

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 219**

51 Int. Cl.:

C07F 5/02	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
C07F 5/04	(2006.01) C07K 7/02	(2006.01)
C07C 7/00	(2006.01)	
C07K 5/06	(2006.01)	
C07K 5/08	(2006.01)	
C07K 5/078	(2006.01)	
A61K 38/00	(2006.01)	
A61K 38/05	(2006.01)	
A61K 31/69	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2002 E 10006835 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2251344**

54 Título: **Formulación de compuestos de ácido borónico**

30 Prioridad:

25.01.2001 US 264160 P

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

24.05.2016

73 Titular/es:

**THE UNITED STATES OF AMERICA,
REPRESENTED BY THE SECRETARY,
DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN
SERVICES (100.0%)
National Institutes of Health, Office of
Technology Transfer, Suite 325, 6011 Executive
Boulevard
Rockville, MD 20852, US**

72 Inventor/es:

GUPTA, SHANKER

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 571 219 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

Formulación de compuestos de ácido borónico

5 CAMPO DE LA PRESENTE MEMORIA

La presente memoria se refiere a la formulación de compuestos farmacéuticos. Más particularmente, la presente memoria se refiere a composiciones farmacéuticamente aceptables, estables, preparadas a partir de compuestos de ácido borónico. Igualmente, la presente memoria se refiere a procedimientos para la preparación de dichas composiciones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Los compuestos de ácido y éster borónico muestran una diversidad de actividades biológicas farmacéuticamente útiles. Shenvi y otros, patente de EE.UU. No. 4.499.082 (1985), divulgan que los ácidos péptido borónicos son inhibidores de ciertas enzimas proteolíticas. Kettner y Shenvi, patente de EE.UU. No. 5.187.157 (1993); patente de EE.UU. No. 5.242.904 (1993); y patente de EE.UU. No. 5.250.720 (1993), describen una clase de ácidos péptido borónicos que inhiben proteasas de tipo tripsina. Kleeman y otros, Patente de EE.UU. No. 5.169.841 (1992), divulgan ácidos péptido borónicos modificados en N-terminal que inhiben la acción de la renina. Kinder y otros, patente de EE.UU. No. 5.106.948 (1992), divulgan que ciertos compuestos de ácido tripéptido borónico inhiben el desarrollo de células de cáncer.

Adams y otros, patente de EE.UU. No. 5.780.454 (1998), patente de EE.UU. No. 6.066.730 (2000), patente de EE.UU. No. 6.083.903 (2000), y patente de EE.UU. No. 6.297.217 (2001), describen compuestos de ácido y éster péptido borónicos útiles como inhibidores de proteasomas. Las referencias describen igualmente el uso de compuestos de ácido y éster borónicos para reducir la velocidad de degradación de proteína del músculo, para reducir la actividad de NF- κ B en una célula, para reducir la velocidad de degradación de proteína p53 en una célula, para inhibir la degradación de ciclina en una célula, para inhibir el desarrollo de una célula de cáncer, para inhibir la presentación de antígeno en una célula, para inhibir la adhesión de célula dependiente de NF- κ B, y para inhibir la replicación del VIH. Brand y otros, patente WO 98/35691, expone que los inhibidores de proteasomas, incluyendo compuestos de ácido borónico, son útiles para el tratamiento de infartos tales como los que se producen durante la apoplejía o el infarto de miocardio. Elliott y otros, patente WO 99/15183, expone que los inhibidores de proteasomas son útiles para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Desgraciadamente, los ácido alquilborónicos son relativamente difíciles de obtener en forma analíticamente pura. Snyder y otros, J. Am. Chem. Soc., pág. 3611 (1958), exponen que los compuestos de ácido alquilborónico forman fácilmente boroxinas (anhídridos) bajo condiciones deshidratantes. Igualmente, los ácidos alquilborónicos y sus boroxinas son frecuentemente sensibles al aire. Korcek y otros, J. Chem. Soc., Perkin Trans., vol. 2, pág. 242, (1972), expone que el ácido butilborónico es oxidado fácilmente por el aire para generar 1-butanol y ácido bórico. Estas dificultades limitan la utilidad farmacéutica de compuestos del ácido borónico, complicando la caracterización de agentes farmacéuticos que comprenden compuestos de ácido borónico y limitando su tiempo de almacenamiento.

Wu y otros, J. Pharm. Sci., 89(6) 7568-765 (2000) describe la identificación de los mecanismos de degradación de un derivado peptídico de ácido borónico, 2-Pyz-(CO)-Phe-Leu-B(OH)₂.

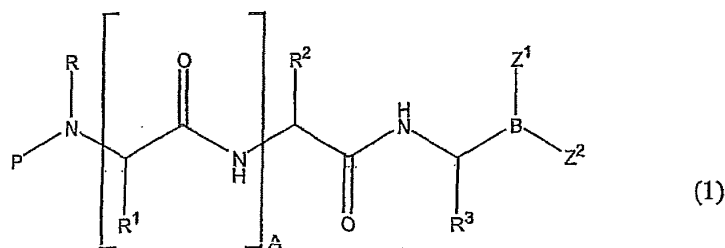
En consecuencia, existe una necesidad en la técnica de formulaciones mejoradas de compuestos de ácido borónico. Idealmente, dichas composiciones serían preparadas de manera conveniente, mostrarían una mayor estabilidad y un tiempo de almacenamiento más largo en comparación con el compuesto de ácido borónico libre, y liberarían fácilmente el compuesto de ácido borónico bioactivo cuando se administran a un sujeto que necesite tratamiento con ácido borónico.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCIÓN

La presente memoria proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables, estables, preparadas a partir de compuestos de ácido borónico. Igualmente, la memoria proporciona procedimientos para la preparación de dichas composiciones. La memoria proporciona el descubrimiento de que la liofilización de una mezcla acuosa que comprende un compuesto de ácido borónico y un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo produce una composición estable que libera fácilmente el compuesto de ácido borónico tras disolución en medio acuoso.

En un primer aspecto, la memoria proporciona compuestos que tienen la fórmula (1):

65



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

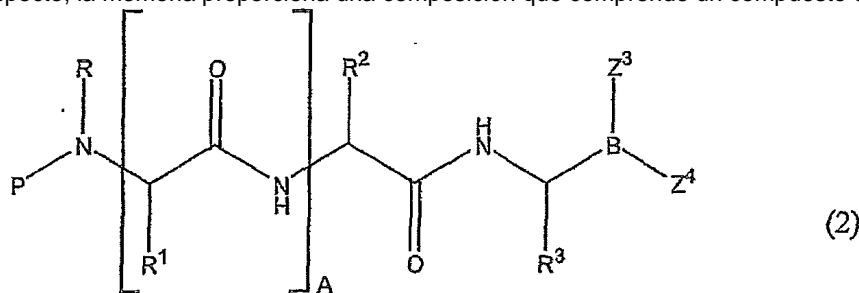
R¹, R², y R³ son independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es uno de arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de un azúcar, en la que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno.

En un segundo aspecto, la memoria proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (2):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R¹, R², y R³ son independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es uno de arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, alquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z³ y Z⁴ conjuntamente forman un resto derivado de un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo separados por al menos dos grupos de átomos de conexión en una cadena o anillo, comprendiendo dicha cadena o anillo átomos de carbono y, opcionalmente, un heteroátomo o heteroátomos que pueden ser N, S u O;

en un polvo liofilizado.

En un tercer aspecto, la memoria proporciona un procedimiento para formular un compuesto de ácido borónico, comprendiendo el procedimiento:

(a) preparar una mezcla que comprende

(i) agua,

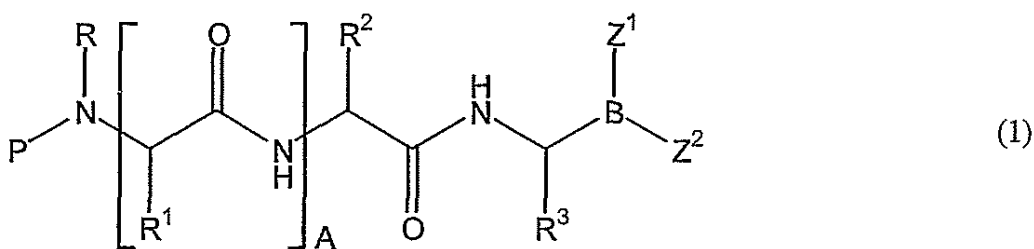
(ii) un compuesto de ácido borónico; y

(iii) un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo separados por al menos dos grupos de átomos de conexión en una cadena o anillo, comprendiendo la cadena o anillo átomos de carbono y, opcionalmente, un heteroátomo o heteroátomos que pueden ser N, S u O; y

(b) liofilizar la mezcla.

En un cuarto aspecto, la memoria proporciona composiciones preparadas mediante los procedimientos de la invención.

En base a la memoria contenida en el presente documento, un primer aspecto de la presente invención proporciona un polvo liofilizado que comprende manitol y un compuesto de fórmula (1):



10 en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo de C₁₋₁₂;

A es 0, 1, ó 2;

15 R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C₁₋₁₂, cicloalquilo de C₃₋₁₂, arilo de C₆₋₁₄, o -CH₂-R⁵;

20 R⁵, en cada caso, es arilo de C₆₋₁₄, aril (C₆₋₁₄) alquilo (C₁₋₁₂), alquil (C₁₋₁₂) arilo (C₆₋₁₄), cicloalquilo de C₃₋₁₂, heterociclilo que comprende de 3 a 8 átomos, en el que uno o más átomos se seleccionan entre N, O y S, heteroarilo que comprende de 5 a 14 átomos, en el que 1-4 átomos se seleccionan entre N, O y S, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo de C₁₋₁₂;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, o heteroarilo en R¹, R², R³, o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de manitol, en el que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno, y

25 en el que el compuesto de fórmula (1) está liofilizado y en el que dicho compuesto es un éster de manitol de ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

30 La memoria proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables, estables, preparadas a partir de compuestos de ácido borónico y procedimientos para la preparación de las composiciones. Igualmente, la memoria proporciona nuevos compuestos de éster de boronato.

