

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 236**

51 Int. Cl.:

C07D 213/16 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2012** **E 12711858 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015** **EP 2691371**

54 Título: **Sal de ácido benzoico de Otamixaban**

30 Prioridad:

29.03.2011 EP 11305348

23.06.2011 US 201161500342 P

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

29.06.2015

73 Titular/es:

SANOFI (100.0%)

54 rue La Boétie

75008 Paris, FR

72 Inventor/es:

NAGEL, NORBERT;

BAUMGARTNER, BRUNO;

BERCHTOLD, HARALD y

AYERS, TIMOTHY

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 539 236 T3

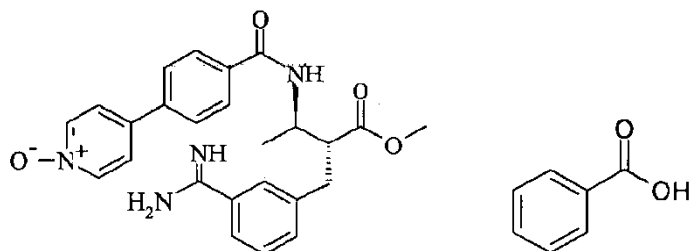
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

DESCRIPCIÓN

Sal de ácido benzoico de Otamixaban

CAMPO DE LA INVENCION

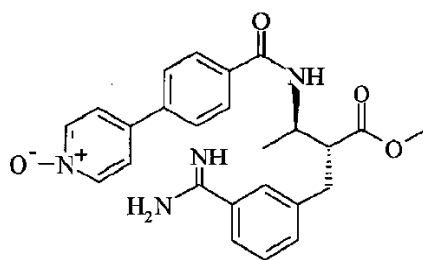
La presente invención se refiere a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo, y a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo que está en forma cristalina o en una forma al menos parcialmente cristalina, así como a un procedimiento para la preparación de la misma, a métodos de uso de tal sal para tratar sujetos que sufren afecciones que mejoran mediante la administración de un inhibidor del Factor Xa y que muestra la estructura ilustrada en la Fórmula I:



Fórmula I

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo, (número CAS 193153-04-7) tiene la Denominación Común Internacional Otamixaban, y muestra la estructura ilustrada en la Fórmula II:



Fórmula II

En el documento WO97/24118 se ha descrito el uso de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo en la preparación de un medicamento para tratar un paciente que sufre de, o sometido a, afecciones que se pueden mejorar mediante la administración de un inhibidor del Factor Xa.

El Factor Xa es la penúltima enzima en la cascada de coagulación. Factor Xa (FXa) es una serina proteasa crítica situada en la confluencia de las rutas intrínseca y extrínseca de la cascada de coagulación de la sangre. FXa cataliza la conversión de protrombina en trombina vía el complejo de protrombinasa. Su papel singular en la generación de trombina, acoplado con sus efectos potenciadores sobre la formación de coágulo, lo hacen una diana atractiva para la intervención terapéutica.

Tanto el factor Xa libre como el factor Xa ensamblado en el complejo de protrombinasa (Factor Xa, Factor Va, calcio y fosfolípido) son inhibidos por Otamixaban. La inhibición del Factor Xa se obtiene mediante formación directa del complejo entre el inhibidor y la enzima, y por lo tanto es independiente del cofactor plasmático antitrombina III. La inhibición eficaz del factor Xa se logra administrando el compuesto mediante infusión intravenosa continua, administración intravenosa de bolo o cualquier otra ruta parenteral, de manera que logre el efecto deseado de prevenir la formación inducida por el factor Xa de trombina a partir de protrombina. Los experimentos in vivo han demostrado que Otamixaban es muy eficaz en modelos de roedores, caninos y porcinos de trombosis. Además, hallazgos clínicos recientes indican que Otamixaban es eficaz, seguro y bien tolerado en seres humanos, y por lo tanto tiene un potencial considerable para el tratamiento de síndrome coronario agudo (K.R. Guertin y Yong-Mi Choi; 2007; Current Medicinal Chemistry, Vol. 14, n° 23; p. 2471-2481). Los hallazgos clínicos en un ensayo clínico de intervalo de dosis indican que Otamixaban redujo fragmentos 1 + 2 de protrombina significativamente más que la heparina sin fraccionar al régimen de dosificación más elevado (Cohen et al., Circulation, Vol. 115, n° 20, mayo 2007, páginas 2642-2651), pero dichos hallazgos clínicos no muestran datos en comparación de edad o alteración renal. Ensayos clínicos adicionales demostraron que Otamixaban induce la inhibición directa rápida del factor Xa, dependiente de la dosis, en pacientes con arteriopatía coronaria estable que toman su medicación habitual, algunos de los cuales tienen disfunción renal leve (Hinder et al., Clinical Pharmacology and Therapeutics, Vol. 80, n°

6, 2006, páginas 691-702).

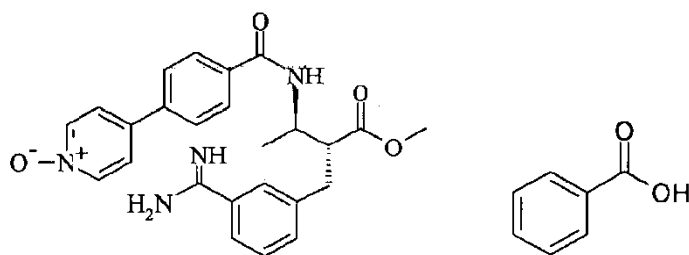
En el documento US 7.034.160 se describe una forma cristalina de hidrocloreto de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo, hemisolvato de 2-butanol. La forma cristalina de hidrocloreto de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo, hemisolvato de 2-butanol, contiene 2-butanol como solvato, lo que no es favorable para uso en composiciones farmacéuticas sólidas, y es un compuesto higroscópico.

La higroscopicidad es la capacidad de una sustancia para atraer y mantener moléculas de agua del entorno circundante a través de absorción o adsorción, "cambiándose" en cierto modo físicamente el material adsorbente o absorbente, incremento en el volumen, pegajosidad, u otros cambios de las características físicas del material a medida que las moléculas de agua se "suspenden" entre las moléculas del material en el proceso. Por lo tanto, los compuestos higroscópicos son generalmente muy desfavorables para uso en composiciones farmacéuticas sólidas.

