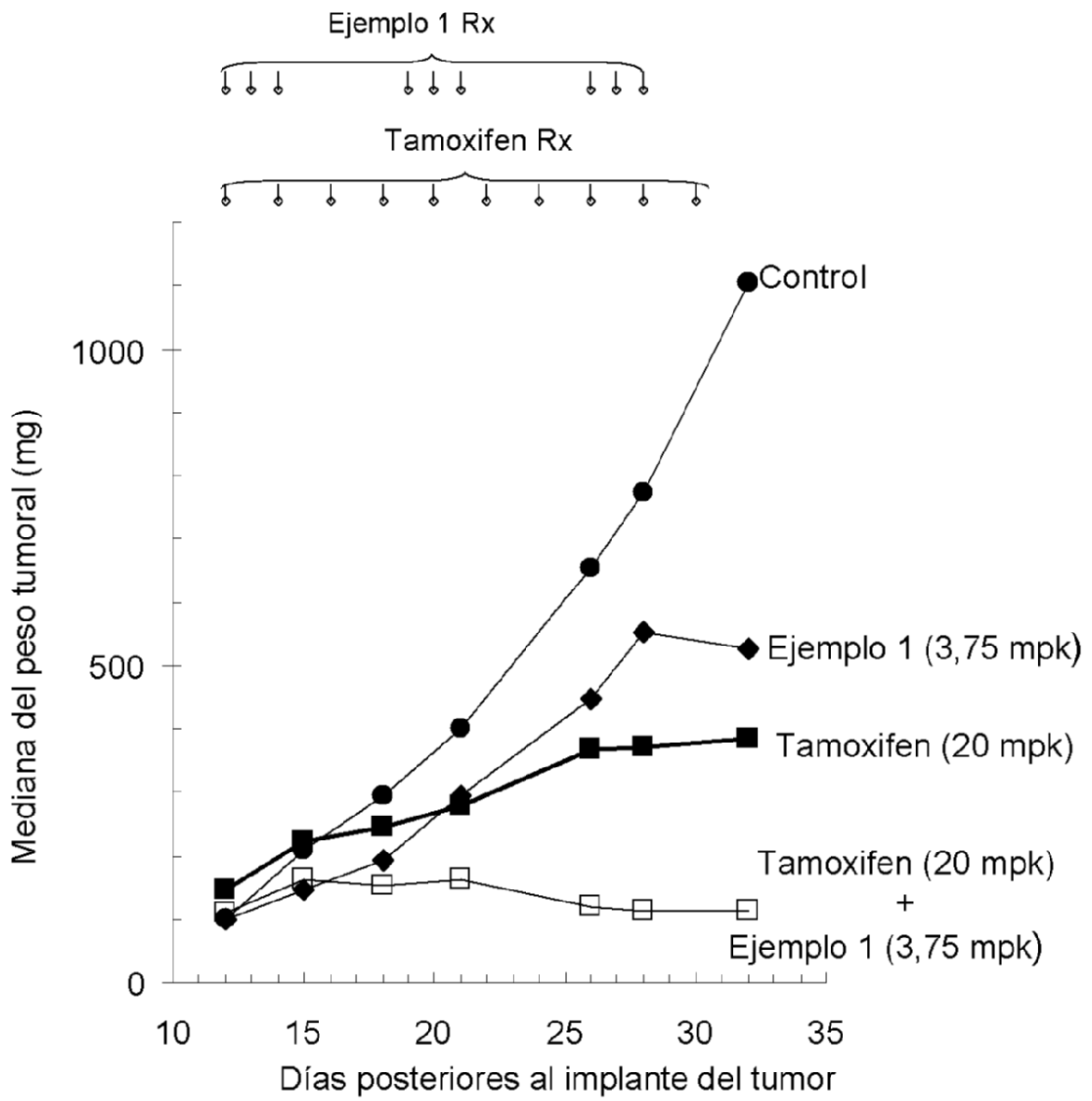


FIG. 14