35 Para los fines de la presente memoria, incluyendo la presente invención, se usarán las siguientes definiciones:

40 Tal como se usa en el presente documento, los términos "formular" y "formulación" se refieren a la preparación de un compuesto de ácido borónico en una forma adecuada para administración a un sujeto mamífero, preferiblemente un humano. Frecuentemente, la formulación del compuesto de ácido borónico comprende la adición de excipientes, diluyentes, o vehículos farmacéuticamente aceptables. En algunos casos, la formulación del compuesto de ácido borónico comprende la formación de un derivado químico del compuesto de ácido borónico, preferiblemente la formación de un éster de boronato. El término "formulación" se refiere a cualquier forma comúnmente usada para la administración farmacéutica, incluyendo sólidos, líquidos, suspensiones, cremas, y geles. Para los fines de la presente memoria, la formulación es, preferiblemente, un polvo liofilizado.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término "polvo liofilizado" se refiere a cualquier material sólido obtenido mediante la liofilización de una mezcla acuosa.

50 Por "formulación estable" se entiende cualquier formulación que tiene suficiente estabilidad para tener utilidad como agente farmacéutico. Preferiblemente, la formulación tiene suficiente estabilidad para permitir el almacenamiento a una temperatura conveniente, preferiblemente entre 0°C y 40°C, durante un período de tiempo razonable, preferiblemente mayor de un mes, más preferiblemente mayor de tres meses, incluso más preferiblemente mayor de seis meses, y lo más preferiblemente mayor de un año.

55 Tal como se usa en el presente documento, el término "ácido borónico" se refiere a cualquier compuesto químico que comprende un resto -B(OH). Snyder y otros, J. Am. Chem. Soc., pág. 3611, (1958), exponen que los compuestos de ácido alquil borónicos forman fácilmente anhídridos oligoméricos mediante la deshidratación del resto ácido borónico. De acuerdo con ello, salvo que resulte obvio a partir del contexto, el término "ácido borónico" está expresamente destinado a abarcar ácido borónicos libres, anhídridos oligoméricos, incluyendo pero sin limitarse a dímeros, trímeros, y tetrameros, y mezclas de los mismos.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término "compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo" se refiere a cualquier compuesto que tiene dos o más grupos hidroxilo. Para los fines de la presente memoria, los dos grupos hidroxilo están preferiblemente separados por al menos dos átomos de conexión, preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 átomos de conexión, más preferiblemente 2 ó 3 átomos de conexión. Los átomos de conexión pueden estar en una cadena o un anillo, comprendiendo la cadena o el anillo átomos de carbono y, opcionalmente, un heteroátomo o heteroátomos, los cuales pueden ser N, S o O. Por conveniencia, el

término “compuesto de dihidroxi” puede usarse para referirse a un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo, tal como se ha definido anteriormente. De este modo, tal como se usa en el presente documento, el término “compuesto de dihidroxi” no pretende limitarse a compuestos que tienen únicamente dos grupos hidroxilo.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “resto de protección de grupo amino” se refiere a cualquier grupo usado para derivar un grupo amino, especialmente un grupo amino *N*-terminal de un péptido o aminoácido. Dichos grupos incluyen, sin limitación, restos alquilo, acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, y sulfonilo. Sin embargo, el término “resto de protección de grupo amino” no pretende limitarse a aquellos grupos de protección particulares que comúnmente se usan en síntesis orgánica, ni pretende limitarse a grupos que son fácilmente escindibles.

10 El término “calcógeno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a los elementos oxígeno o azufre.

15 El término “alquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a 20 grupos alifáticos de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 12 átomos de carbono, preferiblemente 1-8 átomos de carbono, más preferiblemente 1-6 átomos de carbono, y aún más preferiblemente 1-4 átomos de carbono, los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes. Salvo que explícitamente se indique lo contrario, el término “alquilo” se entiende que incluye grupos alifáticos saturados, insaturados, y parcialmente insaturados. Cuando particularmente se pretendan grupos insaturados, se usarán los términos “alqueno” o “alquino”. Cuando se pretendan únicamente grupos saturados, se usará el término “alquilo saturado”. Los grupos alquilo saturados preferidos incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, y hexilo.

20 El término “cicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, incluye grupos hidrocarburo cíclicos saturados y parcialmente insaturados que tienen de 3 a 12 carbonos, preferiblemente de 3 a 8 carbonos y más preferiblemente de 3 a 6 carbonos, en el que el grupo cicloalquilo adicionalmente puede estar opcionalmente sustituido. Los grupos cicloalquilo preferidos incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y ciclooctilo.

25 Un grupo “arilo” es un resto aromático de C₆-C₁₄ que comprende uno a tres anillos aromáticos, los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos. Preferiblemente, el grupo arilo es un grupo arilo de C₆-C₁₀. Los grupos arilo preferidos incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo, antraceno, y fluoreno. Un grupo “aralquilo” o “arilalquilo” comprende un grupo arilo unido covalentemente a un grupo alquilo, cualquiera de los cuales puede independientemente estar opcionalmente sustituido o no sustituido. Preferiblemente, el grupo aralquilo es alquil (C₁-C₆) arilo (C₆-C₁₀), incluyendo, sin limitación, bencilo, fenetilo, y naftilmetilo. Un grupo “alcarilo” o “alquilarilo” es un grupo arilo que tiene uno o más sustituyentes alquilo. Los ejemplos de grupos alcarilo incluyen, sin limitación, tolilo, xililo, mesitilo, etilfenilo, terc-butilfenilo, y metilnaftilo.

30 Los términos “heterociclo”, “heterocíclico” y “heterociclilo” se refieren a cualquier estructura de anillo estable que tiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 átomos, en la que uno o más átomos están seleccionados del grupo que consiste en N, O, y S. Los heteroátomos de nitrógeno y azufre del resto heterocíclico pueden estar opcionalmente oxidados, y los átomos de nitrógeno pueden estar opcionalmente cuaternizados. El anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una fórmula estable. El término “compuesto estable” o “fórmula estable” se entiende que se refiere a un compuesto que es suficientemente robusto como para sobrevivir al aislamiento hasta un grado de pureza útil a partir de una mezcla de reacción y de formulación dentro en un agente terapéutico eficaz.

35 El grupo heterocíclico puede opcionalmente estar sustituido sobre carbono en una o más posiciones con cualquiera de los sustituyentes mencionados anteriormente. Igualmente, el grupo heterocíclico puede independientemente estar sustituido sobre nitrógeno con alquilo, arilo, aralquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, arilcarbonilo, arilsulfonilo, alcoxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, oxo, o hidroxilo, o sobre azufre con oxo o alquilo inferior. Los grupos heterocíclicos preferidos incluyen, sin limitación, epoxi, aziridinilo, tetrahydrofuranilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperacino, tioazolidinilo, oxazolidinilo, oxazolidinonilo, y morfolinilo. Igualmente, el grupo heterocíclico puede estar fusionado a un grupo arilo, heteroarilo, o heterocíclico. Los ejemplos de dichos heterocíclicos fusionados incluyen, sin limitación, tetrahydroquinoleína y dihydrobenzofurano.

40 Tal como se usa en el presente documento, los términos “heteroarilo” y “heterociclo aromático” se refieren a grupos que tienen anillos de 5 a 14 átomos, preferiblemente anillos de 5, 6, 9, ó 10 átomos; que tienen 6, 10, ó 14 electrones π compartidos en una disposición cíclica; y que tienen, además de átomos de carbono, de uno a cuatro, preferiblemente de uno a aproximadamente tres, heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O y S. El grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido sobre carbono en una o más posiciones con cualquiera de los sustituyentes mencionados anteriormente. Los grupos heteroarilo preferidos incluyen, sin limitación, tienilo, benzotienilo, furanilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, piracino, pirimidinilo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo, quinoxalinilo, tetrazolilo, oxazolilo, tiazolilo, e isoxazolilo.

45 Tal como se usa en el presente documento, un grupo alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo, o heteroarilo “sustituido” es uno que tiene de uno a aproximadamente cuatro, preferiblemente de uno a tres, más preferiblemente uno o dos, sustituyentes no hidrógeno. Los sustituyentes adecuados incluyen, sin limitación, grupos halo, hidroxilo, oxo, nitro,

haloalquilo, alquilo, alcarilo, arilo, aralquilo, alcoxi, ariloxi, amino, acilamino, alquilcarbamoilo, arilcarbamoilo, aminoalquilo, alcoxycarbonilo, carboxi, hidroxialquilo, alquilsulfonilo, arenosulfonilo, alcanosulfonamido, arenosulfonamido, aralquilsulfonamido, alquilcarbonilo, aciloxi, ciano, y ureido. Preferiblemente, los sustituyentes están independientemente seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁-C₆, cicloalquilo de C₃-C₈, alquil (C₁-C₆) cicloalquilo (C₃-C₈), alqueno de C₂-C₈, alquino de C₂-C₈, ciano, amino, alquilamino de C₁-C₆, dialquilamino (C₁-C₆), bencilamino, dibencilamino, nitro, carboxi, carboalcoxi (C₁-C₆), trifluorometilo, halógeno, alcoxi de C₁-C₆, arilo de C₆-C₁₀, aril (C₆-C₁₀) alquilo (C₁-C₆), aril (C₆-C₁₀) alcoxi (C₁-C₆), hidroxil, alquilitio de C₁-C₆, alquilsulfonilo de C₆-C₁₀, alquilsulfonilo de C₆-C₁₀, arilitio de C₆-C₁₀, arilsulfonilo de C₆-C₁₀, arilsulfonilo de C₆-C₁₀, arilo de C₄-C₁₀, alquil (C₁-C₆) arilo (C₆-C₁₀), y haloarilo (C₆-C₁₀).