Es un objeto de la presente invención encontrar una sal de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo con absorción o adsorción reducida de moléculas de agua del entorno circundante. Se ha encontrado que una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo tiene absorción o adsorción reducida favorable de moléculas de agua del entorno circundante.

SUMARIO DE LA PRESENTE INVENCION

En una realización, la presente invención se refiere a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo y muestra la estructura ilustrada en la Fórmula I:



Fórmula I

En otra realización, la invención se refiere a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino] butanoato de metilo, que está en forma cristalina o en una forma al menos parcialmente cristalina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En una realización, la presente invención se refiere a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo y muestra la estructura ilustrada en la Fórmula I.

En otra realización, la invención se refiere a una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino] butanoato de metilo, que está en una forma cristalina o en una forma al menos parcialmente cristalina.

El polimorfismo es la capacidad de un solo compuesto para existir en más de una forma o estructura cristalina. Los polimorfos diferentes representan sólidos distintos que comparten la misma fórmula molecular, aunque cada polimorfo puede tener propiedades físicas distintas. Un único compuesto puede dar lugar a una variedad de formas polimórficas, en las que cada forma puede tener propiedades físicas diferentes y distintas, tales como perfiles de solubilidad diferentes, estabilidad termodinámica diferente, comportamiento de cristalización diferente, capacidad de filtración diferente, temperaturas de punto de fusión diferentes y/o picos de difracción de rayos X diferentes. La diferencia en las propiedades físicas de diferentes formas polimórficas resulta de la diferente orientación e interacciones intermoleculares de moléculas adyacentes en el sólido. Las formas polimórficas de un compuesto se pueden distinguir mediante difracción de rayos X y mediante otros métodos, tales como espectroscopía infrarroja o espectroscopía de Raman.

"Amorfo" significa un sólido que exhibe un patrón de difracción de rayos X de polvo medido en transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente sin reflexiones características a 2 theta grados que se pueden separar entre sí por su ángulo de difracción de 2 theta grados específicos.

En otra realización, la invención se refiere a una sal cristalina de ácido benzoico de Fórmula I, en la que la sal

crystalina exhibe en un patrón de difracción de rayos X de polvo medido en transmisión con radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a temperatura ambiente una reflexión característica a 2 theta grados de 19,8, 18,8 y 17,9 cada vez $\pm 0,2$ 2 theta grados.

- 5 En otra realización, la invención se refiere a una sal cristalina de ácido benzoico de Fórmula I, en la que la sal cristalina exhibe en un patrón de difracción de rayos X de polvo medido en transmisión con radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a temperatura ambiente una reflexión característica a 2 theta grados de 22,0, 19,8, 18,8, 17,9, 15,7 y 13,6 cada vez $\pm 0,2$ 2 theta grados.

La selección de las reflexiones características se determinó mediante el número de reflexiones a un 2 theta grados específico.

- 10 En otra realización, la sal cristalina de ácido benzoico de Fórmula I también se puede caracterizar por su patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente por el mostrado en la Figura 1, que se ha obtenido usando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en el que las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente, no son un prerrequisito, sino que pueden variar.

- 15 La sal cristalina de ácido benzoico de fórmula I también se puede caracterizar por sus parámetros de red de cristal que se han determinado indexando su patrón de polvo. La sal cristalina de fórmula I cristaliza en el sistema cristalino ortorrómbico con $a = 33,524 \text{ \AA}$, $b = 17,928 \text{ \AA}$, $c = 9,896 \text{ \AA}$, volumen = $5947 \text{ \AA}^3$.

- 20 Además, la sal cristalina de ácido benzoico de Fórmula I también se puede caracterizar mediante sus isotermas de sorción y de desorción de vapor de agua por sorción de vapor dinámica (DVS), medidas a 25°C . Antes de comenzar el ciclo de sorción, la muestra de la sal cristalina de Fórmula I se trata con gas nitrógeno seco. Como se muestra en los ejemplos, las isotermas de sorción y desorción son casi las mismas, en las que tiene lugar una captación moderada de agua de 1,1% a 80% de humedad relativa (RH) y 2,0% a 95% de RH.

Descripciones de las Figuras

- 25 Fig. 1 – Patrón de difracción de rayos X de polvo de sal cristalina de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo, medido en modo de transmisión con radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 theta (2θ) [$^\circ$]; eje y: intensidad relativa).

- 30 La sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo también se puede preparar disolviendo el (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo en disolución acuosa o acuosa-alcohólica o en otros disolventes adecuados a los que se añade el ácido benzoico o una sal de ácido benzoico. Con agitación, la mezcla se puede calentar hasta 65°C , produciendo una disolución transparente, y el enfriamiento subsiguiente durante toda la noche produce un precipitado. El precipitado obtenido se puede filtrar, lavar con agua y secar a presión reducida.

- 35 En general, la sal cristalina de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo de la presente invención (en lo sucesivo sal benzoica de fórmula I) se puede obtener cristalizando o recristalizando compuesto de Fórmula I, a partir de una disolución de compuesto de Fórmula I o a partir de una suspensión de compuesto de Fórmula I o a partir de un compuesto sólido de Fórmula I. Al final de la síntesis química del compuesto de Fórmula I se puede haber obtenido una disolución de compuesto de Fórmula I, o una suspensión de compuesto de Fórmula I, o se puede haber obtenido disolviendo o suspendiendo compuesto bruto de Fórmula I previamente sintetizado. La expresión "compuesto bruto de Fórmula I" comprende cualquier forma de compuesto de Fórmula I, por ejemplo el material obtenido directamente de la síntesis química, una forma cristalina distinta o material amorfo del compuesto de Fórmula I.