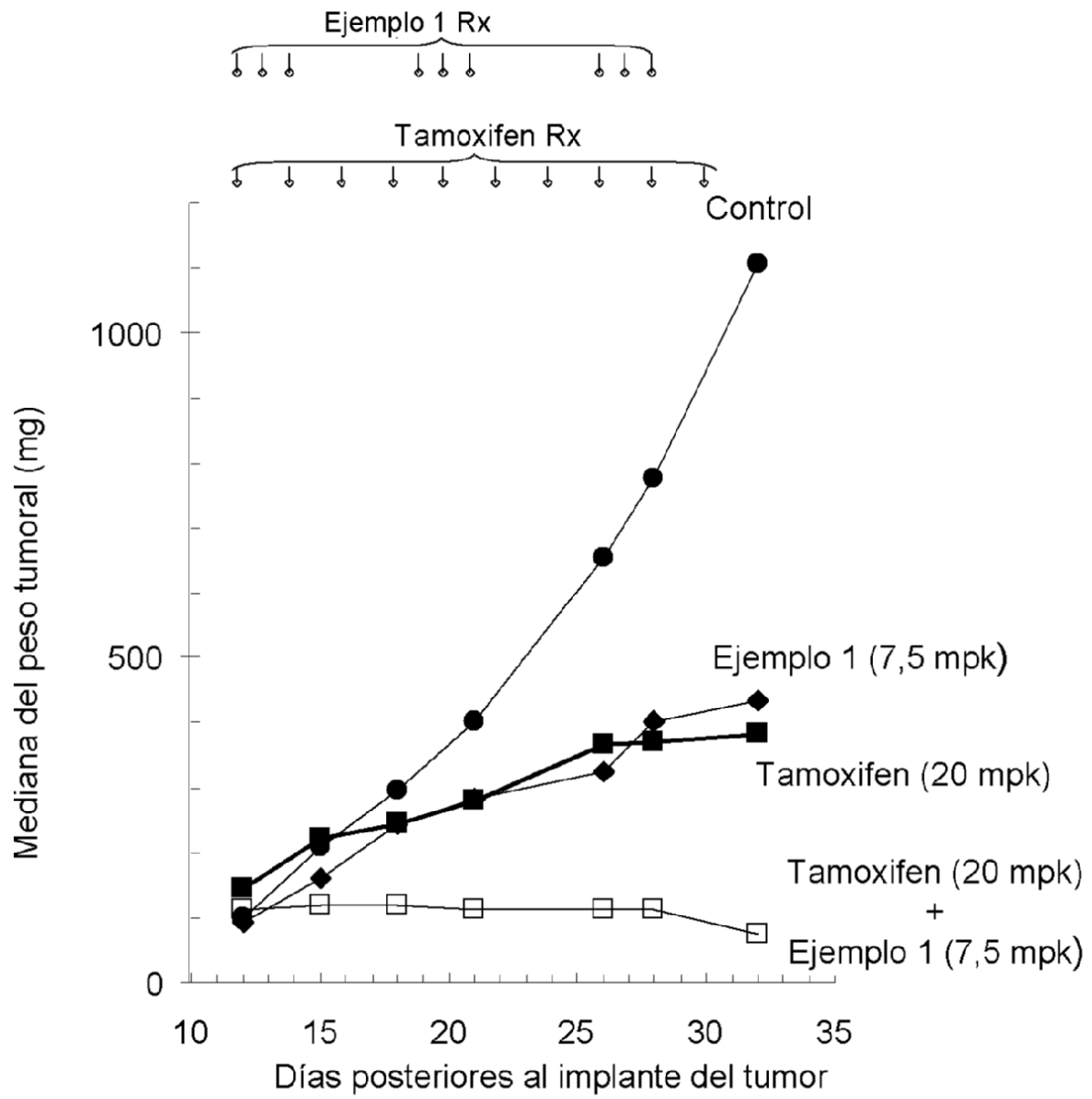


FIG. 15