El término "halógeno" o "halo" tal se usa en el presente documento se refiere a cloro, bromo, flúor, o yodo.

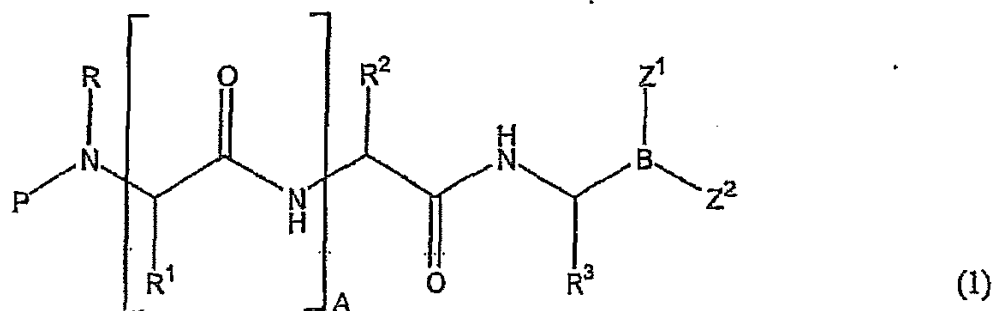
El término oxo se refiere a un átomo de oxígeno, el cual forma un carbonilo cuando está unido a carbono, un *N*-óxido cuando está unido a nitrógeno, y un sulfóxido o sulfona cuando está unido a azufre.

Tal como se usa en el presente documento, el término "acilo" se refiere a un sustituyente alquilcarbonilo o arilcarbonilo.

El término "acilamino" se refiere a un grupo amida unido al átomo de nitrógeno. El término "carbamoilo" se refiere a un grupo amida unido al átomo de carbono carbonilo. El átomo de nitrógeno de un sustituyente acilamino o carbamoilo puede estar adicionalmente sustituido. El término "sulfonamido" se refiere a un sustituyente sulfonamido unido o bien al átomo de azufre o bien al de nitrógeno. El término "amino" se entiende que incluye NH₂, alquilamino, arilamino, y grupos amino cíclicos.

El término "ureido" tal como se usa en el presente documento se refiere a un resto de urea sustituido o no sustituido.

En un primer aspecto, la memoria proporciona compuestos que tienen la fórmula (1):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R¹, R², y R³ son independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es uno de arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

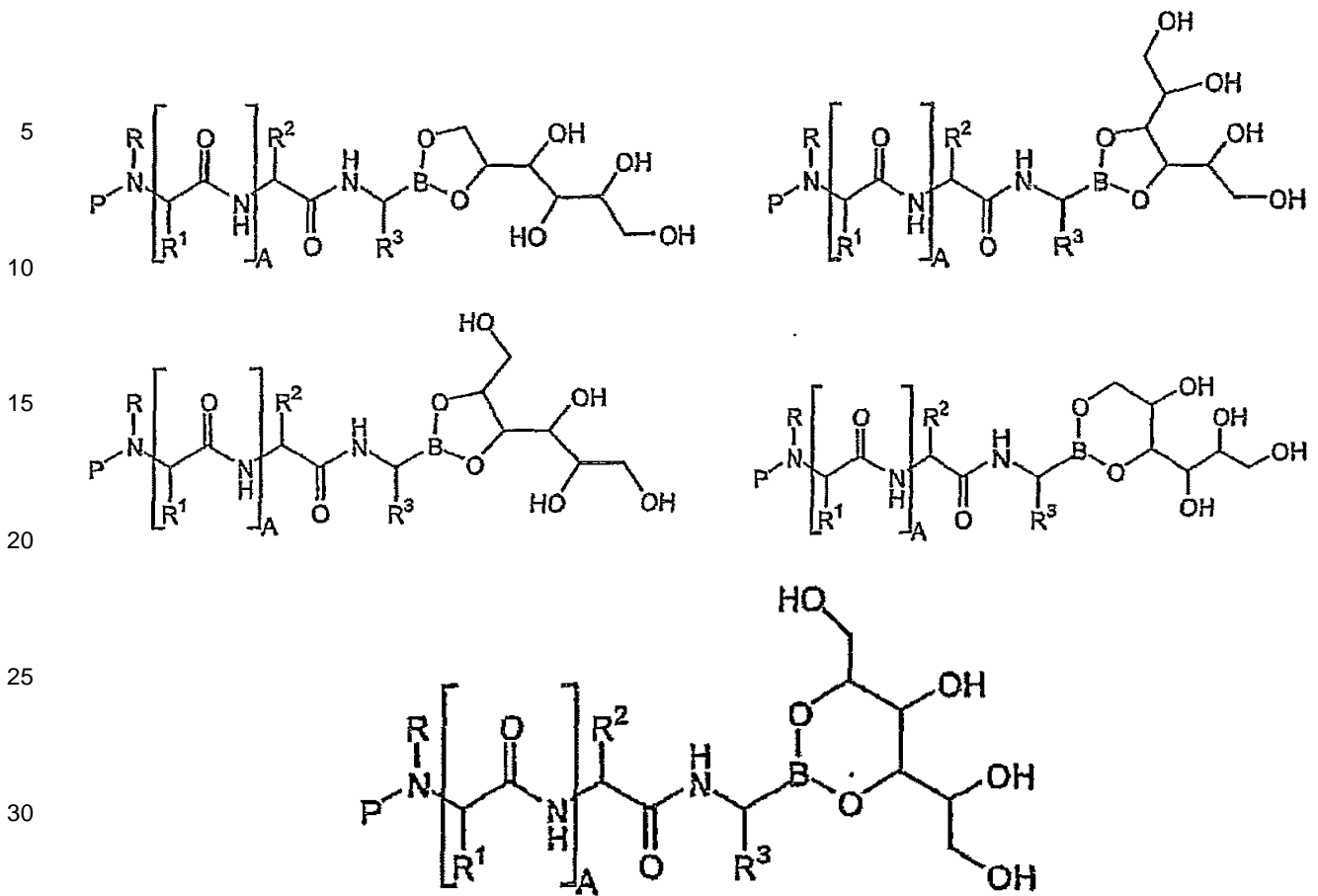
en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de un azúcar, en la que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno.

Tal como se usa en el presente documento, el término "resto derivado de un azúcar" se refiere a un resto formado mediante la eliminación de los átomos de hidrógeno procedentes de dos grupos hidroxilo de cualquier resto de azúcar. El resto derivado de un azúcar puede estar unido a boro por cualquiera de los dos grupos hidroxilo del azúcar. Por ejemplo, en varios casos, el éster de boronato forma un anillo de 5, 6, 7, 8, ó 9 átomos. En algunos casos preferidos, el éster de boronato forma un anillo de 5 ó 6 átomos.

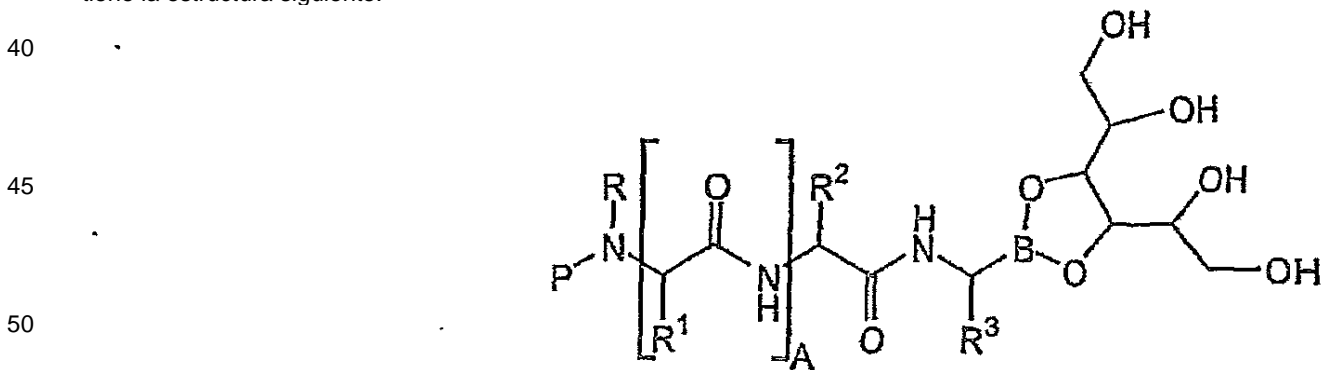
El azúcar es preferiblemente un monosacárido o disacárido. Los ejemplos no limitantes de azúcares adecuados incluyen glucosa, sacarosa, fructosa, trehalosa, xilitol, manitol y sorbitol. En ciertos casos preferidos, el azúcar es un azúcar reducido, más preferiblemente manitol o sorbitol. De este modo, en el caso en el que el azúcar es manitol o sorbitol, Z¹ y Z² del compuesto de fórmula (1) forman conjuntamente un resto de fórmula C₆H₁₂O₆, en el que los átomos de oxígeno de los dos grupos hidroxilo desprotonados forman uniones covalentes con el boro para formar compuestos de éster de boronato.