Más específicamente, la sal cristalina de Fórmula I de la invención se puede obtener

- 45 (a) proporcionando una disolución o suspensión de compuesto de Fórmula I, por ejemplo disolviendo o suspendiendo compuesto bruto de Fórmula I en un disolvente adecuado tal como un alcohol, por ejemplo metanol, etanol, 2-propanol; en el que una disolución de compuesto de Fórmula I es generalmente una disolución transparente y se puede haber filtrado opcionalmente,

- 50 (b) manteniendo, calentando, enfriando y/o concentrando la disolución o suspensión y/o añadiendo uno o más disolventes adicionales, con o sin agitación, tal como agitación, para formar cristales de una forma cristalina distinta o solvato deseado, o para permitir la formación de una forma cristalina distinta o solvato deseado, y

(c) aislando la sal cristalina distinta de Fórmula I.

Los procedimientos para preparar formas cristalinas y solvatos de compuesto de Fórmula I se pueden llevar a cabo con equipo convencional y según procedimientos estándar. Por ejemplo, la concentración de una disolución o

suspensión en la etapa (b) se puede realizar separando el disolvente por destilación parcial o totalmente a presión atmosférica o a presión reducida. El aislamiento de una forma cristalina o solvato en la etapa (c) se puede realizar mediante cualquier técnica convencional, tal como filtración o filtración a vacío o centrifugación. El aislamiento también puede comprender secar, por ejemplo aplicando temperaturas elevadas y/o presión reducida, por ejemplo a presión moderadamente reducida a alrededor de temperatura ambiente, es decir, una temperatura de alrededor de 18°C a alrededor de 65°C, por ejemplo alrededor de 20°C o a alrededor de 65°C.

En una realización preferida, la disolución o suspensión se puede sembrar en la etapa (a) o etapa (b) para promover la cristalización. La siembra se realiza preferiblemente con una pequeña cantidad de la sal cristalina de Fórmula I ya preparada.

La sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo de la presente invención (en lo sucesivo sal benzoica de fórmula I) puede ser útil para inhibir el Factor Xa. En consecuencia, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento o prevención de una afección patológica que puede ser capaz de ser modulada inhibiendo la producción de Factor Xa.

Los ejemplos de afecciones patológicas que pueden ser capaces de ser tratadas con la sal benzoica de fórmula I de la presente invención incluyen, por ejemplo, infarto agudo de miocardio (AMI), infarto de miocardio sin elevación del segmento ST, angina inestable, tromboembolia, cierre agudo de vasos asociado con terapia trombolítica, angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA), ataques isquémicos transitorios, apoplejía, claudicación intermitentes, y restenosis.

La sal benzoica de fórmula I descrita aquí puede ser útil de este modo para, entre otros, inhibir la coagulación sanguínea en virtud de su capacidad general para inhibir la penúltima enzima en la cascada de coagulación, Factor Xa, en vez de trombina. La sal benzoica de fórmula I dentro del alcance de la presente invención puede exhibir actividades farmacológicas notables según ensayos descritos en la bibliografía, incluyendo ensayos *in vivo* y ensayos *in vitro*, estos últimos se cree que se correlacionan con actividad farmacológica en seres humanos y en otros mamíferos. Por ejemplo, se puede inhibir tanto el Factor Xa libre como el Factor Xa ensamblado en el complejo de protrombina (Factor Xa, Factor Va, calcio y fosfolípido). La inhibición del Factor Xa se puede obtener mediante formación directa del complejo entre el inhibidor y la enzima, y por lo tanto depende del cofactor plasmático antitrombina III. La inhibición eficaz del Factor Xa se puede lograr administrando la sal benzoica de fórmula I según la invención mediante infusión intravenosa continua, administración intravenosa de bolo o cualquier otra vía adecuada de manera que pueda lograr el efecto deseado de prevenir la formación inducida por el Factor Xa de trombina a partir de protrombina.

Además de su uso en terapia anticoagulante, los inhibidores del Factor Xa pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de otras enfermedades en las que la generación de trombina puede desempeñar un papel patológico. Por ejemplo, se ha propuesto que la trombina contribuye a la morbilidad de enfermedades crónicas y degenerativas tales como artritis, cáncer, aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer en virtud de su capacidad para regular muchos tipos celulares diferentes a través de la escisión específica y activación de un receptor de trombina de la superficie celular. La inhibición del Factor Xa puede bloquear eficazmente la generación de trombina, y por lo tanto neutralizar cualesquiera efectos patológicos de trombina sobre diversos tipos celulares.

Los métodos comprenden preferiblemente administrar a un paciente una cantidad farmacéuticamente eficaz de la sal benzoica de fórmula I de la presente invención, preferiblemente en combinación con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Las proporciones relativas de composiciones farmacéuticas y vehículo y/o excipiente se pueden determinar, por ejemplo, mediante la solubilidad y naturaleza química de los materiales, la vía escogida de administración y la práctica farmacéutica estándar.

La dosis de la sal benzoica de fórmula I que será más adecuada para profilaxis o tratamiento puede variar con la forma de administración, la nueva forma particular del compuesto escogida y las características fisiológicas del paciente particular bajo tratamiento. De forma amplia, inicialmente se pueden usar dosis pequeñas y, si es necesario, se pueden incrementar por incrementos pequeños hasta que se alcanza el efecto deseado en las circunstancias.

Hablando de forma general, en el adulto, las dosis adecuadas pueden oscilar de alrededor de 0,01 a alrededor de 100 mg/kg de peso corporal, y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y dosis específicas allí. Las dosis preferidas pueden ser de alrededor 0,01 a alrededor 10 mg/kg de peso corporal por día mediante inhalación, de alrededor 0,01 a alrededor 100, preferiblemente 0,1 a 70, más preferiblemente 0,5 a 10 mg/kg de peso corporal por día mediante administración oral, y de alrededor 0,01 a alrededor 50, preferiblemente 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal por día mediante administración intravenosa. En cada caso particular, las dosis se pueden determinar según los factores peculiares al sujeto a tratar, tales como edad, peso, estado general de salud y otras características que pueden influir en la eficacia del producto medicinal.