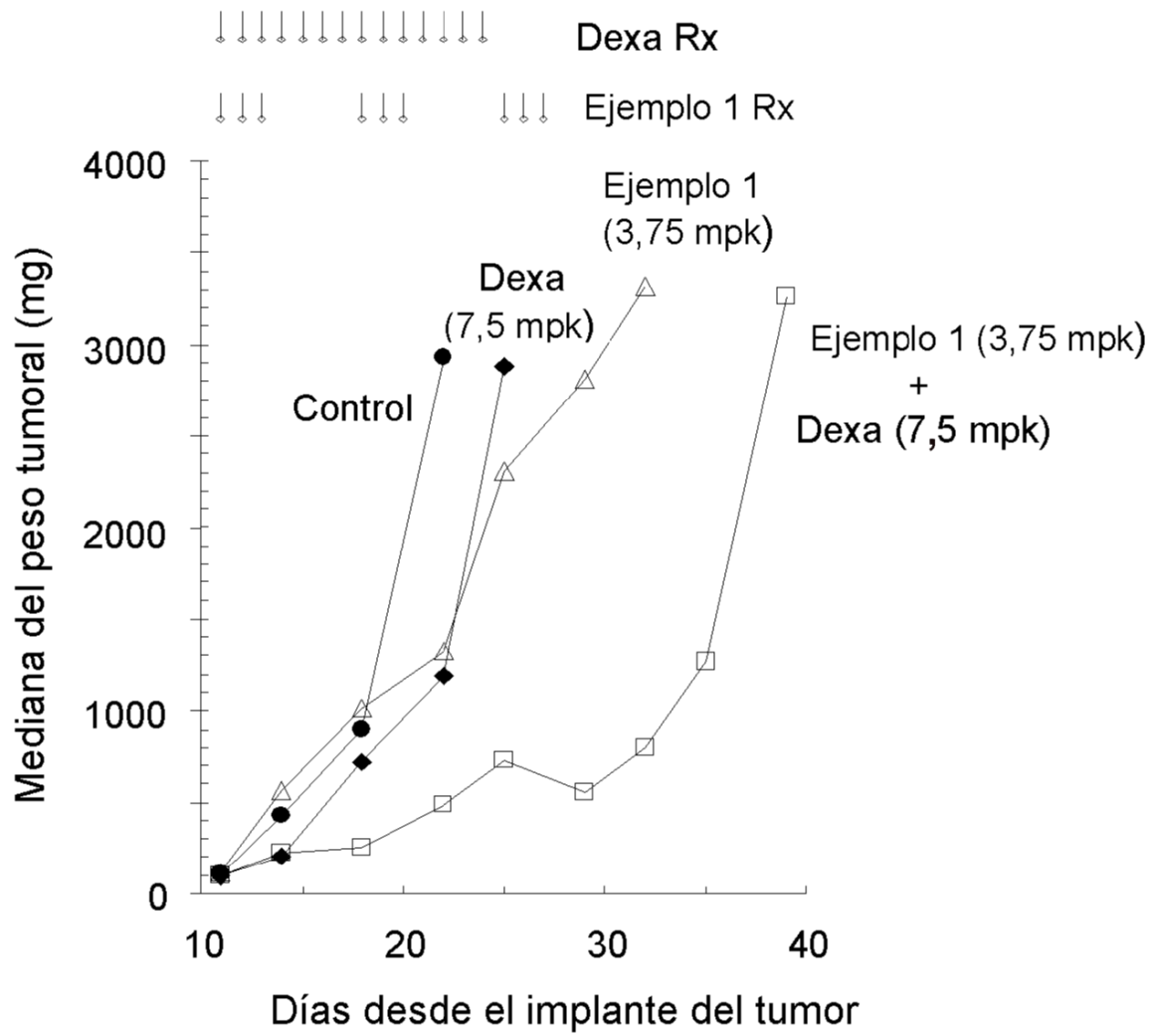


FIG. 16