Preferiblemente, el compuesto de éster de boronato de manitol o sorbitol tiene una de las estructuras siguientes:



35 No obstante, también son posibles estructuras con tamaños más grandes del anillo de éster de boronato.

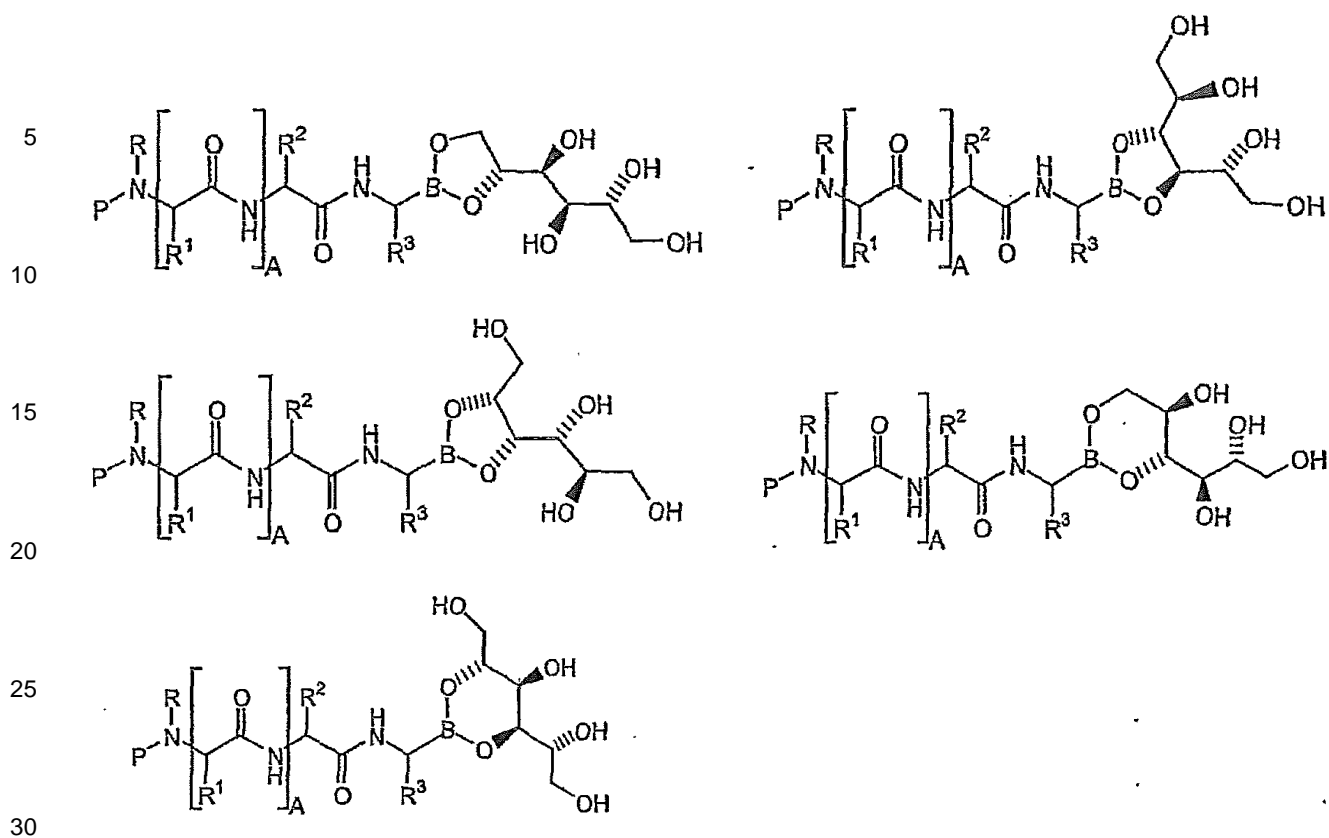
En ciertos casos preferidos, el éster de boronato de manitol o sorbitol forma un anillo de 5 átomos simétrico que tiene la estructura siguiente:



55 Preferiblemente, el manitol o sorbitol es de la configuración D, aunque puede usarse también la configuración L. En ciertos casos particularmente preferidos, Z¹ y Z² forman conjuntamente un resto derivado de D-manitol. En estos casos, el compuesto de éster de boronato tiene, preferiblemente, una de las estructuras siguientes:

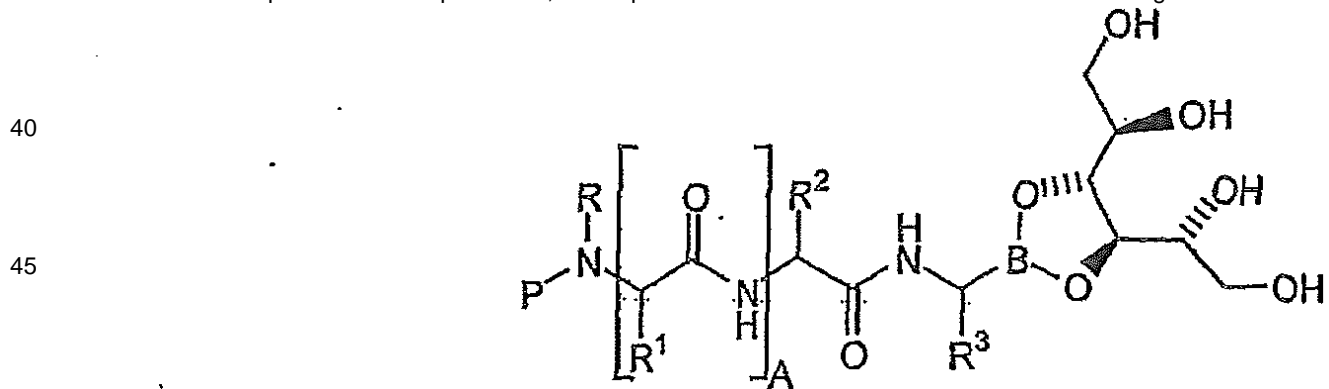
60

65



No obstante, también son posibles estructuras con tamaños más grandes del anillo de éster de boronato.

35 En ciertos casos particularmente preferidos, el compuesto de éster de boronato tiene la estructura siguiente:



55 El resto P del compuesto de fórmula (1) es, preferiblemente, hidrógeno o uno de R⁷-C(O)-, R⁷-S(O)-, R⁷-NH-C(O)-, o R⁷-O-C(O)-, en los que R⁷ es uno de alquilo, arilo, alquilarilo, o aralquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido, o cuando Y es R⁷-C(O)- o R⁷-S(O)₂-, R⁷ puede también ser un heterociclo saturado, parcialmente insaturado, o aromático de 5 a 10 átomos opcionalmente sustituido.

60 En ciertos casos preferidos, P es uno de R⁷-C(O)- o R⁷-S(O)₂-, y R⁷ es un heterociclo saturado, parcialmente insaturado, o aromático de 5 a 10 átomos opcionalmente sustituido. Preferiblemente, R⁷ es un heterociclo aromático, más preferiblemente piracínilo, piridilo, quinolilo, o quinoxalinilo, o un heterociclo saturado, preferiblemente morfolinilo. En algunos casos preferidos, P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.

En algunos casos preferidos, R es hidrógeno. En algunos otros casos preferidos, R es alquilo, preferiblemente alquilo de C₁-C₆, más preferiblemente alquilo de C₁-C₄, y lo más preferiblemente metilo o etilo.

65 La variable A en la fórmula (1) puede ser 0, 1 ó 2. De este modo, cuando A es cero, el resto de dentro de los paréntesis no está presente y el compuesto de éster de boronato es un dipéptido. De manera similar, cuando A es 1,

el resto de dentro de los paréntesis está presente y el compuesto es un tripéptido. Cuando A es 2, el compuesto es un tetrapéptido. En ciertos casos particularmente preferidos, A es cero.

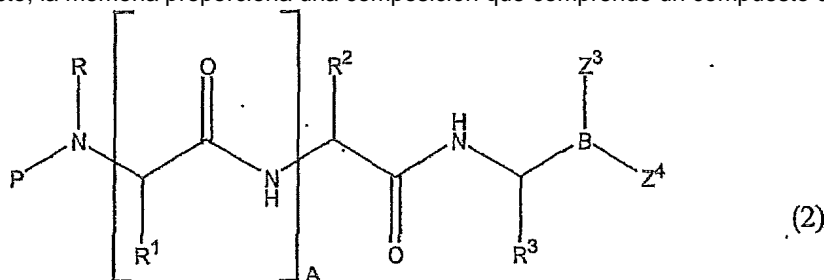
Para los fines de la memoria, los términos "péptido", "dipéptido", y "tripéptido" pretenden abarcar compuestos que comprenden restos de aminoácidos naturales, restos de aminoácido no naturales, o una combinación de restos de aminoácidos naturales y no naturales. A partir de las fórmulas (1) - (3), resultará evidente que los términos "péptido", "dipéptido", y "tripéptido" se usan en el presente documento para referirse a compuestos en los cuales la función ácido carboxílico del resto de aminoácido C-terminal está reemplazada por una función de ácido borónico o éster de boronato.

Se prefiere que los sustituyentes R^1 , R^2 , y R^3 en la fórmula (1) sean cada uno independientemente uno de hidrógeno, alquilo de C_1 - C_8 , cicloalquilo de C_3 - C_{10} , o arilo de C_6 - C_{10} , o $-CH_2-R^5$, en los que cada uno de R^1 , R^2 , R^3 , y R^5 puede estar opcionalmente sustituido. Más preferiblemente, R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno independientemente uno de alquilo de C_1 - C_4 o $-CH_2-R^5$, y R^5 es uno de cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, o $-W-R^6$ en la que W es calcógeno y R^6 es alquilo. Preferiblemente, R^5 es uno de arilo de C_6 - C_{10} , aril (C_6 - C_{10}) alquilo (C_1 - C_6), alquil (C_1 - C_6) arilo (C_6 - C_{10}), cicloalquilo de C_3 - C_{10} , alcoxi de C_1 - C_8 , o alquiltio de C_1 - C_8 o un anillo heteroarilo de 5 a 10 átomos.

En ciertos casos particularmente preferidos, el compuesto de fórmula (1) es uno de:

N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(2-quinoleíno)sulfonil-L-homofenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(3-piridino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(8-quinoleíno)sulfonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-(*O*-bencil)-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol; o
N-(4-morfolino)carbonil-[*O*-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol.