La sal benzoica de fórmula I según la invención se puede administrar tan frecuentemente como sea necesario para obtener el efecto terapéutico deseado. Algunos pacientes pueden responder rápidamente a una mayor o menor dosis, y pueden encontrar adecuadas dosis de mantenimiento mucho más débiles. Para otros pacientes, puede ser

necesario realizar tratamientos a largo plazo a las tasas de alrededor de 1 a alrededor de 4 dosis por día, según los requisitos fisiológicos de cada paciente particular. Generalmente, el producto activo se puede administrar oralmente alrededor de 1 a alrededor de 4 veces por día. No es necesario decir que, para otros pacientes, puede ser necesario prescribir no más de una o dos dosis por día.

5 La sal benzoica de fórmula I de esta invención se puede administrar en formas de dosificación orales tales como comprimidos, cápsulas (cada una de las cuales incluye formulaciones de liberación sostenida o de liberación en el tiempo), pastillas, polvos, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones, jarabes, y emulsiones. Las formas de dosificación sólidas (composiciones farmacéuticas) adecuadas para administración pueden contener generalmente de alrededor 1 mg a alrededor 1000 mg de la sal benzoica de fórmula I por unidad de dosis.

10 Para la administración oral en forma sólida tal como un comprimido o cápsula, la sal benzoica de fórmula I se puede combinar con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, no tóxico, tal como lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, manitol, sorbitol, y similar.

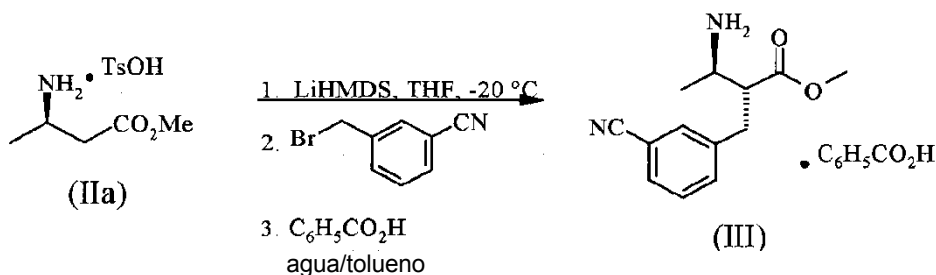
Preferiblemente, además del ingrediente activo, las formas de dosificación sólidas pueden contener un número de ingredientes adicionales denominados aquí como "excipientes". Estos excipientes incluyen, entre otros, diluyentes, aglutinantes, lubricantes, deslizantes y disgregantes. También se pueden incorporar agentes colorantes. "Diluyentes", como se usa aquí, se refiere a agentes que pueden proporcionar volumen a la formulación, para obtener un comprimido de un tamaño práctico para la compresión. Los ejemplos de diluyentes son lactosa y celulosa. "Aglutinantes", como se usa aquí, se refiere a agentes que se pueden usar para impartir cualidades cohesivas al material en polvo, para ayudar a que el comprimido permanezca intacto tras la compresión, así como para mejorar las cualidades de libre circulación del polvo. Los ejemplos de aglutinantes típicos incluyen lactosa, almidón y diversos azúcares. "Lubricantes", como se usa aquí, tiene varias funciones, incluyendo la prevención de la adhesión de los comprimidos al equipo de compresión, y la mejora del flujo de la granulación antes de la compresión o encapsulamiento. Los lubricantes son en la mayoría de los casos materiales hidrófobos. Sin embargo, el uso excesivo de lubricantes es indeseado, ya que puede dar como resultado una formulación con una disgregación reducida y/o una disolución retrasada de la sustancia farmacéutica. "Deslizantes", como se usa aquí, se refiere a sustancias que pueden mejorar las características de flujo del material de granulación. Los ejemplos de deslizantes incluyen talco y dióxido de silicio coloidal. "Disgregantes", como se usa aquí, se refiere a sustancias o mezclas de sustancias añadidas a una formulación para facilitar la ruptura o disgregación de la forma de dosificación sólida tras la administración. Los materiales que pueden servir como disgregantes incluyen almidones, arcillas, celulosas, alginatos, gomas y polímeros reticulados. Un grupo de disgregantes denominados "superdisgregantes" generalmente se usa en una cantidad baja en la forma de dosificación sólida, típicamente 1% a 10% en peso con respecto al peso total de la unidad de dosificación. La croscarmelosa, crospovidona y el glicolato de almidón sódico representan ejemplos de una celulosa reticulada, un polímero reticulado y un almidón reticulado, respectivamente. El glicolato de almidón sódico se hincha siete a doce veces en menos de 30 segundos, disgregando eficazmente las granulaciones que contiene.

Como será manifiesto para una persona de pericia normal en la técnica una vez armada con las enseñanzas de la presente descripción, cuando se disuelve, la sal benzoica cristalina de fórmula I pierde su estructura cristalina, y por lo tanto se considera que es una disolución de sal benzoica de Fórmula I. Todas las formas de la presente invención, sin embargo, se pueden usar para la preparación de formulaciones líquidas en las que la sal de ácido benzoico cristalina de fórmula I se puede, por ejemplo, disolver o suspender. Además, la sal benzoica cristalina de fórmula I se puede incorporar en formulaciones sólidas.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran los métodos preferidos de los inventores para preparar y usar la sal de ácido benzoico de fórmula I de la presente invención.

EJEMPLOS

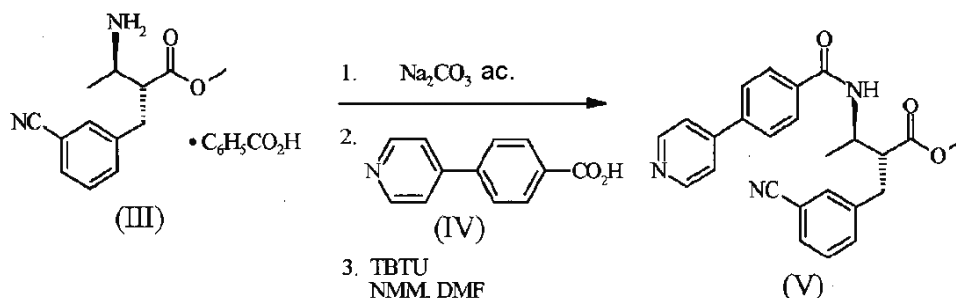
45 Ejemplo 1 Preparación de Compuesto (III)



TsOH es ácido p-toluenosulfónico con la fórmula $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$. TsOH se refiere al monohidrato. Se cargó en un reactor Compuesto (IIa) (100,0 g) y tetrahidrofurano anhidro (THF) (320 g). La suspensión resultante se enfrió hasta $-20 \pm 3^\circ\text{C}$, y se añadió hexametildisilazuro de litio (LiHMDS) (475,6 gramos, disolución 1,3 M en THF) durante 55 minutos y se agitó durante 20 minutos a $-20 \pm 3^\circ\text{C}$. Entonces se cargó en el reactor una disolución de α -bromo-m-

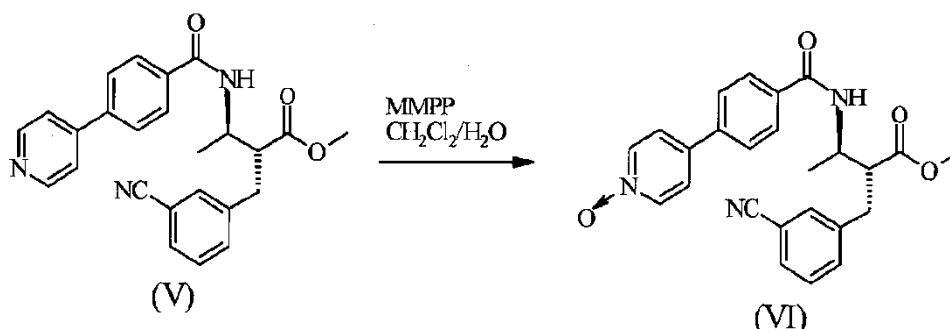
tolunitrilo en THF (65,1 g en 181 g de THF) durante 40 minutos mientras se mantiene la temperatura a $-20 \pm 3^\circ\text{C}$, y se agitó durante otros 30 minutos. Se cargó ácido benzoico (126,6 gramos) como un sólido al reactor. Entonces se añadió agua (1000 gramos), y la mezcla se destiló a una temperatura de camisa de $65 \pm 3^\circ\text{C}$ y vacío de 200-233 mbars. Tras destilar a una temperatura de cazuela constante de 57°C y temperatura de cabeza constante de 45°C , la disolución se detuvo. Se añadió tolueno (432 g) a la disolución caliente, y se agitó mientras se enfriaba hasta $10 \pm 2^\circ\text{C}$. La suspensión resultante se filtró entonces, y la torta de filtro se lavó con agua (250 gramos) y tolueno (432 gramos). El Compuesto (III) se secó a $45-50^\circ\text{C}$ a vacío de ~ 350 mbars en una corriente de nitrógeno durante 24 h hasta peso constante. El sólido aislado pesó 76,0 gramos (rendimiento 62,0%).

Ejemplo 2 Preparación de Compuesto V



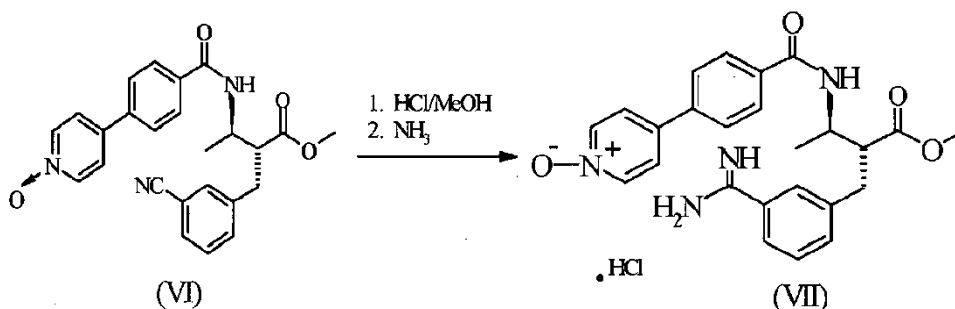
El Compuesto (III) se repartió entre diclorometano y carbonato de sodio acuoso. La fase orgánica (que contiene la base libre de (III)) se lavó con carbonato de sodio acuoso adicional y se destiló a presión reducida, y el disolvente se intercambió con dimetilformamida (DMF). Esta disolución se evaluó para determinar el contenido p/p de (III). A una suspensión de (IV) (1,0 equivalentes frente a (III)) en DMF se añadieron 2 equivalentes de 4-metilmorfolina y 1,1 equivalentes de tetrafluoroborato de *O*-benzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (TBTU). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que la activación del éster estuvo terminada (alrededor de 90 minutos). Se añadió la disolución de Compuesto (III) (1 equivalente) en DMF, y la disolución resultante se agitó toda la noche, tras lo cual la HPLC indicó que la reacción estaba terminada. Se añadió agua a 75°C , y la mezcla se enfrió para cristalizar el producto. La mezcla se enfrió hasta 5°C , se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua. El producto se secó a presión reducida a 70°C .

Ejemplo 3 Preparación de Compuesto (VI)



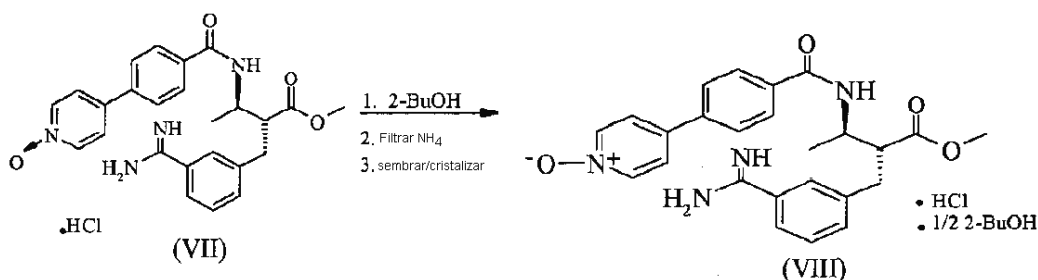
En un reactor bien agitado, se hicieron reaccionar 45 g de Compuesto (V) en 450 ml de diclorometano durante al menos 5 horas con 61 g de monoperoxifalato de magnesio (66,4% basado en oxígeno disponible, 1,5 eq.) en 450 g de agua hasta que la reacción estuvo terminada. Las fases se separaron, y la fase orgánica se lavó sucesivamente con volúmenes iguales de agua, una disolución de bicarbonato de sodio acuosa al 5%, y agua. La disolución resultante se concentró hasta una disolución aproximadamente 40% en peso, y se diluyó con 180 g de metil isobutil cetona (MIBK). La destilación posterior para eliminar diclorometano residual, la siembra con cristales apropiados, y el enfriamiento dieron el producto como un sólido cristalino. Los cristales se filtraron, se enjuagaron con 30 g de MIBK, y se secaron a 50°C a presión reducida para dar 41,8 g de Compuesto (VI) (rendimiento 89,3%).