En un segundo aspecto, la memoria proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (2):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R^1 , R^2 , y R^3 son independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o $-CH_2-R^5$;

R^5 , en cada caso, es uno de arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o $-W-R^6$, en el que W es un calcógeno y R^6 es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R^1 , R^2 , R^3 o R^5 puede estar opcionalmente sustituida; y

Z^3 y Z^4 conjuntamente forman un resto derivado de un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo separados por al menos dos grupos de átomos de conexión en una cadena o anillo, comprendiendo dicha cadena o anillo átomos de carbono y, opcionalmente, un heteroátomo o heteroátomos que pueden ser N, S u O; en un polvo liofilizado.

Los valores preferidos para las variables P, R, A, R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^6 según este aspecto de la memoria son como se describen anteriormente para el primer aspecto.

El término "resto derivado de un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo", según este aspecto de la memoria se utiliza de manera análoga con el término "resto derivado de un azúcar" descrito anteriormente, y, de este modo, se refiere a un resto formado mediante la eliminación de los átomos de hidrógeno de los dos grupos hidroxilo de un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo. El resto derivado de un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo se puede unir a boro mediante los átomos de oxígeno de cualquiera de dos de sus grupos hidroxilo. Preferiblemente, el átomo de boro, los átomos de oxígeno unidos al boro y los átomos que conectan los dos átomos de oxígeno forman conjuntamente un anillo de 5 ó 6 átomos. Los ejemplos de compuestos adecuados

que tienen al menos dos grupos hidroxilo ("compuestos de dihidroxilo") incluyen, sin limitación, pinanodiol, pinacol, perfluoropinacol, etilenglicol, dietilenglicol, catecol, 1,2-ciclohexanodiol, 1,3-propanodiol, 2,3-butanodiol, 1,2-butanodiol, 1,4-butanodiol, glicerol y dietanolamina.

5 Para los objetivos de la presente memoria, el compuesto de dihidroxi es preferiblemente farmacéuticamente aceptable y es preferiblemente miscible o soluble en agua o en un disolvente alcohólico. En algunos casos preferibles, el compuesto de dihidroxi es un azúcar, tal como se ha descrito anteriormente, preferiblemente un monosacárido o disacárido, más preferiblemente un azúcar reducido, y lo más preferiblemente, sorbitol o manitol. En ciertos casos particularmente preferidos, el compuesto de dihidroxi es manitol, lo más preferiblemente D-manitol.

10 La composición, según este aspecto de la memoria, está en forma de un polvo liofilizado. En algunos casos preferidos, la composición también comprende el compuesto de dihidroxi libre. Preferiblemente, el compuesto de dihidroxi y el compuesto de fórmula (1) están presentes en la mezcla en una relación molar que varía de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 100:1, más preferiblemente de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 100:1. En algunos casos, el compuesto de dihidroxi y el compuesto de fórmula (1) están presentes en una proporción que varía de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 100:1.

15 En algunos casos preferidos, la composición comprende además uno o más de otros excipientes, vehículos, diluyentes, cargas, sales, tampones, estabilizadores, solubilizadores farmacéuticamente aceptables, y otros materiales bien conocidos en la técnica. La preparación de formulaciones farmacéuticamente aceptables que contienen estos materiales se describe, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición, ed. A. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, (1990).

20 Los compuestos y composiciones de acuerdo con el primer y segundo aspectos de la memoria pueden prepararse mediante los procedimientos descritos en el presente documento, o mediante cualquier procedimiento adecuado para producir el compuesto o composición. Por ejemplo, los ésteres de boronato de fórmula (1) pueden prepararse a partir de los ácidos borónicos correspondientes mediante liofilización en presencia de manitol o sorbitol, tal como se describe en el presente documento, o, como alternativa, pueden prepararse a partir de otro éster de boronato mediante transesterificación. Como alternativa, los ésteres de boronato de fórmula (1) pueden prepararse mediante la incorporación del resto de azúcar en una fase previa en la síntesis.

25 En un tercer aspecto, la memoria proporciona un procedimiento para formular un compuesto de ácido borónico, comprendiendo el procedimiento

30 (a) preparar una mezcla que comprende
 35 (i) agua,
 (ii) un compuesto de ácido borónico; y
 (iii) un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo separados por al menos dos grupos de átomos de conexión en una cadena o anillo, comprendiendo la cadena o anillo átomos de carbono y, opcionalmente, un heteroátomo o heteroátomos que pueden ser N, S u O; y
 40 (b) liofilizar la mezcla.

En ciertos casos preferidos, la mezcla comprende uno o más codisolventes además del agua. Preferiblemente, el codisolvente es miscible con agua. Más preferiblemente, el codisolvente es un alcohol, incluyendo, sin limitación, etanol y terc-butanol. La composición de la mezcla de disolventes puede variar desde aproximadamente 5% hasta aproximadamente 95% v/v de alcohol. En algunos casos, la mezcla de disolventes acuosos comprende desde aproximadamente 30% hasta aproximadamente 50% de alcohol, preferiblemente desde aproximadamente 35% hasta aproximadamente 45% de alcohol. En ciertos casos, la mezcla acuosa de disolventes comprende aproximadamente 40% de terc-butanol.

45 En algunos otros casos, la mezcla acuosa de disolventes comprende desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 15% de alcohol, preferiblemente desde aproximadamente 5% hasta aproximadamente 10% de alcohol. En ciertos casos preferidos, la mezcla acuosa de disolventes comprende desde aproximadamente 5% hasta aproximadamente 10% de etanol.

50 Preferiblemente, el compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo y el compuesto de ácido borónico están presentes en la mezcla en una relación p/p que varía desde aproximadamente 1:1 hasta aproximadamente 100:1. En diversos casos, la relación p/p del compuesto de dihidroxi con respecto al compuesto de ácido borónico es aproximadamente 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 70:1, 80:1, 90:1, ó 100:1. Son igualmente posibles otras relaciones.

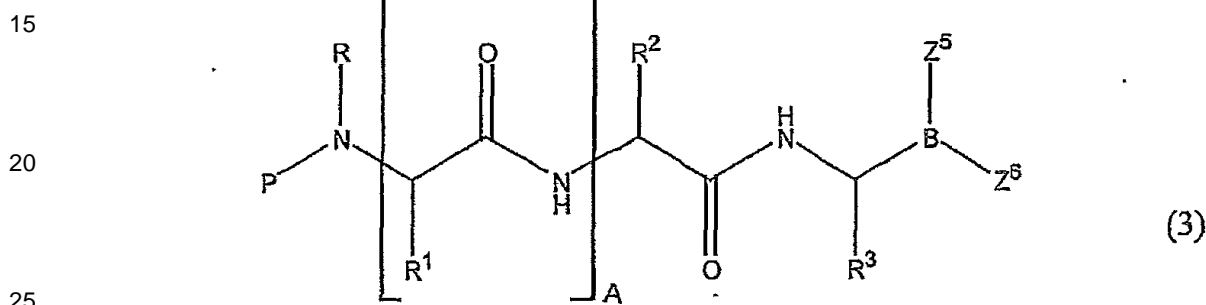
55 La mezcla acuosa puede prepararse mediante cualquier orden de adición. Por ejemplo, en algunos casos, el compuesto de dihidroxi se agrega a una mezcla acuosa que comprende un compuesto de ácido borónico. En algunos otros casos, el compuesto de ácido borónico se agrega a una mezcla acuosa que comprende un compuesto de dihidroxi. En aún otros casos, el compuesto de ácido borónico y el compuesto de dihidroxi pueden agregarse al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo. En algunos casos, puede ser ventajoso inicialmente agregar el compuesto de

ácido borónico y/o el compuesto de dihidroxi a una mezcla de disolventes que contiene un porcentaje superior de codisolvente que el deseado para la etapa de liofilización, y, a continuación, diluir con agua.

En algunos casos preferidos, la mezcla comprende además uno o más excipientes, vehículos, diluyentes, cargas, sales, tampones, estabilizadores, solubilizadores farmacéuticamente aceptables, y otros materiales bien conocidos en la técnica. La preparación de formulaciones farmacéuticamente aceptables que contienen estos materiales se describe, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, ed. A. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, (1990).

Los compuestos preferidos que tienen al menos dos grupos hidroxilo ("compuestos de dihidroxilo") según este aspecto de la memoria son como se describen anteriormente para el segundo aspecto.

En ciertos casos preferidos, el compuesto de ácido borónico, según este aspecto de la memoria, tiene la fórmula (3):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R¹, R², y R³ son independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es uno de arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, alquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y Z⁵ y Z⁶ son cada uno OH.

Los valores preferidos para las variables P, R, A, R¹, R², R³, R⁵ y R⁶ según este aspecto de la memoria son como se describen anteriormente para el primer aspecto.

En ciertos casos particularmente preferidos, el compuesto de ácido borónico es uno de:

ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(2-quinoleíno)sulfonil-L-homofenilalanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(3-piridino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(8-quinoleíno)sulfonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-(*O*-bencil)-L-tirosina-L-leucina borónico;

ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-L-tirosina-L-leucina borónico; o

ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-[*O*-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina borónico.

En un cuarto aspecto, la memoria proporciona composiciones preparadas según los procedimientos según el tercer aspecto de la memoria. En algunos casos preferidos, la formulación de un ácido borónico según los procedimientos de la memoria da lugar a la formación de un derivado químico del compuesto de ácido borónico, preferiblemente la formación de un éster de boronato. En estos casos, la formulación de un compuesto de ácido borónico según el procedimiento de la descripción produce una composición que comprende un compuesto de éster de boronato según el segundo aspecto de la memoria.