Ejemplo 4 Preparación de Compuesto (VII)



A un matraz de reacción encamisado de 200 ml se cargaron Compuesto (VI) (50,0 g, 116 mmoles) y metanol (50 ml). Esta mezcla se enfrió hasta -5°C y se cerró herméticamente tras estabilizar un vacío parcial (alrededor de 100 torr). Se añadió HCl anhidro (52,2 g, 1,43 moles) mientras se mantiene la temperatura de reacción a menos de 0°C. La reacción se agitó a 0 ± 1°C en condiciones cerradas. Después de 16 horas, la reacción estaba terminada (menos de 2% A (VI) mediante HPLC). A la disolución del producto intermedio se añadió metanol anhidro (100 ml) mientras se mantiene la temperatura a menos de 5°C. La disolución se trató con NH₃ (27,7 g, 1,62 moles), manteniendo la temperatura a menos de 0°C. Antes de permitir que la mezcla se calentase hasta la temperatura ambiente, se realizó una comprobación del pH de una alícuota disuelta en agua destilada (un pH de 8-10 indica una carga suficiente de amoníaco). La reacción se agitó a 20°C toda la noche, en cuyo punto la reacción estaba terminada.

Ejemplo 5 Preparación de Compuesto (VIII) mediante adición de disolvente

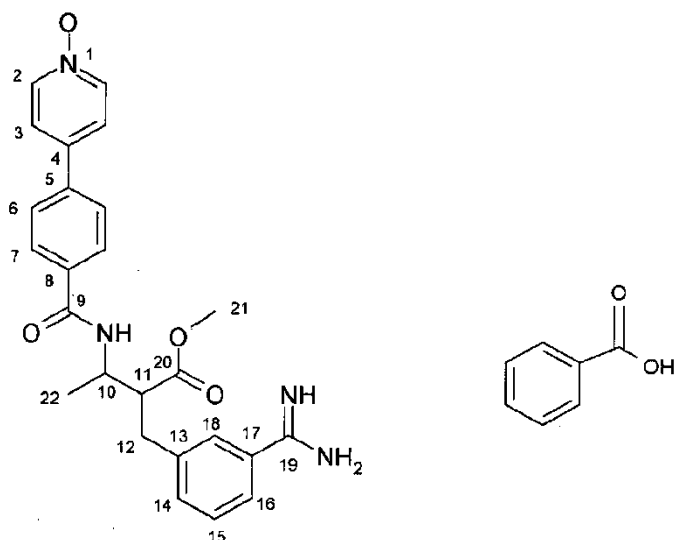


A la suspensión de cloruro de amonio del Ejemplo 4 se añadió 2-butanol (840 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora mientras se calentaba hasta 70°C. El cloruro de amonio se eliminó mediante filtración en caliente, y la torta se lavó con una disolución de 20 ml de metanol en 160 ml de 2-butanol. Los filtrados se combinaron, y se añadieron 0,5 g de cristales de siembra. La mezcla se dejó agitar toda la noche a temperatura ambiente. La suspensión se enfrió hasta -15°C y se mantuvo durante 2 horas para asegurar la cristalización completa. El sólido se filtró, y el reactor y la torta se lavaron con 165 ml de 2-butanol. El sólido se secó a presión reducida a 45°C hasta 50°C con una purga de nitrógeno, dando 44,3 g (73,2%) de Compuesto (VIII) como un sólido cristalino blanquecino.

Ejemplo 6 Preparación de sal de ácido benzoico

El material se preparó disolviendo 4 g del compuesto preparado en el Ejemplo 5 (el monohidrocloruro-solvato de hemi-2-butanol) en 80 ml de agua caliente y añadiendo 1,11 g de benzoato de sodio sólido. Con agitación, la mezcla se enfrió toda la noche. El precipitado obtenido se filtró, se lavó con agua y se secó a presión reducida a 40°C durante 6 horas. El rendimiento ascendió hasta 79,4%.

Los datos de RMN confirmaron la sal recibida como una relación 1:1 de ácido benzoico y (2*R*,3*R*)-2-[3-amino(imino)metil]bencil-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo, y muestra la estructura ilustrada en el siguiente esquema:



Calibración	^1H	^{13}C
	DMSO = 2,50 ppm	DMSO = 39,476 ppm

DMSO significa dimetilsulfóxido

Para una asignación completa de desplazamientos químicos de RMN, véase la Tab. 1.

- 5 Tab. 1: Desplazamientos químicos de RMN de la sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo, c = 4,5 mg en 600 μl de DMSO a 300°K.

posición	δ (^{13}C) [ppm]	m (^{13}C)	δ (^1H) [ppm]	correlaciones $^n\text{J}_{\text{CH}}$
1		N		
2	138,95		8,291	8,29, 7,86
3	123,86		7,855	7,86, 8,29
4	134,34	C		8,29, 7,91
5	138,11	C		7,86, 7,94
6	126,00	CH	7,906	7,91
7	128,11	CH	7,942	7,94
8	134,86	C		7,91
9	165,10	C		8,45, 7,94
		NH		
10	46,42	CH	4,457	3,11, 2,98, 1,28
11	51,95	CH	3,117	2,98, 1,28
12	33,35	CH ₂	3,014, 2,977	7,66, 3,11
13	140,45	C		7,50, 2,98
14	133,37	CH	7,503	7,66, 7,64, 2,98
15	128,91	CH	7,508	
16	125,55	CH	7,650	7,49, 7,66
17	129,37	C		7,50
18	127,88	CH	7,666	2,98
19	166,10	C		7,66, 7,64
20	172,90	C		3,52, 3,11, 2,98
21	51,43	CH ₃	3,528	
22	17,56	CH ₃	1,288	4,44, 3,11
Benz-1	171,29	C		7,91
Benz-2	138,55	C		7,34
Benz-3	128,88	CH	7,912	7,91, 7,38
Benz-4	127,33	CH	7,338	7,34
Benz-5	129,46	CH	7,378	7,91

Como alternativa, a una disolución de 5,0 g del compuesto preparado en el Ejemplo 4 en 100 ml de agua se

añadieron 2,2 g de benzoato de sodio. La mezcla se calentó en un baño de vapor hasta que fue homogénea. Se añadió carbón (aproximadamente 2 g), y esta mezcla se filtró a través de celite®, lavando con 20 ml de agua. La cristalización comenzó inmediatamente. Tras enfriar durante 2 h, los sólidos se recogieron y se lavaron con agua. Tras secar los sólidos durante 3 días en un horno de vacío a 50°C, se recogieron 3,9 g (67%). La RMN ¹H confirmó la sal como una relación 1:1 de ácido benzoico y (2R,3R)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo.

Ejemplo 7 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La medida de DSC se llevó a cabo con un Mettler DSC822e (módulo DSC822e/700/109/414935/0025). Se usaron crisoles de aluminio de 40 µl con tapa sellada herméticamente y orificio. Todas las medidas se llevaron a cabo en un caudal de nitrógeno de 50 ml/min. y a una velocidad de calentamiento de 10°/min. El dato medido se evaluó vía el software STARe V8.10.

La forma cristalina usada se preparó como en el Ejemplo 6 y mostró, durante el calentamiento desde 25°C hasta 300°C, un pico de inicio a 216,01°C y un pico a 221,15°C.

Ejemplo 8 Preparación de una forma cristalina

Se preparó una forma cristalina enfriando rápidamente una disolución de 0,190 g de sal de ácido benzoico de fórmula I como se prepara en el Ejemplo 6 en 2 ml de etanol, desde 65°C hasta 0°C. Puesto que no se produjo la precipitación, la muestra se dejó toda la noche a 0°C. El precipitado se aisló mediante filtración a vacío, y entonces se secó a presión reducida a 25°C.

Como alternativa, una forma cristalina se preparó mediante enfriamiento controlado y una disolución agitada de 0,200 g de sal de ácido benzoico de Fórmula I como se prepara en el Ejemplo 6 en 5,0 ml de etanol, desde 65°C hasta 10°C en 18 h. El precipitado se aisló mediante filtración a vacío.

Como alternativa, una forma cristalina se preparó mediante enfriamiento controlado de una disolución agitada de 0,201 g de sal de ácido benzoico de fórmula I como se prepara en el Ejemplo 6 en 15 ml de 2-propanol y 1,0 ml de agua, desde 65°C hasta 10°C en 18 h. Puesto que no se produjo la precipitación, se dejó que el disolvente se evaporase a 65°C.

Como alternativa, una forma cristalina se preparó disolviendo 0,217 g de sal de ácido benzoico de fórmula I como se prepara en el Ejemplo 6 en 5,0 ml de etanol, a alrededor de 65°C. El disolvente se dejó entonces evaporar a partir de la disolución agitada a la misma temperatura durante toda la noche. El residuo sólido se secó a temperatura ambiente a presión reducida.

Como alternativa, una forma cristalina se preparó disolviendo 0,197 g de sal de ácido benzoico de fórmula I como se prepara en el Ejemplo 6 en 10 ml de 2-propanol y 1,0 ml de agua, a alrededor de 65°C. El disolvente se dejó entonces evaporar a partir de la disolución agitada a la misma temperatura durante toda la noche. El residuo sólido se secó a temperatura ambiente a presión reducida.

Ejemplo 9 Sorción dinámica de vapor (DVS)

Las isotermas de sorción/desorción de humedad se registraron en un DVS-1000 de Surface Measurement Systems. Se llevaron a cabo dos ciclos a 25°C, en los que la muestra se trató en primer lugar con gas nitrógeno seco y después la humedad relativa se incrementó por etapas desde 0 hasta 95% y se disminuyó subsiguientemente de nuevo hasta 0%, y se midió el peso de la muestra. Los tiempos de medida totales típicos para ambos ciclos fueron alrededor de 20 a 30 horas.

Los datos medidos para la sal de ácido benzoico de (2R,3R)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo según se prepara en el Ejemplo 8 se muestran en la siguiente tabla 2.

Tabla 2: Isoterma de DVS a 24,9°C

	RH diana (%)	Cambio en la masa (%)		
		Sorción	Desorción	Histéresis
Ciclo 1	0,0	0,000	-0,035	
	10,0	0,096	0,215	0,119
	20,0	0,180	0,326	0,146
	40,0	0,363	0,534	0,172
	60,0	0,596	0,810	0,214
	80,0	0,926	1,300	0,374
	90,0	1,408	1,697	0,290
	95,0	2,031	2,031	
Ciclo 2	0,0	-0,035	-0,056	

RH diana (%)	Sorción	Cambio en la masa (%)		Histéresis
		Desorción		
10,0	0,109	0,198		0,089
20,0	0,226	0,310		0,084
40,0	0,461	0,523		0,062
60,0	0,742	0,800		0,058
80,0	1,241	1,299		0,058
90,0	1,616	1,687		0,071
95,0	1,999	1,999		

“RH” significa humedad relativa; la humedad relativa de una mezcla de aire-agua se define como la relación de la presión parcial de vapor de agua en la mezcla a la presión de vapor saturado de agua a una temperatura prescrita.

- 5 DVS muestra una captación moderada de agua de 1,1% a 80% de RH y de 2,0% a 95% de RH para la sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo.