En algunos otros casos, la formulación de un compuesto de ácido borónico según el procedimiento de la memoria no da lugar a la formación de un derivado químico del compuesto de ácido borónico. En estos casos, la composición según el tercer aspecto de la memoria comprende un compuesto de ácido borónico y un compuesto que tiene al menos dos grupos hidroxilo en un polvo liofilizado.

Las composiciones según el segundo y cuarto aspectos de la memoria se pueden reconstituir fácilmente mediante la adición de un disolvente acuoso. Preferiblemente, el disolvente de reconstitución es adecuado para la administración

farmacéutica. Los ejemplos de disolventes para la reconstitución adecuados incluyen sin limitación, agua, solución salina, y solución salina tamponada con fosfato (PBS). Para el uso clínico, las composiciones según el segundo aspecto de la memoria se reconstituyen preferiblemente con solución salina estéril (0,9% v/v).

5 Tras la reconstitución en medio acuoso, se establece un equilibrio entre cualquier éster de boronato presente en la composición y el ácido borónico correspondiente. Típicamente, el equilibrio se alcanza rápidamente, por ejemplo, en 10-15 minutos, después de la adición de agua. Las concentraciones relativas de éster de boronato y ácido borónico presentes en el equilibrio dependen del pH de la solución, temperatura, y la relación del compuesto de dihidroxi con respecto al compuesto de ácido borónico.

10 Los ejemplos siguientes pretenden ilustrar adicionalmente ciertos casos preferidos de la memoria, incluyendo las realizaciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de la invención.

EJEMPLOS

15 **Ejemplo 1: Preparación de una formulación liofilizada de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico con D-manitol**

20 Se pesaron aproximadamente 40 mg de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico en un recipiente, y se agregaron 16 ml de terc-butanol. El recipiente se cerró y la suspensión se calentó hasta aproximadamente 45°C durante 5 minutos para completar la disolución del compuesto. Se agregó agua (24 ml) con agitación, seguido de 0,4 g de manitol, agregado como un excipiente, al 1% p/v. La mezcla se agitó para completar la dosolución y, a continuación, se enfrió hasta temperatura ambiente. La solución se filtró a través de una membrana de nylon de 0,45 µm. Se introdujeron partes alícuotas de un mililitro en botellas de suero de 5 ml. Dentro de las botellas se insertaron parcialmente tapones de caucho rajados y las botellas se introdujeron en un liofilizador con una temperatura de almacenamiento de -45°C. Después de aproximadamente 1 hora, se aplicó vacío. La temperatura de almacenamiento se dejó subir gradualmente hasta -35°C y se mantuvo a -35°C hasta que desapareció el hielo de las muestras (aproximadamente 40 horas). A continuación, se apagó el control de la temperatura de almacenamiento y la temperatura de almacenamiento se dejó subir gradualmente hasta 0°C. Se llevó a cabo un ciclo de secado secundario incrementando la temperatura de almacenamiento en 3 incrementos hasta 25°C a lo largo de un período de tiempo de 1,5 horas. La temperatura de almacenamiento se mantuvo a 25°C durante 2 horas. Las muestras se sellaron bajo nitrógeno y se extrajeron del liofilizador.

35 El contenido de humedad residual de las muestras se determinó mediante análisis de Karl Fischer usando tres productos liofilizados. El contenido en agua fue del 0,88% en peso.

40 El análisis espectral de masas mediante bombardeo por átomos rápidos (FAB) del producto liofilizado mostró una señal intensa a $m/z = 531$, indicativa de la formación de un aducto de éster de boronato covalente entre el ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico y D-manitol. Como matriz se usó glicerol y a $m/z = 441$ se observó una señal para el aducto de glicerol con ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico. Sin embargo, la intensidad de la señal a $m/z = 441$ fue muy débil comparada con la señal a $m/z = 531$, posiblemente indicativo de la mayor estabilidad del aducto con D-manitol.

45 **Ejemplo 2: Preparación a escala de producción de una formulación liofilizada de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico con D-manitol**

50 En un recipiente limpio para la formación del compuesto, se preparó una solución de 97% de terc-butanol/3% de agua para inyección mediante calentamiento de la cantidad requerida de terc-butanol a 35°C y la adición de agua para inyección. Se reservó aproximadamente el 5% de la solución para uso en el lavado. La solución se enfrió hasta 15-30°C, y se agregó con agitación ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico. El recipiente se lavó con la solución de terc-butanol/agua reservada, y los lavados se agregaron al recipiente principal. La mezcla se agitó hasta que el compuesto de ácido borónico se disolvió completamente. Se agregó manitol, lavándose el manitol residual dentro del recipiente de reacción con agua para inyección recién preparada. Se agregó agua para inyección suficiente para reducir el contenido en alcohol total al 40% v/v. La mezcla se agitó hasta que el manitol se disolvió completamente. La mezcla se filtró a través de un filtro de 0,22 micrómetros. Dentro de viales previamente esterilizados, se introdujeron cantidades alícuotas de la solución filtrada. Los viales se sellaron con tapones de liofilización y se colocaron sobre las bandejas de la cámara del liofilizador mantenidas a -45°C. Después de dos horas, se hizo el vacío en la cámara del liofilizador y la presión de la cámara se ajustó a 100-200 micrómetros con nitrógeno estéril. Las bandejas de la cámara del liofilizador se calentaron hasta -30°C usando una velocidad de rampa apropiada, y se mantuvieron a dicha temperatura durante 10-15 horas. Después de que cada uno de los termopares del producto marcara -33°C o más calientes, la temperatura de almacenamiento se ajustó a -15°C durante 7 horas usando una velocidad de rampa apropiada y se mantuvo a dicha temperatura durante 5 horas. Después de que todos los termopares del producto registraran la temperatura de almacenamiento, las bandejas se calentaron hasta 0°C durante un período de al menos 7 horas usando una velocidad de rampa apropiada. Cuando todos los termopares registraron 0°C, las bandejas se calentaron hasta 27°C y se mantuvieron a dicha temperatura

durante 4 horas. Al final de la fase de secado terminal, la presión de la cámara se restauró usando nitrógeno estéril, y los viales se sellaron y extrajeron.

Ejemplo 3: Reconstitución de ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico

La formulación liofilizada de ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico con D-manitol se preparó tal como se ha descrito en el Ejemplo 1. Una muestra se reconstituyó con 2 ml de agua. La disolución se completó en 1-2 minutos de agitación. La solución completa se transfirió a un matraz volumétrico, se diluyó, y se analizó mediante HPLC para determinar el contenido de ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico. El contenido en fármaco total fue de 1,09 mg. Una segunda muestra se reconstituyó con 1 ml de propilenglicol:EtOH:H₂O, 40:10:50. La disolución se completó con 1 minuto de agitación. El contenido en fármaco total fue de 1,11 mg.

La formulación liofilizada se reconstituyó también con solución salina al 0,9% p/v. El material liofilizado se disolvió fácilmente a concentraciones de hasta 6 mg/ml. Por el contrario, el ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-leucina borónico sólido no fue soluble en solución salina al 0,9% p/v a una concentración de 1 mg/ml.

Con fin de asegurarse de que el ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico libre se liberaba rápidamente tras la reconstitución de la formulación liofilizada en solución acuosa, la formulación liofilizada se disolvió en DMSO puro y se ensayó para determinar la inhibición de la actividad tipo quimotripsina del proteasoma 20S tal como se ha descrito en la patente de EE.UU. No. 5.780.454. La inhibición del proteasoma puede observarse únicamente si la hidrólisis bajo las condiciones del ensayo es rápida. El valor K_i observado de 0,3 nM es equivalente al observado para el ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico libre, lo que indica la completa y rápida hidrólisis del aducto con D-manitol bajo las condiciones del ensayo.

Ejemplo 4: Análisis mediante HPLC del ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico

Parámetros del sistema:

Columna: Adsorbosphere-HS-C18, 5 μ, 250 x 4,6 mm
Fase móvil: 65:35 metanol/agua conteniendo 0,1% de TFA
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Detección/Sensibilidad: PDA y UV a 255 nm, 0,1 au/s
Volumen de inyección: 25 μl

Solución de patrón interno: 0,18 mg/ml de difenilamina en metanol

Preparación de muestras: Porciones de 0,5-1,5 mg pesadas con exactitud de la muestra o del patrón de referencia se disolvieron en 2,00 ml de la solución de patrón interno.

Parámetros cromatográficos:

	Muestra	Patrón interno
Tiempo de retención	8,4 min	18,9 min
Factor de capacidad, k'	2,0	5,8
Asimetría (10%)	1,7	1,3
Retención rel., α		0,34
Resolución, R _s = ΔT/ΣW _{1/2}		15,1

ΔT y ΣW_{1/2} son, respectivamente, las diferencias en los tiempos de retención y la suma de la semi-anchura de los picos de la muestra y del patrón interno. Se admite la variación menor de la fase móvil para lograr resultados similares a los anteriores.

Ejemplo 5: Estabilidad de las formulaciones

Acido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico sólido

Se preparó ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico tal como se ha descrito en la patente de EE.UU. No. 5.780.454. El producto se obtuvo en forma de un polvo amorfo de color blanco. El producto fue estable durante más de 2 años cuando se almacenó a -20°C, tal como se determinó mediante análisis por HPLC (pureza > 97%). Cuando se almacenó a 2-8°C, el producto no fue estable durante más de 3-6 meses.

Acido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico líquido

Se preparó una formulación líquida estéril (0,5 mg/ml) de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico en solución salina al 0,9% p/v, etanol al 2% v/v y ácido ascórbico al 0,1% p/v. Cuando se almacenó a 2-8°C, la formulación líquida no fue estable durante más de 6 meses, tal como se determinó mediante análisis por HPLC.