Experimento de comparación de DVS:

Monohidrocloruro-solvato de hemi-2-butanol de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo como se prepara en el Ejemplo 5.

- 10 Los datos medidos para monohidrocloruro-solvato de hemi-2-butanol de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo como se prepara en el Ejemplo 5 se muestran en la siguiente tabla 3.

Tabla 3: Isoterma de DVS a 25,5°C

	RH diana (%)	Sorción	Cambio en la masa (%)		Histéresis
			Desorción		
Ciclo 1	0,0	0,00	0,35		
	10,0	0,79	3,33		2,54
	20,0	1,28	5,29		4,01
	40,0	2,22	7,14		4,91
	60,0	3,69	9,78		6,09
	80,0	17,79	16,92		-0,87
	90,0	26,66	26,07		-0,59
	95,0	34,13	34,13		
Ciclo 2	0,0	0,35	0,34		
	10,0	0,69	3,17		2,48
	20,0	1,32	4,97		3,65
	40,0	2,67	6,78		4,11
	60,0	4,57	9,41		4,84
	80,0	13,43	16,37		2,94
	90,0	23,91	25,32		1,41
	95,0	32,86	32,86		

- 15 DVS muestra una fuerte captación de agua de 3,69% a 60% de RH, 17,79% a 80% de RH, 26,66% a 90% de RH y 34,13% a 95% de RH para monohidrocloruro-solvato de hemi-2-butanol de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo.

Ejemplo 10 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

- 20 La medida de DSC se llevó a cabo con un Mettler DSC822e (módulo DSC822e/700/109/414935/0025). Se usaron crisoles de aluminio de 40 µl con tapa sellada herméticamente y orificio. Todas las medidas se llevaron a cabo en un caudal de nitrógeno de 50 ml/min. y a una velocidad de calentamiento de 10°/min. El dato medido se evaluó vía el software STARe V8.10.

La forma cristalina usada se preparó como en el Ejemplo 8 y mostró, durante el calentamiento desde 25°C hasta 300°C, un pico de inicio a 225,57°C y un pico a 229,02°C.

Ejemplo 11 Difracción de rayos X de polvo (XRPD)

- 25 La difracción de rayos X de polvo se llevó a cabo con un difractómetro de transmisión Stoe Stadi-P usando radiación CuK α_1 (la longitud de onda es 1,54060 Angström) y detectores sensibles a la posición lineal. Excepto que se señale de otro modo, la difracción de rayos X de polvo se llevó a cabo a temperatura ambiente. Las muestras se investigaron en preparación plana. Los datos medidos se evaluaron y se representaron gráficamente con el software WinXPOW V2.12.

El patrón de difracción de rayos X de polvo observado de la sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-{[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino}butanoato de metilo según se prepara en el Ejemplo 8 se presenta en la Figura 1 (Fig. 1). Al patrón de difracción de rayos X de polvo mostrado en la Figura se restó el fondo.

- 5 Los ángulos 2θ (2 theta) en ° (grado) se especifican como el número de reflexiones características. Los ángulos 2θ en grados tienen los siguientes valores en la Fig. 1, y las intensidades relativas se muestran entre paréntesis:

10 5,26(20), 5,61 (15), 7,20(17), 9,31 (18), 10,23(16), 10,40(15), 10,53(15), 11,51 (14), 11,62(16), 12,91 (16), 13,58(23), 14,33 (14), 15,05(11), 15,74 (26), 16,51 (9), 17,01 (11), 17,53(12), 17,93(30), 18,12 (14), 18,79 (47), 19,80 (100), 20,52(15), 20,65(15), 21,20(13), 21,36(15), 21,99(21), 22,32(11), 22,86(16), 23,16(9), 23,51 (13), 23,95(14), 24,44 (11), 24,96(13), 25,39(7), 25,87(10), 25,97(10), 26,34(7), 26,58 (6), 26,94(12), 27,36 (9), 27,57(8), 28,67 (6), 28,88(7), 29,94 (6), 30,91 (13), 31,39 (6), 31,88 (5), 32,25(4), 32,72 (4), 33,77 (5),

REIVINDICACIONES

1. Sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo.
- 5 2. Sal de ácido benzoico según la reivindicación 1, que está en una forma cristalina o en una forma al menos parcialmente cristalina.
3. Sal de ácido benzoico según la reivindicación 2, en la que la sal cristalina exhibe en un patrón de difracción de rayos X de polvo medido en transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente una reflexión característica a 2 theta grados de 19,8, 18,8 y 17,9, cada vez $\pm$ 0,2 2 theta grados.
- 10 4. Sal de ácido benzoico según la reivindicación 2, en la que la sal cristalina exhibe en un patrón de difracción de rayos X de polvo medido en transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente una reflexión característica a 2 theta grados de 22,0, 19,8, 18,8, 17,9, 15,7 y 13,6 cada vez $\pm$ 0,2 2 theta grados.
5. Sal de ácido benzoico según la reivindicación 2, que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente de acuerdo con el mostrado en la Figura 1.
- 15 6. Procedimiento para la preparación de la sal de ácido benzoico según la reivindicación 1, que comprende disolver (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo en una disolución acuosa o acuosa-alcohólica, y añadir ácido benzoico o benzoato de sodio.
7. Sal de ácido benzoico según las reivindicaciones 1 a 5, para uso como un medicamento.
- 20 8. Una composición farmacéutica que comprende una sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo según las reivindicaciones 1 a 5, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 9. La sal de ácido benzoico de (2*R*,3*R*)-2-{3-[amino(imino)metil]bencil}-3-[[4-(1-oxidopiridin-4-il)benzoil]amino]butanoato de metilo según las reivindicaciones 1 a 5, para uso en el tratamiento de infarto agudo de miocardio, infarto de miocardio sin elevación del segmento ST, angina inestable, tromboembolia, cierre agudo de vasos asociado con terapia trombolítica, angioplastia coronaria transluminal percutánea, ataques isquémicos transitorios, apoplejía, claudicación intermitentes, y restenosis.

FIG. 1