5

Boronato de *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina D-manitol liofilizado

El producto liofilizado se preparó de acuerdo con el Ejemplo 1 y se almacenó a 5°C, a temperatura ambiente, a 37°C, y a 50°C. La estabilidad se controló durante aproximadamente 18 meses mediante reconstitución periódica de una muestra y el análisis de los contenidos totales de la botella mediante HPLC. Durante este periodo de tiempo, no hubo pérdida de fármaco en el producto liofilizado almacenado a cualquier temperatura y no hubo evidencia de picos de degradación del producto en los cromatogramas de la HPLC.

10

Solución de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico reconstituida

15

El producto liofilizado se preparó de acuerdo con el Ejemplo 1, y se reconstituyeron muestras (2,5 mg/vial) con 2,5 ml de solución salina estéril al 0,9% p/v. La disolución se completó en 10 segundos y proporcionó una solución transparente, incolora, que contenía 1 mg/ml de ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico. La solución no mostró signos de degradación cuando se almacenó a temperatura ambiente (23°C) durante 43 horas. No se adoptaron cuidados especiales para proteger la solución de la luz.

20

El uso de los términos "un" y "una" y "el/la" y referencias similares en el contexto de la descripción de la memoria, incluyendo la invención (especialmente en el contexto de la reivindicaciones siguientes), debe interpretarse que cubren tanto el singular como el plural, salvo que se indique lo contrario en la presente documento o se contradiga claramente por el contexto. Los términos "comprende", "tiene", "incluye", y "contiene" deben considerarse como términos abiertos (es decir, significan "que incluye, pero sin limitarse a,") salvo que se indique lo contrario. La mención de intervalos de valores en el presente documento están meramente destinados a servir como un procedimiento abreviado de referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo, salvo que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor separado se incorpora en la memoria descriptiva como si se citara individualmente en el presente documento. Todos los procedimientos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en cualquier orden adecuado salvo que se indique lo contrario en el presente documento o de otra forma se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y la totalidad de los ejemplos, o del lenguaje de los ejemplos (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento, pretende meramente iluminar mejor la invención y no plantea una limitación sobre el alcance de la invención, salvo que se reivindique lo contrario. Ninguna expresión en la memoria descriptiva debería considerarse como indicativo de cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

25

30

35

Los casos preferidos de la memoria, por ejemplo, realizaciones preferidas de la presente invención, están descritos en el presente documento, incluyendo el modo óptimo conocido por los inventores para llevar a cabo la memoria, incluyendo la invención. Las variaciones de estos casos y realizaciones preferidas pueden resultar evidentes para los expertos en la materia tras leer la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos en la materia utilicen dichas variaciones según sean apropiadas y los inventores pretenden que la memoria se lleve a la práctica de otra manera diferente a la descrita específicamente en el presente documento.

40

Además, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las posibles variaciones de los mismos está abarcada por la memoria, salvo que se indique lo contrario en el presente documento o de otra forma se contradiga claramente por el contexto.

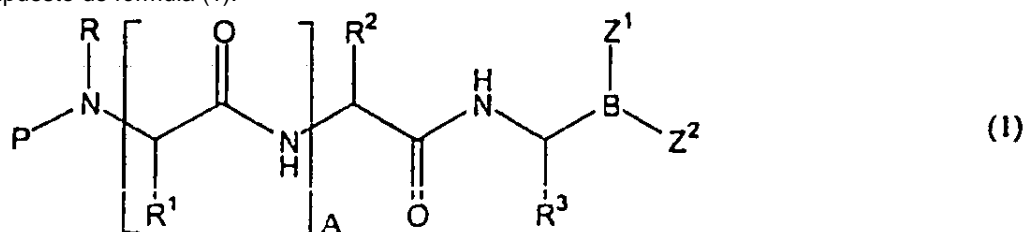
45

La presente memoria se describe adicionalmente mediante los siguientes elementos enumerados:

50

1. Un compuesto de fórmula (1):

55



60

en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

65

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o $-\text{CH}_2\text{-R}^5$;
 R^5 , en cada caso, es arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o $-\text{W-R}^6$, en el que W es un calcógeno y R^6 es alquilo;

5 en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R^1 , R^2 , R^3 o R^5 puede estar opcionalmente sustituida; y

Z^1 y Z^2 conjuntamente forman un resto derivado de un azúcar, en la que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno.

10 2. El compuesto del punto 1, en el que el azúcar es un monosacárido o disacárido.

3. El compuesto del punto 1, en el que el azúcar es un azúcar reducido.

4. El compuesto del punto 3, en el que el azúcar reducido es manitol o sorbitol.

15 5. El compuesto del punto 1, en el que A es 0.

6. El compuesto del punto 1, en el que Z^1 y Z^2 conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

7. El compuesto del punto 5, en el que Z^1 y Z^2 conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

20 8. El compuesto del punto 1, en el que P es $R^7\text{-C(O)-}$, $R^7\text{-S(O)}_2\text{-}$, $R^7\text{-NH-C(O)-}$, o $R^7\text{-O-C(O)-}$;
 en el que R^7 es alquilo, arilo, alquilarilo, o aralquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido, o cuando P es $R^7\text{-C(O)-}$ o $R^7\text{-S(O)}_2\text{-}$, R^7 puede también ser un heterociclo saturado, parcialmente insaturado, o aromático de 5 a 10 átomos opcionalmente sustituido.

25 9. El compuesto del punto 8, en el que P es $R^7\text{-C(O)-}$ o $R^7\text{-S(O)}_2\text{-}$ y R^7 es un heterociclo aromático.

10. El compuesto del punto 9, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.

30 11. El compuesto del punto 8, en el que
 A es cero;
 R es hidrógeno o alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_8$; y
 R^3 es alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_6$.

35 12. El compuesto del punto 11, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.

13. El compuesto del punto 12, en el que Z^1 y Z^2 conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

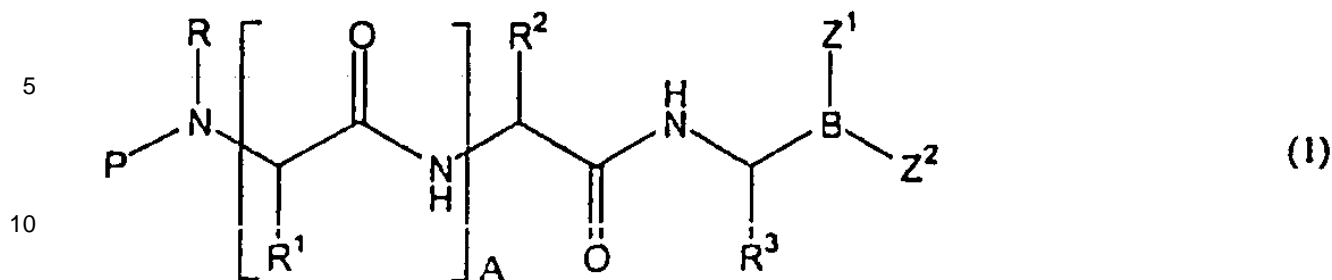
40 14. El compuesto del punto 1, en el que
 R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo de $\text{C}_3\text{-C}_{10}$, arilo de $\text{C}_6\text{-C}_{10}$, o $-\text{CH}_2\text{-R}^5$;
 R^5 , en cada caso, es arilo de $\text{C}_6\text{-C}_{10}$, aril ($\text{C}_6\text{-C}_{10}$) alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alquil ($\text{C}_1\text{-C}_6$) arilo ($\text{C}_6\text{-C}_{10}$), cicloalquilo de $\text{C}_3\text{-C}_{10}$, alcoxi de $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquiltio de $\text{C}_1\text{-C}_8$;
 en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos grupos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, o heteroarilo de R^1 , R^2 , R^3 , o R^5 puede estar opcionalmente sustituida.

45 15. El compuesto del punto 1, en el que dicho compuesto es:
N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(2-quinoleíno)sulfonil-L-homofenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
 50 *N*-(3-piridino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(8-quinoleíno)sulfonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-(*O*-bencil)-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol;
 55 *N*-(4-morfolino)carbonil-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol; o
N-(4-morfolino)carbonil-[*O*-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol.

16. El compuesto *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol.

60 17. Un compuesto liofilizado de la fórmula (1):

65



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de un azúcar, en la que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno.

18. El compuesto del punto 17, en el que el azúcar es un monosacárido o disacárido.

19. El compuesto del punto 17, en el que el azúcar es un azúcar reducido.

20. El compuesto del punto 17, en el que A es 0.

21. El compuesto del punto 19, en el que el azúcar reducido es manitol o sorbitol.

22. El compuesto del punto 17, en el que Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

23. El compuesto del punto 20, en el que Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

24. El compuesto del punto 17, en el que P es R⁷-C(O)-, R⁷-S(O)₂-, R⁷-NH-C(O)-, o R⁷-O-C(O)-;

en el que R⁷ es alquilo, arilo, alquilarilo, o aralquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido, o cuando P es R⁷-C(O)- o R⁷-S(O)₂-, R⁷ puede también ser un heterociclo saturado, parcialmente insaturado, o aromático de 5 a 10 átomos opcionalmente sustituido.

25. El compuesto del punto 24, en el que P es R⁷-C(O)- o R⁷-S(O)₂- y R⁷ es un heterociclo aromático.

26. El compuesto del punto 25, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.

27. El compuesto del punto 24, en el que

A es cero;

R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₈; y

R³ es alquilo de C₁-C₆.

28. El compuesto del punto 27, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.

29. El compuesto del punto 28, en el que Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de manitol.

30. El compuesto del punto 17, en el que

R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C₁-C₈, cicloalquilo de C₃-C₁₀, arilo de C₆-C₁₀, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es arilo de C₆-C₁₀, aril (C₆-C₁₀) alquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆) arilo (C₆-C₁₀), cicloalquilo de C₃-C₁₀, alcoxi de C₁-C₈, o alquiltio de C₁-C₈;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos grupos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, o heteroarilo de R¹, R², R³, o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida.

31. El compuesto del punto 25, en el que dicho compuesto es:

N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;

N-(2-quinoleíno)sulfonil-L-homofenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;

N-(3-piridino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;

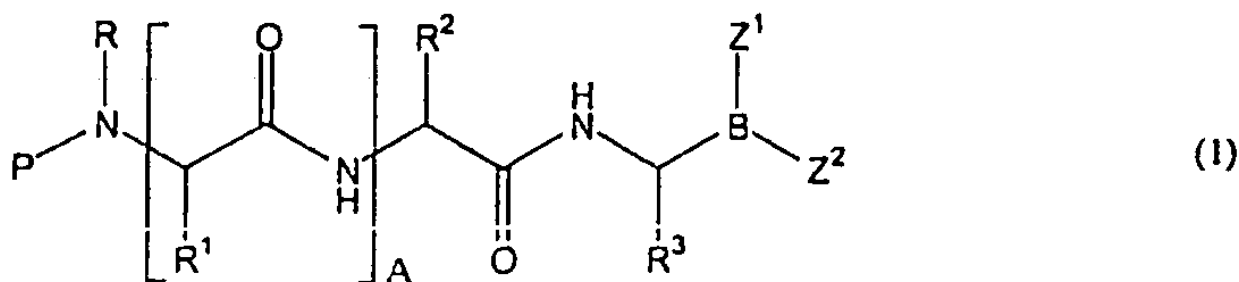
N-(4-morfolino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(8-quinoleíno)sulfonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-(*O*-bencil)-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol;
N-(4-morfolino)carbonil-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol; o
N-(4-morfolino)carbonil-[*O*-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina boronato de D-manitol.

32. El compuesto *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol liofilizado.

33. El compuesto del punto 17, en el que el compuesto es estable a 0°C durante al menos un mes.

34. El compuesto del punto 17, en el que el compuesto es estable a 40°C durante al menos un mes.

35. Un procedimiento de preparación de un compuesto liofilizado de la fórmula (1):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo;

A es 0, 1, ó 2;

R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo;

en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo o heteroarilo en R¹, R², R³ o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

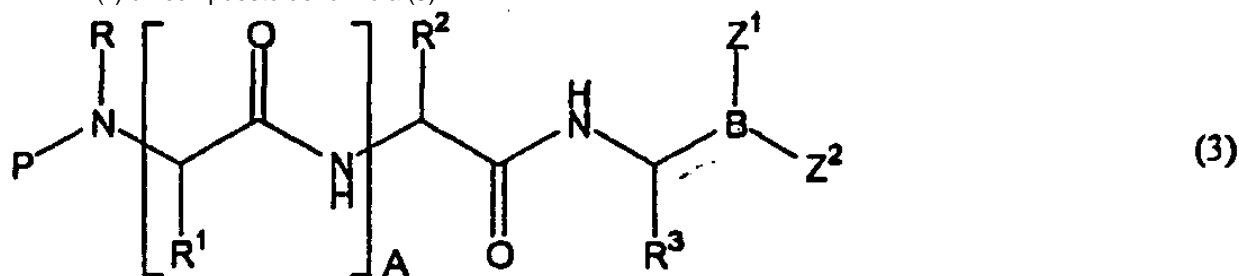
Z¹ y Z² derivan de un resto de azúcar;

comprendiendo el procedimiento:

(a) preparar una mezcla que comprende

(i) agua,

(ii) un compuesto de fórmula (3)



en la que P, R, A, R¹ y R³ son como se han definido anteriormente; y

Z¹ y Z² son OH; y

(iii) un resto derivado de azúcar; y

(b) liofilizar la mezcla.

36. El procedimiento del punto 35, en el que el azúcar es un monosacárido o disacárido.

37. El procedimiento del punto 35, en el que el azúcar es un azúcar reducido.

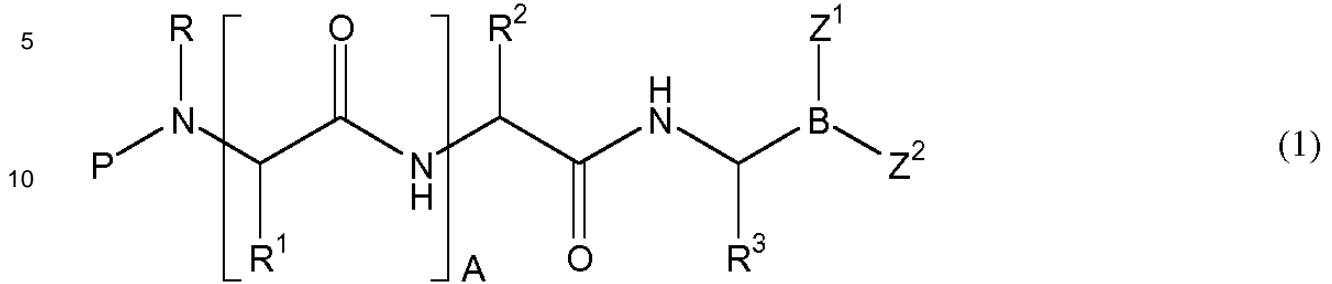
38. El procedimiento del punto 37, en el que el azúcar reducido es manitol o sorbitol.

39. El procedimiento del punto 38, en el que el azúcar reducido es manitol.

40. El procedimiento del punto 35, en el que Z^1 y Z^2 de la fórmula (1) conjuntamente forman un resto derivado de manitol.
- 5 41. El procedimiento del punto 35, en el que P es $R^7-C(O)-$, $R^7-S(O)_2-$, $R^7-NH-C(O)-$, o $R^7-O-C(O)-$; en el que R^7 es alquilo, arilo, alquilarilo, o aralquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido, o cuando P es $R^7-C(O)-$ o $R^7-S(O)_2-$, R^7 puede también ser un heterociclo saturado, parcialmente insaturado, o aromático de 5 a 10 átomos opcionalmente sustituido.
- 10 42. El procedimiento del punto 41, en el que P es $R^7-C(O)-$ o $R^7-S(O)_2-$ y R^7 es un heterociclo aromático.
43. El procedimiento del punto 42, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.
44. El procedimiento del punto 35, en el que
A es cero;
15 R es hidrógeno o alquilo de C_1-C_6 ; y
R³ es alquilo de C_1-C_6 .
45. El procedimiento del punto 44, en el que P es (2-piracino)carbonilo o (2-piracino)sulfonilo.
- 20 46. El procedimiento del punto 35, en el que
R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C_1-C_8 , cicloalquilo de C_3-C_{10} , arilo de C_6-C_{10} , o -
CH₂-R⁵;
R⁵, en cada caso, es arilo de C_6-C_{10} , aril (C_6-C_{10}) alquilo (C_1-C_6), alquil (C_1-C_6) arilo (C_6-C_{10}), cicloalquilo de C_3-C_{10} ,
alcoxi de C_1-C_8 , o alquiltio de C_1-C_8 ;
25 en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos grupos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, o heteroarilo de R¹, R², R³, o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida.
47. El procedimiento del punto 35, en el que el compuesto de fórmula (3) es:
30 ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(2-quinoleíno)sulfonil-L-homofenilalanina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(3-piridino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico;
35 ácido *N*-(8-quinoleíno)sulfonil-β-(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-(*O*-bencil)-L-tirosina-L-leucina borónico;
ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-L-tirosina-L-leucina borónico; o
ácido *N*-(4-morfolino)carbonil-[*O*-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina borónico.
- 40 48. El procedimiento del punto 35, en el que el compuesto de fórmula (1) es *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina boronato de D-manitol.
49. El procedimiento del punto 47, en el que el compuesto de fórmula (3) es ácido *N*-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico.
- 45 50. El procedimiento del punto 35, en el que la mezcla comprende además un disolvente miscible en agua.
51. El procedimiento del punto 50, en el que el disolvente miscible en agua es un alcohol.
- 50 52. El procedimiento del punto 51, en el que el alcohol es terc-butanol.
53. El procedimiento del punto 35, en el que el resto derivado de azúcar y el compuesto de fórmula (3) están presentes en al menos una relación 1:1.
- 55 54. El procedimiento del punto 35, en el que el resto derivado de azúcar y el compuesto de fórmula (3) están presentes en al menos una relación 5:1.
55. Una torta liofilizada que comprende el compuesto del punto 17.

REIVINDICACIONES

1. Polvo liofilizado que comprende manitol y un compuesto de fórmula (1):



en la que:

P es hidrógeno o un resto de protección de grupo amino;

R es hidrógeno o alquilo de C₁₋₁₂;

A es 0, 1, ó 2;

20 R¹, R², y R³ son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C₁₋₁₂, cicloalquilo de C₃₋₁₂, arilo de C₆₋₁₄, o -CH₂-R⁵;

R⁵, en cada caso, es arilo de C₆₋₁₄, aril (C₆₋₁₄) alquilo (C₁₋₁₂), alquil (C₁₋₁₂) arilo (C₆₋₁₄), cicloalquilo de C₃₋₁₂, heterociclilo que comprende de 3 a 8 átomos, en el que uno o más átomos se seleccionan entre N, O y S, heteroarilo que comprende de 5 a 14 átomos, en el que 1-4 átomos se seleccionan entre N, O y S, o -W-R⁶, en el que W es un calcógeno y R⁶ es alquilo de C₁₋₁₂;

25 en la que la porción de anillo de cualquiera de dichos arilo, aralquilo, alquilarilo, cicloalquilo, heterociclilo, o heteroarilo en R¹, R², R³, o R⁵ puede estar opcionalmente sustituida; y

Z¹ y Z² conjuntamente forman un resto derivado de manitol, en el que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno, y

30 en el que el compuesto de fórmula (1) está liofilizado y en el que dicho compuesto es un éster de manitol de ácido N-(2-piracino)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico.

35

40

45

50